

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Jijel  
Faculté Sciences De la Nature et de La Vie  
Département de Biologie Moléculaire et  
Cellulaire

جامعة جيجل  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

*Mémoire De Fin D'études Pour L'obtention Du Diplôme  
Des Etudes Supérieures en Biologie*

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 2743

Option : Biochimie

Intitulé

*Le déficit en phénylalanine  
Hydroxylase (PAH)*

Membres de Jury :

Examineur : M<sup>elle</sup> DERAÏ E

Encadreur : M<sup>me</sup> BENSEGHIER S

Présenté par :

KEROUI Adila

SAHLI Widad

*Année Universitaire : 2012-2013*

## *Remerciement*

*Tout d'abord, nous remercions **Dieu** tout puissant de nous donner la santé, la volonté, et la force pour réaliser ce modeste travail. Nous tenons à exprimer notre remerciement et notre respect à notre encadreur : M<sup>me</sup> BENSEGHIER S pour sa bonne direction et à notre examinateur M<sup>lle</sup> DERAI E*

*A tous les enseignants qui ont été un bon bénéfice durant notre étude ainsi que nos parents qui sont très chers, tous nos amis et tous ceux qui nous ont témoigné leur affection et leur soutien durant ces longues années.*

*Merci a tous*

# *Sommaire*

## Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

### **Chapitre I: Généralités sur le déficit en phénylalanine hydroxylase**

I.1. Historique.....	2
I.2. Répartition géographique.....	4
I.3. La structure de phénylalanine hydroxylase.....	5
I.4. Le rôle de phénylalanine hydroxylase dans le métabolisme cellulaire .....	7
I.4.1. La voie principale de la transformation de la phénylalanine.....	8
I.4.2. La voie secondaire de la transformation de la phénylalanine .....	10
I.4.3. La transformation de la tyrosine.....	11
I.5. Les conséquences du déficit en phénylalanine .....	13
I.5.1. Les anomalies du métabolisme .....	13
I.5.1.1. Les anomalies de la PAH.....	14
I.5.1.2. Anomalie de la synthèse ou de régénération du BH4.....	14
I.5.2. Les maladies héréditaires du métabolisme.....	16
I.6. Expressions clinique du déficit en phénylalanine hydroxylase.....	17

### **Chapitre II: les Aspects génétique du déficit en PAH**

II.1. La localisation du gène PAH.....	19
II.2. Le mode de transmission du déficit en PAH .....	20
II.3. Les différents types des mutations .....	20
II.4. Classification des mutations .....	21
II.5. La corrélation phénotype –génotype.....	24
II.6. La localisation des mutations dans la structure .....	24

### **Chapitre III: Le dépistage de déficit en PAH**

III.1. mis en place du dépistage néonatal.....	26
III.2. Réalisation du dépistage .....	27
III.2.1. Le test de Guthrie .....	27
III.2.2. La spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).....	27

III.2.3. La fluorimétrie .....	28
III.3. Dépistage différentiel.....	29
III.4. Le diagnostic des adultes .....	30
III.5. Grossesses chez les femmes ayant une phénylcétonurie.....	30
<b>Conclusion</b> .....	32
<b>Les Références bibliographiques</b> .....	33

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Structure de la phénylalanine hydroxylase humaine.....	06
<b>Figure 02</b> : Les quatre sous-unités de phénylalanine hydroxylase.....	07
<b>Figure 03</b> : Hydroxylation de la phénylalanine .....	09
<b>Figure 04</b> : Métabolisme de la phénylalanine.....	09
<b>Figure 05</b> : Les réactions redox impliquant la tétrahydrobioptérine.....	09
<b>Figure 06</b> : Métabolisme et action de la tétrahydrobioptérine(BH <sub>4</sub> ).....	10
<b>Figure 07</b> : Les étapes de la transamination de la phénylalanine.....	11
<b>Figure 08</b> : Schéma résumé les vois du métabolisme de la phénylalanine.....	13
<b>Figure 09</b> : Schéma des déficits enzymatiques responsables d'hyperphénylalaninémies.....	15
<b>Figure 10</b> : Quelques exemples de maladies génétiques humaines .....	17
<b>Figure 11</b> : Représentation schématique du locus PAH sur le chromosome 12.....	19
<b>Figure 12</b> : Mode de transmission de la maladie.....	20
<b>Figure 13</b> : Structure cristalline tridimensionnelle de la mutation de trois domaines phénylalanine hydroxylase.....	25

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Prévalence de la PCU dans les principaux pays.....	04
<b>Tableau02</b> : Les différents phénotypes de la PCU en fonction de la concentration plasmatique en phénylalanine.....	14
<b>Tableau 03</b> : Répartition de la plupart des mutations du gène PAH.....	21
<b>Tableau 04</b> : Phénotype associé à quelque allèle du gène PAH chez les homozygotes....	23

## Liste des abréviations

- AMPC** : Amino MonoPhosphate cyclique.
- AMP**: Adinosine MonoPhosphate.
- ATP**: Adinosine TriPhosphate.
- BH2** : DiHydrobioptérine.
- BH4** : Tétra Hydrobioptérine.
- DHPR** : Dihydrobioptéridine Réductase.
- DOPA** : DihydrOxy-PhénylAlanine.
- HPA** : HyperPhénylaAlaninémie.
- HMP** : Hyperphénylalaninémie Moderne Permanente.
- GTPCH**: Guanosine TriPhosphate CycloHydroxylaseI.
- LAT-1** : L-Aminoacide Transporter 1.
- LCR** : Liquide Céphalo-Rachidien.
- MS** : Spectrométrie de Masse
- NOS** : Nitrique Oxyde Synthétase.
- PAH** : PhénylAlanine Hydroxylase.
- OMS** : Organisation Mandiale de la Santé.
- PCD** : Ptérine 4- $\alpha$ -Carbinolamide Déshydratase.
- PCU** : PhénylCétonUrie.
- Phe** : Phénylalanine.
- PTPS** : Pyruvoyl-TétrahydroBioptérine Synthétase.
- SNP** : Seul Polymorphisme Nucléotidique.
- SR** : Sépiaptérine Réductase.
- Trp OH**: Tryptophane Hydroxylase.
- Tyr OH**: Tyrosine Hydroxylase.
- VNTR** : Nombre Variable de Répétions en Tendem.

# *INTRODUCTION*

Les erreurs innées du métabolisme sont liées à la déficience d'une enzyme ou d'une protéine de transport, généralement à la suite d'une seule mutation, ainsi l'activité d'une voie est compromise à l'étape où intervient la protéine concernée. En amont de cette étape, il y'a accumulation d'un ou plusieurs intermédiaire. Ainsi une baisse de concentration des produits ou des intermédiaires en aval (**Declercq, 2001**).

La phénylalanine hydroxylase (PAH) est une enzyme du foie qui permette la transformation de la phénylalanine (Phe) en tyrosine L'activité de cette enzyme est associée à la présence d'un cofacteur, la tétrahydrobioptérine (BH4) (**Cooper, 1999; Orsini et Pellet, 2005**).

Le déficit de cette enzyme provoque une maladie qui est la phénylcétonurie (PCU) (**Richardson et al., 2003**). Le résultat de ces déficits est l'accumulation sanguine de la Phe et l'apparition de ses dérivés notamment l'acide phénylpyruvique dans les urines. Cette hyperphénylalaninémie (HPA) entraîne de graves troubles neurologiques tels que des troubles du développement intellectuel, des troubles de l'attention et du comportement. Elle peut également engendrer des convulsions, une dépigmentation de la peau et des cheveux, de plus une odeur particulière de la peau et des urines (**Richardson et al., 2003**).

Ces troubles peuvent néanmoins être évités grâce notamment au dépistage systématique des nourrissons à trois jours de vie par le test de Guthrie, suivi d'une prise en charge adaptée (**Abadie et al., 2005**). Cette prise en charge comprend un régime alimentaire strict complexe dont le but est de contrôler le taux de phénylalanine dans le sang et d'instaurer dans certains cas un traitement médicamenteux.

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de notre travail qui a pour but d'expliquer le rôle biochimique de PAH dans le métabolisme, sa voir sa structure et les aspects génétique du déficit en PAH, connaître l'effet du déficit en phénylalanine hydroxylase et déterminer les éléments qui doivent faire rechercher cette pathologie.

# CHAPITRE I

*Généralité sur le  
deficit en phénylalanine  
hydroxylase*

## I.1. Historique de phénylalanine hydroxylase (PAH)

Le déficit en phénylalanine hydroxylase provoque une maladie métabolique date de 1934 et est attribuée à un médecin biochimiste et également physicien norvégien Asborn Fölling. Il a contacté chez deux enfants présentant un retard mental:

L'aînée, Liv, âgée de six ans est décrite comme très agitée, allant d'une chose à une autre, sans but réel. Elle prononce quelques mots mais elle est incapable d'élaborer des phrases. Le cadet, Dag, quatre ans, ne tient pas sa tête droite, ne communique que par des sons inarticulés et des cris, ne peut manger que des aliments sous formes liquides (**Christ, 2003**).

Les parents décrivent une odeur particulière émanant des deux enfants, une odeur décrite comme gênante. L'examen clinique des deux enfants par Fölling n'a rien apporté de nouveau sur leur état. En testant par simple routine leurs urines à l'aide de chlorure de fer en vue de révéler la présence ou non de corps cétoniques, une couleur verte sombre inhabituelle apparue quelques minutes puis les échantillons redeviennent normaux. Habituellement le test évolué au violet si l'urine contient des cétones et au rouge-brun si le test est négatif. Fölling pensa que certaines substances comme l'aspirine auraient pu fausser le test. Il demanda la mère des enfants de ne pas administrer de substances particulières aux enfants et il l'invite à lui rapporter un nouvel échantillon une semaine plus tard. Après avoir émis l'hypothèse que le retard mental des enfants était lié à la présence de l'acide phénylpyruvique dans leurs urines, Fölling décida de collecter l'urine de quatre cents patients d'une institution d'Oslo pour les soumettre au chlorure de fer.

Il isola ainsi huit personnes incluant une fratrie, ayant la même anomalie. De plus ces personnes présentaient également des déficits intellectuels ainsi qu'un teint clair, de larges épaules, un mauvais port de tête, de l'eczéma et une démarche spasmodique. Très excité, il soumit un article sur ses recherches à un journal allemand où il employa le terme d'«*imbecillitas phenylpyrouvica* » pour décrire cette maladie. Il formalise le fait que la quantité accrue d'acide phénylpyruvique retrouvé dans les urines des patients, provenait inexorablement de l'incapacité de métaboliser l'acide aminé correspondant, c'est-à-dire la phénylalanine (**Christ, 2003**).

Après ses découvertes initiales, Fölling continua à chercher des patients atteints de PCU. Avec la collaboration de Lous Morh (un généticien) et Lars Ruud (étudiant en médecine), il identifie trente quatre autres patients provenant de vingt deux familles différentes. Les données généalogiques de cet échantillon ont également fourni la preuve qu'une transmission autosomique récessive d'un gène serait à l'origine de la maladie. Pour démontrer que l'acide phénylpyruvique présent dans les urines provenait d'un défaut de métabolisation de la phénylalanine, Fölling devait mesurer le taux de cet acide aminé dans le sang. Pour cela, il s'entoura des biologistes Karl Closs et de Sverre Dick Henriksen pour rechercher une bactérie

capable de convertir la phénylalanine en acide phénylpyruvique. Leurs essais confirment que la bactérie *Proteus vulgaris* répondait à leurs attentes. En utilisant la même méthode que pour tester les échantillons urinaires, ils réussirent à démontrer le lien entre hyperphénylalaninémie et PCU. Une dernière contribution de Fölling sur cette maladie, fût son travail sur la recherche des porteurs sains hétérozygotes du gène ou des gènes déficitifs. Il émit l'hypothèse que les porteurs sains du gène ou des gènes devraient moins bien métaboliser l'excès de phénylalanine que les personnes homozygotes non porteuses. Pour le prouver, il se procura un échantillon de phénylalanine, ce qui était très rare à l'époque. Malheureusement, il retrouve de l'acide phénylpyruvique dans ses propres urines et chez toutes les personnes et les animaux qu'il testa **(Christ, 2003)**.

En 1940, Moss décrit pour la première fois, la conversion au niveau du foie de rat de la phénylalanine en tyrosine.

En 1947, Jervis présente la preuve que l'erreur métabolique de cette maladie provient de l'incapacité de conversion de la phénylalanine en tyrosine en analysant in-vitro le foie d'un malade phénylcétonurique **(Lemasson, 1989)**.

En 1953, Udenfried et Cooper découvrirent le système enzymatique transformant la phénylalanine en tyrosine et dans la même année Jervis démontra que le défaut de para hydroxylation de la phénylalanine est provoqué par l'inactivité de cette nouvelle enzyme.

En 1957, Seymour Kaufman met en évidence des enfants souffrant d'une forme de phénylcétonurie atypique ne touchant pas la phénylalanine hydroxylase mais un cofacteur, la dihydrobioptérine réductase. C'est Horst Bickel, pédiatre allemand, qui en 1954 démontra qu'un régime pauvre en phénylalanine dès la naissance permettait de prévenir l'apparition d'un retard mental **(Lemasson, 1989)**. En même année, le Docteur Willard Centerwall a développé le premier test de dépistage de la PCU. Il mit au point le « test de la couche » : le chlorure de fer est versé sur des couches mouillées et si l'urine devient verte, le test était positif. Ce mode de dépistage n'a pas été généralisé car les enfants testés devaient avoir quelques semaines pour que l'acide phénylpyruvique se retrouve en quantité décelable **(Audry, 2011)**.

En 1962, Robert Guthrie, microbiologiste américain, mis au point une méthode plus facile de dépistage chez les nouveau-nées en utilisant le simple dépôt de gouttelettes de sang sur un support en papier. Suite au dépistage de la maladie et de sa prévention grâce au régime, des initiatives privées ont été prises en France eu les années 1970 **(De Parscau, 2001 ; Walter et al., 2002)**.

## I.2. La répartition géographique :

La prévalence de la PCU varie grandement à travers le monde (tableau 1), elle est la plus élevée dans les populations européennes (**HAS, 2011**). La prévalence de l'affection varie de 1/4 000 à 1/40000, les populations d'Irlande étant les plus touchées (**Feuillet, 2006**). En France, la fréquence est connue grâce au dépistage néonatal systématique (**HAS, 2010**). Pour l'année 2008, les résultats du dépistage néonatal indiquent une fréquence de 1 sur 14152. Cette fréquence varie en fonction des régions (**HAS, 2011**).

**Tableau 1** : Prévalence de la PCU dans les principaux pays (**Blau et al., 2010**) :

PAYS	PREVALENCE
France	1/17 292
ANGLETERRE	1/10 000
ITALIE	1/3654
ESPAGNE	1/6532
Allemagne	1/8553
Turquie	1/2 500
nord de l'Irlande	1/ 4500
Etats-Unis	1/ 15 000
Amérique latine	1/ 50 000 à 1/ 25000
Chine	1/ 100 000
Thaïlande	1/ 20 000
Japon	1/ 143 000
Afrique	1/100 000

### I.3. La structure de la phénylalanine hydroxylase (PAH)

La phénylalanine est un des trois acides aminés possédant une chaîne latérale aromatique avec la tyrosine et le tryptophane. C'est un acide aminé essentiel (ou indispensable).

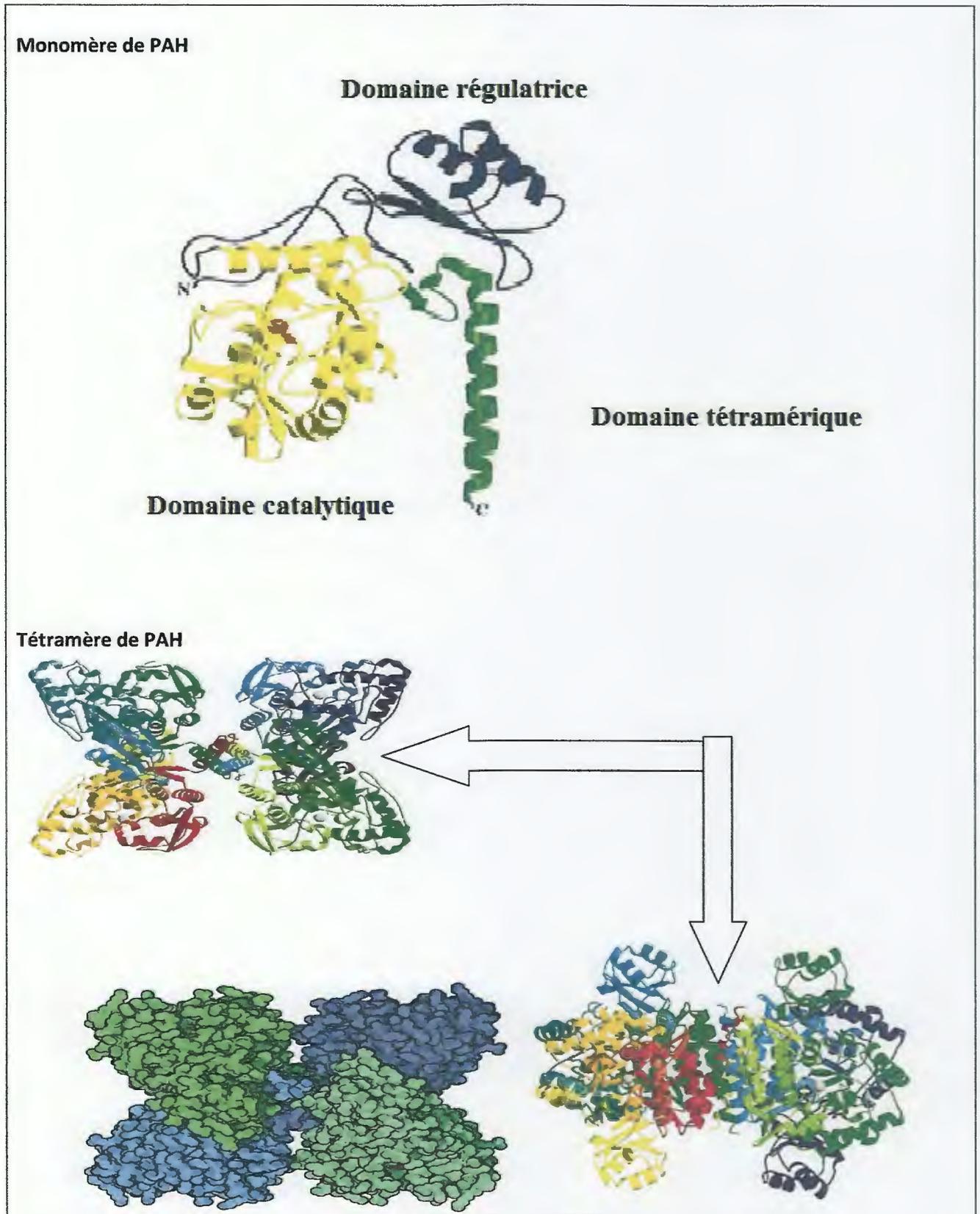
la phénylalanine hydroxylase partage beaucoup de propriétés biochimiques et physiques avec la tyrosine hydroxylase (Tyr OH) et tryptophane hydroxylase (Trp OH) suggérant qu'ils aient évolué d'un ancêtre commun et pourraient constituer une famille des protéines structurellement communes (**Fusetti et al., 1998**). Phénylalanine hydroxylase, tyrosine hydroxylase et tryptophane hydroxylase catalysent les réactions semblables d'hydroxylation utilisant le même atome de fer non hème mais différent dans leur spécificité de substrat (**Flatmark et Stevens, 1999 ; Teigen et al 2007 ; Fitzpatrick, 2012**).

La PAH comprend quatre sous unité, Chacun des quatre sous unité est organisé en trois domaines : un domaine N-terminal de 12-19 kDa impliqué dans la régulation de l'activité suivi d'un segment d'environ 38kDa, qui se compose d'un domaine catalytique et d'un domaine de C-terminal de tetramerization qui a 5kDa (figure 1) (**Fusetti et al., 1998 ; Leandro et al., 2011**).

Le domaine de tétramérisation est composé de deux brins bêta, qui forment un ruban et une longue hélice. Le bras hélicoïdal de chaque sous-unité est en contact avec les trois autres pour former un motif à enroulement en spirale. Les quatre domaines de tétramérisation enroulés peuvent être vus, quand les formes bispiralés les sous-unités sont tirés rapprocher pour former la structure quaternaire de la protéine finale (figure 2) (**Kobe et al., 1999**).

Le domaine de tétramérisation a deux points de rotation qui permettent certaine protéine souple dans sa forme, peut-être pour permettre la formation bispiralée optimale. Cette flexibilité n'est pas trouvée dans le Tyrosine hydroxylase de protéine similaire (**Bergdoll, 1997**). a proposé que la rigidité de Tyr OH induit des contraintes de conformation sur le squelette peptidique qui favorisent la conformation optimale pour l'oligomérisation (**Fusetti et al., 1998**).

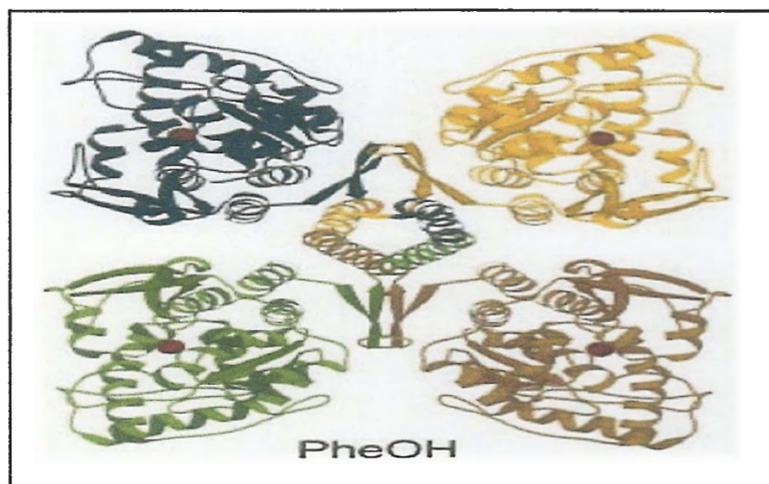
Le domaine catalytique de PAH se compose de 13 hélices alpha et 8 brins bêta situés profondément à l'intérieur de la protéine. Le site actif et la zone qui l'entoure est formé par principalement des acides aminés hydrophobes créant une situation favorable pour l'hydroxylation de la phénylalanine hydrophobe. Chacune des sous-unités contient son propre site actif permettant à l'enzyme de catalyser la réaction en quatre endroits différents (**Erlendsen et al., 1997 ; Fusetti et al., 1998**).



**Figure 01 :** Structure de la phénylalanine hydroxylase humaine (Pettersan et al., 2004 ; Ranaud, 2010).

**PAH Monomère :** Le domaine régulateur est coloré en **mauve**, le domaine catalytique en **jaune** et le domaine de tetramerization en **vert**. L'atome de fer est représenté par une **sphère rouge**.

**PAH Tétramère** : Deux vues perpendiculaires de la structure assemblée de l'enzyme PAH sous forme tétramérique. L'ion ferreux est représenté par une sphère grise ou rouge (Pettersan et al., 2004 ; Ranaud, 2010).



**Figure 02:** Les quatre sous-unités de phénylalanine hydroxylase (Fusetti et al., 1998).

Les domaines de tétramérisation se rassemblent dans le centre de l'image. Les hélices alpha forment d'enroulements-convecteurs, des liens forts pour garder l'ensemble d'enzyme (Fusetti et al., 1998).

#### II.4. Le rôle de la phénylalanine hydroxylase (PAH)

L'enzyme est activée par la phénylalanine et inhibée par le tetrahydrobioptérine (BH<sub>4</sub>); les deux phénomènes ont été rapportés depuis plusieurs décennies. L'activation de l'enzyme par la phosphorylation a été établie dans les années 70. Cependant, un arrangement complet des effets des substrats et de la phosphorylation sur l'activité de l'enzyme et les changements structuraux responsables des changements de l'activité manquent (Abita et al., 1976; Fitzpatrick, 2012).

La PAH est fortement activée par la Phe. Ainsi une augmentation de la concentration de la Phe augmente l'activité de l'enzyme responsable de son métabolisme pour éviter son accumulation. L'enzyme peut être phosphorylée, la phosphorylation met en jeu l'ATP et une protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique. Elle est activée par le glucagon. La PAH phosphorylée est plus active et elle est plus fortement activée par la Phe (Kruh, 1989).

La phénylalanine est un acide aminé indispensable dans l'organisme (Chabert et Gobert, 2007), la Phe provient de la dégradation des protéines alimentaires (origine exogène) ou de la dégradation des protéines du corps humain (origine endogène).

Les deux utilisations principales dans l'organisme de la Phe sont la synthèse protéique et la synthèse de tyrosine catalysée par la phénylalanine hydroxylase (Kaufman, 1999 ; Mortureux, 2013).

### II.4.1. La voie principale de la transformation de la phénylalanine

La phénylalanine hydroxylase catalyse la transformation irréversible de la phénylalanine en tyrosine. Cette réaction nécessite la présence d'oxygène respiratoire, de fer ferreux et de la tétrahydrobioptérine ( $BH_4$ ) comme coenzyme donneur d'hydrogène. Les hydrogènes réduisent un atome d'oxygène, tandis qu'un autre atome d'oxygène vient sur le carbone 4 du noyau aromatique de la phénylalanine (figure 3) (**Raisonnier, 2003**).

Durant l'oxydation de la Phe par la phénylalanine hydroxylase (PAH), la tétrahydrobioptérine ( $BH_4$ ) est convertie en un intermédiaire la ptérin-4  $\alpha$ -carbinolamine. La  $BH_4$  est ensuite régénérée via la quinoïdes dihydrobioptérine (q.  $BH_2$ ) grâce à la ptérine-4- $\alpha$ -carbinolamine déshydratase (PCD) et à la dihydrobioptéridine réductase (DHPR) NADH dépendante. La  $BH_4$  est synthétisée à partir de trois autres enzymes : la GTP cyclohydroxylase I (GTPCH), la 6-pyruvoyl-tétrahydroptérine synthétase (PTPS) et la sépiaptérine réductase (SR) à partir du guanosine tri-phosphate (GTP) dans le foie (Figure 4) (**Thony et al., 1998**).

La coenzyme de la phénylalanine hydroxylase ( $BH_4$ ) est un Co-substrat redox structurellement apparenté à l'acide folique. Au cours de la réaction d'hydroxylation, il se forme probablement un dérivé intermédiaire hydroperoxyde, à partir duquel le  $BH_4$  est oxydé pour donner une forme active de dihydrobioptérine ( $BH_2$ ). La coenzyme se dissocie ensuite de l'hydroxylase et la  $BH_4$  est régénérée grâce à une autre enzyme consommant du NADPH, la dihydrobioptérine réductase.

La réassociation de la  $BH_4$  avec l'hydroxylase referme le cycle (figure 5): un autre cycle enzymatique peut commencer. La  $BH_4$  n'est pas une vitamine, car elle est synthétisée par l'organisme humain. Un intermédiaire dans sa biosynthèse est un isomère inactif de la dihydrobioptérine. La réduction de cet intermédiaire en  $BH_4$  est catalysée de façon dépendante du NADPH par une autre enzyme, la dihydrofolate réductase. La  $BH_4$  est ainsi rendue disponible pour le cycle de réactions. Il faut noter, que la dihydrobioptérine réductase peut uniquement réduire la forme active de la dihydrobioptérine (**Esterl, 2007**).

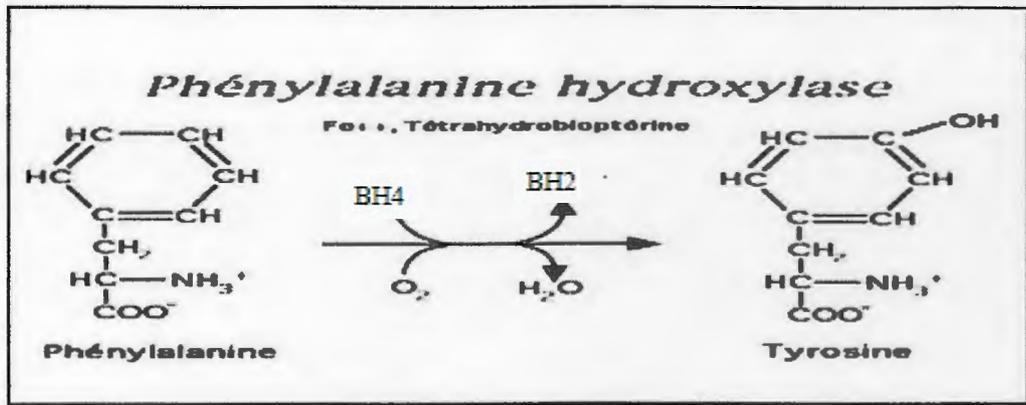


Figure 3: Hydroxylation de la phénylalanine (Raisonné, 2003).

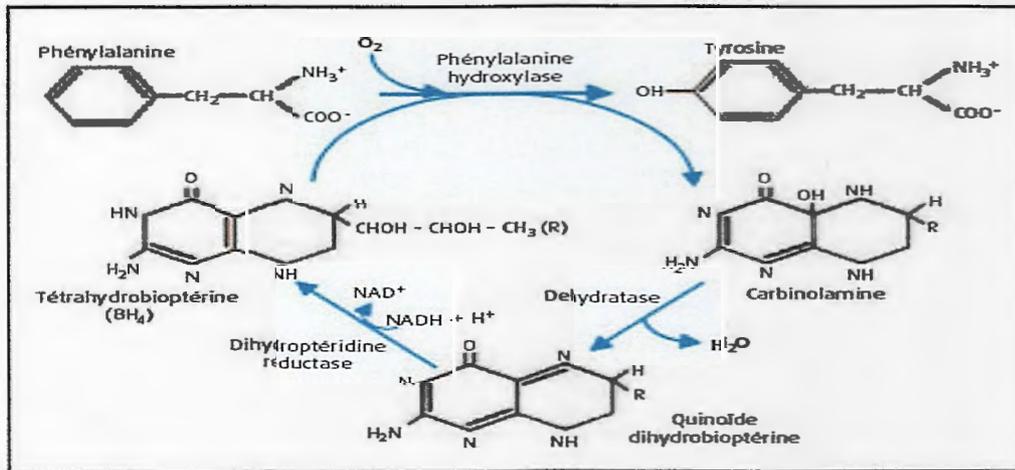


Figure 04: Métabolisme de la phénylalanine (Richaud, 2012).

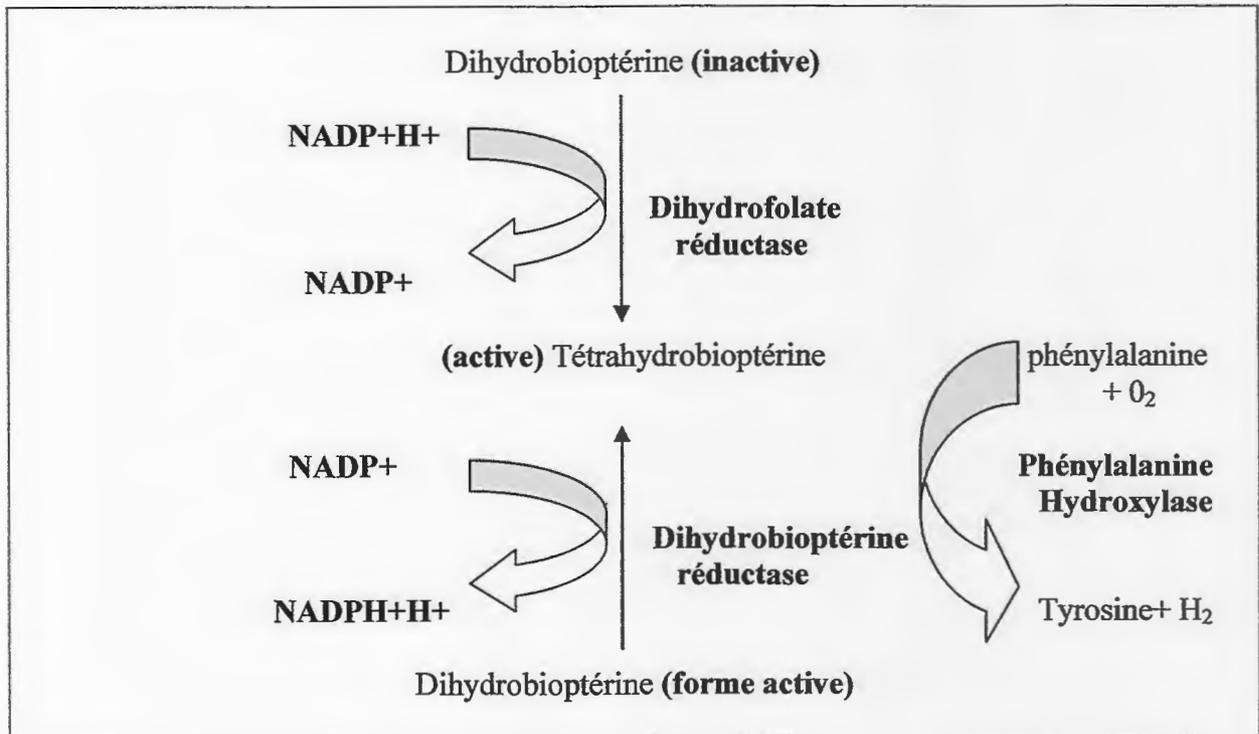
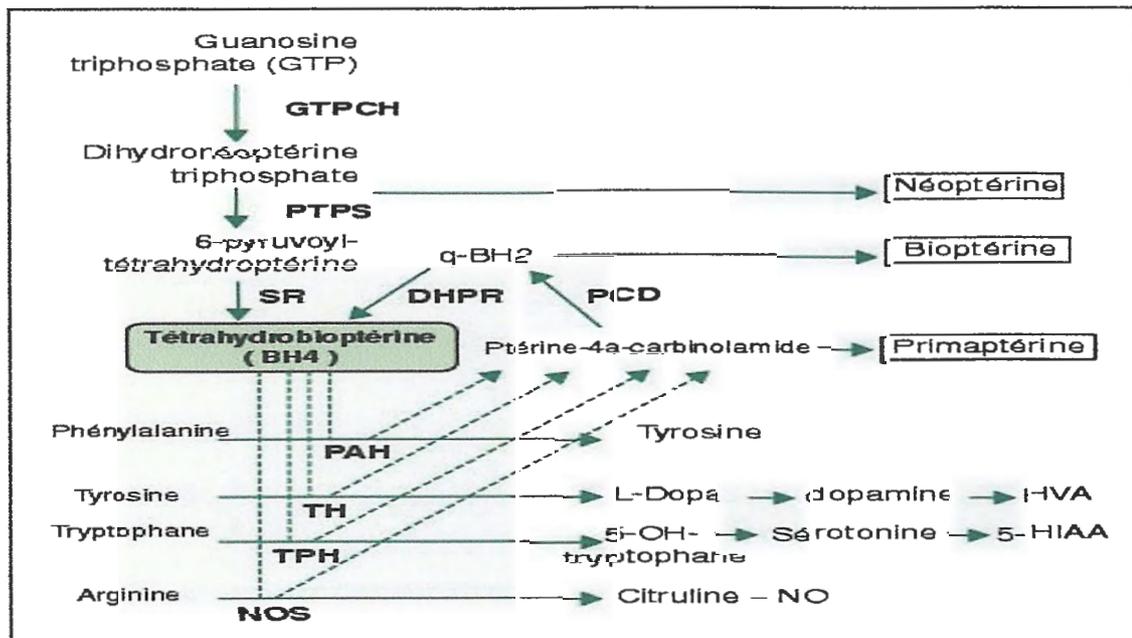


Figure 05: Les réactions redox impliquant la tétrahydrobioptérine (Esterl, 2007).

Il est important de noter que la BH<sub>4</sub> est conjointement le cofacteur de plusieurs enzymes : la phénylalanine hydroxylase (PAH) qui transforme la Phe en tyrosine, la tyrosine hydroxylase et le tryptophane hydroxylase qui interviennent dans la synthèse des neurotransmetteurs, comme la dopamine et la sérotonine, la nitrique oxyde synthétase (NOS) qui permet la synthèse de monoxyde d'azote (Figure 6) (Gilles et al., 2006).



**Figure 06:** Métabolisme et action de la tétrahydrobioptérine (BH<sub>4</sub>) (Gilles et al., 2006).

GTPCH : GTP cyclohydrolase I.

PTPS : 6-pyruvoyl-tétrahydroptérine synthase.

SR : sépiaptérine réductase.

PAH : phénylalanine-hydroxylase.

TH: tyrosine-3-hydroxylase.

TPH: tryptophane-5-hydroxylase.

PCD: ptérine-4α-carbinolamide déshydratase.

NOS: nitrique oxyde synthase.

DHPR: dihydroptéridine réductase.

qBH<sub>2</sub>: quinonoïde dihydrobioptérine.

HVA: acide homovanilique

5-HIAA acide 5-hydroxy indole acétique.

L-Dopa : Dihydroxy-phénylalanine.

#### **I.4.2. La voie secondaire de la transformation de la phénylalanine**

Il existe plusieurs voies secondaires qui sont très peu utilisées chez les sujets sains mais elles le sont chez le sujet phénylcétonurique. Il s'agit de la transformation de la chaîne latérale de la Phe qui peut subir soit une décarboxylation ou une désamination qui induit la formation des

composés caractéristiques généralement retrouvés à l'état de traces dans les urines des sujets sains (Audrey, 2011).

La décarboxylation aboutit à la formation de la phényléthylamine. La transamination qui est la plus importante des voies secondaires, aboutit à l'acide phénylpyruvique. Elle peut se poursuivre de trois façons:

- décarboxylation en acide phénylacétique (qui peut également provenir de l'oxydation de la phénylalanine).
- réduction en acide phényllactique.
- hydroxylation en acide hydroxyphénylacétique. L'excrétion urinaire de cet acide est de trois cents à quatre cents fois supérieure chez les phénylcétonurique. Chez les sujets normaux, l'excrétion urinaire des composés phénylcétoniques ne se fait qu'à l'état de traces (figure 7) (Lemasson, 1989).

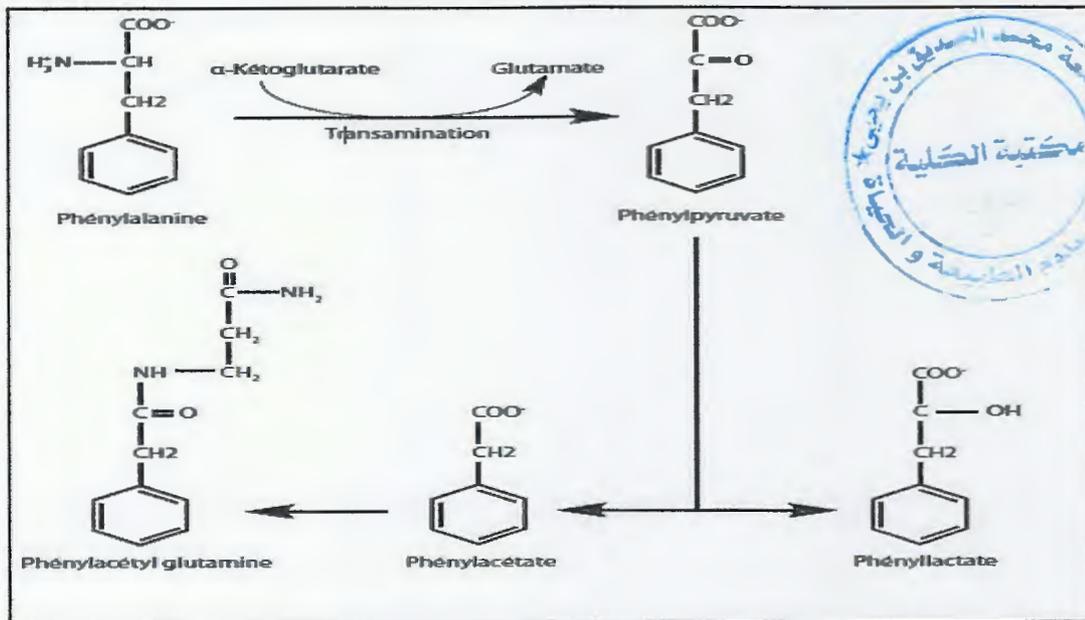


Figure 07: Les étapes de la transamination de la phénylalanine (Ranaud, 2010).

#### I.4.3. La transformation de la tyrosine

La transformation de la tyrosine, en dehors de son incorporation dans les structures protéiques, conduit entre autres, à la synthèse des hormones thyroïdiennes, des catécholamines (dopamine, noradrénaline et adrénaline) et également de la mélanine.

## A. La dégradation de la tyrosine se fait par ouverture du noyau aromatique

La tyrosine subit une transamination avec l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique. L'acide parahydroxy-phényl pyruvique, sous l'action d'une oxygénase spécifique qui contient du cuivre, subit une réaction complexe qui implique une deuxième hydroxylation du noyau, une décarboxylation, une oxydation et une migration de la chaîne latérale. On obtient l'acide homogentisique. L'acide homogentisique est oxydé, avec ouverture du cycle, par l'homogentisate oxygénase en acide fumaryl- acétylacétique. L'acide fumarylacétique est coupé en acide fumarique et en acide acétylacétique par la fumarylacéto- acétase (**Kruh, 1989**).

## B. La tyrosine est le précurseur du pigment de la peau

La mélanine est un pigment responsable de la coloration des cheveux et de la peau. Les premières étapes de sa synthèse mettent en jeu une hydroxylase contenant du cuivre, la tyrosinase, qui forme la dihydroxy- phénylalanine ou DOPA. La DOPA s'oxyde en DOPA quinone, laquelle se cyclise en dopa chrome qui se polymérise en mélanine (**Kruh, 1989**).

## C. La tyrosine est le précurseur des catécholamines, adrénaline et neurotransmetteurs

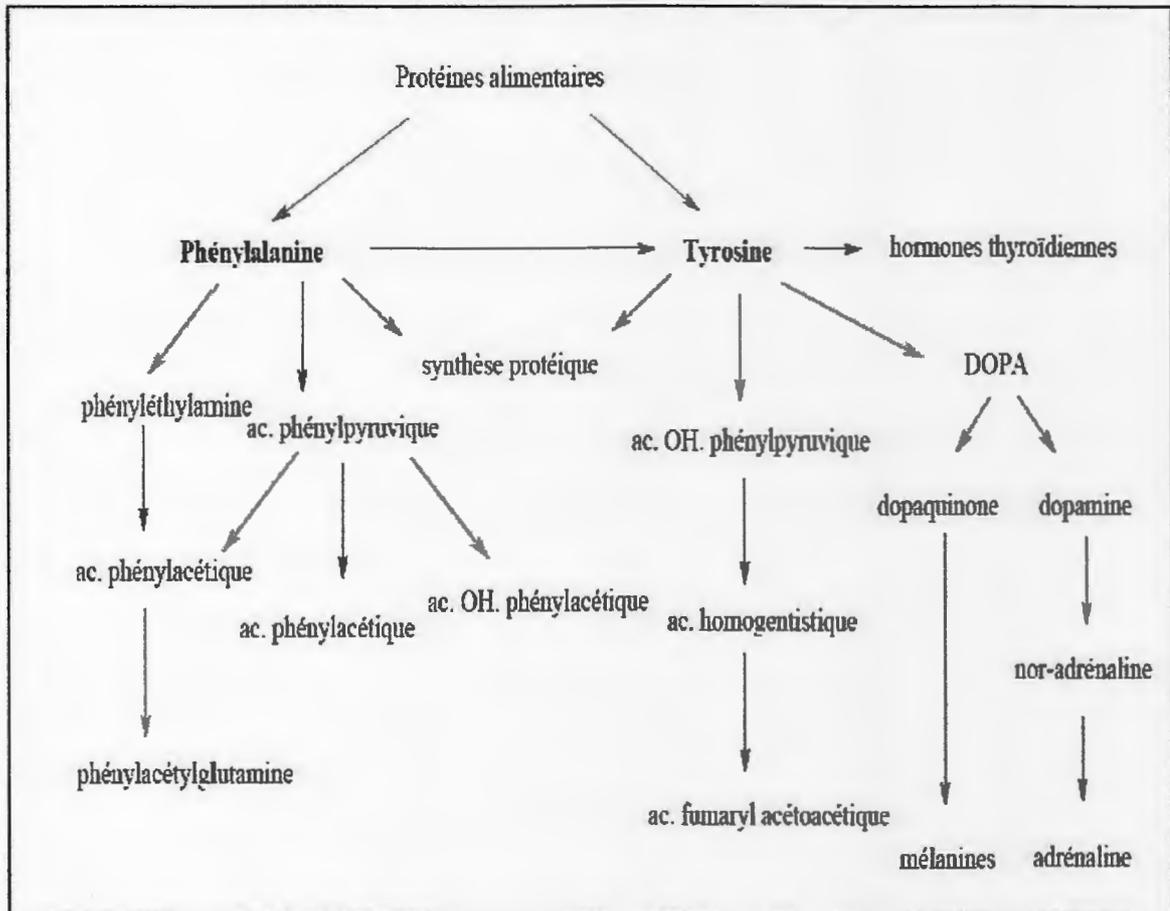
Les catécholamines sont des molécules formées d'un noyau aromatique comprenant deux hydroxyles voisins (noyau catéchol) et une amine. Les principales catécholamines biologiques sont:

- L'adrénaline, sécrétée par la médullo-surrénale, agit par l'intermédiaire de l'AMPc, a un rôle métabolique.
- Deux neurotransmetteurs, la dopamine et la noradrénaline. La noradrénaline est présente dans toutes les régions du cerveau, en particulier le cortex, l'hippocampe, l'hypothalamus, ainsi que dans la moelle épinière. La noradrénaline est un intermédiaire des synapses des fibres sympathiques.

La dopamine est concentrée dans le corps strié et joue un rôle essentiel dans le contrôle des mouvements volontaires. La dopamine agit au niveau des ganglions sympathique. Ces deux catécholamines semblent agir au niveau des sites récepteurs en induisant la synthèse d'AMPc (**Kruh, 1989**).

## D. La tyrosine est le précurseur des hormones thyroïdiennes

La tyrosine est également le précurseur des hormones thyroïdiennes, la synthèse de ses hormones est étroitement associée au métabolisme de l'iode (Kruh, 1989).



**Figure 08:** Schéma résumé les voies du métabolisme de la phénylalanine (Audrey, 2011).

### I.5. Les conséquences du déficit en phénylalanine

#### I.5.1. Les anomalies du métabolisme

Les troubles du métabolisme de la phénylalanine se caractérisent par une diminution ou un blocage de l'hydroxylation de la phénylalanine entraînant :

- En aval, la baisse de la tyrosinémie et ses conséquences sur la synthèse des catécholamines, de la mélanine et des hormones thyroïdiennes.
- En amont, l'accumulation de la Phe qui est en partie catabolisée dans les voies secondaire, entraînant une augmentation de ces métabolites dans le sang et dans les urines.

Ces anomalies métaboliques peuvent avoir différentes origines, se caractérisent par des données biochimiques et cliniques diverses. Les systèmes enzymatiques mis en cause sont nombreux (Gilles et al., 2006). Ainsi, L'hyperphénylalaninémie, augmentation anormale des taux sanguins

de phénylalanine, est principalement due à deux maladies métaboliques rares, la phénylcétonurie liée à un déficit en phénylalanine hydroxylase et le déficit en tétrahydrobioptérine (BH<sub>4</sub>), cofacteur des enzymes phénylalanine, tyrosine et tryptophane hydroxylases et de l'oxyde nitrique synthétase (Sérono, 2011).

### I.5.1.1. Les anomalies de la PAH

Le déficit en phénylalanine hydroxylase est responsable de l'oligophrénie phénylpyruvique ou phénylcétonurie. Les dérivés du catabolisme de la phénylalanine (phénylpyruvate) sont directement toxiques pour les neurones (Raisonnier, 2003).

Trois différents types de phénotypes de phénylcétonurie ont été distingués selon le taux plasmatique de Phe (tableau 2):

- la PCU typique ou classique
- la PCU atypique ou méditerranéenne
- l'hyperphénylalaninémie modérée permanente ou HMP

**Tableau 2 :** Les différents phénotypes de la PCU en fonction de la concentration plasmatique en phénylalanine (Feuillet, 2006; HAS, 2010)

	Taux sanguins de Phe
PCU typique	> 20 mg/ dl
PCU atypique	10 < PHE < 20 mg/ dl
HMP	3 ≤ PHE < 10 mg/ dl

Le dosage de la Phe plasmatique est exprimé en  $\mu\text{mol/L}$ , mais il est aussi fréquemment exprimé en mg/dl avec un rapport ( $\mu\text{mol/L}$ ) / (mg/dl) égale à 60. ( $60\mu\text{mol/L}=1\text{ mg/dl}$ ) (Feuillet, 2006)

Les patients atteints d'une PCU typique ou atypique doivent suivre un régime strict contrôlé alors que le régime des patients souffrant d'HMP ne comprend pas de produits spéciaux. Cependant, ces personnes doivent être suivies et les familles doivent être informées, notamment, s'il s'agit d'une fille car leurs futures grossesses nécessitent une surveillance particulière (Feuillet, 2006).

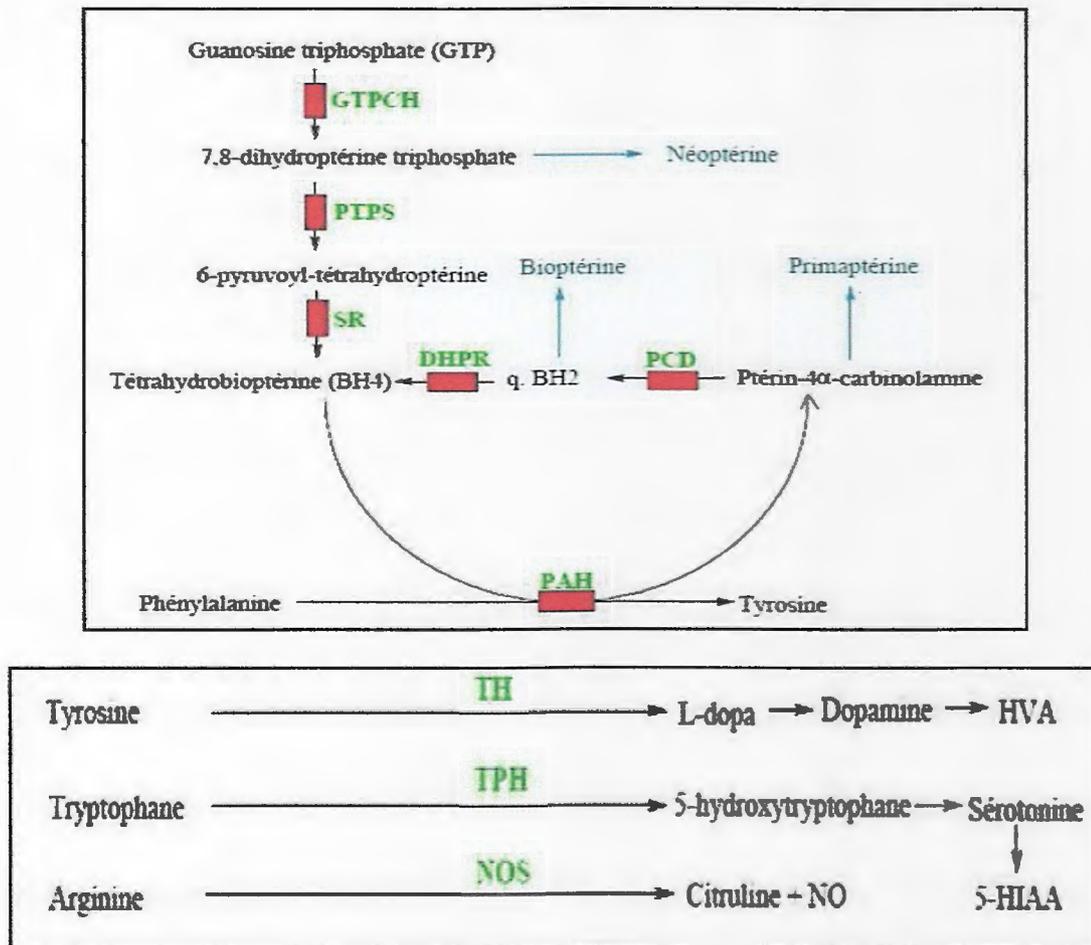
### I.5.1.2. Anomalie de la synthèse ou de la régénération du BH<sub>4</sub>

Dans 2 % des cas, le déficit enzymatique ne concerne pas l'enzyme mais la synthèse ou le recyclage de son cofacteur (BH<sub>4</sub>) (Feuillet, 2006).

Un déficit en tétrahydrobioptérine fut reconnu comme le responsable, outre de l'hyperphénylalaninémie, d'un déficit de la neurotransmission monoaminergique, conséquence du dysfonctionnement des autres hydroxylases tétrahydrobioptérine-dépendantes, tyrosine- et tryptophane-hydroxylase (Chabert et Gobert, 2007). Plusieurs défauts enzymatiques peuvent altérer la synthèse ou l'utilisation de ce cofacteur, déficit en GTP cyclohydrolase I en 6-pyruvoyl-

tétrahydroptérine synthase (PTPS) et en dihydroptéridine-réductase (DHPR) (Dhondt et Hayte, 2002; Gilles et al., 2006; Boudah, 2012).

Leurs conséquences métaboliques sont nombreuses; une perturbation métabolique de la voie des ptérines hyperphénylalaninémie. Déficit en un neurotransmetteur (la dopamine) induisant une augmentation de prolactine et une baisse d'acide homovanilique et le déficit en catécholamines et mélanine et le déficit en sérotonine induisant une baisse de l'acide-5-hydroxyindolacétique dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) (figure 9) (Audrey, 2011).



■ Blocage enzymatique

**Figure 09 :** Schéma des déficits enzymatiques responsables d'hyperphénylalaninémie (Audrey, 2011).

GTPCH : GTP cyclohydroxylase I

TPH: tryptophane hydroxylase

TH: tyrosine hydroxylase

DHPR : dihydroptéridine réductase

BH4 or THB: tétrahydrobioptérine

q. BH2 ou q. DHB : quinoïdes dihydrobioptérine

GTP: guanosine triphosphate

PTPS : 6-pyruvoyl-tétrahydroptérine synthétase

SR : sépiaptérine réductase

PAH: phénylalanine hydroxylase

PCD : pterine-4- $\alpha$ -carbinolamine déshydratase

HVA : acide homovanilique

NOS : nitric oxyde synthétase

5-HIAA : acide-5-hydroxyindolacétique

## II.5.2. Les maladies héréditaires du métabolisme

Les maladies héréditaires liées aux métabolismes résultent d'un déficit enzymatique, total ou partiel, consécutif à une mutation sur le gène codant l'enzyme considéré. La perte ou la diminution d'activité de la voie avec pour conséquence une diminution des produits en aval du déficit (déficit fonctionnel ou déficit énergétique) ou une augmentation des produit en ament (toxicité) (Sablonnière, 2010).

- La tyrosinase est inactive dans une maladie héréditaire, l'**albinisme**. il n'a aucun effet sur les fonctions mentales (Andreasen, 2001). Les albinos se caractérisent par une absence de pigment cutané, par des cheveux très clairs et par des troubles de la vision (Kruh, 1989).
- Une anomalie héréditaire, l'**alcaptonurie**, est due à l'absence congénitale d'homogentisate oxydase (voet et voet, 2005 ; Zschocke et Hoffmann, 2005). Elle se manifeste par l'élimination dans les urines de grandes quantités d'acide homogentisique. En milieu, alcalin l'acide homogentisique s'oxyde en quinone qui se polymérise en un composé noir. Cette anomalie est sans gravité (Kruh, 1989 ; Horn, 2005).
- La phénylpyruvate se forme à partir de phénylalanine par transamination. Sa production va être augmenté du fait que la conversion en tyrosine est bloquée et que la Phe s'accumule. la concentration de phénylpyruvate est élevée dans le plasma et dans l'urine. D'où le nom de la maladie : Phénylcétonurie (Horn et al., 2005 ; feuillet, 2006). Elle se caractérise par un retard mental grave (Kruh, 1989 ; Voet et Voet., 2005 ; Cooper, 1999).
- La dopamine est concentrée dans le corps strié et joue un rôle essentiel dans le contrôle des mouvements volontaires. En son absence se développe la maladie de parkinson caractérisé par une rigidité et des tremblements (Kruh, 1989).

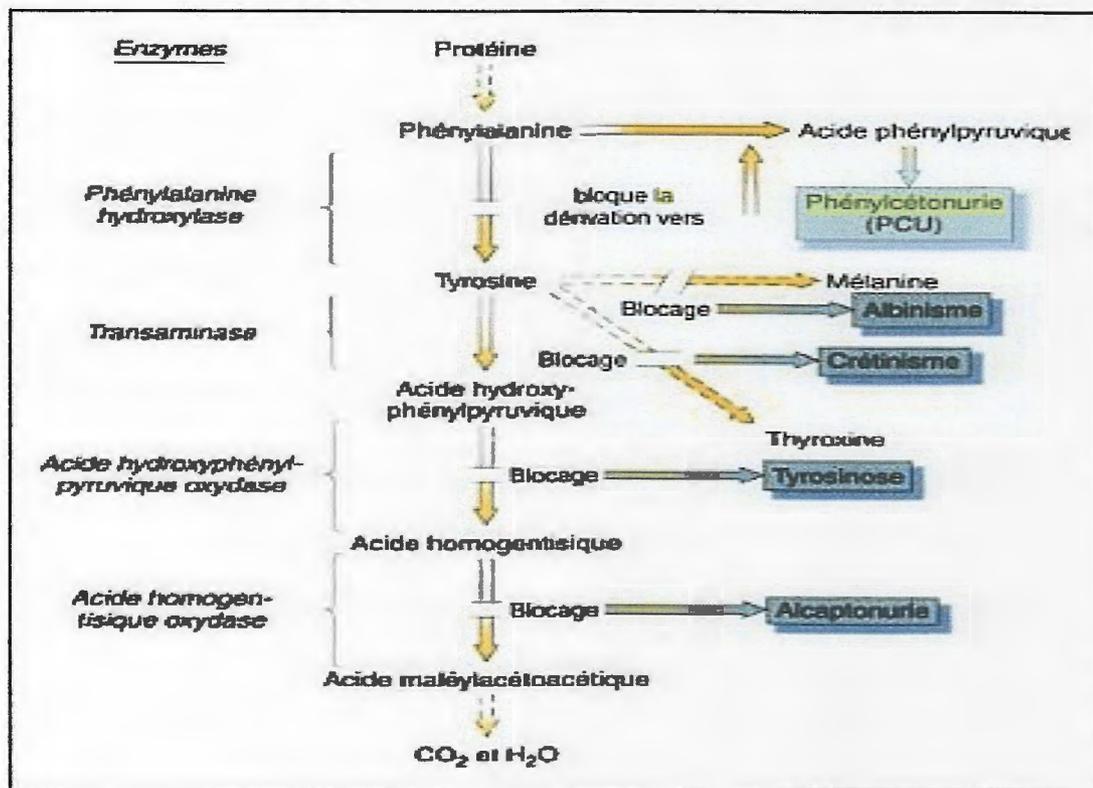


Figure 10: Quelques exemples de maladies génétiques humaines (Griffiths et al., 2001).

## II.6. Expressions cliniques du déficit de phénylalanine hydroxylase

La Phe est un acide aminé essentiel dont les apports dépendent exclusivement de l'alimentation. Ces apports doivent satisfaire les besoins pour l'homéostasie en Phe dans la synthèse des protéines de l'organisme. Les besoins physiologiques en Phe chez l'homme varient peu avec l'âge (HAS, 2010).

Le déficit enzymatique de la PCU concerne la PAH. La PAH est une enzyme exclusivement hépatique qui n'existe pas dans le cerveau. Elle transforme la Phe en Tyr avec comme cofacteur le BH<sub>4</sub>. Ce cofacteur a lui-même une voie métabolique de synthèse et un système enzymatique de recyclage dont les différents déficits enzymatiques sont également responsables d'une hyperphénylalaninémie néonatale (Feuillet, 2006). Le taux de Phe sérique augmente relativement, de la sévérité du déficit enzymatique. En conséquence, les patients atteints de PCU ne peuvent tolérer qu'une quantité journalière restreinte de Phe sinon leur taux de Phe atteint des niveaux toxiques responsables de la symptomatologie clinique. La pathogénie de la PCU résulte de plusieurs mécanismes : plusieurs métabolites toxiques s'accumulent dans le cerveau, essentiellement la Phe elle-même mais aussi des métabolites secondaires (phénylactate, phénylpyruvate et phénylacétate) ; le déficit en PAH est responsable d'un déficit en Tyr qui devient un acide aminé essentiel. Or la Tyr est le précurseur de neurotransmetteurs comme la dopamine, l'adrénaline, et la noradrénaline (Feuillet et Bonnemaïn, 2011). Ce déficit en Tyr

entraîne également un déficit en mélanine qui va engendrer les anomalies cutanées et phanériennes observées dans les PCU non traitées; la Phe entre en compétition avec les autres acides aminés neutres pour pénétrer dans le cerveau car ils utilisent un transporteur commun L-Aminoacide Transporter 1(LAT1). L'hyperphénylalaninémie est donc responsable d'un déficit intracérébral en acides aminés neutres, en particulier la Tyr et le tryptophane (Trp), précurseurs de nombreux neurotransmetteurs. Il en résulte une altération de la synthèse protéique intracérébrale et de la synthèse des neurotransmetteurs (HAS, 2010; Feuillet et Bonnemains, 2011).

Un défaut de myélinisation a également été mis en évidence. Les mécanismes responsables sont multiples : anomalies du stress oxydant, activation de gènes intracérébraux par la Phe et surtout anomalies des neurotransmetteurs liés aux systèmes sérotoninergique, catécholaminergique et glutamaergique.

Les lésions neurologiques sont initialement réversibles. Ce n'est qu'après une exposition chronique à des taux de Phe élevés que ces lésions deviennent irréversibles. Comme dans de nombreuses maladies métaboliques, il n'y a pas de stricte corrélation entre le génotype et le phénotype, mais il existe une grande hétérogénéité de l'expression clinique. Certains patients PCU auraient une intelligence normale sans traitement. L'histoire naturelle de la PCU peut être modifiée par l'influence de gènes modificateurs. Le pronostic intellectuel est en réalité lié aux taux intracérébraux de Phe dont les taux plasmatiques ne sont qu'un reflet infidèle (HAS, 2010).

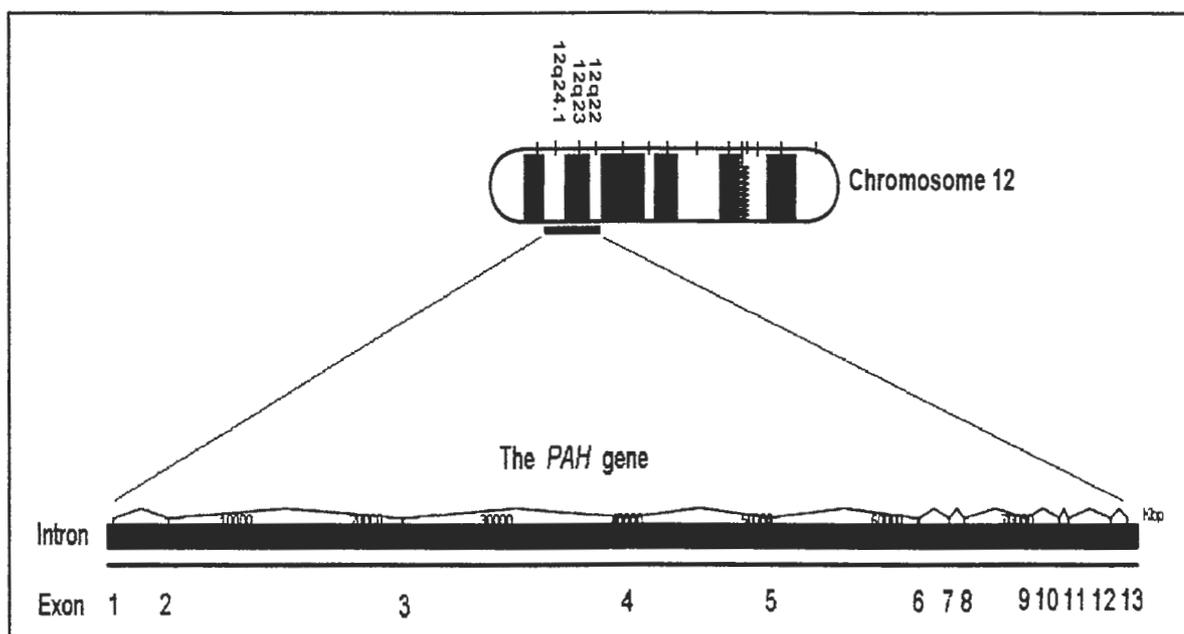
# *CHAPITRE II*

*Les aspects génétique  
du déficit en PAH*

La phénylalanine hydroxylase est une enzyme fabriquée suivant un programme génétique très précis. Une mutation du gène de structure peut entraîner la formation d'une protéine à activité réduite ou nulle. Cette enzymopathie est une maladie héréditaire récessive autosomique. Elle n'apparaît que si les deux parents sont hétérozygotes et le risque à chaque grossesse d'avoir un enfant atteint est de 25%. L'incidence est d'environ 1/16000 naissances, ce qui correspond à environ 1 hétérozygote sur 60 dans la population (Gjetting et al., 2001).

## II.1. La localisation du gène de PAH

Le gène qui code la phénylalanine hydroxylase (PAH) est situé sur le bras long du chromosome 12 dans la région 2, bande 4 et sous bande 2 (12q24, 2). Il contient 13 exons répartis sur une distance approximative de 100 Kb (figure 11) (Woo et al., 1983 ; Scriver, 2007). Une région complexe à l'extrémité 5' non traduite contenant des éléments de régulation trans-actives agissant en cis. Le gène est riche en marqueurs polymorphes intra géniques, y compris un polymorphisme biallélique des fragments de restriction et un seul polymorphisme nucléotidique (SNP) des allèles, une courte répétition en tandem d'un tétranucléotide agissant comme une horloge moléculaire rapide dans l'intron 3, et un nombre variable de répétitions en tandem (VNTR) (30 cassettes en Pb de longueur) dans la région 3 'non traduite (Sullivan et Huret, 1985 ; Sorn et al., 2007).



**Figure 11 :** Représentation schématique du locus PAH sur le chromosome 12 (Pasternak, 2003; Ranaud, 2010).

## II.2. Le mode de transmission du déficit en PAH

Le mode de transmission du déficit en PAH est autosomique récessif. Tout le monde possède deux gènes codant pour la PAH. Pour qu'un enfant naisse avec la maladie, il faut que les deux parents soient porteurs de la mutation. La PCU apparaît quand le gène qui fournit le plan de production de la phénylalanine hydroxylase est défectueux (**Blau et al., 2010**). Tout sujet possédant un gène défectueux est porteur de la maladie, mais n'est pas atteint et peut transmettre le gène anormal à ses enfants (figure 12).

La fréquence des porteurs sains est de 1/50. Le risque de survenue de la maladie chez un autre enfant d'un couple ayant déjà un enfant atteint est de 1 sur 4 si ceux-ci ne sont pas malades (**Feuillet, 2006**).

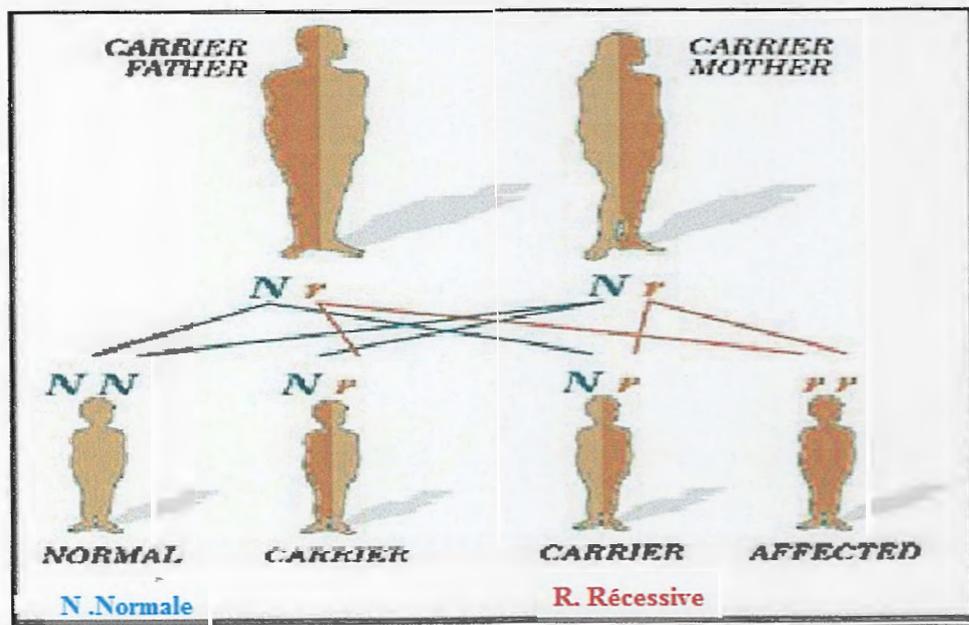


Figure12 : le mode de transmission de la maladie (**Nowacki et al., 2003**).

## II.3. Les différents types des mutations

Les mutations observées dans la PAH comprend des mutations faux-sens dans les sites d'épissage, des mutations non-sens et des petites suppressions et insertions (tableau 3) (**Kayaalp et al., 1997; Waters et al., 1998**).

Toutes ces mutations ne modifient que quelques séquences du gène. Il faut les distinguer des remaniements plus importants qui pourraient entraîner la disparition complète du gène (**Masselot, 2003**).

La plupart des mutations faux-sens trouvées dans le gène codant la PAH provoque un mauvais repliement de la protéine et donc la perte de la fonction enzymatique (Pey et al., 2007). Ces mutations ont été observées dans les exons 5 et 7, ce qui entraîne la substitution de Arg par Gln au niveau des résidus 158 et 261 de l'enzyme, respectivement (Okano et al., 1990).

Les mutations du gène PAH peuvent être classées en fonction de la mesure dans laquelle l'activité enzymatique est affectée. Contrairement aux mutations pathogènes, des mutations silencieuses n'ont pas d'incidence sur l'activité de la PAH (Fusetti et al., 1998).

Les mutations pathogènes se produisent souvent dans les zones de réticulation entre les exons ou entre un exon et l'intron qui affecte la transcription et la traduction; ces interférences affectent le repliement des protéines et de l'agrégation, et accélèrent la dégradation, ce qui influence sur l'activité catalytique de PAH (Gjetting et al., 2001).

**Tableau 03 :** Répartition de la plupart des mutations du gène PAH (Kayaalp et al., 1997; Waters et al., 1998).

Type de mutation	Représentation graphique	%
Faux sens		62,85
Délétion		12,96
Epissage		11,23
Silencieuse		5,62
Non sens		5,18
Insertion		1,30

#### II.4. Classification des mutants de PAH

Parmi les 500 formes différentes du gène PAH quelques unes ont été caractérisées : 31 modifications de la séquence protéique de l'enzyme n'entraînent aucune modification chez l'individu ni de son taux de phénylalanine sérique. Parmi les autres formes on distingue 4 types avec un taux sérique qui atteint ou dépasse 1000 µmg/L avec la nécessité d'un régime pour éviter les atteintes cérébrales (Kayaalp et al., 1997):

**-Type I :** Si la dose journalière tolérable de Phe apportée dans les aliments doit être inférieure à 250 mg/jour. La forme de PCU est classique;

**-Type II :** si la dose journalière tolérable de Phe apportée dans les aliments est comprise entre 350 et 400 mg/jour. La forme de PCU est modérée;

**-Type III :** si la dose journalière tolérable de Phe apportée dans les aliments est comprise entre 400 et 600 mg/jour. La forme de PCU est légère;

**-Type IV :** un taux de Phénylalanine sérique supérieur à la normale mais inférieur à 600 µmg/L. Les sujets qui on cette forme ne présentent aucun des signes cliniques de PCU et ils ont juste une hyperphénylalaninémie (HPA non PCU) avec une alimentation normale (**Kayaalp et al., 1997; Feuillet et al., 2010**)

Les allèles du gène de PAH ont pu être classés car on ordonnait de sujets porteurs de la même mutation sur les deux chromosomes homologues (homozygotes) mais qui n'ont pas le même phénotype (Tableau 4) (**Krawczak et Zchocke, 2003**).

L'incidence de la PCU est d'environ 1/16 000 naissances, ce qui correspond à environ 1 hétérozygote sur 60 dans la population (**Waters et al., 1998**).

**Tableau 04:** Phénotype associé à quelque allèle du gène PAH chez les homozygotes (Krawczak et Zchocke, 2003).

<b>Forme mutés</b>	<b>phénotype</b>
I65	Modéré à fort
D129G	léger
R176L	HPA non PCU
R252W	classique
R261Q	Modéré à fort
R261X	classique
R408W	classique
L348V	Classique
V388M	Modéré à fort
Y414C	Modéré à fort
R408W	classique
R408Q	HPA non PCU
Y417H	léger

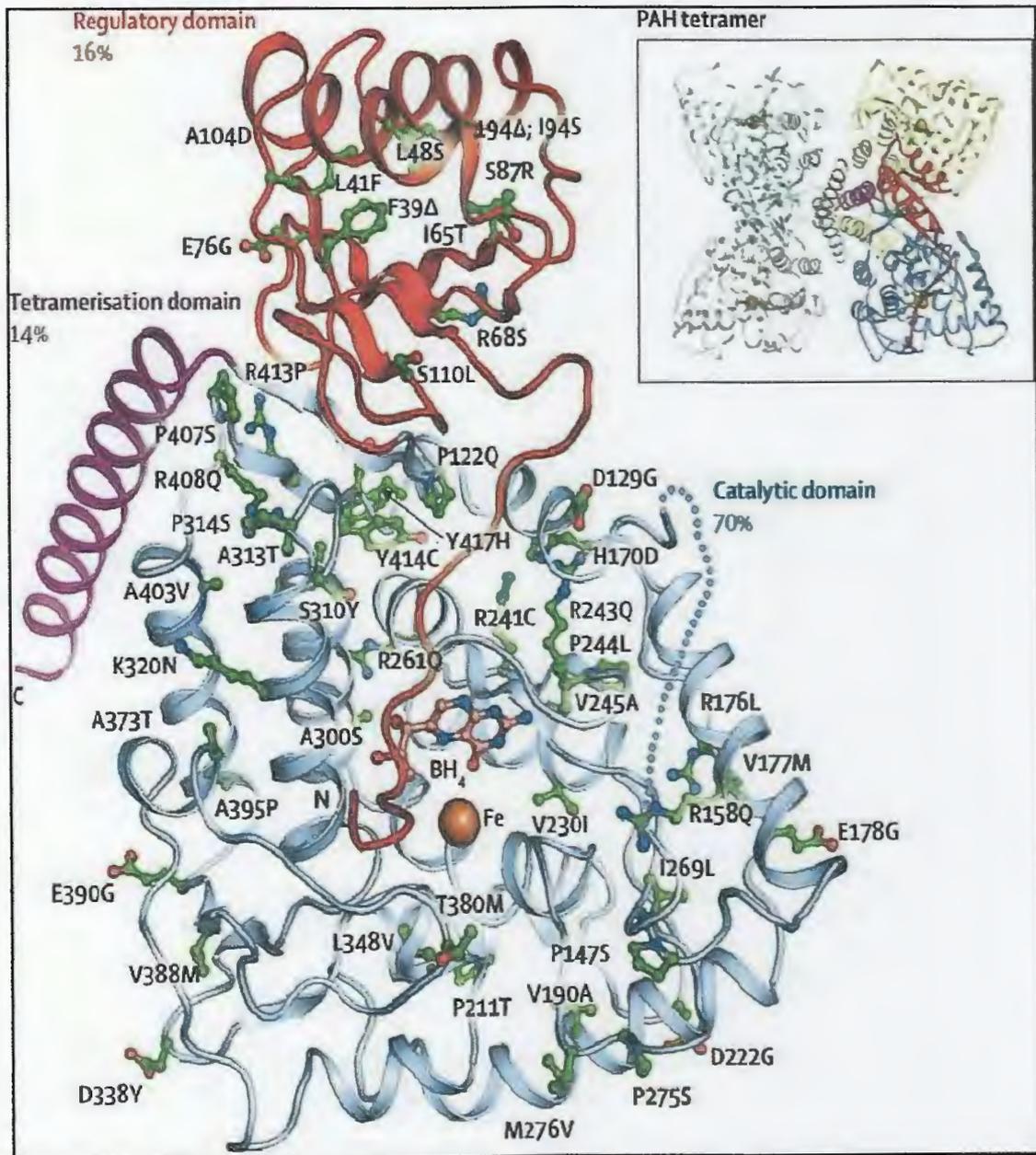
## II.5. La corrélation phénotype-génotype

Les caractéristiques fonctionnelles des différentes mutations génétiques du PAH ainsi que les corrélations génotype-phénotype ne sont pas toujours simples (Scriver et Waters, 1999). Sur le plan enzyme, il ya des mutations qui provoquent des altérations structurelles graves ou de détruire le domaine catalytique de l'enzyme, donc le résultat est l'absence de la fonction. Le métabolisme de phénylalanine avec ces mutations peut être influencé par d'autres facteurs, y compris la concentration de la tétrahydrobioptérine (Kure et al., 1999). Les analyses de la relation génotype-phénotype ont abouti à un système pour classification des mutations PAH comme sévère, modérée, légère, ou HMP (Guldborg et al., 1998). La gravité des mutations fréquentes dans une population particulière détermine la fréquence relative des différentes formes du déficit PAH. La fréquence élevée des PCU sévère est expliqué par la forte proportion de mutations (Zchocke, 2003).

## II.6. La localisation des mutations dans la structure du gène PAH

Des études récentes de la structure de la PAH ont fourni des informations sur le site actif et les sites de liaison de ses substrats et de son cofacteur. Il dispose trois domaines structuraux constitué d'un domaine de régulation N-terminal (résidus 1 - 142), un domaine catalytique central (résidus 143-410), et un domaine de tétramérisation en C terminal (résidus 411-452) (figure 13) (Blau et Erlendsen, 2004 ; Kim et al., 2006; Sorn et al., 2007).

70% des mutations se situent dans le domaine catalytique, 16% des mutations sont dans le domaine de régulation et 14% sont dans le domaine tétramérisation (Zurfluh et al., 2008; Audrey, 2011).



**Figure 13:** Structure cristalline tridimensionnelle de la mutation de trois domaines de phénylalanine hydroxylase (Zurfluh et al., 2008 et Audrey, 2011)

**En bleu :** les mutations dans le domaine catalytique, **en rouge :** les mutations dans le domaine de régulation, **en mauve** des mutations dans le domaine de tétramérisation.

# CHAPITRE III

*Dépistage de déficit  
en phénylalanine hydroxylase*

La PCU est dépistée dans toute l'Europe et dans de très nombreux pays du monde (Abadie, 2001). Il existe plusieurs tests de dépistage disponibles : le test d'inhibition bactérienne (le test initialement développé par Guthrie), la fluorimétrie, et la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). La précision du test est la meilleure si le test est réalisé après 24 heures mais avant 7 jours de vie (HAS, 2011).

### III.1. Mis en place du dépistage néonatal

La mise en place d'un tel programme de dépistage ne se comprend que si un système d'évaluation peut en estimer régulièrement l'efficacité et la pertinence (De Parscau, 2001). Tout d'abord il est important de connaître les enjeux et les critères permettant un dépistage néonatal. Par définition, le dépistage néonatal est un dépistage de masse destiné à toucher tous les nouveau-nés dans le but de détecter une ou plusieurs affections, le plus souvent héréditaires, à des fins de prévention secondaire. Il s'inscrit dans le cadre des dépistages généralisés à l'ensemble ou à une fraction ciblée de la population. En 1968, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a défini les critères auxquels devait répondre une maladie pour justifier un dépistage de masse :

- 1- La maladie représente un problème important de santé publique;
- 2- Elle est détectable à un stade précoce, avant ou tout au début de l'apparition de symptômes cliniques;
- 3- Son évolution est connue ;
- 4- Il existe un traitement efficace préventif ou curatif de la maladie;
- 5- On dispose d'un test de détection fiable au stade préclinique;
- 6- Ce test est acceptable par la population en général et recueille l'assentiment du sujet testé ou, si c'est un enfant, de ses parents, qui doivent bénéficier d'une information claire sur la nature du test, la signification des résultats et les possibilités thérapeutiques;
- 7- Le malade dépisté peut être examiné, traité et suivi dans le cadre de structures médicales performantes;
- 8- Le programme de dépistage doit pouvoir être pérenne;
- 9- Le coût du dépistage doit être modéré et ne pas excéder celui de la prise en charge du malade (Ardailou et Gall, 2007).

Lors des discussions pour la mise en place d'un tel dépistage, la phénylcétonurie répondait parfaitement aux critères; C'est une maladie dont on connaissait la pathogénie. Elle avait un pronostic très sévère et aucun traitement ne paraissait possible du fait du caractère irréversible des lésions neurologiques au moment du diagnostic.

L'hyperphénylalaninémie constituait un marqueur spécifique suffisamment discriminant pour distinguer les sujets sains et les malades, et permettait de la reconnaître dès la période néonatale

(De Parscau, 2001). Mais avant tout, le dépistage doit être accepté par les parents ainsi que, s'il est positif, l'analyse génétique permettant d'identifier la mutation en cause lorsqu'elle est nécessaire, tout résultat positif doit conduire à la prise en charge immédiate du nouveau né dans un but d'amélioration du pronostic et, enfin, tout programme de dépistage organisé doit être évalué régulièrement (Ardailou et Gall, 2007).

### III.2. Réalisation du dépistage

#### III.2.1. le test de Guthrie

En 1963, Robert Guthrie publiait une méthode permettant d'envisager un dépistage néonatal systématique des maladies métaboliques. Cette méthode, associant un prélèvement de sang recueilli sur papier filtre et un test simple, fut d'abord appliquée au dépistage néonatal de la phénylcétonurie (Dhondt et Farriaux, 2000).

Le principe de ce test bactériologique est d'inhiber la croissance d'un bacille par un analogue de la phénylalanine et de lever cette inhibition par des pastilles de papier buvard imprégné de sang riche en phénylalanine déposé sur la gélose (De parscau, 2001).

Le prélèvement de sang pour le test de Guthrie est actuellement réalisé chez tous les nouveau-nés au troisième jour de vie (De Parscau, 2001; Feuillet, 2006; HAS, 2010).

Le prélèvement sanguin utilisé est un prélèvement capillaire. Un prélèvement veineux peut lui être préféré en raison de la douleur moins importante de ce type de prélèvement mais les recommandations nationales et internationales demeurent le prélèvement au talon (Dhondt, 2010; Audry, 2011).

Les gouttes de sang sont ensuite déposées sur un papier buvard standardisé et de le laisser sécher à température ambiante (un disque de 6 mm imprégné de sang séché équivaut à 10 µl de sang) (De Parscau, 2001). Le dépistage se fait entre 72 et 96 heures de vie à partir de la goutte de sang séchée sur papier buvard (HAS, 2011).

La qualité du remplissage des taches de sang est essentielle car les automates sont étalonnés pour un certain taux d'hémoglobine/ cm<sup>2</sup> de carton buvard. La qualité du relevé des informations sur le nouveau-né dépend de la facilité à le retrouver en cas de résultat positif (Audry, 2011).

#### III.2.2. La spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)

Dans les années 1990, la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) a été appliquée au dépistage néonatal ; cette technologie permet de dépister rapidement et simultanément en une seule étape analytique sur un même échantillon, entre autres sur le carton Guthrie.

L'objet d'un dépistage néonatal par des tests biologiques, la PCU, est susceptible d'être dépistée en routine par MS/MS (HAS, 2011).

La MS/MS fournit une mesure quantitative de la concentration en phénylalanine et permet en outre de mesurer simultanément la concentration en tyrosine, le ratio phénylalanine/tyrosine étant utilisé comme critère supplémentaire pour le diagnostic de la PCU.

En dépistage néonatal de MS/MS, le seuil de concentration en phénylalanine utilisé était de 180  $\mu\text{mol/L}$ . En outre, le ratio phénylalanine/tyrosine  $> 2,5$  a été utilisé comme critère supplémentaire. La MS/MS a permis de détecter l'ensemble des cas de PCU et d'HPA confirmés et de réduire le nombre de faux positifs, en particulier lorsque le ratio phénylalanine/tyrosine était utilisé. D'après les études réalisées dans le contexte de programmes de dépistage, la sensibilité de la MS/MS est estimée à 100 % et sa spécificité à 99,95 %- 99,96 % (HAS, 2011).

### III.2.3. La fluorimétrie

La fluorimétrie fournit une mesure quantitative de la concentration en phénylalanine dans le sang. Les analyses initiales par fluorimétrie ont utilisé une valeur seuil de concentration en phénylalanine de 258  $\mu\text{mol/L}$  pour l'HPA (HAS, 2011).

Le dépistage est déclaré positif lorsque le taux de Phe est supérieur à 3 mg/dl (180  $\mu\text{mol/l}$ ). Cependant, la prise en charge immédiate dépend du niveau de Phe dosé lors de ce dépistage. Schématiquement, deux situations sont possibles :

- Le taux est situé entre 3 et 5 mg/dl (180-300  $\mu\text{mol/l}$ ) : le laboratoire de dépistage demande un prélèvement de contrôle :

- Si le taux est inférieur à 3 mg/dl (180  $\mu\text{mol/L}$ ) : le nouveau-né est classé dans les dépistages négatifs.
- Si le taux de contrôle est supérieur à 3 mg/dl (180  $\mu\text{mol/L}$ ), le dépistage est alors déclaré positif et le nouveau-né rejoint le groupe des enfants pris en charge médicalement.

- Le taux de dépistage est supérieur à 5 mg/dl (300  $\mu\text{mol/L}$ ) : le laboratoire de dépistage prévient immédiatement le centre médical responsable du traitement où l'enfant sera examiné et bénéficiera des examens suivants :

- Le contrôle du taux de Phe : Le taux plasmatique en Phe doit être contrôlé toutes les 48 heures par dépôt de sang sur papier buvard, jusqu'aux chutes des taux à 2 mg/dl. Parallèlement, les parents sont formés à la réalisation de prélèvements sanguins à l'aide de lancettes.
- Le dosage des bioprotéines urinaires et de l'activité de la dihydroptéridine réductase (DHPR) sanguine pour dépister un déficit du métabolisme du BH4: Le dosage des bioprotéines urinaires et la mesure de l'activité de la DHPR ne sont réalisés que si le taux plasmatique de Phe de contrôle est supérieur à 8mg/dl (480  $\mu\text{mol/L}$ ).

Ces analyses sont faites pour mettre en relief d'éventuels dysfonctionnements dans la voie de synthèse du BH4 qui sont principalement responsables de « variants » de PCU.

Les bioprotéines urinaires sont dosées pour mettre en évidence un hypothétique déficit en GTP cyclohydrolase I et l'activité de la DHPR est mesurée dans les globules rouges (**Dhondt et Hayte, 2002**). Ces examens doivent être réalisés en pratique avant le test de charge en BH4 (**HAS, 2010**).

- Le bilan hépatique et la chromatographie des acides aminés plasmatiques pour éliminer les autres causes d'hyperphénylalaninémie : le bilan hépatique et la chromatographie des acides aminés plasmatiques constituent un élément de diagnostic différentiel pour les HPA secondaires (**HAS, 2010**).
- Le test au BH4 si le taux de Phe de contrôle est supérieur à 8 mg/dl (480  $\mu\text{mol/L}$ ) : Le test au BH4 est indispensable pour déterminer si le patient atteint de PCU est sensible ou non au chlorhydrate de saproptérine. Il peut être réalisé à tout âge, y compris en période néonatale. Le test de charge en BH4 doit s'insérer dans la prise en charge normale des enfants dépistés pour une HPA. Il ne doit pas retarder la mise sous régime.

Le principe est d'administrer une charge orale d'une dose unique de 20 mg/kg de BH4 le matin à jeun chez un enfant dont le taux de Phe est supérieur à 8 mg/dl (480  $\mu\text{mol/L}$ ) avant la mise sous régime. Pendant le test, l'enfant est alimenté normalement (allaitement maternel ou lait artificiel normal).

Le dosage de la phénylalanine s'effectue aux temps suivants (h) : 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24h à partir de deux taches de sang déposées sur le papier de Guthrie (**HAS, 2010**). Quatre profils possibles sont observés après une charge en BH4 :

- Pas de sensibilité : pas de modification du taux de Phe à 24 heures (moins de 30 % de variation par rapport au taux de base) n'induisant pas de possibilité de traiter le patient par BH4,
- Sensibilité partielle: diminution d'au moins 30 % du taux de Phe dans les 24 heures après la charge. L'indication thérapeutique doit alors être évaluée patient par patient,
- Sensibilité totale: normalisation du taux de phénylalanine dans les 24 heures après la charge induisant une possibilité de traitement du patient par BH4,
- Déficit de synthèse en BH4 : normalisation du taux de phénylalanine dans les 4 à 6 heures suivant la charge. Le traitement dans ce cas précis sera du BH4 associé à des neurotransmetteurs (**Audry, 2011**).

#### IV.3. Dépistage différentiel

Le diagnostic différentiel se pose essentiellement devant un dépistage néonatal positif, c'est-à-dire un taux de Phe  $\geq 3$  mg/dl. Il y a un certain nombre d'hyperphénylalaninémie secondaires qu'il faut identifier (**Feuillet, 2006; HAS, 2010 ; Feuillet et Bonnemains, 2011**) :

#### ❖ Avec hypertyrosinémie

- Hyperphénylalaninémie transitoire (qui touche surtout les prématurées).
- Augmentation de la prise alimentaire de protéine.
- Maladie hépatique (incluant la galactosémie et la tyrosinémie).

#### ❖ Sans hypertyrosinémie

- Hyperphénylalaninémie transitoire;
- Secondaire à un médicament (triméthoprime, méthotrexate, anti foliques);
- Maladie inflammatoire sévère;
- Maladie rénale.

### III.4. Le diagnostic des adultes

Le diagnostic de la PCU à l'âge adulte s'adresse à des personnes où le dépistage n'est pas réalisé à la naissance ou bien présentent des signes légers. Malgré les signes d'appel caractéristiques de cette maladie, certains malades développent des formes peu symptomatiques pouvant passer inaperçues. Le diagnostic peut également être réalisé chez des patientes après une mise au monde d'enfants ayant une embryofetopathie accompagné d'une microencéphalie. Le diagnostic des adultes s'effectue généralement par un dosage des acides aminés plasmatiques (**Audry, 2011**).

De plus, des taux élevés de Phe à l'âge adulte peuvent se traduire par une efficacité moindre de la mémoire et par des troubles légers du comportement (distraction, agressivité, etc.). Les patients concernés (et/ou leur entourage) apprennent à se connaître et savent à quels taux ces troubles apparaissent. La prise en charge des patients adultes doit être individuelle et tenir compte des avantages de la libéralisation du régime et des éventuels inconvénients sur le comportement.

Le niveau optimal d'équilibre de la Phe plasmatique sera alors déterminé en tenant compte de ces paramètres (**Feillet, 2006**).

### IV.5. Grossesses chez les femmes ayant une PCU

Des embryofetopathies hyperphénylalaninémies chez des femmes ayant une PCU non traitées pendant leurs grossesses ont été observées alors qu'un contrôle des taux de Phe maternel pendant la grossesse permet d'obtenir des enfants tout à fait normaux (**Feillet, 2006**). Cette embryofetopathie se traduit chez le nouveau-né par des malformations osseuses, cardiaques et oculaires congénitales, une microencéphalie, une hypotrophie et une arriération mentale (**Feingold et al., 1998; De parscay, 2001; Chabert et Gobert, 2007**). Elle est directement liée à la toxicité de la Phe quand ses taux sont trop élevés chez la mère (**Feillet, 2006**).

Le traitement consiste en un régime pauvre en phénylalanine. Le régime remplace une quantité calculée de protéines naturelles par un substitut de protéines sans phénylalanine. Ce substitut comporte également des glucides, des lipides et des micronutriments (vitamines, oligoéléments). Initialement le nouveau-né est soumis à un régime exclusivement à base de substitut et les protéines naturelles, sous forme de lait (contenant de la phénylalanine) sont réintroduites progressivement en fonction des concentrations de Phe plasmatique. Après la diversification, des aliments riches en protéines sont interdits, d'autres à teneur protéique modérée sont autorisés en quantité mesurée; Certains aliments sans protéines (sucres, beurre, huiles) sont autorisés sans limitation (dans la limite d'apports caloriques adaptés).

# *CONCLUSION*

Le déficit en phénylalanine hydroxylase résulte une maladie héréditaire appelé la phénylcétonurie. due à l'accumulation sanguine de la PAH et apparition de ces dérivés dans les urines.

Le mode de transmission du déficit en PAH est autosomique récessif. Les mutations observées dans la PAH comprennent des mutations faux-sens dans les sites d'épissage, des mutations non-sens et des petites suppressions et insertions

Il existe plusieurs tests de dépistage disponibles, dont la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), la fluorimétrie et le tests de Guthrie.

Il y a des essais cliniques et des recherches sur l'utilisation de la thérapie génique afin de modifier les gènes défectueux pour prévenir et traiter la PCU. Toute fois, aucune d'entre elles n'ont été mis à usage clinique large et l'alimentation demeure l'un des seules méthodes pour la gestion de cette condition.

La prise en charge de la phénylcétonurie est modifiée avec l'apparition de nouveaux traitements (BH<sub>4</sub>, acides aminés neutres) et la perspective de traitement révolutionnaires par la thérapie génique ou l'administration du phénylalanine ammonia lyase qui catalyse la conversion de la phénylalanine en acide trans-cinnamique et en ammonium. Ces derniers ne sont pas toxiques et qui seront éliminé dans les urines.

*Références  
bibliographiques*

- Abadie V. (2001).** Phénylcétonurie maternelle et reproduction : comment ne pas perdre les bénéfices du dépistage. *Médecine thérapeutique / pédiatrie* .4(6): 419-423.
- Abadie V., Berthelot J., Feillet F., Maurin N., Mercier A., Baulny H.O et Parscau L. (2005).** Consensus national sur la prise en charge des enfants dépistés avec une hyperphénylalaninémie. *Archives de pédiatrie*. 12: 594–601.
- Abita J.P., Milstein S, Chang N and Kaufman S. J. (1976).** Biologie. *Chem*. 251:5310–5314.
- Andreasen N.C. (2001).** Brave new brain : vaincre les maladies mentales a l'ère du génome.1<sup>e</sup> édition. Oxford University press, Inc New York, USA. P: 128.
- Ardaillou R et Gall J.Y. (2007).** Le dépistage néonatal généralisé par des tests d'analyse biologique. *Gynécologie obstétrique fertilit*. 35(4):367-374.
- Audrey C. (2011).** La phénylcétonurie, du dépistage au nouvelles thérapeutiques .thèse de doctorat. Université de limoges .faculté de pharmacie .P:23-56.
- Berdgoll M. (1997).** Proline-dépendent Oligomerization With Arm Exchange. *Structure*. 5: 391-401.
- Blau N et Erlandsen H. (2004).** Molecular Genetics and Metabolism. *Mol genet Metab*. 28(2): 101-111.
- Blau N., van Spronsen F. J. and Levy H. L. (2010).** Phenylketonuria. *Lancet* 376: 1417-1427.
- Boudah A. (2012)** Profil des pteridines non conjuguées dans les liquides physiologiques. *Annales de biologie clinique*. 23(7):14.
- Chabert M et Gobert S. (2007).** Guide des analyses spécialisées. 5<sup>e</sup> édition. Elsevier Masson SAS et Laboratoire pasteur cerba. France. P: 111-114.
- Christ S. (2003).** Asbjorn Folling and the discovery of phenylketonuria. *J. Hist. Neurosci*. P:44–54.
- Cooper G.M. (1999).** La cellule: une approche moléculaire. Edition de Boeck université. Parie. P: 74.
- Declercq P. (2001).** Troubles métaboliques héréditaires in: repères en diagnostic de laboratoire louvain Garant (Bossuyt X, Boeynaems J.M). Belgique .P: 443.
- De Parscau L. (2001).** Dépistage néonatale: le modèle de la phénylcétonurie. *Médecine thérapeutique /Pédiatrie*. 4 (6):414-418.
- Dhondt J-L. (2010).** Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE). *Archives de Pédiatrie*. 17(10): 1394-1397.

- Dhondt J.L et Farriaux J.L. (2000).** L'histoire du dépistage néonatal. *Annales de biologie clinique* .58(3):267-276.
- Dhondt J. L et Hayte J.M. (2002).** Repérage des hyperphénylalaninémies par déficit en tétrahydrobioptérique *Annales de biologie clinique*. 60(2):165-171.
- Erlandsen H., Fusetti F., Martínez A., Hough E., Flatmark T. and Stevens R. C. (1997).** Crystal structure of the catalytic domain of human phenylalanine hydroxylase reveals the structural basis for phenylketonuria. *Nat Struct. Biol.* 4: 995-1000.
- Estrel M.W. (2007).** Biochimie et biologie moléculaire. Dunord. Parie. P: 587.
- Feingold J., Fellous M and Solignac M. (1998).** Principale génétique humaine. Edition des sciences. Parie.P:450.
- Feuillet F. (2006).** la phénylcétonurie. *La Press Med.*35:502-508.
- Feuillet F et Bonnemains C in Chabrol B et Lonlay P : Feuillet F et Bonnemains C. (2011).** Phénylcétonurie in: maladies métabolique héréditaires .Paris. P: 39-40.
- Feillet F., van Spronsen F. J., MacDonald A., Trefz F. K., Demirkol M., Giovannini M., Bélanger-Quintana A. and Blau N. (2010).** Challenges and pitfalls in the management of phenylketonuria. *Pediatrics* .126: 333-341.
- Flatmark T et Stevens R. C. (1999).** Structural insight into the aromatic amino acid hydroxylases and their disease related mutant forms. *Chem. Rev.* 99: 2137-2160.
- Fitzpatrick P. F. (2012).** Allosteric regulation of phenylalanine hydroxylase Archives of Biochemistry and Biophysics. *Biochemistry and biophysics*. 519:194–201.
- Fusetti F., Erlandsen H., Flatmark T and Stevens R.C. (1998).** Structure of Tetrameric Human Phenylalanine Hydroxylase and Its Implications for Phenylketonuria *The journal of biological chemistry*. 273(27):16962–16967.
- Gilles C., Roy S., Odier de Baulny H., Benoist J.F Dhondt J.L.,Brion F and Rieutord A. (2006).** Une hyperphénylalaninémie par défaut de synthèses périphérique en tétrahydrobioptérique. *Journal de Pharmacie Clinique*. 25(3): 185-189.
- Gjetting T., Petersen M., Guldberg P and Guttler F. (2001).** Missense mutations in the N-terminal domain of human phenylalanine hydroxylase interfere with binding of regulatory phenylalanine. *Am. J. Hum. Genet.* 68: 1353-1360.
- Griffiths A. J . F., Gelbart W. M., Miller J.F et Lewontin R.C. (2001).** Analyse génétique moderne. 1<sup>e</sup> édition. De Boeck Université. Paris. P: 75.

- Guldberg P., Rey F., Zschocke J., Romano V., Francois B., Michiels L., Ullrich K., Hoffmann G.F., Burgard P., Schmidt H., Meli C., Riva E., Dianzani I., Ponzone A., Rey J and Guttler F. (1998).** A European multicenter study of phenylalanine hydroxylase deficiency: classification of 105 mutations and a general system for genotype-based prediction of metabolic phenotype. *Am J Hum Genet* .63:71–79.
- HAS. (2010).** Phénylcétonurie protocole national de diagnostic et de soins. France. P: 8-16.
- HAS. (2011).** Évaluation a priori de l'extension du dépistage néonatal à une ou plusieurs erreurs innées du métabolisme par la technique de spectrométrie de masse en tandem en population générale en France .*Service évaluation économique et santé publique*. P:12-70.
- Horn F., Lindenmier G., Grillhosl C., Moc L., Berghold S., Schneider N et Munster B. (2005).** Biochimie humaine. Edition Flammarion Médecine science .Paris .P:181.
- Kaufman S. (1999).** A model of human phenylalanine metabolism in normal subjects and in phenylketonuric patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96: 3160-3164.
- Kayaalp E., Treacy E., Waters P. J., Byck S., Nowacki P and Scriver C. R. (1997).** Human Phenylalanine Hydroxylase Mutations and Hyperphenylalaninemia Phenotypes: A Metanalysis of Genotype-Phenotype Correlations. *Am. J. Hum. Genet.* 61:1309–1317.
- Kim S.W., Jung J., Jeong O. H., Kim J., Lee K.W., Lee D.H., Park C ., Kimm K., Koo S.k and JungS.c. (2006).** Structural and functional analyses of mutations of the human phenylalanine hydroxylase gene .*Clinica Chimica Acta* .365: 279 – 287.
- Kobe B., Jennings I.G., House C.M., Michell B.J., Goodwill K.E., Santarsiero B.D., Stevens R.C., Cotton R.G.H. and Kemp B.E. (1999).** Structural basis of autoregulation of phenylalanine hydroxylase. *Nat Struct Biol.* 6: 442-448.
- Krawczak M et Zschocke J. (2003).** A Role for Overdominant Selection in Phenylketonuria? Evidence from molecular Data. *Human Mutation.* 21:pp394-397.
- Kruh J. (1989).** Biochimie. Hermann. Parie. P: 198-202.
- Kure S ., Hou D.C., Ohura T., Iwamoto H., Suzuki S., Sugiyama N., Sakamoto O., Fujii K., Matsubara Y and Narisawa K. (1999).** Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Pediatr.* 135:375–378.
- Leandro J., Simonsen N., Saraste J., Leanro P and Flatmark T. (2011).** Phenylketonuria as a protein misfolding disease: The mutation pG46S in phenylalanine hydroxylase promotes self-association and fibril formation. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1812: 106–120.
- Lemasson D. (1989).** Intérêt du dépistage de la phénylcétonurie : à propos de trois observations. Thèse de doctorat en médecine. Limoges. Université de Limoge .P:167.
- Masselot M. (2003).** Génétique. Parie .P:9

- Mortureux M. (2013).** AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. *Anses*. P: 6.
- Nowacki P.M., Capua A., Lilly M., Coté D., Phommavanh M and Rayan S. (2003).** The Montreal children's hospital hyperphénylalaninémie (PKU) Resource Booklet for Families. Montreal. Quebec. P: 8.
- Okano Y., Wang T., Eisensmith RC. Steinmann B., Gitzelmann and Woo S L. (1990).** Missense mutations associated with RFLP haplotypes 1 and 4 of the human phenylalanine hydroxylase gene. *Am Hum Genet*.46(1):18-25.
- Orsini J.C et Pellet J. (2005).** Introduction biologique à la psychologie. 2<sup>e</sup> édition. Bréal. P: 502.
- Pasternak J. (2003).** Génétique moléculaire humaine.1<sup>e</sup> édition .De Boek.Parie.P:28.
- Pettersen E.F., Goddard T.D., huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meny E.C And Ferrin T.E. (2004).** UCSF chimera a visualisation system for exploratory research and analysis.*Jcomput.chem*.25:1605-1612.
- Pey A. L., Stricher F., Serrano L et Martinez A. (2007).** Predicted effects of Missense mutations on native-state stability account for phenotypic outcome in phenylketonuria, a paradigm of misfolding diseases. *Am. J. Hum. Genet.* 81: 1006-1024.
- Raisonnier A. (2003).** Métabolismes des molécules signaux. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie .faculté de médecine .P:12
- Ranaud S. (2010).** La phénylcétonurie. Mémoire .université de Liège GIGA -Research. Faculté de Médecine. P: 2, 3,4.
- Richardson M.A., Laura L., Read, James D., Clelland., Chao H.M., Reilly M.A., Romstad A. and Suckow R.M. (2003).** Phenylalanine Hydroxylase Gene in Psychiatric Patients: Screening and Functional Assay of Mutations. *Biol psychiatry*.53:543-553 .
- Richaud S. (2012).** Vécu parental de l'annonce du diagnostic de phénylcétonurie. Thèse doctorat.université de Lorraine. Faculté de Médecine de nancy .P:28
- Sablonnière B. (2010).** Chimie biologie et biologie moléculaire. 2<sup>e</sup> édition. Montreuil. P: 425-426.
- Scriver C. R. (2007).** The *PAH* gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Hum. Mutat.* 28: 831-845.
- Scriver C. R. et Waters P. J. (1999).** Monogenic traits are not simple: lessons from phenylketonuria. *Trends Genet.* 15: 267-272.
- Serono M. (2011).** Etude européenne de phase IIIb chez des enfants de moins de 4ans souffrant de phénylcétonurie. *Lance SPARK*. P: 1-19.

- Soren W., Kristina F., Staudigl M., Dunja D., Messing M., Danecka K., Song F., Qu Y. J., Yang Y. L., Jin Y. W., Zhang Y. M and Wang H. (2007).** The mutant spectrum of phenylalanine hydroxylase gene in Northern Chinese. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 24:241–246.
- Sullivan S.E Haretet. (1985).** Phenylalanine hydroxylase deletion mutant from a patient with classical PKU. *Am J Hum Genet.* 37:177.
- Teigen K., McKinney J. A., Haavik J. and Martínez A. (2007).** Selectivity and affinity determinants for ligand binding to the aromatic amino acid hydroxylases. *Curr. Med. Chem.* 14: 455-467.
- Thony B., Neuheiser F., Kierat L, Blaskovics M., Arn H.P., Ferreira P., Rebrin I, Ayling J. and Blau N. (1998).** Hyperphenylalaninemia with High Levels of 7-Biopterin is Associated with Mutations in the *PCBD* Gene Encoding the Bifunctional Protein Pterin-4a- Carbinolamine Dehydratase and Transcriptional Co activator. *Am. J. Hum. Genet.* 62:1302- 1311.
- Voet D et Voet J.G, (2005).** Introduction du métabolisme in : biochimie. 2<sup>e</sup> édition. Edition de Boeck Université, Bruxelles, France. P: 559- 560.
- Walter J.H., White F.J and Hall S.K. (2002).** How partial are recommendations for dietary control in phenylketonuria?. *Lancet.* 360:55-57.
- Waters P. J., Parniak M. A., Hewson A. S. and Scriver C. R. (1998).** Alterations in protein aggregation and degradation due to mild and severe missense mutations (A104D, R157N) in the human phenylalanine hydroxylase gene (*PAH*). *Hum. Mutat.* 12: 344-354.
- Woo S. L., Lidsky A. S., Güttler F., Chandra T. and Robson K. J. (1983).** Cloned human phenylalanine hydroxylase gene allows prenatal diagnosis and carrier detection of classical phenylketonuria. *Nature* 306: 151-155.
- Zschocke J. (2003).** Phenylketonuria Mutations in Europe. *Human Mutation.* 21:345-356.
- Zschocke J et Hoffmann G.F. (2005).** Manual de pédiatrie métabolique. 3<sup>e</sup>édition. Allemagne. P: 74-76.
- Zurfluh R., Zschocke J., Lindner M., Feillet F., Chery C., Burlina A., Stevens R.C., Thony B. and Blau N.( 2008).** Molecular Genetics of Tetrahydrobiopterin- Responsive Phenylalanine Hydroxylase Deficiency Marcel. *Human mutation.* 29(1):167-175.

**Réalisé par :**

- ❖ KEROUY Adila
- ❖ SAHLI Widad

**Encadré par :****BENSEGHIER Salima**

Date de soutenance : 18/06 /2013

Thème : Le déficit en phénylalanine hydroxylase (PAH)

**Résumé :**

Le déficit en phénylalanine hydroxylase (PAH) est une maladie métabolique héréditaire très fréquente appelée phénylcétonurie transmise sur le mode autosomique récessif. La phénylalanine hydroxylase est une enzyme permettant la transformation de la phénylalanine en tyrosine. L'excès de la phénylalanine est toxique pour le système nerveux central.

Le développement de la recherche scientifique permettant la détection de cette maladie et ainsi la protection contre elle par la procédure des analyses biologiques, biochimiques, et par biologie moléculaire, pour éviter ces conséquences graves.

**Mots clés:** Phénylalanine hydroxylase, phénylcétonurie, phénylalanine, tyrosine.**Summary:**

Phenylalanine hydroxylase deficiency (PAH) is a very common inherited metabolic disorder called phenylketonuria transmitted in an autosomal recessive mode. Phenylalanine hydroxylase is an enzyme for the transformation of phenylalanine to tyrosine. Excess phenylalanine is toxic to the central nervous system.

The development of scientific research allowing the detection of these disease and thus protection against it by the procedure of the biological, biochemical analyses and by molecular biology. To avoid these consequences.

**Key words:** Phenylalanine hydroxylase, phenylketonuria, phenylalanine, tyrosine**الملخص:**

إن نقص الفينيل ألانين هيدروكسيلاز يؤدي إلى الفينيل سيتونوري هذا الأخير مرض وراثي ايصي منتشر بكثرة. الفينيل ألانين هيدروكسيلاز هو إنزيم يقوم بتحويل الفينيل ألانين إلى التيروسين. إن زيادة الفينيل ألانين سام بالنسبة للنظام العصبي المركزي.

التطور في مجال البحث العلمي يسمح بالكشف المبكر عن هذه الأمراض وكذلك الوقاية منها و هذا بإجراء فحوصات بيولوجية كيميائية و عن طريق البيولوجيا الجزيئية من أجل تقادي هذه النتائج .

**الكلمات المفتاحية:** فينيل ألانين هيدروكسيلاز, فينيل سيتونوري, فينيل ألانين , تيروزين.