



Détection des mutations du gène de Glucose-6-Phosphatase incriminées dans la glycogénose de type 1 chez les enfants porteurs des troubles neurocomportementaux à Kinshasa, République Démocratique du Congo

Detection of Glucose-6-Phosphatase gene mutations involved in glycogen storage disease in children with neurobehavioral disorders in Kinshasa, Democratic Republic of Congo

Laurent Kinkembo Mangyanda¹, Célestin Ndosimau Nsibu¹, Charles Bifu¹, Rosette Matondo¹, Stéphanie Mbambi¹.

Correspondance

Courriel : lkmyanganda@gmail.com

Summary

Context and objectives. Type 1 glycogen storage disease (GSD1) is due to deficiency in G6Pase, consecutive to mutations in the coding gene. Clinical feature is linked to recurrent episodes of short fasting hypoglycemia, sometimes unnoticed resulting in brain damage. The genes mutations were suggested by the observation of frequent neurobehavioural abnormalities in children with clinico-biological signs of the GSD1. **Methods.** The analytical study was conducted in some specialized institutions of Kinshasa, among 125 children of both sexes, aged less than or equal to 19 years with neither history of infectious meningoencephalitis nor head trauma or tumor, with clinical feature suggestive of GSD1. Out of them, 41 children with at least two clinico-biological signs underwent PCR DNA analysis for the detection of the mutations on the gene of G6Pase. The Wilcoxon-Mann Whitney test helped to compare the observed mutations, with a significant P value < 0.05. **Results.** The following mutations have been detected: c.1074+23T>C (63.4%), c.432G>A (26.8%), c.558G>T (14.6%), c.1074+3G>A (12.2%), c.230+3A>G and c.562+10G>A (9.7%), showing association with at least two signs: c.562+10G>A, c.558G>T, c.230+3A>G, c.1074+3G>A (p < 0.012) and c.432G>A (p = 0,022). The predictive values of some signs to detect the mutations were for: hepatomegaly-hypoglycemia-hyperlactacidemia triad [RR :3.50 (IC 95%, 2.16 – 5.67); p < 0,0205; VPR+ :0.76; VPR- : 0.76]; cognitive delay [OR=2.87 (IC95%, 1.5-8.09); p < 0.0421; VPR+ : 0.37; VPR- : 0.86] and short intervals meals [OR=1.27 (IC95%, 1.23-2.22) p < 0.008; VPR+ : 0.09; VPR- : 0.70]. **Conclusion.** The study shows six mutations on the G6Pase gene associated with the GSD1. Trios genomis survey is needed, to determine their "novo" character or not and to highlight related epigenetics factors responsible for there deleterious character.

Keywords: G-6-P mutation, neurobehavioral abnormalities, Children

Received: November 29th, 2019

Accepted: October 17th, 2020

1 Pédiatrie, Cliniques universitaires Kinshasa

Résumé

Contexte et objectifs. La glycogénose de type 1 (GSD1) est due au déficit de Glucose-6-Phosphatase (G6Pase), consécutif aux mutations sur le gène codant. Elle se manifeste par des épisodes répétés d'hypoglycémie de jeûne court, crises qui passent parfois inaperçues entraînant des troubles neurologiques. Des mutations de ce gène ont été recherchées chez les enfants avec troubles neurocomportementaux porteurs des signes clinico-biologiques suggestifs de la GSD1. **Méthodes.** Une étude descriptive et analytique a été conduite dans quelques institutions spécialisées de Kinshasa où 125 enfants de deux sexes, âgés de moins ou égale à 19 ans sans antécédents de méningo-encéphalite infectieuse (bactérienne, parasitaire) ni de traumatisme crânien ou tumoral, porteurs d'au moins un signe suggestif de GSD1 ont été examinés de juillet 2016 à mai 2018. Parmi eux, 41 porteurs d'au moins deux signes clinico-biologiques ont été inclus pour la détection des mutations sur le gène de G6Pase grâce à l'amplification des séquences codantes par PCR à partir de leur ADN extrait. Une comparaison des mutations obtenues a été faite grâce au Test de Wilcoxon-Mann Whitney avec un seuil de significativité de p < 0,05. **Résultats.** Les mutations suivantes ont été détectées : c.1074+23T>C (63,4 %), c.432G>A (26,8%), c.558G>T (14,6%), c.1074+3G>A (12,2%), c.230+3A>G et c.562+10G>A (9,7%). Des associations ont été retrouvées entre ces mutations et la présence d'au moins deux signes : c.562+10G>A, c.558G>T, c.230+3A>G, c.1074+3G>A (p<0,012) et c.432G>A (p= 0,022). La prédictibilité de certains signes à retrouver les mutations a été pour : triade hépatomégalie-hypoglycémie-hyperlactacidémie [OR :3,50 (IC 95%, 2,16- 5,67) ; p < 0,0205 ; VPR+ :0,76 ; VPR- : 0,76] ; retard cognitif [OR=2,87 (IC95%, 1,5-8,09) ; p < 0,0421 ; VPR+ : 0,37 ; VPR- : 0,86] et repas à intervalles courts [OR=1,27 (IC95%, 1,23-2,22) p < 0,008 ; VPR+ : 0,09 ; VPR- : 0,70]. **Conclusion.** Quoique non délétères chez les Caucasiens et Magrébins, six mutations sur le gène de G6Pase ont été détectées et des associations entre elles et la GSD1 retrouvées. Elles doivent être scrutées à travers une étude génomique « trios » et extensive pour déterminer leur caractère « de novo » ou non et rechercher des facteurs épigénétiques qui les auraient rendues délétères.

Mots-clés : Glycogénose de type 1, Troubles neurocomportementaux, Mutations, Manifestations clinico-biologiques, Glucose-6-Phosphatase, Enfants

Reçu le 29 novembre 2019

Accepté le 17 octobre 2020

Introduction

Décrite en 1929 par Von Gierke, la glycogénose du type 1 est une maladie du métabolisme du glycogène hépatique (1-2). Ce trouble est dû à un déficit enzymatique, le Glucose-6-Phosphatase (G6Pase), consécutif aux mutations sur les gènes codants G6Pc et SLC37A. Le premier, G6Pc, code pour la sous-unité Glucose-6-Phosphatase-catalytique (G6Pase-c), le deuxième, SLC37A, pour la sous-unité Glucose-6-Phosphatase-translocase (G6Pase-t) (3-6). L'enzyme G6Pase est en position ultime pour la transformation de Glucose-6-Phosphate en glucose endogène ; il est situé au carrefour de la glycogénolyse et la néoglucogénèse et assure ainsi la régulation glycémique de l'organisme.

C'est une maladie rare dont l'incidence est d'environ 1/100 000 naissances en Occident. Elle peut se manifester dès la naissance par une hépatomégalie ou, le plus souvent plus tard dans la petite enfance, par des crises répétées d'hypoglycémie induite par le jeûne notamment les convulsions, le coma et les troubles cognitifs. Ces signes neurologiques sont consécutifs à la neuroglucopénie sur le cortex particulièrement les noyaux gris centraux et sur le tractus hippocampo-mammillo-thalamo-cingulaire dit circuit de PAPEZ, qui régule la mémorisation et la mémoire à long terme ainsi que l'intégration des souvenirs (7). A ces signes peuvent s'ajouter un retard de croissance, une ostéopénie voire ostéoporose, un faciès poupin, une néphromégalie et des épistaxis par dysfonction plaquettaire. Les crises d'hypoglycémie peuvent parfois passer inaperçues et être à la base des complications neurocomportementales (8-10). Grâce à l'imagerie par résonance magnétique cérébrale (IRM), des lésions sur le cortex et sur les noyaux gris centraux sans atteinte du tronc cérébral ont été décrites chez ces enfants (11).

Le diagnostic repose sur la clinique (hépatomégalie) associée au dosage de la glycémie et de la lactacidémie particulièrement après un jeûne court de deux à quatre heures (triade clinico-biologique = hépatomégalie, hypoglycémie et hyperlactacidémie). La confirmation diagnostique est portée actuellement par

la biologie moléculaire pour la détection des mutations sur le gène de G6Pase, méthode qui a supplanté l'étude de l'activité enzymatique évitant ainsi la biopsie hépatique.

En République Démocratique du Congo (RDC), on estime que 2% d'enfants vivent avec des handicaps neurocomportementaux et chez qui pour la plupart l'étiologie n'a pas encore été élucidée (12). Ainsi donc, la présente avait été entreprise pour rechercher des mutations du gène de Glucose-6-Phosphatase incriminées dans la glycogénose de type 1 dans une population d'enfants présentant des troubles neurocomportementaux, porteurs d'au moins deux signes clinico-biologiques suggestifs de GSD1.

Méthodes

Nature, cadre et période de l'étude

C'était une étude transversale descriptive et analytique. Elle s'est déroulée dans la ville de Kinshasa au sein des institutions de rééducation spécialisées de juillet 2016 à mai 2018.

Population et échantillonnage

Cent quatre-vingt et six enfants porteurs d'au moins un signe clinique et/ou biologique suggestif de glycogénose de type 1 étaient attendus. Étaient éligibles, tous les enfants de deux sexes âgés d'au moins 4 ans et porteurs de troubles neurocomportementaux, sans antécédents de méningo-encéphalite infectieuse (bactérienne, parasitaire) ni traumatisme crânien ou tumoral. Les patients chez qui le dosage biologique (glycémie et lactacidémie) était non réalisable étaient exclus.

Tous les patients ont été soumis à un examen clinique et un dosage biologique (glycémie et lactacidémie veineuses de jeûne de deux à quatre heures). De ces examens, 41 sujets porteurs d'au moins deux signes clinico-biologiques suggestifs de la GSD1 ont été retenus pour bénéficier d'une analyse génétique à la recherche des mutations sur le gène G6PC.

Collecte des données, extraction d'ADN et géotypage

Deux millilitres de sang veineux ont été collectés dans un tube EDTA puis acheminés au laboratoire de génétique des Professeurs François PETIT et Philippe LABRUNE de l'hôpital universitaire Antoine Bécclère à Paris. Les séquences codantes et les jonctions intron-exon des 5 exons du gène G6PC ont été amplifiées par PCR à partir de l'ADN des patients extrait sur l'automate Maxwell 16 (Promega). Après purification et réaction de séquence Sanger utilisant les mêmes amorces et la chimie BigDyeTerminator V1.1 (Applied Biosystems), les fragments ont été analysés sur séquenceur ABI3130 (Applied Biosystems) et les séquences obtenues ont été comparées à la séquence de référence (NM_000151) sur SeqScape (Applied Biosystems).

Analyse statistique et considérations éthiques

Le Test de Wilcoxon-Mann Whitney, test non paramétrique, a été utilisé pour la comparaison des moyennes de différences obtenues grâce au logiciel Minitab18 avec le seuil de significativité de $p < 0,05$. Le choix de ce test a été motivé par la petite taille de l'échantillon et à leur distribution non gaussienne. Nous avons également recouru au calcul de l'Odds ratio (OR) pour rechercher les associations entre les signes clinicobiologiques et les mutations observées. Avant l'enrôlement, un consentement libre et éclairé des parents et/ou tuteurs des participants. L'étude avait été approuvée par le comité éthique institutionnel.

Résultats

Description des enfants sélectionnés pour le bilan génétique

Sur 125 enfants suivis pour troubles neurocomportementaux et porteurs des signes clinico-biologiques de la glycogénose de type 1, 41 enfants (soit 32,8%) ont été sélectionnés sur base de la présence d'au moins deux signes clinico-biologiques de GSD1. L'âge moyen des enfants était de 9,7 ans avec des extrêmes de 4 à 19 ans, tandis que l'âge médiane était de 10 ans, 6,8 le 1^{er} quartile et 11,8 le 3^{ème} quartile. Le sexe

masculin était prépondérant avec sexe ratio de 1,7/1.

Types de mutations isolées

Six mutations ont été détectées chez les 41 enfants portant au moins 2 signes clinico-biologiques de GSD1. Le tableau 1 rapporte pour chacune de ces 6 mutations, le nombre d'enfants porteurs de la mutation sur les 41 enfants avec GSD1. La mutation c.1074+23T>C (26/41, soit 63,4%) a été la plus isolée suivie, par ordre décroissant, des mutations c.432G>A (11/41, soit 26,8%), c.558G>T (6/41, soit 14,6 %), c.1074+3G>A (5/41, soit 12,2 %), c.230+3A>G et c.562+10G>A (4/41, soit 9,7 %).

Étude des associations statistiques

Association entre les malades suspects de G6D type 1 et les différentes mutations isolées

Le tableau 1 rapporte les associations entre les malades (n=41) et les types des mutations détectées. Ainsi, une association significative a été observée entre GSD1 et cinq mutations ci-après : c.562+10G >A, c.558G >T, c.230+3A>G, c.1074+3G>A, $p < 0,012$) ainsi que la mutation c.432G>A ($p=0,022$).

Tableau 1. Association entre les mutations détectées et les malades porteurs d'au moins 2 signes suspects de GSD1

Nomenclature internationale	Types de mutation	Malades (n)	P
rs199505156	c.562+10G>A	4/41	< 0,012
rs2229611	c.1074+23T>C	26/41	0,512
rs161628	c.432G>A	11/41	0,022
rs141376085	c.558G>T	6/41	< 0,012
rs9899535	c.230+3A>G	4/41	< 0,012
rs191399793	c.1074+3G>A	5/41	< 0,012

Association entre les signes clinico-biologiques et la découverte d'une mutation sur le G6Pase

Le tableau 2 rapporte la relation entre les signes clinico-biologiques et la découverte d'une mutation de G6Pase par le test Wilcoxon-Mann Whitney. Ainsi, une association statistiquement significative a été observée entre le repas fréquents, l'épistaxis, le retard mental / cognitif,

la triade clinico-clinique de GSD1 (Hépatomégalie-Hypoglycémie et hyperlactacidémie de jeûne court), hypoglycémie et hyperlactacidémie ($p < 0,05$).

Tableau 2. Association entre les signes clinico-biologiques de GSD1 et la découverte d'une mutation sur G6Pase selon la lactacidémie

Signes	Nombre des maladies avec mutation	Médiane de lactacidémie (mmol/Litre)	P
Retard mental / cognitif	34/41	2,20	< 0,042
Trouble de la mémoire	29/41	1,8	0,337
Autisme	19/41	1,8	0,194
Repas fréquents	12/41	3,2	0,042
Retard staturopondéral	2/41	2,1	0,243
Convulsions	16/41	1,8	0,449
Coma	3/41	1,7	0,342
Hypersexualité	6/41	1,7	0,437
Hépatomégalie	14/41	3,35	< 0,001
Épistaxis	5/41	1,4	< 0,023
Aspect poupon	6/41	1,7	0,437
Hyperlactacidémie	17/41	3,6	< 0,001
Hypoglycémie	17/41	3,6	< 0,001
Triade	14/41	3,6	< 0,001
Hypoglycémie-Hyperlactacidémie-hépatomégalie			

Détermination de la puissance de l'association entre les signes cliniques/biologiques et la mutation : Odds ratio (OR) et Intervalle de Confiance (IC)

La puissance de l'association entre les signes cliniques d'une part et la présence d'une mutation de G6Pase a été calculée par l'Odds ratio (OR) et l'intervalle de confiance (IC). Les différentes valeurs obtenues sont reprises dans le tableau 3.

Tableau 3. Calcul de l'Odds ratio (OR) et l'intervalle de confiance (IC) des données clinico-biologiques par rapport à la découverte d'une mutation

Signes	Nombre des malades avec mutation	OR	IC à 95%
Retard cognitif	34/41	2,87	1,5–8,09
Trouble de la mémoire	29/41	2,05	1,50–4,02
Convulsions	6/41	1,82	1,09–3,03
Hépatomégalie	14/41	3,50	2,16–5,67
Retard staturopondéral	2/41	2,38	0,73–7,75
Hypersexualité	6/41	0,87	0,42–1,79
Aspect poupon	6/41	1,09	0,53–2,22
Épistaxis	5/41	1,88	0,97–3,63
Repas fréquents	2/41	1,27	1,23–2,22
Autisme	9/41	0,44	0,27–0,72
Hypoglycémie de jeûne court	17/41	1,83	1,10–3,04
Hyperlactacidémie de jeûne court	17/41	1,83	1,10–3,04
Triade	14/41	3,50	2,16–5,67
Hypoglycémie-Hyperlactacidémie-Hépatomégalie			

OR : Odds ratio/ IC 95% : intervalle de confiance à 95% // GSD1 : glycogénose type 1

Ce tableau montre la présence de mutation est fortement associée à triade l'hyperlactacidémie-hépatomégalie et l'hypoglycémie suivi du retard cognitif, du trouble de mémoire, des convulsions, et l'hypoglycémie de jeun court.

Mesure de la valeur diagnostique des signes clinicobiologique dans la prédiction de GSD1

Nous avons calculé les valeurs prédictives positives et négatives, la sensibilité et la spécificité de signes clinicobiologiques évocateurs de GSD1 relevés et la présence d'une mutation (tableau 4).

Tableau 4. Mesure des valeurs prédictives positives et négatives, la sensibilité et la spécificité des données cliniques et biologiques relevées vs mutation

	Retard cognitive (%)	Repas fréquent (%)	Hépatomégalie (%)	Épistaxis (%)	Hyperlactacidémie (%)	Hypoglycémie (%)
VPR+	37	9	76	56	0	100
VPR-	86	70	78	70	73	78
SE	88	29	38	12	40	40
SP	23	66	73	83	73	73

VPR+ : Valeur prédictive positive ; VPR- : valeur prédictive négative / SE : Sensibilité ; SP : Spécificité

Les différents signes clinicobiologiques étudiés avaient des valeurs prédictives positives variant entre 76 et 100% pour la triade « hépatomégalie-hyperlactacidémie -hypoglycémie », et de 37 à 56% pour les autres signes notamment le retard cognitif, les repas fréquents et l'épistaxis. Tandis que les valeurs prédictives négatives ont été toutes supérieures à 70%.

La sensibilité pour les enfants porteurs de retard cognitif était de 88%, tandis que pour les autres signes clinico-biologiques elle a varié entre 12 et 40%. La spécificité a été de 23% pour le retard cognitif et entre 66 et 83% pour les autres signes étudiés.

Détermination de la probabilité corrigée

La probabilité a été corrigée en utilisant la valeur de la sensibilité des variables retenus et le rapport de vraisemblance (likelihood ratio) qui n'est que le rapport entre les vrais positifs et les faux positifs (tableau 5).

Tableau 5. Probabilité corrigée entre les signes évocateurs de GSD1 retenus vs mutation

	Retard cognitive (%)	Repas fréquent (%)	Hépatomégalie (%)	Épistaxis (%)	Hyperlactacidémie (%)	Hypoglycémie (%)
LR	0,59	0,55	3,2	0,8	œ	œ
SE	88	29	38	12	40	40
PR	81,3	52,7	11,87	15	œ	œ

LR : likelihood ratio (sensibilité sur rapport entre les vrais positifs et les faux positifs) ; SE : sensibilité ; PR : probabilité corrigée

La probabilité corrigée de retrouver une mutation de G6Pase a été de 81,3 % pour le retard cognitif et de 52,7% pour les repas fréquents. L'hépatomégalie et l'épistaxis ont été respectivement à 11,87 et 15%.

Discussion

Avant le clonage du gène G6PC, le GSD-I avait été diagnostiqué principalement par des symptômes cliniques et biochimiques de base (hépatomégalie associée à l'hypoglycémie et hyperlactacidémie de jeûne court) puis confirmé par l'analyse de l'activité enzymatique sur un fragment de tissus hépatique obtenu par biopsie (13).

Depuis l'avènement du clonage des gènes G6PC et SLC37A4, la confirmation diagnostique se fait par la biologie moléculaire à partir de l'ADN extrait des globules blancs, et plus de 85 mutations ont été isolées à ce jour (14).

La tranche d'âge choisie dans la présente étude a été motivée par la prépondérance de la spasticité cérébrale avant l'âge de 20 ans et surtout avant 15 ans. Ainsi, toute agression cérébrale au cours de cette tranche d'âge pourrait avoir des répercussions à court et à long terme. C'est entre autres le cas des troubles neurocomportementaux observés dans la GSD1, générés par des épisodes répétés de neuroglucopénie (15-21).

Dans la présente étude, un tiers des enfants qui étaient porteurs d'au moins deux signes cliniques de la glycoséose type 1 (n=41/125 soit 32,8% et un ratio de 3,2%) sont aussi porteurs de mutations sur la Glucose-6-Phosphatase. La mutation c.1074+23T>C se retrouve chez presque la moitié des enfants ; tandis que les 5 autres mutations notamment la c.562+10G>A, la c.432G>A, la c.558G>T, la c.230+3A>G et la c.1074+3G>A ont été isolées chacune chez très peu d'enfants mais avec toutefois une association positive statistiquement ($p < 0,012$).

Pour des raisons économiques, dans notre contrée, nous avons donc utilisé l'approche la plus adaptée, basée sur la sélection des sujets fortement à risque. C'est aussi cette approche clinique sélective qui s'adresse aux maladies rares voire très rares (1cas pour 100.000 personnes) (22). Cette approche par contre comporte un biais dans les recrutements tels que d'écarter les phénotypes moins classiques et de concourir ainsi à la sous-estimation de l'incidence de la maladie étudiée.

Le taux de prévalence élevé observé dans la présente étude pourrait s'expliquer par la restriction des enfants sélectionnés pour les analyses génétiques. Cet état de fait permettrait de conclure qu'il existe bien dans la population étudiée des mutations de G6Pase, responsables des troubles neurocomportementaux.

La GSD1 est une maladie autosomique récessive et l'on s'attendrait à une égalité parfaite entre les deux sexes. Cependant, dans notre série, le sexe masculin était prépondérant avec un ratio M/F de 1,7/1, ce qui n'enlève en rien le caractère autosomale de la maladie.

La probabilité d'isoler une mutation, dans notre étude, a été spécialement positive pour les enfants porteurs de la triade -hypoglycémie-hyperlactacidémie -hépatomégalie (VPR+ :0,76-1 ; VPR- moyenne : 0,76). Néanmoins pour les enfants porteurs de retard cognitif la probabilité d'isoler une mutation était aussi positive (VPR+ : 0,37 ; VPR-: 0,86) ; et la probabilité corrigée était de 81,3%.

La puissance d'association, calculée par l'Odds ratio (OR) et l'intervalle de confiance à 95% (IC 95%), a été positive pour les repas fréquents (OR=1,27 ; IC95% = 1,23-2,22), le retard cognitif (OR=2,87 ; IC95 % =1,5-8,09) et l'hépatomégalie (OR=2,16 ; IC=2,16-5,67).

Les signes cliniques et la biologie de base retenus (retard cognitif, repas à intervalle court, hépatomégalie, épistaxis, hypoglycémie de jeûne court et hyperlactacidémie) permettent d'exclure les patients n'ayant pas de GSD1 ; par contre ils ne peuvent pas prédire efficacement l'existence de ce trouble inné. En effet, les tableaux 4 et 5 ont montré des valeurs prédictives très faibles pour l'ensemble des signes retenus exceptée, la triade, hépatomégalie-hypoglycémie de jeûne court-hyperlactacidémie.

Par ailleurs les résultats de la présente étude ont montré que certains signes comme le retard cognitif, les repas à intervalle court ont été associés à une très faible valeur prédictive positive lorsqu'ils sont pris isolément. Par contre, dans un contexte de trouble de comportement, les repas à intervalle court, l'hypoglycémie et l'hyperlactacidémie de jeûne

court ainsi que l'épistaxis constituent des signes associés à la découverte d'une mutation sur le gène de G6Pase.

En plus, l'intervalle de confiance (IC 95%) pour les différents OR calculés est large, à l'exception des repas à intervalle court, et de ce fait soumis à des importantes variations même si leur corrélation statistique est fortement positive. Ce constat pose le problème de la taille de l'échantillon : petite est la taille, large sera l'intervalle de confiance et vice versa selon par Nsibu *et al.* (12).

Dans la littérature la corrélation des patients atteints de GSD-I présente une hétérogénéité phénotypique, et il existe peu de preuves d'une relation génotype - phénotype stricte pour chaque mutation isolée. Ainsi cette situation de fait exige, pour une mutation donnée et pour chaque groupe socio-ethnique, de procéder à la recherche de la relation génotypique-phénotypique (23-25).

Les mutations isolées n'ont pas d'expression phénotypique dans la population caucasienne et celle de l'Afrique du nord. Cependant, dans notre série, les mêmes mutations présentent une corrélation génotype - phénotype positive et, dans la littérature, aucune étude de la corrélation génotype-phénotype portant sur les enfants noirs subsahariens porteurs de troubles neurocomportementaux d'étiologie inconnue n'est rapportée.

Ainsi, les phénotypes de GSD1 observés chez les malades de Kinshasa seraient-ils une expression d'autres maladies neurologiques alors qu'ils présentent une relation statistique positive avec les mutations de G6Pase. Si tel n'est pas le cas et à la lumière des études de Lei *et al.* (14), un travail extensif devrait se faire pour les mêmes mutations afin d'établir la corrélation génotype-phénotype dans la population des enfants porteurs des troubles neurocomportementaux d'étiologie inconnue.

Pour l'instant, il convient de reconsidérer les mutations isolées dans notre étude. L'étude génomique « trios » ou étude comparative entre les génomes d'un enfant et de ses parents pourrait permettre d'identifier des variations de séquences nucléotidiques chez l'enfant qui sont

le résultat de mutations dites « de novo », apparues le plus souvent dans l'une des cellules à l'origine des gamètes chez les parents (26).

Cette étude pourrait être étendue à la famille élargie transversalement et longitudinalement pour rechercher le trait par les analyses moléculaires.

Ainsi l'étude génomique « trios » des mutations chez les enfants avec troubles neurocomportementaux et leurs parents respectifs permettra de conclure au caractère délétère des mutations. L'absence des mêmes mutations chez les parents permettra d'établir ainsi leur caractère « de Novo ». Cependant en cas d'impossibilité de réaliser les prélèvements sanguins chez les parents, une étude extensive et comparative avec la population générale pourrait permettre de confirmer, à l'opposé de la population caucasienne, le caractère délétère des mutations isolées dans notre population. En même temps, l'étude extensive permettra de déterminer des facteurs exogènes qui auraient joué un rôle épigénétique au point de rendre délétères les mutations isolées dans la présente étude. Comme cela a été le cas lors des découvertes des hétérozygoties S Antilles et S Oman dans la drépanocytose dans lesquelles une deuxième mutation était associée à la première déjà connue et la rendant ainsi délétère à l'état d'hétérozygotie (27-28).

Conclusion

Au terme de la présente étude réalisée dans la ville de Kinshasa, les enfants porteurs de troubles neurocomportementaux présentent des mutations connues de la G6Pase. Ces mutations n'expriment pas le phénotype de GSD1 dans la population caucasienne et celle de l'Afrique du nord. Cependant, les mêmes mutations sont corrélées avec le phénotype de GSD1. Une étude « trios », à la recherche de l'absence de ces mutations chez les parents, permettra de confirmer leur caractère « de novo ». Par ailleurs une étude cas-témoin avec la population générale, dans le même contexte socio-ethnique, pourrait également à la fois confirmer le caractère délétère de ces mutations et,

éventuellement, de déterminer des facteurs épigénétiques qui les auraient rendues délétères.

Déclaration de conflits d'intérêts

Aucun conflit d'intérêt n'a été déclaré par les auteurs

Contribution des auteurs

Conception, rédaction : LKM, CNS

Collecte données et interprétation des résultats : CB, RM, SM

Supervision : CNS

Tous les auteurs ont lu et approuvé la version finale et révisée du manuscrit.

Remerciements

Les auteurs remercient les professeurs Philippe LABRUNE et François PETIT (Hôpital Universitaire Antoine Bécclère, Paris Clamart) pour les analyses moléculaires et Laurent LAMIDEY, Ingénieur Informaticien MS pour les analyses statistiques.

Références

1. von Gierke E. Hepato-nephromegalia glykogenica (Glykogenspeicherkrankheit der Leber und Nieren). *Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie* 1929; **82**: 497.
2. Cori GT, Cori CF. Glucose-6-phosphatase of the liver in glycogen storage disease. *J Biol Chem* 1952; **199** :661-667.
3. Lei KJ, Shelly LL, Pan CJ, Sibury JB, Chou JY. Mutations in the glucose-6-phosphatase gene that cause glycogen storage disease type Ia. *Science* 1993; **262** (5133):580-583.
4. Shelly LL, Lei KJ, Pan CJ, Sakata SF, Ruppert S, Schutz, *et al.* Isolation of the gene for murine glucose-6-phosphatase, the enzyme deficient in glycogen storage disease type Ia. *J Biol Chem* 1993; **268** (29):21482-21485.
5. Gerin I, Veiga-da-Cunha M, Achouri Y, Collet JF, Van Schaftingen E. Sequence of a putative glucose-6-phosphate translocase, mutated in glycogen storage disease type Ib. *FEBS Lett* 1997; **419** (2-3): 235-238.
6. Gerin I, Veiga-da-Cunha M, Noel G, Van Schaftingen E. Structure of the gene mutated in glycogen storage disease type Ib. *Gene* 1999 ; **227** (2): 189-195.
7. Melis D, Parenti G, Della Casa R, Sibilio M, Romano A, Di Salle F, *et al.*: Brain damage in glycogen storage disease type I. *J Pediatr* 2004 ; **144** : 637-642.
8. Koh THH, Aynsley-Green A, Tarbit M, Eyre JA. Neural dysfunction during hypoglycemia. *Arch Dis Child* 1988; **63** :1353-1358.
9. Menni F, de Lonlay P, Sevin C, Touati G, Peigne C, Barbier V, *et al.* Neurologic outcomes of 90 neonates and infants with persistent hyperinsulinemic hypoglycemia. *Pediatrics* 2001; **107**: 476-479.
10. Rake JP, Visser G, Labrune P, Leonard JV, Ullrich K, A Smit GP. Glycogen storage disease type 1: diagnosis, management, clinical course and outcome. Results of European Study on Glycogen Storage Disease Type I (ESGSD I). *Eur J Pediatr* 2002 ; **161** (Suppl I): S20-S34.
11. Mai-Anh Nay, Bretagnol A, Boulain T, Auzou P. Lésions à l'imagerie cérébrale après hypoglycémie sévère prolongée. *Rev Neuro* 2016; **172** (51): A129-A130.
12. Nsibu CN, Jaeken J, Carchon H, Mampunza M, Stunale L, Gorozzo D, *et al.* Clinical and biochemical features in a Congolese infant with a congenital disorder of glycosylation (CDG)-IIx. *Eur J Pediatr Neurol* 2008; **12** (3):257-261.
13. Froissart R, Piraud M, Boudjemline AM, Vianey-Saban C, Petit F, Hubert-Buron A, *et al*: Glucose-6-phosphatase deficiency. *Orphanet J Rare Dis* 2011; **6**: 27. doi: 10.1186/1750-1172-6-27. Review
14. Lei KJ, Pan CJ, Shelly LL, Liu JL, Chou JY. Identification des mutations dans le gène de la glucose-6-phosphatase, l'enzyme déficiente dans la maladie de stockage du glycogène de type Ia. *J Clin Invest* 1994; **93**: 1994-1999.
15. Linkenhoker BA, Knudsen EI. Incremental training increases the plasticity of the auditory space map in adult barn owls. *Nature* 2002; **419**: 293–296.
16. Paquette V, Lévesque J, Mensour B, Leroux JM, Beaudoin G, Bourgouin P, *et al.* Change the mind and you change the brain: effects of cognitive-behavioral therapy on the neural correlates of spider phobia. *Neuroimage* 2003; **18** (2): 401–409.
17. Bourgeois JP. Synaptogenesis, heterochrony, and epigenesis in the mammalian neocortex. *Acta Paediatr* 1997; **422** (suppl) : 27–33.
18. Bourgeois JP. Synaptogenesis in the neocortex of the newborn. In: Nelson CA, Luciana M, eds. Handbook of developmental cognitive neuroscience. A Bradford book. Cambridge, Massachusetts : MIT Press, 2001 : 23–34.
19. Bourgeois JP. Le développement de la connectivité cérébrale : étape ultime de l'individuation ? In : Changeux JP, ed. Gènes et culture. Paris : Éditions Odile Jacob, 2003 : 93–115.
20. Goldberg JL. Intrinsic neuronal regulation of axon and dendrite growth. *Curr Opin Neurobiol* 2004; **14**: 551–557.
21. Menni F, de Lonlay P, Sevin C, Touati G, Peigne C, Barbier V, *et al.* Neurologic outcomes of 90 neonates and infants with persistent hyperinsulinemic hypoglycemia. *Pediatrics* 2001; **107**: 476-479.
22. Jiménez-Sánchez G, Childs B, Valle D. The effect of Mendelian disease on human health. In

- The metabolic and molecular bases of inherited disease, C Scriver, A Beaudet, W Sly, D Valle Eds, Mc Graw-Hill, New York 2001: 1601-22.
23. Matern D, Seydewitz Z, Deeksha B, Lang C, Chen YT. Glycogen storage disease type I: diagnosis and phenotype/genotype correlation. *Eur J Pediatr* 2002; **161**: S10-S19.
 24. Rake JP, dix Berge AM, Visser G, Verlind E, Niezen-Koning KE, Buys CH, *et al.* Identification d'une nouvelle mutation (867delA) dans le gène de la glucose-6-phosphatase chez deux frères et sœurs atteints d'une maladie de stockage du glycogène Type Ia avec différents phénotypes. *Hum Mutat* 2000; **15**: 381.
 25. Rake JP, Visser G, Labrune P, Leonard JV, Ullrich K, Smit GP. Maladie de stockage du glycogène type I : diagnostic, gestion, cours clinique et résultats. Résultats de l'étude européenne sur la maladie de stockage de glycogène de type I (ESGSD I). *Eur J Pediatr* 2002; **161** : S20-S34.
 26. Rousseau F, Laflamme N. Génétique moléculaire humaine : des maladies monogéniques aux maladies complexes. *M/S Médecine sciences* 2003; **19** (10) : 950-954.
 27. Ronald LN, Daar S, Romero JR, Sandra M, Suzuka, Gravell D, *et al.* HbS-Oman Heterozygote : A New Dominant Sickle Syndrome. *Blood* 1998 ; **92** :4375-4382.
 28. Siguret V, Andreux JP. Diagnostic biologique des hémoglobinopathies par analyse du phénotype. *Annales de Biologie Clinique* 1997; **55** (2): 103-112.