



Article Original

Glycogénose de Type 1 et Nouveau Variant C.432G>A chez les Enfants Porteurs de Troubles Neurodéveloppementaux à Kinshasa

Type 1 glycogen storage disease and new variant, C.432G>A detected in children with neurodevelopmental disorders in Kinshasa

Mangyanda KL¹, Nsibu NC¹, Buassa BTB², Muwonga JT³

RÉSUMÉ

Introduction. Les variants du gène de l'enzyme Glucose-6 Phosphatase (G6Pase) à l'origine de la glycogénose de type 1 (GSD1) sont nombreux et diffèrent selon les ethnies. Le variant c.432G>A, bénin dans l'ethnie caucasienne, a été détectée et corrélée au phénotype de GSD1 les enfants de Kinshasa porteurs de troubles neurodéveloppementaux. L'objectif de l'étude était de confirmer le caractère pathogène de ce variant. **Patients et méthodes.** Une étude prospective comparative cas -témoin a été menée, dans la ville de Kinshasa de 2016 à avril 2018, auprès des enfants sains et ceux atteints de troubles neurodéveloppementaux porteurs du variant c.432G>A vivant dans le même contexte socioéconomique familial. Grâce à l'étude des allèles par biologie moléculaire, la comparaison des allèles mutés dans les deux groupes a été réalisée grâce au logiciel Minitab 18[®] en utilisant le test de Khi carré au seuil de significativité (p) inférieure à 0,05. **Résultats.** Dix enfants témoins ont été couplés aux dix malades. Pour le variant C.432G>A, sur 20 allèles analysés, 11/20 (55%) mutations ont été observées chez les enfants malades et 2/20 (11,56%) pour les témoins avec une différence statistique significative (p<0,002; OR : 1,2). **Conclusion.** Bien que le variant C.432G>A ne soit pas reconnu pathogène dans la population caucasienne, il est corrélé dans notre étude avec la triade clinicodiagnostique de GSD1, ce qui suggère son implication dans les troubles du neurodéveloppement observés chez les enfants de notre étude. Des études plus approfondies sont nécessaires pour confirmer ce résultat et rechercher des facteurs génétiques et/ou épigénétiques qui ont pu le rendre délétère.

ABSTRACT

Introduction. The variants of the Glucose-6 Phosphatase (G6Pase) enzyme gene responsible for Type 1 glycogen storage disease (GSD1) are numerous and differ according to ethnicity. The c.432G>A variant, benign in the Caucasian ethnic group, was detected and correlated to the GSD1 phenotype in Kinshasa children with neurodevelopmental disorders. The objective of the study was to confirm the pathogenic nature of this variant. **Patients and methods.** A prospective comparative case-control study was conducted in the city of Kinshasa from 2016 to April 2018, with healthy children and those with neurodevelopmental disorders carrying the c.432G>A variant living in the same family socioeconomic context. Thanks to the study of the alleles by molecular biology, the comparison of the mutated alleles in the two groups was carried out using the Minitab 18[®] software using the Chi square test at the significance level (p) less than 0.05. **Results.** Ten control children were coupled to the ten patients. For the C.432G>A variant, out of 20 alleles analyzed, 11/20 (55%) mutations were observed in sick children and 2/20 (11.56%) for controls with a significant statistical difference (p<0.002; OR: 1.2). **Conclusion.** Although the C.432G>A variant is not pathogenic in the Caucasian population, it is correlated in this study with the clinicodiagnostic triad of GSD1, which suggests its implication in the neurodevelopmental disorders found in the studied children. Further studies are needed to confirm our findings and to look for genetic and/or epigenetic factors that may explain this suggested harmfulness.

Affiliations

1. Département de pédiatrie, Service des soins intensifs et métabolisme, Cliniques

Universitaires de Kinshasa, République Démocratique du Congo (RDC).

2. Département des sciences de base, Faculté de Médecine, Université de Kinshasa, RDC

3. Département de biologie médicale, Faculté de Médecine, Université de Kinshasa, RDC

Auteur correspondant : Mangyanda Kinkembo Laurent
lmangyanda@yahoo.fr; Tél : +336 783 57 9 33

Mots clés : Variant c.432G>A , Enfants, troubles neurodéveloppementaux ; Glycogénose de type 1 ; Allèles mutés.

Keywords: Variant c.432G>A , Children, neurodevelopmental disorders; Glycogen storage disease type 1; Mutated alleles.

Article history

Submitted: 18 February 2023

Revision requested: 7 March 2023

Accepted: 16 March 2023

Published: 30 March 2023

POINTS SAILLANTS**Ce qui est connu du sujet**

Le C.432G>A, un des variants détectés au niveau du gène codant la Glucose-6-Phosphatase n'induit pas le phénotype de glycogénose de type 1 (GSD1) dans la population caucasienne. La situation chez le Congolais pourrait être différente.

La question abordée dans cette étude

Évaluer le caractère pathogène du variant C.432G>A via l'induction du phénotype de GSD1 à l'origine de troubles neurodéveloppementaux.

Ce que cette étude apporte de nouveau

Le taux de mutations observées chez les enfants congolais souffrant de troubles neurodéveloppementaux liés à la GSD1 est significativement élevé par rapport au groupe témoin.

Les implications pour la pratique, les politiques ou les recherches futures.

Le variant C.432G>A pourrait être pathogène dans certaines ethnies africaines. Des études multicentriques sur un plus grand nombre de sujets sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

INTRODUCTION

La glycogénose de type I (GSD1) est une maladie héréditaire rare liée au défaut de la dégradation du glycogène hépatique. Le déficit est dû aux mutations sur les gènes qui codent pour la *Glucose-6-phosphatase (G6Pase)*: le *G6Pc* pour la sous-unité catalytique et *SLC7A4* pour la sous-unité de transport.

Située au carrefour de la glycogénolyse et de la néoglucogénèse, la *G6Pase* est l'enzyme commune et ultime pour les deux voies dans la production endogène du glucose en période de jeûne court (3 à 4 heures). La maladie se caractérise par une hépatomégalie et par une hypoglycémie de jeûne court, associée à une hyperlactacidémie. En dehors des atteintes hépatique (adénomes) et rénale (tubulopathies), sans traitement par les polymères de glucose, les lésions du système nerveux central (SNC) à la suite des épisodes récurrents d'hypoglycémie sont redoutées.

Selon les ethnies, différents variants du gène codant ont été décrits et corrélés avec le phénotype de GSD1. Dans l'étude menée dans la ville de Kinshasa auprès des enfants porteurs de troubles du neurodéveloppement le variant c.432G>A a été détecté. Et ce dernier, en dépit de son caractère bénin dans la population caucasienne, était corrélé avec la triade clinicobiologique de la Glycogénose de type 1 [1].

L'objectif de notre étude était d'établir la pathogénicité du variant c.432G>A chez les enfants de Kinshasa porteurs de troubles neurodéveloppementaux.

PATIENTS ET MÉTHODES

Une étude prospective transversale cas-témoins a été menée, entre 2016 et 2018, chez 121 enfants de deux sexes, âgés de 4 à 19 ans porteurs de troubles neurodéveloppementaux non élucidés et fréquentant les écoles de rééducation mentale à Kinshasa. Les différents troubles neurodéveloppementaux ont été déterminés : le test de Wechsler Intelligence Scale for Children (WSCI-R) pour le Quotient Intellectuel (QI), le test des cubes de Kosh pour les troubles de la mémoire, le test de Childhood Autism rating Scale (CARS) pour l'évaluation du spectre autistique. La triade clinico-biologique [Hypoglycémie-Hyperlactacidémie-Hépatomégalie] de la GSD1 a été identifiée. Les variants génétiques associés à ces troubles ont été déterminés par l'étude de l'ADN. Seuls les enfants porteurs du variant C.432G>A ont été inclus et appariés aux enfants sains de la population générale. Les allèles du C.432G>A, ont été étudiés pour les deux groupes. Leurs comparaisons ont été réalisées grâce au logiciel Minitab 18[®] en utilisant le test de Khi carré au seuil de significativité (p) inférieure à 0,05. Une autorisation du Comité Éthique de l'École de Santé Publique (ESP) de l'Université de Kinshasa avait été obtenue sous le numéro ESP/CE/051/2016 du 08 juillet 2016.

RÉSULTATS*Étude des allèles mutés*

Dix soit 8 % de 121 enfants de notre étude étaient porteurs du variant C.432G>A. Pour les allèles analysés de dix enfants malades, 11/20 (55%) étaient porteurs des mutations contre 2/20 (11,56%) pour les enfants témoins. Le tableau I rapporte les allèles détectés dans les deux groupes : témoins et malades.

Tableau I. Allèles du variant C.432G>A détectés chez les malades et les témoins

	Allèles des Malades (n=20)	Allèles des Témoins (n=20)
Allèle Muté (M)	11 (55%)	2 (11,56%)
Allèle Sauvage (S)	9 (45%)	18 (88,63%)
Total	20 (100%)	20 (100%)
M : allèle muté ; S : allèle sauvage		

Étude des associations statistiques des allèles

La figure 1 rapporte la comparaison des allèles mutés entre les deux groupes d'enfants.

Le test de X² a dégagé une différence statistiquement significative (p=0,002 ; OR : 1,2) en faveur des malades.

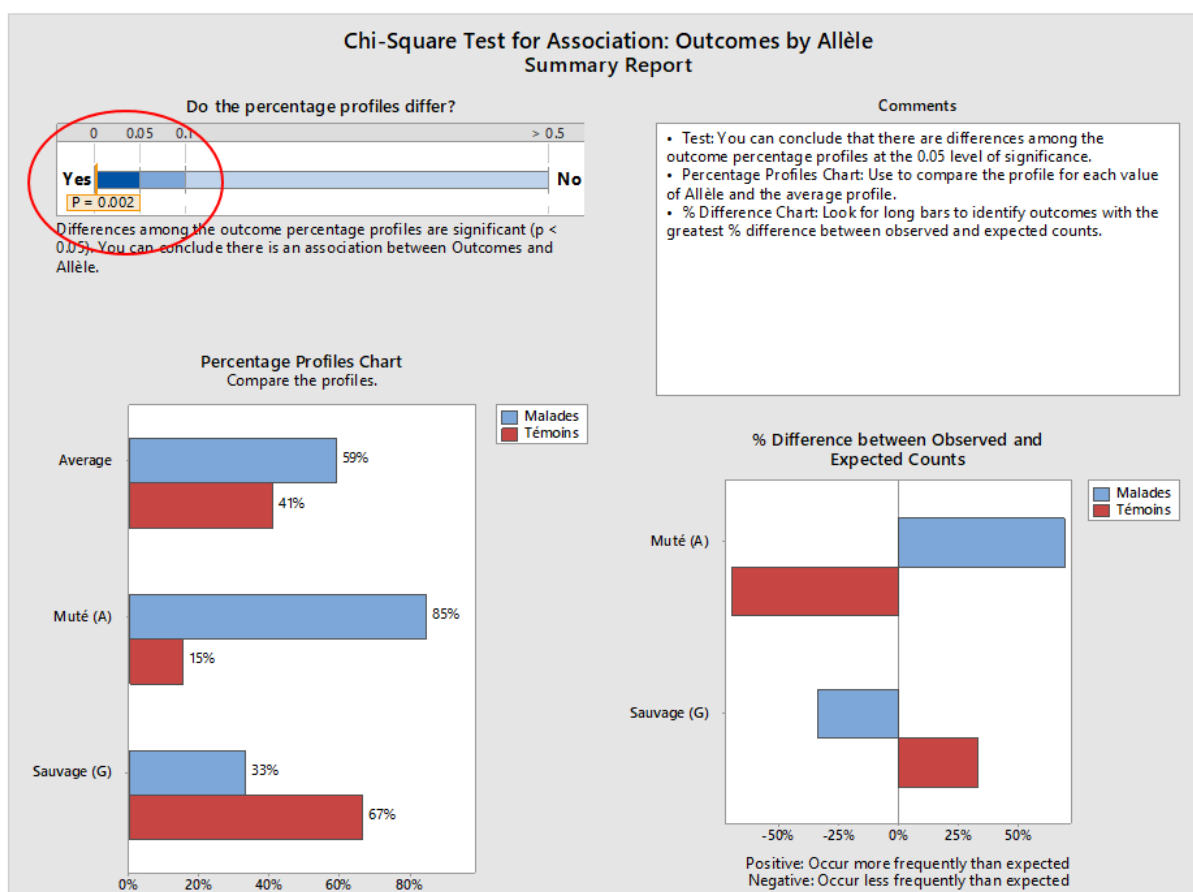


Figure 1. Signification statistique des allèles mutés entre malades et témoins. $p < 0,002$; $OR : 1,2$

DISCUSSION

Dans la population caucasienne et celle de l'Afrique du Nord, le variant c.432G>A n'est pas rattaché à la glycogénose de type 1. Cependant dans nos études préliminaires auprès des enfants de Kinshasa porteurs des troubles neurodéveloppementaux, notamment le trouble de la mémoire, le même variant était corrélé au phénotype de GSD1 [1-3].

Par ailleurs l'étude cas-témoin des allèles mutés du variant a permis de dégager une corrélation positive ($p < 0,002$; $OR : 1,2$) en faveur des enfants avec troubles neurodéveloppementaux.

La GSD1 étant une maladie autosomique récessive, le diagnostic est formel si les 2 allèles sont connus pathogènes ou en présence d'anomalies nouvelles mises en évidence par l'étude génomique « trios » (parents-enfant) ou encore par l'étude de la régulation de l'expression du gène incriminé. Néanmoins en l'absence de ces trois critères, l'identification des mutants suivie de l'établissement de la corrélation phénotype-génotype permet d'établir le caractère délétère du matant [4-5].

Le caractère « de novo » n'a pu être recherché, car d'une part les prélèvements sanguins n'ont pas été initialement réalisés chez les parents des enfants porteurs de ce variant et, d'autre part, la mobilité de ces derniers a constitué un handicap pour le faire. Néanmoins, cela n'enlève en rien le caractère pathogène de ce variant.

Il reste à rechercher, dans une étude ultérieure, les facteurs qui auraient été à l'origine de la malignité : un variant inconnu sur le deuxième allèle ou des facteurs de modulation génétique et/ou épigénétiques.

Le terme « épigénétique » a été proposé pour la première fois en 1942 par Conrad Waddington cité par Baedke [6], biologiste et philosophe britannique, pour désigner l'étude des mécanismes par lesquels les gènes déterminent le phénotype, c'est-à-dire nos caractères propres (couleur des yeux, de la peau, et des cheveux, morphologie, sensibilité aux maladies). Ainsi l'épigénétique est définie comme l'expression de la modulation des gènes, en fonction de certains comportements [7-11]. Joël de Rosnay et al [12] parlent de l'épigénétique comme une grande révolution biologique de ces 15 dernières années. En effet si la génétique est résumée comme le programme du vivant, seuls 2 à 15% de l'ADN codent les molécules (enzymes et protéines) qui font fonctionner la cellule ; tandis que le reste, 85 à 98% d'ADN, était considéré non codant et appelé « Junk DNA » ou « ADN-poubelle ». Les mêmes auteurs considèrent que les gènes ne sont pas « coupés du monde » et subissent l'influence des facteurs extérieurs. Ces derniers modulent, réveillent ou bloquent l'activité de nos gènes [13-15].

La combinaison entre ces facteurs va conduire à la production, dans l'organisme, des petites molécules qui vont s'accrocher aux enzymes. Ces derniers vont ensuite entrer dans le noyau où ils agissent sur l'ouverture des histones (gaine de l'ADN) permettant ainsi la transcription de l'ADN en ARN-messager. L'ARN-

messenger ainsi produit va à son tour traduire l'information reçue et permettre, dans le cytosol, la synthèse des protéines notamment celles qui vont jouer le rôle d'enzymes.

En effet c'est l'ADN-poubelle qui, sous l'influence des facteurs extra-génétiques, permet la fabrication des petits brins d'ADN et qui, en permanence, circulent dans le corps et régulent le fonctionnement des gènes.

Sous cet angle, le patrimoine génétique hérité des parents ne constitue plus une fatalité mais plutôt un instrument qui peut être modifié par autant de facteurs environnementaux qu'endogènes [16-19].

Ainsi nous pensons que le variant c.432G>A, bénin dans la population caucasienne et celle de l'Afrique du Nord, doit avoir subi une modification environnementale et/ou endogène chez les enfants de notre étude. Une régulation épigénétique pourrait être à l'origine de l'expression de ce gène : par l'acétylation et/ou la méthylation des histones. En effet l'acétylation, essentiellement sur des résidus de Lysine à l'extrémité N-Terminale de la protéine histone, modifie leur affinité pour l'ADN favorisant ainsi la transcription du gène. L'action de l'acétylation consiste ici à décompacter la chromatine, à diminuer la force d'interaction histones-ADN (rendre l'ADN accessible) et enfin à créer des sites de fixation pour les complexes d'activation de la transcription [20]

Pour les méthylation, comme celles portant sur la Lysine 4 de l'histone H3, elles favorisent le recrutement d'un facteur activateur de la transcription ou au contraire inhiberait l'interaction d'un complexe répresseur de cette transcription [21-24].

En outre dans nos deux études précédentes portant sur la même série d'enfants [1-2], le risque d'isoler le variant c.432G>A était corrélé avec certains signes clinico-biologiques ($p < 0,012$; VPP : 0,76 ; VPN moyenne : 0,76) notamment le trouble cognitif et surtout la triade clinico-biologique (hépatomégalie associée à l'hypoglycémie et hyperlactacidémie de jeûne court de 3 à 4 heures) généralement observés dans la GSD1.

Les troubles neurodéveloppementaux observés dans notre étude doivent être considérés comme une complication cérébrale de GSD1 par des épisodes récurrents d'hypoglycémie passés inaperçus ou insuffisamment traités .

Enfin comparés à la population saine, les malades de notre étude porteurs du variant c.432G>A (de type faux-sens) avaient plus d'allèles mutés ($p < 0,002$). Cependant ce variant est considéré bénin dans la population caucasienne et celle de l'Afrique du Nord. Cela incite donc à mener une étude extensive et analytique, sur tous les centres de rééducation de la RDC, afin de déterminer les facteurs endogènes et/ou environnementaux qui auraient rendu ce variant délétère. Et en même temps, grâce à l'étude génomique « trios » comparative de l'ADN des enfants avec celui de leurs parents, nous pourrions conclure au caractère « de novo » en l'absence chez ces derniers du variant isolé chez leur enfant. Cette étude pourrait également être étendue à la famille élargie transversalement et longitudinalement pour rechercher le trait par les analyses moléculaires.

CONCLUSION

Le mutant c.432G>A du gène de *G6Pase* a répondu au caractère de pathogénicité dans notre étude. En effet l'étude des allèles mutés de c.432G>A isolés chez les enfants porteurs troubles neurodéveloppementaux, comparée à la population saine, avait une différence significative pour les malades. Un ou plusieurs facteurs génétiques et/ou épigénétiques auraient influé pour rendre ce mutant délétère et une étude extensive dans le futur permettra de les identifier.

CONFLITS D'INTÉRÊT

Aucun

FINANCEMENT EXTÉRIEUR

Pas de contributions financières extérieures

CONTRIBUTION DES AUTEURS

Mangyanda : Conception du protocole de recherche, Collecte des données, Rédaction.

Nsibu : Conception du protocole de recherche, correction de la rédaction

Buassa : Correction de la rédaction

Muwonga : Collecte des données

REMERCIEMENTS

Nos remerciements aux Professeurs Philippe Labrune et François Petit de l'Hôpital Universitaire Antoine Bécclère Paris/Clamart pour les analyses génétiques et à Mr Laurent Lamidey pour les analyses statistiques des données.

RÉFÉRENCES

- Mangyanda K, Nsibu NC, Bifu C : 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 (RDC). *Ann. Afr. Med.*, vol. 14, n°1, Décembre 2020 : e3947-e3955.
- Mangyanda K, Nsibu NC, Bifu C : Dépistage des signes cliniques et biologiques de la glycogénose de type 1 chez les enfants atteints de troubles neurocomportementaux à Kinshasa (RDC). *Health Sci.Dis: Vol 21 (X) 2020: pp 1-5*
- Séguret V, Andreux J: Diagnostic biologique des hémoglobinopathies par analyse du phénotype. *Annales de Biologie Clinique* 1997 ;55(2):103-12.
- Vladutiu G: Complex phenotypes in metabolic muscle diseases. *Muscle Nerve* 2000 Aug; 23(8): 1157-9
- Wehner M, Clemens P, Engel A: Human muscle glycogenesis due to phosphorylase kinase deficiency associated with a nonsense mutation in the muscle isoform of the α subunit. *Human Molecular Genetics*, Volume 3, Issue 11, November 1994, Pages 1983-1987.
- Baedke J. The epigenetic landscape in the course of time: Conrad Hal Waddington's methodological impact on the life sciences. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 44: 4 Part B 2013: 756-773.
- Giacomo Cavalli: The drosophila fab-7 Chromosomal Element Conveys Epigenetic Inheritance during Mitosis and Meiosis. *EMB J.* 1990; 9:2579-2585.

8. Weaver I: Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience* 2004, 7:847-854.
9. Ornish D: Increased telomerase activity and comprehensive lifestyle changes/ a pilot study. *Lancet Oncol.* 2008; 9 (11):1048-57.
10. Francis D: Nongenomic transmission across generations maternal behavior and stress in the rat. *Science* 1999:1155-1158.
11. Cortessis V: Environmental epigenetics: Prospects for studying epigenetic mediation of exposure-response relationships. *Human Genetics* 2012 ;131 :1565-1589.
12. de Rosnay J, Ornish D, Junien C : La révolution épigénétique-votre mode de vie compte plus que votre hérédité. Livre; Edit Albin Michel, 2018).
13. Franklin T, Russig H, Weiss I: Epigenetic Transmission of the Impact of Early Stress Across Generations. *Biological Psychiatry* ; 2010 (68) :408-415
14. van IJzendoorn M, Caspers K, Marian J: Trauma *Biological Psychiatry*, Volume 68, Issue 5, 1 September 2010, Pages 405-407
15. Bohacek J, Mansuy I: Molecular insights into transgenerational non-genetic inheritance of acquired behaviours. *Nat Rev Genet* 2015 (16): 641–652.
16. Bohacek J, Mansuy I: Molecular insights into transgenerational non-genetic inheritance of acquired behaviours. *Nat Rev Genet* 2015 (16): 641–652.
17. Weyrich A, Jeschek M, Schrapers K: Diet changes alter paternally inherited epigenetic pattern in male Wild guinea pigs. *Environ Epigenet* 4. 2018; doi: 10.1093/eep/dvy011.
18. Weyrich A, Yasar S, Lenz D: Tissue-specific epigenetic inheritance after paternal heat exposure in male Wild guinea pigs. *Springer Mammalian Genome* (invited) accepted. *Mamm Genome.* 2020; 31(5): 157–169.
19. Snyder-Mackler N, Lea A: Functional genomic insights into the environmental determinants of mammalian fitness. *Curr Opin Genet Dev* 53, 2018 :105–112.
20. Hamzaoui H, Rizk-Rabin M, Foley J : Régulations épigénétiques (Acétylation des Histones et Méthylation de l'ADN) sur l'Activité du Promoteur TATA Proximal et Hyperpression de la PTHrP au Cours de la Progression Tumorale Mammaire. *Annales d'Endocrinologie* Vol 67, N° 5 - octobre 2006 p. 384 .
21. Murphy S, Itchon-Ramos N, Visco Z, Huang Z: Cannabinoid exposure and altered DNA methylation in rat and human sperm. *Epigenetics.* 2018; 13:1208–1221
22. Guerrero T, Fickel J, Benhaiem S : Epigenomics and gene regulation in mammalian social systems. *Curr Zool.* 2020 Jun ; 66(3): 307–319.
23. Dobs Y, Ali M: The epigenetic modulation of alcohol/ethanol and cannabis exposure/co-exposure during different stages. *Open Biol.* 2019; 9:1-9.
24. Costentin J : Les effets épigénétiques du cannabis/tétrahydrocannabinol. *Bull Acad Natl Med.* 2020; Vol 204 (6): 570-576