



UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2016

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Syndrome de MELAS : étude descriptive et rétrospective d'une cohorte
de 55 patients hospitalisés dans un service d'endocrinologie,
diabétologie et métabolisme**

Présentée et soutenue publiquement le 28 juin 2016 à 16 heures
au Pôle Formation
Par Camille LOYER

JURY

Président :

Madame le Professeur Marie-Christine VANTYGHEM

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Patrick VERMERSCH

Madame le Professeur Anne VAMBERGUE

Madame le Docteur Claire-Marie DHAENENS

Directeur de Thèse :

Madame le Docteur Claire DOUILLARD

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADP	Adénosine di-phosphate
ARP	Activité Rénine Plasmatique
ARN	Acide Ribonucléique
ATP	Adénosine tri-phosphate
DFG	Débit de filtration glomérulaire
ECG	Electrocardiogramme
EMG	Electromyogramme
ETT	Echographie trans-thoracique
FAD	Flavine adénine dinucléotide
FSH	Hormone Folliculo-stimulante
HbA1c	Hémoglobine glyquée
HGPO	Hyperglycémie provoquée par voie orale
HSF	Hyalinose segmentaire et focale
HVG	Hypertrophie ventriculaire gauche
IRM	Imagerie par Résonance magnétique
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien
LH	Hormone Lutéinisante
ME	Microscopie électronique
MELAS	Mitochondrial Myopathy Encephalopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes
MERFF	Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers
MIDD	Maternal Inherited Diabetes and Deafness
MO	Microscopie Optique
MHM	Maladie héréditaire du métabolisme
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NARP	Neuropathie Ataxie Rétinite Pigmentaire
PTH	Parathormone
SBP	Sex binding protein
TSH	Thyroid-stimulating hormone

Table des matières

Résumé	1
Introduction	2
A- Description de la pathologie	4
A-1 Architecture de la mitochondrie.....	4
A-2 Fonctionnement de la chaîne respiratoire	5
A-3 Physiopathologie des cytopathies mitochondriales.....	12
A-4 Les présentations cliniques	21
A-5 La mutation 3243 A>G : phénotype MELAS/phénotype MIDD	22
A-6 Autres mutations impliquées dans le syndrome de MELAS	29
B-1 Autres cytopathies.....	30
B-2 Prise en charge diagnostique	31
<u>COMMENT FAIRE LE DIAGNOSTIC ?</u>	35
B-3 Prise en charge thérapeutique	36
Patients et méthodes	40
I) Caractéristiques de l'étude.....	40
II) Patients	40
A) Inclusion	40
B) Exclusion	40
III) Variables	41
A- Paramètres anthropométriques et données générales	41
B – Génétique	42
C – Retentissement métabolique	42
D – Paramètres spécifiques liés au diabète.....	42
E-Atteintes endocriniennes	43
F – Atteinte neurologiques	45
G – Atteintes neurosensorielles	46
H – Atteinte rénale	46
I – Atteinte cardiaque	46
J- Atteinte digestive.....	46
K- Retentissement nutritionnel	47
H – Traitement	47
IV) Analyse statistique	47
V) Extraction de l'ADN	48
Résultats	50
I- Paramètres anthropométriques et données générales.....	50

II- Génétique	52
A-Analyse descriptive	52
B- Liens statistiques.....	53
III-	54
Retentissement métabolique.....	54
A- Analyse descriptive	54
B.....	55
IV- Diabète	57
A- Analyse descriptive	57
B-Liens statistiques.....	60
V-Atteintes endocriniennes	60
A-Analyse descriptive	60
B- Liens statistiques.....	64
IX-Atteintes neurologiques	65
A-Analyse descriptive	65
B-Liens statistiques.....	67
X-Atteintes neurosensorielles	67
XI - Atteinte nutritionnelle	68
XII - Atteinte cardiaque.....	69
A-Analyse descriptive	69
B-Liens statistiques.....	69
XIII-Atteinte néphrologique.....	69
A-Analyse descriptive	69
B- Liens statistiques.....	71
XIV - Atteinte digestive.....	71
XV – Traitements	71
XVI - Analyse en sous-groupes : patients diabétiques versus patients non diabétiques.....	71
Discussion	76
Diabète.....	77
Atteintes endocriniennes.....	80
Atteintes neurologiques.....	83
Génétique.....	85
Traitement et suivi.....	85
Critique de l'étude	86
Conclusion.....	87
Références bibliographiques	88
Annexes	93

RESUME

Contexte : Le syndrome de MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes) est causé par la mutation 3243A>G de l'ADN mitochondrial et se caractérise par des atteintes diverses (neurologiques, cardiaques, diabète, rétinite pigmentaire, hypoacousie bilatérale). L'objectif de notre étude était de réaliser une analyse descriptive des patients présentant un syndrome de MELAS hospitalisés dans un service d'endocrinologie, diabétologie et métabolisme.

Méthode : Nous avons recueilli rétrospectivement les données de 55 patients hospitalisés dans le service d'endocrinologie-diabétologie du CHRU de Lille présentant un syndrome de MELAS génétiquement identifié.

Résultats : Nos patients présentaient une souffrance métabolique modérée (élévation post-prandiale des lactates, élévation du rapport lactate/pyruvate). Tous nos patients présentaient une atteinte neurologique, 35 (63%) un diabète et 18 (37%) une atteinte hypophysaire. La survenue d'un AVC et l'âge précoce de découverte du diabète étaient associés à une hétéroplasmie leucocytaire ($p=0,0004$ et $0,0009$) et urinaire ($p=0,0029$ et $0,0175$) plus élevées. Les patients diabétiques avaient plus de rétinite pigmentaire ($p=0,01$) et d'anomalies EMG ($p=0,04$), un rapport lactate/pyruvate ($p=0,04$) plus élevé que les non diabétiques.

Conclusion : Dans le syndrome de MELAS, les atteintes endocriniennes ne sont pas exceptionnelles et s'intègrent dans des formes plus sévères. Cette sévérité pourrait être liée à l'hétéroplasmie leucocytaire, voire urinaire. Les patients avec une hétéroplasmie élevée devraient bénéficier d'une évaluation neurologique, endocrinienne, glycémique, et métabolique plus rapprochées. Les patients diabétiques semblent montrer plus de manifestations de la maladie sur le plan ophtalmologique, ORL, rénal, neurologique et cardiologique et devraient bénéficier d'un suivi accru par rapport aux patients non diabétiques.

INTRODUCTION

Les cytopathies mitochondriales font partie des maladies héréditaires du métabolisme (MHM), et ont une prévalence de 1/5000 (1).

Les MHM sont très rares et d'origine génétique. Elles représentent un groupe de pathologies ayant en commun le dysfonctionnement d'enzymes ou d'autres protéines au sein du métabolisme cellulaire. Environ 600 MHM sont connues à ce jour, soit environ 1/10^{ème} du nombre très probable de ces pathologies, compte tenu du nombre de gènes impliqués dans la synthèse des protéines du métabolisme cellulaire. Les MHM sont classées en fonction des grandes voies métaboliques qu'elles impliquent. Ainsi, on distingue les maladies 1- par intoxication endogène (par un substrat en amont du bloc enzymatique) 2- par trouble du métabolisme énergétique (défaut de production d'Adénosine TriPhosphate (ATP)) 3- par surcharge des organelles (lysosome, peroxyosome) 4- par trouble du métabolisme des neurotransmetteurs 5- par déficit de synthèse des molécules complexes.

Les cytopathies mitochondriales appartiennent au groupe du métabolisme énergétique qui conduit à une insuffisance de production d'ATP par défaut de fonctionnement de la chaîne respiratoire elle-même. Les différentes atteintes de la maladie concernent donc majoritairement les tissus métaboliquement actifs et consommateurs d'énergie : le muscle (dont le cœur), le système nerveux, les glandes endocrines, le foie, le rein,... Leur hétérogénéité phénotypique est frappante. Elles peuvent en effet débuter à tout âge, et sous des formes très variables, tant sur le plan clinique que biologique. Elles regroupent un ensemble de pathologies variées, caractérisées par l'atteinte d'un gène, mitochondrial ou nucléaire. Il en découle un dysfonctionnement lié au déficit de un ou plusieurs complexes enzymatiques de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Parmi les atteintes endocriniennes, le diabète est la plus fréquente. Le diabète mitochondrial fait partie des diabètes monogéniques. Il représenterait 1% des diabètes mais reste probablement sous diagnostiqué. La mutation la plus fréquente est la 3243A>G. Cette mutation est responsable d'un phénotype variable allant du diabète type MIDD (Maternal Inherited Diabetes and Deafness) au syndrome de

MELAS lui-même qui peut s'accompagner d'un diabète mais de manière inconstante. L'expression des symptômes composant ces maladies et leur sévérité est extrêmement variable d'un individu à l'autre, au sein d'une même famille. Les autres pathologies endocriniennes associées sont moins bien connues, plus rarement recherchées et peut-être ainsi sous-estimées : atteintes hypophysaires (insuffisance somatotrope, corticotrope, atteinte gonadique), atteinte thyroïdienne (goitre, nodules), atteinte parathyroïdienne (hypoparathyroïdie). (2)

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude descriptive rétrospective d'une population de 55 patients présentant un syndrome de MELAS (Mitochondrial Myopathy Encephalopathy, Lactate Acidosis and Stoke-like episodes) génétiquement identifié.

Ce travail se décompose en plusieurs parties :

A- Description de la pathologie

1. Rappel sur l'architecture et la fonction globale de la mitochondrie
2. Fonctionnement de la chaîne respiratoire
3. Physiopathologie des cytopathies mitochondriales
4. Rappels sur les grands syndromes mitochondriaux
5. Le syndrome de MELAS
6. Autres cytopathies

B- Patients et méthodes

C- Résultats

D- Discussion et conclusion

A- Description de la pathologie

A-1 Architecture de la mitochondrie

La mitochondrie est une organelle intra cytoplasmique qui mesure 0,5 micron de largeur et entre 1 et 7 microns de longueur, de forme ovale (3) (Figure 1).

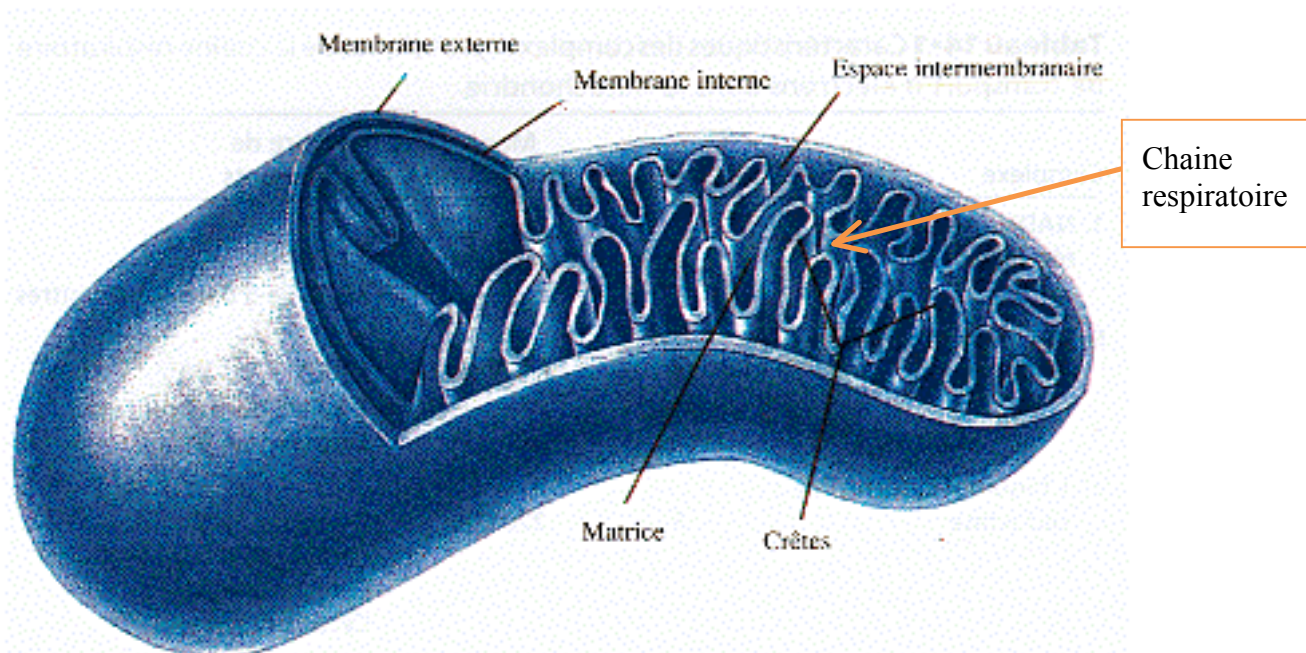


Figure 1 : architecture de la mitochondrie ("*Principes de Biochimie*" Horton et al. (1994) Ed. DeBoeck Universités)

Toutes les cellules humaines comportent des dizaines de milliers de mitochondries, et ce nombre varie selon le caractère métaboliquement actif -ou non- de la cellule. Ainsi, les cellules composant les organes métaboliquement très actifs comme entre autres le muscle, le système nerveux, le pancréas endocrine, la rétine sont très riches en mitochondries (3). La paroi de la mitochondrie est formée d'une double membrane qui circonscrit un compartiment inter membranaire (entre les deux membranes) et une matrice (zone interne bordée par la membrane interne). La membrane externe est perméable à de nombreuses petites molécules et aux ions. La matrice contient les principales enzymes indispensables allant du pyruvate issu de la glycolyse, de la bêta-oxydation des acides gras et du catabolisme des acides

aminés jusqu'au cycle de Krebs. La membrane interne est composée de nombreux replis et de crêtes (tubulaires ou lamellaires) et est imperméable aux ions et aux molécules polarisées. La chaîne respiratoire est enchâssée dans la membrane interne et fonctionnera grâce aux substrats issus du métabolisme de la matrice mitochondriale.

A-2 Fonctionnement de la chaîne respiratoire

Les mitochondries occupent une place incontournable au sein du métabolisme intermédiaire. Elle est le lieu d'oxydation des acides gras, des acides carboxyliques (provenant du métabolisme du sucre (cycle de Krebs)) et des acides aminés. Ces réactions permettent entre autres d'assurer la synthèse d'énergie sous forme d'ATP, énergie indispensable à une cellule pour qu'elle puisse assurer ses différentes missions (synthèse de composés, anabolisme). On appelle ce couplage entre les réactions d'oxydation et la synthèse d'ATP « l'oxydation phosphorylante » : elle convertit l'énergie chimique issue de l'oxydation des substrats énergétiques (glucides, acide gras, acides aminés) en ATP, ce dernier permettant le transport de l'énergie (2). Cette phosphorylation oxydative a lieu au niveau de la chaîne respiratoire située au niveau de la membrane interne de la mitochondrie. Elle comprend donc des réactions d'oxydation consommatrices d'oxygène et productrices d'eau et la phosphorylation de l'ADP (adénosine diphosphate) intra mitochondriale en ATP (figure 2). Les 2 substrats indispensables au fonctionnement de la chaîne respiratoire sont le NADH et le FADH₂, issus du cycle de Krebs sous forme réduite (4).

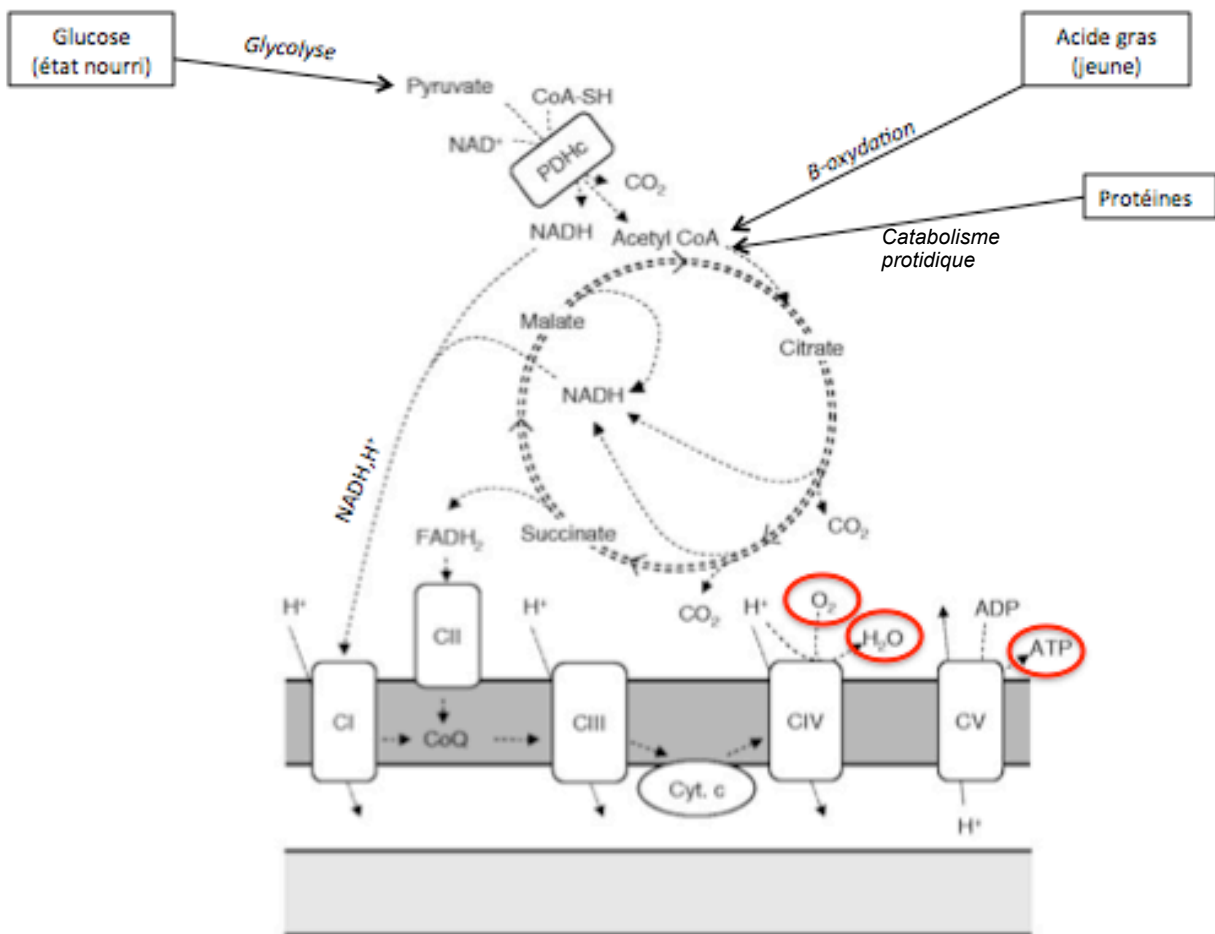


Figure 2 : RODENBURG 2011 : Représentation schématique de la chaîne respiratoire mitochondriale. Le NADH et le FADH₂, formés au sein de la matrice mitochondriale, sont oxydés par les complexes I et II. Les électrons issus de ces réactions sont transportés à travers les différents complexes. Pendant ces transferts, des protons sont extraits de la matrice mitochondriale jusqu'à l'espace inter-membranaire par les complexes I, III et IV. Le gradient électrochimique résultant est utilisé pour convertir l'ADP en ATP au sein du complexe V.

PDHc = Pyruvate déshydrogénase

La chaîne respiratoire est un ensemble physique enchâssé dans la membrane interne et se compose de cinq complexes multienzymatiques, transporteurs d'électrons (figure 4) :

- Le Complexe I (ou NADH-Coenzyme Q-oxydoréductase) contient une enzyme, la NADH-déshydrogénase, composé de 44 sous-unités qui comportent une flavine mononucléotide dont les 6 cofacteurs sont appelés centres Fer-Soufre (Fe S). 14

- de ces sous-unités constituent le « corps catalytique » et assurent à elles seules la principale fonction du Complexe I : l'oxydation du NADH, le transfert d'électrons au co-enzyme Q, et l'action de la pompe à protons à travers la membrane mitochondriale. 7 d'entre-elles sont codées par l'ADN nucléaire et les 7 autres par l'ADN mitochondrial (figure 5). Le rôle des 30 sous-unités restantes reste non élucidé (5). Le complexe I fournit environ 40% de l'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP (6). Une défaillance du complexe I semble être l'anomalie la plus rencontrée en pathologie mitochondriale (5–8).
- Le Complexe II (succinate-CoQ réductase) comporte l'enzyme succinate déshydrogénase (composée de 4 sous-unités) et intervient également au sein du cycle de Krebs. Elle contient une coenzyme FAD avec 4 centres Fe S. Ce complexe ne participe pas à l'expulsion des protons dans l'espace inter-membranaire.
 - Ces deux premiers complexes transfèrent des électrons au CO-ENZYME Q, véritable transporteur d'électrons, mobile au sein de la phase lipidique membranaire entre les complexes I, II et III
 - Le Complexe III (ubiquinone-cytochrome c réductase), répartis en 11 sous-unités associées en dimères, comporte les cytochromes b et c1 associés à un centre Fe S et participe à l'expulsion des protons vers l'espace inter-membranaire.
 - Le Complexe IV (cytochrome c oxydase), composé de 13 sous-unités, contient les cytochromes a et a3. C'est le dernier relais dans la chaîne de transport des électrons. Il catalyse la réduction de l'oxygène moléculaire (O_2) en eau (H_2O).
 - Le cytochrome c, situé entre le complexe III et le complexe IV, est une petite protéine hydrosoluble mobile sur la face externe de la membrane interne et qui transporte elle aussi des électrons.
 - Le Complexe V (ou ATPase, 14 sous-unités) (Figure 3) est une protéine complexe en charge de la synthèse d'ATP à partir de l'ADP et du phosphate inorganique située au sein de la matrice mitochondriale. Il est composé de 2 complexes F0 et F1 associés.

- Le complexe F₀ se situe dans la membrane interne de la mitochondrie et est constitué de plusieurs protéines : OSCP (oligomycin sensitivity-conferring protein), a, b, d, F₆, c. Cette dernière a la forme d'un anneau. Il permet le passage de protons au sein de la matrice : c'est le canal à protons.

- Le complexe F₁ est composé de plusieurs sous-unités α , β , γ , δ et ϵ .

L'ensemble qui constitue le complexe F₁ associe :

- 3 copies des sous-unités α et β ,
- 1 copie des sous-unités γ , δ et ϵ qui constituent le « cœur » du complexe V.

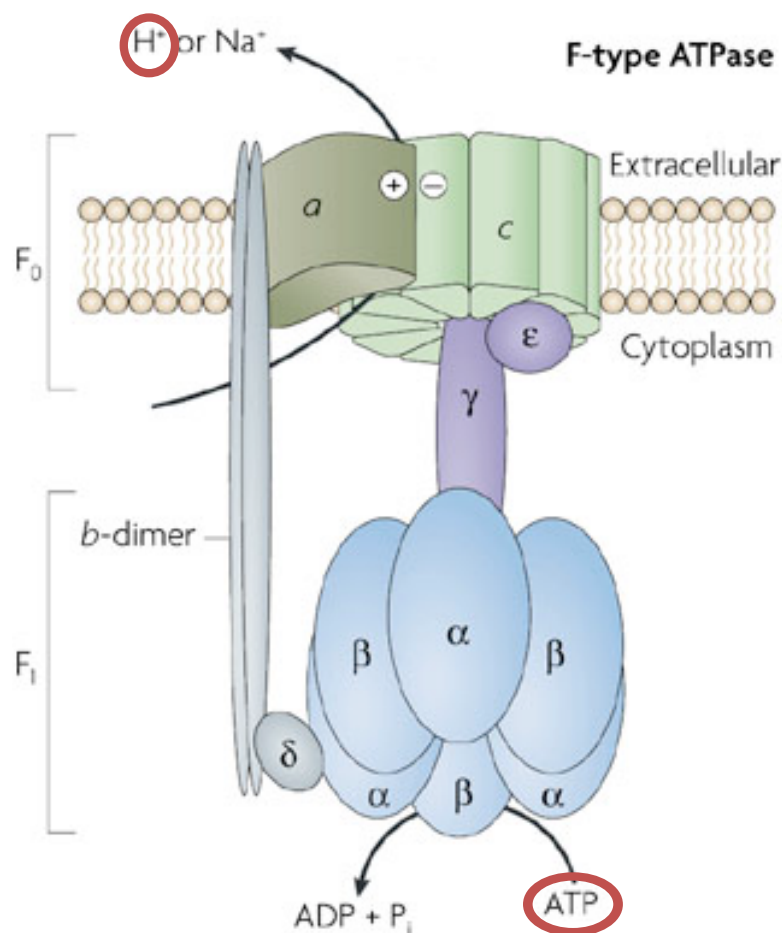


Figure 3 : in « Inventing the dynamo machine : the evolution of the F-type and V-type ATPases », Maulikidjanian AY and al., Nat Rev Microbiol, 2007

Le complexe V, siège de la formation de l'ATP, est composé de 2 sous-parties :

- F₀ (canal à protons) dans la membrane interne de la mitochondrie
- F₁, composé de plusieurs sous-unités

C'est la sous-unité β qui assure la phosphorylation d'ADP en ATP, grâce à l'énergie issue du gradient de protons qui traverse le complexe F₀. Cette énergie est issue d'un gradient de pH et d'un gradient électrique du potentiel membranaire (8). Cette énergie libérée permet la rotation des sous-unités mobiles : la protéine c (complexe F₀) et les sous-unités γ , δ et ϵ (complexe F₁).

Sur le plan mécanique, le complexe V peut donc se diviser en 2 parties : l'une « mobile » ou « rotor » (protéine C, γ , δ et ϵ) et l'autre « statique » ou « stator » (α , β , protéine a, b, d) (8).

Les anomalies du complexe V sont responsables de pathologies lourdes telles que le syndrome de Leigh ou le NARP (Neuropathie, Ataxie et rétinite pigmentaire)(8). Ces anomalies sont liées à des mutations de l'ADN mitochondrial (sous-unité A ou F₆ par exemple) ou de l'ADN nucléaire. Elle semble être la 2^{ème} anomalie la plus fréquemment rencontrée en pathologie mitochondriale derrière le Complexe I (respectivement 5 et 8%) (9).

Au total, la chaîne respiratoire produit de l'ATP et de l'eau à partir des hydrogènes (protons H⁺ et électrons e⁻ apportés par les coenzymes NADH,H⁺ et FADH₂) et de l'oxygène de l'air. L'oxydation du NADH et du FADH₂, issus du cycle de Krebs, permet le transfert d'électrons au sein des complexes de la chaîne respiratoire, qui vont les transporter jusqu'au complexe IV. C'est la phase d'oxydation. Une fois à destination, les électrons serviront à la formation d'H₂O au sein de ce complexe. Le voyage de l'électron permet l'expulsion de protons (H⁺) vers l'espace inter-membranaire, créant ainsi un potentiel de membrane : la membrane interne se charge négativement sur sa face interne et positivement sur sa face externe. Ceci permet la formation d'une charge motrice qui va engendrer le passage des protons de l'espace inter-membranaire vers la matrice via l'ATP-synthase (complexe V). L'énergie ainsi générée permettra la phosphorylation de l'ADP pour la formation de l'ATP, objectif ultime de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ce processus s'appelle la phosphorylation oxydative.

La mutation 3243A>G, impliquée dans le syndrome de MELAS, est responsable d'une anomalie de la structure tertiaire d'un ARNt et d'une dimérisation anormale de la molécule. Ainsi, l'activité des complexes de la chaîne respiratoire diminue, entraînant un déficit énergétique. En effet, le syndrome de MELAS est

caractérisé par un déficit de phosphorylation oxydative dont l'origine est souvent multiple : anomalie du complexe I, déficit en cytochrome c oxydase sont les plus fréquents et présents simultanément.

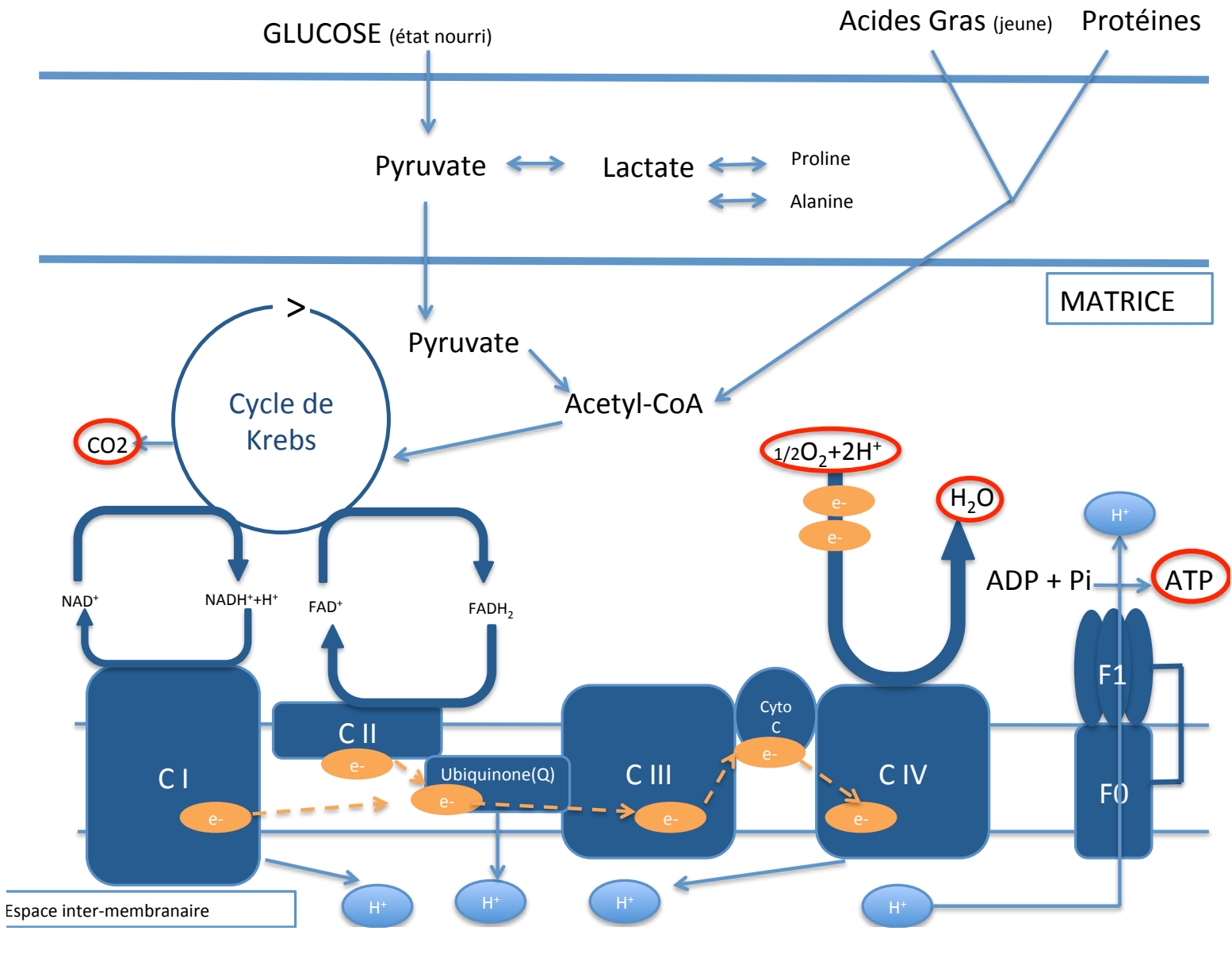


Figure 4 :

L'acétyl-CoA est d'origine :

- 1) Glucidique (oxydation du glucose via le pyruvate) en état nourri
- 2) Lipidique via la beta-oxydation des acides gras en état de jeûne
- 3) Protéique à l'état nourri et de jeûne

L'ensemble des réactions de la chaîne respiratoire, via le transport d'électrons, aboutira à la formation d'ATP, d'eau et de CO₂ à partir des différents nutriments et d'oxygène.

Le régime alimentaire peut influencer le fonctionnement de la mitochondrie, en modulant les apports en hydrates de carbones et lipides (4). En effet, à l'état nourri, les hydrates de carbone sont métabolisés lors de la glycolyse en pyruvate, transformé par la pyruvate déshydrogénase en acétyl-CoA, principal substrat du cycle de Krebs. Si la chaîne respiratoire ne fonctionne pas bien, on observera une accumulation des coenzymes réduits qui ralentiront le cycle de Krebs en amont, ce qui provoquera l'accumulation du pyruvate qui n'arrive plus à être dégradé en acétyl-CoA pour rentrer dans le cycle de Krebs. Le pyruvate sera alors réduit en lactate par réversibilité de la lactate déshydrogénase. Le lactate sera donc élevé et d'autant plus que l'apport en glucides qui charge la voie de la glycolyse sera important. Cela explique pourquoi la période postprandiale peut s'accompagner d'une hyperlactatémie. En même temps, on peut observer une céto-genèse post-prandiale et donc paradoxale : le NADH,H⁺, provenant du cycle de Krebs, s'accumule et va favoriser la transformation de l'acéto-acétate en 3-OH-butyrate.

Ainsi, la mesure des points redox permettra d'avoir un reflet du dysfonctionnement mitochondrial : élévation du rapport lactate/pyruvate et élévation du rapport 3-OH-butyrate/acéto-acétate (reflet de l'élévation du NADH,H⁺) et majoritairement en période post-prandiale.

A-3 Physiopathologie des cytopathies mitochondriales

Les symptômes d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire sont liés à la carence en ATP indispensable au coût énergétique du travail de chaque cellule, la production d'ATP par la glycolyse est insuffisante à elle seule. Ils peuvent être également en rapport avec la formations de radicaux libres toxiques pour les structures membranaires lipidiques et conduisant certaines cellules à l'apoptose. Ces radicaux libres peuvent d'ailleurs également favoriser l'apparition des mutations de l'ADN mitochondrial (ADN mt).

GENETIQUE

Concernant les différentes protéines de la chaîne respiratoire, elles sont codées soit par le génome de l'ADN mitochondrial lui-même (5%), soit majoritairement par une partie du génome nucléaire, qui code jusqu'à 95% des protéines participant à l'assemblage ou la structure des complexes. Cet aspect est fondamental car il

participe à l'hétérogénéité clinique et génétique, notamment dans le mode de transmission de la maladie. Ainsi, l'hérédité peut-être maternelle s'il s'agit d'une mutation de l'ADN mt, sporadique (délétion), ou mendélienne classique s'il s'agit d'une atteinte de l'ADN nucléaire.

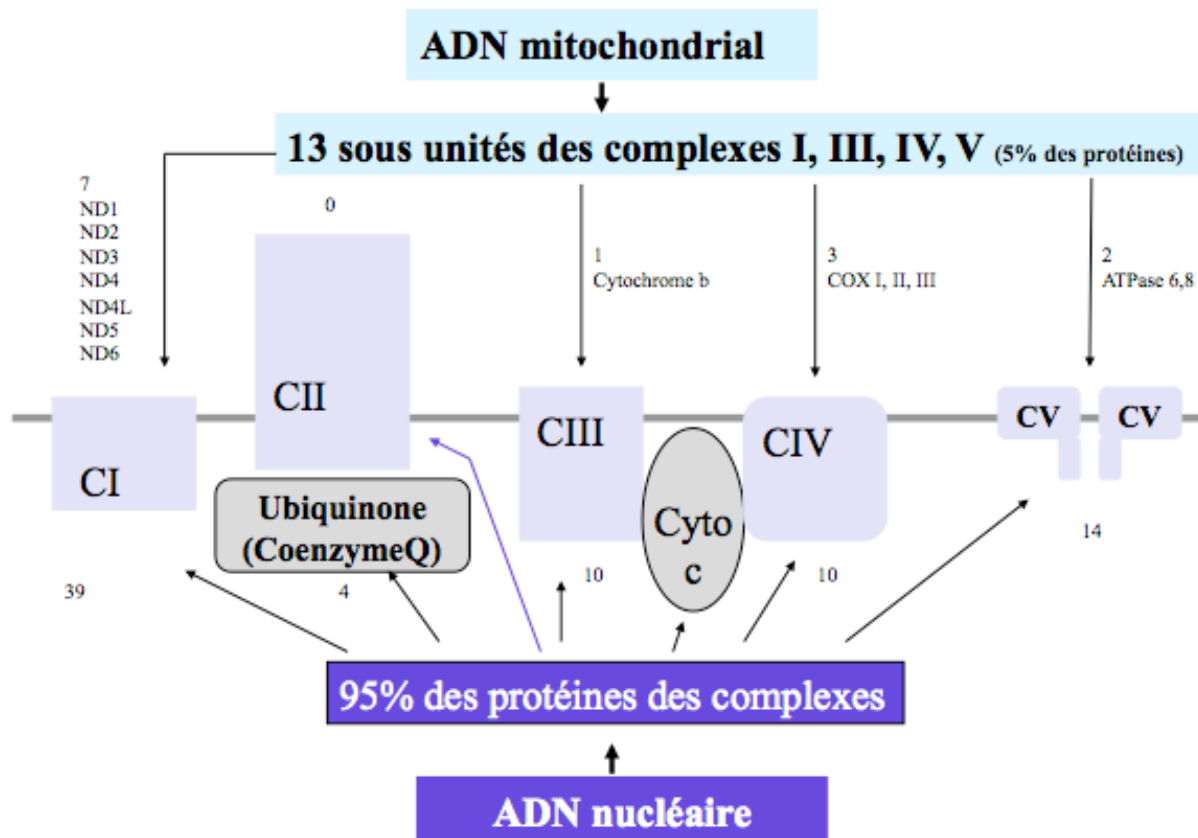


Figure 5 : L'ADNmt code pour 5% des protéines de la chaîne respiratoire, l'ADN nucléaire pour les 95% restants.

1- L'ADN mitochondrial (ADN mt) :

La mitochondrie a un code génétique propre. Il existe 2 à 10 copies de l'ADN mitochondrial par mitochondrie. L'ADN mt est composé de 2 brins circulaires, comportant 16569 paires de base, comprenant quasi-exclusivement des exons (figure 6). L'ADN mt est uniquement d'origine maternelle. En effet, au cours de la fécondation, l'ovocyte transmet au zygote son noyau (comportant l'ADN nucléaire) et son cytoplasme (comportant le pool mitochondrial) alors que le spermatozoïde ne

lègue que son noyau (l'ADN nucléaire), les mitochondries restant dans son flagelle, à l'extérieur de l'ovocyte. Ainsi, lorsque la cytopathie est liée à une mutation de l'ADN mt, il s'agira d'une transmission non mendélienne, exclusivement maternelle. La quantité d'ADN mt muté transmise à la descendance dépend de la quantité d'ADN muté présent dans l'ovocyte au moment de la fécondation.

L'ADN mt code pour 13 sous unités des complexes I, III, IV et V de la chaîne respiratoire (figure 5) : la NADH-déshydrogénase, le cytochrome b, la cytochrome c-oxydase et l'ATP-synthase. Il code également pour les gènes de 22 ARN de transferts (ARNt) et de 2 ARN ribosomiaux (ARNr12s et ARNr16s), indispensables à la traduction intra mitochondriale. Les autres protéines de la mitochondrie sont codées par l'ADN nucléaire (95%) (Figure 5).

Chaque cellule compte plusieurs centaines à plusieurs milliers de mitochondries et chaque mitochondrie présente plusieurs copies d'ADN mt. Les molécules normales et mutées pouvant coexister au sein d'une même cellule. Lors de la mitose, les mitochondries se répartissent au hasard au sein des cellules filles : c'est la ségrégation mitotique. Ce phénomène est responsable de la coexistence au sein de la même cellule de l'ADN mt muté et non muté : c'est l'hétéroplasmie (figure 7), souvent exprimée en pourcentage. A l'inverse, si une cellule ne possède qu'un seul type d'ADN mt, on parle d'homoplasmie. Le génotype d'une cytopathie mitochondriale se définit donc par le pourcentage de molécules mutées dans un tissu. Ce pourcentage est variable d'un tissu à l'autre. Cette hétéroplasmie explique la diversité des phénotypes cliniques observés. L'hétérogénéité clinique est d'autant plus marquée que cette proportion d'hétéroplasmie peut non seulement varier d'un organe à l'autre mais varier au cours du temps. Il est toutefois nécessaire d'atteindre un certain seuil d'ADN mt muté dans l'organe pour obtenir une expression clinique. Cet effet seuil varie selon le niveau énergétique des organes cibles. La corrélation entre le degré d'hétéroplasmie et la sévérité de l'atteinte clinique reste débattue (10–12). En effet, peu d'auteurs ont comparé phénotype et pourcentage d'hétéroplasmie. La répartition aléatoire des mitochondries mutées au sein des différents tissus rend la tâche plus ardue encore, le taux d'hétéroplasmie variant au sein d'un même individu d'un organe à l'autre. De plus, l'inaccessibilité de certains organes à une biopsie (cœur, cerveau par exemple) rend compliquée la corrélation génotype-

phénotype. Toutefois, certains auteurs comme Ma et al. ou encore Whittaker et al. ont montré une relation entre les taux d'hétéroplasmie urinaire et les manifestations cliniques (11). Cependant, ces études ont été menées sur des petits groupes de patients. Laloi-Michlein et al. ont également montré que le degré d'hétéroplasmie leucocytaire des patients MIDD et MELAS était corrélé à un IMC plus bas et un taux d'HbA1c plus élevé (13).

Ainsi, la variabilité de l'hétéroplasmie au sein d'un même individu peut compliquer le diagnostic : en effet, Shanske et al. ont montré que certains patients pouvaient présenter un taux indétectable d'ADN mt muté dans les leucocytes, malgré une hétéroplasmie franchement élevée dans d'autres tissus, notamment les urines. Ainsi, de rares études ont tenté de comparer les dosages d'hétéroplasmie dans différents tissus afin d'en déterminer le plus fiable, et éviter ainsi les faux négatifs. Certains auteurs dont Frederiksen et al., Ma et al., Marotta et al. concluent à la supériorité de l'hétéroplasmie urinaire pour le diagnostic. Ces données semblent confirmées par l'étude de Shanske et al qui ont analysé 5 types de prélèvements différents chez des patients porteurs de la mutation 3243A>G (leucocytes, urinaire, fibroblastes, racine du cheveu et muqueuse buccale), mutation associée au

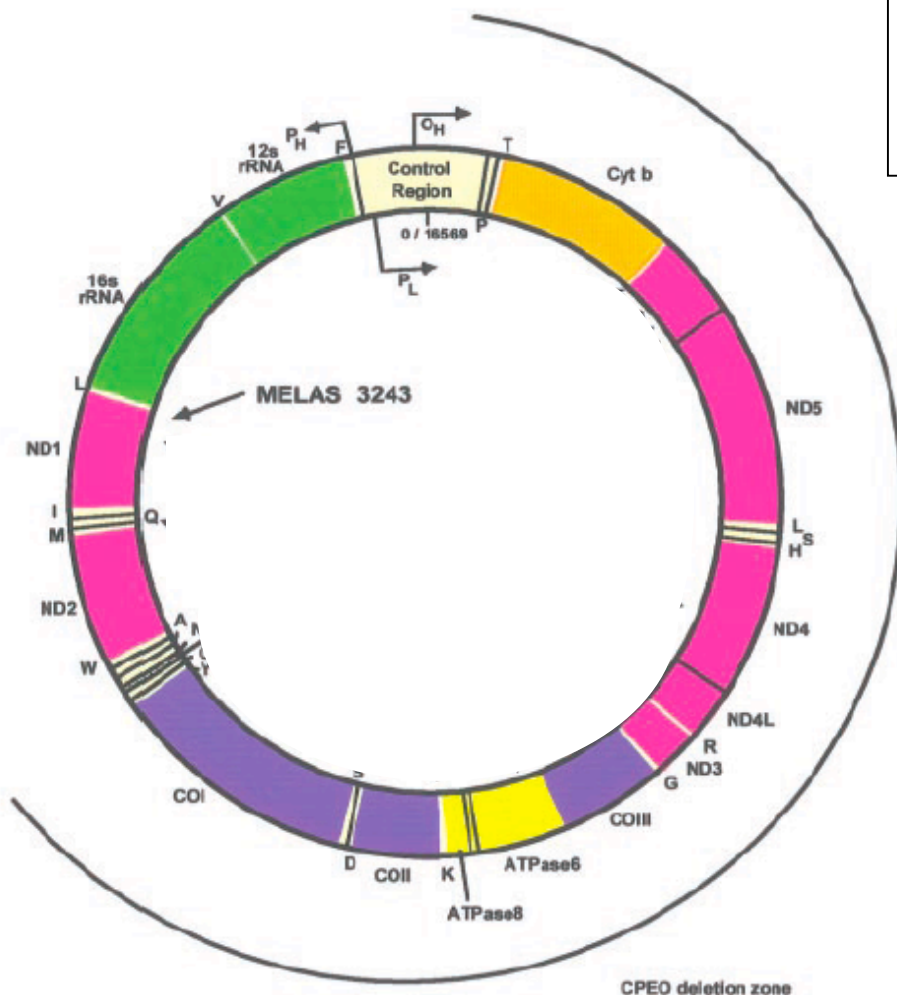


Figure 6 : Schéma de l'ADN mt montrant la localisation de la mutation 3243A>G « Mitochondrial diseases in Man and Mouse », Wallas D., *Science*, 1999

L'ADN mt est un ADN circulaire, composé en grande majorité de régions codantes.

- La mutation 3243 (flèche) est responsable de plusieurs syndromes dont le syndrome de MELAS et le MIDD. Elle code pour un ADN de transfert de la leucine.
- L'ophtalmoplégie externe chronique progressive est issue d'une grande délétion de l'ADN mitochondrial (trait noir).

syndrome de MELAS. Leur étude conclut une fois encore à la supériorité diagnostique de l'analyse urinaire (à l'inverse, les analyses leucocytaires mettent en évidence le taux le plus bas d'ADN mt muté).

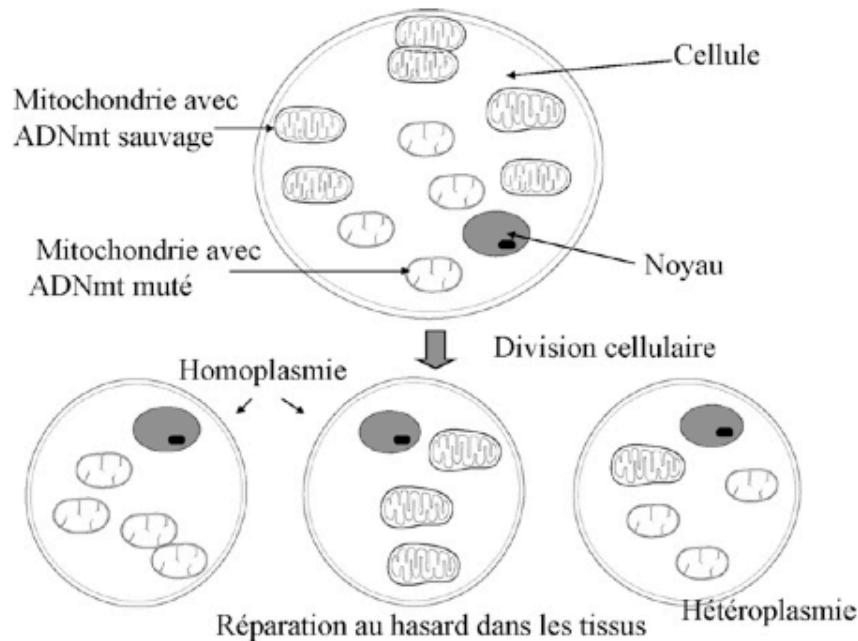


Fig 7 Ségrégation mitotique et hétéroplasmie (d'après A. Rotig. *Diabetes Metab* 1996;22:291–98).

Dans le cadre des cytopathies mitochondriales, l'anomalie du génome sur l'ADN mt peut être multiple : délétion, duplication, mutation. Celles-ci sont favorisées par la fragilité de l'ADN mt qui est dépourvu de mécanisme de réparation ou d'histone protecteur, malgré une réplication extrêmement rapide (5 à 10 fois plus vite que l'ADN nucléaire). Il n'existe pas de corrélation entre le déficit enzymatique et le phénotype clinique. Une même mutation peut être responsable de plusieurs phénotypes (2,3,10,12) (Tableau 1).

2- L'ADN nucléaire

Les différentes protéines assemblant les complexes de la chaîne respiratoire sont codées en grande partie par le génome nucléaire. Ainsi, l'hétérogénéité clinique

est également sous-tendue par ces 2 types d'atteintes génétiques différentes, mitochondriale ou nucléaire.

Le génome nucléaire code pour la majeure partie des protéines constituant la chaîne respiratoire (95%) : certaines à l'origine soit des protéines de structure de l'ADN mt, soit des protéines d'assemblage des complexes, soit des protéines de maintenance de l'ADN mt, soit des protéines essentielles à la transcription, la traduction et la réplication (figure 5). Ainsi, certaines anomalies du génome nucléaire peuvent altérer la régulation de la synthèse de l'ADN mt et l'organisation des complexes de la chaîne respiratoire. Néanmoins, la nature de ces gènes et leur implication physiopathologique ne sont pas toujours bien explicitées.

De plus, il est surprenant de constater que les cytopathies mitochondriales liées à une erreur de l'ADN nucléaire n'engendrent pas toutes une atteinte multi systémique, bien que l'anomalie soit portée par toutes les cellules, qui ont elles-mêmes toutes besoin d'une chaîne respiratoire fonctionnelle. Les causes de la variabilité clinique sont donc multiples et complexes.

ANOMALIES DE FONCTIONNEMENT DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

Dans environ 53% des cas en pathologie mitochondriale humaine, il existe des anomalies combinées des différentes réactions de la chaîne respiratoire mitochondriale (14). Les 2 éléments le plus souvent touchés sont le cytochrome c oxydase et le complexe I, en raison de leur nombre important de sous-unités codées par l'ADN mt (15). Plusieurs enzymes des complexes peuvent être touchées au sein de la même pathologie : soit par la nature même de la mutation de l'ADN mt, soit par le type de cofacteur touché (qui intervient dans différentes réactions enzymatiques), soit par des modifications de l'homéostasie mitochondriale (échanges avec le milieu extérieur par exemple) ou alors enfin par l'atteinte de super-complexes (anomalies du complexe 3 notamment). L'étude des enzymes impliquées dans la chaîne respiratoire au sein de mitochondries analysées à partir des tissus touchés (muscle, peau, foie...) peut être une aide précieuse dans l'identification du type de cytopathie mitochondriale.

Un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale entraîne de graves conséquences sur l'ensemble des réactions cellulaires la composant (figure 8) :

1) **Carence en ATP** par défaut de sa synthèse, ATP qui est la source d'énergie majeure et indispensable aux réactions cellulaires et qui constitue la finalité de chaque cellule.

2) **Accumulation d'équivalents réduits** (NADH, H⁺, FADH₂) dans le cytoplasme et la mitochondrie, conséquence d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire et responsable d'un ralentissement du cycle de Krebs en amont. Ceci provoquera l'accumulation du pyruvate qui n'arrive plus à être dégradé en acétyl-CoA pour rentrer dans le cycle de Krebs. Le pyruvate sera alors réduit en lactate par réversibilité de la lactate déshydrogénase (augmentation du rapport lactate/pyruvate, acidose lactique). Le lactate sera donc élevé et d'autant plus que l'apport en glucides qui charge la voie de la glycolyse (et donc l'accumulation de pyruvate) sera important (période postprandiale). En parallèle, l'activité des déshydrogénases de la bêta-oxydation des acides gras est diminuée, car l'acétyl-Coa déshydrogénase est dépendante de la FAD et la bêta-hydroxyacyl-Coa déshydrogénase est dépendante du NAD, le FAD et NAD étant en situation de carence en cas de dysfonctionnement de la chaîne respiratoire (non régénérés par les complexes I et II). Ce mécanisme explique qu'en situation post-prandiale, l'acétyl-Coa ne peut pas être oxydé au sein du cycle de Krebs et qu'il est donc orienté vers la formation de corps cétoniques. L'élévation du NADH,H⁺ accumulé et provenant du cycle de Krebs, va favoriser la transformation de l'acéto-acétate en 3-OH-butyrate. On obtient donc une accumulation de corps cétoniques, responsables de la cétonémie dite « paradoxale », car survenant hors période de jeûne, et plus volontiers en période post-prandiale.

Ainsi, la mesure des points redox permettra d'avoir un reflet du dysfonctionnement mitochondrial : élévation (majoritairement en période post-prandiale) du rapport lactate/pyruvate et élévation du rapport 3-OH-butyrate/acéto-acétate (reflet de l'élévation du NADH,H⁺).

- 3) L'accumulation de composés semi-réduits au sein de la mitochondrie va être responsable de la **génération de radicaux libres** toxiques pour l'ADN et les membranes lipidiques : c'est le stress oxydant, qui va déclencher la cascade de l'apoptose
- 4) Survenue de **l'apoptose** cellulaire, déclenchée par ce dysfonctionnement mitochondrial : lié à la toxicité et à la fragilité des membranes cellulaire et de la cellule en lien avec le stress oxydant mais aussi par insuffisance énergétique de la cellule elle-même.

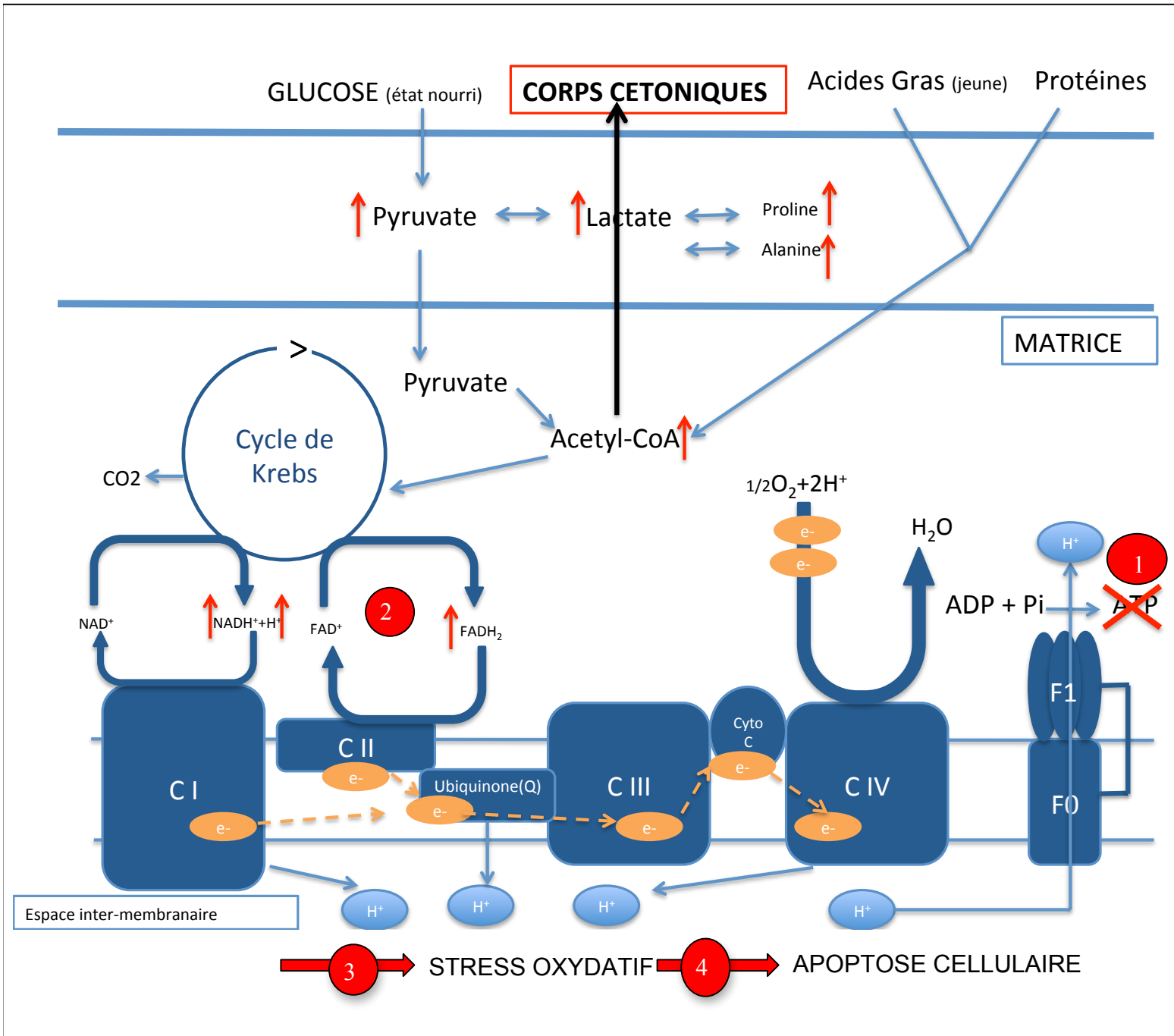
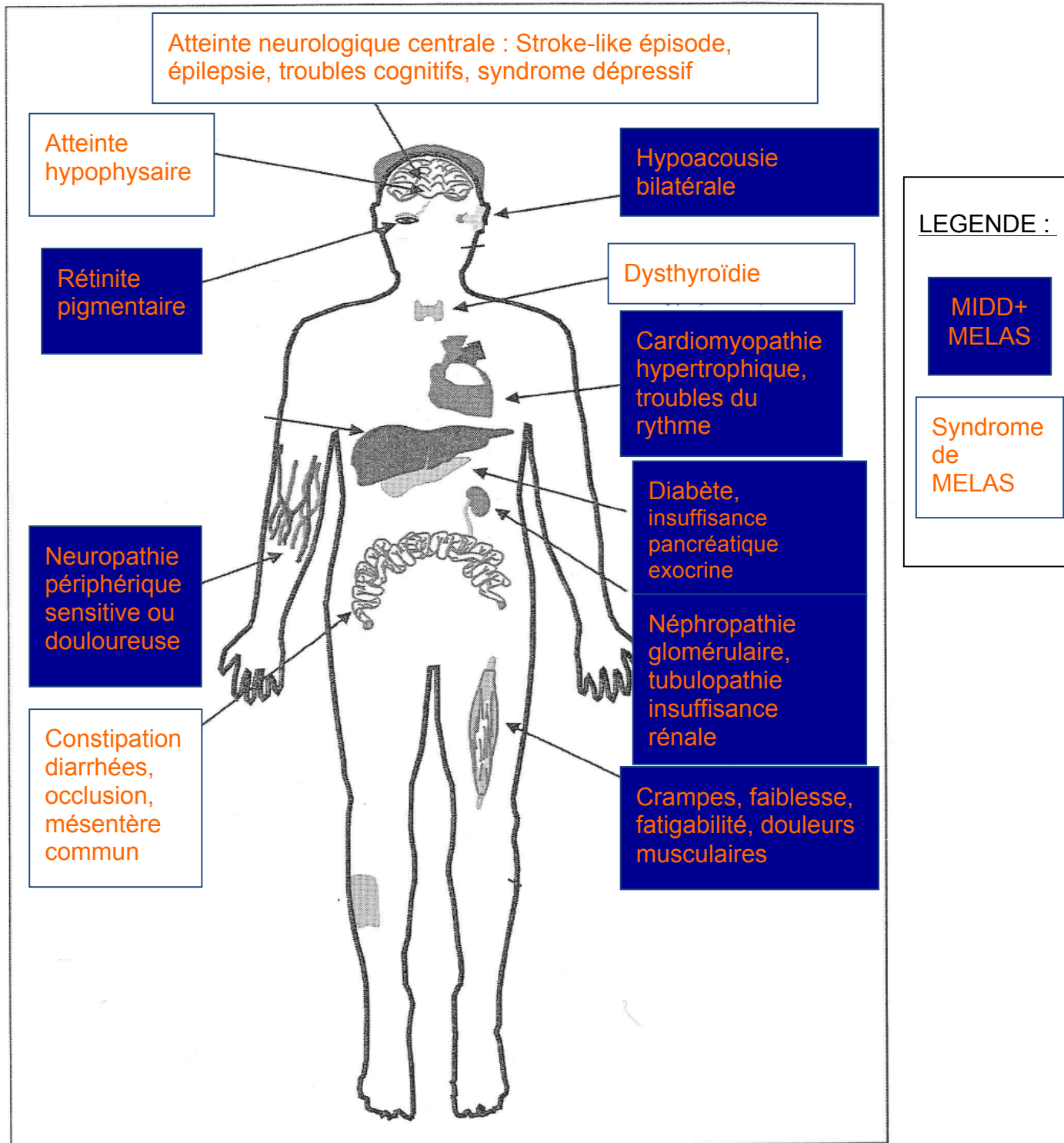


Figure 8 : Anomalies de fonctionnement de la chaîne respiratoire :

- 1) Carence en ATP par dysfonction de la chaîne respiratoire (enzymes touchées variables). Dans le cas de la mutation 3243, plusieurs enzymes sont touchées
- 2) Accumulation d'équivalents réduits par réversibilité de la lactate déshydrogénase, accumulation de lactates et élévation du rapport lactates/pyruvate
- 3) Formation de radicaux libres
- 4) Apoptose cellulaire

A-4 Les présentations cliniques

Figure 9 : Les différentes atteintes possibles dans le cadre de la mutation 3243A>G de l'ADN mitochondrial :



Source : Scriver et al, *The metabolic and molecular bases of inherited Disease* (Chapter 99, Munnich A et al)

Le diagnostic de cytopathies était évoqué initialement pour des maladies neurologiques ou dans des syndromes variés, très majoritairement à expression neuromusculaire : syndrome de LEIGH, Alpers, MERRF, MELAS, Kearns sayre, NARP, CPEO... On parlait alors de myopathies mitochondriales. Puis une description plus complète des phénotypes a permis d'élargir la définition clinique à des atteintes multi viscérales, apparemment sans association entre elles (association illégitime de symptômes) : on parle alors de cytopathies mitochondriales.

Dans la très grande majorité des cas, les débuts sont très précoces (période néonatale ou avant l'âge de un an) mais la maladie peut commencer à des âges différents et être diagnostiquées seulement à l'âge adulte.

Au cours de notre travail, nous avons réalisé une étude descriptive phénotypique concernant des patients présentant un syndrome de MELAS génétiquement identifié.

A-5 La mutation 3243 A>G : phénotype MELAS/phénotype MIDD

La mutation m.3243A>G, (Annexe 1) dont la prévalence estimée à 7,59/100 000 dans la population du nord-est de l'Angleterre et 16,3/100 000 dans la population finlandaise (10), est plus souvent connue comme responsable du syndrome de MELAS (Mitochondrial Encephalopathy Lactic Acidosis and Stroke-like episodes). On peut toutefois lui imputer d'autres anomalies phénotypiques comme le syndrome de MIDD (Maternal Inherited Diabetes and Deafness) (2,3) (figure 10). L'article princeps décrivant le syndrome de MELAS par Pavlakis et al. date de 1984 et décrivait une population de patients qui présentait une myopathie mitochondriale, une encéphalopathie, une acidose lactique et des épisodes de « stroke-like », mimant un AVC (16).

C'est en 1990 qu'a été identifiée génétiquement la mutation responsable de ce phénotype, en position 3243 au sein de l'ADN mitochondrial, où une base adénine est remplacée par une base guanine : m.3243A>G au sein du gène MT-TL1, codant pour un ARN de transfert de la leucine (17,18), qui participe à la synthèse de plusieurs protéines mitochondriales. Si en théorie tous les tissus sont touchés, l'hétéroplasmie explique l'atteinte très variable constatée en pratique clinique, comme dans de nombreuses cytopathies. Le lien entre hétéroplasmie et phénotype

reste un sujet débattu. Laloï and al. ont mis en évidence un lien entre la sévérité du phénotype et le taux d'hétéroplasmie leucocytaire (13), même s'il semblerait que sur un petit nombre de patients, l'hétéroplasmie urinaire pourrait être représentative de la sévérité de l'atteinte clinique (10–12).

Figure 10 : MELAS ou MIDD ? MIDD ou MELAS ?

MIDD

- Diabète sucré
- Surdité ou Hypoacousie de perception bilatérale
- IMC<27
- Rétinite pigmentaire
- Antécédents maternels de diabète
- Néphropathie diabétique



MELAS

- diabète sucré
- « stroke-like »
- neuropathie périphérique
- Crampes
- hypoacousie de perception bilatérale
-  pilepsie
- cardiomyopathie hypertrophique
- encéphalopathie
- ataxie cérébelleuse
- Atteinte hypophysaire : insuffisance thyro trope, gonadotrope, corticotrope, somatotrope
- rétinite pigmentaire
- Troubles neuropsychiatriques
- insuffisance rénale parfois terminale, tubulopathie
- constipation, sub-occlusion, insuffisance pancréatique exocrine

Le syndrome de MELAS est caractérisé par plusieurs atteintes (figure 9 et 10) dont la nature et la sévérité sont très variables d'un individu à un autre et selon les familles. Cette hétérogénéité clinique oblige à interpréter les pourcentages d'atteinte d'organes avec une certaine prudence.

- Diabète sucré
- Hypoacousie de perception bilatérale

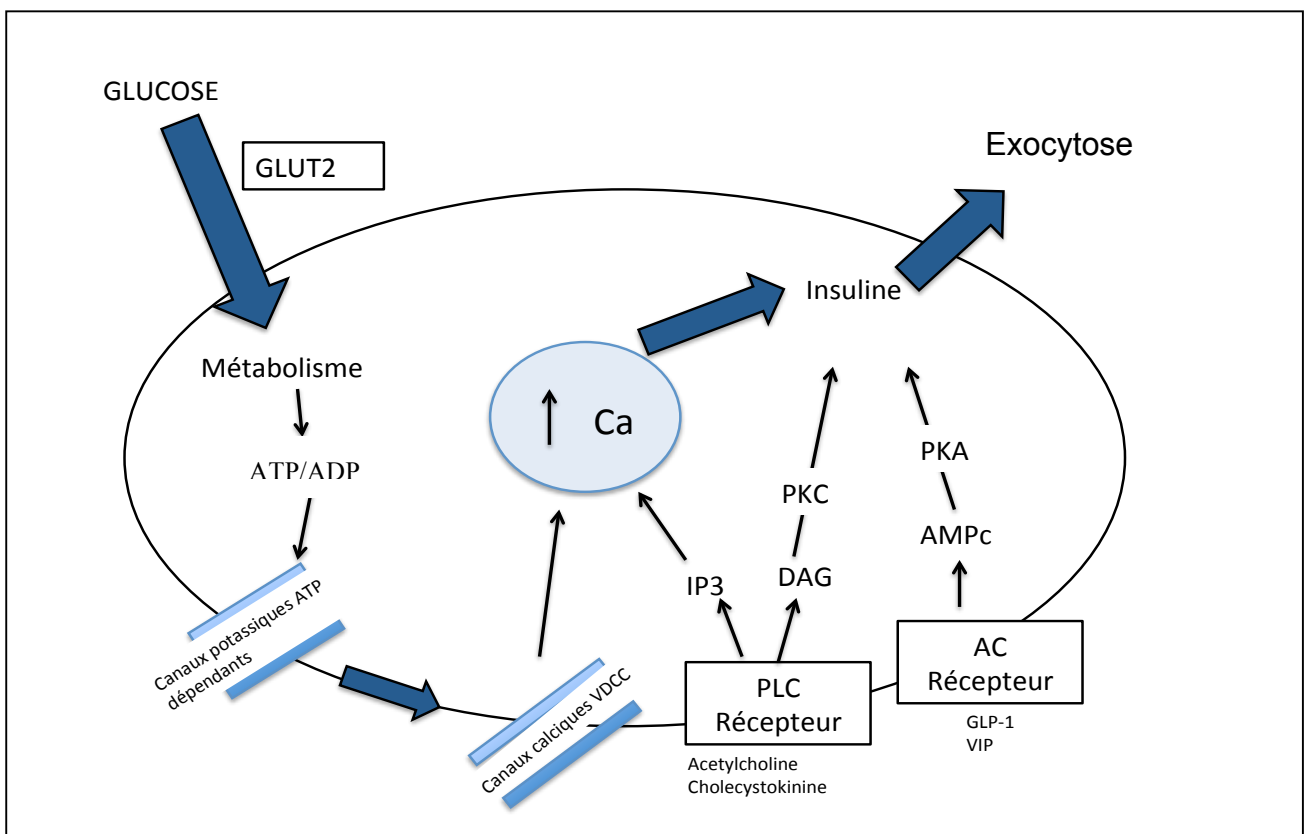
- Rétinite pigmentaire
- « Stroke-like »
- Neuropathie périphérique le plus souvent douloureuse, voire autonome (hypotension orthostatique, diarrhée motrice, vessie neurologique)
- Epilepsie, encéphalopathie, ataxie cérébelleuse
- Troubles neuropsychiatriques
- Cardiomyopathie hypertrophique
- Atteinte rénale responsable d'une insuffisance rénale parfois terminale (conduisant à la dialyse ou la greffe). Dans 80% des cas, la néphropathie mitochondriale se caractérise par des lésions de hyalinose segmentaire et focale aspécifiques, des lésions vasculaires des artérioles afférentes et efférentes caractéristiques et une fibrose tubulo-intersticielle
- Troubles digestifs (constipation, sub-occlusion)

1) En ce qui concerne **le diabète**, il touche jusqu'à 85% des patients MIDD à l'âge de 70 ans : la pénétrance est donc élevée (2,3,19). Le mécanisme privilégié est l'insulinopénie. En effet, ces patients présentent une insulino-sensibilité normale le plus souvent (20). L'explication physiopathologique la plus probable est le déficit énergétique lié à une baisse du rapport ATP/ADP par dysfonctionnement de la chaîne respiratoire. En effet, physiologiquement, l'élévation de la glycémie est responsable de l'augmentation du ratio ATP/ADP qui conduira à une modification du potentiel membranaire pour aboutir, in fine, à l'ouverture d'un canal calcium créant un signal pour la libération de l'insuline (figure 11). En cas de baisse du ratio ATP/ADP, l'insulinosécrétion est donc diminuée. Les anomalies de la chaîne respiratoire secondaires aux mutations de l'ADN mt modifient le rapport ATP/ADP, conduisant à une élévation du seuil de sensibilité au glucose en altérant la transduction du signal glucose au niveau de la glucokinase et donc à une diminution de l'insulinosécrétion (2,19). Ce mécanisme n'est pas sans rappeler la physiopathologie du MODY 2 (maturing-onset diabetes of the youth). Une autre explication du diabète mitochondrial serait la diminution de la synthèse protéique et donc d'insuline au sein des cellules β qui contiennent des mitochondries « mutées ». Ce défaut de synthèse protéique serait directement lié à l'insuffisance énergétique de la cellule face au coût que représente sa synthèse.

L'IMC des patients dont le diabète est lié à un syndrome de MELAS est normal ou bas. Les caractéristiques du diabète sont variables. Une première catégorie de patient est caractérisée par des sujets, insulino-dépendants dès la phase initiale de la maladie, dont le mode de révélation est parfois-même une cétoacidose, en l'absence des marqueurs d'auto-immunité (21). Une deuxième catégorie comporte des sujets dont l'entrée dans la maladie est plus discrète, à l'instar d'un diabète de type 2, contrôlée initialement par des antidiabétiques oraux et évoluant progressivement vers l'insulino-dépendance (3,22).

Figure 11 : la cellule bêta : de la détection du glucose jusqu'à l'insulinosécrétion

- 1) Le glucose pénètre dans la cellule,
- 2) Le glucose subit la glycolyse
- 3) Production d'ATP
- 4) Elévation du rapport ATP/ADP
- 5) Fermeture des canaux potassiques ATP dépendants
- 6) Dépolarisation membranaire : ouverture des canaux calciques voltage dépendant (VDCC)
- 7) Exocytose des vésicules de sécrétion : insulinosécrétion



En ce qui concerne les complications du diabète, il semblerait que la rétinopathie diabétique soit plus rare chez ces patients (6% chez les patients mutés

3243A>G versus 15% chez les diabétiques de type 2 (non mutés) (23)), alors que l'atteinte rénale serait plus fréquente et plus sévère (3,24). La cytopathie présente un effet propre sur le fonctionnement rénal (glomérulaire et parfois tubulaire) et pourrait avoir un effet accélérateur sur l'atteinte rénale éventuelle liée au diabète. Les patients MELAS présentent fréquemment une neuropathie périphérique (voir infra), sans qu'un lien avec une origine liée à l'équilibre glycémique ait été mise en évidence, suggérant une atteinte primitive de la maladie mitochondriale, et non pas une atteinte micro-angiopathique diabétique (25).

2) Les autres **atteintes endocriniennes** sont rares et peu décrites dans la littérature. Il existe quelques case-report à propos de patients ayant présenté des déficits somatotropes avec une petite taille (21,26–28), corticotropes (27), des hypoparathyroïdies (29–31), voire même une hyperprolactinémie (28). Certains auteurs ont également décrit des dysthyroïdies, hypo comme hyperthyroïdie (32–34).

3) **L'atteinte musculaire** périphérique se manifeste principalement par une faiblesse ou fatigabilité musculaire touchant préférentiellement les membres inférieurs, parfois supérieurs (2,10,35).

4) **L'atteinte neurologique** peut être très polymorphe, centrale ou périphérique. L'atteinte centrale est caractérisée des épisodes dits de « Stroke-like », mimant un AVC. Les patients peuvent présenter des syndromes neurologiques divers : ataxie, dysarthrie, céphalées, baisse d'acuité visuelle brutale, déficit sensitif ou moteur, trouble de conscience, troubles cognitifs. Ces épisodes peuvent être rapidement réversibles, ou séquellaires. Si une IRM est réalisée, elle mettra en évidence des hyper signaux T2 et en opposition de phase qui ne respectent pas de territoire vasculaire (36). La physiopathologie de ces stroke-like n'est pas encore complètement élucidée, mais l'activité de la succinate déshydrogénase est augmentée dans les cellules intimes des artères cérébrales, suggérant une prolifération des mitochondries dans ces cellules (un peu à l'image de leur prolifération dans le muscle responsable de l'aspect de fibre rouges déchiquetées). Ainsi, une des hypothèses physiopathologiques repose sur la modification du tonus vasculaire de ces vaisseaux qui entrainerait une ischémie locale (37).

Les autres manifestations neurologiques peuvent comporter une épilepsie et une encéphalopathie mitochondriale. L'épilepsie peut prendre plusieurs formes : généralisée, partielle, voire myoclonique (plus rarement dans le MELAS, se voit plutôt dans le MERFF). Les patients peuvent présenter également un syndrome pyramidal, extra-pyramidal, et/ou cérébelleux (2,3). Dans 78% des cas (2) des lésions hyper-intenses de la substance blanche sont mises en évidence à l'IRM. On peut également trouver des calcifications des noyaux gris centraux, ou une atrophie diffuse. Certains auteurs décrivent également des troubles neuropsychiatriques (18% dans la cohorte de Meas and al.) pouvant aller jusqu'à la démence (21). Les manifestations périphériques peuvent être asymptomatiques (aréflexie par exemple), d'autres sujets peuvent présenter une neuropathie périphérique sensitive douloureuse (14 à 50% des cas selon les cohortes) ou une neuropathie autonome (2,10). Cette neuropathie est le plus souvent asymptomatique, expliquant leur fréquence importante chez Luigetti and al (jusque 92% des patients MELAS), les patients de leur cohorte ayant systématiquement bénéficié d'un électromyogramme, pathologique chez une majorité de patients ne présentant pourtant aucun signe clinique (25). L'atteinte des noyaux gris centraux est plus classiquement mise en évidence dans les cytopathies très sévères de l'enfant avec nécrose des noyaux gris centraux (Syndrome de Leigh).

6) **L'atteinte auditive** se caractérise par une hypoacousie de perception bilatérale dont la sévérité est très variable, de la simple gêne à la surdité (21,38). Elle est extrêmement fréquente parmi les patients présentant la mutation 3243A>G (de 48 à 98% selon les cohortes (2,10)).

7) **L'atteinte oculaire** est caractérisée par une dystrophie maculaire réticulée, responsable d'une basse d'acuité visuelle. L'examen du fond d'œil met en évidence une pigmentation linéaire autour de la macula, une atrophie de l'épithélium rétinien de degré variable et une hyperpigmentation du pôle postérieur (39). Elle est très présente chez les patients issus des cohortes européennes (42 à 84%) (2,10), plus rare chez les japonais (13%) (21). Certains auteurs suggèrent qu'elle protégerait de l'apparition d'une rétinopathie diabétique (2), par diminution de métabolisme oxydatif rétinien (baisse de l'apport en oxygène au niveau des cellules sensorielles de la rétine).

8) **L'atteinte cardiaque** est présente chez 1/3 des patients dans la littérature, la plus fréquente étant la cardiomyopathie hypertrophique (35). Les autres atteintes sont caractérisées par des troubles de conduction auriculo-ventriculaires, un syndrome de Wolff-Parkinson-White (3-39% des cas), des troubles du rythme (4%) (2,3,35). Ces manifestations peuvent aller jusqu'à l'insuffisance cardiaque sévère (35).

9) **Les atteintes digestives** sont rarement décrites dans la littérature, et pourtant seraient assez fréquentes (jusqu'à 88%, (40)). Elles sont très variables allant du simple trouble du transit (diarrhée, constipation) jusqu'à la pseudo-obstruction intestinale grave, voire mortelle, nécessitant une prise en charge chirurgicale urgente (3). L'analyse des pièces opératoires montre un taux d'hétéroplasmie important dans la muqueuse gastrique de ces patients (40). Une insuffisance pancréatique exocrine a également été décrite dans trois familles. A nouveau, l'analyse post-mortem du pancréas d'un de ces patients montrait un taux élevé de mitochondries mutées au sein des cellules acineuses pancréatiques (41).

A-6 Autres mutations impliquées dans le syndrome de MELAS

Tableau I : Les différentes mutations responsables du syndrome de MELAS (source mitomap.org)

Position	Locus	Maladie	Allèle	ARN	Statut
3243	MT-TL1	MELAS / LS / DMDF / MIDD / SNHL / CPEO / MM / FSGS / ASD / Cardiac+multi-organ dysfunction	A3243G	tRNA Leu (UUR)	confirmée
3243	MT-TL1	MELAS / MM/SNHL / CPEO	A3243T	tRNA Leu (UUR)	rapportée
3244	MT-TL1	MELAS	G3244A	tRNA Leu (UUR)	rapportée
3252	MT-TL1	MELAS	A3252G	tRNA Leu (UUR)	rapportée
3093	MT-RNR2	MELAS	C3093G	16S rRNA	rapportée
1642	MT-TV	MELAS	G1642A	tRNA Val	rapportée
3256	MT-TL1	MELAS	C3256T	tRNA Leu (UUR)	confirmée
3258	MT-TL1	MELAS / Myopathy	T3258C	tRNA Leu (UUR)	rapportée
3260	MT-TL1	MMC / MELAS	A3260G	tRNA Leu (UUR)	confirmée
8316	MT-TK	MELAS	T8316C	tRNA Lys	rapportée
4332	MT-TQ	Encephalopathy / MELAS	G4332A	tRNA Gln	confirmée
3271	MT-TL1	MELAS / DM	T3271C	tRNA Leu (UUR)	confirmée
3291	MT-TL1	MELAS / Myopathy / Deafness+Cognitive Impairment	T3291C	tRNA Leu (UUR)	confirmée
1644	MT-TV	HCM+MELAS	G1644A	tRNA Val	confirmée
5541	MT-TW	MELAS+stroke-like episodes and cortical blindness+MRI shows occipital lobe infarct	C5541T	tRNA Trp	rapportée
12206	MT-TH	MELAS-like encephalopathy+bilateral optic atrophy	C12206T	tRNA His	rapportée
12299	MT-TL2	MELAS	A12299C	tRNA Leu (CUN)	rapportée
583	MT-TF	MELAS / MM & EXIT	G583A	tRNA Phe	confirmée
12147	MT-TH	MERRF-MELAS / Encephalopathy	G12147A	tRNA His	confirmée
1630	MT-TV	MNGIE-like disease / MELAS	A1630G	tRNA Val	rapportée
14693	MT-TE	MELAS / LHON / DEAF	A14693G	tRNA Glu	rapportée

B-1 Autres cytopathies

1) Le syndrome de Kearns-Sayre

Il s'agit d'une triade décrite pour la première fois en 1958 et composée de (2) :

- Ophtalmoplégie chronique progressive
- Rétinite pigmentaire
- Troubles de la conduction cardiaque / hyperprotéïnorachie (>1g/L) / anomalies cérébelleuses

Il arrive également que des déficits endocriniens (déficit somatotrope, gonadique, hypoparathyroïdie) et un diabète sucré y soient associés, le Kearns-Sayre résultant d'une large délétion de l'ADN mt. Les biopsies musculaires montrent un aspect de « fibres rouges déchiquetées » (image A) (42).

Il existe par ailleurs un cas rapporté de dysplasie métaphysaire bilatérale et symétrique (43), ainsi que des manifestations musculaires telles qu'une faiblesse musculaire ou un ptosis. Certains auteurs décrivent également une atteinte cognitive modérée.

Ces manifestations surviennent avant l'âge de 20 ans (44).

2) Le syndrome de Wolfram est le plus souvent issu d'une mutation de l'ADN nucléaire (gène WFS1), mais parfois de l'ADN mt. C'est une maladie autosomique récessive décrite initialement en 1938 et qui associe un diabète sucré d'apparition précoce, un diabète insipide, une atrophie du nerf optique, une hypoacousie et une atteinte neurodégénérative (45). Le pronostic est effroyable avec 60% de décès avant l'âge de 30 ans (46). Les mutations du gène WFS2 sont responsables de l'association d'un diabète sucré, d'une atrophie optique et d'une surdité.

3) L'ataxie de Friedreich résulte d'une expansion de triplets GAA dans le gène de la frataxine (FXN), au sein de l'ADN nucléaire responsable d'une perte de fonction de la protéine frataxine. Cette protéine est impliquée dans le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale au niveau des complexes I, II et III (47). L'atteinte est principalement neurologique avec des troubles de la marche, un déficit sensitivo-moteur, et une ataxie. On peut également y voir des troubles urinaires, cardiaques, un syndrome d'apnée du sommeil et une hypoacousie. L'atteinte endocrinienne est

le plus souvent un diabète, mais des cas d'insuffisance en hormone de croissance ont été décrits (48).

4) L'ophtalmoplégie externe chronique progressive (CPEO) est issue d'une délétion de l'ADNmt, survenant le plus souvent *de novo*. Elle associe un ptosis, une neuropathie optique et une atteinte musculaire proximale variable. Sur le plan endocrinien, plusieurs auteurs ont décrit un hypogonadisme associé (49,50).

5) Les mutations du gène MTKK, qui code pour un ARN de transfert de la lysine, sont responsables du syndrome de MERRF (myoclonic epilepsy and ragged-red fibres). Il associe classiquement une épilepsie, des myoclonies, une ataxie cérébelleuse et une atteinte musculaire. On peut également y observer une hypoacousie, des migraines, des troubles psychiatriques, une dysphagie, une dysarthrie, des troubles gastro-intestinaux et respiratoires et plus rarement, un diabète sucré.

B-2 Prise en charge diagnostique

Devant un phénotype évocateur de syndrome de MELAS, plusieurs explorations peuvent s'articuler pour enrichir un faisceau d'arguments qui conduira au diagnostic. L'analyse génétique reste le moyen le plus sûr de confirmer le diagnostic. En revanche, sa négativité ne permettra pas de l'éliminer complètement, compte-tenu du phénomène d'hétéroplasmie déjà évoqué, qui peut être responsable de faux négatifs. Le diagnostic moléculaire peut-être réalisé sur leucocytes circulants, sur les cellules épithéliales urinaires, le tissu musculaire. Toutefois, il est rare pour le syndrome de MELAS en cas de forte présomption clinique de ne pas diagnostiquer l'anomalie moléculaire sur sang circulant ou sur un prélèvement urinaire.

Lorsque l'on recherche des arguments pour une cytopathie (avant de demander le diagnostic moléculaire) ou lorsque que l'on souhaite évaluer la sévérité de l'atteinte métabolique, on peut avoir recours à plusieurs autres explorations :

1) Le bilan biochimique :

A) Le cycle : Le dysfonctionnement de la chaîne respiratoire est responsable d'une accumulation d'équivalents réduits, entraînant l'élévation du rapport NADH/NAD et ainsi, pour des raisons physiopathologiques déjà évoquées, l'élévation des rapports molaires lactates/pyruvates au sein du cytosol et β -hydroxybutyrate/acéto-acétate au sein de la mitochondrie. Ce sont les points « redox ». Ces paramètres sont mesurés au cours d'un cycle métabolique le long d'une journée avec prélèvements pré et post-prandiaux et parfois au cours d'une épreuve de charge en glucose chez l'enfant.

B- L'épreuve d'effort (sur bicyclette ergométrique) étudie également ces paramètres en base et à l'effort musculaire, qui est un équivalent à un facteur de stress métabolique et peut démasquer le dysfonctionnement respiratoire.

Dans tous les cas, les paramètres évalués seront alors :

- Lactate
- Pyruvate
- 3-hydroxy-butyrates
- Acéto-acétate
- Alanine
- Proline
- Glycémie

A partir de ces paramètres, sont obtenus les rapports d'oxydoréduction lactate/pyruvate et 3-hydroxy-butyrates/acéto-acétate. Ceux-ci peuvent s'élever dès la période de jeûne ou de repos, mais surtout en période post-prandiale. On peut également suspecter le diagnostic lorsque la phase de récupération après un effort (15 minutes de bicyclette ergométrique) est anormalement retardée.

Notons que le pyruvate reste sensiblement normal, d'où l'élévation du rapport lactate/pyruvate comme critère diagnostique d'un trouble de la fonction respiratoire écartant des diagnostics différentiels d'autres situations d'acidose lactique comme le déficit en pyruvate déshydrogénase où le rapport lactate/pyruvate reste normal du fait de l'élévation du pyruvate.

C- Une mesure du taux de lactate urinaire et/ou du rapport au sein du LCR pourront également être utiles.

D- L'analyse du bilan carnitine permet de rechercher un déficit secondaire du fait de la consommation élevée de la carnitine pour « nettoyer » la cellule de l'accumulation des esters de Co-A en les conduisant hors de la matrice mitochondriale.

E- La chromatographie des acides aminés sanguins permettra d'obtenir des arguments indirects en faveur d'une hyperlactacidémie (élévation de la proline et de l'alanine).

F- La chromatographie des acides organiques urinaires permet de rechercher des métabolites intermédiaires du cycle de Krebs, reflet de la sévérité du dysfonctionnement intra-mitochondriale.

2) Imagerie neuroradiologique : L'imagerie par résonance magnétique et spectroscopie de résonance magnétique (IRM et spectroIRM) : l'IRM permettra de rechercher des signes d'ischémie, des hyper signaux de la substance blanche, une atteinte des noyaux gris centraux ou encore une atrophie diffuse, décrits dans le syndrome de MELAS (2,3). La spectroIRM permet de mettre en évidence un pic de lactates au sein des structures cérébrales. Des fenêtres d'analyse en spectroscopie pourront être centrées sur les régions les plus sensibles au déficit énergétique comme le thalamus par exemple.

3) La biopsie musculaire est un des tissus le plus souvent atteint et facilement accessible. Elle permet l'étude histologique (MO : RRF, ME : anomalies des mitochondries), immunohistochimique (COX), enzymologie (spectroscopie des complexes) (toutefois, la mesure en polarographie n'est pas disponible dans certains centres). La normalité de ces analyses ne permet pas d'éliminer le diagnostic mais est un argument fort contre le diagnostic.

Une étude moléculaire doit être réalisée sur les tissus prélevés.

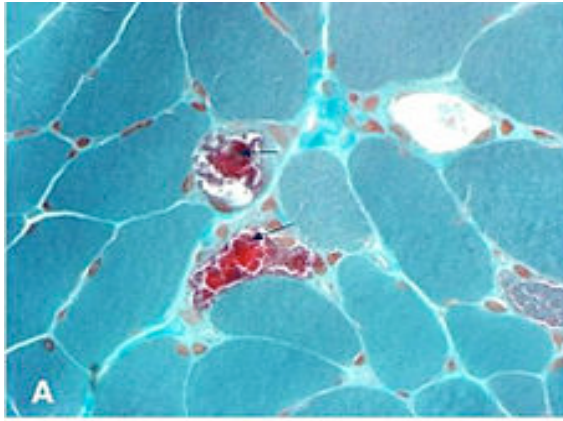


Image A: Red Ragged
Fibres (RRF)

Abu-Amero et al. Journal of
Medical Case Reports 2009
3:77

7) Il conviendra également de rechercher d'autres atteintes potentielles de la cytopathie mitochondriale en réalisant un bilan des différents organes susceptibles d'être concernés. Cette approche aidera à constituer un faisceau d'arguments en faveur (ou en défaveur) du diagnostic (hypoacousie de perception bilatérale, rétinite pigmentaire, hypertrophie ventriculaire, etc..).

Enfin, rappelons que seules 30% des cytopathies mitochondriales ont un support génétique identifié.

COMMENT FAIRE LE DIAGNOSTIC ?

Suspicion de MELAS/MIDD



Recherche de mutation dans le sang (2 tubes EDTA) / urines (échantillon)



Diagnostic moléculaire confirmé

Diagnostic moléculaire non confirmé



Souffrance métabolique ? :
POINTS REDOX :
 Lactates,
 Cétogénèse paradoxale
ACIDES AMINES :
 Alanine

Bilan d'atteintes associées :
 Cardiomyopathie
 Audiogramme, PEA
 FO
 Microalbuminurie, DFG
 Avis neurologique
 EMG, SpectroIRM cérébrale: pic de lactates
 Hypophysiogramme,
 fonction gonadique, PTH, Thyroïde
 Evaluation NUTRITIONNELLE
 Stéatorrhée

Retentissement métabolique :
POINTS REDOX :
 Lactates,
 Cétogénèse paradoxale
ACIDES AMINES :
 Alanine

- **ACIDES ORGANIQUES URINAIRES**
 élévation des métabolites intermédiaires du cycle de KREBS
- Epreuve d'effort « METABOLIQUE » / Grip test
 Courbe de récupération des lactates
- **EXPLORATION D'ORGANES :**
 recherche d'un faisceau d'arguments
 - **BIOPSIE MUSCULAIRE :**
 - 1) Analyse histologique
 - 2) Analyse immuno-histochimique
 - 3) Analyse enzymologique en spectroscopie (complexes)

B-3 Prise en charge thérapeutique

Les seuls traitements proposés au cours des maladies par cytopathies mitochondriales sont symptomatiques, en dehors du cas très rare de déficit primitif en quinone.

La dernière revue majeure de la littérature portant sur 12 études (Pfeffer G, Chinnery PF, Cochrane Review 2012) n'a pas permis de retenir qu'un traitement ait fait preuve de son efficacité. Cela a été remis en cause par une étude récente mais portant chez l'enfant en crise métabolique avec acidose lactique, chez lequel le bénéfice d'un traitement par vitaminothérapie du groupe B pour limiter l'acidose (Vit B1, Vit B8, Vit B2) associé au coenzyme Q10 et la L-carnitine est proposé (Treatment options for lactic acidosis and metabolic crisis in children with mitochondrial Disorders, Danhauser K, JIMD 2015).

Cas particuliers :

1- Déficit en quinone : traitement substitutif du déficit par
COENZYME Q10 = ubidécarrénone (DECORENONE ®).

2- Ataxie de Friedreich : Idébénone (MNESIS ®, analogue des quinones)
qui paraît agir sur la myocardiopathie et limiter l'évolution neurologique

3- LHON (Neuropathie Optique Héréditaire de Leber) :
Idébénone (RAXONE ®, 150 mg cp, 900 mg/j (AMM))

En pratique, en dehors de ces trois cas particuliers, d'autres traitements symptomatiques sont parfois également utilisés. En voici un panel :

1) Traitements anti-oxydants :

- Il n'est pas rare qu'un traitement par Idébénone (MNESIS ®) soit proposé, sans que son efficacité n'ait été démontrée, notamment dans le syndrome de MELAS. Toutefois, dans les atteintes sévères, notamment cardiaques et en l'absence d'essais thérapeutiques d'envergure, il est fréquent qu'un traitement par Idebénone soit testé, en raison de son rôle antioxydant puissant, neutralisateur de radicaux libres.

- Le COENZYME Q10, ou ubiquinone, est un cofacteur de la chaîne respiratoire qui agit au niveau des complexes I, II et III en facilitant le transfert d'électrons des deux premiers vers le troisième. Quelques études non randomisées ont parfois décrit des effets positifs, non confirmés à plus grande échelle : Suzuki et al., en 1998, semblait démontrer qu'un traitement à long terme (3 ans) par le coenzyme Q10 ralentit la détérioration de l'insulinosécrétion et de l'audition (51). Un autre essai, sur 6 mois, suggérait l'amélioration de la myopathie (52). Glover et al., en 2010, ont mené une étude randomisée, double aveugle versus placebo en cross-over. Les taux de lactatémie étaient diminués significativement à 1min de l'épreuve d'effort sur bicyclette ergonomique, mais les autres mesures ne présentaient pas de différences significatives entre les deux groupes, ce qui ne permettait pas de conclure quant à l'efficacité du co-enzyme Q10 (53). Notons que ce traitement est dépourvu d'effets secondaires graves.
 - N-acétyl cystéine : aucune étude disponible dans la littérature n'a étudié l'efficacité de ce traitement.
 - Des vitaminothérapies anti-oxydantes à base d'analogues de la vitamine C et E sont souvent proposées, sans qu'elles n'aient fait la preuve de leur efficacité (54).
 - Deux principales études ont analysé l'efficacité de la vitamine B1 : une première semble montrer une amélioration de quelques cas isolés, sans doute par le biais de la réduction de l'acidose lactique en aigu (la vitamine B1 est le cofacteur de la pyruvate déshydrogénase) mais en situation chronique la thiamine n'a montré aucune efficacité (55,56).
 - En ce qui concerne la vitamine B2 (riboflavine, cofacteur des complexes I et II,) deux études regroupant un petit nombre de patients semblaient présenter des résultats encourageants, qu'une plus large étude n'a pas permis de reproduire (57–59).
- 2) Sur le plan nutritionnel, plusieurs approches sont possibles. Le régime cétogène est un régime excluant les glucides, très enrichi en lipides et ainsi pourvoyeur d'acétyl-CoA qui alimente le cycle de KREBS. Ainsi, il permet de

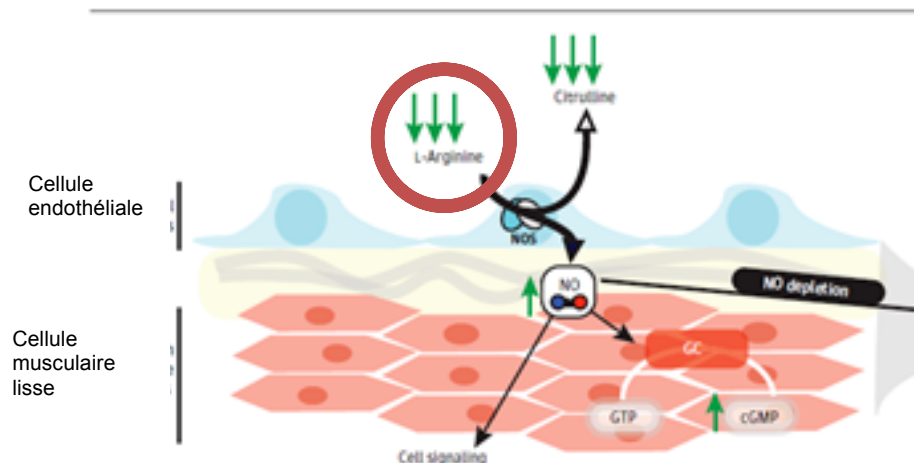
diminuer la production de lactates en provenance du métabolisme glucidique. Il a fait la preuve de son efficacité chez l'animal en ralentissant la progression de l'atteinte musculaire chez la souris (60). Des résultats très probants ont été mis en évidence dans le cas des encéphalopathies avec épilepsie réfractaire, mais aucune amélioration notable n'a pu être constatée en dehors de ce cadre. De plus, son caractère très contraignant a limité son utilisation.

Par ailleurs, un régime enrichi en lipides et notamment en triglycérides à chaîne moyenne (huile de TCM) a également été proposé, sans que la preuve de son efficacité n'ait pu être apportée. Panetta et al., dans leur analyse rétrospective, concluent qu'un régime riche en lipides associé à une vitaminothérapie importante améliorent la symptomatologie des patients à court terme, mais pas au long cours (61).

3) La L-Carnitine est également un traitement proposé dans le syndrome de MELAS (35), mais à nouveau sans qu'aucune étude contrôlée randomisée n'ait permis d'apporter la preuve d'un bénéfice de cette thérapeutique au long cours. Les myalgies à l'effort ou les crampes seraient toutefois moins fréquentes sous carnitine. Sa prescription repose sur son rôle d'épurateur de la matrice mitochondriale vis-à-vis de l'accumulation des esters de Co-A augmentés en cas de dysfonctionnement de la chaîne respiratoire.

4) L'arginine est un précurseur du monoxyde d'azote, un puissant vasodilatateur (figure 12). Il s'agit d'un traitement proposé par certaines équipes à la phase aiguë chez les patients présentant un AVC. Koga et al. ont montré en 2006 que les patients atteints de MELAS présentaient des taux bas de L-arginine en phase aiguë de « stroke like » et le suivi de ces patients semblaient montrer une diminution de la

Figure 12 : Le monoxyde d'azote (NO) synthase convertit la L-arginine et monoxyde d'azote (NO), un puissant vasodilatateur, qui agit en transformant la guanosine triphosphate en guanosine monophosphate cyclique.



sévérité de ces épisodes sous traitement par L-arginine (62,63). Le consensus de la *Mitochondrial Medecin Society* recommande la mise sous L-arginine des patients MELAS qui ont présenté un AVC.

5) Les différentes atteintes d'organe feront l'objet d'un traitement spécifique. En ce qui concerne le diabète, la prise en charge sera sous-tendue par les éléments physiologiques du patient (profil d'insulinopénie ou non). Seule la metformine est contre-indiquée compte tenu du risque d'acidose lactique majoré chez ces patients. En effet, il semblerait que la metformine agisse sur la production de glucose au niveau hépatique en inhibant la chaîne respiratoire mitochondriale au niveau du complexe I, induisant une réduction du statut énergétique cellulaire (Benoit Viollet, Marc Foretz, Fabrizio Andreelli. Metformine : le point sur les mécanismes d'action. *Correspondances en Métabolismes, Hormones, Diabète & Nutrition*, 2012, XVI (3), pp.67-72).

PATIENTS ET METHODES

I) Caractéristiques de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive réalisée de manière rétrospective au sein du service d'endocrinologie, diabétologie, métabolisme (Pr FONTAINE) du Centre Hospitalier Régionale et Universitaire de Lille (50 patients) et du service d'endocrinologie, diabétologie du Centre Hospitalier d'Arras (Dr FAYARD) (5 patients).

II) Patients

A) Inclusion

Les données de patients présentant un syndrome de MELAS ont été colligées à partir d'une extraction des données du serveur informatique SILLAGE et des archives des dossiers médicaux. Nous avons ainsi identifié 55 patients issus de 24 familles, suivis en endocrinologie, diabétologie et métabolisme, et/ou au sein des services de Neurologie du Pr VERMERSCH et du Pr DEFEBVRE. Nous avons également inclus certains patients suivis par le DR FAYARD du service d'endocrinologie du CH d'Arras (patients issus des familles dont certains membres étaient suivis à LILLE). Le syndrome de MELAS était génétiquement identifié chez chacun des patients par le service de génopathies du CHRU de LILLE entre le 1er janvier 1990 et le 1er mai 2016.

B) Exclusion

Les patients présentant un syndrome compatible avec un syndrome de MELAS mais chez qui les explorations génétiques n'ont pas permis de mettre en évidence de mutation de l'ADN mt ont été exclus.

III) Variables

A- Paramètres anthropométriques et données générales

Etaient collectées à l'inclusion :

- âge,
- sexe,
- taille à l'âge adulte
- IMC
- âge au premier symptôme,
- âge au diagnostic,
- mode d'entrée dans la maladie :
 - dépistage familial,
 - atteinte neurologique centrale
 - atteinte neurologique périphérique,
 - diabète,
 - atteinte cardiaque,
 - atteinte ophtalmologique,
- type de premier symptôme :
 - hypoacousie,
 - atteinte neurologique centrale ou périphérique,
 - diabète,
 - atteinte cardiaque,
- la pression artérielle systolique et diastolique à l'entrée d'hospitalisation, une pression artérielle élevée était définie par une pression artérielle systolique > 140 mmHg et une pression artérielle diastolique > 90mmHg, avec ou sans traitement antihypertenseur,
- l'état-civil,
- le niveau d'études : supérieur au baccalauréat ou non,
- le paramètre « propositus » pour le syndrome de MELAS,

B – Génétique

Sur le plan génétique, le type de mutation ainsi que le pourcentage d'hétéroplasmie plasmatique et urinaire ont été colligés.

C – Retentissement métabolique

Sur le plan métabolique, les variables colligées étaient :

- lactatémie pré-prandiale (8h) et post-prandiale (10h),
- pic de lactate (taux de lactate le plus élevé sur le nycthémère),
- le rapport lactate/pyruvate (le plus élevé sur le nycthémère),
- le taux de CO₂ total pré-prandial (8h) et post-prandial (10h),
- le taux de béta-hydroxy-butyrate à jeun (8h) et post-prandial (10h).
- le taux d'acéto-acétate pré-prandial (8h) et post-prandial (10h)
- Les taux de proline
- la présence ou non d'une lactaturie
- l'ammoniémie,

D – Paramètres spécifiques liés au diabète

Pour les patients diabétiques, étaient également colligés :

- l'âge à la découverte du diabète
- le poids à la découverte du diabète,
- l'ancienneté du diabète à l'inclusion,
- le mode de révélation du diabète :
 - au cours d'un bilan systématique
 - à l'occasion de symptômes ayant entraîné la recherche d'un trouble de la glycorégulation.
- La prise d'un traitement antidiabétique oral ou le recours à une insulinothérapie était également précisés.

Certains paramètres ont été en plus spécifiquement recueillis :

- l'hémoglobine glyquée (HbA1c),
- la glycémie veineuse et le dosage de c-peptide et/ou d'insulinémie à jeun et 2h après le repas,

- la présence d'anticorps anti-GAD, anti-IA2 et anti-îlots de Langerhans,
- un phénotypage HLA de classe II (locus DRB1, DQA1, DQB1)
- Pour les patients non insulino-requérant, le score HOMA2 a été calculé à l'aide du c-peptide ou de l'insulinémie selon les données disponibles pour chaque patient. Le calculateur avait été téléchargé depuis le site de l'université d'Oxford (<https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/download.php>)
- la présence d'une rétinopathie diabétique au fond d'œil ou au rétinogramme était aussi recueillie

E-Atteintes endocriniennes

1) L'insuffisance corticotrope était diagnostiquée sur les critères suivants :

- Insuffisance corticotrope complète : cortisolémie à 8h < 3 mg/100mL
- Insuffisance corticotrope partielle suspectée :
 - o Cortisolémie à 8h > 3 mg/100mL (consensus Société Française d'Endocrinologie)
 - o ET cortisolémie < 20 mg/100mL lors du test au synacthène low-dose (protocole annexe 2)

2) L'insuffisance somatotrope était suspectée selon les critères suivants lors du test arginine-GHRH :

- IMC < 25 : GH < 11 ng/ml
- IMC 25-30 : GH < 8 ng/ml
- IMC > 30 : GH < 4,2 ng/ml

3) L'insuffisance gonadique était diagnostiquée selon les critères suivants :

- Testostérone totale < 2,40 ng/mL
- et testostérone / SBP < 28
- Le caractère gonadotrope était défini par un taux normal ou bas de FSH et LH.
- Le caractère hypergonadotrope (ou hypogonadisme périphérique) par des taux de FSH et LH élevés.

La recherche d'insuffisance gonadique n'a été réalisée que chez les patients de sexe masculin. En effet, les données étaient difficilement interprétables chez les

femmes compte tenu des profils très hétérogènes présentés (contraception, ménopause, moments du cycle menstruel). Pour les femmes, l'âge des ménarches et de la ménopause étaient recueillis. La parité, témoin indirect de la fertilité, a été colligée.

4) La fonction thyroïdienne a été évaluée par la mesure du taux de TSH et de la fraction libre de la T4. L'insuffisance thyroïdienne a été diagnostiquée par un taux de T4 bas en regard d'une TSH normale ou basse.

Nous avons recueilli les résultats de l'échographie thyroïdienne.

5) La prolactine était dosée le matin à jeun.

6) La fonction parathyroïdienne était évaluée par :

- la calcémie,
- la phosphorémie,
- la parathormone (PTH),
- la calciurie sur 24 heures
- la magnésémie.

7) La fonction minéralocorticoïde était appréciée par le dosage de l'aldostéronémie et l'Activité Rénine Plasmatique (ARP) 2 heures après le lever. Nous avons exclu de cette analyse les patients sous inhibiteurs de l'enzyme de conversion ou sous antagonistes des récepteurs de l'angiotensine 2.

Une atteinte hypophysaire était définie par la présence d'un ou plusieurs paramètres suivants :

- Déficit gonadotrope
- Déficit corticotrope
- Déficit thyroïdienne
- Déficit somatotrope

8) Les patients bénéficiaient également d'une glycémie veineuse :

- Le matin à jeun

- Au début d'une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) et 120 minutes après ingestion de 75 grammes de glucose

L'asthénie était recherchée à l'interrogatoire.

F – Atteinte neurologiques

L'atteinte neurologique centrale était définie par la présence d'un ou plusieurs de paramètres suivants :

- d'un syndrome cérébelleux
- d'un syndrome pyramidal,
- d'un syndrome extrapyramidal
- la survenue d'un AVC ou AIT
- d'une épilepsie.

L'atteinte neurologique périphérique était définie par l'existence :

- d'une neuropathie périphérique clinique et/ou à l'EMG
- et/ou d'une atteinte neuromusculaire (crampes musculaires, douleur musculaire, fatigabilité ou faiblesse).

L'atteinte cognitive grave était définie par une altération du bilan neurocognitif lorsque celui avait pu être réalisé par le personnel agréé, ou par l'altération des fonctions supérieures impliquant une mise sous curatelle/tutelle, ou responsable d'une perte d'autonomie.

La survenue de céphalées était recherchée.

Le taux sanguin des CPK était évalué.

L'évaluation morphologique s'intéressait à la présence :

- Sur l'IRM cérébrale : des signes d'ischémie, des hyper signaux de la substance blanche, une atteinte des noyaux gris centraux.
- Sur la spectroIRM, la présence ou non d'un pic de lactate;

La présence d'une atteinte neuro-ophtalmologique était définie par la présence d'un ptosis ou d'un trouble oculomoteur à l'examen clinique des paires crâniennes.

G – Atteintes neurosensorielles

L'examen clinique ORL et l'audiogramme étaient colligés (hypoacousie de perception).

Les résultats du fond d'œil étaient recueillis (rétinite pigmentaire).

H – Atteinte rénale

- La fonction rénale était appréciée par le taux de créatininémie, à l'aide duquel était estimé le débit de filtration glomérulaire (DFG) par la méthode MDRD.

Une insuffisance rénale était définie par un DFG < 60mL/min.

- La microalbuminurie est considérée positive entre 30 et 300 mg/24h.
- La protéinurie (g/24h)

- Les résultats anatomopathologiques de la ponction-biopsie rénale étaient recueillis.

I – Atteinte cardiaque

Nous avons colligé les résultats de :

- L'électrocardiogramme 12 dérivations
- L'échographie cardiaque trans-thoracique

J- Atteinte digestive

L'atteinte digestive était définie par :

- la variable « trouble du transit », comprenant :
 - Diarrhée
 - Constipation
- La survenue d'une occlusion intestinale
- Malabsorption

K- Retentissement nutritionnel

Les paramètres biologiques recueillis étaient :

- Numération-formule-sanguine
- Ionogramme sanguin
- Bilan hépatique (transaminases, gamma-GT et phosphatases alcalines)
- Albumine,
- Pré-albumine,
- Dosage des vitamines A, E, B1, B6, B9, B12, C, 25-OH₂D₃,
- Ferritine
- Triglycéridémie à jeun
- Taux de HDL et LDL-cholestérol à jeun

H – Traitement

Nous avons recueillis les traitements des patients à l'inclusion, ainsi que la présence d'un régime enrichi.

IV) Analyse statistique

Les variables qualitatives ont été décrites par la fréquence et le pourcentage. Les variables quantitatives ont été présentées en terme de moyenne et d'écart type ou de médiane et d'intervalle interquartile. La normalité de la distribution des paramètres quantitatifs a été étudiée graphiquement et par le test de Shapiro Wilk.

La comparaison des groupes sur les paramètres qualitatifs a été réalisée par le test du Khi-deux ou le test exact de Fisher. Pour comparer les paramètres quantitatifs entre les deux groupes, c'est le test t de Student ou U de Mann-Whitney qui a été utilisé. Le lien entre les variables quantitatives a été étudié par le coefficient de corrélation de Pearson ou de Spearman. La comparaison entre les lactates pré et postprandiaux a été réalisée par le test des rangs signés de Wilcoxon.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SAS (version 9.4).

V) **Extraction de l'ADN**

Le consentement éclairé écrit a été recueilli pour tous les patients avant la réalisation des prélèvements à visée génétique. Pour les patients mineurs, le consentement était recueilli auprès de l'autorité parentale, et pour les patients sous tutelle, auprès de leur tuteur.

Les analyses génétiques ont été effectuées à partir d'ADN extrait des leucocytes et/ou des urines. Pour les prélèvements antérieurs à 2015, l'extraction d'ADN a été réalisée à partir de 5 ml de sang par méthode manuelle sur kit Illustra Nucleon BACC3 (Ref RPN8512, GE Healthcare Life Sciences, GB). L'éluion est obtenue dans 1 ml d'eau stérile. Depuis janvier 2015, les extractions d'ADN leucocytaire sont faites sur extracteur automatique Chemagic Star, à l'aide du kit chemagic STAR DNA Blood Kit (RefCMG-1793, Perkin Elmer, Waltham, USA) à partir de 1 ml de sang total prélevé sur EDTA. L'ADN est élué dans 200µl de tampon. Pour les urines, l'ADN est extrait à partir des cellules vésicales recueillies après centrifugation de 8ml d'urines dans du tampon Tris EDTA 10mM pH8. Le culot est ensuite extrait par le kit MagDEA DNA 200 (GC) (PSS, Japon) sur extracteur automatique Bionobis (France).

La recherche de la mutation la plus fréquemment impliquée dans les syndromes MELAS, la m.3243A>G de l'ADN mitochondrial, a été effectuée par PCR-séquence. La région de l'ADN mitochondrial amplifiée est la région comprise entre les nucléotides 3153 et 3551, à l'aide de l'amorce sens 5'-TTCACAAAGCGCCTTCCCCC-3' (position 3153-3172) et de l'amorce anti-sens 5'-GCGATGGTGAGAGCTAAGGTC-3' (position 3551-3531). La purification des produits de PCR a été effectuée à l'aide d'Exonuclease (Affymetrix, Santa Clara, USA) et de TSap (Promega, Lyon, France). Les amplifiats ont été séquencés en BigDye Terminator kit V3.1 (Thermofisher Scientific, Waltham, USA) sur séquenceur automatique ABI PRISM 3730 (Thermofisher Scientific, Waltham, USA). Les séquences ont été analysées sur le logiciel SeqScape Version 2.7 (Thermofisher Scientific, Waltham, USA).

L'hétéroplasmie des mutations a été estimée d'après la hauteur des pics (normaux et mutés) obtenus sur les électrophorégrammes. Une étude d'évaluation du seuil de détection des mutations sur les séquenceurs capillaires réalisée au laboratoire avait montré que notre méthode était équivalente à la mesure de l'hétéroplasmie par PCR-RFLP. Le seuil minimal de détection des hétéroplasmies

par le logiciel est de 20%, alors que visuellement, on peut détecter les mutations à partir d'une hétéroplasmie de 10%.

RESULTATS

I- Paramètres anthropométriques et données générales

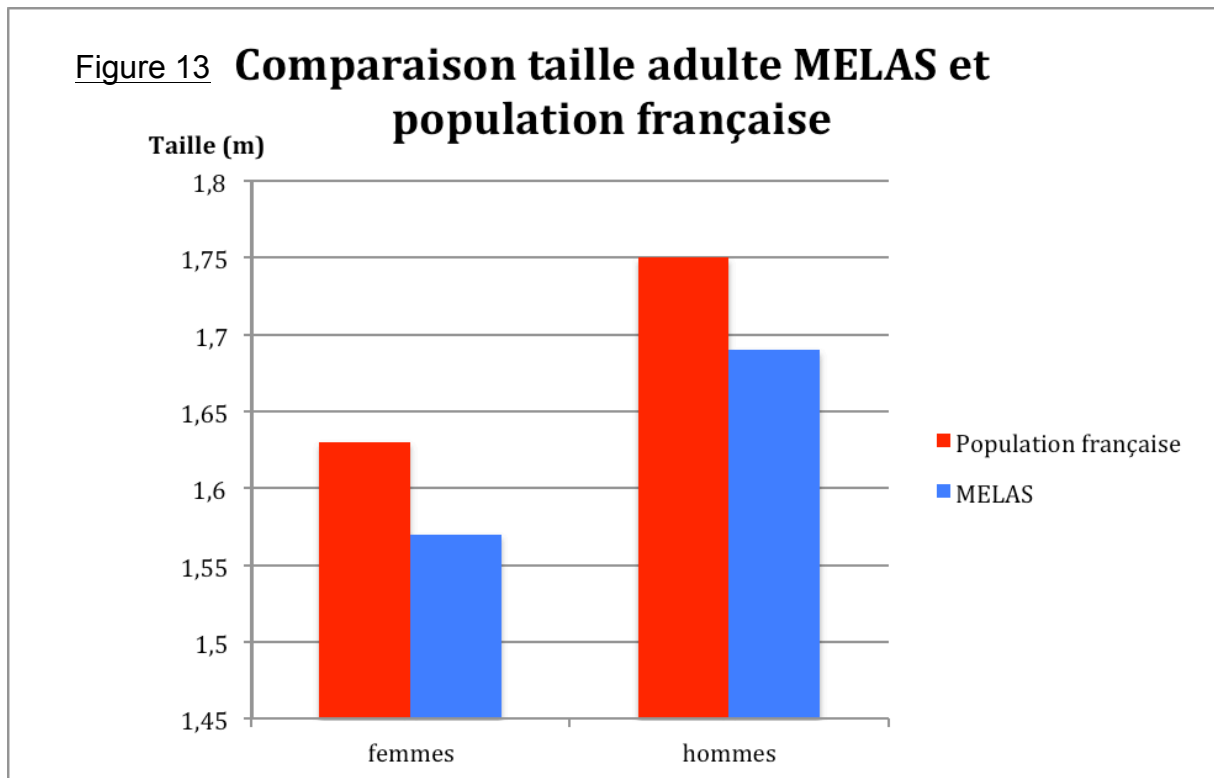
Vous trouverez ci-dessous dans le tableau II les principales caractéristiques de notre population.

Tableau II : paramètres anthropométriques et principales données générales.

Paramètres (unités)	Effectifs testés	Moyenne \pm DS	Minimum	Maximum	N (%)
Sexe ratio	H18/F37				
Age années	55	44 \pm 13	14	68	
Taille m	53	1,61 \pm 0,10	1,40	1,94	
IMC Kg/m ² (19-25)	53	21 \pm 4,3	14	39	
TA Systolique mm Hg (<140)	50	121 \pm 18	90	182	
TA Diastolique mmHg (<90)	50	76 \pm 12	50	110	
Age au 1 ^{er} symptôme années	52	28 \pm 12	7	59	
Age au diagnostic années	53	34 \pm 13	10	62	
Propositus	55				18 (32 %)
Célibataire	55				16 (30%)
< BAC	55				11 (21%)
\geq BAC	55				42 (79%)

L'âge moyen de notre population est de 44 ans (\pm 13). L'âge moyen au premier symptôme dans notre population est de 28 ans (\pm 12). La moyenne d'âge au diagnostic est de 34 ans (\pm 13 ans). 18 patients au sein de notre cohorte (33%) sont le propositus pour le syndrome de MELAS.

La taille dans notre population est en moyenne de 1,61m ($\pm 0,10$), 1.69m en moyenne pour les hommes et 1.57m en moyenne pour les femmes (figure 11)



Le mode d'entrée dans la maladie est (tableau III) :

Mode d'entrée diagnostique	Effectifs (n)	Expression en % de la population
Dépistage familial	31	57 %
Diabète	11	20 %
Atteinte neurologique centrale	9	16 %
Atteinte neurologique périphérique	2	3 %
Atteinte cardiaque	1	2 %
Atteinte ophtalmologique	1	2 %
Total	55	100 %

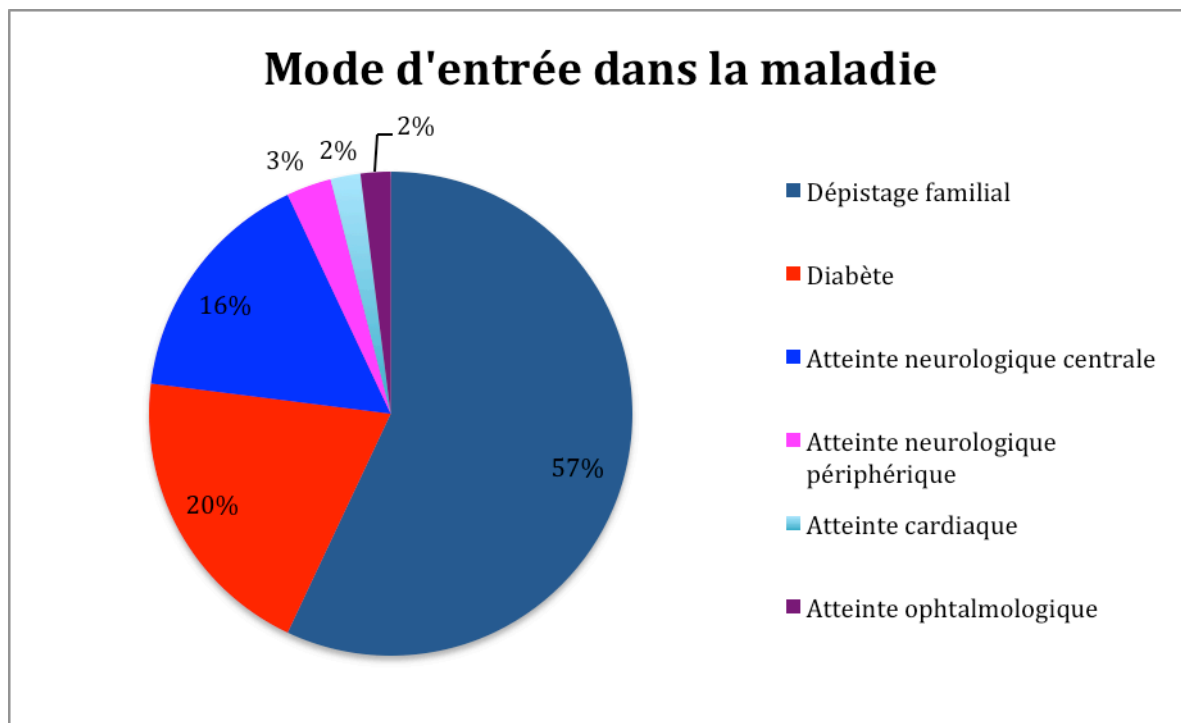


Tableau III et graphique 1 : Mode d'entrée diagnostique dans la maladie

II- Génétique

A-Analyse descriptive

Sur 55 patients, 54 ont une mutation 3243A>G de l'ADN mitochondrial. 1 présente une mutation 3380A>G, diagnostiquée sur leucocytes.

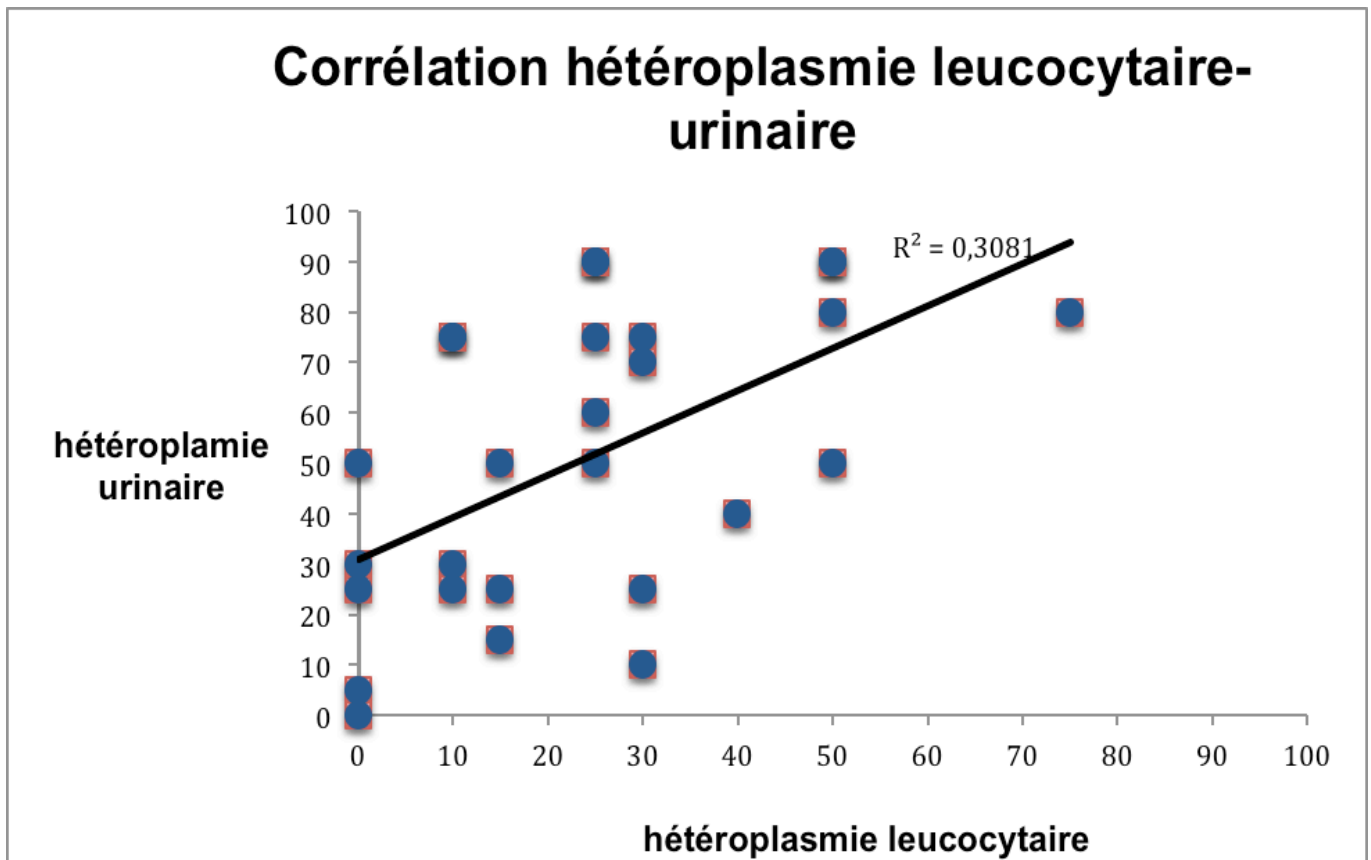
Tableau IV : Degré d'hétéroplasmie leucocytaire et urinaire dans notre population de patient.

%	Moyenne ± DS	Minimum	Maximum	Médiane
Hétéroplasmie leucocytaire N= 42	25,8 ± 18	0	75	25
Hétéroplasmie urinaire N = 35	51,4 ± 28	0	90	50

L'hétéroplasmie n'est pas une variable exprimée en continu, et nous voyons dans le tableau IV que la valeur minimum pour l'hétéroplasmie leucocytaire est de 0%, et au maximum de 75%. Concernant l'hétéroplasmie urinaire, ses valeurs oscillent entre 0 et 90%. La médiane est plus élevée pour l'hétéroplasmie urinaire.

Les taux d'hétéroplasmie urinaire et leucocytaire sont corrélés ($p=0,0014$, $r=0,54$) (graphique 2).

Graphique 2 : courbe de corrélation entre l'hétéroplasmie leucocytaire et urinaire



B- Liens statistiques

Un taux d'hétéroplasmie leucocytaire élevé est associé à :

- Un premier symptôme d'apparition plus précoce ($p=0,0032$)
- Une plus petite taille ($p=0,01$)
- Un IMC bas ($p=0,0239$)
- Un diabète de découverte précoce ($p=0,0009$)
- La survenue d'un AVC ($p=0,0004$)
- La présence d'une épilepsie ($p=0,0096$)
- Des troubles cognitifs graves ($p=0,0016$).

Les patients qui présentent une atteinte corticotrope ont tendance à avoir une hétéroplasmie leucocytaire plus élevée ($p=0,0597$).

Un taux d'hétéroplasmie urinaire élevé était associé à :

- Un diabète de découverte précoce ($p=0,0175$)
- La survenue d'un AVC ($p=0,0029$).

Les patients avec un IMC bas ont tendance à avoir un degré d'hétéroplasmie plus élevé ($p=0,09$).

III- Retentissement métabolique

A- Analyse descriptive

Les caractéristiques métaboliques des patients sont résumées dans le tableau V.

Les 44 patients explorés présentent des anomalies des points REDOX classiques dans les mutations 3243A>G et évocatrices d'une souffrance métabolique :

- Il existe une élévation statistiquement significative des lactates sanguins en période post-prandiale (1,98 mmol/L *versus* 2,19 mmol/L, $p=0,0020$), qui restent toutefois dans les normes.
- La moyenne du pic de lactates est de 2,54 mmol/L ($\pm 1,32$), légèrement au-dessus de la norme supérieure du laboratoire à 2,44 mmol/L.
- La médiane du rapport lactates/pyruvate est de 18,60 (15,40 ; 23,40), augmenté par rapport à la norme inférieure à 15. Pour mémoire, aucun patient exploré n'a de diminution du taux de pyruvate, qui pourrait contribuer à l'élévation du rapport lactate/pyruvate.
- 8 patients parmi les 38 explorés (21%) présentent une lactaturie élevée. Celle-ci pourrait être révélatrice d'une tubulopathie, et être responsable d'une sous-estimation de la lactatémie. Néanmoins dans notre étude, les patients qui présentent une hyperlactaturie ont également une hyperlactatémie, et la tubulopathie n'a pas été recherchée.
- Le taux moyen de CO₂ total, mesuré dans 78% de notre effectif, est à jeun de 23,88 mmol/L ($\pm 2,92$) *versus* 23,52 ($\pm 3,29$) en postprandial, soit juste à

la limite de la valeur en deçà de laquelle on retiendrait une tendance à l'acidose métabolique .

- Les taux de BOH-butyrates préprandiaux sont en moyenne de 0,12 mmol/L ($\pm 0,05$), versus 0,16 mmol/L en postprandial ($\pm 0,14$) chez les 42 patients (76,36%). Il existe donc une tendance à l'élévation en période postprandiale mais nous n'avons pas pu démontrer sa significativité car beaucoup de valeurs étaient inférieures au seuil de détection ($< 0,10$ mmol/L).

Tableau V : caractéristiques métaboliques des patients.

Paramètres Unité (norme)	Effectifs (n)	Moyenne \pm DS	Min	Max	N (%)
Lactatémie préprandiale mmol/L (0,63-2,44)	44	1,98 \pm 0,99	0,53	5	
Lactatémie postprandiale mmol/L (0,63-2,44)	40	2,19 \pm 1,15	0,64	5,70	
Pic de lactates mmol/L (0,63-2,44)	47	2,54 \pm 1,32	0,65	6,75	
Lactates/pyruvate (< 15)	45	19,3 \pm 6,24	8	36	
Lactaturie (> 100 mmol/mol creat.)	38				8 (21%)
CO2 total préprandial mmol/L (22-29)	43	23 \pm 2,92	17	30	
CO2 total postprandial mmol/L (22-29)	39	23 \pm 3,29	14	31	
BOH-butyrates préprandial mmol/L ($< 0,3$)	42	0,12 \pm 0,05	0,05	0,30	
BOH-butyrates postprandial mmol/L ($< 0,3$)	36	0,16 \pm 0,14	0,07	0,65	
Proline μ mol/L (121-263)	43	191 \pm 82,52	88	404	
NH3 μ mol/L (11,8-59)	43	36 \pm 12,05	17	79	

B- Liens statistiques

Un pic de lactate élevé chez nos patients est associé à une élévation de la lactaturie ($p=0,0156$).

Ainsi, les paramètres biologiques métaboliques reflètent une souffrance métabolique, mais modérée, dont témoigne d'une part la moyenne du pic de lactates qui se situe au delà de la norme (avec une valeur maximale à 6,75 mmol/L), et d'autre part l'élévation significative des lactates postprandiaux par rapport aux valeurs préprandiales. La tendance à l'élévation du BOH-butyrate en période postprandiale va dans le même sens. Certains patients sont même en probable acidose métabolique (valeur minimale du CO₂ total à 14 mmol/L chez un patient qui n'avait pas d'insuffisance rénale).

IV- Diabète

A- Analyse descriptive

Les caractéristiques des patients diabétiques sont résumées dans le tableau VI.

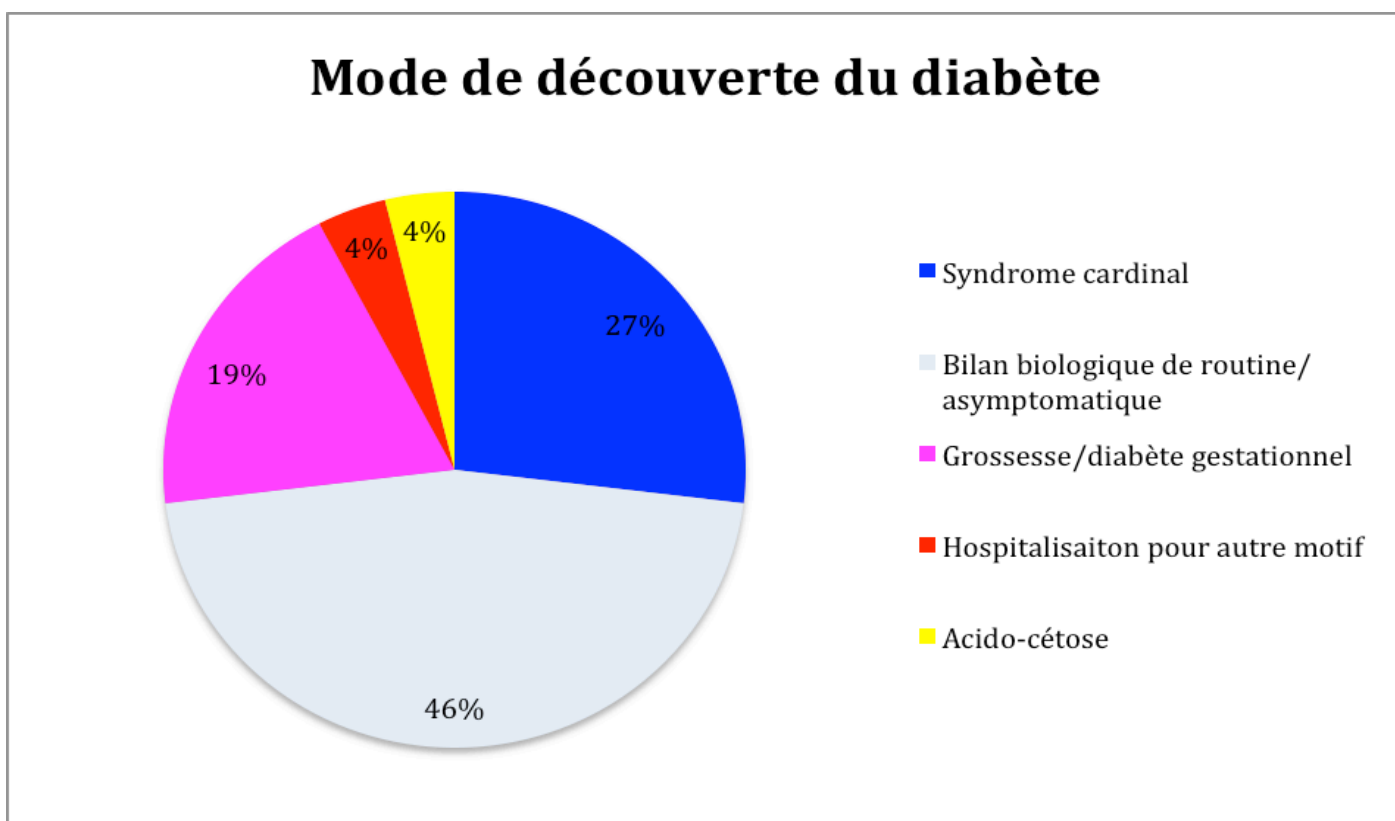
Tableau VI : caractéristiques des 35 patients diabétiques (en dehors des complications traitées au paragraphe XVI (p 72))

Paramètre (35 patients) Unité (norme)	Effectifs	Résultat (%)	Min	Max	N (%)
Age diagnostic MELAS années	34	38 ±11	18	62	
Age diagnostic Diabète années	32	37 ±9	24	62	
Ancienneté du diabète (30) années		12,5 ±6			
IMC kg/m ² (19-25)	34	21,2 ±3,21	14,8	30,5	
HbA1c % (<6%)	33	7,49 ±1,36	5,4	10,8	
C-peptide à jeun ng/mL (0,95-2,30)	22	1,70 ±1,47			
C-peptide postprandial ng/mL (0,95-2,30)	16	2,90 ±2,15			
Anticorps (25)	25				5(20%)
HLA neutre (16)					4 (25%)
HLA protecteur contre le diabète type 1 (16)					8 (50%)
HLA susceptible pour le diabète type 1 (16)					2 (12,50%)
Association haplotype susceptible et protecteur (16)					2 (12,50%)
Traitement par Insuline seul (33)					6 (19%)
Traitement par ADO seul (33)					9 (27%)
Traitement par ADO+Insuline (33)					18 (54%)

35 patients (64%) étaient diabétiques. L'âge à la découverte du diabète se situe en moyenne dans la 4^{ème} décennie, et le poids est le plus souvent normal. A noter que l'âge moyen au diagnostic de la maladie chez les diabétiques (38 ans, versus 34 ans pour l'ensemble de la population), se superpose à celui de la découverte du diabète (37 ans). L'ancienneté du diabète est toutefois de 12 ans en moyenne, témoignant d'un certain degré de retard diagnostique de la cytopathie mitochondriale.

Le mode de découverte du diabète est résumé dans le graphique ci-dessous (graphique 3) (n=26). La majorité des patients n'était pas symptomatique à la découverte du diabète, marqueur d'un dépistage précoce et d'une atteinte peu sévère. Plusieurs femmes s'étaient vues découvrir un diabète à l'occasion d'une grossesse.

Graphique 3 : Mode de découverte du diabète



L'IMC est normal en moyenne mais peut être très bas à 14 (insuffisance pondérale) ou atteindre la limite de l'obésité chez 2 de nos patients, qui ne sont toutefois pas diabétiques.

Concernant l'équilibre du diabète, il est moyen (7,5%), mais on note que la moitié des patients présente une HbA1c acceptable à moins de 7,2%.

L'étude des réserves insuliniques ne met pas en évidence de caractère insulino-pénique majeur, même s'il existe des valeurs de c-peptide à jeun au minimum à 0,15 ng/mL et 0,46 ng/mL en postprandial.

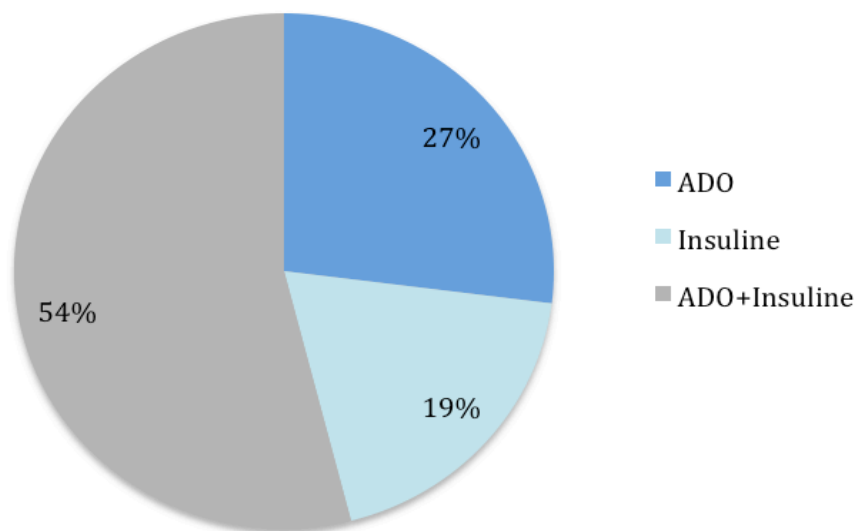
L'index d'insulinosensibilité (HOMA2) normal est à 1. Nos patients présentent une médiane à 1,08, ce qui n'est pas en faveur d'une insulino-résistance. Les 2 patients qui présentent des index HOMA2 élevés sont :

- pour l'un, atteint d'une stéatose hépatique non expliquée (HOMA2 à 1,78)
- pour l'autre (HOMA2 2,77), elle présente un IMC bas et des taux de c-peptide parmi les plus élevés de notre cohorte (3,29 ng/mL à jeun et 6,04 en postprandial).

Par ailleurs, concernant les marques d'auto-immunité, la recherche d'anticorps anti-GAD, anti-IA2 et anti-îlots de Langerhans a été réalisée chez 25 patients (71% de la population diabétique). 5 patients (20%) présentent ces anticorps, dont 2 de type anti-GAD (2 anti-îlots de Langerhans et 1 anti-IA2). Les 2 patients qui présentaient des anticorps anti-GAD conservaient des réserves insuliniques satisfaisantes. Cependant, 4 patients parmi les 5 avec présence d'anticorps étaient traités par insuline. Concernant le typage HLA, les 2 patients qui avaient un HLA susceptible pour le diabète de type 1 ne présentaient pas de stigmate d'auto-immunité et 1 seul était traité par insuline (diabète ancien).

Sur le plan thérapeutique, le graphique ci-dessous résume la répartition du traitement antidiabétique au sein de notre cohorte (graphique 4) :

Traitement anti-diabétique



B-Liens statistiques

La survenue du diabète n'est pas en lien avec un IMC élevé ($p=0,7283$).

Les patients diabétiques ont tendance à présenter un pic de lactate plus élevé ($p=0,0888$).

Il n'existe pas de lien statistiquement significatif entre une atteinte neurologique centrale et la survenue d'un diabète ($p=0,9498$), ou entre une atteinte neurologique périphérique et la maladie diabétique ($p=0,2912$).

V-Atteintes endocriniennes

A-Analyse descriptive

Les atteintes hypophysaires sont résumées dans le tableau VII ci-dessous :

Tableau VII : Atteintes hypophysaires

Paramètre (effectif) 55 patients (H18/F37)	Effectifs testés	Moyenne \pm DS	Min	Max	N (%)
Fonction corticotrope					
Asthénie	53				16 (30%)
Cortisolémie 8h mg/100mL (9-22)	44	15 \pm 5,25	6	28	
ACTH 8h pg/mL (<46)	43	20 \pm 8,98	8	45	
Ins. complète	42				0 (0%)
Ins. partielle	42				8 (19%)
Fonction somatotrope					
IGF-1 ng/mL (117-388)	46	158 \pm 66	58	336	
Insuffisance	46				6 (13%)
Fonction gonadotrope Homme					
Testo/SBP					
Ins. centrale	16				2 (12,5%)
Ins. Périphérique	16				2 (12,5%)
Fonction gonadotrope femme					
Ménopause précoce	16				0
Retard pubertaire	29				0
Fonction thyroïdienne					
TSH μ U/mL (0,4-3,6)	53	1,84 \pm 1,51	0,43		10,3
T4 Libre pmol/L (3,8-5,8)	48	10,76 \pm 1,76	6.5		15
Insuffisance thyroïdienne	48				4 (8%)
Ins. protothyroïdienne	48				1 (2%)
Prolactine ng/mL (3,5-F26,5 ; H19,4)	46	13 \pm 19	4		45
Hyperprolactinémie	46				2 (4%)
Atteinte hypophysaire	53				18 (34%)

L'atteinte hypophysaire des patients avec un syndrome de MELAS est fréquente, et concerne environ 1/3 des patients. L'atteinte corticotrope est la plus fréquente (19% de patients explorés), suivie de l'atteinte somatotrope, gonadotrope et thyroïdienne.

Aucun patient n'a de cortisolémie à 8 heures < 3 mg/100mL, marqueur d'une insuffisance corticotrope complète. En revanche, 8 ne stimulent pas suffisamment leur cortisolémie lors du test au synacthène.

Parmi les 16 hommes explorés, 2 présentent un déficit gonadotrope central (12,5%). Ce déficit était :

- isolé dans un premier cas (patient décédé de cause cardiaque, très dénutri),
- associé à un déficit thyroïdienne dans le deuxième cas d'un patient présentant un retard mental,
- Aucun d'eux n'a d'enfant.

2 autres patients (12,5%) présentent une insuffisance testiculaire :

- Le premier, greffé rénal âgé de 34 ans, a un antécédent de cryptorchidie opérée, et n'a pas d'enfants.
- Le deuxième, âgé de 64 ans, aurait 3 enfants, présente un diabète depuis une trentaine d'années et une hyperprolactinémie possiblement d'origine médicamenteuse.

Il n'existe pas d'arguments en faveur de troubles de la fertilité chez les femmes testées (n=16), mais les données de l'interrogatoire sont insuffisamment précisées pour être formel. En tout cas, il n'y a pas de cas de ménopause précoce mentionnée.

Les paramètres parathyroïdiens sont résumés dans le tableau VIII ci-dessous. Tous nos patients explorés (47, soit 8% de notre population totale) présentent une calcémie normale. L'unique patient qui présente une PTH anormale (élevée à 200 pg/mL) a une hyperparathyroïdie tertiaire dans un contexte d'insuffisance rénale terminale.

Tableau VIII : paramètres fonction parathyroïdienne.

Paramètres Unité (normes)	Effectifs testés	Moyenne \pm DS	Min	Max
Fonction parathyroïdienne				
PTH pg/ml (15-68)	41	54 \pm 35	16	204
Calcium mg/L (85-105)	47	93 \pm 4	82	100
Phosphore mg/l (25-45)	47	33 \pm 6	20	48
Magnésémie mg/L (16-26)	38	20 \pm 4	14	40
Calciurie mg/24h (60-300)	28	116 \pm 87	4.7	286
25-OH-D ng/ml (30-60)	47	24 \pm 13	6	64

La morphologie thyroïdienne est résumée dans le tableau IX.

Tableau IX : morphologie thyroïdienne

Effectifs étudiés	42
Nodules	11 (26%)
Goitre sans nodules	5 (11%)
Total	14 (33%)

Des anomalies de la morphologie thyroïdienne sont fréquentes dans notre population (26% de nodules, 31% de goitre) mais la présence de nodules est plus fréquente après 50 ans. Parmi ces patients qui ont des anomalies morphologiques thyroïdiennes :

- 1 patiente a bénéficié d'une thyroïdectomie pour maladie de Basedow. Aucune analyse moléculaire n'a été réalisée sur pièce opératoire.
- 4 patientes présentent une maladie d'Hashimoto, associant hypothyroïdie et anticorps anti-thyropéroxydase, dont une mise en évidence lors de l'hospitalisation dans le service.

Parmi les 11 patients (26% des 42 explorés) présentant une atteinte primitivement thyroïdienne :

- Chez une patiente, une prise en charge chirurgicale a permis de mettre en évidence un carcinome papillaire ayant nécessité un traitement par irathérapie à l'iode 131, actuellement en rémission.
- Une deuxième patiente présente un nodule fortement suspect en cours de prise en charge diagnostique.

Concernant la fonction minéralocorticoïde, le rapport aldo/ARP est normal (25,7 pour une norme <30), ainsi que l'aldostéronémie moyenne, sans argument pour un hyperaldostéronisme primaire ou secondaire.

Parmi les 12 patients qui avaient bénéficié d'une ostéodensitométrie, 7 étaient des hommes et 3 des femmes ménopausées. 4 avaient une ostéopénie densitométrique et 7 une ostéoporose, parfois sévère.

B- Liens statistiques

Il n'existe pas de lien statistiquement significatif entre l'asthénie signalée par les patients et l'insuffisance corticotrope ($p=0,2264$).

Il n'y a pas de corrélation entre une atteinte neurologique centrale et l'insuffisance corticotrope ($p=0,7092$).

IX-Atteintes neurologiques

A-Analyse descriptive

Les atteintes neurologiques présentées par nos patients sont résumées dans le tableau X.

Tableau X : Atteintes neurologiques

Paramètres	Effectifs	Anomalies n (%)	Moy ±DS
Atteinte neurologique globale	55	55 (100%)	
Atteinte centrale et périphérique concomitante	55	24 (43%)	
Atteinte neurologique centrale	55	30 (55%)	
AVC/AIT		10 (18%) / 2 (3%)	
Epilepsie		12 (22%)	
Troubles Cognitifs graves		14 (25%)	
Atteinte neuro-ophtalmo		7 (13%)	
Céphalées		13 (24%)	
IRM	43		
Normale		13 (30%)	
Séquelles ischémiques		7 (16%)	
Hyper signaux SB		21 (49%)	
Anomalies		10 (23%)	
Noyaux gris centraux			
Atrophie corticale et hémorragie		9 : 8 et 1 (21%)	
Spectro-IRM (pic lactates)	26	8 (31%)	
Atteinte neurologique périphérique	55	44	
EMG	42	14 (33%)	
CPK > 180 UI/L	42	17 (40%)	
Pic lactate plasmatique	47	2.54	2.54±1.32

Tous nos patients présentent au moins 1 atteinte neurologique parmi tous nos critères d'évaluation : parmi les seuls 4 patients qui n'ont pas d'atteinte neurologique périphérique ou centrale, 2 ont des anomalies à l'IRM cérébrale et 2 expriment des céphalées.

L'atteinte neurologique périphérique (regroupant syndrome clinique ou anomalie à l'EMG) est plus fréquente que l'atteinte neurologique centrale (44 patients (81,5%) *versus* 30 patients atteints (55%)). 24 patients (43%) présentent une atteinte centrale et périphérique.

En ce qui concerne les explorations complémentaires, 42 patients ont bénéficié d'un EMG. Chez 14 (33%) d'entre eux a été mise en évidence une atteinte neuropathique.

43 patients (78%) ont bénéficié d'une IRM, et 26 (47%) d'une spectroIRM :

- 13 (30%) ont une IRM normale
- 21 (49%) présentent des hyper signaux de la substance blanche décrits comme « aspécifiques », le plus souvent en séquence FLAIR ou T2, de localisation le plus souvent péri-ventriculaire,
- 7 (16%) présentent des lésions décrites comme des séquelles ischémiques
- 10 (23%) avaient des anomalies des noyaux gris centraux : des calcifications dans 2 cas, des hyper signaux chez les 8 autres patients
- Les autres anomalies sont : une atrophie corticale pour 8 patients et une lésion hémorragique dans 1 cas

- Un pic de lactates est mis en évidence à la spectroIRM chez 8 malades parmi les 26 ayant bénéficié de l'examen (31%).

L'élévation des taux sanguins de CPK est observée chez 17 patients (40,5%) parmi les 42 explorés. La valeur maximale est à 691 UI/L chez une patiente présentant par ailleurs une atteinte cardiaque sévère.

B-Liens statistiques

La présence d'un pic de lactates est significativement liée à l'atteinte neurologique centrale ($p=0,034$), et plus particulièrement l'antécédent d'AVC ($p=0,0084$). La présence d'un pic de lactates à la spectroIRM n'est mise en évidence que chez 8 patients (sur les 26 explorés), ce qui n'a pas permis de rechercher un lien statistique avec le pic de lactates plasmatique.

En revanche, il n'y a pas de lien entre le pic de lactates plasmatique et l'atteinte neurologique périphérique ($p=ns$).

Un lien statistique entre l'atteinte neurologique centrale et les anomalies à l'IRM a été recherché pour les 2 types d'anomalies les plus fréquentes, compte tenu de la diversité des anomalies retrouvées. Le lien statistique entre l'atteinte neurologique centrale et les hyper signaux de la substance blanche ($p=0,183$) ou les anomalies des noyaux gris centraux ($p=0,15$) n'est pas établi.

Il n'existe pas de lien statistiquement significatif entre les atteintes neurologiques centrale et périphérique ($p=1,000$).

Les patients avec une atteinte neurologique centrale présentent une hétéroplasmie leucocytaire significativement plus élevée ($p=0,0380$), et une médiane d'hétéroplasmie urinaire à 60,00 versus 40,00 pour les patients indemnes d'atteinte neurologique centrale. Cette différence n'est toutefois pas franchement significative ($p= 0,2761$).

X-Atteintes neurosensorielles

47 patients (89%) souffrent d'hypoacousie de perception parmi les 53 explorés (soit 96% de notre cohorte). L'hypoacousie de perception est la plus fréquente des atteintes neurosensorielles, d'autant plus chez les patients diabétiques où elle est constante.

Paramètres	N	Présence
Hypoacousie	53	47 (89%)
Rétinite pigmentaire	48	13 (27%)

Tableau XI : atteintes neurosensorielles

XI - Atteinte nutritionnelle**Tableaux XII : dosages vitaminiques.**

Vitamines	Effectifs	Taux normaux	Nombre de valeurs basses	Nombre de valeurs hautes
B1	44	35 (79,5%)	4 (9%)	5 (11,5%)
B6	43	40 (93%)	2 (4,5%)	1 (2,5%)
Folates sériques	44	41 (93%)	3 (7%)	0
B12	46	40 (87%)	6 (13%)	0
A	41	37 (90%)	4 (10%)	0
E	44	41 (93%)	3 (7%)	0
C	43	32 (74,5%)	10 (23%)	1 (2,5%)
Ferritine	46	40 (87%)	6 (13%)	0

La carence vitaminique la plus fréquente concerne la vitamine C. 6 patients présentent une carence en vitamine B12, chez 4 d'entre eux les stigmates d'auto-immunité recherchés étaient négatifs.

Tableau XIII : bilan lipidique

Paramètres	Effectifs	Moyenne \pmDS
Unités (norme)		
Triglycérides g/L (0,30-1,50)	52	1,48 \pm 0,89
LDL g/L	52	1,15 \pm 0,42
HDL g/L(0,45-0,95)	52	0,49 \pm 0,15

Parmi les 53 patients explorés, 9 présentent des anomalies de la NFS : 6 sont anémiés, 1 présente une thrombopénie et 2 une leuconéutropénie.

Le ionogramme sanguin est normal chez 45 patients parmi les 50 explorés (90%). 2 patients présentent une hyponatrémie hypoosmolaire modérée et 3 des dyskaliémies en lien avec une insuffisance rénale ou des traitements interférents.

Des perturbations du bilan hépatique sont observées chez 5 malades parmi les 53 explorés (9%) : 1 présente une cytolysse modérée et 3 une élévation isolée des gammaGT, 1 dernier a une cytolysse et une élévation des gammaGT, possiblement d'origine iatrogène. 1 patient, diabétique, présente une stéatose hépatique sans perturbation du bilan hépatique.

XII - Atteinte cardiaque

A-Analyse descriptive

L'atteinte cardiaque a été recherchée chez 50 de nos patients (90,90%), et présente chez 29 d'entre eux (58%) : 22 (75%) présentent une hypertrophie ventriculaire gauche, 25 (86%) des anomalies électrocardiographiques.

Parmi les 50 patients pour qui les données sont disponibles, 7 présentent une hypertension artérielle (14%).

B-Liens statistiques

Nous n'avons pas mis en évidence de lien statistiquement significatif entre une atteinte cardiaque et neurologique centrale ($p=0,4411$) ou périphérique ($p=1,0000$). Il n'existe pas de lien statistiquement significatif entre le pic de lactates et la survenue d'une atteinte cardiaque ($p=0,2798$).

Compte tenu de la présence de seulement 7 patients hypertendus, un lien statistique entre HTA et HVG n'a pas pu être vérifié au préalable, mais parmi les 7 patients hypertendus, presque la moitié (3) ont une HVG.

Les patients souffrant d'HVG n'ont pas des taux d'hétéroplasmie urinaire ou leucocytaire plus élevés ($p=0,3445$ et $p=0,66$).

XIII-Atteinte néphrologique

A-Analyse descriptive

Les atteintes néphrologiques sont résumées dans le tableau XIV.

Tableau XIV : atteintes néphrologiques

Paramètre (effectif) Unité (norme)	Effectifs	Présence (%)	Moyenne \pm DS	Min	Max
Créatininémie (mg/L)	53		9,60 \pm 5	3	36
DFG (e-MDRD) (mL/min)	53		85 (66 ; 103)		
Insuffisance rénale	53	11 (20%)	92 \pm 52	19	379
Microalbuminurie positive	43	16 (37%)			
Protéinurie (g/24h)	39		0,26 \pm 0,47		
Biopsie : HSF	5	4 (7%)			

. 11 patients (20%) au sein de notre cohorte présentent une insuffisance rénale.

5 patients ont bénéficié d'une ponction-biopsie rénale :

- 4 ont des lésions non spécifiques d'HSF
- 1, diabétique, présentait une analyse histologique non concluante.

2 ont bénéficié d'une greffe rénale :

- l'un, non diabétique, avait développé une insuffisance rénale terminale sur un reflux de la jonction pyelo-urétérale dans l'enfance.
- La deuxième présentait une hyalinose segmentaire et focale sévère responsable d'une dégradation majeure du DFG l'ayant conduite jusqu'à la greffe rénale, avec succès.

Parmi les patients insuffisants rénaux non diabétiques :

- l'une présente une polykystose rénale familiale de type 1 héritée de son père
- un autre présente très probablement une atteinte secondaire à la mutation 3242A>G mais son état cognitif actuel ne permet pas de réaliser une ponction-biopsie rénale.

B- Liens statistiques

La médiane du DFG chez les patients présentant une atteinte neurologique périphérique est de 61,00 versus 68,50 chez les patients indemnes. Cette écart n'est pas statistiquement significatif ($p=0,0736$).

XIV - Atteinte digestive

29 patients (56%) déclarent avoir des troubles du transit, 3 (5,88%) ont déjà présenté une occlusion intestinale ayant nécessité une hospitalisation.

XV – Traitements

Les traitements étaient disponibles pour 54 patients, et sont résumés dans le tableau XV :

	Effectif	Présence (%)
L-carnitine	54	23 (42)
Co-enzyme Q	54	15 (27)
L-Arginine	54	3 (5,5)
Statines	54	8 (15)
IEC ou ARA2	54	20 (37)
Vitaminothérapie	54	10 (54)

La L-carnitine est le traitement le plus prescrit chez nos patients, suivi des IEC ou ARA2. Nous ne savons pas si ce traitement a été introduit à visée anti-hypertensive et/ou pour diminuer la protéinurie.

Seulement 3 patients sur les 10 ayant présenté un AVC sont traités par arginine.

XVI - Analyse en sous-groupes : patients diabétiques versus patients non diabétiques

Les principales caractéristiques de nos deux groupes analysés, diabétiques versus non diabétiques, sont présentées dans le tableau XVI. Les diabétiques sont significativement plus âgés que les non diabétiques (48 ans versus 35, $p = 0,0010$). Les deux groupes sont comparables pour la taille, le sexe, les valeurs de pression artérielle systolique et diastolique, le taux de CPK.

Sur le plan ophtalmologique, 1 seul patient diabétique présente une rétinopathie diabétique, inférieure au stade 2.

Les diabétiques présentent plus de rétinites pigmentaires que les non diabétiques (39% versus 6%, $p = 0,0180$) et plus d'anomalies électromyographiques (44,5% versus 13%, $p = 0,004$). Ils ne présentent en revanche pas plus d'AVC ou d'anomalies IRM que les patients non diabétiques (p respectivement à 1,00 et 0,55).

Sur le plan cardiologique, il existe une tendance nette sans être significative concernant les anomalies électrocardiographiques et l'HVG, plus fréquentes chez les patients diabétiques ($p = 0,07$ et 0,08) que chez les non diabétiques.

En ce qui concerne la fonction rénale, même si l'atteinte rénale (DFG, micro albuminurie) n'est pas significative *stricto sensu*, il existe tout de même une moyenne de DFG plus basse et plus de micro albuminuries positives dans le groupe des patients diabétiques.

Sur le plan endocrinien, l'insuffisance corticotrope est plus fréquente chez les patients non diabétiques (35% versus 8%, $p=0,04$).

Sur le plan biologique, les patients diabétiques présentent un rapport lactate/pyruvate significativement plus élevé (21 versus 16, $p=0,02$, sans qu'il ne soit lié à une élévation du pyruvate), résultat non significatif pour le taux de lactatémie (médiane à 2,39 versus 1,98, $p=0,08$) et de lactaturie ($p=0,6$). Les diabétiques ne présentent pas plus de carence en 25-OH₂D3 que les autres patients ($p=0,7$).

Les patients souffrant de diabète ne présentaient pas un taux d'hétéroplasmie urinaire ou leucocytaire plus élevé que les non diabétiques ($p=0,43$ et 0,8175).

Tableau XVI : Groupe de patients diabétiques versus patients non diabétiques

Paramètres	Diabétiques (n=35)		Non diabétiques (n=20)		p
	Moyenne ±DS	Présent	Moyenne ±DS	présent	
Age années	48 ±9		35 ±14		0,001
Sexe	H10/F25		H8/F12		0,38
Taille m	1,61 ±0,08		1,61 ±0,13		0,87
IMC (kg/m ²)	21 ±3		20,7 ±5,8		ns
TAS (mmHg)	120 ±17		123 ±21		0,68
TAD (mmHg)	76 ±12		77 ±13		0,65
Rétinite pigmentaire		39%		6%	0,01
Rétinopathie diabétique		3%			
Micro albuminurie positive		41%		28,5%	0,41
DFG (ml/min)	77 (65 - 95)		97 (74-112)		0,08
AVC		18%		20%	1,00
Epilepsie		14%		35%	0,09
Anomalies IRM		73%		65%	0,55
Élévation CPK		37%		47%	0,54
Anomalies EMG		44,5%		13%	0,04
Anomalies ECG		57%		31%	0,07
HVG		53%		28%	0,08
Ins. corticotrope		8%		35%	0,04
Ins. somatotrope		18%		5,5%	-
Ins. thyroïdienne		3%		15%	-
Lactates/pyruvate	21 ±5,76		17 ±6,22		0,02
Pic lactates	2,82 ±1,35		2,13 ±1,20		0,08
TG g/l	1,41 ±0,87		1,52 ±0,92		-
LDL-C g/l	1,26 ±0,45		1,09 ±0,36		-
Taux de 25-OH ₂ D3 (ng/mL)	23 ±12		25 ±15		0,72

Figure 14 a: Age moyen dans le groupe patients diabétiques versus patients non diabétiques

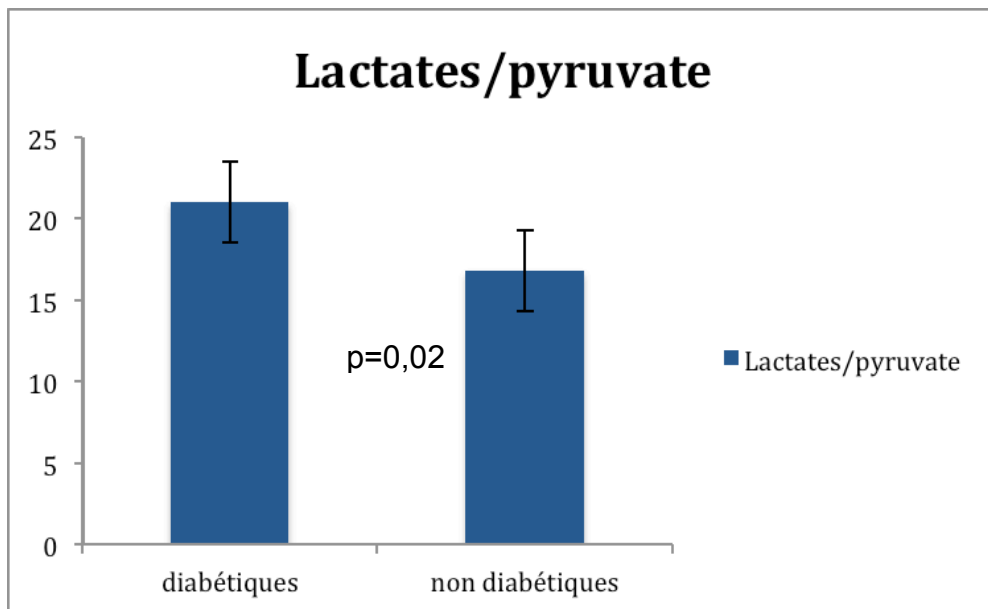
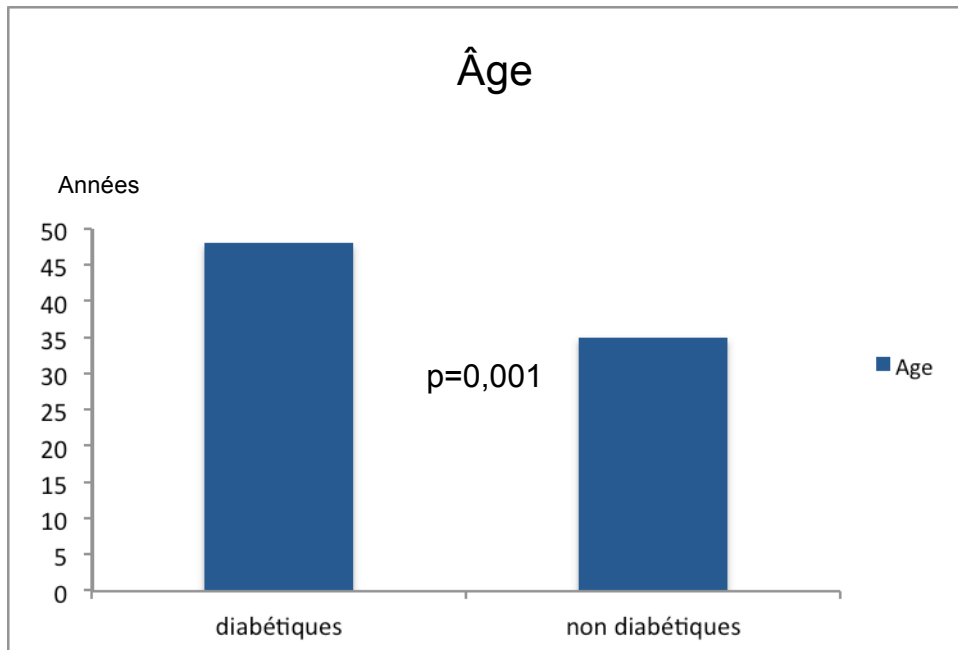
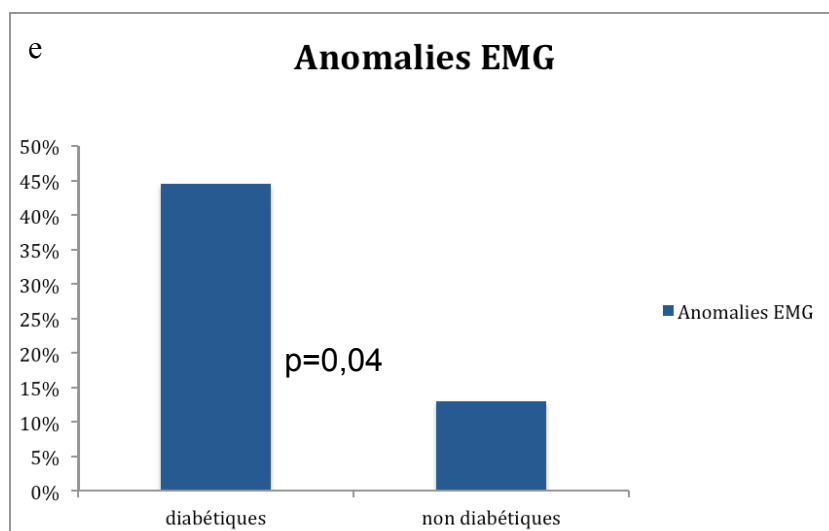
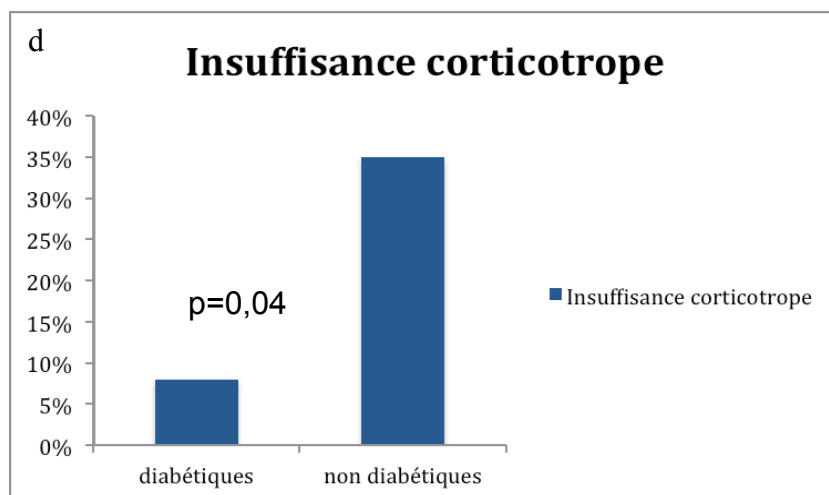
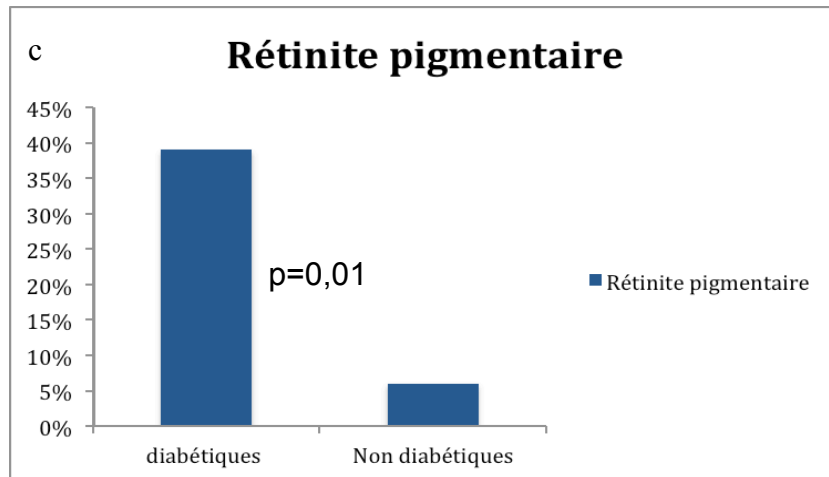


Figure 14 b : rapport lactate/pyruvate chez les patients diabétiques versus non patients non diabétiques

Figure 14 c : fréquence de la rétinite pigmentaire chez les patients diabétiques versus les patients non diabétiques

Figure 14 d : fréquence de survenue d'une insuffisance corticotrope partielle chez les patients diabétiques versus les patients non diabétiques

Figure 14 e : fréquence des anomalies EMG chez les patients diabétiques versus les patients non diabétiques



DISCUSSION

Cette étude phénotypique nous permet de mieux connaître les atteintes qui caractérisent le syndrome de MELAS à l'âge adulte et de mettre en lumière leurs diversités. Le nombre de patients inclus nous autorise à confirmer et renforcer les critères d'identification de la pathologie. Revenons sur certains points.

L'âge au premier symptôme au sein de notre série de patients est en moyenne de 28 ans (± 12), ce qui est plutôt tardif pour ce type de maladie. Néanmoins, il est sans doute plus précoce car certaines atteintes comme l'hypoacousie, la rétinite pigmentaire ou encore les crampes musculaires sont parfois difficiles à repérer compte tenu de leur manifestation initiale fruste. Cette moyenne d'âge assez tardive peut également sans doute s'expliquer par le fait que les patients les plus sévèrement touchés n'atteignent pas l'âge adulte ou relèvent d'une prise en charge neurologique qui est alors au 1^{er} plan. Ainsi, notre recrutement au sein d'un service d'endocrinologie-diabétologie pour patients adultes contribue très certainement à cette moyenne d'âge tardive à la découverte de la pathologie.

Concernant la taille, et conformément aux données de la littérature, elle est en moyenne inférieure à celle de la population française. On conçoit que la croissance soit un processus gourmand sur le plan énergétique et une atteinte de la chaîne respiratoire pourrait altérer la disponibilité énergétique nécessaire aux tissus cibles. Le même constat est d'ailleurs noté pour l'IMC : nos patients présentent tous des IMC bas ou normaux.

Sur le plan biologique, la souffrance métabolique est modérée mais réelle, parfois plus marquée, mais dans certains cas absente. Elle est témoin du dysfonctionnement de la chaîne respiratoire. Son caractère modéré notamment chez les patients les moins symptomatiques s'explique là aussi sans doute par notre recrutement initial essentiellement au sein d'un service de médecine endocrinologique et métabolique adulte avec un phénotype le plus souvent modéré.

Diabète

Parmi nos 55 patients, 35 (64%) étaient diabétiques. Ce chiffre est moins important que dans d'autres études émanant d'équipes de diabétologie. Cette plus faible prévalence s'explique par le fait que nos critères conduisant à l'évaluation des patients n'étaient pas seulement liés au diabète mais aussi dans le cadre de la prise en charge globale et métabolique d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire. Certains patients nous ont également été adressés par nos collègues neurologues, qu'ils soient diabétiques ou non. Les principales études de la littérature sont issues de services de diabétologie, avec un recrutement plus volontiers de type MIDD.

Concernant l'âge de nos patients diabétiques, ils sont significativement plus âgés que les patients non diabétiques (48 ans versus 35, $p=0,001$). Les patients non diabétiques sont diagnostiqués sur des critères essentiellement neurologiques (notamment neuromusculaires) sans doute plus précocement parlants ou par le biais d'un dépistage familial, ce qui peut expliquer cette différence d'âge.

L'âge au diagnostic du diabète (37 ans) était en accord avec les données préexistantes dans la littérature (2,3). Il se situe donc entre l'âge de découverte classique du diabète de type 1 et celui du type 2. L'IMC est le plus souvent normal à la découverte du diabète, voire bas ($21,29 \pm 3,21$), là-aussi en accord avec les données de la littérature (2,3,21). Le mécanisme du diabète apparaît être lié à une insulino-pénie plutôt qu'à l'insulinorésistance. L'index HOMA2, proche de 1 chez nos patients testés, n'est d'ailleurs pas en faveur d'une insulinorésistance, ce que confirment certaines études (64). Les valeurs du c-peptide sont plutôt en faveur du caractère partiel de l'insulino-pénie, aucun de nos patients n'ayant de valeur effondrée. Cependant, la survenue d'une acidocétose chez 4 de nos patients (inaugurale ou à l'arrêt de l'insulinothérapie) confirme chez eux l'existence d'une insulino-pénie sévère. L'explication physiopathologique de cette carence insulinique modérée reste hypothétique. Il existe une diminution du nombre de cellules endocrines pancréatiques (65,66). En effet, l'étude histologique du pancréas d'un patient diabétique présentant la mutation 3243A>G a été réalisée et montre que le nombre de cellules endocrines (β , mais également α et δ) est diminué, dans des valeurs comparables à celles mises en évidence dans le diabète de type 1. Le degré d'hétéroplasmie était plus important dans le pancréas endocrine, notamment dans les îlots (63%) que dans le pancréas exocrine (32%) ou que dans le sang (8%). D'autres études autopsiques ont corroboré ces résultats (20).

Le dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale va être responsable de la production de radicaux libres, qui vont conduire à l'apoptose des cellules concernées. Le déficit énergétique engendré par la mutation 3243A>G va entraîner une baisse du rapport ATP/ADP par dysfonctionnement de la chaîne respiratoire. Cette diminution va avoir 3 conséquences :

1) baisse d'énergie produite par la cellule qui ne dépasse pas le seuil énergétique de base nécessaire à sa survie, entraînant sa mort : c'est l'apoptose.

2) diminution de la synthèse d'insuline liée à l'insuffisance énergétique de la cellule face au coût que représente sa synthèse.

2) baisse de l'insulinosécrétion qui dépend du rapport ATP/ADP entraînant la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants. En cas de baisse du ratio ATP/ADP, l'altération du signal membranaire va provoquer une diminution de l'insulinosécrétion (figure 9).

Ces mécanismes pourraient expliquer la diminution du nombre de cellules β , et donc la survenue d'un diabète, chez nos patients. Il a été évoqué par certains auteurs que la destruction des cellules β permette le relargage d'antigènes qui pourraient favoriser la survenue d'une auto-immunité pancréatique, entretenant une insulino-pénie. Cela n'a pas été confirmé.

En opposition à ce mécanisme insulino-pénique, Van den Ouweland a mis en évidence une insulino-pénie normale voir légèrement élevée chez plusieurs de ses patients MELAS, évoquant finalement un mécanisme d'insulino-résistance, via une enzyme, l'hexokinase. En effet, cette enzyme est ATP-dépendante et se situe au niveau d'une étape clé de la voie de la glycolyse (transformation du glucose en glucose-6-phosphate). Quatre isoformes de l'hexokinase ont été décrites : l'hexokinase 4 (ou glucokinase) se situe au niveau des cellules β , et l'isoforme 2 au sein du muscle. Ainsi, le déficit énergétique et la diminution de l'ATP entraîneraient un dysfonctionnement de la glucokinase, provoquant ainsi une altération de la transduction du signal du glucose conduisant à une insulino-résistance (2,19), à l'instar des diabètes MODY.

Concernant les complications liées au diabète, nous avons été frappés par la quasi inexistence des cas de rétinopathie diabétique. En effet, seul 1 patient diabétique sur les 33 explorés en présente une. Cette valeur rappelle celle de la littérature chez les patients de type MIDD (8%), bien inférieure à la prévalence de la rétinopathie diabétique chez les patients diabétiques de type 1 ou 2. La série

française (2) compte peu de rétinopathies diabétiques et beaucoup de rétinites pigmentaires, à l'inverse de la série japonaise (21) qui compte plus de rétinopathies diabétiques que de rétinites pigmentaires (voir annexe 4). Notre série ne semble pas confirmer ces 2 résultats, avec une prévalence relativement modérée de la rétinite pigmentaire et très faible de la rétinopathie diabétique. Différentes hypothèses sont avancées pour expliquer cette différence. Meas and al. (3,24) suggèrent que la rétinite pigmentaire pourrait jouer un rôle protecteur vis-à-vis de la rétinopathie diabétique compte-tenu de la diminution supposée de la phosphorylation oxydative. Ainsi, l'apport en O₂ est altéré au sein de ces rétines, limitant son potentiel prolifératif, et donc l'effet favorisant sur le développement d'une rétinopathie diabétique proliférante. Une autre hypothèse avancée est un meilleur contrôle du diabète chez les patients mutés 3243A>G et une faible prévalence de l'hypertension artérielle en général (3,24). Ces suppositions sont plutôt bien illustrées par notre cohorte de patients diabétiques, la pression artérielle systolique moyenne étant correcte à 120 mmHg et l'HbA1c moyenne à 7,5%. Concernant la rétinite pigmentaire, elle est significativement plus fréquente chez les patients diabétiques que chez les patients non diabétiques (39 versus 6%, $p=0,01$) alors que l'exploration a été égale entre les deux groupes (85% de notre population non diabétique et 88% de notre population diabétique).

Sur le plan rénal, les stigmates de néphropathie glomérulaire (micro albuminurie positive) chez les patients diabétiques ne sont pas statistiquement plus fréquents que chez les patients non diabétiques (41,38% versus 28,57, $p=0,41$). On note toutefois une tendance en faveur d'une élévation de la micro albuminurie plus fréquente chez les patients diabétiques. Les mêmes constatations peuvent être faites sur le DFG : s'il existe une tendance à un DFG plus souvent abaissé chez les patients diabétiques, la différence entre les deux groupes ne franchit pas le seuil de significativité. Cette absence de différence nette entre les deux groupes s'explique potentiellement par un manque de puissance lié à notre effectif restreint. On peut également émettre l'hypothèse plus probable que l'atteinte rénale, décrite dans les cytopathies mitochondriales (néphropathie glomérulaire, plus rarement tubulopathie interstitielle) et qui fait partie intégrante de l'évolution naturelle de la maladie (24), explique que le groupe non diabétique présente une prévalence comparable à celle des patients diabétiques. Toutefois, plusieurs études rapportent clairement le diabète comme étant un facteur aggravant de cette atteinte glomérulaire (2,3,21). Nos

patients diabétiques étaient bien équilibrés sur le plan tensionnel et glycémique, ce qui a peut-être contribué à la faible prévalence de l'atteinte rénale.

Seuls 7 diabétiques étaient insuffisants rénaux. 1 seul de nos patients diabétiques souffre d'insuffisance rénale terminale, contre 6,8% des patients rapportés dans la littérature (3). Ce patient avait bénéficié d'une biopsie rénale non concluante sur le plan histologique avec des lésions aspécifiques de hyalinose segmentaire et focale, comme cela est souvent rapporté.

Sur le plan neurologique, nos patients diabétiques ont tendance lors de l'évaluation par l'EMG à présenter plus d'anomalies de type neuropathique que les non diabétiques (13% *versus* 44%, $p=0,0404$). Le diabète agit possiblement comme un facteur aggravant de cette atteinte déjà fréquente chez les patients présentant un syndrome de MELAS (21). On note toutefois que dans la littérature aucune aggravation par le diabète de la neuropathie s'intégrant au syndrome de MELAS n'ait été rapportée (25).

L'atteinte cardiaque présente chez nos patients, un peu plus fréquemment d'ailleurs en cas de diabète (7 patients non diabétiques et 22 diabétiques), résulterait du réarrangement de la conduction cardiaque et du remodelage myocardique face à la carence énergétique de cet organe particulièrement consommateur d'énergie.

Il semblerait donc que les patients diabétiques présentent plus de manifestations liées à la mutation 3243A>G que les non diabétiques, surtout ophtalmologique et rénale, cardiologique et neurologique. Il conviendrait donc de dépister attentivement ces anomalies, et de manière répétée.

Atteintes endocriniennes

En dehors du diabète, nos patients présentent une atteinte hypophysaire dans près de 30% des cas. Certaines d'entre elles comme l'insuffisance somatotrope ou le diabète sont relativement classiques dans les cytopathies de type Kearns-Sayre. Elles sont en revanche peu décrites dans la littérature chez les patients présentant un syndrome de MELAS.

Le fonctionnement des glandes endocrines dépend étroitement de l'apport énergétique. Elles peuvent donc être victimes d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire, si le coût énergétique de la production hormonale n'est pas honoré.

De plus, face à des atteintes neurologiques parfois sévères, les atteintes endocriniennes passent au second plan et sont sans doute peu recherchées.

Pourtant, certaines manifestations décrites par nos patients pourraient rentrer dans le cadre d'endocrinopathies non diagnostiquées: asthénie (30%), petite taille ($1,61\text{m}\pm 0,10$), IMC bas ($21 \pm 4,31\text{kg}/\text{m}^2$), troubles du transit (56%), crampes.

Une insuffisance corticotrope était mise en évidence chez 8 patients. Parmi eux, 4 se plaignaient d'une asthénie. Les patients diabétiques présentaient significativement moins d'insuffisance corticotrope que les non diabétiques ($p=0,04$).

Dans la littérature, quelques cas d'insuffisance corticotrope s'intègrent dans le syndrome de Kearns-Sayre, beaucoup plus rarement dans celui du MELAS (27). Aucune explication physiopathologique claire n'est connue à ce jour.

Aucun de nos patients ne présentait d'atteinte primitivement surrénalienne. Celle-ci, bien que rare, a pourtant été décrite dans la littérature (67,68), et s'inscrit alors dans des tableaux métaboliques précoces et sévères, pouvant potentiellement expliquer son absence dans notre cohorte. Artuch et al. rapportent que sa présence est un facteur de mauvais pronostic au cours des cytopathies mitochondriales (69).

Au sein de notre cohorte, 6 patients présentent des taux de GH ne s'élevant pas suffisamment au test à l'arginine-GHRH. L'une d'entre eux avait bénéficié dans l'enfance d'un traitement par hormone de croissance et présente à l'âge adulte une taille de 1,49m, soit dans le dernier quartile. Les tailles des 5 autres patients étaient réparties de façon homogène au sein de notre cohorte. Notons toutefois que les résultats sont à interpréter avec prudence puisque la taille cible de nos patients n'est pas connue. Il est difficile de relier l'insuffisance somatotrope à la petite taille car les facteurs confondants potentiels sont multiples : troubles digestifs, insuffisance rénale, dénutrition. La physiopathologie du déficit somatotrope n'est pas encore élucidée. Matsuzaki and al. (26) ont fait l'hypothèse d'une origine plutôt hypothalamique. En effet, ils rapportent 2 cas d'enfants mutés 3243A>G chez qui ont été diagnostiqué un déficit en hormone de croissance. La présence de stimuli hypothalamique (hypoglycémie insulinaire, Levodopa, sommeil) n'a pas engendré de sécrétion de GH, contrairement au test à la GHRH qui générerait une réponse normale de la GH. Ces résultats étaient en faveur de l'intégrité du fonctionnement des cellules somatotropes, suggérant une dysfonction hypothalamique. D'autres auteurs évoquent une résistance à la GH devant des taux d'IGF-1 bas en regard d'une sécrétion normale de GH (27). L'efficacité d'un traitement substitutif par GH est très discuté : certains auteurs (Niaudet et al.) rapportent son efficacité sur l'accélération

des vitesses de croissance, marqueur d'une bonne sensibilité à la GH quand d'autres (Barberi and al.) ne rapportent aucune amélioration de la vitesse de croissance à long terme, suggérant une résistance à l'hormone.

Sur le plan gonadique, dans notre cohorte, il est possible que dans un cas une dénutrition ait favorisé un hypofonctionnement thalamique et un antécédent de cryptorchidie a vraisemblablement favorisé chez 1 patient l'hypogonadisme périphérique. Dans la littérature, certains cas d'azoospermie et cytopathie ont déjà été décrits de manière anecdotique et sans explication physiopathologique (70,71). De plus, une étude a été menée sur le sperme de patients azoospermes et de patients fertiles (72). Si des anomalies de l'ADN mt étaient présentes dans les 2 groupes, le groupe azoospermie présentait des anomalies plus importantes de l'ADN mt que le groupe fertile. Une autre étude (Sevin et al.) a étudié la mobilité des spermatozoïdes chez les patients atteints d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire, et une corrélation a été trouvée entre une délétion de l'ADN mt des spermatozoïdes et une diminution de leur mobilité. Ainsi, on peut émettre l'hypothèse qu'un déficit énergétique entraîne des troubles du spermogramme comme une asthénozoospermie, le spermatozoïde étant une cellule consommatrice en énergie produite par les mitochondries au sein de son flagelle.

4 patients présentent une insuffisance thyroïdienne, ce qui la place en 4^{ème} position parmi les atteintes endocriniennes décrites. L'atteinte thyroïdienne reste la plus facile à diagnostiquer par un simple dosage d'hormones thyroïdiennes, aucun test dynamique n'est nécessaire. Il n'existe à notre connaissance qu'un seul cas rapporté d'insuffisance thyroïdienne dans la littérature, par Balestri and al. La physiopathologie de cette atteinte n'est pas expliquée, hormis la potentielle insuffisance énergétique cellulaire.

2 patients présentent des taux de prolactine modérément élevés. Tous 2 sont des hommes, dont les traitements antidépresseurs dans 1 cas et antiépileptiques dans un autre sont pourvoyeurs d'une élévation de la prolactine et sans anomalies décelable au niveau de la loge hypophysaire sur l'IRM cérébrale réalisée pour l'un deux.

Sur le plan thyroïdien, 11 patients présentent des nodules, dont 8 avec un goitre associé (soit 26% de nos patients ayant eu une échographie thyroïdienne), ce qui correspond à la population générale, puisque les études autopsiques et

échographiques montrent que 30 à 60 % des adultes ont des nodules occultes, surtout après l'âge de 50 ans (Société Française d'Endocrinologie). Il est donc difficile d'imputer la survenue de la dystrophie thyroïdienne au syndrome de MELAS. De même, pour le Basedow comme pour la maladie d'Hashimoto, il est impossible de faire un lien raisonnable à ce stade avec la mutation 3243A>G. On notera par ailleurs que toutes les patientes atteintes de thyroïdopathies auto-immunes étaient des femmes, comme cela est classiquement décrit dans la population générale.

Quoi qu'il en soit, a été discuté dans la littérature le mécanisme par lequel l'atteinte de la chaîne respiratoire entrave la production des hormones thyroïdiennes, mais il reste imprécis, en gardant à l'esprit que la synthèse des hormones thyroïdiennes a également un coût énergétique. La thyropéroxydase est l'enzyme clé dans la synthèse des hormones thyroïdiennes car elle est responsable de l'oxydation des iodures, étape préalable indispensable à la fixation des atomes d'iode sur les résidus tyrosyls de la thyroglobuline, ainsi qu'au couplage oxydatif des iodothyrosines en iodothyronines. Le défaut d'oxydation des iodures entravant la production d'hormones thyroïdiennes et intervenant dans le métabolisme mitochondrial, leur déficit ne peut qu'aggraver le dysfonctionnement mitochondrial.

Aucun patient au sein de notre cohorte ne présentait d'hypoparathyroïdie, atteinte plutôt décrite dans la littérature chez les patients de type Kearns-Sayre (42,69), et liée à une délétion unique de l'ADN mt dans les tissus atteints. Une série autopsique a analysé les parathyroïdes de 2 patients : chez l'un on mettait en évidence l'absence d'une glande, chez l'autre une parathyroïde avait un aspect partiellement atrophié.

Atteintes neurologiques

Au sein de notre cohorte, l'atteinte neurologique est constante, mais de sévérité extrêmement variable. 30 patients présentent une atteinte neurologique centrale, 44 une atteinte neurologique périphérique.

12 patients ont présenté des épisodes déficitaires étiquetés AVC (10 patients) et AIT (2 patients). Ceux-ci rentrent possiblement dans la définition du « stroke-like ». En effet, les « stroke-like », peuvent prendre de multiples formes cliniques de la céphalée à l'hémiplégie, et résultent de plusieurs phénomènes concomitants. Tout d'abord, un déficit en phosphorylation oxydative serait responsable, au niveau cérébro-vasculaire, d'une altération de la vasodilatation cérébrale. Ceci entraîne des

lésions neuronales aggravées par le déficit énergétique neuronal lui-même. Certains auteurs émettent l'hypothèse que la dysfonction de la chaîne mitochondriale au niveau cérébral entraînerait une multiplication compensatrice des mitochondries, à l'instar des « red ragged fibres » au niveau musculaire. Les régions touchées présenteraient une atteinte des muscles lisses et des parois endothéliales, qui ne seraient plus capables de réguler la vasodilatation cérébrale. Il s'en suivrait une vasoconstriction et un œdème, responsables d'une souffrance du cerveau. De plus, le monoxyde d'azote, puissant vasodilatateur, a une affinité très importante pour le cytochrome c qui essaye d'accroître son activité pour pallier au dysfonctionnement de la chaîne respiratoire. L'augmentation de son activité entraînerait une fixation plus importante du monoxyde d'azote, qui ne serait alors plus disponible pour jouer son rôle de vasodilatateur au niveau cérébral. La conjonction de tous ces éléments favorisant la vasoconstriction cérébrale conduit au phénomène de stroke-like (36,62,73).

12 patients au sein de notre cohorte étaient épileptiques. L'hypothèse privilégiée est la souffrance neuronale induite par le déficit énergétique lié au dysfonctionnement de la chaîne respiratoire. Ce phénomène serait alors auto-entretenu puisque le phénomène épileptique induit une surcharge de travail considérable pour les neurones, déjà en manque d'énergie (74). De plus, lors de la crise survient une hyperlactatémie, qui, en se surajoutant aux lactates déjà présents à l'état de base chez les sujets MELAS, ne ferait qu'aggraver la situation métabolique de ces patients. Ceci pourrait expliquer les cas d'états de mal observés chez nos patients.

Notre étude a montré que certains marqueurs plasmatiques comme le pic de lactate plasmatique et surtout le degré d'hétéroplasmie notamment urinaire sont associés à une atteinte neurologique centrale. Celle-ci est d'ailleurs corrélée de manière forte au risque de survenue d'un AVC ou d'un AIT. La possibilité de mettre ces patients sous arginine dès la première alerte neurologique centrale clinique est discutée par nos confrères neurologues, surtout chez les patients à fort taux d'hétéroplasmie (36,62,75).

Ces données mettent en exergue la fréquence élevée des manifestations neurologiques, leur variété mais aussi leur potentielle gravité.

Génétique

Notre étude a montré que plus le degré d'hétéroplasmie leucocytaire est élevé, plus l'âge au premier symptôme est précoce, plus l'IMC est bas, plus le diabète survient jeune, plus il existe un risque d'épilepsie et de troubles cognitifs graves conformément aux données de la littérature (13). Il existe également une corrélation positive entre le degré d'hétéroplasmie urinaire et l'âge au premier symptôme, la survenue d'un AVC. Ainsi, on confirme que les valeurs d'hétéroplasmie leucocytaire et urinaire dans une moindre mesure, sont un marqueur de la sévérité de l'atteinte de la mutation 3243A>G. Les données de la littérature sont plutôt en faveur de l'hétéroplasmie urinaire pour prédire la sévérité de la maladie (10) dans les petits effectifs, leucocytaire dans les plus grands effectifs.

Les hétéroplasmies leucocytaires et urinaires sont bien corrélées dans notre étude et leurs liens statistiques parfois un peu différent d'une atteinte d'organe à l'autre pourrait peut-être s'expliquer par un manque de puissance, le nombre de données disponibles étant plus important pour l'hétéroplasmie leucocytaire (42) que pour celle urinaire (35).

Traitement et suivi

L'HbA1c moyenne était de 7,5%. La balance-bénéfice risque est en faveur d'un équilibre optimal du diabète chez ces patients jeunes, mais à risque d'AVC, d'épilepsie et de trouble du rythme cardiaque. Le traitement et ses objectifs seront donc à adapter au cas par cas. En ce qui concerne les cas d'insuffisance corticotrope, ceux-ci n'ont pas été confirmés par un test d'hypoglycémie insulinique au vu du risque d'épilepsie ou d'accidents vasculaires chez ces patients. Un test à la metopirone pourrait être discuté chez certains d'entre eux. En attendant, 3 patientes ont été traitées par 10mg d'hydrocortisone/j compte tenu d'un certain degré d'asthénie. L'une d'elle dit se sentir mieux, l'entourage de la deuxième, qui présente une atteinte cognitive et une épilepsie réfractaire, la décrit comme moins fatigable et enfin la troisième ne présente pas d'amélioration de l'état général sous hydrocortisone. La question du traitement par hormone de croissance peut également être discuté en cas de déficit hypophysaire combiné à l'âge adulte chez ces patients qui se plaignent d'asthénie et de troubles cognitifs.

Critique de l'étude

A notre connaissance, il n'existe pas d'étude portant sur un tel effectif et concernant les atteintes endocriniennes des patients porteurs de la mutation 3243A>G. Les tests endocriniens ont été réalisés par une équipe spécialisée, limitant ainsi d'éventuels problèmes de reproductibilité et les dosages hormonaux ont été effectués au sein d'un même laboratoire.

Les principales limites de l'étude sont liées au caractère rétrospectif, et au nombre de données manquantes qu'il implique, variable selon les paramètres étudiés. De plus, notre analyse des aspects neurologiques n'est pas spécialisée. Les clichés d'imagerie n'ont pas bénéficié d'une seconde lecture. Toutes les IRM (à 3 exceptions près) ont néanmoins été réalisées dans le même centre. Ce travail pourrait être le point de départ d'une collaboration multidisciplinaire et dans une démarche prospective.

CONCLUSION

Nous avons recensé les données de 55 patients présentant un syndrome de MELAS. Notre étude semble montrer que les atteintes endocriniennes, rarement recherchées, ne sont pas si rares que cela et s'intégreraient dans le cadre de syndromes de MELAS plus sévères.

Cette sévérité pourrait être directement liée à l'hétéroplasmie leucocytaire et, dans une moindre mesure, urinaire. L'évaluation des taux d'hétéroplasmie, au delà de la confirmation diagnostique génétique de la maladie, permettrait de définir une surveillance adaptée à la potentielle sévérité du syndrome. Les patients avec une hétéroplasmie élevée devraient bénéficier d'une évaluation neurologique, endocrinienne, glycémique, et métabolique plus rapprochée et précoce.

Enfin, les patients diabétiques semblent montrer plus de manifestations de la maladie sur le plan ophtalmologique, ORL, rénal, neurologique et cardiologique et à ce titre devraient bénéficier d'un suivi accru par rapport aux patients non diabétiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Thorburn DR, Sugiana C, Salemi R, Kirby DM, Worgan L, Ohtake A, et al. Biochemical and molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders. *Biochim Biophys Acta*. 2004 Dec 6;1659(2-3):121–8.
2. Guillausseau P-J, Laloi-Michelin M, Virally M, Massin P, Bellanne-Chantelot C, Timsit J. Diabètes mitochondriaux. *EMC - Endocrinol*. 2005 Sep;2(3):171–8.
3. Meas T, Laloi-Michelin M, Virally M, Ambonville C, Kevorkian J-P, Guillausseau P-J. [Mitochondrial diabetes: clinical features, diagnosis and management]. *Rev Médecine Interne Fondée Par Société Natl Francaise Médecine Interne*. 2010 Mar;31(3):216–21.
4. McInnes J. Mitochondrial-associated metabolic disorders: foundations, pathologies and recent progress. *Nutr Metab*. 2013;10(1):63.
5. Scheffler IE. Mitochondrial disease associated with complex I (NADH-CoQ oxidoreductase) deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2015 May;38(3):405–15.
6. Efremov RG, Baradaran R, Sazanov LA. The architecture of respiratory complex I. *Nature*. 2010 May 27;465(7297):441–5.
7. Lamperti C, Diodato D, Lamantea E, Carrara F, Ghezzi D, Mereghetti P, et al. MELAS-like encephalomyopathy caused by a new pathogenic mutation in the mitochondrial DNA encoded cytochrome c oxidase subunit I. *Neuromuscul Disord NMD*. 2012 Nov;22(11):990–4.
8. Jonckheere AI, Smeitink JAM, Rodenburg RJT. Mitochondrial ATP synthase: architecture, function and pathology. *J Inherit Metab Dis*. 2012 Mar;35(2):211–25.
9. Rodenburg RJT. Biochemical diagnosis of mitochondrial disorders. *J Inherit Metab Dis*. 2011 Apr;34(2):283–92.
10. De Laat P, Koene S, van den Heuvel LPWJ, Rodenburg RJT, Janssen MCH, Smeitink JAM. Clinical features and heteroplasmy in blood, urine and saliva in 34 Dutch families carrying the m.3243A > G mutation. *J Inherit Metab Dis*. 2012 Nov;35(6):1059–69.
11. Ma Y, Fang F, Yang Y, Zou L, Zhang Y, Wang S, et al. The study of mitochondrial A3243G mutation in different samples. *Mitochondrion*. 2009 Apr;9(2):139–43.
12. Fukao. Comparison of mitochondrial A3243G mutation loads in easily accessible samples from a family with maternally inherited diabetes and deafness. *Mol Med Rep [Internet]*. 2008 [cited 2016 Apr 16]; Available from: http://www.spandidos-publications.com/mmr/article.jsp?article_id=mmr_2_1_69
13. Laloi-Michelin M, Meas T, Ambonville C, Bellanné-Chantelot C, Beaufile S, Massin P, et al. The Clinical Variability of Maternally Inherited Diabetes and Deafness Is Associated with the Degree of Heteroplasmy in Blood Leukocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Aug;94(8):3025–30.
14. Mayr JA, Haack TB, Freisinger P, Karall D, Makowski C, Koch J, et al. Spectrum of combined respiratory chain defects. *J Inherit Metab Dis*. 2015 Jul;38(4):629–40.
15. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MHL, Coulson AR, Drouin J, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 1981 Apr 9;290(5806):457–65.
16. Pavlakis SG, Phillips PC, DiMauro S, De Vivo DC, Rowland LP. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes: a distinctive clinical syndrome. *Ann Neurol*. 1984 Oct;16(4):481–8.

17. Goto Y, Nonaka I, Horai S. A mutation in the tRNA(Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature*. 1990 Dec 13;348(6302):651–3.
18. Kobayashi Y, Momoi MY, Tominaga K, Momoi T, Nihei K, Yanagisawa M, et al. A point mutation in the mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes). *Biochem Biophys Res Commun*. 1990 Dec 31;173(3):816–22.
19. Maassen JA, Janssen GMC, Hart LM. Molecular mechanisms of mitochondrial diabetes (MIDD). *Ann Med*. 2005 May;37(3):213–21.
20. Maassen JA, Hart LM, Van Essen E, Heine RJ, Nijpels G, Jahangir Tafrechi RS, et al. Mitochondrial diabetes: molecular mechanisms and clinical presentation. *Diabetes*. 2004 Feb;53 Suppl 1:S103–109.
21. Suzuki S, Oka Y, Kadowaki T, Kanatsuka A, Kuzuya T, Kobayashi M, et al. Clinical features of diabetes mellitus with the mitochondrial DNA 3243 (A-G) mutation in Japanese: maternal inheritance and mitochondria-related complications. *Diabetes Res Clin Pract*. 2003 Mar;59(3):207–17.
22. Guillausseau PJ, Dubois-Laforgue D, Massin P, Laloi-Michelin M, Bellanné-Chantelot C, Gin H, et al. Heterogeneity of diabetes phenotype in patients with 3243 bp mutation of mitochondrial DNA (Maternally Inherited Diabetes and Deafness or MIDD). *Diabetes Metab*. 2004 Apr;30(2):181–6.
23. Massin P, Virally-Monod M, Vialettes B, Paques M, Gin H, Porokhov B, et al. Prevalence of macular pattern dystrophy in maternally inherited diabetes and deafness. *Ophthalmology*. 1999 Sep;106(9):1821–7.
24. Massin P, Dubois-Laforgue D, Meas T, Laloi-Michelin M, Gin H, Bauduceau B, et al. Retinal and renal complications in patients with a mutation of mitochondrial DNA at position 3,243 (maternally inherited diabetes and deafness). A case–control study. *Diabetologia*. 2008 Sep;51(9):1664–70.
25. Luigetti M, Sauchelli D, Primiano G, Cuccagna C, Bernardo D, Lo Monaco M, et al. Peripheral neuropathy is a common manifestation of mitochondrial diseases: a single-centre experience. *Eur J Neurol*. 2016 Jan;n/a–n/a.
26. Matsuzaki M, Izumi T, Shishikura K, Suzuki H, Hirayama Y. Hypothalamic growth hormone deficiency and supplementary GH therapy in two patients with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes. *Neuropediatrics*. 2002 Oct;33(5):271–3.
27. Ohkoshi N, Ishii A, Shiraiwa N, Shoji S, Yoshizawa K. Dysfunction of the hypothalamic-pituitary system in mitochondrial encephalomyopathies. *J Med*. 1998;29(1-2):13–29.
28. Robeck S, Stefan H, Engelhardt A, Neundörfer B. [Follow-up studies and disorders of endocrinologic function in MELAS syndrome]. *Nervenarzt*. 1996 Jun;67(6):465–70.
29. Shigemoto M, Yoshimasa Y, Yamamoto Y, Hayashi T, Suga J, Inoue G, et al. Clinical manifestations due to a point mutation of the mitochondrial tRNA^{Leu}(UUR) gene in five families with diabetes mellitus. *Intern Med Tokyo Jpn*. 1998 Mar;37(3):265–72.
30. Manouvrier S, Rötig A, Hannebique G, Gheerbrandt JD, Royer-Legrain G, Munnich A, et al. Point mutation of the mitochondrial tRNA(Leu) gene (A 3243 G) in maternally inherited hypertrophic cardiomyopathy, diabetes mellitus, renal failure, and sensorineural deafness. *J Med Genet*. 1995 Aug;32(8):654–6.
31. Katagiri H, Asano T, Ishihara H, Inukai K, Anai M, Yamanouchi T, et al. Mitochondrial diabetes mellitus: prevalence and clinical characterization of diabetes due to mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene mutation in Japanese patients. *Diabetologia*. 1994 May;37(5):504–10.
32. Tan TMM, Caputo C, Medici F, Pambakian AL, Dornhorst A, Meeran K, et al. MELAS syndrome, diabetes and thyroid disease: the role of mitochondrial oxidative stress. *Clin*

Endocrinol (Oxf). 2009 Feb;70(2):340–1.

33. Chan DWS, Lim CCT, Tay SKH, Choong C-T, Phuah HK. Elevated thyroid peroxidase antibodies with encephalopathy in MELAS syndrome. *Pediatr Neurol*. 2007 Jun;36(6):414–7.
34. Yang CY, Lam HC, Lee HC, Wei YH, Lu CC, Han TM, et al. MELAS syndrome associated with diabetes mellitus and hyperthyroidism: a case report from Taiwan. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995 Aug;43(2):235–9.
35. Hsu Y-HR, Yogasundaram H, Parajuli N, Valtuille L, Sergi C, Oudit GY. MELAS syndrome and cardiomyopathy: linking mitochondrial function to heart failure pathogenesis. *Heart Fail Rev*. 2016 Jan;21(1):103–16.
36. Koenig MK, Emrick L, Karaa A, Korson M, Scaglia F, Parikh S, et al. Recommendations for the Management of Strokelike Episodes in Patients With Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, and Strokelike Episodes. *JAMA Neurol*. 2016 May 1;73(5):591.
37. McFarland R, Taylor RW, Turnbull DM. The neurology of mitochondrial DNA disease. *Lancet Neurol*. 2002 Oct;1(6):343–51.
38. Guillausseau PJ, Massin P, Dubois-LaFargue D, Timsit J, Virally M, Gin H, et al. Maternally inherited diabetes and deafness: a multicenter study. *Ann Intern Med*. 2001 May 1;134(9 Pt 1):721–8.
39. Daruich A, Matet A, Borruat F-X. Macular dystrophy associated with the mitochondrial DNA A3243G mutation: pericentral pigment deposits or atrophy? Report of two cases and review of the literature. *BMC Ophthalmol*. 2014;14(1):77.
40. Narbonne H, Paquis-Fluckinger V, Valero R, Heyries L, Pellissier JF, Vialettes B. Gastrointestinal tract symptoms in Maternally Inherited Diabetes and Deafness (MIDD). *Diabetes Metab*. 2004 Feb;30(1):61–6.
41. Onishi H, Hanihara T, Sugiyama N, Kawanishi C, Iseki E, Maruyama Y, et al. Pancreatic exocrine dysfunction associated with mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) mutation. *J Med Genet*. 1998 Mar;35(3):255–7.
42. Wittich C, Khambatta S, Nguyen D, Beckman T. Kearns–Sayre syndrome: a case series of 35 adults and children. *Int J Gen Med*. 2014 Jul;325.
43. Wilson B, Claësson I, Forsell C, Tulinius M, Hagberg B. A case of Kearns-Sayre syndrome with metaphyseal dysplasia. *Pediatr Radiol*. 1993;23(2):106–7.
44. Laloi-Michelin M, Virally M, Jardel C, Meas T, Ingster-Moati I, Lombès A, et al. Kearns Sayre syndrome: an unusual form of mitochondrial diabetes. *Diabetes Metab*. 2006 Apr;32(2):182–6.
45. Urano F. Wolfram Syndrome: Diagnosis, Management, and Treatment. *Curr Diab Rep* [Internet]. 2016 Jan [cited 2016 May 16];16(1). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11892-015-0702-6>
46. Kinsley BT, Swift M, Dumont RH, Swift RG. Morbidity and Mortality in the Wolfram Syndrome. *Diabetes Care*. 1995 Dec 1;18(12):1566–70.
47. Schiff M, Rustin P. Idebenone in Friedreich ataxia and Leber’s hereditary optic neuropathy: close mechanisms, similar therapy?: Table 1. *Brain*. 2016 Apr 19;aww085.
48. Shinnick JE, Schadt K, Strawser C, Wilcox N, Perlman SL, Wilmot GR, et al. Comorbid Medical Conditions in Friedreich Ataxia: Association With Inflammatory Bowel Disease and Growth Hormone Deficiency. *J Child Neurol* [Internet]. 2016 Apr 12 [cited 2016 May 16]; Available from: <http://jcn.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/0883073816643408>
49. Luoma P, Melberg A, Rinne JO, Kaukonen JA, Nupponen NN, Chalmers RM, et al. Parkinsonism, premature menopause, and mitochondrial DNA polymerase gamma mutations: clinical and molecular genetic study. *Lancet Lond Engl*. 2004 Sep 4;364(9437):875–82.
50. Bose HS, Lingappa VR, Miller WL. Rapid regulation of steroidogenesis by mitochondrial protein import. *Nature*. 2002 May 2;417(6884):87–91.
51. Suzuki S, Hinokio Y, Ohtomo M, Hirai M, Hirai A, Chiba M, et al. The effects of

- coenzyme Q10 treatment on maternally inherited diabetes mellitus and deafness, and mitochondrial DNA 3243 (A to G) mutation. *Diabetologia*. 1998 May;41(5):584–8.
52. Silvestre-Aillaud P, BenDahan D, Paquis-Fluckinger V, Pouget J, Pelissier JF, Desnuelle C, et al. Could coenzyme Q10 and L-carnitine be a treatment for diabetes secondary to 3243 mutation of mtDNA? *Diabetologia*. 1995 Dec;38(12):1485–6.
53. Glover EI, Martin J, Maher A, Thornhill RE, Moran GR, Tarnopolsky MA. A randomized trial of coenzyme Q10 in mitochondrial disorders. *Muscle Nerve*. 2010 Nov;42(5):739–48.
54. Mowat D, Kirby DM, Kamath KR, Kan A, Thorburn DR, Christodoulou J. Respiratory chain complex III [correction of complex] in deficiency with pruritus: a novel vitamin responsive clinical feature. *J Pediatr*. 1999 Mar;134(3):352–4.
55. Lou HC. Correction of increased plasma pyruvate and plasma lactate levels using large doses of thiamine in patients with Kearns-Sayre syndrome. *Arch Neurol*. 1981 Jul;38(7):469.
56. Mathews PM, Andermann F, Silver K, Karpati G, Arnold DL. Proton MR spectroscopic characterization of differences in regional brain metabolic abnormalities in mitochondrial encephalomyopathies. *Neurology*. 1993 Dec;43(12):2484–90.
57. Penn AM, Lee JW, Thuillier P, Wagner M, Maclure KM, Menard MR, et al. MELAS syndrome with mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) mutation: correlation of clinical state, nerve conduction, and muscle 31P magnetic resonance spectroscopy during treatment with nicotinamide and riboflavin. *Neurology*. 1992 Nov;42(11):2147–52.
58. Bernsen PL, Gabreëls FJ, Ruitenbeek W, Hamburger HL. Treatment of complex I deficiency with riboflavin. *J Neurol Sci*. 1993 Sep;118(2):181–7.
59. Tegoni M, White SA, Roussel A, Mathews FS, Cambillau C. A hypothetical complex between crystalline flavocytochrome b2 and cytochrome c. *Proteins*. 1993 Aug;16(4):408–22.
60. Ahola-Erkkilä S, Carroll CJ, Peltola-Mjösund K, Tulkki V, Mattila I, Seppänen-Laakso T, et al. Ketogenic diet slows down mitochondrial myopathy progression in mice. *Hum Mol Genet*. 2010 May 15;19(10):1974–84.
61. Panetta J, Smith LJ, Boneh A. Effect of high-dose vitamins, coenzyme Q and high-fat diet in paediatric patients with mitochondrial diseases. *J Inherit Metab Dis*. 2004;27(4):487–98.
62. Koga Y, Akita Y, Nishioka J, Yatsuga S, Povalko N, Tanabe Y, et al. L-arginine improves the symptoms of strokelike episodes in MELAS. *Neurology*. 2005 Feb 22;64(4):710–2.
63. Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, et al. Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2015 Sep;17(9):689–701.
64. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004 Jun;27(6):1487–95.
65. Suzuki S, Hinokio Y, Hirai S, Onoda M, Matsumoto M, Ohtomo M, et al. Pancreatic beta-cell secretory defect associated with mitochondrial point mutation of the tRNA(LEU(UUR)) gene: a study in seven families with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS). *Diabetologia*. 1994 Aug;37(8):818–25.
66. Oka Y, Katagiri H, Yazaki Y, Murase T, Kobayashi T. Mitochondrial gene mutation in islet-cell-antibody-positive patients who were initially non-insulin-dependent diabetics. *Lancet Lond Engl*. 1993 Aug 28;342(8870):527–8.
67. North K, Korson MS, Krawiecki N, Shoffner JM, Holm IA. Oxidative phosphorylation defect associated with primary adrenal insufficiency. *J Pediatr*. 1996 May;128(5 Pt 1):688–92.
68. Afroze B, Amjad N, Ibrahim SH, Humayun KN, Yakob Y. Adrenal insufficiency in a child with MELAS syndrome. *Brain Dev*. 2014 Nov;36(10):924–7.
69. Artuch R, Pavia C, Playán A, Vilaseca MA, Colomer J, Valls C, et al. Multiple endocrine involvement in two pediatric patients with Kearns-Sayre syndrome. *Horm Res*.

1998;50(2):99–104.

70. Chen CM, Huang CC. Gonadal dysfunction in mitochondrial encephalomyopathies. *Eur Neurol*. 1995;35(5):281–6.

71. Doriguzzi C, Palmucci L, Mongini T, Bresolin N, Bet L, Comi G, et al. Endocrine involvement in mitochondrial encephalomyopathy with partial cytochrome c oxidase deficiency. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1989 Jan;52(1):122–5.

72. O’Connell M, McClure N, Lewis SEM. A comparison of mitochondrial and nuclear DNA status in testicular sperm from fertile men and those with obstructive azoospermia. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2002 Jun;17(6):1571–7.

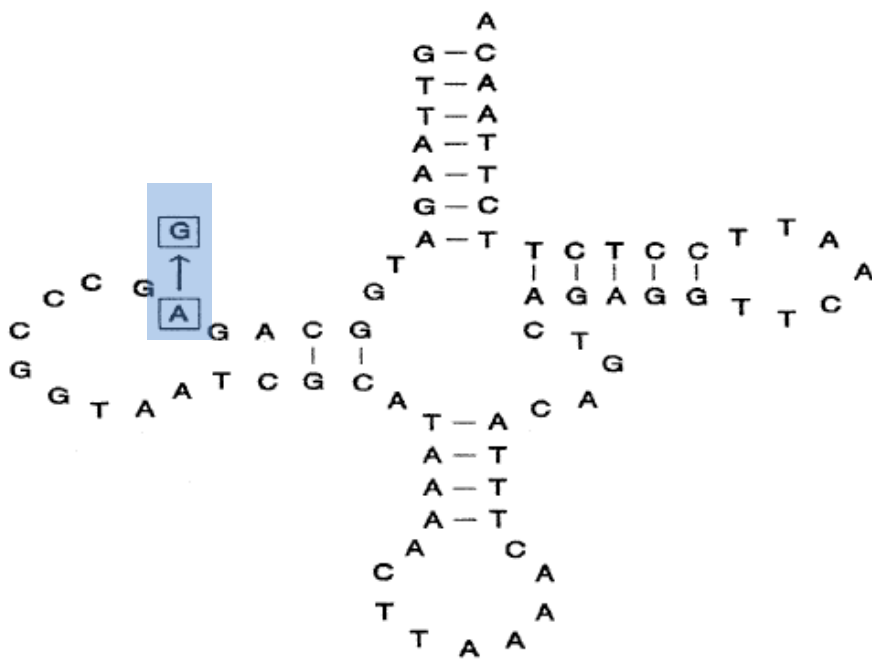
73. Goodfellow JA, Dani K, Stewart W, Santosh C, McLean J, Mulhern S, et al. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes: an important cause of stroke in young people. *Postgrad Med J*. 2012 Jun 1;88(1040):326–34.

74. Bindoff LA, Engelsens BA. Mitochondrial diseases and epilepsy: Mitochondrial Diseases and Epilepsy. *Epilepsia*. 2012 Sep;53:92–7.


75. Pfeffer G, Majamaa K, Turnbull DM, Thorburn D, Chinnery PF. Treatment for mitochondrial disorders. In: The Cochrane Collaboration, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2012 [cited 2016 Jun 14]. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD004426.pub3>

ANNEXES

Annexe 1 : Position de la mutation 3243A>G au sein du gène codant pour l'ARN de transfert de la leucine



Annexe 2 : Protocole Test au synacthène « low dose »

 <p>Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille</p> <p><u>Endocrinologie</u> <u>Diabétologie</u> <u>Métabolisme</u></p>	<p>PROCÉDURE</p> <p>TEST AU SYNACTHÈNE « LOW DOSE »</p>	<p>PR/END- HYP/02-005</p> <p>Février 2010 Version 1</p> <p>Page 1 sur 1 VALIDATION Dr Cortet</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

BUT

Recherche d'un déficit corticotrope

PRINCIPE

Le synacthène correspond à la fraction 1-24 de l'ACTH qui stimule la cortico-surrénale. Une stimulation satisfaisante du cortisol par de faibles doses d'ACTH signe la bonne trophicité de la glande surrénale ce qui est le reflet indirect d'une sécrétion normale d'ACTH.

MODE OPERATOIRE

- ⇒ T-60 minutes : pose d'une IV et prélèvement pour dosage de cortisol
- ⇒ Mélanger une ampoule de synacthène Immédiat 250 µg dans une poche de serum salé isotonique 500ml
- ⇒ Bien agiter
- ⇒ Prélever 2 ml soit 1 µg
- ⇒ La poche doit être utilisée dans la journée (à conserver au réfrigérateur)
- ⇒ T-5 minutes : prélèvement pour dosage de cortisol
- ⇒ T0 : injecter 1 µg de synacthène en IV
- ⇒ T + 27 minutes : prélèvement pour dosage de cortisol
- ⇒ T + 35 minutes : prélèvement pour dosage de cortisol
- ⇒ T + 40 minutes : prélèvement pour dosage de cortisol

EFFETS INDÉSIRABLES

- ⇒ Rares cas de réactions allergiques
- ⇒ Bronchospasme



CONTRE-INDICATIONS

- ⇒ Asthme, bronchospasme
- ⇒ Grossesse
- ⇒ Allaitement

INTERPRÉTATION

- ⇒ Le pic de cortisol doit être supérieur à 20 µg/dl

Annexe 3 : Protocole test à l'arginine-GHRH

 <p>Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille</p> <p><u>Endocrinologie</u> <u>Diabétologie</u> <u>Métabolisme</u></p>	PROCÉDURE		PR/END- HYP/03-001
	TEST COUPLE ARGININE-GHRH		Février 2010 Version 1
			Page 1 sur 1 VALIDATION Dr Cortet

BUT

Recherche d'un déficit somatotrope

PRINCIPE

Le GHRH est un peptide hypothalamique qui stimule la production hypophysaire de GH.

L'Arginine est un acide aminé qui inhibe le tonus somatostatinergique.

MODE OPERATOIRE

- ⇒ Patient à jeun
- ⇒ Mise en place de 2 voies d'abord
- ⇒ Temps T -15 et T 0 : Prélèvements pour GH
- ⇒ T 0 : Injection IVD d'un bolus de 1 µg/kg de GHRH (stimu-GH)
 - Puis perfusion en 30 minutes d'arginine (0,5 g/kg de poids sans dépasser 30 g) (Solution d'Arginine pour perfusion, flacon de 500 ml, L Arginine base 24,94 g/500 ml, UFCH LIBOURNE)
- ⇒ Prélèvements pour dosages de GH aux temps
 - T15, T30, T45, T60, T90, T120

EFFETS INDESIRABLES

- ⇒ Nausées, flushs
- ⇒ Plus rarement, légers troubles de l'odorat et du goût

CONTRE-INDICATIONS

- ⇒ Insuffisance hépatique sévère
- ⇒ Insuffisance rénale sévère
- ⇒ Grossesse

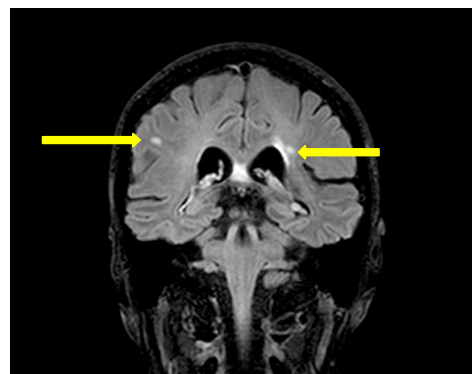
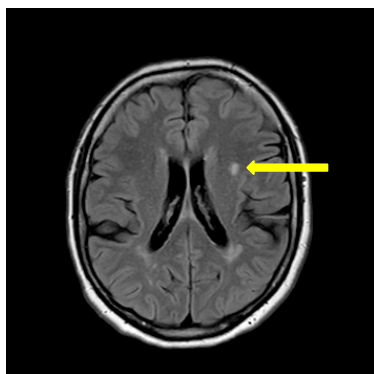
INTERPRETATION

- ⇒ Un pic de GH < 9 µg/L (27 mU/L) est en faveur d'un déficit sévère en hormone de croissance.

Annexe 4 : caractéristiques cliniques des patients présentant un MIDD sans une série japonaise et européenne

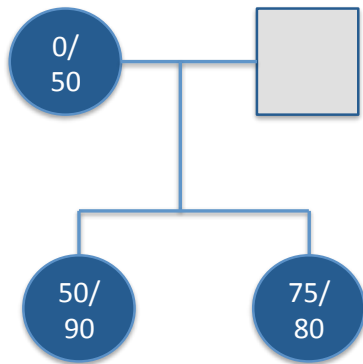
	Suzuki (2003) (21) N=113	Guillausseau (2004) (22) N =77
Neuropathie périphérique (%)	50	
Neuropathie autonome	26,8	
Neuropathie vésicale	8,9	
Hypotension orthostatique	5,4	
Désordre érectile	3,6	
Diarrhée végétative	3,6	
Rétinopathie diabétique (%)	55,4	8
Proliférative	11,6	3,7
Pré-proliférative	8,9	
Simple	34,8	1,8
Pas de rétinopathie	44,6	92
Néphropathie (%)	50	28
Insuffisance rénale terminale	4,5	3,7
Macro albuminurie	16,1	5,5
Micro albuminurie	29,5	18
Normo albuminurie	50	






Annexe 5 : Images IRM de nos patients



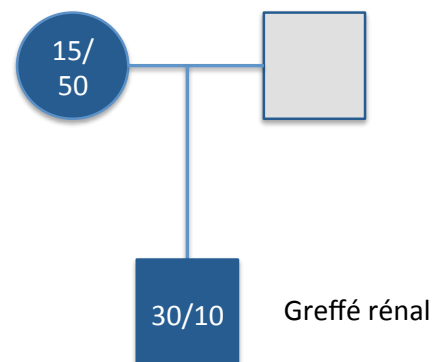
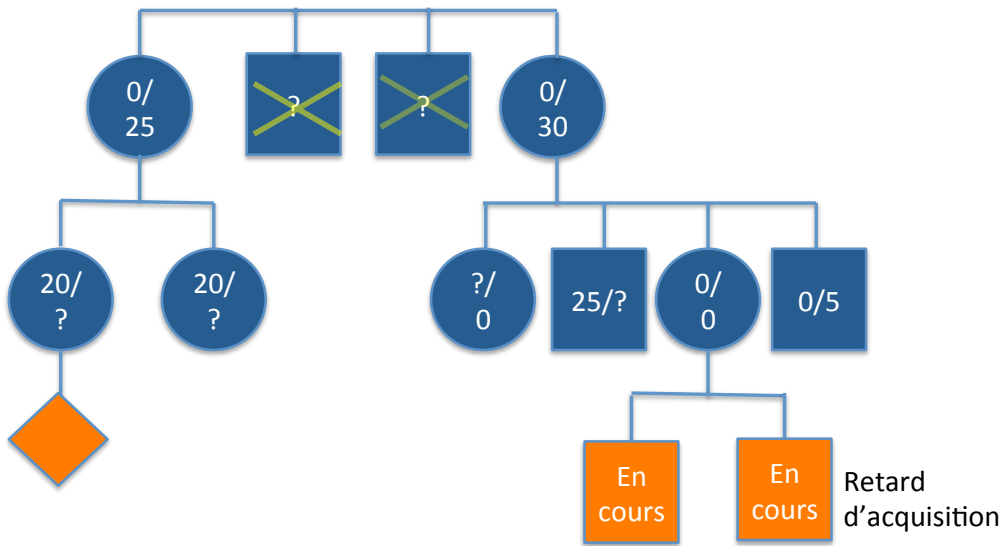
Annexe 5 : arbres généalogiques

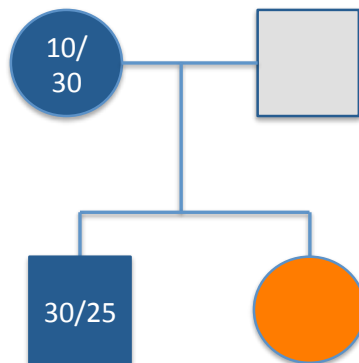
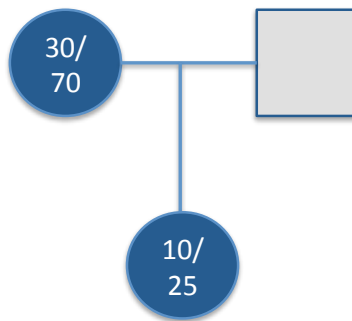
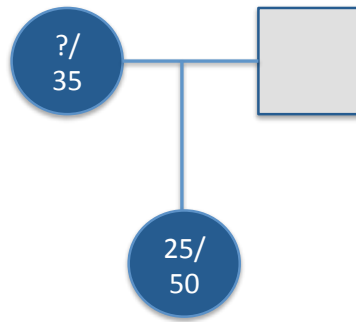
LEGENDE

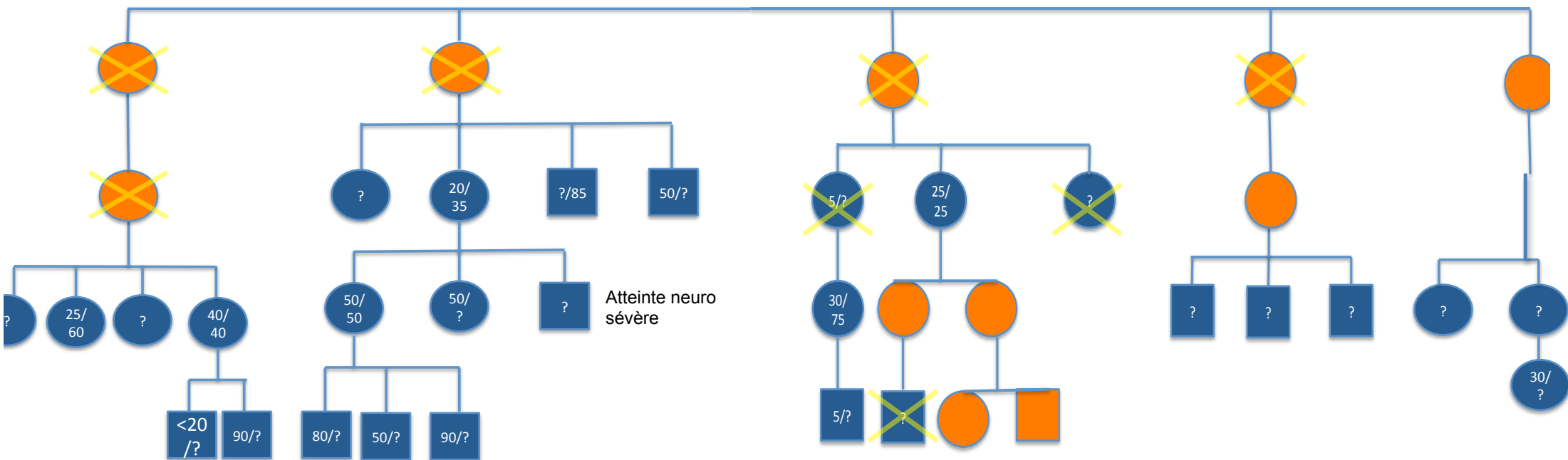


-  Femme
-  Homme
-  Statut inconnu
-  muté
-  Non muté

? : hétéroplasmie inconnue
 Hétéroplasmie leucocytaire/urinaire







AUTEUR : LOYER Camille

Date de Soutenance : 28 juin 2016

Titre de la Thèse : Syndrome de MELAS : étude descriptive et rétrospective d'une cohorte de 55 patients hospitalisés dans un service d'endocrinologie, diabétologie et métabolisme

Thèse - Médecine - Lille 2016

Cadre de classement : médecine

DES + spécialité : Endocrinologie, diabétologie, maladies métaboliques

Mots-clés : MELAS, m3243A>G, insuffisance corticotrope, diabète mitochondrial, hétéroplasmie

Résumé :

Contexte : Le syndrome de MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes) se caractérise par des atteintes diverses (neurologiques, cardiaques, diabète, rétinite pigmentaire, hypoacousie bilatérale), causé par la mutation 3243A>G de l'ADN mitochondrial. L'objectif de notre étude était de réaliser une analyse descriptive des patients présentant un syndrome de MELAS hospitalisés dans un service d'endocrinologie, diabétologie et métabolisme.

Méthode : Nous avons recueilli rétrospectivement les données de 55 patients hospitalisés dans le service d'endocrinologie-diabétologie du CHRU de Lille présentant un syndrome de MELAS génétiquement identifié.

Résultats : Nos patients présentaient une souffrance métabolique modérée (élévation post-prandiale des lactates, élévation du rapport lactate/pyruvate). Tous nos patients présentaient une atteinte neurologique, 35 (63%) un diabète et 18 (37%) une atteinte hypophysaire. La survenue d'un AVC et l'âge précoce de découverte du diabète étaient associés à une hétéroplasmie leucocytaire ($p=0,0004$ et $0,0009$) et urinaire ($p=0,0029$ et $0,0175$) plus élevées. Les patients diabétiques avaient plus de rétinite pigmentaire ($p=0,01$) et d'anomalies EMG ($p=0,04$), un rapport lactate/pyruvate ($p=0,04$) plus élevé que les non diabétiques.

Conclusion : Dans le syndrome de MELAS, les atteintes endocriniennes ne sont pas exceptionnelles et s'intègrent dans des formes plus sévères. Cette sévérité pourrait être liée à l'hétéroplasmie leucocytaire, voire urinaire. Les patients avec une hétéroplasmie élevée devraient bénéficier d'une évaluation neurologique, endocrinienne, glycémique, et métabolique plus rapprochée. Les patients diabétiques semblent montrer plus de manifestations de la maladie sur le plan ophtalmologique, ORL, rénal, neurologique et cardiologique et devraient bénéficier d'un suivi accru par rapport aux patients non diabétiques.

Composition du Jury :

Président : Madame le Pr Marie-Christine VANTYGHM

Assesseurs : Monsieur le Pr Patrick VERMERSCH

Madame le Pr Anne VAMBERGUE

Madame le Dr Claire-Marie DHAENENS

Madame le Dr Claire DOUILLARD