



UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2016

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

Insuffisance hépatocellulaire du nouveau-né, du nourrisson et de l'enfant de 2005 à 2015 au Centre hospitalier Régional et Universitaire de Lille : évaluation de facteurs prédictifs et apport du séquençage haut débit nouvelle génération pour les causes métaboliques

Présentée et soutenue publiquement le 5 Octobre 2016 à 16 heures

Au Pôle Formation

Par Sophie DOUTRELLOT

JURY

Président :

Monsieur le Professeur GOTTRAND

Assesseurs :

Monsieur le Professeur LETEURTRE

Monsieur le Professeur TRUFFERT

Madame le Docteur DHAENENS

Directeur de Thèse :

Madame le Docteur MENTION

Avertissement

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

Liste des abréviations

CHRU	Centre Hospitalier Régional et Universitaire
IHC	Insuffisance hépato cellulaire.
EH	Encéphalopathie hépatique
HTIC	Hypertension intra crânienne
FV	Facteur V
TP	Taux de Prothrombine
γ GT	Gamma glutamyltransférase
CAAS	Chromatographie des Acides Aminés sanguins
CAAU	Chromatographie des Acides aminés urinaires
CAOU	Chromatographie des acides organiques urinaires
NGS	Séquençage nouvelle génération
PALF	Pediatric Acute Liver Failure
CPK	Créatine Phosphokinase
CDG syndrome	Congenital Disorders of Glycosylation
Tyr	Tyrosinémie
Gal	Galactosémie
CM	Cytopathie mitochondriale
L-CHAD	3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne longue
S-CAD	Acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne courte
OCT	Ornithine Carbamyl Transférase

Table des matières

Résumé	1
Introduction	3
I. Insuffisance hépatocellulaire.....	3
A. Définition	3
B. Diagnostic	5
1. Clinique de l'IHC.....	5
2. Particularités pédiatriques.....	7
3. Paraclinique	8
II. Maladies métaboliques à expression hépatique	11
A. Mode de présentation.....	11
B. Causes	11
Matériels et méthodes	14
I. Sélection des patients.....	14
A. Inclusion	14
B. Les critères d'exclusion	14
II. Données recueillies	15
A. Interrogatoire	15
B. Données cliniques	15
C. Données paracliniques.....	16
III. Etude spécifique : séquençage haut débit	19
IV. Analyse statistique.....	22
Résultats	23
I. Population d'étude	23
A. Nouveau-nés.....	27
B. Population des enfants de plus d'un mois	29
II. Caractéristiques générales des patients	31
III. Caractéristiques spécifiques dans les causes métaboliques	33
A. Maladies d'intoxication protidique.....	33
B. Maladies du métabolisme des sucres	36
C. Autres (tableau n°6)	39
IV. Facteurs prédictifs d'une origine métabolique	42
V. Caractéristiques des patients avec une IHC d'origine indéterminée.....	46
VI. Résultats du séquençage haut débit.....	50
Discussion	53
I. Population d'étude	53
II. Etiologies métaboliques	55
A. Tyrosinémie de type 1	55
B. Galactosémie	55
C. Déficit du cycle de l'urée	56
D. Déficit de la bêta oxydation	57
E. Maladie de Wilson [24].....	57
F. CDG syndrome de type 1b [25].....	58
G. Maladie de Niemann Pick C [26]	59
H. Déficit en polyols [28]	59
III. Facteurs prédictifs d'une origine métabolique	60

IV. Etiologies indéterminées.....	61
V. Résultats du séquençage haut débit par NGS.....	62
VI. Diagnostics non retrouvés d'IHC dans la population étudiée.....	67
A. Intolérance héréditaire au fructose.....	67
B. Syndrome de Reye.....	68
C. Déficit en citrine.....	69
D. Hémochromatose néonatale.....	69
E. Cytopathie mitochondriale.....	70
VII. Forces et limites de l'étude.....	72
A. Erreurs et biais.....	72
B. Forces et Perspectives.....	74
Conclusion.....	76
Références bibliographiques.....	78
Annexes.....	81
Annexe n°1 : Examens para cliniques en cas d'insuffisance hépatocellulaire.....	81
Annexe n°2 : Stades cliniques et électriques de l'encéphalopathie hépatique de l'adulte et du grand enfant.....	82
Annexe n°3 : Stades d'encéphalopathie hépatique ajusté aux nourrissons.....	83
Annexe n°4 : Caractéristiques de la NGS cholestase.....	84
Annexe n°5 : Bilans métaboliques de 1 ^{ère} et 2 ^{ème} intention en cas d'insuffisance hépatocellulaire.....	85

RESUME

Contexte : L'insuffisance hépatocellulaire (IHC) est une entité rare. Elle est rapidement fatale en l'absence de traitement symptomatique et/ou étiologique. Il s'agit donc d'une urgence diagnostique. Or, une proportion importante d'IHC reste d'étiologie indéterminée, malgré des explorations à visée étiologique exhaustives. Le but de cette étude est de décrire la population de patients ayant présenté une IHC, ses caractéristiques, de tenter de déterminer les facteurs prédictifs d'une cause métabolique, de décrire les patients pour lesquels le bilan étiologique reste négatif et de compléter leurs explorations par de nouvelles méthodes de diagnostics par séquençage ADN.

Méthode : Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive et analytique. Nous avons analysé les données anamnestiques, cliniques et paracliniques de 100 patients ayant présenté une IHC, âgés de moins de 18 ans, entre 2005 et 2015 et hospitalisés au Centre hospitalier Régional et Universitaire de Lille. Nous avons divisé notre population en 2 groupes : les moins d'un mois et les plus d'un mois, leurs causes étant différentes.

Résultats : Sur les 100 patients inclus ayant présenté une insuffisance hépatocellulaire, 31 patients avaient moins de 1 mois (31%) et 69 plus de 1 mois (69%). 19% présentaient une IHC d'origine métabolique, dont nous avons décrit les caractéristiques dans un second temps. Chez les 69 patients âgés de plus d'un mois, un taux normal ou peu élevé de TGP ($p=0.05$) et des difficultés alimentaires semblaient prédictifs d'une origine métabolique ($p=0.02$). Enfin, une étude par séquençage haut débit était réalisée, si de l'ADN était disponible, chez les patients

avec IHC de cause indéterminée (19 patients). Cette technique permettait à ce jour un diagnostic chez 3 patients sur 4 dont analyse est terminée, pour lesquels nous détaillons rétrospectivement le phénotype.

Conclusion : L'IHC est une urgence diagnostique et thérapeutique. Afin de poser un diagnostic étiologique le plus rapidement possible et permettre une prise en charge optimale, nous recommandons la réalisation précoce de l'ensemble des examens spécifiques des multiples désordres métaboliques potentiellement impliqués mais également de prélèvements à visée fonctionnelle et moléculaire dès le diagnostic d'IHC posé. Ces tissus permettront de compléter dans un second temps, les analyses par de nouvelles techniques de séquençage d'ADN.

INTRODUCTION

I. Insuffisance hépatocellulaire

A. Définition

Chez l'adulte, la définition de l'insuffisance hépatique a évolué dans le temps. En 1970, REY et DAVIDSON [1] définissaient l'insuffisance hépatique grave comme la survenue d'une encéphalopathie dans les 8 semaines suivant les premiers signes d'une maladie hépatique.

Etant donnée la difficulté de définir la date d'apparition des premiers signes et l'absence de prise en compte de la gravité de l'insuffisance hépatique, de nouvelles définitions étaient proposées [2] utilisant le taux de prothrombine, le facteur V, la présence ou non d'une encéphalopathie et l'intervalle de temps entre l'apparition de l'ictère et de l'encéphalopathie hépatique (EH). L'insuffisance hépatocellulaire sévère est donc, selon les nouvelles définitions : une défaillance aiguë des fonctions hépatiques (notamment de la synthèse des facteurs de coagulation) avec une diminution du taux de prothrombine (TP) et du facteur V (FV) en dessous de 50% des normes de laboratoires (en absence de coagulopathie et après correction d'un déficit en vitamine K). Elle est dite grave si une encéphalopathie est associée à cette baisse de plus de 50%.

Chez l'adulte, l'installation d'une insuffisance hépatocellulaire peut être progressive ou évoluer de manière aiguë : elle est dite fulminante si elle se développe en moins de 2 semaines après l'apparition de l'ictère, et sub-fulminante si

elle se développe entre 2 semaines et 3 mois [2]. Son évolution est rapide et souvent imprévisible, pouvant aller vers une souffrance neurologique et une défaillance multi viscérale.

Cependant, cette définition s'applique mal à la population pédiatrique [3]. En effet, certaines causes n'entraînent que peu ou pas d'ictère et l'encéphalopathie hépatique peut être inconstante. Dans la cohorte « Pediatric Acute Liver Failure (PALF) Study Group », une encéphalopathie hépatique était observée chez 20% des patients décédés ou transplantés pour IHC grave [4]. En 2004, un groupe de travail a reformulé cette définition [3], mettant l'accent sur le délai d'apparition des signes : IHC hyper aiguë se développant en moins de 10 jours (ictère absent ou tardif, EH inconstante), aiguë entre 11 et 30 jours (EH inconstante et tardive) et sub aiguë entre 30 jours et 6 mois (ictère constant, EH pré terminale).

En absence de traitement adapté, l'insuffisance hépatocellulaire est fatale dans 50 à 70% des cas [5] [6]. Le développement de la transplantation hépatique a toutefois permis une nette amélioration de ce pronostic.

Chez l'enfant, dans l'étude de Squire en 2006 [4], l'insuffisance hépatocellulaire est définie comme une défaillance multi viscérale avec :

- une dysfonction hépatique majeure
- sans maladie hépatique sous-jacente
- avec ou sans encéphalopathie hépatique
- une anomalie de la coagulation (non corrigée par l'administration de vitamine K)

- un TP inférieur à 60% avec encéphalopathie hépatique ou un TP inférieur à 40% sans EH.

B. Diagnostic

1. Clinique de l'IHC

Manifestations liées aux lésions hépatiques [7]

Dans l'insuffisance hépatique, l'ictère est l'élément clinique le plus évident. Il est présent de manière quasi-constante chez l'adulte, mais peut être absent ou retardé chez l'enfant. Chez le grand enfant, on peut également observer un « fœtus hépatique », des douleurs de l'hypochondre droit ou une hépatomégalie.

Une grande partie des facteurs de coagulation sont produits au niveau du foie. Lors de l'insuffisance hépatocellulaire, ces facteurs sont diminués, entraînant un risque accru de syndrome hémorragique. En pratique, même si les facteurs de coagulation sont très bas, les hémorragies spontanées sont plutôt rares et sont le plus souvent d'origine iatrogène, suite à une fibroscopie par exemple.

Encéphalopathie et hypertension intra crânienne [8]

L'EH peut survenir plusieurs heures à plusieurs semaines après l'apparition de l'ictère. Elle se traduit alors par une modification du comportement, associée à des signes d'allure psychiatrique. Survient ensuite un coma, d'abord agité et hypertonique avec signes d'irritation pyramidale, puis profond avec hypotonie et mydriase.

Chez l'adulte et le grand enfant, il existe une échelle clinique et électro-encéphalographique (annexe 1) [9] de gradation des encéphalopathies hépatiques. Les insuffisances hépatocellulaires, et surtout si elles évoluent vers l'encéphalopathie hépatique, se compliquent fréquemment d'un œdème cérébral et d'une hypertension intracrânienne (HTIC), qui résultent d'une augmentation du volume du parenchyme cérébral par accumulation d'eau extravasculaire par augmentation de perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. D'autres mécanismes sont probablement également en cause. L'œdème et l'HTIC vont, par la suite, entraîner une diminution de la pression de perfusion cérébrale. Il existe donc, par ces 2 phénomènes, un risque majeur d'engagement et d'anoxie cérébrale [7].

Manifestations extra hépatiques

Une insuffisance rénale, essentiellement fonctionnelle, conséquence de la vasoconstriction rénale et d'une diminution du flux sanguin rénal, peut également survenir.

L'insuffisance hépatocellulaire peut, par ailleurs, s'accompagner d'un syndrome d'hyperkinésie circulatoire avec vasodilatation, tachycardie et augmentation du débit cardiaque.

Si l'encéphalopathie hépatique est souvent associée à une hyperventilation, entraînant une alcalose respiratoire et une hypocapnie, des acidoses métaboliques, des acidoses respiratoires par hypoventilation sont également possibles en fonction de l'étiologie et de l'existence de complications. Des troubles ioniques sont également possibles, à terme.

L'insuffisance hépatocellulaire prédispose plus fréquemment aux infections bactériennes et fongiques. La diminution des mécanismes de défense et la multiplicité des gestes et techniques invasifs augmentent le risque de survenue d'infections pulmonaires, urinaires ou de bactériémies [7]. Les signes cliniques sont souvent atypiques et marqués par une aggravation de l'atteinte multi viscérale.

2. Particularités pédiatriques

Les signes cliniques sont différents selon l'âge [10] [11]. Chez le nourrisson et le nouveau-né, les signes sont peu spécifiques [10], avec une altération de l'état général, des vomissements, des difficultés alimentaires, des troubles de la conscience ou de la vigilance. L'insuffisance hépatique chez le nourrisson, peut avoir trois modes de présentation clinique :

- absence d'intervalle libre entre la naissance et les signes cliniques d'insuffisance hépatocellulaire, tableau de cirrhose évoluée et décompensée, hépatomégalie plutôt ferme, ictère, ascite et signes d'hypertension portale (hémochromatose néonatale, cytopathie mitochondriale, infection congénitales)

- présence d'un intervalle libre associé à un ictère. La décompensation est alors plutôt brutale avec troubles neurologiques tels qu'une altération de conscience, des troubles de l'hémostase, avec un foie diminué de volume (infection virale, intoxication médicamenteuse, foie de choc, certaines maladies métaboliques)

- présence d'un intervalle libre sans ictère associé. On retrouve habituellement une hépatomégalie voire des signes d'encéphalopathie hépatique (syndrome de Reye, cytopathie mitochondriale, acidurie organique, anomalie de la bêta oxydation, déficit du cycle de l'urée).

Chez le nourrisson, le diagnostic clinique d'encéphalopathie hépatique est difficile. Une échelle clinique a été proposée dans plusieurs articles pour permettre une meilleure évaluation et donc une meilleure prise en charge [annexe 2], [12] [13]. Ces échelles mettent plutôt l'accent sur les modifications du comportement ou du caractère, l'inversion du cycle nyctéméral, l'agitation, la somnolence voire le coma. Chez le grand enfant (plus de 4 ans), la sémiologie sera la même que chez l'adulte.

3. Paraclinique

Les explorations paracliniques recommandées en cas de suspicion d'insuffisance hépatocellulaire grave à sévère, permettront :

- la confirmation diagnostique
- l'évaluation du retentissement
- le diagnostic étiologique
- l'évaluation de contre-indications ou non à la greffe hépatique.

Confirmation diagnostique

Afin de confirmer le diagnostic on dosera les facteurs de coagulation, plus particulièrement le facteur V (non vitamine K dépendant) et le taux de prothrombine. On dosera les enzymes hépatiques afin d'évaluer la proportion de lyse hépatique (TGO/ ASAT et TGP/ALAT). Une cholestase est régulièrement associée à l'insuffisance hépatique, avec une augmentation de la bilirubine totale et conjuguée, des γ GT et des phosphatases alcalines. Une échographie abdominale permettra de confirmer ou non la présence d'une hépatomégalie, d'une splénomégalie ou d'ascite suspectées cliniquement.

Evaluation du retentissement :

Des signes de retentissement sur l'ensemble de l'organisme seront recherchés, en particulier une insuffisance rénale (fonction rénale, urée, créatinine), une augmentation de l'ammoniémie et des CPK, des troubles de l'équilibre acido-basique et de la glycémie.

Exploration à visée étiologique

L'intérêt du diagnostic étiologique précoce permettra de mettre en place un traitement curatif, qui, s'il est débuté tôt, permettra une disparition complète des signes d'insuffisance hépatocellulaire et donc une diminution de la mortalité. Il est donc important de réaliser ces explorations en urgence.

Au niveau métabolique, on recherchera des troubles du métabolisme des glucides, des protéines et des lipides ou une anomalie de transport.

Il sera donc réalisé, en urgence, et selon la présentation clinique (annexe n°1) :

- une ammoniémie, une chromatographie des acides aminés sanguins et urinaires, une chromatographie des acides organiques urinaires, un dosage d'acide orotique urinaire (maladie intoxication protidique)
- une recherche de succinyl acetone urinaire (tyrosinémie de type I)
- un dosage de la chitotriosidase (Niemann Pick C)
- un profil d'acyl carnitine sur Guthrie, un dosage de carnitine totale et estérifiée, et un dosage de CPK (déficit de bêta oxydation des acides gras)
- un dosage de l'activité GALT (galactose-1-phosphate uridylyltransférase), un spot test (galactosémie)
- un test de la sueur (mucoviscidose)
- une ferritinémie (hémochromatose néonatale)

- un dosage de céruloplasmine, cuprémie, cuprurie, (maladie de Wilson)
- l'étude de l'activité alpha1 antitrypsine (déficit en alpha1 anti trypsine)
- un profil qualitatif et quantitatif des acides biliaires sanguins (déficit de synthèse des acides biliaires)
- une Iso électro focalisation de la transferrine (déficit de la glycosylation des protéines tel que le CDG syndrome).
- le dosage de polyols urinaires (déficit du métabolisme des polyols)
- une Numération de formule sanguine avec recherche de lymphocytes vacuolés (maladie de surcharge lysosomale)
- dosage des lactates sanguins, rapport lactate sur pyruvate, corps cétoniques (cytopathie mitochondriale)

Recherche de contre-indications à la transplantation hépatique

En cas d'insuffisance hépatocellulaire, il peut être nécessaire de réaliser une transplantation hépatique en urgence. Afin d'éviter des greffes à haut risque d'échec ou de transplanter des patients pour lesquels la greffe hépatique ne modifierait pas le pronostic vital, il est important de rechercher s'il existe des contre-indications à cette greffe.

En 2014, selon les recommandations Américaines issues d'une revue de la littérature de 1997 à 2014 [14] les contre-indications à la transplantation sont :

- Les maladies métaboliques multisystémiques d'origine mitochondriale
- Un processus infectieux non contrôlé
- Un œdème cérébral irréversible
- Les tumeurs malignes extra hépatiques actives

II. Maladies métaboliques à expression hépatique

A. Mode de présentation

Le mode de présentation n'est pas différent selon les étiologies métaboliques ou non métaboliques. [15]

B. Causes

Selon l'âge de l'enfant, les causes d'insuffisance hépatocellulaire sont variées et différentes des insuffisances hépatocellulaires chez l'adulte [16] [17] [4] (tableau n°1).

Les causes métaboliques sont plus fréquentes chez le nourrisson et le nouveau-né et les causes virales ou toxiques plus fréquentes chez l'enfant [8].

On observe, selon les séries, que 18 à 55 % IHC sont d'origine indéterminée [4] [11] [18].

Les causes d'insuffisance hépatique peuvent être regroupées en 6 catégories [8] : les infections, les maladies métaboliques, les causes toxiques, l'auto immunité, les causes néoplasiques et les causes vasculaires. Notre travail portera plus particulièrement sur les causes métaboliques et les causes indéterminées.

Parmi ces étiologies métaboliques, on peut diviser ces causes en différentes catégories également, selon le type de molécule dont le métabolisme est perturbé.

Tableau n°1 : Causes métaboliques d'insuffisance hépatocellulaire classiquement rapportées chez le nouveau-né, le nourrisson et l'enfant. [8][19]

Causes néonatales et du nourrisson	Cause chez l'enfant
Galactosémie	Maladie de Wilson
Tyrosinémie	Intolérance héréditaire au fructose
Intolérance héréditaire au fructose	Mucoviscidose
Déficit du cycle de l'urée	Maladie caeliaque
Déficit de l'oxydation des acides gras	Déficit du cycle de l'urée
Déficit en alfa 1 anti trypsine,	Déficit de l'oxydation des acides gras
Cytopathie mitochondriale	Déficit en alfa 1 antitrypsine
Hémochromatose néonatale	Tyrosinémie de type I
Niemann Pick C	Déficit en transaldolase
Déficit de la glycosylation des protéines	
Déficit de synthèse des acides biliaires	
Déficit en polyols	

Il est particulièrement important de rechercher rapidement les causes curables en cas d'insuffisance hépatocellulaire. Toutefois, en cas de bilan étiologique négatif, il sera important de s'obstiner à rechercher des étiologies plus rares et de les confirmer sur le plan génétique.

En effet, cela permettra de pouvoir confirmer le diagnostic et de proposer un conseil génétique à la famille afin de préparer si elles le souhaitent les grossesses ultérieures.

Au cours de ce travail, nous avons décrit la population étudiée plus précisément les patients présentant une IHC d'origine métabolique et d'origine indéterminée. Puis nous avons recherché des facteurs prédictifs de cause métabolique parmi les patients ayant une IHC de cause retrouvée et recherche des caractéristiques

spécifiques dans les cas sans diagnostic. Puis nous avons étudié l'apport des méthodes d'analyse de séquençage haut débit dans les cas d'étiologie indéterminée.

Pour cela, nous avons analysé les données anamnestiques, cliniques et para cliniques des patients de 0 à 18 ans ayant présenté une insuffisance hépatique grave à sévère entre 2005 et 2015 au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille, hospitalisés dans les services de gastroentérologie pédiatrique, de maladies métaboliques pédiatriques, de réanimation pédiatrique et néonatale et de soins intensifs pédiatriques et néonataux.

MATERIELS ET METHODES

Notre étude est une étude rétrospective, mono-centrique, descriptive et analytique. Elle a été réalisée au sein du Pôle mère-enfant du CHRU de Lille, dans les services de gastroentérologie pédiatrique, de maladies métaboliques pédiatriques, de réanimation et soins intensifs pédiatriques et néonataux.

I. Sélection des patients

A. Inclusion

Sur la période de 2005 à 2015, nous avons inclus les patients ayant présenté une insuffisance hépatocellulaire (code CDIM10 K729 et/ou K72) au CHRU de Lille dans les services de réanimation pédiatrique et néonatale, soins intensifs pédiatriques et néonataux, de gastroentérologie pédiatrique et des maladies métaboliques (101 patients).

B. Les critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient :

- la présence d'une maladie hépatique pré existante,
- un âge supérieur à 18 ans au moment du diagnostic.

II. Données recueillies

En raison d'une différence importante des étiologies d'insuffisance hépatocellulaire entre les nouveau-nés, nourrissons et les enfants, nous avons décidé d'étudier ces patients en 2 groupes : moins d'un mois et plus d'un mois.

Nous avons recueilli sur dossier des données anamnestiques, cliniques et paracliniques.

A. Interrogatoire

- La notion de consanguinité
- Les antécédents de décès précoces dans la famille (in utéro ou en bas âge)
- Les antécédents personnels de retard de croissance intra-utérin, de prématurité, de détresse néonatale.
- La notion d'intervalle libre entre la naissance et les premiers signes

B. Données cliniques

Selon l'âge, les données cliniques recherchées étaient différentes.

Chez les patients de moins d'un mois :

- signes digestifs (difficultés alimentaires, prise de poids insuffisante, vomissements, augmentation du périmètre abdominal, hépatomégalie, ascite, ictère, syndrome hémorragique, selles décolorées, urines foncées)

- signes neurologiques (hypotonie axiale, hypertonie périphérique, mouvements anormaux, troubles de conscience).

Chez les patients de plus d'un mois :

- signes digestifs (prise de poids, perte de poids, diarrhée, vomissements, douleurs abdominales, ascite, hépatomégalie, syndrome hémorragique, urines foncées, selles décolorées, ictère)
- signes neurologiques (mouvements anormaux, asthénie, troubles de conscience, troubles du comportement, troubles psychiatriques)

C. Données paracliniques

Retentissement de l'insuffisance hépatique :

- Glycémie
- PH et lactates
- Cytolyse hépatique (TGO/ TGP)
- Cholestase (bilirubine libre, phosphatase alcaline)
- Fonction hépatique (Taux de prothrombine et facteur V)
- Electroencéphalogramme (recherche de signes d'encéphalopathie hépatique)
- Echographique (abdominale et cardiaque)

Bilans métaboliques de première intention

- Ferritinémie

- Ammoniémie
- Alpha foetoprotéine
- Chromatographie des acides aminés sanguins et des acides organiques urinaires.

Bilan métaboliques spécifiques

Chez les nouveau-nés :

- Galactose1 phosphate, acéto-acétate
- Acide orotique urinaire
- Sérologies
- Anticorps
- Acylcarnitine sur Guthrie
- Sels biliaires, profil sels biliaires
- Rapport lactates/pyruvate
- Iso électro focalisation de la transferrine
- Profil des acides gras à très longue chaîne
- Etude en biologie moléculaire
- Eude génétique

Chez les enfants de plus d'un mois :

- Dosage des toxiques sanguins et urinaires (notamment la paracétamolémie)
- Sérologies
- Anticorps
- Céruloplasmine, cuprurie, consultation ophtalmologique

- Galactose1 phosphate, aceto actétate
- Succinyl acétone urinaire
- Acide orotique urinaire
- Dosage de muco polysaccharide urinaire
- Acylcarnitine sur Guthrie
- Sels biliaries, profil sels biliaries
- Rapport lactates/pyruvate
- CDG syndrome
- Acides gras à très longue chaine
- Etude en biologie moléculaire
- Etude génétique

III. Etude spécifique : séquençage haut débit

Pour les patients sans diagnostic étiologique au terme des différentes explorations, et pour lesquels du matériel génétique était disponible, nous avons réalisé, avec l'accord de la famille, un séquençage en NGS (next generation sequencing), ciblé sur les causes d'insuffisance hépatocellulaire.

Ce séquençage nouvelle génération permet d'effectuer un séquençage à haut débit de plusieurs gènes, chez plusieurs patients en même temps. Ceci diminue le temps d'analyse.

Les prélèvements (ADN extrait de fibroblastes ou de DNA thèque) ont été adressés pour les 10 patients qui présentaient une IHC associée à une cholestase au CHRU de Lille pour des raisons d'accessibilité, de rapidité et de disponibilité (puce « *Cholestase* »)

Les prélèvements envoyés au CHU Kremlin-Bicêtre pour le séquençage via la puce « *Insuffisance hépatocellulaire* », n'ont pour l'instant pas permis de poser un diagnostic à ce jour.

Analyses réalisées

Pour le séquençage Lillois, l'extraction d'ADN était réalisée à l'aide d'un kit pour sang et cellules en culture de type GE Healthcare illustra™ RPN-8512. La séquence nucléotidique était analysée grâce à une technique NGS et un séquençage à haut débit. Il s'agit d'une amplification en ponts des fragments d'ADN sur support solide, suivie d'un séquençage par synthèse des colonies d'ADN cible.

L'amplification des colonies d'ADN a été effectuée à l'aide d'un kit d'enrichissement de cibles.

Les gènes étudiés (ABCB11, ABCB4, ABCC2, ABCC3, ABCD1, ABCD3, ABCG5, ABCG8, ACADM, ACADS, ACADVL, ACOX1, ADK, AGL, AGPS, AHCY, AHI1, AKR1D1, ALDOB, AMACR, AQP8, ARG1, ARL13B, ARL6, ASL, ATP7B, ATP8B1, BAAT, BBS1, BBS10, BBS12, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS9, BCS1L, C10orf2, CC2D2A, CCBE1, CFTR, CIRH1A, CLDN1, COQ2, CPS1, CPT1A, CPT2, CYP27A1, CYP3A4, CYP7A1, CYP7B1, DGUOK, DHCR7, DLD, EPHX1, ETFA, ETFB, ETFDH, EVC, EVC2, FAH, GALE, GALT, GBA, GBE1, GFM1, GLB1, GLIS2, GNPAT, GPBAR1, GUSB, HADHA, HADHB, HAMP, HFE, HFE2, HNF1A, HNF1B, HSD17B4, HSD3B7, IFT80, INVS, IQCB1, JAG1, LBR, LIPA, MKKS, MKS1, MPI/PMI, MPV17, MRPS16, MYO5B, NAGS, NEK8, NEU1, NOTCH2, NPC1, NPC1L1, NPC2, NPHP1, NPHP3, NPHP4, NR1H4, NR1I2, NR1I3, OFD1, OTC, PEX1, PEX10, PEX11B, PEX12, PEX13, PEX14, PEX16, PEX19, PEX2, PEX26, PEX3, PEX5, PEX6, PEX7, PHYH, PKD1, PKD2, PKHD1, PMM2, POLG, POLG2, PRKCSH, PRSS1, RPGRIP1L, SC5D, SCO1, SEC63, SERAC1, SERPINA1, SLCO1B1, SLCO1B3, SLC17A5, SLC25A13, SLC25A20, SLC27A5, SLC30A10, SLC4A2, SLC40A1, SLC7A7, SMPD1, SPINL1, SUCLA2, SUCLG2, TALDO1, TFR2ASS1, TJP2, TMEM216, TMEM67, TMEM70, TRIM32, TRMU, TSFM, TTC8, TWINKLE, TYMP, UGT1A1, UGT1A4, UGT1A7, VIPAS39, VPS33B) jouaient un rôle dans la physiopathologie de cholestases (annexe n°3).

Pour le séquençage effectué au CHU Kremlin-Bicêtre, les gènes étudiés étaient : AARS2, ACAD9, ACO1, ADCK3, ADCK4, AIFM1, BCS1L, BOLA3, C10ORF2, CARS2, COQ10A, COQ10B, COQ2, COQ3, COQ4, COQ5, COQ6,

COQ7, COQ9, COX10, COX15, CYC1, DARS2, DGUOK, DLAT, DLD, EARS2, ECHS1, ECSIT, EEF1A1, FARS2, FH, FMN2, GARS, GFM1, GLRX5, GSTM1, HARS2, HIBCH, IARS2, IBA57, IDH1, IDH2, ISCA1, ICSA2, ISCU, KARS, KISS1, LARS2, LIAS, LIPT1, LIPT2, LYRM4, LYRM7, MARS2, MPC1, MPC2, MPV17, MRPL12, MTFMT, MTO1, NDUFA1, NDUFA10, NDUFA11, NDUFA12, NDUFA13, NDUFA2, NDUFA3, NDUFA4, NDUFA5, NDUFA6, NDUFA7, NDUFA8, NDUFA9, NDUFAF1, NDUFAF2, NDUFAF3, NDUFAF4, NDUFAF5, NDUFAF7, NDUFS1, NDUFS2, NDUFS3, NDUFS4, NDUFS6, NDUFS7, NDUFS8, NDUFV1, NDUFV2, NFS1, NFU1, NUBPL, NXF5, OPA1, PC, PDHA1, PDHB, PDHX, PDP1, PDP2, PDPR, PDSS1, PDSS2, PNPT1, POLG, POLG2, PUS1, QARS, RARS2, RRM2B, SARS2, SCO1, SCO2, SDHA, SDHAF1, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SLC19A2, SLC19A3, SLC25A19, SLC25A4, SRY, SUCLA2, SUCLG1, SURF1, TALDO1, TAZ, TK2, TPK1, TRMU, TTC19, TYMP, UQCR10, UQCR11, UQCRB, UQCRC1, UQCRC2, UQCRFS1, UQCRH, UQCRQ, YARS2.

IV. Analyse statistique

Les paramètres qualitatifs ont été décrits en termes de fréquence et de pourcentage. Les paramètres numériques suivant une loi normale ont été décrits en termes de moyennes et de déviations standards, et les paramètres numériques non gaussiens en termes de médianes et d'intervalles interquartiles

Les comparaisons des groupes de patients ont été réalisées lorsqu'il s'agissait de pourcentages par un test du Khi-2 si les effectifs théoriques étaient supérieurs ou égaux à 5. Lorsque les effectifs étaient inférieurs à 5, un test exact de Fisher a été utilisé.

Les comparaisons de moyennes ont été réalisées avec un test paramétrique de Student (ou T test) lorsque les données suivaient une loi normale ; dans le cas contraire, l'analyse a été faite grâce un test non paramétrique de Wilcoxon.

Le niveau de significativité a été fixé à 5% (soit $p=0.05$).

Nous avons comparé dans un premier temps les données des patients dont l'insuffisance hépatocellulaire était d'origine métabolique avec celles des patients pour lesquels l'origine était non métabolique, chez les patients de moins d'un mois puis chez les patients de plus d'un mois.

Dans un second temps nous avons comparé les données entre les patients dont le diagnostic étiologique n'était pas retrouvé et ceux dont le diagnostic était certain.

RESULTATS

I. Population d'étude

Depuis 2005, 101 patients de moins de 18 ans ont présenté une insuffisance hépatocellulaire entre 2005 et 2015, et ont été hospitalisés au CHRU de Lille dans les services de gastro pédiatrie, de maladies métaboliques pédiatriques, de soins intensifs et de réanimation pédiatrique et néonataux.

Dans le diagramme de flux (figure n°1), sur les 101 patients, 31 sont des nouveaux nés et 69 enfants et nourrissons. Un enfant a été exclu pour cause de maladie hépatique pré existante (insuffisance hépatocellulaire sur hépatite auto immune chez une patiente atteinte d'hépatite C).

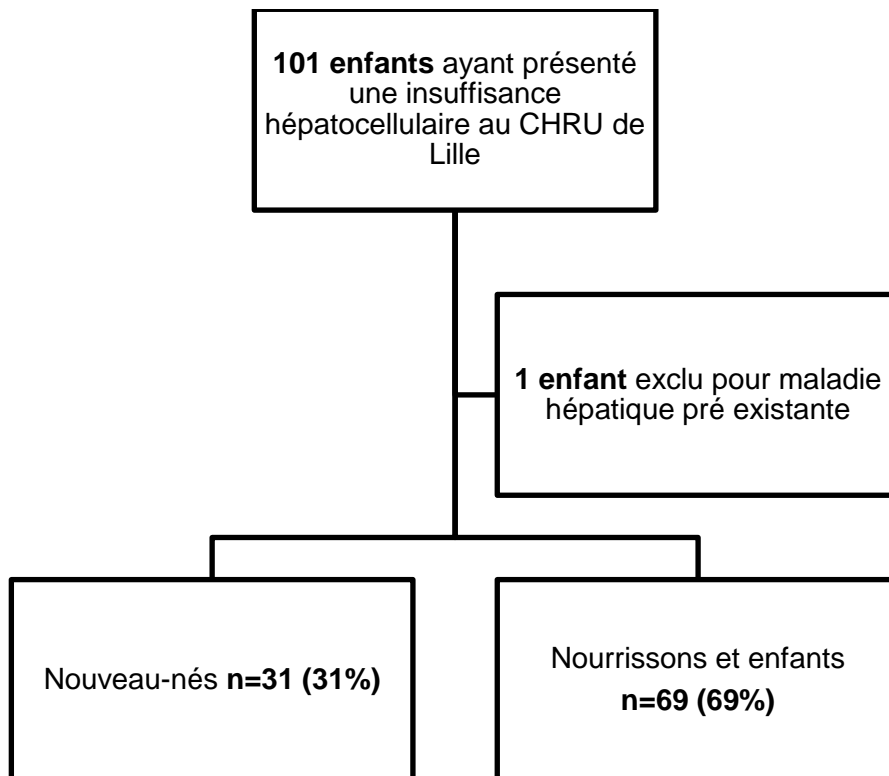
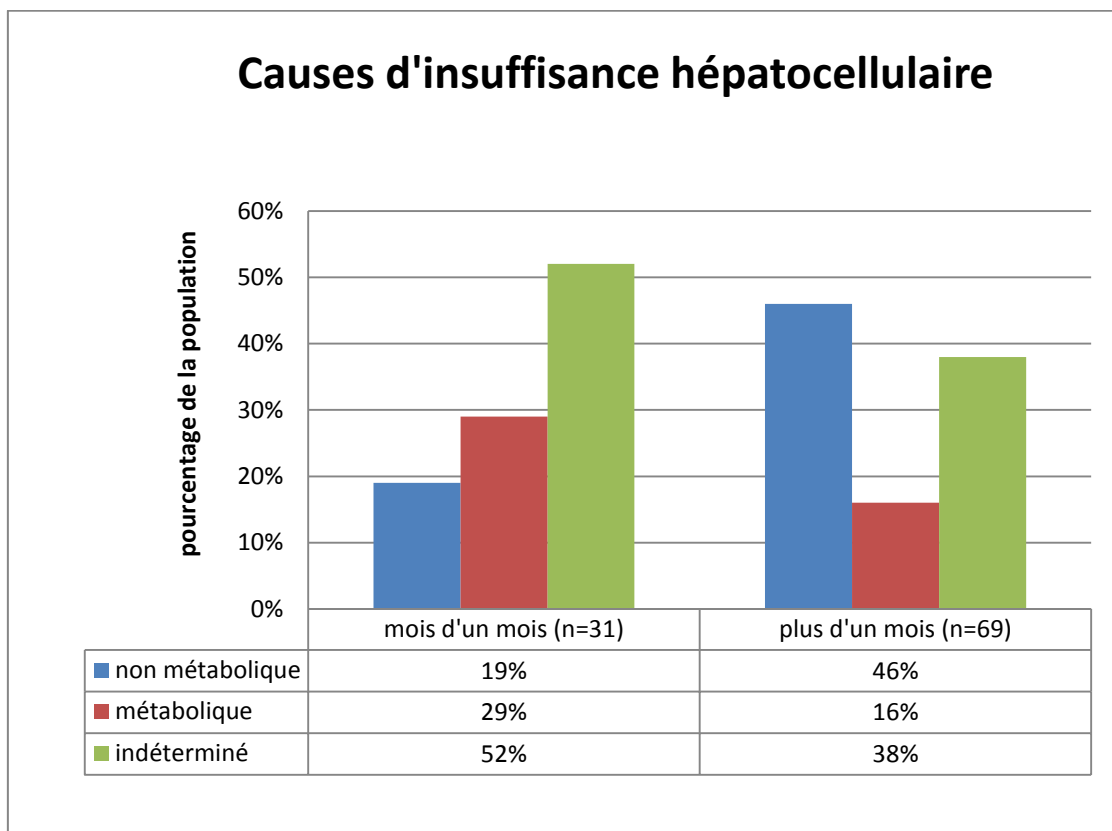


Figure 1: Diagramme de flux des enfants ayant présenté une insuffisance hépatocellulaire depuis 2005 au CHRU de Lille (Hôpital Jeanne de Flandres).

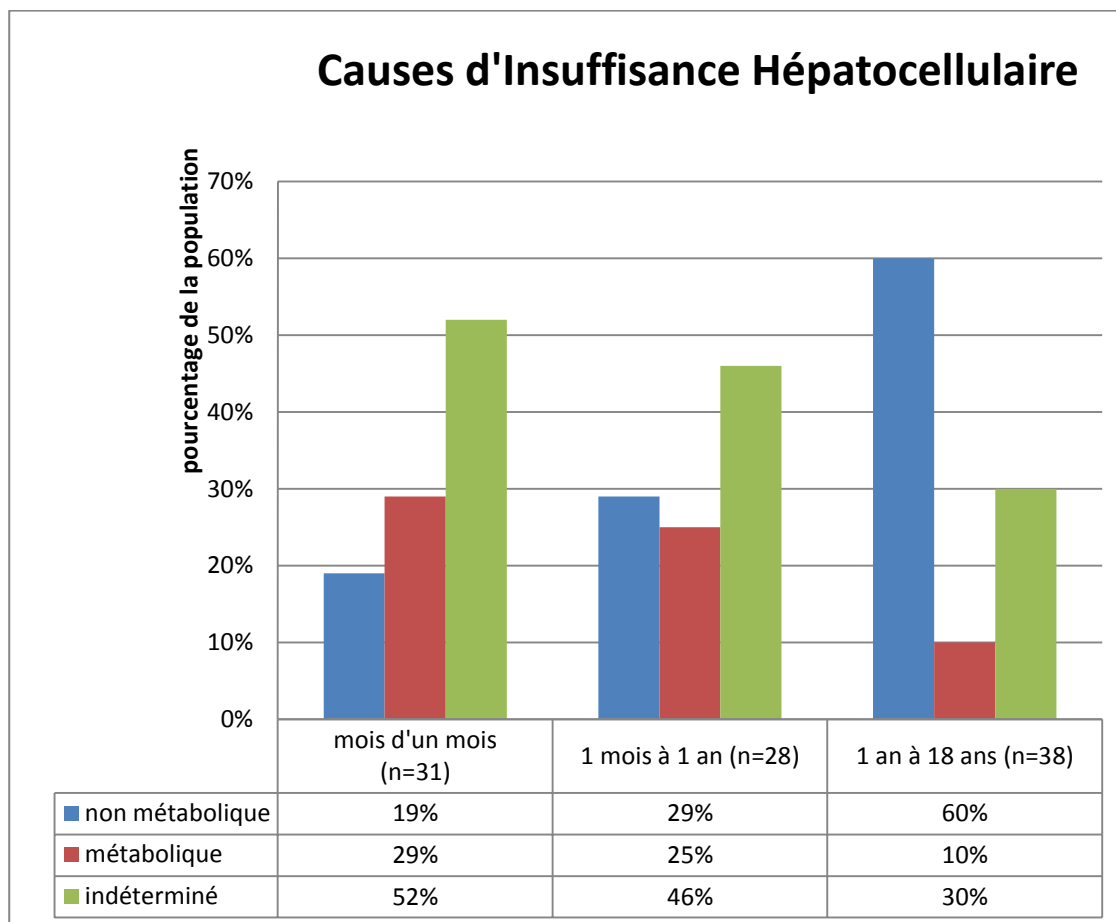
La répartition des origines métaboliques, non métaboliques et indéterminées chez les patients ayant présenté une insuffisance hépatocellulaire au CHRU de Lille entre 2005 et 2015 est décrite dans le graphique n°1.



Graphique n°1 : Répartition selon l'âge entre les étiologies métaboliques, non métaboliques et indéterminées

Le graphique n°1 montre qu'il existe, dans les premiers mois de vie, une prédominance d'IHC d'origine indéterminée et métabolique et que la tendance s'inverse avec l'âge.

Nous avons analysé également la répartition des étiologies en 3 groupes : les patients de moins d'un mois, entre un mois et un an et de plus d'un an (graphique n°2).



Graphique n°2 : Répartition selon l'âge (en 3 groupes) entre les étiologies métaboliques, non métaboliques et indéterminées

A. Nouveau-nés

Nous avons recueilli les données de 31 patients :

- l'âge moyen aux premiers signes était de 6.4 jours (médiane à 1 jour).
- une insuffisance hépatocellulaire était présente chez 16 filles, soit 52% de

la population étudiée.

- un diagnostic étiologique était posé chez 15 patients, soit 48% de la

population étudiée :

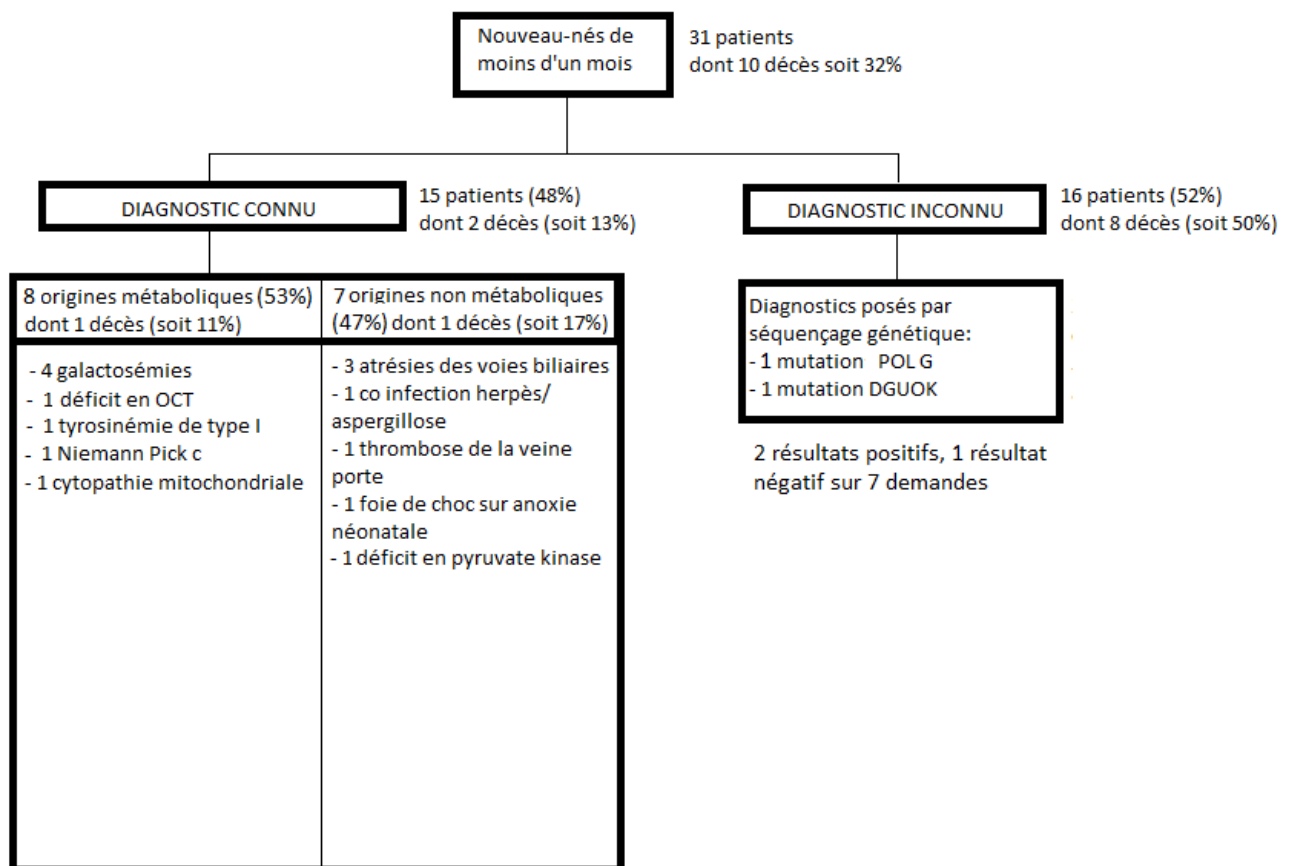
- 8 présentaient une insuffisance hépatocellulaire d'origine métabolique (53%)
- 7 étaient d'origine non métabolique (47%).

- chez 16 patients (52%), pas de diagnostic étiologique posé.

- Sur l'ensemble de ces patients, 10 sont décédés dans les suites de la prise en charge.

L'ensemble des diagnostics retrouvés dans cette étude sont répertoriés dans le graphique n°3.

Graphique n° 3 : Etiologie des insuffisances hépatocellulaires chez les nouveau-nés de moins d'un mois.



B. Population des enfants de plus d'un mois

Nous avons ensuite recueilli les données de 69 patients âgés de plus d'un mois :

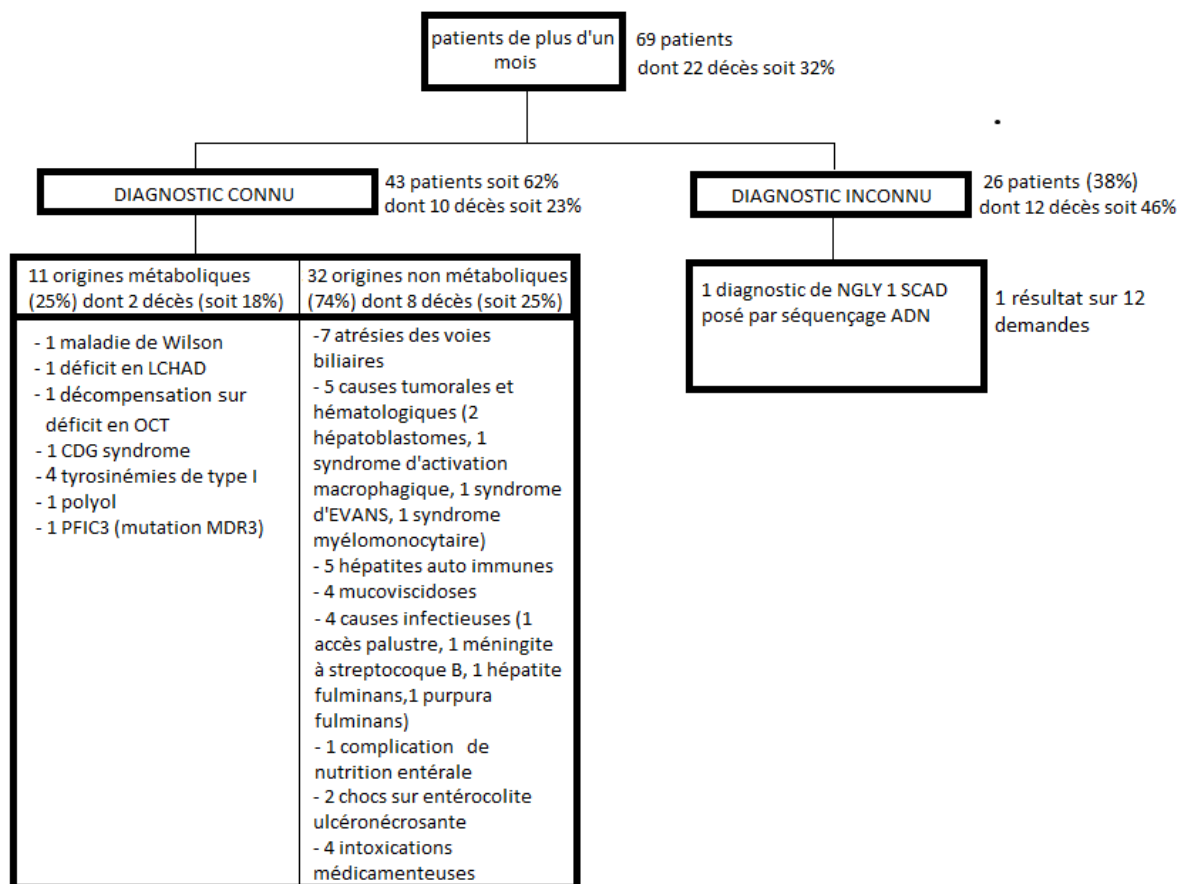
- l'âge moyen des premiers signes était de 4.3 ans (médiane à 1.6 ans).
- 77% était des garçons.
- Chez 43 patients, une étiologie à l'insuffisance hépatocellulaire était

retrouvée :

- 11 d'origine métabolique (soit 16%)
- 32 d'origine non métabolique (soit 46%).
- Le diagnostic n'était pas déterminé chez 26 patients (38%).
- le taux de mortalité était de 32% pour l'ensemble de cette population, avec 46% de décès chez les enfants dont le diagnostic était indéterminé, et 23% pour les enfants dont la pathologie était d'origine métabolique ou non métabolique.

L'ensemble des diagnostics retrouvés dans cette étude sont répertoriés dans le graphique n°4.

Graphique n° 4 : Etiologie des insuffisances hépatocellulaires chez les enfants de plus d'un mois hospitalisés au CHRU de Lille depuis 2005.



II. Caractéristiques générales des patients

Pour le groupe des moins d'un mois, les données de l'anamnèse et de l'examen clinique sont rapportées dans le tableau n°2.

Tableau n° 2 : Anamnèse et clinique : Patients de moins d'un mois (n=31).

	Présence (% de la population)	données manquantes (%)
Consanguinité	13	39
Décès précoce dans la famille	23	26
Prématurité	16	3
Retard de croissance intra utérin	26	10
Détresse néonatale	16	6
Signes digestifs	45	3
Signes neurologiques	61	3
Signes hépatiques	68	3
Signes infectieux	3	3
Encéphalopathie hépatique	19	29
Décès du patient à la fin de la prise en charge	32	0

Dans les groupe des plus d'un mois, les données cliniques et anamnestiques sont rapportées dans le tableau n°3.

Tableau n°3 Anamnèse et clinique : Patients de plus d'un mois (n=69)

	Présence (% de la population)	données manquantes (%)
Consanguinité	4	65
Décès précoce dans la famille	7	35
Maladie métabolique dans la famille	6	35
Prématurité/menace d'accouchement prématuré	19	4
Retard de croissance intra utérin	9	26
Malformations	13	1
Intervalle libre entre la naissance et les premiers signes	87	0
Syndrome infectieux	61	3
Signes digestifs	62	1
Signes neurologiques	32	1
Signes hépatiques	61	1
Hypoglycémie	3	1
Encéphalopathie hépatique	28	33
Décès du patient à la fin de la prise en charge	31%	0

Dans un premier temps, les facteurs prédictifs anamnestiques, cliniques et paracliniques d'une origine métabolique chez les nouveau-nés de moins d'un mois (tableau n°3) et chez les enfants de plus d'un mois (tableau n°4) ont été recherchés. Pour cela, nous avons comparé les patients ayant une pathologie d'origine métabolique et les patients dont l'insuffisance hépatocellulaire était d'origine non métabolique, en excluant les origines indéterminées.

Le taux de mortalité est identique dans les 2 groupes.

III. Caractéristiques spécifiques dans les causes métaboliques

Parmi les 100 patients inclus dans cette étude, l'insuffisance hépatocellulaire était d'origine métabolique pour 8 patients de moins d'un mois et 11 de plus d'un mois. Nous avons, dans ce chapitre, répertorié l'ensemble de ces patients quelque soit l'âge de révélation, afin de rechercher des caractéristiques particulières selon la maladie. Les données ont été analysées dans des tableaux selon la classification suivante : maladie d'intoxication protidique, maladie du métabolisme des sucres, et autre.

Du fait des effectifs réduits, aucune analyse statistique n'a pu être réalisée pour l'ensemble de cette partie.

A. Maladies d'intoxication protidique

Dans notre population, les maladies d'intoxication protidique étaient : la tyrosinémie de type 1 et le déficit en OCT (déficit du cycle de l'urée). Chez 6 patients de cette catégorie, l'insuffisance hépatocellulaire était inaugurale et permettait de poser le diagnostic de tyrosinémie de type 1 et de déficit en OCT (tous âges confondus). Dans un cas, l'insuffisance hépatocellulaire faisait suite à une décompensation sur virose de la maladie sous-jacente (déficit en OCT).

Les caractéristiques de ces patients sont présentées dans le tableau n°4.

Chez les patients atteints de tyrosinémie de type 1, d'un point de vue clinique, l'intervalle libre entre la naissance et les premiers signes (digestifs) chez des patients était de 3 semaines et 7 mois. Aucun des patients ne présentait de signes neurologiques. Au niveau paraclinique, l'ensemble des patients présentait une cholestase, une cytolysé hépatique modérée (à 2-3 fois la normale) et un effondrement des facteurs de coagulation. L'alpha foetoprotéine, les phosphatases alcalines étaient très augmentées (alpha foetoprotéine supérieure à 75 000 ng/ml et Phosphatase alcaline entre 1000 et 13 000 UI/l). L'échographie abdominale retrouvait fréquemment un foie multi nodulaire et de ascite au diagnostic. Le diagnostic était évoqué sur la clinique, la tyrosinémie élevée sur la CAAS, mais non spécifique et confirmé par la présence de succinyl acétone urinaire, marqueur spécifique de la tyrosinémie type 1, à rechercher de façon spécifique sur la CAOU.

Chez les patients présentant un déficit en OCT, l'intervalle libre était pour la forme de révélation néonatale de 5 jours. D'un point de vue clinique, on notait des signes neurologiques avec des troubles du comportement ou des troubles de conscience associés à des troubles digestifs. D'un point de vue paraclinique, on notait une cytolysé importante (3 fois la normale initialement) se majorant rapidement et évoluant vers une défaillance. Le diagnostic était évoqué devant une hyperammoniémie sévère associée à une IHC et confirmée par l'augmentation de glutamine et effondrement de la citrulline sur la CAAS et un pic d'acide orotique urinaire.

	Tyr 1	Tyr 2	Tyr 3	Tyr 4	Tyr 5	OCT 1	OCT2
Age	2 mois	7 mois	2 mois	2 mois	21 jours	5 jours	15 ans
Sexe	F	M	M	M	F	M	F
Consanguinité	oui	-	-	-	oui	-	*
Prématurité	-	-	oui	oui	-	-	-
Retard de croissance	-	-	-	-	-	-	-
Décès précoce dans la famille	-	-	-	-	oui	-	-
Décès	-	-	-	-	-	-	-
Signes digestifs	oui	oui	oui	-	oui	oui	oui
- difficultés alimentaires	-	-	oui	-	-	oui	-
- vomissements	-	-	oui	-	oui	-	-
- hépatomégalie	-	oui	-	-	-	-	-
- ictère	-	-	-	-	oui	-	-
- ascite	oui	oui	oui	-	oui	*	-
Signes neurologiques	-	-	-	-	-	oui	oui
- mouvements anormaux	-	-	-	-	-	-	-
- troubles de conscience	-	-	-	-	-	-	oui
Hypoglycémie	-	-	-	-	oui	-	-
Encéphalopathie hépatique à l'EEG	-	-	-	-	oui	-	oui
CAAS	Tyrosine ↗	Tyrosine ↗	Tyrosine ↗	Tyrosine ↗	Tyrosine ↗	Glutamine ↗	Glutamine ↗
Succinyl acétone	↗	↗	↑	↑	↑	-	-
TGO (UI/L)	82	110	97	32	*	90	421
TGP (UI/L)	30	38	69	23	*	150	226
Bilirubine directe (mg/L)	23	11	8	4,3	*	10	15
γGT (UI/L)	91	56	64	50	*	*	106
Phosphatase alcaline (UI/L)	*	1371	8270	12250	*	*	105
Hyperlactacidémie	*	oui	oui	*	oui	oui	-
Facteur V (%)	44	42	35	52	21	10	41
TP(%)	10	16	17	14	10	*	34
Alpha foetoprotéine (ng/ml)	*	85 557	203 000	271 000	75.735	*	*
Ferritine augmentée (%)	*	*	*	*	oui	*	*
Ammoniémie (µg/l)	126	*	309	*	244	1.705	43
CPK (UI/L)	*	*	272	*	*	*	230
Acide orotique	-	-	-	-	-	↑	↑

* : donnée manquante /

- : non

M : masculin/F féminin

Tableau n°4 : Caractéristiques des patients atteints de maladie d'intoxication protidique

B. Maladies du métabolisme des sucres

Dans notre population, les maladies du métabolisme des sucres étaient : 5 cas de galactosémie, 1 cas de déficit du métabolisme des polyols, 1 cas de CDG syndrome. Parmi les 7 patients de cette catégorie, l'insuffisance hépatocellulaire était inaugurale et permettait de poser le diagnostic métabolique (tous âges confondus) chez 6 patients. Dans un cas, l'insuffisance hépatocellulaire faisait suite à une décompensation sur virose de la maladie sous-jacente (CDG syndrome).

Les caractéristiques de ces patients sont présentées dans le tableau n°5.

Chez les patients atteints de Galactosémie, l'intervalle libre entre la naissance et les premiers signes (digestifs) était de 1 à 3 semaines. Il n'y avait pas de signes neurologiques. De manière plus spécifique, un patient sur 5 présentait une infection à E coli néonatale, aucun ne présentait de cataracte néonatale. Au niveau paraclinique, l'élément majeur retrouvé était une cholestase importante (bilirubine conjuguée entre 37 et 205 mg/l et γ GT entre 19 et 55UI/l) avec une cytolyse hépatique modérée (TGO et TGP à 6 fois la normale). Le diagnostic était évoqué sur la cholestase précoce avec IHC et confirmé par le spot test obtenu en urgence, le taux élevé de galactose 1 Phosphate et le taux d'activité enzymatique Galactose 1 phosphate uridyl transferase nulle ou effondré.

Chez le patient atteint de trouble du métabolisme des polyols, les premiers signes (hépatosplénomégalie) apparaissaient en période néonatale dans un contexte de malformation cardiaque et pan cytopénie, hyper laxité et hypertrichose diffuse. D'un point de vue paraclinique, une cytolysse modérée (3 fois la normale) ainsi qu'une cholestase (bilirubine conjuguée à 60 mmol/l) étaient observées.

Chez le patient atteint d'un CDG syndrome, le diagnostic était posé en période néonatale sur l'association d'une cytolyse à une entéropathie exsudative et d'hypoglycémie par hyperinsulinisme. L'insuffisance hépatocellulaire chez ce patient était secondaire à une décompensation de la maladie métabolique sur une virose. Le diagnostic était posé par un profil d'iso électro focalisation de la transferrine anormale.

	Gal 1	Gal 2	Gal 3	Gal 4	GAI 5	Polyol	CDG
Age	6 jours	6 jours	21 jours	21 jours	19 jours	2 mois	5 ans
Sexe	M	F	F	M	M	F	M
Consanguinité	-	oui	Oui	*	-	-	*
Prématurité	-	-	-	-	-	-	-
Retard de croissance	-	-	-	-	-	-	-
Décès précoce dans la famille	-	-	oui	-	-	-	-
Décès	-	-	-	-	-	oui	-
Signes digestifs	oui	oui	oui	oui	oui	oui	oui
- difficultés alimentaires	oui	-	-	oui	oui	-	-
- vomissements	-	-	oui	-	-	-	-
- hépatomégalie	-	-	oui	oui	oui	oui	oui
- splénomégalie	-	-	-	-	-	oui	oui
- ictère	oui	oui	oui	oui	oui	-	-
- ascite	-	-	oui	oui	oui	-	oui
Signes neurologiques	oui	-	-	-	-	-	oui
- mouvements anormaux	-	-	-	-	-	-	-
- troubles de conscience	oui	-	-	-	-	-	oui
Hypoglycémie	-	-	oui	-	-	-	-
Encéphalopathie hépatique à l'EEG	-	-	oui	*	-	-	-
Galactose 1 phosphate	↗	↗	↗	↗	↗	-	-
TGO (UI/L)	299	95	*	*	134	123	43
TGP (UI/L)	261	166	*	*	72	52	32
Bilirubine directe (mg/L)	141	205	*	*	37	39	*
γGT (UI/L)	36	55	*	*	19	158	80
Phosphatase alcaline (UI/L)	894	1010	*	*	*	795	109
Hyperlactacidémie	*	oui	oui	*	*	Oui	*
Facteur V (%)	10	10	21	32	27	28	22
TP(%)	*	12	10	36	*	10	48
Alpha foetoprotéine (ng/ml)	27.450	28.360	77.735	*	*	56.720	*
Ferritine augmentée (%)	-	*	-	*	*	*	*
Ammoniémie (μg/l)	149	357	244	*	*	93	101
CPK (UI/L)	157	159	*	*	*	*	*
Iso électrofocalisation de la transferrine	-	-	-	-	-	-	anormale

* : donnée manquante /

- : non

M : masculin/F féminin

Tableau n°5 : Caractéristiques des patients atteints de maladie du métabolisme des sucres

C. Autres (tableau n°6)

Dans notre population, nous avons observé un cas de déficit en LCHAD. Au niveau clinique, il présentait des signes digestifs et neurologiques liés aux hypoglycémies en période néonatale dans un contexte de HELLP syndrome. Il était hospitalisé une nouvelle fois à l'âge de 8 mois en IHC associée à des hypoglycémies et une hypotonie. Au niveau biologique on retrouvait une cytolysse importante (8 fois la normale), une bilirubine conjuguée à 50mmol/l, des CPK à 500UI/l, des lactates élevés et une cardiomyopathie hypertrophique. Le diagnostic était évoqué par la présence d'hypoglycémies sans cétose associée à un profil d'acylcarnitine anormal, une carnitine libre effondrée et un rapport carnitine estérifiée/libre augmentée et était confirmé par l'étude enzymatique sur fibroblastes et la génétique.

Un diagnostic de maladie de Wilson était posé devant des signes neurologiques avec troubles du comportement, une splénomégalie importante et un foie micronodulaire chez un patient de 14 ans (adolescent). Le patient ne présentait pas d'ictère au diagnostic mais une bilirubine directe à 18 mg/l. Les phosphatases alcalines étaient augmentées. La cytolysse hépatique était modérée. Le diagnostic était évoqué par la présence d'une céruloplasmine effondrée et la présence de cuivre dans les urines et confirmé par une étude moléculaire. Au niveau ophtalmologique, le patient présentait un anneau de Kayser-Fleischer.

Le cas de déficit en PFIC3 était suspecté devant une hépatomégalie avec des signes d'hypertension portale à 9 mois de vie. Initialement, la patiente ne présentait pas de cytolysse hépatique. Puis à 6 ans, la patiente présentait une insuffisance hépatocellulaire avec essentiellement des signes digestifs sans signes neurologiques une cytolysse hépatique à 9 fois la normale, une cholestase sévère avec une

bilirubine très augmentée et des γ GT normaux en regard (taux non retrouvé dans le dossier). Au niveau paraclinique, le diagnostic était posé par les analyses génétiques devant la mutation homozygote du gène de MDR3.

Dans le cas de la maladie de Niemann Pick C, l'intervalle libre entre la naissance et les premiers signes d'insuffisance hépatocellulaire était de 1 jour, marqué par une cholestase importante avec une bilirubine conjuguée à 50 mg/dl et évoluant en quelques semaines (6 semaines). Après 6 semaines d'évolution, on observait chez ce patient une hépatosplénomégalie associée à une hypotonie et une aggravation nette de la cholestase avec une bilirubine conjuguée à 100, des γ GT élevés et une cytolyse hépatique à 8 fois la normale. Le diagnostic était évoqué sur la présence de lymphocytes vacuolés et de l'élévation de la chitotriosidase et confirmé par le test à la Filipine sur fibroblastes et la biologie moléculaire. Le diagnostic était posé par la biologie moléculaire.

Dans le cas de cytopathie mitochondriale, l'intervalle libre entre les premiers signes et la naissance était de quelques heures. Le diagnostic était évoqué devant l'association d'une IHC à des de signes neurologiques majeurs et précoces. Ce patient ne présentait pas de retard de croissance intra utérin. L'ensemble de ces signes étaient associés une hyperlactacidémie importante à 16 mmol/l. Le diagnostic était suggéré par l'analyse des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale sur le muscle mettant en évidence un déficit du complexe IV), puis était confirmé par la biologie moléculaire (retrouvant une mutation m.8882C>D située dans l'ATPase 6 mitochondriale).

	LCHAD	PFIC 3	Wilson	Niemann Pick	CM
Age	8 mois	6 ans	14 ans	1 jour	1 jour
Sexe	M	F	F	F	M
Consanguinité	-	-	*	oui	*
Prématurité	oui	-	-	-	-
Retard de croissance	-	-	-	oui	-
Décès précoce dans la famille	oui	oui	-	-	-
Décès	oui	-	-	-	oui
Signes digestifs	oui	oui	oui	oui	-
- difficultés alimentaires	-	-	-	-	-
- vomissements	-	-	-	-	-
- hépatomégalie	oui	oui	-	oui	-
- splénomégalie	-	oui	oui	oui	-
- ictère	oui	oui	-	oui	-
- ascite	-	oui	-	oui	-
Signes neurologiques	oui	-	oui	oui	oui
- mouvements anormaux	oui	-	-	-	oui
- troubles de conscience	-	-	-	-	-
Hypoglycémie	oui	-	-	oui	oui
Encéphalopathie hépatique à l'EEG	oui	oui	-	*	*
TGO (UI/L)	209	405	81	328	*
TGP (UI/L)	176	152	63	198	*
Bilirubine directe (mg/L)	28	182	18	122	*
γGT (UI/L)	361	*	162	*	*
Phosphatase alcaline (UI/L)	698	562	264	*	*
Hyperlactacidémie	oui	*	non	*	oui
Facteur V (%)	69	15	34	*	*
TP(%)	42	19	50	*	*
Alpha foetoprotéine (ng/ml)	273	*	*	*	*
Ferritine augmentée (%)	*	*	*	*	*
Ammoniémie (μg/l)	81	64	18	*	*
CPK (UI/L)	221	*	*	*	*
Chaine respiratoire	-	-	-	-	anormale
Biopsie hépatique	-	-	-	anormale	-
Céruleplasmine	-	-	↘	-	-
Cuprurie	-	-	↗	-	-
Acyl carnitine sur Guthrie	anormale	-	-	-	-
Génétique anormale	oui	oui	-	oui	oui

* : donnée manquante /

- : non

M : masculin/F féminin

Tableau n°6 : Caractéristiques des autres patients atteints de maladie du métabolisme

IV. Facteurs prédictifs d'une origine métabolique

Groupe des nouveau-nés (tableau n°7)

Le nombre de données ne permettait pas de réaliser une analyse statistique qualitative ou quantitative. En effet, dans certains cas, les données manquantes étaient trop nombreuses.

De manière descriptive, il semble d'une manière générale, sans que l'on puisse le confirmer d'un point de vue statistique, que :

- le taux de consanguinité soit plus important (50% vs 0%)
- la grossesse soit normale, sans notion de prématurité (0% vs 57,14%)
- le taux de décès précoce dans la famille (in *utero* ou dans l'enfance) soit plus important (42,86% vs 0%)
- Les signes digestifs et neurologiques soient plus présents (87,5% vs 28,57% et 75% vs 28,57%)

Groupe des plus d'un mois (tableau n°8)

Il existait 2 paramètres prédictifs d'une origine métabolique significatifs d'un point de vue statistique :

- le taux de TGP bas (63 [32-229] vs 271 [85-1.794], $p=0.05$)
- des difficultés alimentaires (27.27% vs 0%, $p=0.02$).

Pour les autres paramètres, nous n'avons pas mis en évidence de caractère prédictif.

Néanmoins d'un point de vue descriptif (nombre insuffisant de patients et les nombreuses données manquantes), les éléments suivants semblaient être significatifs :

- Un âge moyen de début plus jeune (0,6 vs 6 ans)
- Des transaminases normales voire faiblement élevées (TGO 110 [81-421] vs 405 [158-4361] et TGP 63 [32-229] vs 271 [85-1794]).
- Un taux d'alpha foetoprotéine plus élevé (45614 [273-203100] vs 3 [2-369]).

	Origine métabolique	Origine non métabolique
Age (en jour)	9,63 [2-21]	8,43 [0-29]
Filles (%)	37,5	57,14
Consanguinité (%)	50	0
Prématurité (%)	0	57,14
Retard de croissance (%)	14,29	14,29
Détresse néonatale (%)	37,5	14,29
Décès précoce dans la famille (%)	42,86	0
Signes digestifs (%)	87,5	28,57
- augmentation du périmètre abdominal (%)	0	0
- difficultés alimentaires (%)	62,5	0
- perte de poids (%)	50	0
- vomissements (%)	12,5	0
- hépatomégalie (%)	37,5	28,57
Signes neurologiques (%)	75	28,57
- hypotonie axiale (%)	37,5	14,29
- hypertonie périphérique (%)	12,5	0
- mouvements anormaux (%)	12,5	0
- troubles de conscience (%)	25	0
Hypoglycémie (%)	25	14,29
Syndrome infectieux	12,5	0
Encéphalopathie hépatique à l'EEG (%)	16,67	60
TGO (UI/L) (moyenne [25ème-75ème percentile])	216 [95-328]	463 [160-2143]
TGP (UI/L)	182 [72-261]	83 [45-232]
Bilirubine (mg/L)	122 [38-141]	108 [78-187]
γGT (UI/L)	27,5 [10-45,5]	338 [190-583]
Phosphatase alcaline (UI/L)	894 [50-1010]	217 [217-830]
Lactate (mmol/l)	8,30 [4,46-16]	14,5 [5,38-15]
Facteur V (%)	15,5 [10-27]	18 [15-48]
TP(%)	12 [10-36]	31 [10-31]
Alpha foetoprotéine (ng/ml)	28.360 [27.450-77.735]	44.380 [1.528-87.233]
Ferritine (µg/L)	518 [518-518]	12.269 [30-24.508]
CPK (UI/L)	159 [157-430]	1279 [1279-1279]

(Médiane [1er -3ème quartile])

Tableau n°7 : Comparaison entre les insuffisances hépatiques d'origine métabolique et non métabolique chez les nouveau-nés de moins d'un mois (n=15)

	Origine métabolique	origine non métabolique	Valeur de p
Age (en années)	0,60 [0,2-14]	6 [1-13]	0,18
Filles (%)	27,27	48,39	0,3
Consanguinité (%)	20	0	*
Prématurité (%)	36,36	13,79	0,1
Retard de croissance (%)	11,11	0	*
Décès précoce dans la famille (%)	11,11	11,76	*
Décès (%)	18,18	22,58	0,76
Signes digestifs (%)	81,82	66,67	0,29
- difficultés alimentaires (%)	27,27	0	0,02
- vomissements (%)	45,45	46,67	0,95
- hépatomégalie (%)	27,27	38,71	0,85
- cholestase (%)	18,18	6,67	0,29
- ascite (%)	18,18	20	0,70
Signes neurologiques (%)	62,5	26,32	0,1
- mouvements anormaux (%)	9,09	3,33	*
- troubles de conscience (%)	18,18	10	*
Hypoglycémie (%)	9,09	0	*
Encéphalopathie hépatique à l'EEG (%)	40	38,46	0,63
TGO (UI/L)	110 [81-421]	405 [158-4.361]	0,07
CAAS anormale (%)	100	50	0,08
CAOU anormale (%)	83,33	66,67	0,58
TGP (UI/L)	63 [32-229]	271 [85-1.794]	0,05
Bilirubine (mg/L)	20,50[11-39]	61 [16-107]	0,07
γ GT (UI/L)	98,5 [56-158]	55,5 [29,5-118,5]	0,28
Phosphatase alcaline (UI/L)	660 [254-1.371]	304 [197-562]	0,15
Lactate (mmol/l)	3,32 [1,6-5,35]	6,50 [2,62-8,8]	*
Facteur V (%)	37,18 [12,55]	31,3 [15,56]	0,23
TP(%)	17 [10-42]	33,50 [26,5-44,5]	0,2
Alpha foetoprotéine (ng/ml)	45.614 [273-203.100]	3 [2-369]	*
Ferritine (%)	50	50	0,83
Ammoniémie (μ g/l)	81 [46-101]	59 [47-112]	0,93
Echographie cardiaque (%)	28,57	14,29	0,37
CPK (UI/L)	252 [225-2.136]	74 [49,85-22,5]	*
(Médiane [1er -3ème quartile])	significativité p \leq 0,05		
Moyenne [déviat ion standard]	* test impossible		

Tableau n°8 : Comparaison entre les insuffisances hépatiques d'origine métabolique et non métabolique chez les enfants de plus d'un mois (n=42)

V. Caractéristiques des patients avec une IHC d'origine indéterminée

Groupe des moins de un mois (tableau n°9)

Chez les patients de moins d'un mois, nous avons retrouvé les caractéristiques suivantes :

- L'intervalle de temps entre la naissance et les premiers signes d'IHC est court (0 jour [0-2.5])
- La proportion de retard de croissance est importante (42.86%)
- Le nombre de décès précoce dans la famille est important (33%)
- Le taux de mortalité est plus important (13.33 vs 50% avec $p=0.05$)
- L'hypoglycémie est plus fréquente (20 vs 60% avec $p= 0.025$)

Il existe une différence significative entre les 2 groupes pour l'hypoglycémie et le taux de mortalité.

Par ces caractéristiques, nous pouvons déduire que lorsque l'origine de l'IHC est indéterminée, il semble que la maladie soit de début plutôt ante natal (Retard de croissance intra utérin), soit plus sévère (décès).

Groupe des plus d'un mois (tableau n°10)

Chez les patients de plus d'un mois, nous avons retrouvé les caractéristiques suivantes :

- L'intervalle de temps entre la naissance et les premiers signes d'IHC est court (0.60 ans [0.2-3] vs 4.45 [0.6-13] avec $p= 0.01$)
- Le pourcentage de fille est moins important (42.8% vs 13.29% avec $p = 0.04$)
- La proportion de retard de croissance est importante (21.74%)

- Le taux de mortalité est plus important (21.43 vs 46.15% avec $p=0.03$)
- La cytolysse hépatique est importante (TGO : 1090 UI/l [281-2309] vs 256 UI/l [105-3703] avec $p=0.04$)
- Le taux de CPK est élevé (497UI/l [141-3689])

Il existe une différence significative entre les 2 groupes pour le sexe, l'âge, le taux de mortalité et le taux de cytolysse.

Par ces caractéristiques, nous pouvons déduire que lorsque l'origine de l'IHC est indéterminée, il semble que les patients soient plus jeunes, plutôt de sexe masculin, le tableau clinique plus grave avec une cytolysse plus importante.

	Origine déterminée	origine indéterminée	Valeur de p
Age (en jour)	3 [0-21]	0 [0-2,5]	0,2
Filles (%) [-	46,67	56,25	0,59
Consanguinité (%)	37,5	9,09 *	
Prématurité (%)	26,67	6,67 *	
Retard de croissance (%)	14,29	42,86	0,2087
Détresse néonatale (%)	26,67	7,14 *	
Décès précoce dans la famille (%)	27,27	33,33 *	
Décès du patient (%)	13,33	50	0,05
Signes digestifs (%)	60	33,33	0,14
Signes neurologiques (%)	53,33	73,33	0,26
Hypoglycémie (%)	20	60	0,025
Syndrome infectieux	6,67	0 *	
Encéphalopathie hépatique à l'EEG (%)	36,36	18,18 *	
TGO (UI/L) (moyenne [25ème-75ème percentile])	312 [122-852]	394 [144-647]	0,84
TGP (UI/L)	128 [58,58-246]	96 [48,5-220]	0,86
Bilirubine (mg/L)	203.9 [238]	252 [390]	0,87
γGT (UI/L)	72 [27,5-338,5]	49,5 [37-383]	0,76
Phosphatase alcaline (UI/L)	862 [217-1.010]	617 [419-990]	*
Lactate (mmol/l)	11,40 [5,38-15]	11,85 [11,70-18,85]	*
Facteur V (%)	18 [10-32]	12 [10-22]	0,64
TP(%)	21,5 [10-31]	10 [10-11]	*
Alpha foetoprotéine (ng/ml)	28.360 [27.450-77.735]	54.550 [39.068-75.000]	*
Ferritine (µg/L)	518 [30-24.508]	735 [306-5.328]	*
CPK (UI/L)	294 [158-854]	100 [80-9.660]	*
Ammoniémie (µg/l)	256 [140-431]	74,5 [50-104]	*
Echographie cardiaque (%)	38,46	36,36	1

(test de Wilcoxon : Médiane [1er -3ème quartile], T Test : moyenne [déviat standard])

Significativité avec p
≤0.05

* test impossible

Tableau n°9 : Comparaison entre les insuffisances hépatocellulaires d'origine déterminée et indéterminée chez les nouveau-nés de moins d'un mois (n=31)

	Origine déterminée	Origine indéterminée	Valeur de p
Age (en années)	4,45 [0,6-13]	0,60 [0,2-3]	0,01
Filles (%)	42,86	13,29	0,04
Consanguinité (%)	11,11	13,33	*
Prématurité (%)	20	20	1
Retard de croissance (%)	3,7	21,74	*
Décès précoce dans la famille (%)	11,54	1,11	*
Décès (%)	21,43	46,15	0,03
Signes digestifs (%)	70,73	53,85	0,16
Signes neurologiques (%)	37,04	50	0,4
Hypoglycémie (%)	2,44	3,85	0,63
Encéphalopathie hépatique à l'EEG (%)	39,13	45,45	0,67
CAAS Anormale (%)	84,62	73,33	0,88
CAOU anormale (%)	77,78	56,25	0,94
TGO (UI/L)	256 [105-3.703]	1.090 [281-2.309]	0,04
TGP (UI/L)	175 [66-1.515]	454 [211-1.690]	0,09
Bilirubine (mg/L)	29 [15-96]	9 [4-52]	0,03
γ GT (UI/L)	61,5 [36-119]	72 [39-117]	0,97
Phosphatase alcaline (UI/L)	311 [197-698]	316 [246-552]	0,8
Lactate (mmol/l)	4,44 [2,31-8,76]	5,65 [2,77-11,34]	0,29
Facteur V (%)	33 [13.54]	29,44 [16.37]	0,35
TP(%)	32 [17-43]	32,5 [20,5-39]	0,76
Alpha foetoprotéine (ng/ml)	369 [26-85.557]	17,05 [13,4-107]	*
Ferritine augmentée (%)	50	60	0,64
Ammoniémie (μ g/l)	61,5 [46,5-109]	76 [38-157]	0,94
Echographie cardiaque (%)	17,86	23,53	0,46
CPK (UI/L)	132 [53,8-266]	497 [141,5-3.689]	0,03
(test de Wilcoxon : Médiane [1er -3ème quartile])		significativité p \leq 0,05	

T tests : Moyenne [déviation standard]

* test impossible

Tableau n°10 : Comparaison entre les insuffisances hépatocellulaires d'origine déterminée et indéterminée chez les enfants de plus d'un mois (n=69)

VI. Résultats du séquençage haut débit

Groupe des moins d'un mois

Chez 15 patients, l'étiologie était indéterminée :

- 7 demandes de séquençage sur fibroblaste, biopsie de muscle ou DNA thèque
- 8 patients sans matériel génétique disponible (pas de prélèvements, refus de prélèvement par les parents)

Nous avons obtenu :

- un diagnostic par ce séquençage pour 2 patients (POLG et DGUOK)
- un résultat négatif

Les autres résultats des deux laboratoires de génétique sont actuellement encore en attente (soit 43% de données manquantes).

Groupe des plus d'un mois

Nous avons recherché du matériel génétique pour les 26 patients.

- 12 demandes de séquençage sur tissus ont été envoyées
- 17 patients sans matériel génétique disponible (pour des raisons familiales ou médicales).

Parmi les patients étudiés, nous avons pu poser un diagnostic de NGLY et SCAD chez un seul patient, grâce à un séquençage d'exome (et non par séquençage par NGS), les autres examens étant actuellement encore en cours.

Caractéristiques des patients dont le diagnostic est posé par séquençage haut débit (tableau n°11)

L'ensemble des caractéristiques des patients pour lesquels un diagnostic a pu être posé grâce aux méthodes de séquençage haut débit est décrit dans le tableau n°12.

Les mutations de POL G et DGUOK sont des cytopathies mitochondriales par atteinte de gènes nucléaires de dysfonctionnement mitochondrial. Les premiers signes débutaient durant le premier mois de vie par des signes digestifs et neurologiques (notamment des troubles de conscience et une hypotonie majeure). Les patients présentaient, au diagnostic d'insuffisance hépatocellulaire, une cholestase importante avec une cytolyse hépatique. Il existait une hyperlactacidémie très importante entre 10 et 15 mmol/l associée à une acidose métabolique avec un taux de bicarbonates inférieurs à 10 mmol/l. L'augmentation de l'Alanine et de la Proline sur la CAAS, ainsi que le taux de lactates important au niveau urinaire étaient très en faveur d'une cytopathie mitochondriale. Le diagnostic était suggéré par les résultats anormaux des complexes de la chaîne respiratoire sur tissus frais (muscle et fibroblastes) mais ne peut être confirmé que par l'étude génétique, ici par NGS, dans ces cas 6 mois et 12 ans après le décès, grâce à la mise à disposition de ces techniques plus rapides.

Dans le cas de la mutation NGLY1, l'ictère était très important et l'enfant présentait une régression psychomotrice avec apparition d'une hypotonie axiale et de crises convulsives caractéristiques dans cette pathologie. Au niveau biologique, la cytolysé hépatique était très importante, l'acidose lactique modérée (lactate à 5.4 mmol/l) et la ferritine très augmentée.

	DGUOK	POL G	NGLY1 SCAD
Age	2 jours	21 jours	6 mois
sexe	F	M	M
Consanguinité	-	-	-
Prématurité	-	-	-
Retard de croissance	-	oui	-
Détresse néonatale	-	-	-
Décès précoce dans la famille	-	-	-
décès du patient	oui	oui	-
Signes digestifs	oui	oui	oui
- difficultés alimentaires	-	oui	-
- vomissements	oui	oui	-
- ictère	oui	oui	oui
- hépatomégalie	oui	oui	oui
Signes neurologiques	oui	oui	oui
- hypotonie axiale	oui	oui	oui
- hypertonie périphérique	-	-	-
- mouvements anormaux	-	-	oui
- trouble du comportement	-	oui	-
- troubles de conscience	oui	oui	oui
Hypoglycémie	oui	oui	oui
Syndrome infectieux	-	-	-
Encéphalopathie hépatique à l'EEG	oui	oui	*
CAAS Alanine (µmol/l)	4300	Augmenté	Normale
CAAS Proline (µmol/l)	1169	Augmenté	normale
CAOU lactate (mmol/mol de créatinine)	1200	35790	0
Bilirubine (mg/L)	63	92	*
TGO (UI/L)	366	101	1198
TGP (UI/L)	223	98	1055
γGT (UI/L)	298	94	137
Phosphatase alcaline (UI/L)	497	887	*
Lactates (mmol/l)	15	10	4.2
Acidose métabolique	Oui	oui	Oui
Facteur V (%)	10	*	26
TP(%)	10	29	31
Alpha foetoprotéine (ng/ml)	normale	*	*
Ferritine (µg/L)	*	*	10.855
CPK (UI/L)	113	normale	596
Ammoniémie (µg/l)	*	*	*
Génétique	DGUOK	POL G	Exome NGLY

*: donnée manquante / -: non / F: féminin et M: masculin

Tableau n°11 : Diagnostic génétique, caractéristiques anamnestiques / cliniques / paracliniques des patients dont le diagnostic est posé par séquençage génétique

DISCUSSION

I. Population d'étude

Notre population est composée de 100 cas que nous avons, par choix, séparés en 2 groupes selon l'âge (plus ou moins d'un mois de vie) du fait des étiologies différentes selon l'âge.

Chez les patients de moins d'un mois, nous avons observé une prédominance des étiologies indéterminées avec 52% de notre population et 29% d'insuffisances hépatocellulaires d'origine métabolique. Chez les plus d'un mois, il existait une étiologie non métabolique chez 46% de la population. Les origines métaboliques étaient, dans ce groupe, moins représentées, avec 16% de la population.

Dans la littérature, beaucoup d'articles décrivent les causes d'insuffisance hépatocellulaire du nourrisson et de l'enfant, mais on dispose de peu de données sur l'insuffisance hépatocellulaire néonatale.

S. Sundram et al (2011) [20] ont analysé les étiologies d'insuffisance hépatocellulaire chez les nouveau-nés et les nourrissons de moins de 3 mois issus du recueil des données de PALF Study Group. Parmi les 148 enfants inclus, les étiologies indéterminées représentaient 38% de la population et les étiologies métaboliques 19%.

Dans une revue de la littérature, D. Devictor et al (2011) [8] ont repris les causes d'insuffisance hépatocellulaire chez les nouveau-nés, les nourrissons et les

enfants : les principales causes chez le nouveau-né et le nourrisson étaient les infections virales et les maladies métaboliques. Les auteurs ont également repris les données de l'étude du PALF Study Group, dans laquelle 49% des nourrissons de moins de 7 mois présentaient une insuffisance hépatocellulaire d'origine indéterminée.

II. Etiologies métaboliques

Dans cette étude, nous avons recueilli l'ensemble des données anamnestiques, cliniques et paracliniques afin de décrire les éléments évocateurs de chacune des pathologies. Nous ne pouvons pas actuellement conclure à l'existence de critères particuliers pour les pathologies métaboliques observées dans notre étude, du fait de faibles effectifs.

A. Tyrosinémie de type 1

La tyrosinémie de type 1 est une maladie autosomique récessive rare, révélée par une insuffisance hépatocellulaire apparaissant de manière progressive, classiquement après un intervalle libre de 2-3 semaines. Dans notre série, l'intervalle libre variait de 3 semaines à 7 mois. L'apoptose des cellules hépatiques et tubulaires rénales, conduisant à une insuffisance hépatocellulaire et à une tubulopathie, est caractéristique de cette pathologie [21]. Les taux d'alpha foetoprotéine et de phosphatases alcalines sont en général très augmentés. Classiquement, on ne retrouve pas de cholestase ou de cytolyse hépatique importante lors du diagnostic, ce qui a été observé pour les 5 patients.

Dans notre population, cette maladie représente 26% des IHC d'étiologie métabolique. Dans l'étude de R. Hegarty et al [19], la tyrosinémie de type 1 représentait 11% de la population étudiée.

B. Galactosémie

Dans le cas de la galactosémie, la présentation classique associe une insuffisance hépatocellulaire, des signes digestifs et souvent une infection souvent

sévère et précoce à E. Coli, après l'introduction de l'alimentation lactée. Une cataracte congénitale peut être associée. Dans notre population, un seul patient présentait une infection sévère à E Coli. Cette maladie représentait également 26% de la population des étiologies métaboliques.

Au niveau paraclinique, on observe une augmentation du taux des γ GT et une cholestase importante, ce qui est rapporté dans notre série.

Dans l'étude de R. Hegarty et al [19], la galactosémie représentait 47% de la population étudiée.

C. Déficit du cycle de l'urée

Il s'agit d'une anomalie de la détoxification de l'ammoniac par l'organisme, secondaire à un bloc enzymatique sur la cascade de réaction du cycle de l'urée. Ce déficit figure parmi les maladies métaboliques les plus fréquentes (Orphanet). L'incidence est d'environ 1 naissance sur 8000. Cette pathologie peut se déclarer en période néonatale comme à l'âge adulte. Les signes révélateurs associent classiquement des signes neurologiques aux signes digestifs, qui doivent faire réaliser un dosage d'ammoniémie en urgence. En cas d'hyperammoniémie sévère ou modérée, surtout chez l'adulte, il faudra penser à un déficit du cycle de l'urée comme cause d'IHC [22].

Il faut alors faire réaliser en urgence un prélèvement en vue d'une chromatographie des acides Aminés sanguins (CAAS) et urinaires (CAAU), un dosage de l'acide orotique urinaire et débiter les traitements épurateurs en urgence

pour protéger le pronostic vital et neurologique du patient. Le diagnostic de certitude se fait par une méthode de biologie moléculaire.

D. Déficit de la bêta oxydation

Dans notre série de patient, un patient présentait un déficit d'oxydation des Acides gras à longues chaînes (LCHAD), décompensant dans un contexte infectieux en une IHC. Dans la série de Baruteau et al [23], 27 % des patients atteints de déficit oxydation des Acides Gras (AG) présentaient une IHC quel que soit l'âge et 49 % un syndrome de Reye. Il est donc important de connaître ce mode d'expression hépatique dans les déficits d'oxydation des AG.

E. Maladie de Wilson [24]

La maladie de Wilson n'entraîne des insuffisances hépatocellulaire que dans sa forme fulminante. Elle représente 3 % des insuffisances hépatocellulaires de l'enfant dans le PALF Study Group [4].

Ce diagnostic est à envisager chez l'enfant de plus de 3 ans présentant une insuffisance hépatocellulaire. Chez les moins de 3 ans, on retrouvera plutôt une cytolysse hépatique.

On suspectera d'autant plus ce diagnostic si l'IHC est associée à :

- Des troubles de conscience
- Une anémie hémolytique à test de COOMBS négatif
- Une cholestase ictérique
- Des phosphatases alcalines normales ou basses
- Un taux de céruloplasmine bas, une cuprémie et une cuprurie élevée.

Au niveau ophtalmologique l'anneau de Kayser Fleischer est très évocateur, mais peut être absent dans 50% des cas.

Dans le cas de notre patient, nous n'avions pas retrouvé d'ictère et les phosphates alcalines étaient augmentés.

F. CDG syndrome de type 1b [25]

Il existe 2 types de syndrome d'hypo glycosylation des protéines : le type I où il existe un défaut de synthèse des précurseurs de la chaîne des glycanes et le type II où l'anomalie se trouve au niveau de leur maturation dans l'appareil de Golgi.

Seule la forme Ib peut être responsable d'insuffisance hépatocellulaire. Cliniquement, cette pathologie associe des signes hépatiques et d'entéropathie (vomissements, diarrhée, stéatorrhée..), ainsi que des hypoglycémies. Habituellement, il n'y a pas de signes neurologiques en dehors d'une hypotonie.

Au niveau biologique, il existe une cytolysse jusque 10 fois la normale, une hypoalbuminémie et un profil anormal d'iso électrofocalisation de la transferrine.

G. Maladie de Niemann Pick C [26]

La Maladie de Niemann Pick C est une maladie lysosomale avec accumulation de molécules complexes dans les tissus, notamment le système nerveux central et les cellules à renouvellement rapide (le foie, la rate et la moelle osseuse).

L'observation d'un ictère néonatal, associé par la suite à une importante hépatosplénomégalie et une hypotonie globale, doit faire évoquer cette maladie.

Au niveau paraclinique, on retrouve une cytolyse à 5 fois la normale et une cholestase sévère (bilirubine conjuguée à 100 mg/l). La NFS met en évidence des lymphocytes vacuolés, ce qui est un élément simple d'orientation. Le myélogramme peut retrouver des histiocytes vacuolisés (mais peut être normal). Il est retrouvé une augmentation majeure de la chitotriosidase.

Pour J.E. Wraith et al en 2009 [27], une IHC survient chez 12 % des formes néonatales de maladie de Niemann Pick C. Son diagnostic repose sur le test à la filipine sur fibroblastes et sur l'étude génétique, soulignant là aussi l'intérêt majeur de réaliser, rapidement dans la prise en charge de ces patients, une biopsie de peau pour culture et de fibroblastes

H. Déficit en polyols [28]

Dans le déficit en transaldolase, l'intervalle libre entre la naissance et les premiers signes cliniques sont seulement de quelques heures. Classiquement, on observe une hépatosplénomégalie dès la naissance associée à une hypotonie axiale sévère,

et du point de vue biologique, une anémie et une thrombopénie. Apparaissent par la suite un « cutis laxa » et une hypertrichose caractéristique, ce que nous avons retrouvé chez notre patiente. Dans le cas rapporté par Balasubramaniam et al, en 2011 [29], les critères présents le plus souvent étaient la notion de consanguinité, l'hépatosplénomégalie, la dysfonction hépatique et la thrombopénie. De ce fait, en présence de ces signes chez un nouveau-né, il sera important de doser en urgence les polyols urinaires pour confirmer le diagnostic.

III. Facteurs prédictifs d'une origine métabolique

Nous avons retrouvé, dans la littérature, plusieurs articles étudiant des facteurs prédictifs d'une origine métabolique [30] [31]. Dans notre étude, le nombre de données manquantes et les effectifs réduits ne nous ont pas permis de mettre en évidence de nombreux facteurs prédictifs. Néanmoins, la consanguinité et les décès précoces (in utéro ou dans l'enfance) semblent être un critère commun avec ces études.

IV. Etiologies indéterminées

Dans cette partie, nous avons recherché les éléments différenciant les patients dont l'IHC était d'origine déterminée (métabolique et non métabolique) et ceux dont l'origine était indéterminée.

Par cette analyse, nous souhaitons identifier des caractéristiques particulières permettant de les différencier. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence qu'en cas d'absence de diagnostic étiologique, le décès était plus fréquent, montrant ainsi qu'il s'agissait probablement d'étiologies plus sévères, que les signes cliniques étaient souvent plus précoces voire anténataux (RCIU), témoignant de déficits enzymatiques plus sévères.

Chez les moins d'un mois, 33% de notre population présentait des antécédents familiaux de décès précoces dans la famille (critère retrouvé dans les causes métaboliques). L'hypoglycémie faisait également partie des critères observés de manière significativement plus importante dans les étiologies indéterminées, témoignant soit d'un dysfonctionnement hépatique d'emblée plus sévère ou d'un désordre métabolique associé.

Ces éléments pourraient faire suspecter qu'il existe dans le groupe des causes indéterminées des pathologies probablement métaboliques graves dont le diagnostic est difficile à poser, comme la cytopathie mitochondriale.

V. Résultats du séquençage haut débit par NGS

En vue de rechercher des étiologies dans le groupe des IHC d'origine indéterminée et d'étudier l'apport de la méthode de séquençage génétique nouvelle génération en cas d'insuffisance hépatocellulaire indéterminée, nous avons fait réaliser par les laboratoires de génétique du CHRU de Lille et du CHU Kremlin-Bicêtre le séquençage chez 7 patients âgés de moins d'un mois et 12 patients de plus d'un mois.

Toutes les familles des patients pour lesquels il n'a pas été retrouvé d'étiologie à l'IHC ont été recontactées afin d'obtenir leur consentement pour la réalisation de prélèvements en vue de ce séquençage.

Nous ne disposons actuellement pas de tous les résultats de ces analyses. Il est donc statistiquement impossible de prouver à ce jour l'apport de la NGS. Néanmoins, nos premiers résultats indiquent que le séquençage génétique peut apporter une réelle avancée dans le diagnostic des insuffisances hépatocellulaires d'origine indéterminée. En effet, chez les patients de moins d'un mois, nous avons reçu les résultats de 3 patients, permettant dans deux cas le diagnostic d'une maladie métabolique : 1 mutation POLG et une mutation DGUOK, et un résultat négatif pour le PUCE. Chez les patients de plus d'un mois, un seul diagnostic a pu être posé par séquençage génétique de l'exome : 1 cas de NGLY et SCAD.

Ces pathologies de découverte récente sont classées dans les cytopathies mitochondriales.

La maladie métabolique correspondant à la mutation du gène DGUOK est une cytopathie mitochondriale par délétion de l'ADN mitochondrial qui atteint le nourrisson. C'est une forme de maladie métabolique hépato-cérébrale. L'insuffisance hépatocellulaire est en générale néonatale. Chez ces patients, on retrouve une hypotonie majeure, un nystagmus rotatoire et une régression des acquisitions. Au niveau paraclinique, ils présentent une cholestase importante, des hypoglycémies, une acidose lactique, une augmentation de la ferritine et de l'alpha foetoprotéine et une augmentation de la tyrosine sur les chromatographies des acides aminés sanguins [32] [33].

Dans le cas de notre patiente (sans antécédent de consanguinité), on observait, dès le deuxième jour de vie, des vomissements sanglants, une hypotonie globale, une somnolence et des hypoglycémies. Une lame d'ascite péri-hépatique, sans hépatomégalie, était constatée à l'échographie abdominale.

Au niveau biologique, elle présentait une cytolyse hépatique avec des TGO à 366UI/l, des TGP à 223UI/l, une cholestase avec une bilirubine totale à 63mg/l, des lactates augmentés à 11,7 mmol/l avec un rapport lactate / pyruvate à 31.9. Le facteur V était à 10% et le taux de prothrombine n'était pas mentionné dans les courriers. Les CPK étaient normales à 113 UI/l.

A l'électroencéphalogramme, le tracé était désorganisé et anormalement lent à 2Hz. Les CAAS étaient normales ainsi que les CAOU et l'acylcartinine sur Guthrie.

Un bilan étiologique exhaustif avait alors été réalisé, ne retrouvant pas de leucinose, pas d'anomalie du cycle de l'urée, pas d'acidurie organique, pas de

galactosémie, pas de tyrosinémie, pas de fructosémie, pas d'anomalie de la bêta oxydation. La biopsie musculaire réalisée était en faveur d'une cytopathie mitochondriale avec anomalie au niveau du complexe IV de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les prélèvements effectués ont permis de mettre en évidence un syndrome de délétion de l'ADN mitochondrial par mutation du gène DDUOK.

Nous avons également pu poser le diagnostic chez un patient d'une mutation POLG. Il s'agit d'une maladie mitochondriale où l'on observe une diminution de la concentration des complexes de la chaîne respiratoire I, III et IV, de transmission autosomique récessive ou dominante. Elle entraîne une régression du développement psychomoteur associée à une épilepsie partielle pharmaco-résistante avant 2 ans, un nystagmus et une dysfonction hépatique, notamment à l'introduction du Valproate de Sodium (DEPAKINE®) [32] [33].

Dans notre cas, il s'agissait d'un nourrisson de 3 semaines, sans notion de consanguinité, dont la grossesse était marquée par un retard de croissance intra utérin et dont les suites en maternité avaient été simples. Il a ensuite présenté, à 3 semaines de vie, une modification du comportement avec des difficultés alimentaires, des vomissements et un ictère. Il présentait également des hypoglycémies. L'échographie abdominale montrait une hépatomégalie de structure homogène pouvant évoquer une maladie de surcharge. Une cytolyse hépatique modérée avec des TGO à 101 UI/l et des TGP à 98 UI/l, associée à une cholestase avec une bilirubine totale à 92 mg/l, étaient constatées. On retrouvait un taux élevé de lactate à 12 mmol/l et des CPK normales. A l'électroencéphalogramme, le tracé était globalement ralenti, traduisant une souffrance cérébrale diffuse modérée, compatible

avec une encéphalopathie métabolique. Les chromatographies des acides organiques urinaires étaient en faveur d'une cytopathie mitochondriale. Les bilans à la recherche d'une galactosémie, d'une tyrosinémie, d'une fructosémie étaient négatifs. Un premier prélèvement en vue d'une étude génétique, adressé à l'hôpital Bicêtre pour la recherche d'une mutation DGUOK était revenu négatif. Puis, grâce à la Puce NGS cholestase, on posait un diagnostic de mutation du gène POLG.

Le dernier diagnostic, posé par le séquençage génétique dans notre étude, était un diagnostic de mutation du gène NGLY 1, qui est un gène codant pour une protéine impliquée dans la dé glycosylation des glycoprotéines et glycopeptides dans le cytosol. Il s'agit d'une pathologie de découverte récente, pour laquelle très peu de cas ont été recensés dans le monde [34] [35]. Dans les 8 cas décrits, on observait une régression psychomotrice, une hypotonie et des mouvements anormaux au premier plan. Une dysfonction hépatique était également présente.

Dans le cas observé dans notre population, la grossesse était marquée par un retard de croissance intra-utérin. Puis vers 6 mois, on observait une hypotonie globale avec un retard des acquisitions (l'enfant ne tenait pas sa tête à 6 mois). Au cours d'un épisode infectieux, à l'âge de 6 mois, l'enfant a présenté des troubles de conscience avec des mouvements anormaux (mouvements oculaires anormaux, crise convulsive de l'hémicorps gauche) avec hépatomégalie sans splénomégalie chez un enfant somnolent. Au niveau paraclinique, il présentait des hypoglycémies, une cytolyse hépatique ainsi qu'un cholestase majeure associée à une augmentation des CPK et des lactates. La ferritinémie était très élevée à 10 855 ng/ml. Devant ce tableau, une biopsie musculaire a été réalisée permettant, après analyse de l'exome,

un diagnostic de mutation NGLY associée à un déficit de la bêta oxydation de type SCAD.

D'autres pathologies ont récemment été mises en évidence dans la littérature par la généralisation des séquençages ADN [32] [33].

VI. Diagnostics non retrouvés d'IHC dans la population étudiée

A. Intolérance héréditaire au fructose

Il s'agit d'une maladie métabolique autosomique récessive causée par un déficit d'activité de l'aldolase B dans le foie, les reins et l'intestin grêle. L'incidence dans la population générale varie de 1/1000 à 1/10000 selon l'ethnie et les habitudes alimentaires. Il est cependant difficile d'évaluer précisément cette incidence, en raison d'une proportion probablement importante de patients pour lesquels le diagnostic n'est pas fait [36].

Cliniquement, il existe un intervalle libre entre la naissance et les premiers signes, lié à l'absence de fructose dans l'alimentation du nouveau-né puis du nourrisson avant la diversification. Les principaux signes cliniques sont digestifs (vomissements, diarrhées, douleurs abdominales, hépatomégalie, ictère) et neurologiques (léthargie, signes d'hypoglycémie). Ils apparaissent à la suite d'ingestion de produits sucrés. Les patients atteints de cette pathologie présentent souvent un dégoût du sucre.

Au niveau biologique, on retrouve une cytolyse hépatique majeure (10 fois la normale), une cholestase et une insuffisance hépatocellulaire grave avec un TP souvent inférieur à 20%. Une acidose métabolique est souvent présente ainsi qu'une tubulopathie rénale.

Jusque 2004, le diagnostic était posé par la présence de signes cliniques en cas de charge intraveineuse en fructose. Cette méthode diagnostique n'est plus à

l'heure actuelle utilisée du fait du risque de complications graves et du caractère désagréable pour le patient de ce test. Actuellement, le diagnostic de certitude est posé par une technique de biologie moléculaire.

B. Syndrome de Reye

Le syndrome de Reye est une encéphalopathie aigue. Les causes sont diverses, de l'infection virale à l'origine métabolique [37].

Au niveau clinique, ce syndrome donne essentiellement des troubles neurologiques avec une désorientation temporo-spatiale, des troubles du comportement puis des troubles de conscience, associés souvent à des vomissements. On retrouve le plus souvent, à l'interrogatoire, la notion de prise d'acide salicylique au décours d'un épisode infectieux.

Au niveau paraclinique, une encéphalopathie hépatique est couramment observée à l'électroencéphalogramme. Du point de vue biologique, on note une acidose métabolique, une insuffisance hépatocellulaire, des hypoglycémies, une augmentation de l'ammoniémie.

En cas de syndrome de Reye, il est primordial de rechercher une cause métabolique. Des syndromes de Reye sont classiquement observés dans les déficits du cycle de l'urée, les déficits de l'oxydation des acides gras (MCAD essentiellement) et les cytopathies mitochondriales. Hormis les cytopathies mitochondriales, ces pathologies sont actuellement traitables.

C. Déficit en citrine

Le déficit en citrine [38] est un déficit du cycle de l'urée. Il s'agit d'une pathologie rare, du transporteur de citrate, de transmission autosomique récessive. Dans sa forme néonatale, on parle de cholestase intrahépatique néonatale par déficit en citrine.

On retrouve un faible poids de naissance associé à un retard staturopondéral. Au niveau clinique, on note une hépatomégalie, et, sur les bilans biologiques, une diminution des facteurs de la coagulation, une anémie hémolytique avec une dysfonction hépatique variable mais le plus souvent modérée, et une hypoglycémie.

Cette pathologie est caractérisée, par la suite, par une cholestase transitoire et une dysfonction hépatique variable, associée à une hyperammoniémie et une hypoprotéinémie.

Le diagnostic est évoqué devant une augmentation de la citrulline et une diminution de l'aspartate sur la CAAS. Le diagnostic est posé par la biologie moléculaire avec une mutation SLC25A13.

D. Hémochromatose néonatale

Nous n'avons pas retrouvé dans notre population de patient atteint d'hémochromatose néonatale. Or cette pathologie est en théorie la 1^{ère} cause d'insuffisance hépatocellulaire néonatale [39]. Sa prévalence reste néanmoins inférieure à 1/1 000 000 naissances.

Dans le cas de l'hémochromatose néonatale la surcharge ferrique débute dès la période anténatale. Au niveau clinique, on constate dès les premières 48 heures

de vie, une insuffisance hépatocellulaire sévère avec hyperbilirubinémie, un syndrome hémorragique, un œdème, une ascite.

Au niveau paraclinique, on observe une hypoglycémie et une acidose lactique, des taux très élevés d'alpha foetoprotéine et de ferritine. Habituellement, les transaminases sont peu ou pas augmentées.

Le diagnostic sera posé sur la surcharge de fer dans les tissus notamment dans les glandes salivaires accessoires (réalisation de biopsie des glandes salivaires accessoires ou BGSA).

A l'heure actuelle, nous ne connaissons pas le mécanisme physiopathologique responsable de cette affection, l'hypothèse d'une allo-immunisation materno-fœtale est actuellement envisagée. Toutefois, il a été suggéré que certaines hémochromatoses néonatales soient en fait des dysfonctionnements mitochondriaux. Ceci renforce l'intérêt des explorations métaboliques en cas de suspicion d'hémochromatose néonatale, dans le même temps que les examens spécifiques (BGSA, IRM hépatique) et la mise en route du traitement antioxydant. Le taux de mortalité est très important

E. Cytopathie mitochondriale

L'insuffisance hépatocellulaire est fréquente dans les déficits de la chaîne respiratoire mitochondriale. Lee et al, en 2013 [33], reprennent 2 études (française et anglaise) qui retrouvaient une cause mitochondriale chez les patients de moins de 12 mois de leur population dans 22.5 et 20% des cas.

La prévalence des cytopathies mitochondriale est cependant difficile à évaluer du fait de leur découverte récente, des signes neurologiques peu spécifiques et de méthodes de diagnostic spécifiques et difficiles d'accès.

Dans notre travail, nous avons discuté plus haut de deux cas de cytopathies mitochondriale : le DGUOK et la mutation POLG. Il en existe beaucoup d'autres pouvant également s'exprimer par une IHC.

Ces pathologies se divisent en 3 catégories [33] [40] :

- Les déplétions sévères de l'ADN mitochondrial dans le foie (DGUOK, POLG1, PEO1, MPV17)
- Les défauts de complexes d'assemblage (BCS1L, GRACILE Syndrome, SCO1)
- Les déficits des gènes de translocation mitochondriale par mutation des gènes TRMU, GFM1 et TSFM.

VII. Forces et limites de l'étude

A. Erreurs et biais

Lors de l'analyse de la population étudiée, nous avons, chez les nouveau-nés et les nourrissons, une proportion importante de pathologies métaboliques ou d'étiologie indéterminée. Ceci peut être dû au fait que le CHRU de Lille est un grand centre hospitalier où sont implantés le centre de référence des maladies métaboliques et un service de réanimation pédiatrique et néonatale. Nos proportions sont sensiblement identiques à celles rapportées dans la littérature, mais nous observons, dans notre population, une proportion bien moindre d'insuffisance hépatique d'origine virale ou médicamenteuse que dans d'autres travaux [4] [8].

Lors de cette étude, nous avons repris les données anamnestiques et cliniques de l'ensemble des patients sur courriers et sur dossiers. Nous avons observé de nombreuses données manquantes concernant la notion de consanguinité, les antécédents familiaux précis et l'examen clinique.

De plus, nous avons également eu des difficultés pour accéder aux résultats de tous les bilans étiologiques réalisés. En effet, le début de l'inclusion des patients se situe en 2005, date à laquelle les résultats et les courriers n'étaient pas tous informatisés. Il existe donc un biais du fait des nombreuses données biologiques manquantes et des examens non réalisés lors du diagnostic de nos patients.

Afin de pouvoir optimiser la prise en charge diagnostique, nous notons qu'il est important de réaliser un interrogatoire précis notant la notion de consanguinité, la

grossesse, les conditions d'accouchement ainsi que les mensurations des patients. L'examen clinique doit être précis, rappelant l'examen neurologique complet ainsi que les signes digestifs. Ainsi, il serait possible de réaliser une étude plus précise et d'orienter mieux le diagnostic et les examens paracliniques.

Pour la réalisation du séquençage haut débit par NGS, nous nous sommes heurtés au fait que peu de prélèvements tissulaires avaient été réalisés chez les patients présentant une insuffisance hépatocellulaire d'origine indéterminée, du fait du refus de la famille, d'un décès précoce au cours de la prise en charge, de perte de vue au cours du suivi ou parce que cette méthode n'était pas possible au moment du diagnostic. Nous avons donc pu réaliser cette technique que sur peu de patients.

De plus, lorsque les tissus étaient prélevés, ils devaient, pour être utilisables, des mois ou des années plus tard, être conservés dans de bonnes conditions. Dans certains cas, des études moléculaires spécifiques sur DNA étaient en cours, dans différents laboratoires, depuis plus de 3 ans, sans résultats lorsque l'étude se faisait, par étude en biologie moléculaire de gènes spécifiques.

Depuis peu de temps, des techniques de séquençage haut débit sont disponibles, une puce IHC au CHU du Kremlin-Bicêtre, dans laquelle nous avons inclus certains patients, et une puce cholestase au CRU de Lille, comportant des gènes responsables de cholestase et IHC dans laquelle nous avons inclus d'autres patients, pour des raisons d'accessibilité et de disponibilité.

Toutefois les résultats obtenus sont encourageants sur l'apport attendu du séquençage haut débit nouvelle génération. En effet, grâce à cette méthode, un

diagnostic étiologique a pu être posé pour 3 sur les 19 demandes. Douze demandes sont en attente de résultats.

B. Forces et Perspectives

Peu d'études à ce jour rapportent le bénéfice de ces techniques dans les diagnostics d'IHC irrésolus. Elle nécessite des études complémentaires. Toutefois, l'analyse de l'apport des méthodes de séquençage nouvelle génération pourrait permettre une avancée dans la prise en charge des patients présentant une insuffisance hépatocellulaire.

En effet, les premiers résultats du séquençage haut débit sont relativement encourageants et ils renforcent l'indication de réaliser des prélèvements précoces. En effet, 3 diagnostics ont pu être posés chez des patients pour la plupart décédés (3/4) et chez qui aucun bilan n'avait apporté de résultat. Certes, pour la prise en charge en urgence, cette méthode ne présente probablement pas pour le moment d'intérêt majeur, puisque nous n'avons pas à l'heure actuelle de traitement curatif pour les pathologies diagnostiquées. Mais cela a un intérêt pour les grossesses ultérieures dans une famille, en offrant la possibilité de réaliser un conseil génétique familial.

De plus, cette technique de séquençage haut débit tend à faire diminuer le délai d'obtention des résultats génétiques. Les pathologies répertoriées dans ces 2 puces, réalisées au CHU du Kremlin-Bicêtre et au CHRU de Lille, regroupent de nombreuses pathologies mitochondriales, pour lesquelles il existe une atteinte multi systémique, et notamment neurologique irréversible, d'évolution généralement

péjorative. En 2015, Hegarty R et al [19] rapportent l'évolution souvent fatale des patients atteints de cytopathies mitochondriales ayant été transplantés pour IHC.

CONCLUSION

L'insuffisance hépatocellulaire est une pathologie rare, létale dans de nombreux cas, et pour laquelle reste à ce jour une proportion importante d'étiologies indéterminées.

Nous avons été confrontés durant cette étude à un grand nombre de données manquantes, tant sur le plan anamnestique, clinique que paraclinique. Il est donc primordial, pour optimiser la prise en charge diagnostique, que nous améliorions notre interrogatoire afin qu'il soit le plus précis possible et le plus complet. Nous recommandons de reprendre, dans l'interrogatoire et l'anamnèse, en cas de suspicion de la maladie métaboliques, les critères décrits par Onyriuka AN [31].

Chez les patients de moins d'un mois, l'IHC est d'origine métabolique dans 26% des cas, justifiant le fait que les bilans soient précoces, exhaustifs pour le métabolisme, en mettant en place les régimes d'éviction d'emblée pour prendre en charge les causes traitables éventuelles en urgence (annexe n°5: bilan métabolique).

Pour les plus d'un mois, les causes métaboliques diminuent proportionnellement avec l'âge, encore présente entre 1 mois et 1 an à 25% puis 10 % après 1 an

L'analyse statistique retrouve comme facteur prédictif d'une origine métabolique chez les patients de plus d'un mois une cytolyse modérée avec des TGP peu élevées et des difficultés alimentaires. Elle ne permettait pas de mettre en évidence de facteurs prédictifs statistiquement significatifs d'une origine métabolique chez les nouveau-nés.

Il existe de nombreuses autres causes d'insuffisance hépatocellulaire, non représentées dans cette population. Nous avons tenté dans ce travail mettre en relief les paramètres évocateurs et les explorations à visée étiologique à réaliser en cas de contexte évocateurs.

Une proportion importante d'étiologies indéterminées justifie que l'ensemble des prélèvements tissulaires soient réalisés rapidement, en absence de diagnostic précis après les examens de première intention, chez les patients (DNA thèque, fibroblastes, biopsie musculaire).

De nouvelles techniques de séquençage haut débit devraient permettre de confirmer plus fréquemment des diagnostics moléculaires chez les patients sans diagnostic étiologique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Trey C, Davidson CS. The management of fulminant hepatic failure. *Prog Liver Dis* 1970; 3: 282-298.
2. Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definition and causes. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 97-106.
3. Baker A., Alonso E., Aw M., Ciocca M., Porta G. and Rosenthal P. Hepatic failure and liver transplant: working group report of the second world congress of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004 Jun; 39 Suppl 2:S632-9.
4. Squires RH, Shneider BL, Bucuvalas J, Alonso E, Sokol RJ, Narkewicz MR et al. Acute liver failure in children: the first 348 patients in the pediatric Acute Liver Failure study group. *J Pediatr* 2006;148:652-658
5. Kelly DA. Managing liver failure. *Postgrad Med J.* 2002 Nov78(925):660-7
6. Liu E, MacKenzie O, Dobyens EL, Parikh CR, Karrer FM, Narkewicz M.R., Sokol R.J. et al. Characterization of acute liver failure and development of a continuous risk of death staging system in children. *J Hepatol* 2006 Jan;44(1):134-41.
7. Durand F, Belghiti J, Bernuau J : Insuffisance hépatique aiguë. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hépatologie, 7-014-C-10,1999,14 p.*
8. Devictor D, Tissieres P, Durand P, Chevret L, Debray D et al Acute Liver failure in neonates, infants and children *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011 Dec;5(6):717-29.
9. Devictor D, Rousset A, Debray D, Tahiri C: Insuffisances hépatiques aiguës graves de l'enfant. *EMC - Pédiatrie - Maladies infectieuses* 1992:1-0 [Article 4-060-A-20
10. Dhawan A , Mieli-Verganig. Acute liver failure in neonates. *Early Hum Dev.* 2005 Dec;81(12):1005-10.
11. Lee WM, Squires RH Jr, Nyberg SL, Doo E, Hoofnagle JH. Acute liver failure: summary of workshop. *Hepatology* 2008; 47 : 1401-15.
12. Robert H, Squires Jr. Acute Liver Failure in children. *Semin Liver Dis.* 2008;28(2):153-166
13. Durand P, Debray D, Mandel R, Baujard C, Branchereau S, Gauthier F, Jacquemin E, Devictor D. Acute liver failure in infancy :a14 years experiency of PLT Center 2001 *J Pediatr.* 2001 Dec;139(6):871-6

14. Squires RH, Ng V, Romero R, Ekong U, Hardikar W, Emre S, Mazariegos GV Evaluation of the Pediatric Patient for Liver Transplantation : 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of liver Diseases, American society of transplantation and the north american society for Paediatric gastroenterology, hepatology and nutrition *Hepatology*. 2014 Jul;60(1):362-98
15. Zschocke J, Hoffmann GF. *Vademecum Metabolicum : manuel de Pédiatrie Métabolique : situations cliniques générales*. 3rd Ed. Friedrichsdorf: Milupa; 2005:20-24.
16. Dhawan A. Etiology and prognosis of acute liver failure in children. *Liver Transpl*. 2008 Oct;14 Suppl 2:S80-4.
17. Afanetti M, Gonzales E, Tissières P. *Insuffisances hépatocellulaires du nourrisson et de l'enfant*. EMC, 4-060-B-10, 201.
18. Rivera-Penera T, Moreno J, Skaff C, McDiarmid S, Vargas J, Ament ME. Delayed encephalopathy in fulminant hepatic failure in the pediatric population and the role of liver transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1997 Feb;24(2):128-34.
19. Hegarty R, Hadzic N, Gissen P, Dhawan A. Inherited metabolic disorders presenting as acute liver failure in newborns et young children: King's College Hospital experience. *Eur J Pediatr*. 2015 Oct;174(10):1387-92. doi: 10.1007/s00431-015-2540-6. Epub 2015 Apr 24.
20. Sundaram SS, Alonso EM, Narkewicz MR, Zhang S, Squires RH. Pediatric Acute Liver Failure Study Group. Characterization and outcomes of young infants with acute liver failure. *J Pediatr*. 2011 Nov;159(5):813-818.
21. Hansen K, Horslen S. Metabolic Liver Disease in Children. *Liver Transpl* 14:391-411, 2008
22. Gallagher RC, Lam C, Wong D, Cederbaum S, Sokol R. Significant hepatic involvement in patients with ornithine transcarbamylase deficiency. *J Pediatr*. 2014 Apr;164(4):720-725.e6.
23. Baruteau J, Sachs P, Broué P et al. Clinical and biological features at diagnosis in mitochondrial fatty acid beta-oxidation defects : a French pediatric study of 187 patients. *J Inherit Metab Dis* 2013;36:795-803.
24. Patil M, Sheth KA, Krishnamurthy AC, Devarbhavi H. A review and current perspective on Wilson disease. *J Clin Exp Hepatol*. 2013 Dec;3(4):321-36. doi: 10.1016/j.jceh.2013.06.002. Epub 2013 Jul 6.
25. P de Lonlay, N Seta, S Barrot, B Chabrol, V Drouin, B M Gabriel, H Journal, M Kretz, J Laurent, M Le Merrer, A Leroy, D Pedespan, P Sarda, N Villeneuve, J Schmitz, E van Schaftingen, G Matthijs, J Jaeken, C Korner, A Munnich, J M Saudubray, V Cormier-Daire. A broad spectrum of clinical presentations in congenital disorders of glycosylation I: a series of 26 cases. *Med Genet* 2001;38:14–19

26. Kelly DA, Portmann B, Mowat AP, Sherlock S, Lake BD. Niemann-Pick disease type C: diagnosis and outcome in children, with particular reference to liver disease. *J Pediatr*. 1993 Aug;123(2):242-7.
27. Wraith JE, Guffon N, Rohrbach M, Hwu WL, Korenke GC, Bembi B, Luzy C, Giorgino R, Sedel F. Natural history of Niemann-Pick disease type C in a multicentre observational retrospective cohort study. *Mol Genet Metab*. 2009 Nov;98(3):250-4
28. Valayannopoulos V, Verhoeven NM, Mention K, Salomons GS, Sommelet D, Gonza M. Transaldolase deficiency: A new cause of hydrops fetalis and neonatal multi-organ disease, *The Journal of Pediatrics*, Volume 149, Issue 5, 2006, 713 – 717
29. Balasubramaniam S, Wamelink MM, Ngu LH, et al. Novel heterozygous mutations in TALDO1 gene causing transaldolase deficiency and early infantile liver failure. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;52:113-6.
30. Iam S, Lal BB. Metabolic Liver Diseases Presenting as Acute Liver Failure in Children. *Indian Pediatr*. 2016 Aug 8;53(8):695-701.
31. Onyriuka AN. Inherited Metabolic Disease in the Neonatal Period: Approach to Clinical Diagnosis. *J of Nepal Paediatric Society* 2012 March 32(1):57-64
32. Rahman S. Gastrointestinal and hepatic manifestations of mitochondrial disorders. *J Inherit Metab Dis*. 2013 Jul;36(4):659-73.
33. Lee WS, Sokol RJ. Mitochondrial hepatopathies: advances in genetics, therapeutic approaches, and outcomes. *J Pediatr*. 2013 Oct;163(4):942-8.
34. Enns GM, Shashi V, Bainbridge M, Gambello MJ, Zahir Fr et al. Mutations in NGLY1 cause an inherited disorder of the endoplasmic reticulum-associated degradation pathway. *Genet Med*. 2014 Oct;16(10):751-8.
35. Caglayan AO, Comu S, Baranoski JF, Parman Y, Kaymakçalan H et al. NGLY1 mutation causes neuromotor impairment, intellectual disability, and neuropathy. *Eur J Med Genet*. 2015 Jan;58(1):39-43.
36. Cox TM. Hereditary fructose intolerance. *Quart J Med* 1988;68:585–594.
37. Gosalakal JA, Kamoji V. Reye syndrome and Reye-like syndrome. *Pediatr Neurol* 2008;39:198-200
38. Song YZ, Deng M, Chen FP, Wen F, Guo L, Cao SL, Gong J, Xu H, Jiang GY, Zhong L, Kobayashi K, Saheki T, Wang ZN. Genotypic and phenotypic features of citrin deficiency: Five-year experience in a Chinese pediatric center. *Int J Mol Med*. 2011 Jul;28(1):33-40
39. Peter F. Neonatal Hemochromatosis: a congenital alloimmune hepatitis. *Semin Liver Dis*. 2007 Aug;27(3):243-250
40. El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial DNA Depletion Syndromes : Review and Updates of Genetic Basis, Manifestations, and Therapeutic option. *Neurotherapeutics*. 2013 Apr;10(2):186-98

ANNEXES

Annexe n°1 : Examens para cliniques en cas d'insuffisance hépatocellulaire

Examen de routine	Bilan hépatique	Bilan spécifique
Numération Formule sanguine (lymphocytes vacuolés)	Transaminases (TGO/ TGP)	Chromatographie des acides aminés sanguins
Glycémie	GGT	Chromatographie des acides organiques urinaires
Fonction rénale	Phosphatases Alcalines	Acylcarnitine sur Guthrie, carnitine libre
CPK	Acides biliaires totaux	Spot test et activité GALT
Ammoniémie	Bilirubine totale et directe	Fer, ferritine
Lactate	Albumine, pré albumine	Cuivre, Céruloplasmine
Equilibre acido-basique	Facteurs V	Alpha1 antitrypsine
Corps cétoniques urinaire	Taux de prothrombine (TP)	Test de la sueur
		Alpha foetoprotéine
		Profils des acides biliaires
		Iso électro focalisation de la transferrine
		Rapport lactate sur pyruvate sanguin et dans le LCR
		Corps cétoniques
		Dosage de la chitotriosidase

Annexe n°2 : Stades cliniques et électriques de l'encéphalopathie hépatique de l'adulte et du grand enfant

Stades	Niveau de conscience	Personnalité et intellect	Signes neurologiques	Anomalies EEG
I	Inversion du rythme du sommeil Fatigue	Troubles de la concentration Confusion légère Irritabilité	Troubles de la coordination Apraxie <i>Finger tremor</i> (trouble de l'écriture)	Activité polyrythmique (5Hz) Réactivité EEG
II	Léthargie	Désorientation Amnésie	<i>Flapping tremor</i> Hyporéflexie Dysarthrie	Activité lente thêta-delta prédominante (3-4Hz) Réactivité inconstante
III	Somnolence Confusion	Désorientation Agressivité	<i>Flapping tremor</i> Hyperréflexie Signe de Babinski Rigidité musculaire	Activité lente delta monomorphe (1-3Hz) Pas de réactivité
IV	Coma	Aucun	Décérébration Convulsions	Tracé déprimé (< 1Hz) Amplitude décroissante Pas de réactivité
V				EEG quasi plat ou plat

Denis Devictor, André Rousset, Dominique Debray, Cédric Tahiri. Insuffisances hépatiques aiguës graves de l'enfant. EMC - Pédiatrie - Maladies infectieuses 1992;1-0 [Article 4-060-A-20].

Annexe n°3 : Stades d'encéphalopathie hépatique ajusté aux nourrissons**Table 1 Stages of Hepatic Encephalopathy**

Stage	Clinical	Reflexes	Neurological Signs	EEG Changes
0	None	Normal	None	Normal
1	<i>Infant/child</i> : Inconsolable crying, inattention to task; child is not acting like self to parents <i>Adult</i> : Confused, mood changes, altered sleep habits, forgetful	Normal or hyper-reflexic	Difficult or impossible to test adequately	Difficult or impossible to test adequately
2	<i>Infant/child</i> : Inconsolable crying, inattention to task; child is not acting like self to parents <i>Adult</i> : Drowsy, inappropriate behavior, decreased inhibitions	Normal or hyper-reflexic	Difficult or impossible to test adequately	Difficult or impossible to test adequately
3	<i>Infant/child</i> : Somnolence, stupor, combativeness <i>Adult</i> : Stuporous, obeys simple commands	Hyper-reflexic	Difficult or impossible to test adequately	Abnormal, generalized slowing, triphasic waves
4	<i>Infant/child</i> : Comatose, arouses with painful stimuli (4a) or no response (4b) <i>Adult</i> : Comatose, arouses with painful stimuli (4a) or no response (4b)	Absent	Decerebrate or decorticate	Abnormal, generalized slowing, triphasic waves
		Absent	Decerebrate or decorticate	Abnormal, very slow, delta activity

Annexe n°4 : Caractéristiques de la NGS cholestase

SureDesign

HaloPlex Design Report



General Information

User: franck.broly@chru-lille.fr

Workgroup: Pharmaco/Toxicogenetics

Folder: Pharmaco/Toxicogenetics

File Type: HaloPlex Design Report

Created By: HaloPlex Standard Design Wizard

Timestamp: 07-Dec-2015

Design Information

Design Name: Metabolic cholestasis

Design ID: 20988-1449137099

Design Category: HaloPlex

Species: H. sapiens (H. sapiens, hg19, GRCh37, February 2009)

Platform: Illumina

Read Length: 150 bp

Target Summary

334 Target IDs resolved to 334 targets comprising 2773 regions.

0 Target IDs were not found.

Region Size : 1.022 Mbp

Amplicon Summary

Total Amplicons: 48104

Total Target Bases Analyzable: 1 Mbp

Total Sequenceable Design Size: 1.84 Mbp

Target Coverage: 98.13 %

Recommended Minimum Sequencing per Sample: 368.80 Mbp

Pricing: Illumina Tier 2 (Target Region Size = 0.501 - 2.5 Mb; up to 200K probes).

P/N: G9911B/C

Target Parameters

Databases: RefSeq, Ensembl, CCDS, Gencode, VEGA, SNP, CytoBand

Region: Coding Exons + UTRs + 5' UTR + 3' UTR

Region Extension: 10 bases from 3' end and 10 bases from 5' end.

Allow Synonyms: No

Learn More: www.agilent.com/genomics/ngs

Contact Us: www.agilent.com/chem/contactus

US: agilent_inquiries@agilent.com

Europe: info_agilent@agilent.com

Asia Pacific: inquiry_lsca@agilent.com



Agilent Technologies

Annexe n°5 : Bilans métaboliques de 1^{ère} et 2^{ème} intention en cas d'insuffisance hépatocellulaire

▪ 1^{ère} intention

- CAAP, acide orotique urinaire
- Succinyl Acétone sanguine et urinaire (sur CAOu)
- Gal 1 Ph, spot test, Gal1Ph Uridyl Transferase
- CAOU et acylcarnitine
- Céruloplasmine, cuprémie, cuprurie

▪ 2^{nde} intention

- Isoélectrophorèse des sialotransferrines (CDG)
- Profil qualitatif des acides biliaires sanguins et urinaires
 - pH, Cycle Lactates/Pyruvate et 3OHB/AA, L/P LCR
 - Chitotriosidase
- Polyols urinaires

AUTEUR : Nom : DOUTRELLOT

Prénom : Sophie

Date de Soutenance : 05/10/2016

Titre de la Thèse : Insuffisance hépatocellulaire du nouveau-né et du nourrisson de 2005 à 2015 au Centre hospitalier Régional et Universitaire de Lille : évaluation de facteurs prédictifs et apport du séquençage haut débit nouvelle génération pour les causes métaboliques.

Thèse - Médecine - Lille 2016

Cadre de classement : Maladies métaboliques, gastro entérologie pédiatrique

DES + spécialité : Pédiatrie

Mots-clés : insuffisance hépatocellulaire, Puce NGS, facteurs prédictifs, métabolique, indéterminé

Contexte : L'insuffisance hépatocellulaire (IHC) est une entité rare. Elle est rapidement fatale en l'absence de traitement symptomatique et/ou étiologique. Il s'agit donc d'une urgence diagnostique. Or, une proportion importante d'IHC reste d'étiologie indéterminée, malgré des explorations à visée étiologique exhaustives. Le but de cette étude est de décrire la population de patients ayant présenté une IHC, ses caractéristiques, de tenter de déterminer les facteurs prédictifs d'une cause métabolique, de décrire les patients pour lesquels le bilan étiologique reste négatif et de compléter leurs explorations par de nouvelles méthodes de diagnostics par séquençage ADN.

Méthode : Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive et analytique. Nous avons analysé les données anamnestiques, cliniques et paracliniques de 100 patients ayant présenté une IHC, âgés de moins de 18 ans, entre 2005 et 2015 et hospitalisés au Centre hospitalier Régional et Universitaire de Lille. Nous avons divisé notre population en 2 groupes : les moins d'un mois et les plus d'un mois, leurs causes étant différentes.

Résultats : Sur les 100 patients inclus ayant présenté une insuffisance hépatocellulaire, 31 patients avaient moins de 1 mois (31%) et 69 plus de 1 mois (69%). 19% présentaient une IHC d'origine métabolique, dont nous avons décrit les caractéristiques dans un second temps. Chez les 69 patients âgés de plus d'un mois, un taux normal ou peu élevé de TGP ($p=0.05$) et des difficultés alimentaires semblaient prédictifs d'une origine métabolique ($p=0.02$). Enfin, une étude par séquençage haut débit était réalisée, si de l'ADN était disponible, chez les patients avec IHC de cause indéterminée (19 patients). Cette technique permettait à ce jour un diagnostic chez 3 patients sur 4 dont analyse est terminée, pour lesquels nous détaillons rétrospectivement le phénotype.

Conclusion : L'IHC est une urgence diagnostique et thérapeutique. Afin de poser un diagnostic étiologique le plus rapidement possible et permettre une prise en charge optimale, nous recommandons la réalisation précoce de l'ensemble des examens spécifiques des multiples désordres métaboliques potentiellement impliqués mais également des prélèvements à visée fonctionnelle et moléculaire dès le diagnostic d'IHC posé. Ces tissus permettront de compléter dans un second temps, les analyses par de nouvelles techniques de séquençage d'ADN.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le professeur GOTTRAND

Assesseurs : Monsieur le professeur LETEURTRE, Monsieur le professeur TRUFFERT, Madame le docteur DHAENENS, Madame le docteur MENTION