



UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2017

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Symptômes neurologiques révélant une cytopathie mitochondriale chez
l'enfant. Etude de cas rapportés dans la région Nord-Pas-de-Calais
de 2006 à 2016.**

Présentée et soutenue publiquement le 11 septembre 2017 à 14 heures
Au Pôle Formation (Salle 3)
Par Mathilde Canon

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Patrick TRUFFERT

Asseseurs :

Madame le Professeur Sylvie NGUYEN THE TICH

Monsieur le Professeur Vincent PROCACCIO

Monsieur le Docteur Jean-Marie CUISSET

Madame le Docteur Anne-Frédérique DESSEIN

Directrice de Thèse :

Madame le Docteur Karine MENTION

Avertissement

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

Table des matières

Avertissement	3
Table des matières.....	4
Table des illustrations	6
Liste des abréviations.....	8
RESUME	9
INTRODUCTION	10
I - Les mitochondries	10
1) Les fonctions mitochondriales.....	10
2) La chaîne respiratoire	11
3) Le génome mitochondrial.....	12
4) Le génome nucléaire codant pour la mitochondrie	14
II - Symptômes cliniques des cytopathies mitochondriales.....	15
III - Anomalies paracliniques des cytopathies mitochondriales	17
1) Biologie	17
2) Histologie.....	19
3) Enzymologie.....	21
4) Analyses moléculaires	22
a. Variants de l'ADN mitochondrial	23
b. Variants de l'ADN nucléaire	25
5) Imagerie et explorations fonctionnelles.....	31
a. Imagerie par résonance magnétique et spectroscopie.....	31
b. Autres explorations.....	33
IV - Approche diagnostique des cytopathies mitochondriales	34
V - Prise en charge.....	34
1) Mesures nutritionnelles.....	35
2) Supplémentation en cofacteurs et vitaminothérapie	35
3) Eviction médicamenteuse et déficits secondaires.....	37
4) Conseil génétique	38
VI - Epidémiologie	38
VII - Problématiques actuelles.....	39
OBJECTIFS	41
PATIENTS ET METHODES	42
I - Population.....	42
II - Recueil	43
III - Analyses statistiques.....	46
IV - Conflit d'intérêts.....	46
RESULTATS	47
I - Recrutement de la population.....	47
II - Caractéristiques de la population.....	48
III - Symptômes neurologiques inauguraux.....	50
IV - Symptômes neurologiques présents secondairement	51
V - Symptômes extra neurologiques.....	56
VI - Anatomopathologie et enzymologie.....	58
VII - Imagerie	60

VIII - Biologie.....	61
IX - Génétique.....	62
1) ADN mitochondrial	62
2) ADN nucléaire	63
X - « Mitochondrial disease criteria » (MDC) de Morava et al.....	65
DISCUSSION	68
CONCLUSION.....	77
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	78
ANNEXES	86

Table des illustrations

Tableaux :

Tableau 1: Nombre de sous unités codées par l'ADNmt ou l'ADN nucléaire.....	12
Tableau 2 : Comparaison du génome mitochondrial et nucléaire humain.....	15
Tableau 3 : Syndromes spécifiques par anomalie de l'ADNmt	16
Tableau 4 : Principaux syndromes liés à des anomalies de l'ADN mitochondrial.....	23
Tableau 5 : Critères de pathogénicités des mutations de l'ADNmt proposés par Mitchell et al.	24
Tableau 6 : Direct hits.....	26
Tableau 7 : Indirect hits	26
Tableau 8 : Défaut de traduction de l'ARNmt	27
Tableau 9 : Défaut de la composition lipidique de la membrane interne mitochondriale	28
Tableau 10 : Défaut de la dynamique mitochondriale	28
Tableau 11 : Défaut de maintenance de l'ADN mt	29
Tableau 12: Résumé des supplémentations possibles avec les posologies et effets secondaires selon Mattman et al.	36
Tableau 13 : Valeurs de référence des activités des complexes de la chaîne respiratoire sur le muscle	45
Tableau 14 : Caractéristiques générales de la population de l'étude.....	48
Tableau 15 : Distribution des symptômes neurologiques inauguraux par sous-groupe d'âge	50
Tableau 16 : Association entre la présence/absence de l'hypotonie et les autres syndromes pouvant se manifester par une hypotonie.....	55
Tableau 17 : Déficients isolés en complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale	58
Tableau 18 : Répartition des atteintes à l'imagerie par résonance magnétique cérébrale	60
Tableau 19 : Mutations de l'ADN mitochondrial par sous-groupe d'âge	62
Tableau 20 : Descriptif des patients porteurs d'un variant pathogène de l'ADN nucléaire	64
Tableau 21 : Comparaison de la répartition des symptômes neurologiques dans différentes cohortes	70
Tableau 22 : Comparaison des déficits en activité des différents complexes dans 4 cohortes.....	72

Figures :

Figure 1 : Chaîne respiratoire mitochondriale.	11
Figure 2: ADN mitochondrial.....	13
Figure 3 : Tissue section showing the pathological abnormalities of mitochondrial disorders.....	20
Figure 4: Algorithme décisionnel pour le diagnostic moléculaire des patients suspects de maladie mitochondriale	30
Figure 5 : Syndrome de Leigh radiologique : Séquences FLAIR axiales montrant un hypersignal pathologique bilatéral et symétrique du mésencéphale et du striatum.	31
Figure 6 : Syndrome de Leigh radiologique : Séquences FLAIR axiales montrant un hypersignal pathologique bilatéral et symétrique caractéristique du mésencéphale (substance grise périaqueducale et pédoncules).	32
Figure 7 : Spectroscopie multivoxel centrée sur les noyaux gris centraux montrant un pic pathologique de lactate.	33

Figure 8 : Diagramme de flux	47
Figure 9 : Courbe de survie globale	49
Figure 10 : Courbe de survie par sous-groupe d'âge	49
Figure 11 : Distribution des symptômes neurologiques inauguraux chez les enfants décédés	50
Figure 12 : Répartition des symptômes neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de moins de 1 mois	51
Figure 13 : Répartition des symptômes neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de 1 à 24 mois.....	51
Figure 14 : Répartition des symptômes neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de plus de 24 mois	52
Figure 15 : Courbe de survie des enfants présentant une hypotonie inaugurale.....	53
Figure 16 : Courbe de survie des enfants présentant un ptosis ou une atteinte du nerf optique inaugural	53
Figure 17 : Courbe de survie des enfants présentant une épilepsie inaugurale	54
Figure 18 : Courbe de survie des enfants présentant une microcéphalie ou une macrocéphalie inaugurale.....	54
Figure 19 : Courbe de survie des enfants présentant un symptôme musculaire inaugural	55
Figure 20 : Répartition des symptômes extra neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de moins de 1 mois	56
Figure 21 : Répartition des symptômes extra neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de 1 à 24 mois	56
Figure 22 : Répartition des symptômes extra neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de plus de 24 mois	57
Figure 23 : Répartition de l'analyse enzymologique sur le muscle	58
Figure 24 : Répartition des déficits multiples en complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale sur le muscle	59
Figure 25 : Distribution du résultat de l'IRM cérébrale chez les patients décédés	60
Figure 26 : Répartition des déficits en complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale chez les sujets avec un syndrome de Leigh radiologique	61
Figure 27 : Etude de l'ADN mitochondriale sur le muscle	62
Figure 28 : Répartition des variants pathogènes de l'ADN mitochondrial par sous-groupe d'âge	63
Figure 29 : Comparaison des symptômes neurologiques inauguraux des enfants avec atteinte de l'ADN mitochondrial ou de l'ADN nucléaire	64
Figure 30 : Répartition des patients selon les catégories « unlikely », « possible », « probable » et « definite » définies par Morava et al. établies avec les symptômes initiaux puis avec les symptômes secondaires.....	65
Figure 31 : Courbe de survie par catégorie de score établi avec les symptômes initiaux.....	66
Figure 32 : Courbe de survie par catégorie de score établi avec les symptômes secondaires	66

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADNmt	Acide Désoxyribonucléique mitochondrial
ARN	Acide Ribonucléique
ADP	Adénosine diphosphate
ATP	Adénosine triphosphate
COX	Cytochrome oxydase
CPEO	Chronic Progressive External Ophtalmoplegia
CRM	Chaine respiratoire mitochondriale
ECG	Électrocardiogramme
IC	Intervalle de Confiance
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
L/P	Rapport lactate sur pyruvate
LCR	Liquide Céphalo Rachidien
LHON	Leber Hereditary Optic Neuropathy
MAM	Mitochondria Associated Membranes
MDC	Mitochondrial Disease Criteria
MELAS	Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke
MERRF	Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers
MIRAS	Mitochondrial Recessive Ataxia Syndrome;
MNGIE	Mitochondrial myopathie, peripheral Neuropathy, and Gastro Intestinal Encephalopathy
NAA	N-acétylaspartate
NARP	Neuropathy Ataxia and Retinitis Pigmentosa
NGS	Next Generation Sequencing
Pb	Paires de bases
PDH	Pyruvate Déshydrogénase
Ppm	Particule par million
RCIU	Retard de Croissance Intra Utérin
SANDO	Sensory Ataxic Neuropathy Dysarthria and Ophthalmoparesis;

RESUME

Avec une prévalence de 1/5000 naissances, les cytopathies mitochondriales sont les maladies héréditaires du métabolisme les plus fréquentes. Même si elles sont toutes dues à un dysfonctionnement primaire de la chaîne respiratoire d'origine génétique, leur hétérogénéité clinique en fait un groupe particulièrement difficile à diagnostiquer. En effet, ce dysfonctionnement entraîne un déficit énergétique pouvant se révéler à tout âge, par tout symptôme, touchant n'importe quel tissu, avec tous degrés de gravité et par tout mode d'hérédité. Seule la biologie moléculaire permet un diagnostic de certitude. Cette analyse devant être orientée par la clinique, nous nous sommes intéressés aux symptômes neurologiques révélant une cytopathie mitochondriale chez l'enfant.

Quatre-vingt-dix patients, présentant des signes neurologiques inauguraux avant l'âge de 18 ans, évoquant un diagnostic de cytopathie mitochondriale étaient inclus rétrospectivement entre 2006 et 2016. Ces patients étaient sélectionnés parmi les 272 ayant bénéficié sur cette période d'une étude de l'ADN mitochondrial sur leucocytes ou d'une biopsie musculaire avec étude de la chaîne respiratoire.

La prévalence dans le Nord-Pas de-Calais était estimée à 1 / 6 864. Les quatre symptômes les plus fréquemment présents initialement étaient : l'hypotonie (45%), le retard psychomoteur (32%), l'anomalie du périmètre crânien (24%) et un ptosis ou une neuropathie optique (20%). Un examen neuroradiologique typique du syndrome de Leigh était présent chez 9% des patients. L'âge médian au premier symptôme était de 10,5 mois. Le décès survenait plus précocement chez les enfants de moins de 1 mois. La présence d'une hypotonie initiale, d'une épilepsie, d'anomalies du périmètre crânien diminuait la survie ($p < 0,05$). Un ptosis était associé aux formes moins sévères ($p < 0,05$). Un déficit de la chaîne respiratoire sur le muscle était retrouvé chez 63% des patients, avec 8% de déficit en complexe I et 30% de déficit en complexe IV. Un diagnostic moléculaire était établi pour 43% des patients (33% mitochondrial, 10% nucléaire).

Au total, l'hypotonie semble prédominer chez les moins de 2 ans et le ptosis ou l'atteinte du nerf optique, de sévérité moindre, chez les plus de 2 ans. La prise en charge diagnostique doit être optimisée par des réunions multidisciplinaires clinico-biologiques pour permettre de confirmer ses suspicions diagnostiques et améliorer le conseil génétique.

INTRODUCTION

Les cytopathies mitochondriales sont la conséquence d'un déficit primaire de la chaîne respiratoire. Les mitochondries permettent la synthèse énergétique nécessaire à chaque cellule. Cette synthèse a lieu au sein de la chaîne respiratoire, grâce à une phosphorylation oxydative qui permet la transformation d'ADP en ATP. Un défaut de synthèse d'énergie cellulaire peut entraîner un panel varié de pathologies, tant dans l'expression clinique que dans la sévérité.

La découverte du spectre des affections de la chaîne respiratoire mitochondriale est récente. En effet, c'est en 1962 que Luft et al. ont décrit, pour la première fois, l'association entre un phénotype clinique et un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale [1]. Par la suite, Anderson et al. élucidaient le séquençage complet de l'ADNmt humain en 1981 [2]. Puis, la première délétion d'ADNmt était retrouvée en 1988 par Holt et al.[3] [4].

Ce n'est que récemment, en 1995, qu'une mutation de l'ADN nucléaire a été retrouvée comme causale d'un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale [5].

I - Les mitochondries

1) Les fonctions mitochondriales

Les mitochondries possèdent quatre fonctions principales :

- Le catabolisme des acides aminés
- L'oxydation des acides carboxyliques dérivant des sucres (cycle de Krebs)
- L'oxydation des acides gras (beta oxydation)
- La phosphorylation oxydative

Les mitochondries interviennent également dans le métabolisme du calcium, les voies d'apoptoses et la nécrose cellulaire.

Les cytopathies mitochondriales résultent d'un déficit primaire de la phosphorylation oxydative.

Cependant les autres fonctions mitochondriales peuvent également être atteintes de manière secondaire.

2) La chaîne respiratoire

La chaîne respiratoire est le siège de la respiration cellulaire (en consommant de l'oxygène et en produisant du dioxyde de carbone) et permet la production d'énergie (sous forme d'ATP).

La chaîne respiratoire est constituée de 5 unités fonctionnelles (ou complexes multi protéiques), situées dans la membrane interne mitochondriale (Figure 1).

Les quatre premières unités interviennent dans le transport d'électrons.

Les protons sont pompés de la matrice mitochondriale à travers la membrane interne grâce aux complexes I, III et IV. Lors du passage des protons vers la matrice grâce au gradient électrochimique, l'ATP est synthétisé à partir de l'ADP et du phosphate inorganique via le complexe V [6].

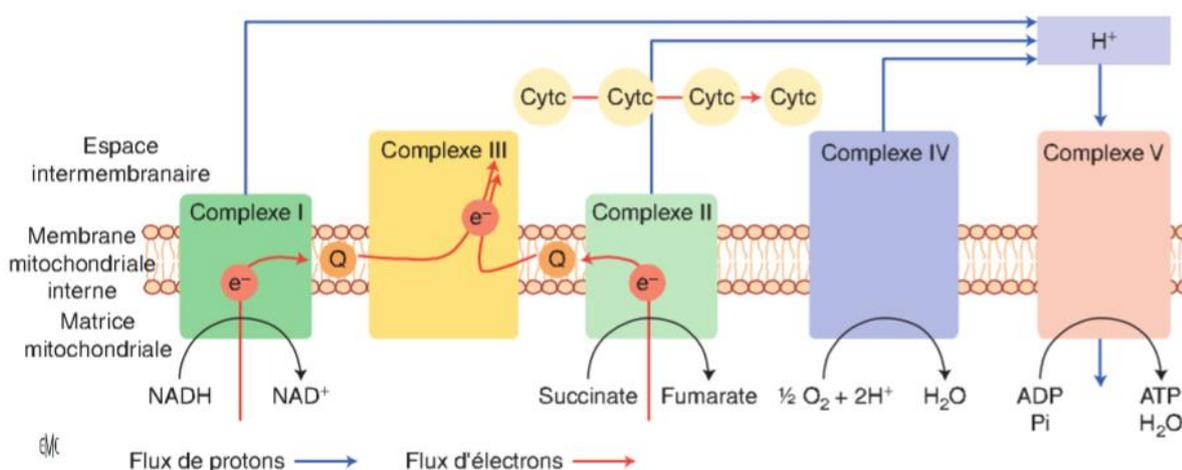


Figure 1 : Chaîne respiratoire mitochondriale.

NADH : nicotinamide adénosine dinucléotide ; ATP : acide adénosine triphosphate ; ADP : acide adénosine diphosphate ; Pi : phosphate inorganique ; Cyt c : cytochrome ; e⁻ : électron ; Q : coenzyme Q. [7]

Les complexes sont codés conjointement par l'ADN nucléaire et l'ADNmt, à l'exception du complexe II, codé intégralement par l'ADN nucléaire (Tableau 1).

Tableau 1: Nombre de sous unités codées par l'ADNmt ou l'ADN nucléaire dans chaque complexe [8]

Complexes	Sous unités mitochondriales	Sous unités nucléaires
I	7	~ 39
II	0	4
III	1	10
IV	3	10
V	2	~ 14

3) Le génome mitochondrial

La mitochondrie est le seul organe cellulaire à posséder son propre génome. Chaque cellule peut posséder de quelques dizaines à quelques milliers de mitochondries. La quantité de mitochondries est proportionnelle à la dépendance énergétique de la cellule. Chaque mitochondrie peut elle-même contenir un à dix exemplaires de l'ADN mitochondrial. Au total, le génome mitochondrial représente environ 1% de l'ADN cellulaire total.

Il se compose d'une molécule d'ADN circulaire bicaténaire de 16569 pb. Les deux brins sont codants (un brin lourd et un brin léger). Il a également la particularité de ne pas posséder d'intron. Seule une région non codante est située autour de l'origine de réplication du brin lourd (D-loop). Treize gènes codent pour les sous unités protéiques, 2 gènes pour les ARN ribosomiques et 22 gènes pour les ARN de transfert, soit un total de 37 gènes mitochondriaux (Figure 2) [2].

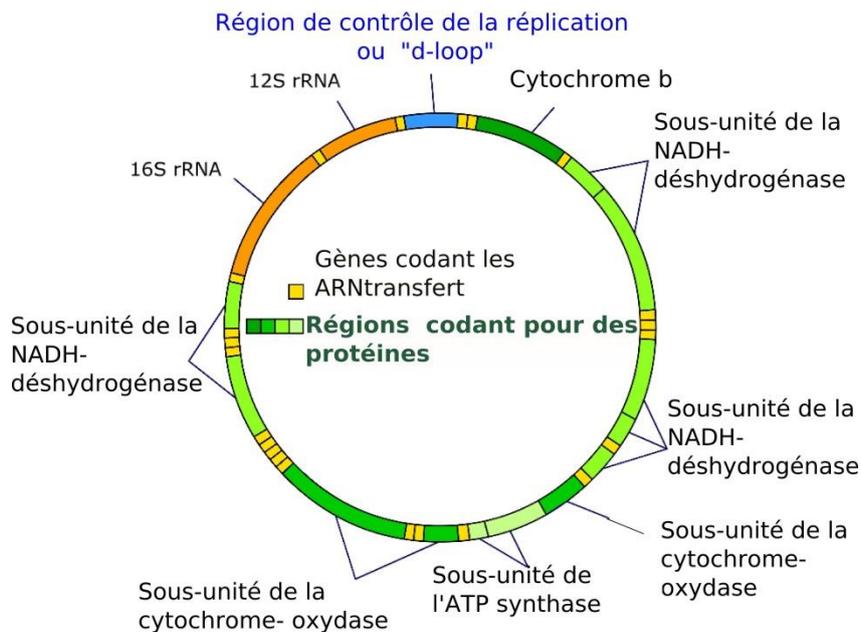


Figure 2: ADN mitochondrial

Le code génétique mitochondrial diffère du code génétique nucléaire par les séquences d'initiation de la traduction AUG et GUG et les séquences de fin de la traduction AGA et AGG (au lieu de UGA, UAA et UAG). UGA code pour le tryptophane (et non pour un codon stop) et AUA code pour la méthionine (et non pour l'isoleucine).

L'hétéroplasmie est l'état par lequel une même cellule ou une même mitochondrie peut contenir à la fois des molécules d'ADN mutées et des molécules d'ADN sauvages. Cette répartition peut varier entre les individus d'une même famille, mais également entre les tissus d'un même individu. En effet, au cours des divisions cellulaires, la distribution des molécules d'ADNmt mutées et des molécules d'ADNmt sauvages dans les cellules filles s'effectue au hasard. Cette ségrégation mitotique est responsable de la variation du déficit énergétique au cours du temps, au sein d'un organe, et d'un organe à l'autre [9]. La transmission de l'ADNmt à la descendance est exclusivement maternelle non mendélienne.

Le caractère homoplasmique ou hétéroplasmique est spécifique du génome mitochondrial. La proportion d'hétéroplasmie peut varier de manière considérable (parfois jusqu'à atteindre une homoplasmie) au moment de la transmission. Ce phénomène est appelé « bottleneck effect » ou goulot d'étranglement. L'une des hypothèses serait un événement tardif durant les divisions mitotiques des cellules précurseurs des ovocytes, où la diversité serait générée par une réplication intense pour aboutir à plus de 300 000 molécules d'ADNmt dans l'ovocyte mature. Lors de cette

phase d'amplification, la réplication de l'ADNmt pourrait se faire préférentiellement à partir de certains génomes, à l'origine d'un état quasi-homoplasmique dans l'ovocyte mature [10].

Il existe un effet seuil correspondant au nombre minimal d'ADN mutant nécessaire à un défaut de phosphorylation. L'effet seuil est d'autant plus bas que le tissu est dépendant du métabolisme oxydatif (comme par exemple le cerveau et le muscle) [11].

4) Le génome nucléaire codant pour la mitochondrie

On estime à plus de 1500 le nombre de gènes nucléaires nécessaires à la biogenèse et à la fonction mitochondriale. Le génome nucléaire coderait environ 1700 protéines mitochondriales dont 76 des 89 sous-unités de la chaîne respiratoire.

L'ADN nucléaire est essentiel au bon fonctionnement de la chaîne de phosphorylation oxydative par l'importation, l'assemblage, le contrôle de la qualité, la réplication et l'expression de l'ADN mitochondrial.

La biogenèse mitochondriale nécessite donc la coordination de l'expression des deux génomes, nucléaire et mitochondrial, ainsi qu'un système efficace d'importation et d'assemblage des protéines (Tableau 2). Les effets épigénétiques des gènes nucléaires peuvent être importants comme cela a pu être montré dans le LHON [12].

Tableau 2 : Comparaison du génome mitochondrial et nucléaire humain

	Génome mitochondrial	Génome nucléaire
Taille	16 569 pb	3,3 x 10 ⁹ pb
Nombre de gène	37	20 000-30 000
Chromosomes	2 à 10	44 autosomes, 2 gonosomes
Quantité absolue dans une Cellule	0,045 pg	5 pg
ADN codant	93 %	3 %
Transcription	polycistronique	Gènes individuellement
Réplication	POLG1	POLG α et δ

Trois aspects séparent plus particulièrement le génome mitochondrial du génome nucléaire : l'hérédité maternelle, l'hétéroplasmie et la ségrégation mitotique.

II - Symptômes cliniques des cytopathies mitochondriales

Le caractère ubiquitaire de la phosphorylation oxydative implique nécessairement une variabilité clinique importante. Les symptômes peuvent être de tout type, dans tout tissu, à tout âge. Cependant, certaines atteintes doivent faire plus particulièrement évoquer le diagnostic de cytopathie mitochondriale, comme : une atteinte inexplicée, une association illégitime de symptômes (symptômes renvoyant à des organes d'origine embryologique différente et/ou fonctionnellement indépendants), une évolution progressive, une atteinte prédominante de tissus très consommateurs en énergie.

Il existe également, des syndromes identifiables pouvant faire évoquer une atteinte du génome mitochondrial (Tableau 3).

Tableau 3 : Syndromes spécifiques par anomalie de l'ADNmt [7]

Ophtalmoplégie externe progressive (CPEO : Chronic Progressive External Ophthalmoplegia)

Symptômes neurologiques :

- Ptôsis
- Ophtalmoplégie
- Myopathie

Neuropathie optique de Leber (LHON : Leber Hereditary Optic Neuropathy)

Symptômes neurologiques :

- Cécité brutale vers 25 ans
- Evolution vers une atrophie optique

Symptômes extra neurologiques :

- Œdème papillaire, télangiectasie rétinienne

Syndrome de Kearns-Sayre

Symptômes neurologiques (début avant 20 ans) :

- Ophtalmoplégie externe progressive
- Hyperproteïnorachie
- Ataxie cérébelleuse

Symptômes extra neurologiques :

- Rétinopathie pigmentaire
- Trouble du rythme cardiaque

Syndrome MELAS (Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke)

Symptômes neurologiques (début à l'adolescence) :

- « Migraines » récurrentes
- Faiblesse musculaire
- Pseudo-accidents vasculaires cérébraux (« stroke-like »)

Symptômes extra neurologiques :

- Début dans l'adolescence
- Vomissements
- Acidose lactique
- Ragged red fibers

Syndrome MNGIE (Mitochondrial myopathie, peripheral Neuropathy, and Gastro Intestinal Encephalopathy)

Symptômes neurologiques :

- Neuropathie axonale
- Myopathie

Symptômes extra neurologiques :

- Pseudo-obstruction intestinale

Syndrome MERRF (Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers)

Symptômes neurologiques :

- Encéphalopathie avec myoclonies
- Ataxie
- Faiblesse musculaire
- Epilepsie myoclonique progressive

Symptômes extra neurologiques :

- Surdité

Syndrome NARP (Neuropathy, Ataxia and Retinitis Pigmentosa)

Symptômes neurologiques :

- Myopathie neurogène
- Ataxie cérébelleuse
- Neuropathie sensorielle
- Convulsions
- Encéphalopathie

Symptômes extra neurologiques :

- Rétinopathie pigmentaire

Possible présentation de syndrome de Leigh

Syndrome de Pearson

Symptômes extra neurologiques :

- Anémie macrocytaire sidéroblastique +/- neutropénie et thrombopénie
- Vacuolisation des précurseurs de la moelle osseuse
- Insuffisance pancréatique externe

Il existe aussi une présentation clinique habituellement différente selon l'âge de début de l'atteinte. Trois tranches d'âge semblent se dégager [Annexe 1] :

- Chez le nouveau-né de moins de un mois
- Chez le nourrisson entre un mois et deux ans
- Chez l'enfant et l'adulte

En plus de ces syndromes généraux, certaines atteintes tissulaires peuvent être considérées comme des signes d'alerte devant faire suspecter une maladie mitochondriale, surtout si elles sont associées. Ces atteintes sont : un retard staturo pondéral, une surdité, une ophtalmoplégie externe progressive, une neuropathie axonale, un diabète non auto-immun, une cardiomyopathie hypertrophique, une acidose tubulaire rénale [13].

III - Anomalies paracliniques des cytopathies mitochondriales

1) Biologie

La recherche d'anomalie d'oxydoréduction permet de constituer un faisceau d'arguments en faveur d'un dysfonctionnement de la chaine respiratoire [14]. Sa recherche s'effectue par ponctions veineuses répétées, avant et une heure après les repas, avec dosage du lactate sanguin, du pyruvate sanguin, et des corps cétoniques (acétoacétate et 3-hydroxybutyrate).

Un dysfonctionnement de la chaine respiratoire peut entraîner une hyperlactatémie (l'augmentation est significative si supérieure à 2,5mmol/l). Elle résulte de la faible capacité des muscles qui n'ont pas de respiration efficace à utiliser le pyruvate produit par la glycolyse. L'excès de pyruvate est converti en acide lactique qui est libéré dans la circulation sanguine.

Le rapport molaire du lactate sur pyruvate (L/P) sanguin reflète l'équilibre entre le produit et le substrat de la réaction catalysée par la lactate déshydrogénase. Ce rapport est corrélé au rapport NADH/NAD, et permet d'estimer l'état d'oxydoréduction cytosolique. Un rapport molaire L/P supérieur à 25 est évocateur d'un dysfonctionnement de la chaine respiratoire. Cependant ce rapport ne permet de différencier un déficit en PDH d'un déficit de la chaine respiratoire que si le lactate est élevé [15].

Ce résultat est à pondérer avec les difficultés techniques qui peuvent être rencontrées comme des difficultés de prélèvements (utilisation prolongée d'un garrot). L'acheminement du pyruvate doit être rapide (dans les 30 secondes après le prélèvement) dans du perchlorate à 8% sur de la glace [16]. Le lactate peut également être élevé dans les états de choc [17], dans les dysfonctions secondaires de la chaîne respiratoire ou les carences nutritionnelles en thiamine [18]. Enfin, les valeurs seuils connaissent des variations substantielles selon les auteurs.

L'élévation du lactate dans le LCR semble plus sensible que la mesure plasmatique [19]. Elle est moins dépendante des conditions de prélèvement et reflète l'élévation centrale en lactate. Cependant, l'acide lactique dans le LCR peut être augmenté par les infections du système nerveux central, les accidents vasculaires cérébraux, la malignité, l'inflammation et les convulsions [20]. A l'inverse, les présentations « musculaires » de cytopathie mitochondriale ont le plus souvent une lactatorachie normale.

Si le rapport lactate/pyruvate reflète le statut d'oxydoréduction cytosolique, le rapport des corps cétoniques 3-hydroxybutyrate/acétoacétate reflète quant à lui le statut d'oxydoréduction mitochondrial. En effet, l'accumulation de NADH entraîne la transformation de l'acétoacétate en 3-hydroxybutyrate entraînant une élévation du rapport 3-hydroxybutyrate/acétoacétate. Le cycle de Krebs a également une activité diminuée. Ceci conduit à l'accumulation des corps cétoniques après le repas (alors qu'ils diminuent habituellement sous l'action de l'insuline en post prandial). On parle de cétogénèse paradoxale.

Cependant certaines complications des cytopathies mitochondriales peuvent induire des difficultés de détection du déficit d'oxydoréduction plasmatique [21] comme : une tubulopathie proximale (entraînant une baisse de la lactatémie par augmentation de la lactaturie), un diabète sucré (par diminution de l'entrée du pyruvate dans le cycle de Krebs) ou encore une atteinte tissulaire spécifique sans répercussion sur l'état d'oxydoréduction plasmatique.

L'augmentation de l'alanine plasmatique est un des reflets de l'accumulation prolongée de lactates. L'alanine peut être augmentée dans le plasma et/ou le LCR. L'hyperalaninémie est plus évocatrice si le prélèvement est réalisé à jeun (car une ingestion récente en glucides peut provoquer une hyperalaninémie légère). L'élévation de l'alanine est considérée comme absolue au-delà de 450mmol/l [22].

La chromatographie des acides organiques urinaires peut aider au diagnostic, surtout si elle est réalisée en période d'accès aigu. Elle peut montrer une hyperlactaturie et/ou une accumulation des intermédiaires du cycle de Krebs. Elle est cependant peu spécifique.

L'étude du profil des acylcarnitines permet d'identifier les déficits d'oxydation des acides gras, une carence en carnitine pouvant survenir dans les anomalies primaires de la phosphorylation oxydative. Les valeurs absolues et le rapport d'acyl-carnitine estérifiée sur carnitine libre peuvent être augmentés.

Des anomalies biologiques en rapport avec le dysfonctionnement des différents organes atteints doivent également être recherchées : augmentation des CPK, cytolysse et/ou insuffisance hépatocellulaire, hypoglycémie ou hyperglycémie, intolérance glucidique (épreuve d'hyperglycémie orale, hémoglobine glyquée), bilan thyroïdien (TSH, T3, T4), tubulopathie proximale (ionogramme urinaire, fonction rénale), cytopénie par insuffisance médullaire (hémogramme, myélogramme) [23].

2) Histologie

On réalise habituellement des biopsies musculaires (et/ou hépatiques) qui s'effectuent le plus souvent à ciel ouvert.

L'examen au microscope optique peut retrouver une accumulation sous sarcolemnique des mitochondries jusqu'à un aspect de fibres rouges déchiquetées (ragged red fibers ou RRF) qui est l'une des caractéristiques histologique des cytopathies mitochondriales. Elles sont mises en évidence par la coloration au trichrome de Gomori qui montre l'accumulation de mitochondries anormales à la périphérie des fibres musculaires. Cependant elles ne sont ni obligatoires ni spécifiques [24]. La coloration au succinate déshydrogénase peut montrer des Ragged-blue fibers. Il peut aussi exister une augmentation du nombre de fibres COX négatives (Figure 3). D'autres signes myopathologiques, quoique non spécifiques, sont classiquement rapportés comme une surcharge lipidique ou une prédominance des fibres type 1.

Cependant, l'étude en microscopie optique peut être normale dans environ la moitié des cas [25]. Des fibres rouges déchiquetées sont retrouvées dans 2,5% des cas et les fibres COX négatives dans 7% des cas [26]. Un examen en microscopie optique n'élimine donc pas le diagnostic, surtout chez l'enfant car les lésions apparaissent avec l'âge.

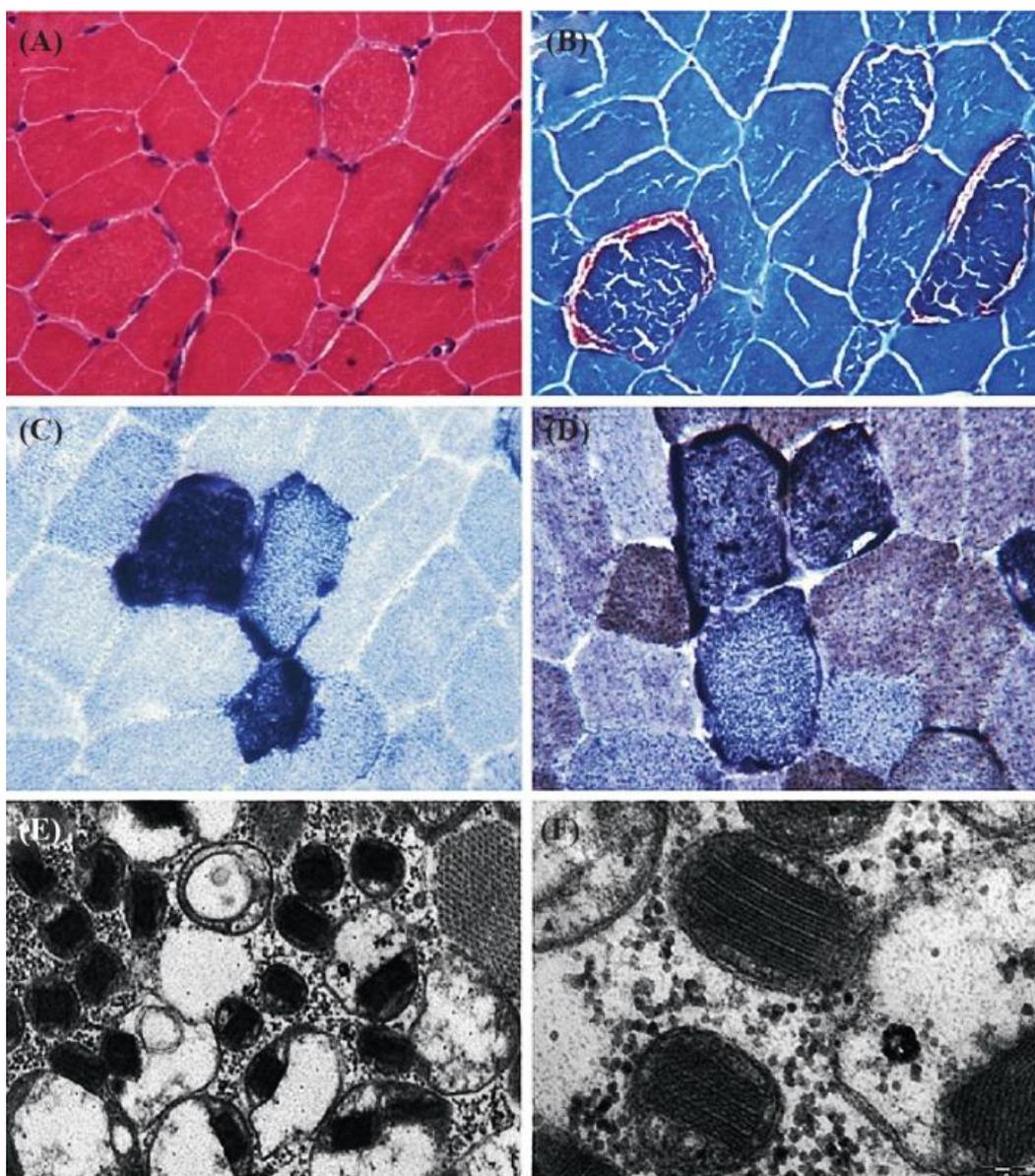


Figure 3 : Coupes histologiques montrant des anomalies retrouvées dans les cytopathies mitochondriales

(A) Coloration à l'Hématoxyline et l'Eosine; (B) Fibres rouges déchiquetées mise en évidence par la coloration au trichome de Gomori (MGT) montrant l'accumulation sous sarcolemnique anormale de mitochondrie; (C) Ragged blue fibers à la coloration au succinate déshydrogénase, évoquant une augmentation du nombre de mitochondrie; (D) Coloration de COX montrant un déficit enzymologique de la chaîne respiratoire ; (E & F) Microscopie électronique montrant des inclusions paracrystallines en « gallon » (E x10000, F x40000) [27].

L'examen au microscope électronique est une aide importante et retrouve dans 33% des cas des anomalies alors que l'étude en microscopie optique était normale [28].

L'analyse ultrastructurale peut aussi retrouver une augmentation du nombre de mitochondries (48%), une augmentation de leurs tailles (7%), une accumulation de lipides (8%), une accumulation de glycogène (12%), et plus spécifiquement des crêtes mitochondriales anormales et des inclusions para cristallines (3%) (Figure 3) [29].

Cependant ces anomalies ne sont pas spécifiques des cytopathies mitochondriales et peuvent être observées dans d'autres pathologies comme les dystrophies musculaires, l'atrophie neurogène, les myopathies inflammatoires, la corticothérapie prolongée ou encore d'autres maladies héréditaires du métabolisme [30].

Lorsque cela est possible, des tissus doivent être congelés afin de permettre la réalisation de tests supplémentaires.

3) Enzymologie

L'exploration de l'activité de la chaîne respiratoire peut se faire par analyses spectrophotométriques ou polarographiques. Elles permettent de rechercher une diminution de l'activité d'un complexe isolé ou d'un ensemble de complexes.

La polarographie se fait exclusivement sur tissu frais et permet de mesurer la consommation d'oxygène en présence de différents substrats grâce à une microélectrode de platine [31].

La spectrophotométrie nécessite des quantités moins importantes de matériel que la polarographie (10-20 mg contre 100-200 mg). Cependant il est indispensable que les prélèvements soient immédiatement congelés et maintenus en permanence dans de l'azote liquide (ou à défaut à -80°C). L'étude spectrophotométrique est également possible à partir de microbiopsies (1-20 mg) de tissu myocardique, hépatique, rénal ou intestinal [32].

Le choix du tissu se fait préférentiellement sur un organe cliniquement atteint. Cependant, s'il n'est pas accessible, l'étude peut être réalisée sur le muscle, les lymphocytes ou les fibroblastes. Il est essentiel de prélever une biopsie de peau pour tous les patients (même en post-mortem immédiat), quel que soit le tissu atteint cliniquement, pour l'étude de la chaîne respiratoire et/ou des analyses moléculaires sur fibroblastes en culture. En effet, de la confirmation génétique dépendra la

possibilité d'un diagnostic prénatal pour les grossesses ultérieures. Il faut cependant rappeler que les déficits de la chaîne respiratoire ne s'expriment que dans la moitié des cas dans les fibroblastes.

L'activité absolue de chaque complexe varie selon le tissu et selon les individus. En revanche, le rapport des enzymes de la chaîne respiratoire est constant dans tous les tissus. Chaque enzyme est donc comparée à l'activité d'une autre enzyme de la chaîne respiratoire. Par conséquent, si le déficit enzymatique est généralisé, l'analyse spectrophotométrique sera faussement normale, en objectivant des rapports normaux. C'est pourquoi chaque complexe est également comparé à l'activité d'une enzyme n'intervenant pas directement dans la chaîne respiratoire (la citrate synthase est utilisée par la plupart des centres) [29].

4) Analyses moléculaires

Il est possible de classer les variants génomiques entraînant une cytopathie mitochondriale comme suit :

- défaut de l'ADNmt
- défaut de maintenance de l'ADNmt
- défaut de l'ADN nucléaire :
 - mutation dans les gènes codant les sous-unités de la chaîne respiratoire (« direct hits »)
 - mutation dans les gènes codant les protéines auxiliaires permettant l'assemblage de la chaîne respiratoire (« indirect hits »)
 - mutation dans les gènes codant les protéines permettant la traduction de l'ARN mitochondrial
 - mutation dans les gènes codant pour la composition en phospholipides de la membrane interne mitochondriale
 - mutation dans les gènes impliqués dans la dynamique mitochondriale

a. Variants de l'ADN mitochondrial

Le nombre de mutation de novo pour l'ADNmt est de 107 / 100 000 naissances vivantes (IC 95% = 87-127) [33].

Depuis la découverte des mutations mitochondriales par Holt et al. en 1988, plus de 275 mutations pathogènes (mutations ponctuelles ou délétions) ont été rapportées (Tableau 4) [34][35].

Tableau 4 : Principaux syndromes liés à des anomalies de l'ADN mitochondrial

Syndrome	Anomalie ADNmt
Syndrome de Pearson	Délétion hétéroplasmique
Syndrome de Kearns-Sayre	Délétion hétéroplasmique
Syndrome de Leigh	m.8993T>G/C
NARP	m.8993T>G/C
MELAS	m.3243A>G ; m.3271T>C
MERRF	m.8344A>G ; m.8356T>C
LHON	m.11778G>A ; m.3460G>A ; m.14484T>C

L'hétéroplasmie complique les analyses phénotypiques, car pour la plupart des mutations, elle détermine le degré de gravité de l'atteinte. Cependant certaines techniques actuelles permettent une détection précise même en cas de faible hétéroplasmie (entre 1 à 2 %) [36] - [37].

Une même mutation peut être associée à différents phénotypes et un même phénotype peut être associé à différentes mutations [38]. A titre d'exemple, un syndrome de Pearson chez un nourrisson peut évoluer après plusieurs années vers un syndrome de Kearns-Sayre. Mitchell et al. ont proposé des critères de pathogénicité afin d'aider le diagnostic génétique (Tableau 5).

Tableau 5 : Critères de pathogénicités des mutations de l'ADNmt proposés par Mitchell et al. [39]

1. La mutation ne doit pas être présente chez des individus sains du même groupe ethnique
2. Le nucléotide altéré doit être conservé au cours de l'évolution (indicateur de son importance fonctionnelle)
3. Elle doit être associée à un déficit de la phosphorylation oxydative dans les tissus atteints ou lorsque l'ADN mitochondrial est transféré dans un groupe de cellules contrôles, elles doivent présenter un déficit de la phosphorylation oxydative.
4. Il doit exister une corrélation clinique et biochimique avec le taux d'hétéroplasmie

Le NGS semble être le nouveau gold standard pour l'analyse de l'ADNmt [40] - [41] et devrait faire partie du bilan de première intention pour l'analyse complète du génome mitochondrial [42]. Cependant l'appréciation du caractère délétère des variants identifiés reste la principale limite du séquençage complet de l'ADN mitochondrial.

Pour être séquencé, l'ADNmt peut être extrait du sang, de l'urine ou d'un tissu, en choisissant préférentiellement un organe atteint si celui-ci est accessible à la biopsie.

L'ADNmt aurait un taux de mutation environ dix fois supérieur à celui de l'ADN nucléaire [43]. Cette différence peut être expliquée par le caractère hautement mutagène de l'environnement mitochondrial dans lequel évolue l'ADNmt. En effet l'ADNmt se situe dans la matrice mitochondriale au contact des espèces oxygénées réactives générées au cours de la phosphorylation oxydative. De plus, l'ADNmt restant exposé sous forme de simple brin un long moment, le risque de dommage oxydatif est d'autant plus important [44].

L'ADNmt a non seulement un risque mutagène plus important mais également des systèmes de réparation moins aboutis que ceux de l'ADN nucléaire [45] et des systèmes de protection moins développés avec entre autre l'absence de protéines de type histone (protéines qui agissent comme une barrière mécanique de protection de l'ADN nucléaire) [46]. Un autre facteur serait les erreurs induites par l'ADN polymérase qui, au sein de la matrice mitochondriale, verrait son efficacité diminuer et provoquerait ainsi des insertions ou délétions avec décalage du cadre de lecture.

Cependant les mutations de l'ADN mitochondrial représenteraient moins de 10 % des troubles mitochondriaux de l'enfant [47].

b. Variants de l'ADN nucléaire

Une revue récente de la littérature estime à 9 / 100 000 la prévalence des anomalies de la phosphorylation oxydative due à des anomalies de l'ADN nucléaire [48].

Les tableaux cliniques en lien avec des variants pathogènes de l'ADN nucléaire sont habituellement homogènes. Ils peuvent être subdivisés en 5 catégories : les « direct hits », les « indirect hits », les défauts de traduction de l'ARN mitochondrial, défaut de la composition lipidique de la membrane interne mitochondriale, défaut de la dynamique mitochondriale. On classe habituellement les défauts de maintenance de l'ADNmt à part, en raison de l'hétérogénéité clinique des pathologies qu'ils entraînent, se rapprochant d'avantage du phénotype associé aux mutations de l'ADN mitochondrial que nucléaire [49].

Les « direct hits » se rapportent aux variants pathogènes qui affectent directement les sous unités de la chaîne respiratoire (Tableau 6).

Le phénotype prépondérant est le syndrome de Leigh. Il se traduit cliniquement par un retard ou une régression des acquisitions psychomotrices, des troubles ventilatoires, une hypotonie, une insuffisance staturopondérale, des dystonies, une cécité et des convulsions, associés à des lésions définies sur le plan radiologique par une atteinte simultanée des noyaux gris centraux et du tronc cérébral.

Tableau 6 : Direct hits [49]

Gènes impliqués dans les défauts de protéine de structure de la chaîne respiratoire	
Complexe I	Leigh : <i>NDUFS1, NDUFS3, NDUFS4, NDUFS7, NDUFS8, NDUFV1, NDUFA2</i> Encéphalopathie et cardiomyopathie : <i>NDUFS2, NDUFV2, NDUFA11</i> Pathologie néonatale létale : <i>NDUFS6</i> Encéphalomyopathie : <i>NDUFA1</i>
Complexe II	Leigh : <i>SDHA</i> Pheochromocytomes et/ou paragangliomes familiaux : <i>SDHB, SDHD, SDHC</i>
Complexe III	Hypoglycémie, acidose lactique : <i>UQCRB</i> Retard psychomoteur et signes extrapyramidaux : <i>UQCRQ</i>
Complexe IV	Encéphalomyopathie infantile : <i>COX6B1</i>

Les « indirect hits » affectent de manière indirecte la chaîne respiratoire par altération des voies de traduction, d'importation ou d'acheminement dans le milieu lipidique des différentes sous-unités (Tableau 7). Comme par exemple le syndrome GRACILE (« Growth Retardation, Aminoaciduria, Cholestasis, Iron overload, Lactic acidosis, and Early death ») qui résulte d'un défaut d'assemblage dans le complexe III, identifié en 2002 chez des nourrissons finlandais [50].

Tableau 7 : Indirect hits [49]

Gènes impliqués dans les défauts des protéines auxiliaires de la chaîne respiratoire	
Syndrome de Leigh avec carence en cytochrome c oxydase	<i>SURF1</i>
Syndrome de Leigh et cardiopathie	<i>SCO2, COX10, COX14, COX15, COA5, FAM36A, TACO1</i>
Syndrome de Leigh et hépatopathie	<i>SCO1</i>
Syndrome GRACILE	<i>BCS1L</i>
Défaut de l'importation de protéines mitochondriales :	
- Syndrome de la surdité-dystonie de Mohr-Tranebjaerg	<i>TIMM8A</i>
- Paraplégie spastique-13	<i>HSP60</i>

Les défauts de traduction de l'ARNmt peuvent être en lien avec des mutations dans les gènes codant pour les facteurs de polyadénylation de l'ARN messager, les protéines ribosomales, les facteurs d'assemblage des protéines ribosomiques, les aminoacyl-ARN de transfert synthétase, les facteurs d'élongation, les facteurs de terminaison, les activateurs de la traduction et les modificateurs de l'ARN de transfert (Tableau 8).

Tableau 8 : Défaut de traduction de l'ARNmt [49]

Gènes impliqué dans les défauts de traduction de l'ARNmt	
Acidose lactique néonatale fatale	<i>MRPS16, MRPS22, RMND1</i>
Paraplégie spastique	<i>SPG7</i>
Ataxie héréditaire dominante	<i>AFG3L2</i>
Syndrome hépato cérébral infantile	<i>GFM1</i>
Encéphalomyopathie infantile	<i>TUFM</i>
Myopathie, acidose lactique, anémie sidéroblastique	<i>TUFM</i>
Hépatopathie réversible	<i>TRMU</i>
Leuco encéphalopathie, atteinte du tronc cérébral, atteinte médullaire, acidose lactique	<i>DARS2</i>
Syndrome de Leigh tardif avec carence en COX	<i>TACO1</i>

Les phospholipides de la membrane interne mitochondriale ont un rôle actif dans le processus de phosphorylation oxydative (Tableau 9). Le syndrome de Barth résulte d'une carence en cardiolipine. Ce déficit entraîne une myopathie, une cardiopathie, une neutropénie et un retard de croissance. Son mode de transmission est lié à l'X. Le syndrome de Sengers affecte, comme dans le syndrome de Barth, le muscle et le cœur. Cependant la présence d'une cataracte congénitale oriente d'avantage le diagnostic vers le syndrome de Sengers. Une atteinte des membranes du réticulum endoplasmique associées aux mitochondries (MAM : Mitochondria associated membranes) peut entraîner une altération de la composition en phospholipides de la membrane interne. Les défauts de MAM ont pu être identifiées en 1998, par l'étude d'encéphalopathie mégaconiale se caractérisant par l'association d'une myopathie congénitale avec une déficience intellectuelle. Par la suite, une altération du MAM a été identifiée dans d'autres troubles appelés MEGDEL (acidurie 3-methylglutaconique type IV, surdité, encéphalopathie de type Leigh).

Tableau 9 : Défaut de la composition lipidique de la membrane interne mitochondriale [49]

Gènes impliqués dans les défauts de la composition lipidique de la membrane interne mitochondriale	
Syndrome de Barth	<i>TAZ</i>
Syndrome de Sengers	<i>AGK</i>
Encéphalomyopathie mégaconiale	<i>CHKB</i>
MEGDEL	<i>SERAC1</i>
Accès de rhabdomyolyse infantile	<i>LPIN1</i>

Les mitochondries sont des organites en perpétuel déplacement permettant une répartition équilibrée de l'énergie dans toute la cellule (Tableau 10).

Tableau 10 : Défaut de la dynamique mitochondriale [49]

Gènes impliqués dans les défauts de la dynamique mitochondriale	
Atrophie optique dominante	<i>OPA1</i>
Charcot-Marie-Tooth type 2A	<i>MFN2</i>
Charcot-Marie-Tooth type 4A	<i>GDAP1</i>
Encéphalomyopathie infantile mortelle	<i>DRP1, MFF</i>

Les défauts de maintenance de l'ADNmt affectent directement le génome mitochondrial. Ils peuvent se manifester par des délétions multiples, un appauvrissement de l'ADNmt ou des mutations ponctuelles spécifiques (Tableau 11). Ils sont secondaires à des défauts dans le mécanisme de réplication ou dans le pool de dNTP (désoxyNucléotide TriPhosphates) [51].

Tableau 11 : Défaut de maintenance de l'ADN mt

DOA, dominant optic atrophy; MIRAS, mitochondrial recessive ataxia syndrome; mtDNA, mitochondrial DNA; PEO, progressive external ophthalmoplegia; SANDO, sensory ataxic neuropathy, dysarthria and ophthalmoparesis; SMA, spinal muscular atrophy. [49]

Gène muté	Appauvrissement de l'ADNmt	Multiples délétions de l'ADNmt
TK2	Myopathie infantile ou SMA adulte	PEO autosomique récessive chez l'adulte
DGUOK	Syndrome hépato-cérébral infantile	Myopathie adulte ± PEO
PEO1	Syndrome hépato-cérébral, Ataxie spinocérébelleuse infantile	Autosomique dominant PEO de l'adulte
SUCLA2	Encéphalomyopathie infantile	-
SUCLG1	Encéphalomyopathie infantile avec acidurie méthylmalonique	-
RRM2B	Encéphalomyopathie infantile	PEO autosomique dominant ou autosomique récessif de l'adulte
MPV17	Le syndrome hépatocérébral infantile La neurohépatopathie de Navajo	PEO autosomique récessif de l'adulte
TYMP	Encéphalomyopathie neurogastro-intestinale mitochondriale	Encéphalomyopathie neurogastro-intestinale mitochondriale
POLG	Syndrome hépato-cérébral (syndrome d'Alpers)	Autosomique dominant ou autosomique récessif PEO de l'adulte; SANDO; MIRAS
POLG2	-	PEO autonome dominant autosomique
ANT1	-	Autosomique dominant PEO de l'adulte
OPA1	-	PEO
MFN2	-	DOA
GFER	-	Cataracte congénitale, encéphalomyopathie

Pour le moment, il n'y a pas de consensus pour l'utilisation du séquençage d'un gène, d'un panel de gènes ou le séquençage complet du génome dans la recherche des anomalies de l'ADN nucléaire [52] - [55].

Wong et al. ont proposé un algorithme décisionnel pour orienter le diagnostic moléculaire (Figure 4).

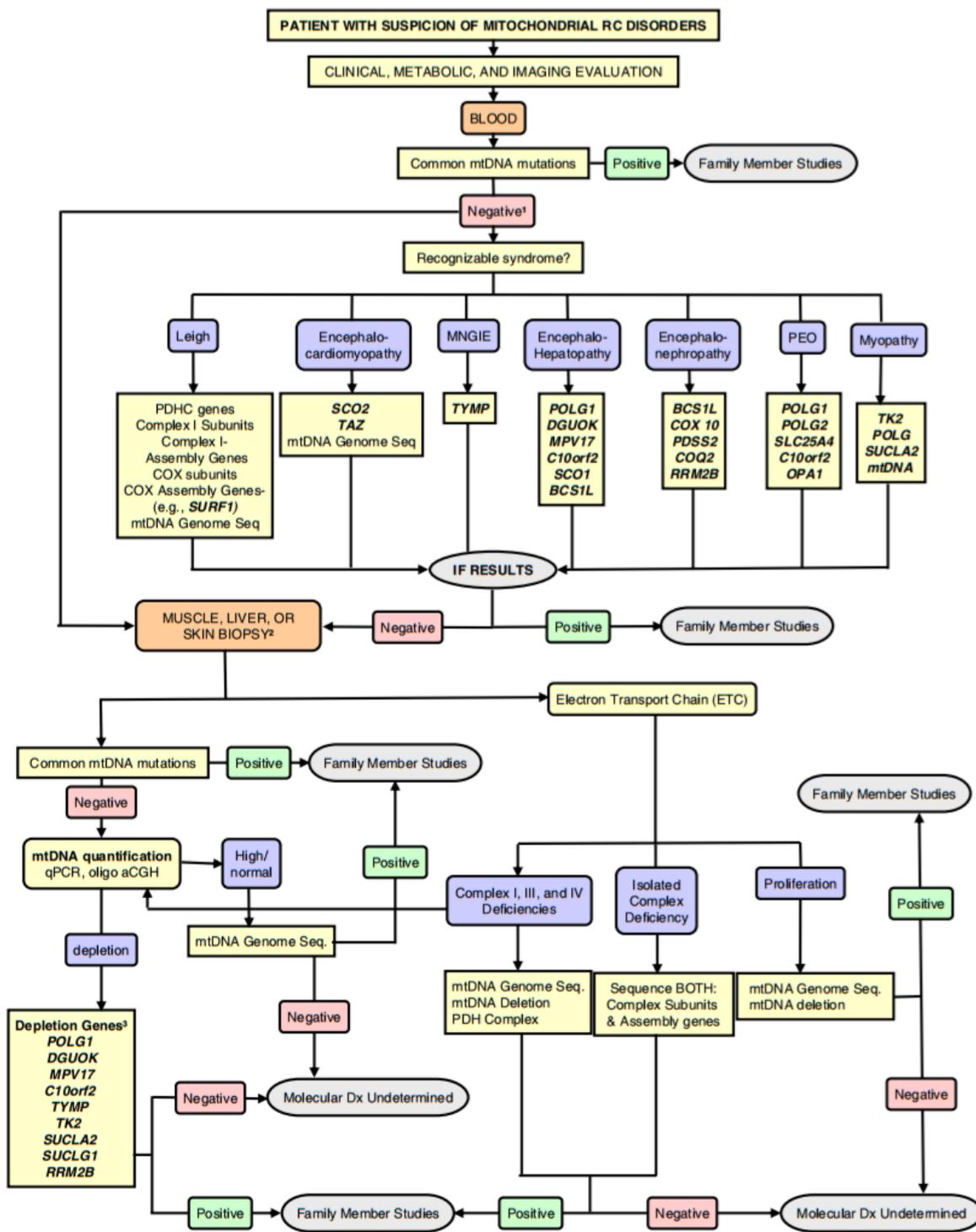


Figure 4: Algorithme décisionnel pour le diagnostic moléculaire des patients suspects de maladie mitochondriale [56]

5) Imagerie et explorations fonctionnelles

a. Imagerie par résonance magnétique et spectroscopie

Les anomalies à l'IRM cérébrale, si elles sont souvent présentes, sont pour la plupart non spécifiques.

Les caractéristiques radiologiques les plus fréquentes sont : des anomalies bilatérales et symétriques du signal (hypersignal T2 et FLAIR et hyposignal T1) de la substance grise et/ou du tronc cérébral, une atteinte des noyaux gris centraux, des hypersignaux T2 et/ou FLAIR de la substance blanche, une atrophie cérébrale et/ou cérébelleuse et des calcifications cérébrales [57].

Le syndrome de Leigh (ou encéphalomyopathie nécrosante subaiguë) est l'une des entités les plus spécifiques. Elle se manifeste par une atteinte progressive bilatérale des noyaux gris centraux (putamen, noyau caudé, pallidum) et du tronc cérébral (Figure 5 et 6). Il peut s'y associer une atrophie corticale diffuse, des hypersignaux du cervelet (noyaux dentelés), une leucodystrophie, un retard de myélinisation.

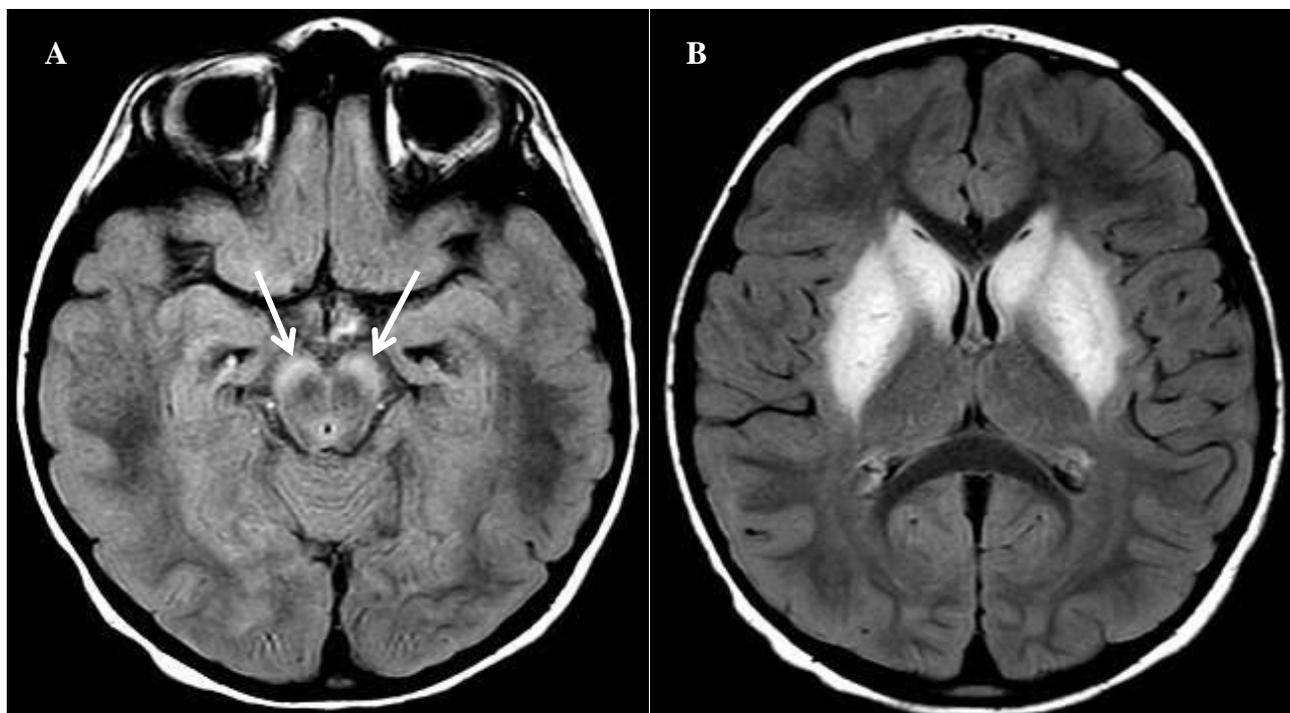


Figure 5 : Aspect IRM d'un syndrome de Leigh : séquences FLAIR axiales montrant un hypersignal pathologique bilatéral et symétrique du mésencéphale (A) et du striatum ainsi que des noyaux caudés (B).

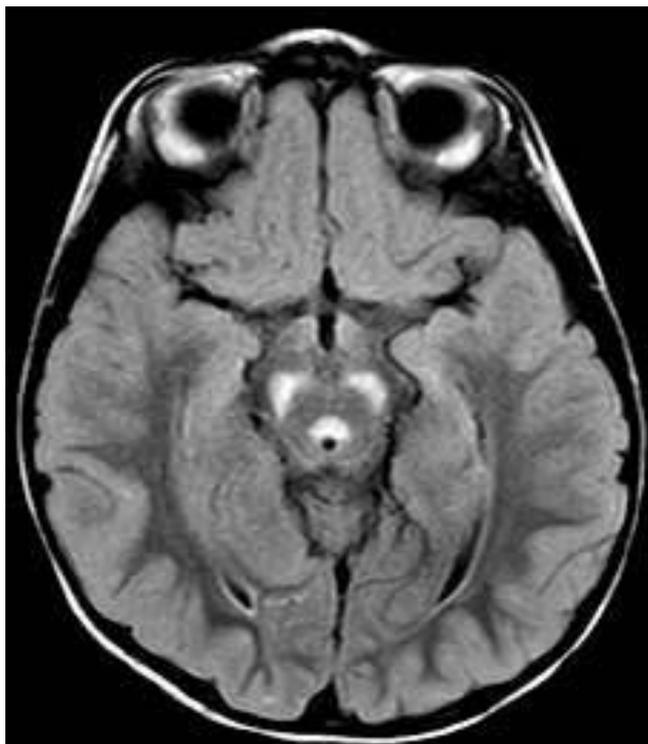


Figure 6 : Aspect IRM d'un syndrome de Leigh : séquences FLAIR axiales montrant un hypersignal pathologique bilatéral et symétrique caractéristique du mésencéphale (substance grise périaqueducule et pédoncules).

Dans les atteintes de type MELAS, on peut observer des accidents vasculaires cérébraux souvent transitoires (« stroke-like »), affectant principalement la substance grise, ne se limitant pas aux territoires vasculaires et situés préférentiellement en région postérieure [58]. L'angio-IRM est habituellement normale.

Dans le syndrome d'Alpers, on retrouve des hypersignaux T2 et FLAIR dans les régions occipitales, les noyaux gris centraux (dont le thalamus) et les noyaux dentelés (cervelet).

La spectroscopie par résonance magnétique permet de détecter les anomalies de répartition des spectres comme : le lactate (1,33 ppm), le N-acétylaspartate (2,02 ppm), le succinate (2,39 / 2,40 ppm), la créatine totale (3,03 ppm), la choline (3,22 ppm). Son caractère non invasif en fait un outil intéressant.

Un pic anormal de lactate peut être retrouvé dans les zones pathologiques (Figure 7) ou radiologiquement normales. Mais d'autres anomalies (une diminution du pic de NAA et surtout du rapport du NAA sur la créatine ou une diminution du pic de choline) peuvent également être

observées dans des zones apparaissant comme normales à l'IRM [59].

L'IRM cérébrale et l'analyse spectroscopique doivent donc être effectuées chez les patients présentant une atteinte neurologique suspecte d'être d'origine mitochondriale [14].

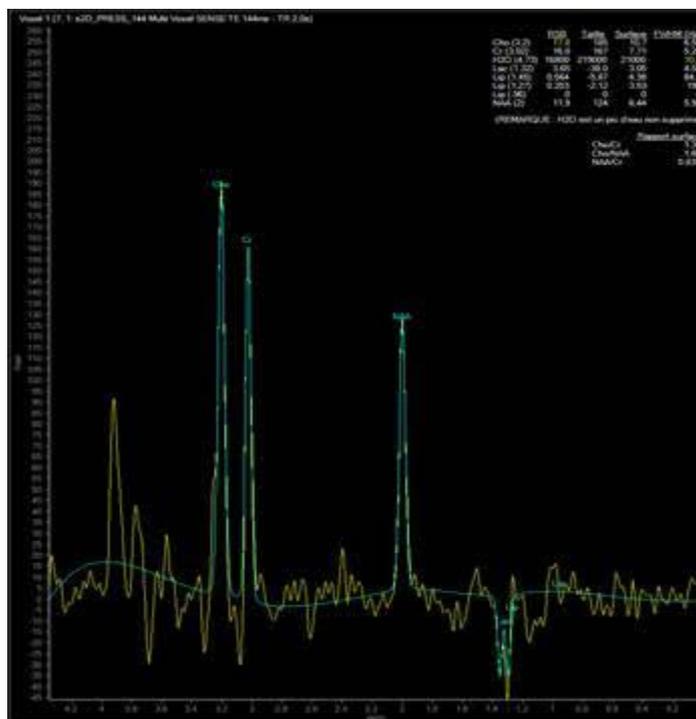


Figure 7 : Spectroscopie multivoxel centrée sur les noyaux gris centraux montrant un pic pathologique de lactate.

b. Autres explorations

Elles reposent sur la recherche de toutes les atteintes multisystémiques potentielles.

Un bilan cardiaque avec ECG et échographie transthoracique doit être facilement réalisé, car les troubles du rythme, les cardiomyopathies hypertrophiques ou dilatées sont souvent asymptomatiques à leur phase initiale et grèvent lourdement le pronostic lorsqu'ils sont présents [60].

Le bilan ophtalmologique (avec fond d'œil, champs visuel, examen à la lampe à fente, électrorétinogramme, potentiels évoqués visuels) peut également orienter le diagnostic s'il objective la présence d'une rétinopathie pigmentaire, d'une ophtalmoplégie ou d'une neuropathie optique.

Les potentiels évoqués auditifs, les potentiels évoqués somesthésiques, l'électroencéphalogramme, l'électromyogramme, sont autant d'examens qui ne doivent être réalisés que s'il existe un point d'appel clinique.

IV - Approche diagnostique des cytopathies mitochondriales

Pour faire face à la complexité clinique du diagnostic de cytopathie mitochondriale, plusieurs équipes ont tentées d'établir des scores diagnostics. Tous ont en commun de reposer à la fois sur des critères cliniques, biologiques, radiologiques, histologiques et moléculaires.

En 1996, Walker et al. ont été les premiers à proposer un score reposant sur l'utilisation de critères majeurs et mineurs pour identifier les cytopathies mitochondriales [61]. Par la suite, Bernier et al. adaptaient les critères de Walker à la population pédiatrique en proposant les critères de Walker modifiés [62].

La dernière proposition a été faite par Morava et al. en 2006 [63] [Annexe 2]. Ce score repose sur des critères cliniques (musculaires, neurologiques et extra neurologiques), paracliniques (métabolique et imagerie), et histologique. Les scores sont subdivisés en 4 catégories, de la moins probable à la plus probable : « unlikely », « possible », « probable » ou « definite ».

V - Prise en charge

A l'heure actuelle, le traitement des maladies mitochondriales est avant tout symptomatique et avec une efficacité très limitée. Il n'existe aucune preuve d'une intervention efficace dans les maladies mitochondriales [64].

Les mesures reposent principalement sur la prévention des décompensations par éviction des facteurs potentiellement déclenchants et sur la supplémentation en cofacteurs et vitamines (dans le but d'optimiser le fonctionnement de la chaîne respiratoire déficitaire).

1) Mesures nutritionnelles

Elles reposent essentiellement sur la prévention d'une décompensation aiguë, en évitant le jeûne prolongé ou un apport massif de glucose.

Le régime cétogène est un recours fréquemment utilisé, qui permet de fournir l'énergie aux cellules grâce aux corps cétoniques (acétone, acétoacétate, 3-hydroxybutyrate) et non par le glucose. Son indication dans les épilepsies chez les patients avec dysfonction de la chaîne respiratoire fait de plus en plus l'unanimité [65]. En revanche, en l'absence d'épilepsie son utilisation reste sujette à controverse. En effet, les lipides utilisent aussi le complexe I dans leur catabolisme et le régime cétogène peut avoir des effets néfastes à long terme (augmentation du cholestérol et des triglycérides, lithiases rénales, retard de croissance staturopondéral). Pour cela, certaines alternatives peuvent être discutées comme le régime à base de triglycérides à chaîne moyenne, le régime Atkins modifié ou encore le régime à faible indice glycémique [66].

2) Supplémentation en cofacteurs et vitaminothérapie

Le coenzyme Q10 s'est révélé efficace pour les déficits primaires de la biosynthèse du coenzyme Q mais n'a pas montré d'efficacité pour les autres déficits de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cependant le coenzyme Q10 reste préconisé dans les atteintes mitochondriales [14].

Même si aucun traitement n'a fait la preuve de son efficacité, un cocktail vitaminique doit être proposé avec coenzyme Q10, vitamine B1 (Thiamine), vitamine B2 (Riboflavine), vitamine B8 (Biotine) et L-carnitine en cas de déficit [67] (Tableau 12).

La L-arginine et la citrulline peuvent être utilisées dans la prévention des épisodes de « stroke-like » du MELAS [68]. Le chlorydrate d'arginine en intra veineux doit être administré dans les 30 minutes suivant un accident vasculaire cérébral associé à la mutation MELAS et doit être discuté dans les épisodes de « stroke-like » liés à d'autres cytopathies mitochondriales [69]

Une substitution enzymatique a été testée dans le syndrome MNGIE pour restaurer l'activité thymidine phosphorylase par l'administration répétée de plaquettes [70] ou de thymidine

phosphorylase encapsulée dans des globules rouges [70]. Elle s'est avérée efficace mais uniquement de façon transitoire. La greffe de moelle osseuse doit également être discutée.

Tableau 12: Résumé des supplémentations possibles avec les posologies et effets secondaires selon Mattman et al. (2011) [72]

Supplement	Recommended adult dose (p.o.)	Comments	Possible side effects
Coenzyme Q10	30 mg (gel caps or liquid) t.i.d.	Take with food and vitamin C (500 mg b.i.d.)	Nausea, diarrhea, upset stomach, or appetite loss.
L-Carnitine	5 ml (500 mg) b.i.d.	Increases transport of long chain fatty acids into the mitochondria for conversion into energy.	
Creatine monohydrate	2.5 g (powder) b.i.d.	<ul style="list-style-type: none"> • Creatine supplementation may improve muscle strength by increasing energy stores and prevent accumulation of lactic acid. • Add powder to sugar-free drinks, including hot drinks, but do not boil. Boiling or adding sugar to creatine will increase its conversion to creatinine. • Avoid purchasing creatine manufactured in China. 	Occasional mild stomach upset.
Thiamine and riboflavin	100 mg o.d.	<ul style="list-style-type: none"> • Useful to reduce incidence and severity of migraine headaches in patients with mitochondrial diseases. • Take with large glass of water to increase absorption. 	Riboflavin causes urine to turn bright yellow, a harmless side effect.
Alpha lipoic acid	200 mg t.i.d.		<ul style="list-style-type: none"> • Occasional mild stomach upset. • Very rarely can trigger an allergic skin reaction.
Arginine	500 mg b.i.d.	<ul style="list-style-type: none"> • Has been shown to reduce stroke-like episodes in MELAS patients. • Check blood levels of arginine 1 month post initiation of oral supplementation. Dose should be titrated to achieve plasma arginine levels of > 80 umol/L. 	

3) Eviction médicamenteuse et déficits secondaires

Une aggravation de la symptomatologie a été rapportée pour différentes molécules.

Le Valproate de Sodium est connu pour précipiter la défaillance hépatique dans le syndrome d'Alpers [73] - [74] mais également pour aggraver les crises épileptiques chez les patients atteints du syndrome de MELAS.

Les anesthésiques volatiles et le Propofol [75] doivent également être évités.

Certaines grandes classes pharmacologiques induisent une inhibition de la chaîne respiratoire :

- par interaction avec le complexe I, comme les neuroleptiques, les barbituriques, les inhibiteurs calciques, des anesthésiques locaux comme la bupivacaïne, les antidiabétiques oraux comme les biguanides et les thiazolidinediones
- l'antimycine A est l'un des principaux inhibiteurs du complexe III
- le complexe IV est quant à lui la cible du cyanure
- un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire peut également être dû au découplage de la chaîne des oxydations phosphorylantes, induite par certains antiparkinsoniens (Tolcapone), des anti-inflammatoires non-stéroïdiens (Diclofénac), des anesthésiques généraux (Propofol), des antidépresseurs inhibiteurs de la recapture sérotoninergique (Fluoxétine)
- une augmentation du stress oxydant peut être induite par la Doxorubine, les fibrates, l'Amiodarone
- le dernier mode d'action toxique est l'inhibition de la réplication de l'ADN mitochondrial et de la synthèse protéique, induit par exemple par les antirétroviraux inhibiteurs de la transcriptase inverse

Certaines pathologies peuvent également induire un déficit secondaire de la chaîne respiratoire mitochondriale. C'est le cas des aciduries organiques ou des anomalies de la bêta-oxydation.

4) Conseil génétique

Toutes les transmissions mendéliennes (de novo, autosomique dominante, autosomique récessive, liée à l'X) et non mendéliennes sont possibles.

Mutation de l'ADN mitochondrial

Si une mutation ponctuelle hétéroplasmique est absente dans différents tissus de la mère du cas index, le risque de transmission est très faible. On peut alors proposer un dépistage sur liquide amniotique à 16 semaines d'aménorrhée. En revanche, si la mutation est présente dans les leucocytes maternels le risque de transmission est élevé. On peut alors proposer un dépistage à 11, 16 et 20 semaines d'aménorrhée pour suivre l'évolution des taux d'hétéroplasmie. Un taux inférieur à 20 % est considéré comme de bon pronostic, un taux de plus de 80 % est au contraire de mauvais pronostic. Entre 20 et 80 % le pronostic est indéterminé [76].

Dans le cas d'une mutation homoplasmique, le verdict reste très incertain car de nombreux facteurs encore inconnus sont impliqués dans l'expression de la maladie.

Cependant, en cas d'hétéroplasmie, l'analyse des villosités chorales n'est pas représentative des autres tissus fœtaux. Et, l'analyse des amniocytes ne peut être valable que si le déficit est exprimé sur les fibroblastes [31].

Mutation de l'ADN nucléaire

Lorsque un variant pathogène nucléaire est identifié, il est possible de proposer un diagnostic pré-implantatoire ou pré-natal.

VI - Epidémiologie

Parmi les erreurs innées du métabolisme, celles touchant la mitochondrie sont les plus fréquentes [77].

La première étude analysant spécifiquement les mutations de l'ADNmt concernait des patients adultes du nord de l'Angleterre. La prévalence retrouvée était de 6,57 / 100 000 (IC 95% = 5,30-7,83) [38]. La prévalence moyenne des mutations de l'ADNmt était de 0,54% de naissances [33].

Une étude Suédoise, portant sur 358 616 enfants a permis d'identifier 32 enfants atteints avant leurs 16 ans. La prévalence retrouvée était de 4,7 / 100 000 (IC 95% = 2,8-7,6 / 100 000) [78].

A la même époque, dans le sud de l'Australie, une étude portant sur 1 706 694 naissances retrouvait une prévalence entre 5 / 100 000 (IC 95% = 4,0-6,2 / 100 000) et 6,2 / 100 000 naissances vivantes (IC 95% = 4,3-8,1 / 100 000). L'extrapolation à la population générale donnerait une prévalence à 13,1 / 100 000 soit 1 / 7 634 tous âges confondus [79].

Malgré l'éloignement géographique extrême entre ces deux études (Suède et Australie), on constate des résultats similaires tant sur la prévalence globale de l'atteinte mitochondriale (5 / 100 000 naissances) que sur la proportion des atteintes liées à l'ADNmt (environ 15%) [80].

Plus récemment, une étude réalisée dans le Midlands de l'Ouest (Birmingham, Royaume-Uni) retrouvait une prévalence des troubles mitochondriaux à 1 sur 4929 naissances vivantes [77]. Cette prévalence plus élevée peut-être due à la proportion plus importante de consanguinité dans cette population que dans les précédentes études, mais également aux progrès techniques permettant un meilleur diagnostic de ces pathologies.

VII - Problématiques actuelles

Du fait de la complexité diagnostique des cytopathies mitochondriales, nous avons des raisons de penser que leur prévalence est certainement sous-estimée.

Aucun argument clinique, radiologique ou biologique n'est spécifique ou sensible d'un déficit primaire de la phosphorylation oxydative.

L'analyse enzymo-histologique reste cependant un examen clé dans la recherche d'un déficit de la chaîne respiratoire. Mais elle nécessite un acte invasif et douloureux. De plus le choix du tissu à étudier n'est pas consensuel et peut dépendre de la distribution tissulaire, hétérogène, entraînée par la ségrégation mitotique. Comme le reste des examens, sa normalité n'exclut pas le diagnostic et des anomalies peuvent ne pas être dues à un déficit primaire de la chaîne respiratoire.

En effet, même lorsqu'un déficit de la chaîne respiratoire est mis en évidence cela ne traduit pas forcément une cytopathie mitochondriale. Un grand nombre de causes peuvent entraîner un déficit secondaire de la chaîne respiratoire (acidurie propionique, éthylmalonique, médicaments, déficit en PDH, CASH syndrome, inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, etc) [81].

Seule la génétique peut apporter un diagnostic de certitude. Mais elle nécessite au préalable un étayage diagnostic par les examens cliniques, biologiques et radiologiques vus précédemment. L'interaction des deux génomes peut complexifier l'interprétation des résultats génétiques. De plus, la clinique impose dans un grand nombre de cas, la recherche urgente d'un diagnostic (comme dans les défaillances multi viscérales). Les analyses génétiques ne sont, pour l'instant, pas en mesure de répondre dans de tels délais.

Les cytopathies mitochondriales sont des pathologies incurables et d'une particulière gravité rendant acceptable une demande d'interruption médicale de grossesse. Cependant, le conseil génétique est particulièrement complexe en l'absence de mutation délétère retrouvée car tout mode d'hérédité est possible.

Même la prévision chez les femmes porteuses d'une mutation à l'état hétéroplasmique reste délicate. En effet, en période prénatale, le diagnostic prévisionnel repose soit sur la biopsie de trophoblaste pour analyse des villosités choriales (entre 9 et 11 semaines d'aménorrhée), soit sur la ponction de liquide amniotique (réalisable uniquement à partir de 16 semaines d'aménorrhée), et peut donc ne pas être représentative de la répartition de mitochondries atteintes dans les autres tissus.

Le caractère homoplasmique ou hétéroplasmique, spécifique du génome mitochondrial, participe donc aux difficultés de diagnostic clinique, biologique et prénatal.

Aucun traitement curatif n'est disponible à l'heure actuelle. Cependant, si des essais thérapeutiques devaient être mis en place, un des prérequis serait la possibilité de faire un diagnostic de certitude le plus précocement possible.

OBJECTIFS

L'atteinte est d'autant plus sévère et précoce que le tissu a une dépendance énergétique importante. Ceci rend le système nerveux central particulièrement vulnérable aux atteintes de la chaîne respiratoire. Elle semble être l'atteinte la plus fréquente puisque 45% des enfants ayant un déficit de la phosphorylation oxydative présenterait un symptôme neuro musculaire [82].

L'objectif principal de cette étude était donc de déterminer le profil des symptômes neurologiques présents initialement chez l'enfant atteint de cytopathie probable. Le but étant d'apporter une aide diagnostic afin de limiter au maximum le retard dans la prise en charge de ces affections engageant dans un grand nombre de cas le pronostic vital et/ou fonctionnel de l'enfant.

Nous avons également recherché :

- s'il existait une association entre les symptômes neurologiques et extra-neurologiques présents initialement (ou secondairement) et la survie des patients ainsi que l'âge de survenue du premier symptôme et la survie.
- une association entre le déficit enzymologique et les symptômes neurologiques et extra neurologiques.
- à déterminer le profil des patients ayant bénéficié d'une imagerie cérébrale.
- à déterminer le profil génétique des patients ayant un symptôme neurologique inaugural, mais également s'il existe une corrélation génotype-phénotype.

Nous avons appliqué les critères diagnostiques de Morava et al. à notre cohorte, et recherché un éventuel lien avec l'âge, la survie, le complexe déficitaire ou l'atteinte du génome mitochondrial ou nucléaire.

PATIENTS ET METHODES

I - Population

Il s'agissait d'une étude monocentrique. Les patients étaient inclus après recueil des listes de biopsies musculaires réalisées au Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille (relevé des codages des Unités Fonctionnelles de réanimation pédiatrique, néonatalogie, néphropédiatrie-endocrinopédiatrie-maladies héréditaires du métabolisme, neurologie pédiatrique, chirurgie pédiatrique) ainsi que par l'obtention de la totalité des analyses de l'ADN mitochondrial leucocytaire ayant retrouvées une mutation pathogène.

Étaient inclus les patients ayant bénéficié entre 2006 et 2016 d'une exploration de la chaîne respiratoire mitochondriale de type : biologie moléculaire de l'ADN mitochondrial ou de l'étude d'histochimie et d'enzymologie de la chaîne respiratoire.

Les critères diagnostics reposaient sur une étude de la chaîne respiratoire sur le muscle anormale et/ou la présence d'un variant pathogène de l'ADN mitochondrial ou nucléaire.

Étaient exclus :

- les patients dont le premier symptôme n'était pas neurologique.
- ceux ayant présenté un premier symptôme en lien avec une cytopathie mitochondriale après 18 ans,
- ceux pour qui le diagnostic de cytopathie mitochondrial initialement proposé n'était pas retenu au final (clinique peu en faveur, biologie sans anomalie évocatrice, absence de pic de lactate à la spectroscopie, pas de mutation de l'ADN mitochondrial, pas de mutation de l'ADN nucléaire codant pour la mitochondrie, et surtout si les anomalies de l'étude de la chaîne respiratoire étaient en lien avec un déficit secondaire dans le cadre d'une pathologie causale autre déterminée secondairement).

II - Recueil

Les données ont été recueillies de manière rétrospective sur dossier patient informatisé ainsi que sur le dossier patient papier.

Afin de répondre à notre objectif principal, le(s) premier(s) symptôme(s) neurologique(s) inaugural(aux) ainsi que l'âge auquel il(s) survenai(en)t étaient recueillis.

Les symptômes neurologiques apparus secondairement étaient également notés sans distinction selon le délai d'apparition avec le premier symptôme.

Les critères secondaires choisis étaient : l'hypotrophie, le poids (en déviation standard), les anomalies ophtalmologiques, la surdité, les anomalies hépatiques, l'atteinte cardiaque, les anomalies endocrinologiques, l'atteinte néphrologique.

Les caractéristiques de la population étaient étudiées par l'âge, le sexe, l'âge au dernier suivi, la survenue d'un décès. Les antécédents familiaux de cytopathie mitochondriale ainsi que la présence d'une consanguinité étaient notés.

L'étude était réalisée sur la cohorte globale et par sous-groupe d'âge. Les 3 sous-groupes d'âge étaient :

- nourrisson de moins de 1 mois à l'apparition du premier symptôme
- nourrisson de 1 à 24 mois à l'apparition du premier symptôme
- enfant de plus de 24 mois à l'apparition du premier symptôme

Un calcul de la prévalence basé sur le nombre de naissance dans la région Nord-Pas-De-Calais était réalisé. Le nombre de naissance était déterminé par le nombre de test de Guthrie réalisé dans la région entre 2006 et 2016. Dans le Nord-Pas-De-Calais, seul le CHRU de Lille réalise l'étude de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Les antécédents néonataux étaient relevés par la survenue d'une prématurité, la présence d'un RCIU (poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel), les anomalies cérébrales anténatales, et les autres anomalies durant la grossesse.

Les anomalies à l'IRM pouvant être hétérogènes, l'IRM cérébrale était considérée comme pathologique lorsque l'interprétation retrouvait un élément variant de la normale en distinguant ceux pour qui une atteinte du tronc cérébral, une atteinte des noyaux gris centraux ou un syndrome de Leigh étaient mis en évidence. Le syndrome de Leigh était défini comme la présence simultanée d'un hyper signal bilatéral du tronc cérébral (atteinte mésencéphalique) et des noyaux gris centraux. L'analyse spectroscopique était recueillie. Elle était considérée comme pathologique si un pic de lactate était présent.

Le lactate dans le LCR était considéré comme pathologique au-delà de 1,8 mmol/L, le pyruvate au-delà de 0,2 mmol/L, et le rapport L/P au-delà de 20.

Le lactate sanguin était considéré comme pathologique au-delà de 2,5 mmol/l, le pyruvate au-delà de 0,2 mmol/L, et le rapport L/P au-delà de 20. La présence d'une cétose paradoxale était relevée.

Pour l'interprétation de la chromatographie des acides aminés, selon les normes du laboratoire, une hyperalaninémie était définie par une alanine plasmatique supérieure à 485 mmol/L, une hyperprolinémie pour un dosage supérieur à 276 mmol/L.

Sur la chromatographie des acides organiques urinaires : était considéré comme pathologique un acide fumarique supérieur à 14 mmol/L, un acide methyl malonique supérieur à 5 mmol/L, un acide succinique supérieur à 76 mmol/L. Le lactate urinaire était relevé.

L'anatomopathologie était recueillie sur biopsie musculaire et/ou hépatique. Elle était considérée comme anormale quand une caractéristique déjà décrite comme pouvant être en lien avec une cytopathie mitochondriale était retrouvée.

Était recueillie l'étude de la chaîne respiratoire par enzymologie sur le muscle, le foie et/ou les fibroblastes. En cas d'anomalie, il était précisé si l'atteinte était multiple et le (ou les) complexe(s) atteint(s). Les valeurs de référence des activités actuellement utilisées au Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille sont résumées dans le Tableau 13.

Le résultat tenait compte non seulement de la valeur absolue d'activité des complexes, mais aussi de leurs rapport à la citrate synthase (enzyme de la matrice mitochondriale) et surtout de l'activité des complexes entre eux.

Tableau 13 : Valeurs de référence des activités des complexes de la chaîne respiratoire sur le muscle
(nmol/min/mg)

Complexe	Valeurs de référence
Complexe I	9 - 29
Complexe II	20 – 34
Complexe III	50 – 115
Complexe IV	72 – 144
Complexe I / II	1,1 – 2,0
Complexe I / III	0,22 – 0,64
Complexe IV / I	3,4 – 6,2
Complexe IV / II	4,0 – 11,8
Complexe IV / III	1,2 – 2,6
Complexe III / II + III	1,75 – 4,25
Complexe III / II	2,5 – 6,1
Complexe II + III / II	1,1 – 1,9

Le screening de l'ADN mitochondrial était réalisé via Mitochips®, Surveyor® ou séquençage complet. Le tissu d'où était extrait l'ADN était précisé (muscle, leucocytes, peau, urine). L'étude de l'ADN nucléaire était réalisée soit par étude ciblée d'un gène (orientée par la clinique) soit par NGS (Next Generation Sequencing).

Nous avons calculé à posteriori, le score MDC (Mitochondrial Disease Criteria) de Morava et al. chez tous nos patients [63]. Le score était calculé une première fois avec les symptômes présents initialement, puis une seconde fois avec les symptômes apparus par la suite et était appelé respectivement « score initial » et « score secondaire » [Annexe 2].

III - Analyses statistiques

Les paramètres qualitatifs ont été décrits en termes de fréquence et de pourcentage. Les paramètres numériques gaussiens ont été décrits en termes de moyenne et de déviation standard et les paramètres numériques non gaussiens en termes de médiane et d'intervalle interquartiles. La normalité des paramètres numériques a été vérifiée graphiquement et testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

La survie des patients a été analysée à l'aide de la courbe de Kaplan-Meier. Les analyses univariées entre la survie et les symptômes initiaux ont été réalisées à l'aide de test du log-rank. L'association entre la survie et l'âge a été analysée à l'aide d'un modèle de Cox.

Les comparaisons des répartitions des symptômes neurologiques entre les trois groupes d'âge ont été effectuées à l'aide de test du Chi-deux ou de Fisher exact. Lorsqu'une différence était significative, une analyse post-hoc a été réalisée en appliquant la correction de Bonferroni. Les comparaisons des répartitions des symptômes neurologiques entre les complexes et selon l'ADN mitochondrial ont été réalisées à l'aide de test du Chi-deux ou de Fisher exact.

Le score établi avec les symptômes initiaux a été comparé au score établi avec les symptômes apparus secondairement à l'aide d'un test des rangs signés de Wilcoxon. Le changement de catégorie entre le score initial et le score secondaire en fonction de l'âge a été analysé à l'aide d'un test du Chi-deux. Le score initial a été comparé selon la génétique et selon les complexes à l'aide d'un test U de Mann-Whitney.

Les statistiques ont été réalisées par l'unité de méthodologie biostatistique du CHRU de Lille. Des tests bilatéraux ont été réalisés avec un niveau de significativité de 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

IV - Conflit d'intérêts

Les auteurs déclarent que le protocole a été réalisé en l'absence de relation commerciale ou financière qui pourrait être interprétée comme un conflit d'intérêts potentiel.

RESULTATS

I - Recrutement de la population

Au total, le recueil était réalisé sur 272 patients ayant eu une étude de la chaîne respiratoire mitochondriale et/ou de l'ADNmt entre 2006 et 2016. Quarante-vingt-dix patients étaient inclus.

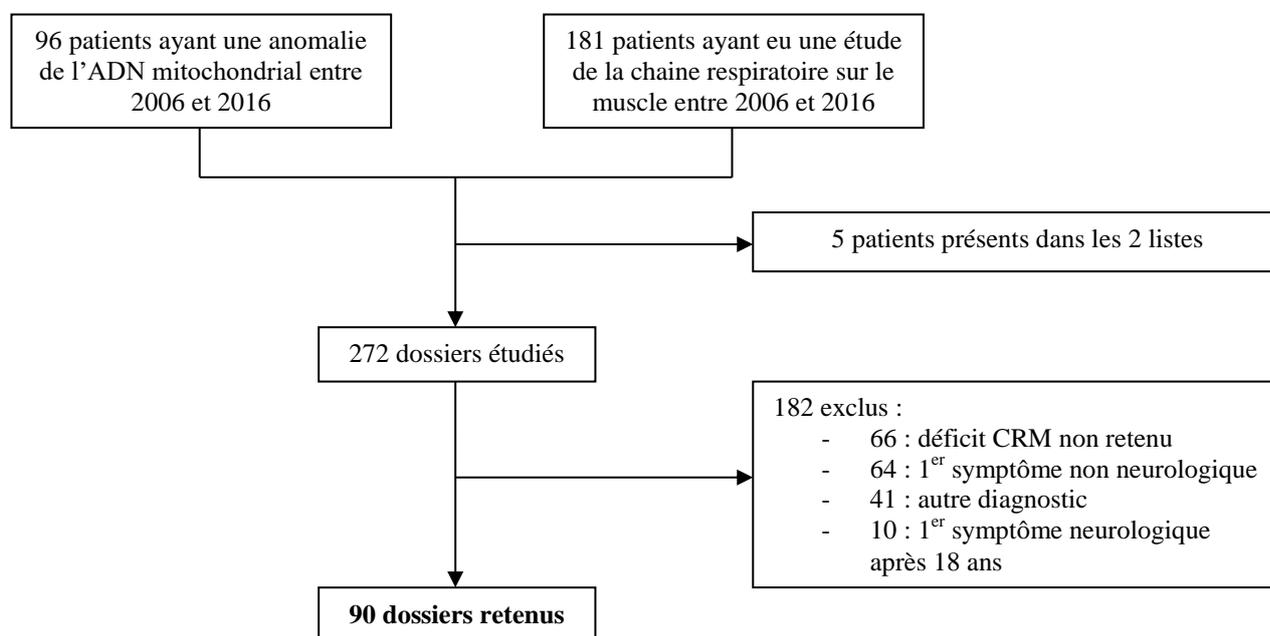


Figure 8 : Diagramme de flux

Afin d'obtenir une approximation de la prévalence des cytopathies mitochondriales se révélant par un symptôme neurologique dans l'enfance, nous avons déterminé le nombre de naissance entre 2006 et 2016 à 617 792 (nombre de nouveau-nés ayant bénéficié d'un test de dépistage néonatal par test de Guthrie). Ceci nous permettait d'estimer la prévalence à 1 / 6 864 naissances dans la région Nord-Pas-De-Calais.

II - Caractéristiques de la population

La durée médiane de suivi était de 4 ans 8 mois [1^{er} quartile 1 an 8 mois ; 3^{ème} quartile 12 ans 9 mois].

Tableau 14 : Caractéristiques générales de la population de l'étude

Caractéristique	0 – 1 mois	1 – 24 mois	2 – 18 ans	Total (%)
Nombre de sujet	25 (27,8%)	31 (34,4%)	34 (37,8%)	90 (100%)
Sexe (masculin)	14 (56%)	20 (64,5%)	17 (50%)	51 (56.7%)
Sexe (féminin)	11 (44%)	11 (35,5%)	17 (50%)	39 (43,3%)
Décédés au dernier suivi	12 (48%)	11 (35,5%)	4 (11,8%)	27 (30%)
Consanguinité	5 (20,8%)	5 (16,1%)	1 (3%)	11 (12.5%)
Antécédent familial de cytopathie mitochondriale	5 (20,8%)	4 (12,9%)	3 (9,1%)	12 (13.6%)
RCIU	7 (30,4%)	2 (6,5%)	5 (17,2%)	14 (16.9%)
Anomalie cérébrale anténatale	0 (0%)	2 (6,5%)	0 (0%)	2 (2.4%)
Grossesse compliquée	4 (17,4%)	4 (12,9 %)	3 (10,3%)	11 (13.3%)
Prématurité	4 (17,4%)	3 (9,7%)	2 (6,9%)	9 (10.8%)

On constatait un taux de décès, de consanguinité, d'antécédents familiaux, de retard de croissance intra-utérin plus important dans le groupe des moins de 1 mois.

On observait une différence significative de la survie entre les sous-groupes d'âge ($p = 0,0008$). L'odds ratio était à 0,99 ($p < 0,05$) signant l'association entre l'âge et le risque de décès. Plus le symptôme initial apparaissait précocement, plus le risque de décès augmentait.

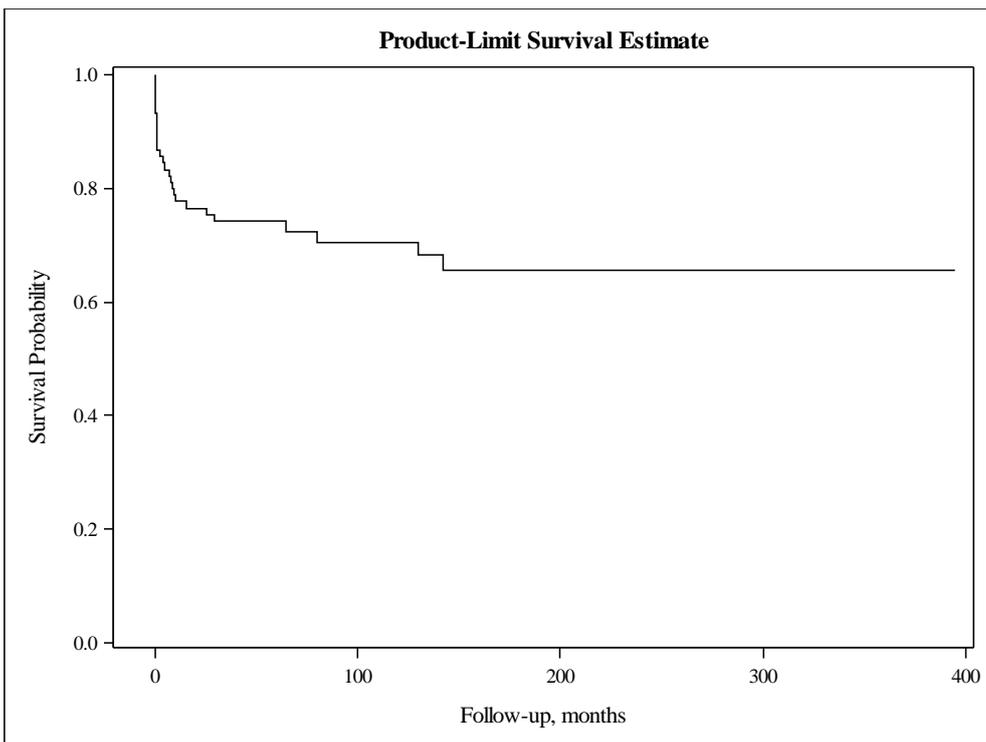


Figure 9 : Courbe de survie globale (N = 90)

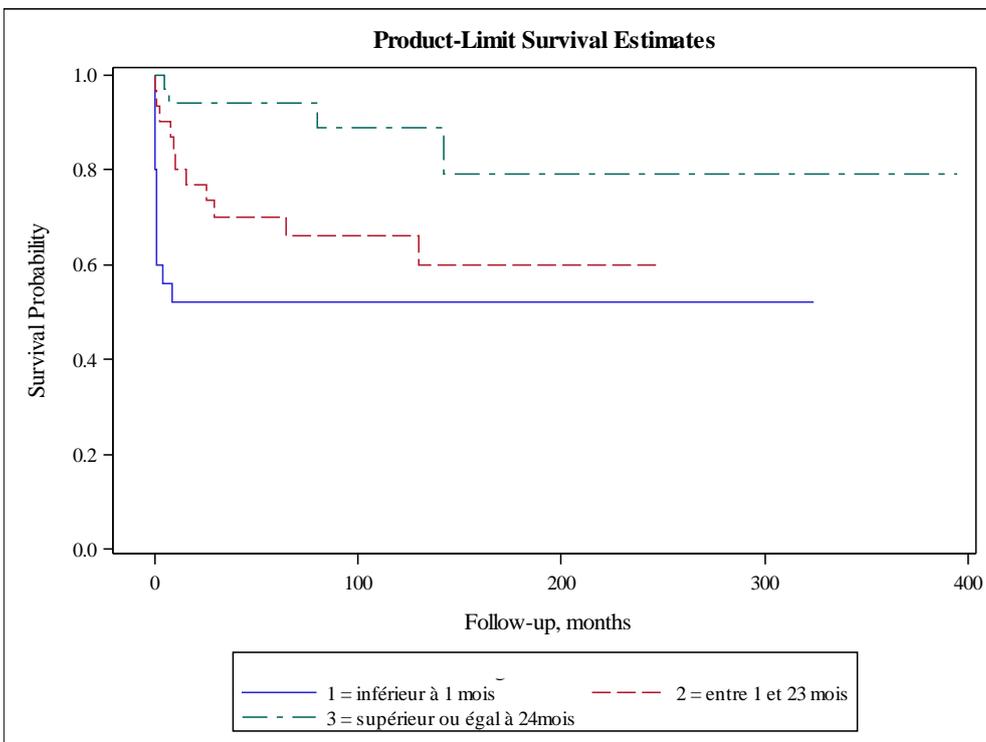


Figure 10 : Courbe de survie par sous-groupe d'âge
 (< 1 mois (N = 25) ; 1-24 mois (N = 31); > 24 mois (N = 34))

III - Symptômes neurologiques inauguraux

L'âge médian à l'apparition du premier symptôme neurologique était de 10,5 mois [minimum 0 jours ; maximum 17 ans].

Tableau 15 : Distribution des symptômes neurologiques inauguraux par sous-groupe d'âge

Symptôme neurologique inaugural	0 – 1 mois	1 – 24 mois	2 – 18 ans	Total (%)
Hypotonie	18 (72%)	19 (61,3%)	5 (14,7%)	41 (45,6%)
Retard psychomoteur	8 (32%)	16 (51,6%)	5 (14,7%)	29 (32,2%)
Anomalie du périmètre crânien	9 (36%)	7 (22,6%)	5 (15,7%)	21 (23,8%)
- Microcéphalie	7 (28%)	3 (9,7%)	2 (6,3%)	12 (13,6%)
- Macrocéphalie	2 (8%)	4 (12,9%)	3 (9,4%)	9 (10,2%)
Ptosis ou atteinte du nerf optique	1 (4%)	3 (9,7%)	14 (41,2%)	18 (20%)
Atteinte musculaire	6 (24%)	5 (16,1%)	5 (14,7%)	16 (17,8%)
Epilepsie	4 (16%)	5 (16,1%)	5 (14,7%)	14 (15,6%)
Syndrome cérébelleux	1 (4%)	3 (9,7%)	3 (8,8%)	7 (7,8%)
Régression psychomotrice	0 (0%)	5 (16,1%)	1 (2,9%)	6 (6,7%)
Syndrome pyramidal	2 (8%)	2 (6,5%)	2 (5,9%)	6 (6,7%)
Syndrome extrapyramidal	1 (4%)	1 (3,2%)	2 (5,9%)	4 (4,4%)
Trouble du comportement	1 (4%)	0 (0%)	3 (8,8%)	4 (4,4%)
Neuropathie	0 (0%)	1 (3,2%)	2 (5,9%)	3 (3,3%)
Atteinte du tronc cérébral	0 (0%)	2 (6,5%)	1 (2,9%)	3 (3,3%)

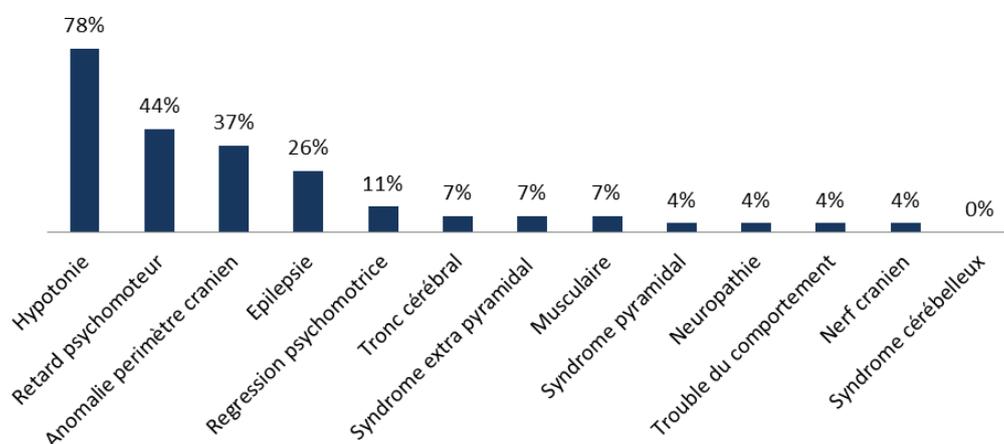


Figure 11 : Distribution des symptômes neurologiques inauguraux chez les enfants décédés (N = 27)

IV - Symptômes neurologiques présents secondairement

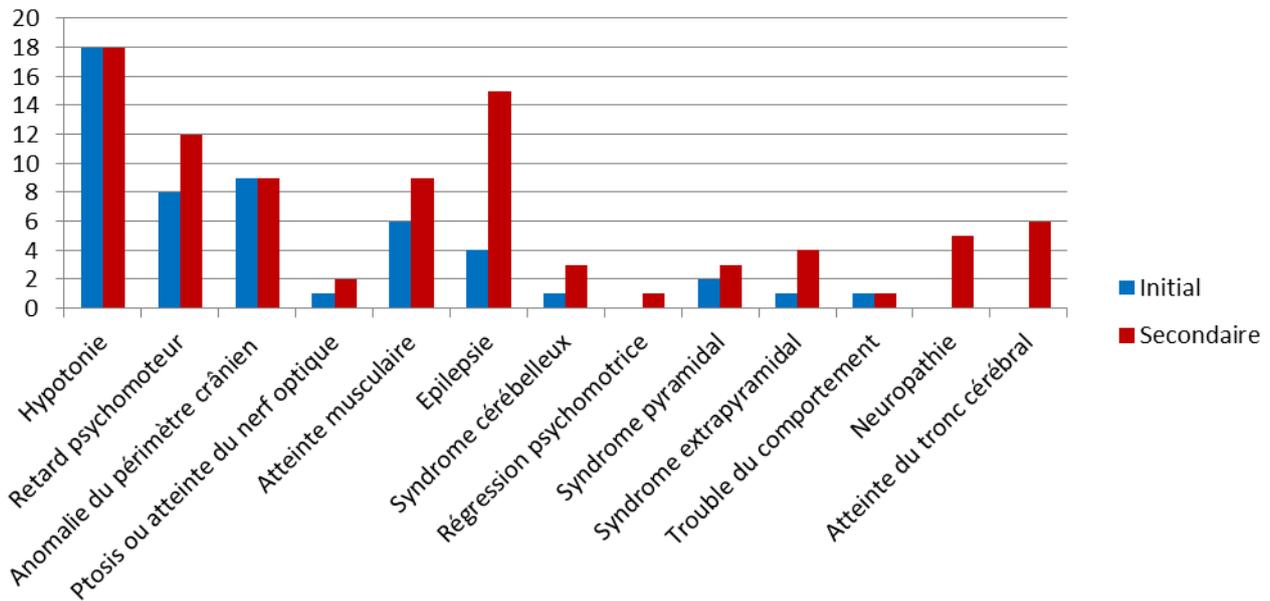


Figure 12 : Répartition des symptômes neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de moins de 1 mois (en nombre de sujets atteints) N = 25

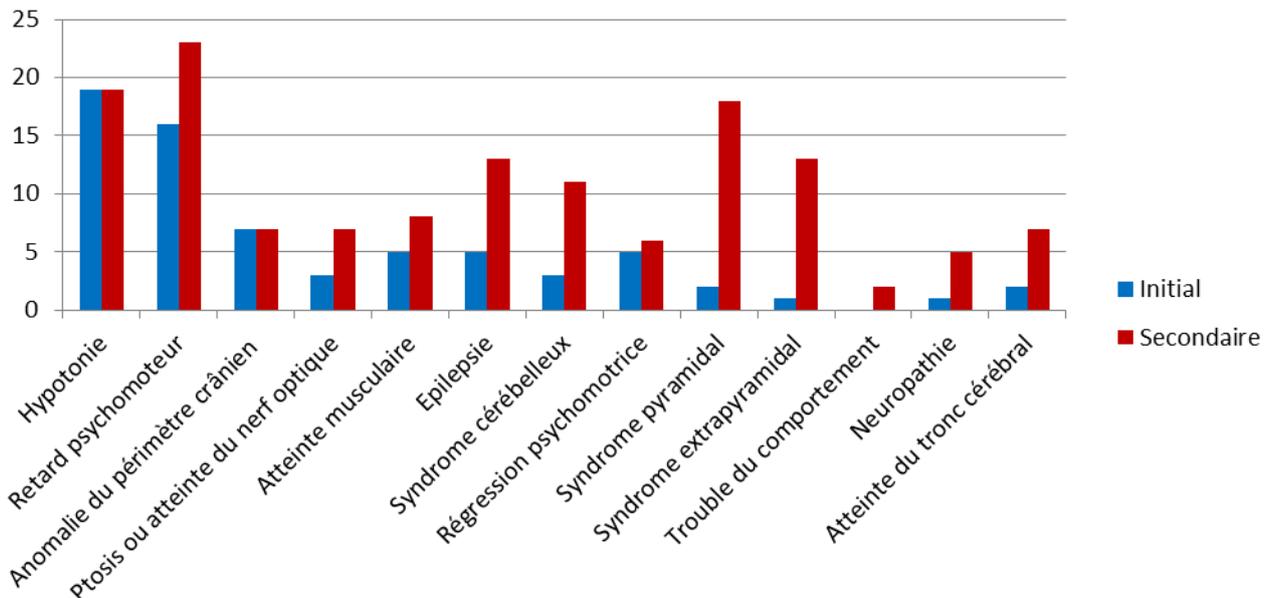


Figure 13 : Répartition des symptômes neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de 1 à 24 mois (en nombre de sujets atteints) N = 31

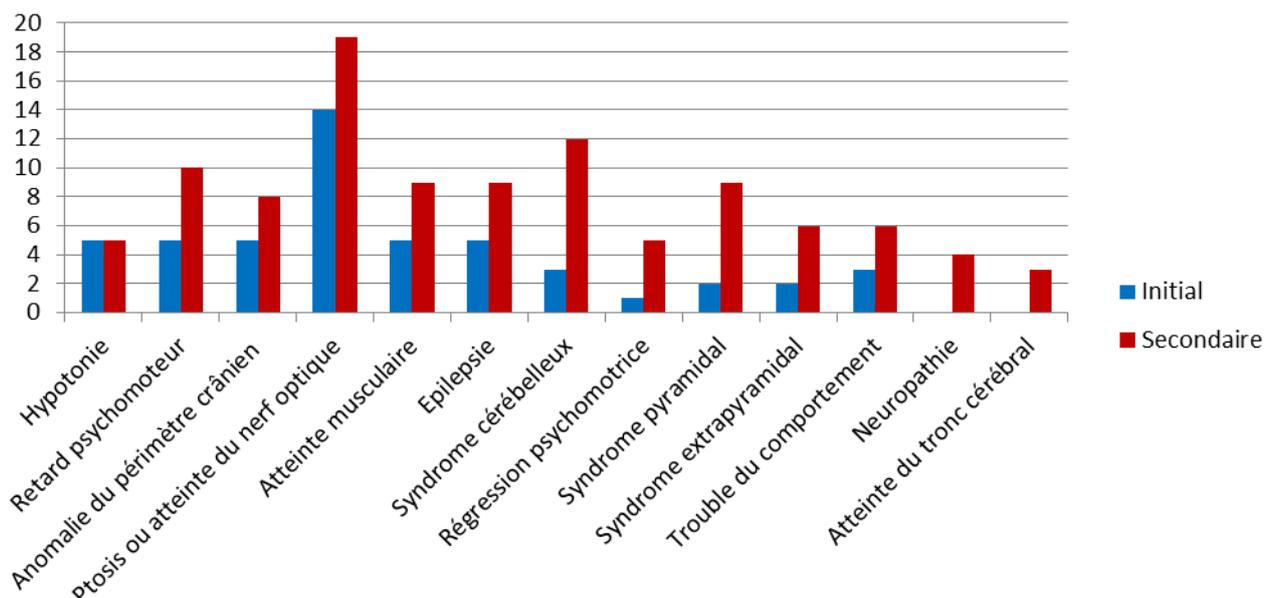


Figure 14 : Répartition des symptômes neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de plus de 24 mois (en nombre de sujets atteints) N = 34

Nous retrouvons une différence significative entre les sous-groupes d'âge avec une hypotonie inaugurale statistiquement plus fréquente chez les moins de 1 mois que chez les plus de deux ans ($p < 0,0001$).

Un ptosis ou une atteinte du nerf optique était statistiquement plus importante dans le sous-groupe des plus de 2 ans que dans celui des moins de 1 mois ($p = 0,0004$).

Un retard psychomoteur était statistiquement plus fréquent chez les 1 à 24 mois que chez les plus de 24 mois ($p = 0,006$).

Il n'était pas retrouvé de différence significative entre les différents sous-groupes et la présence initiale d'une épilepsie, d'anomalies de périmètre crânien ou de symptômes musculaires.

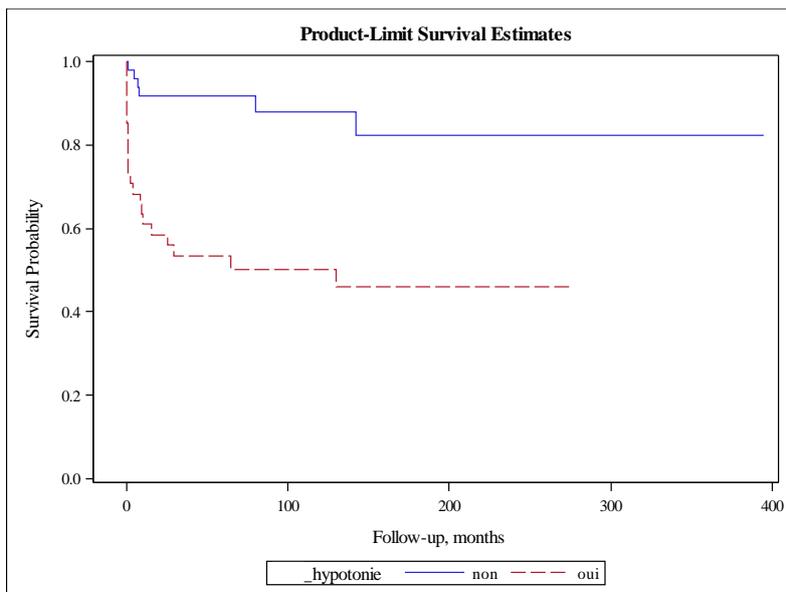


Figure 15 : Courbe de survie des enfants présentant une hypotonie inaugurale (N = 41)

La présence d’une hypotonie est statistiquement associée à un décès plus précoce avec 60 % de vivants à l’âge d’un an ($p < 0,0001$).

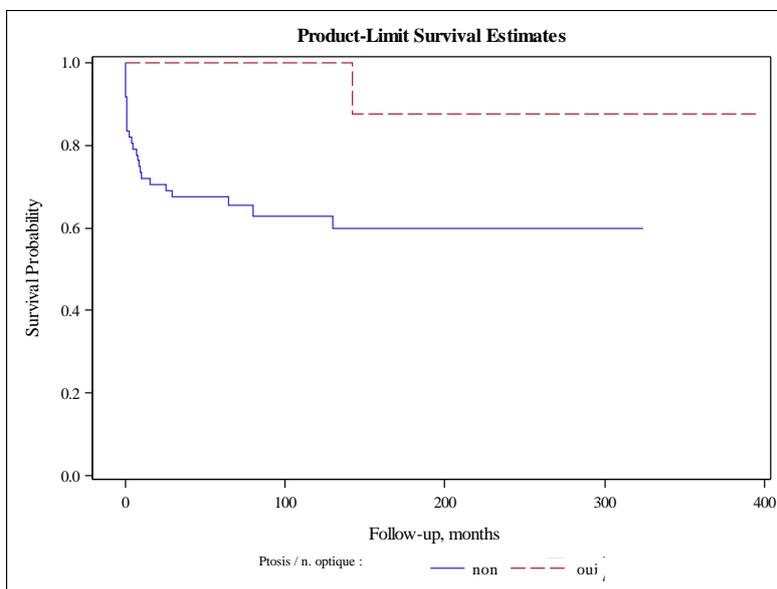


Figure 16 : Courbe de survie des enfants présentant un ptosis ou une atteinte du nerf optique inaugural (N = 18)

La survie était statistiquement plus importante chez les patients présentant comme symptôme inaugural un ptosis ou une atteinte du nerf optique ($p = 0,01$).

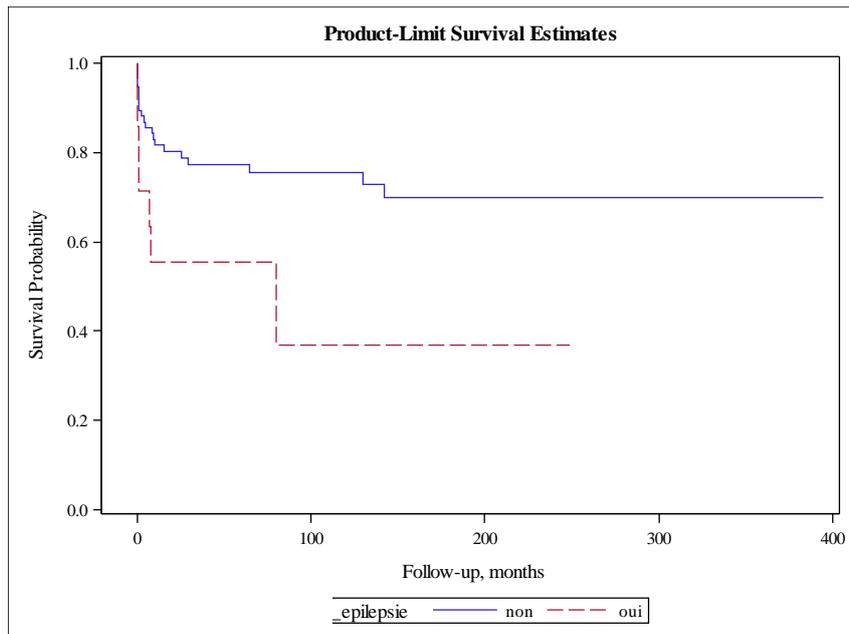


Figure 17 : Courbe de survie des enfants présentant une épilepsie inaugurale (N = 14)

La présence d'une épilepsie inaugurale diminuait statistiquement la survie ($p < 0,05$)

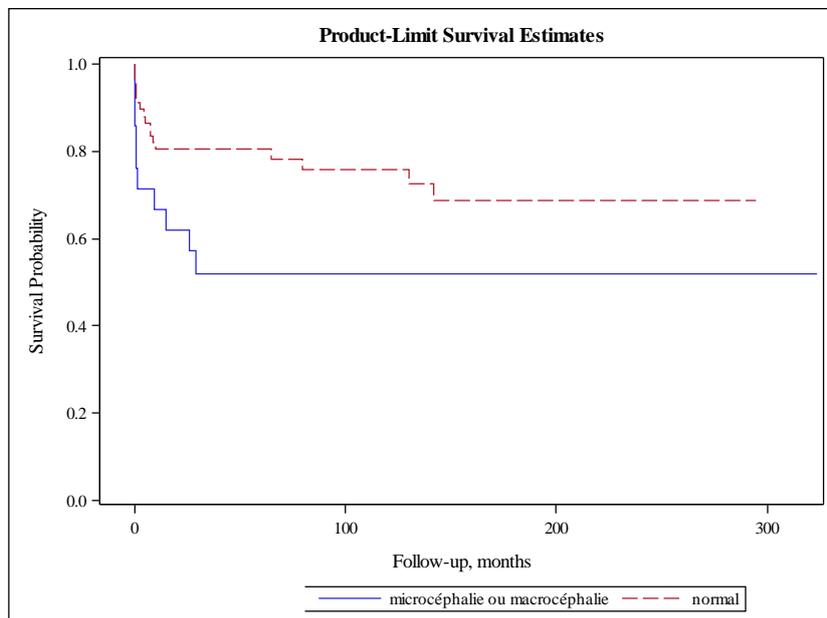


Figure 18 : Courbe de survie des enfants présentant une microcéphalie ou une macrocéphalie inaugurale (N = 21)

Il existait une différence significative de la survie chez les patients avec une anomalie du périmètre crânien ($p < 0,05$).

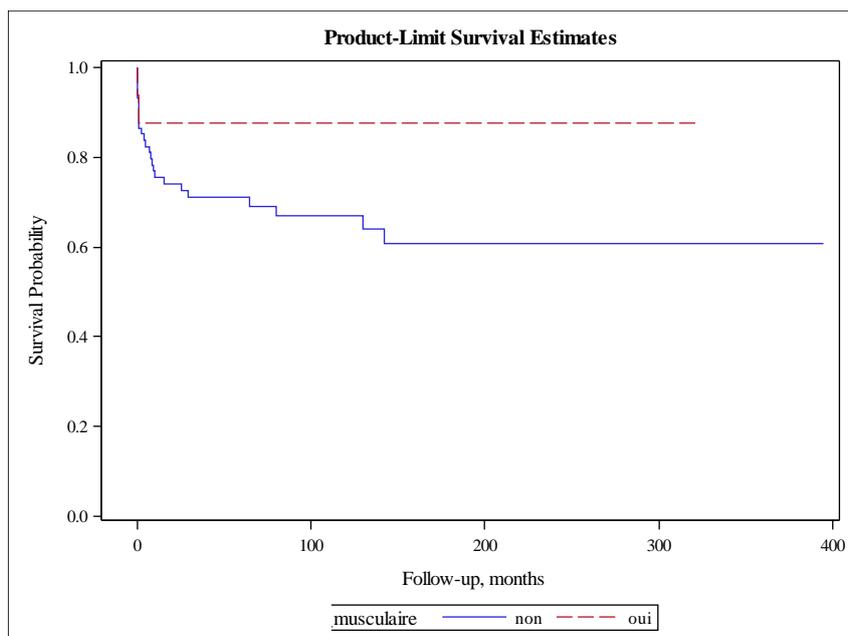


Figure 19 : Courbe de survie des enfants présentant un symptôme musculaire inaugural (N = 16)

Il n'existait pas de différence significative entre les deux groupes.

Tableau 16 : Association entre la présence/absence de l'hypotonie et les autres syndromes pouvant se manifester par une hypotonie

Association	Retard psychomoteur	Syndrome cérébelleux	Atteinte musculaire
Hypotonique	21	12	10
Non hypotonique	13	10	15

Vingt et un patients hypotoniques ne présentaient ni atteinte cérébelleuse ni musculaire (parmi ceux-là, sept ne présentaient pas de retard des acquisitions).

V - Symptômes extra neurologiques

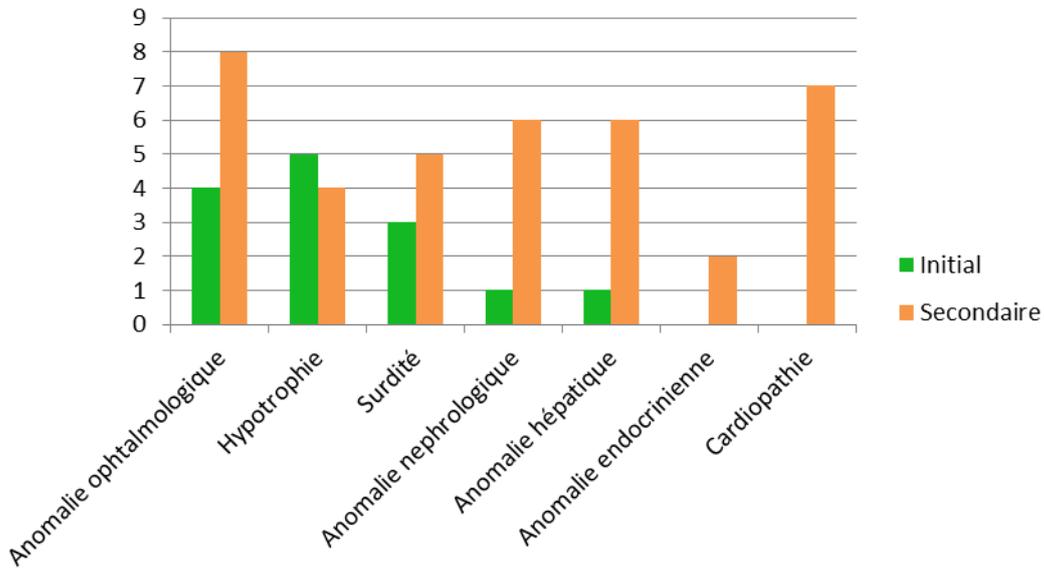


Figure 20 : Répartition des symptômes extra neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de moins de 1 mois (en nombre de sujets atteints) N = 25

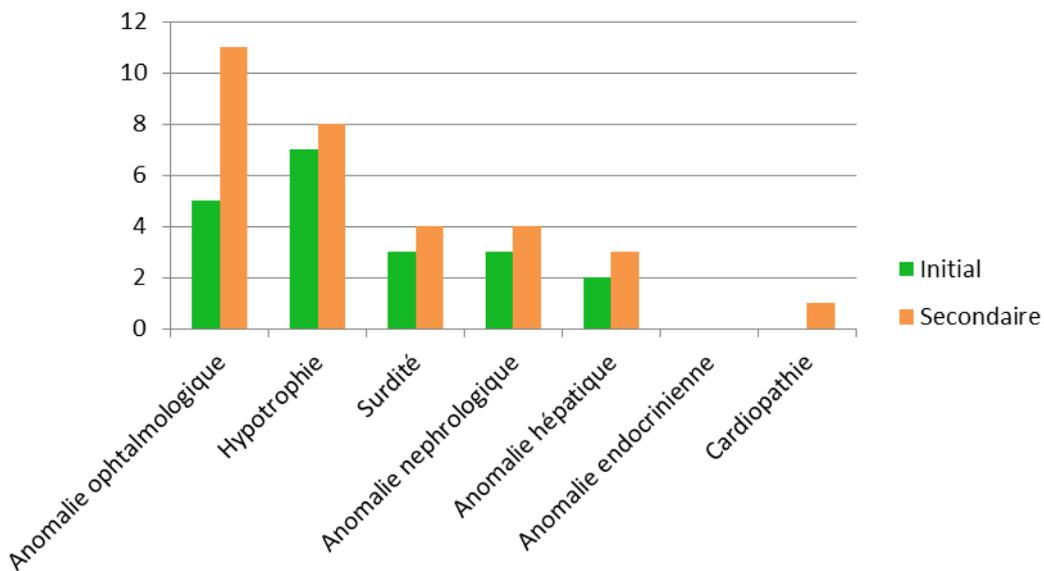


Figure 21 : Répartition des symptômes extra neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de 1   24 mois (en nombre de sujets atteints) N = 31

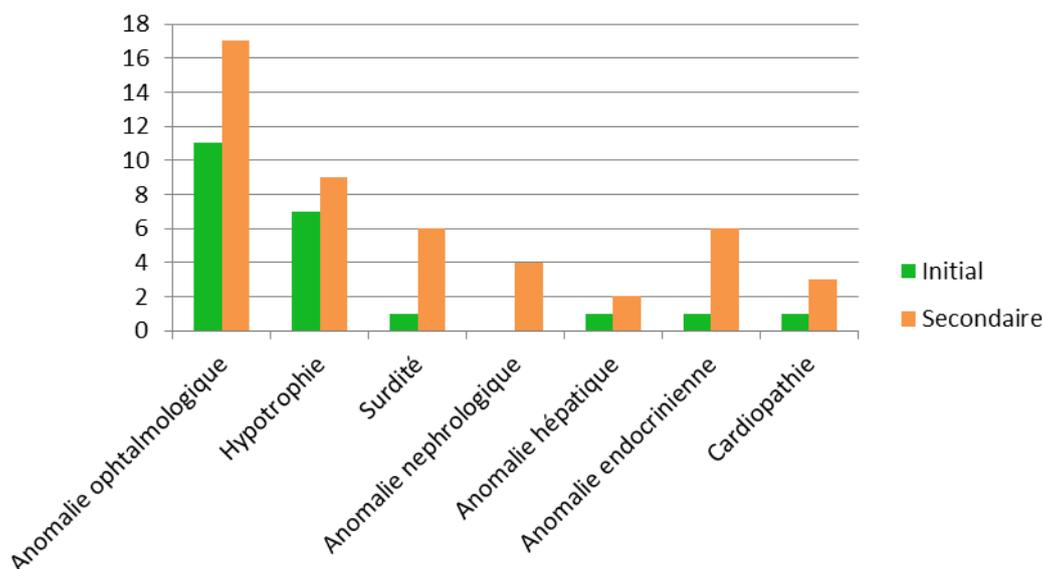


Figure 22 : Répartition des symptômes extra neurologiques initiaux et secondaires chez les enfants de plus de 24 mois (en nombre de sujets atteints) N = 34

Une association significative était retrouvée entre la présence d'anomalies ophtalmologiques « secondaires » et un déficit en complexe II ($p = 0,05$). Cette association n'était pas retrouvée pour les symptômes ophtalmologiques inauguraux.

Une association significative était retrouvée entre la présence d'une surdité d'apparition « secondaire » et un déficit en complexe I ($p < 0,05$). Cette association n'était pas retrouvée pour les surdités inauguraux.

Lorsqu'un déficit en complexe I était présent on observait une fréquence significativement plus importante de retard pondéral apparu secondairement ($p < 0,05$).

Lorsqu'une atteinte cardiaque était présente le taux de survie était de 36% à 16 ans contre 76% au même âge lorsqu'était exclu les patients avec une atteinte cardiaque.

VI - Anatomopathologie et enzymologie

L'étude histologique était pathologique chez 34 patients (soit 44,2 %).

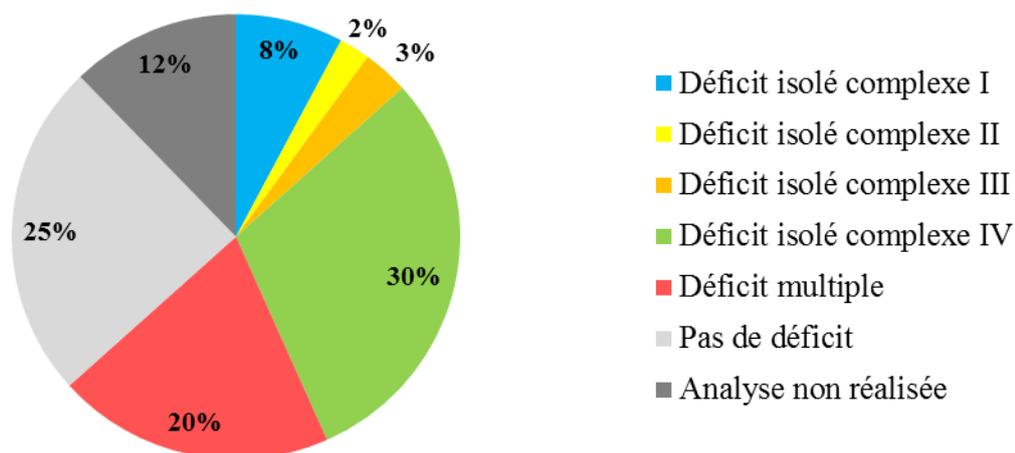


Figure 23 : Répartition de l'analyse enzymologique sur le muscle

Quatre patients avaient une analyse normale sur muscle avec un déficit sur fibroblastes

Tableau 17 : Déficients isolés en complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale

	Muscle (M)	Fibroblaste (F)	Corrélé M + F
Pas de déficit	22	16	7
Complexe I	7	1	0
Complexe II	2	0	0
Complexe III	3	0	0
Complexe IV	27	6	3

Un déficit en complexe II était associé d'avantage à une hypotonie initiale ($p < 0,05$).

Le complexe IV était significativement associé à un retard de développement psychomoteur ($p < 0,05$).

Au total, 5 analyses de la chaîne respiratoire étaient effectuées sur le foie. Trois exprimaient un déficit en complexe IV, une un déficit en complexe V et la dernière n'exprimait pas de déficit.

On observait un seul cas de déficit en complexe V, exprimé sur le foie (chaîne respiratoire sur le muscle et les fibroblastes non faits), sans confirmation génétique. Le symptôme neurologique initial était un syndrome extrapyramidal survenant à 2 jours de vie. S'y associaient secondairement une neuropathie, un syndrome pyramidal, une hypotonie, une atteinte du tronc cérébral. Le décès survenait à l'âge de 22 jours.

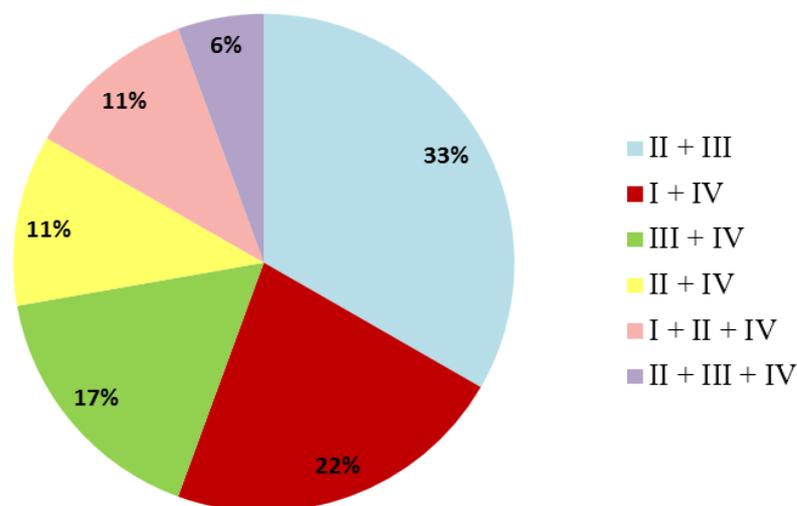


Figure 24 : Répartition des déficits multiples en complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale sur le muscle (N=18)

Une hypotonie était plus souvent retrouvée chez les patients ayant un déficit multiple ($p = 0,06$) ou un déficit isolé en complexe II ($p < 0,05$).

On ne mettait pas en évidence d'association entre la survie et la présence d'un déficit en complexe isolé.

Parmi les 10 patients ayant un déficit exprimé sur les fibroblastes, 3 avaient une mutation de l'ADN nucléaire (*NFUI*, *NDUFAF1*, *SURF1*) et 3 une mutation de l'ADN mitochondrial (m.9019A>T, m.6915G>A, m.3243A>G).

VII - Imagerie

Dans notre cohorte, 73 patients avaient bénéficié d'une IRM cérébrale. Dix-huit ont eu une IRM normale. Lorsqu'elle était réalisée, l'analyse spectroscopique mettait en évidence un pic de lactate dans 38,1 % des cas.

Tableau 18 : Répartition des atteintes à l'imagerie par résonance magnétique cérébrale (N = 73)

IRM cérébrale	N = 73
Présence d'anomalies	55 (75,3 %)
- Noyaux gris centraux	21 (28,8 %)
- Tronc cérébral	15 (20,5 %)
- Syndrome de Leigh	10 (13,7 %)
Spectroscopie réalisée	42 (57,5 %)
- Pic de lactate	16 (21,9 %)

Parmi les 10 patients présentant un syndrome de Leigh, 6 avaient un pic de lactate à la spectroscopie (1 patient sur les 10 n'avait pas bénéficié d'une analyse spectroscopique).

Parmi la totalité des patients décédés ayant eu une IRM cérébrale, elle était anormale chez 92% d'entre eux.



Figure 25 : Distribution du résultat de l'IRM cérébrale chez les patients décédés (N = 27)

A noter que les 2 patients décédés sans anomalies à l'IRM cérébrale avaient une atteinte cardiaque secondaire.

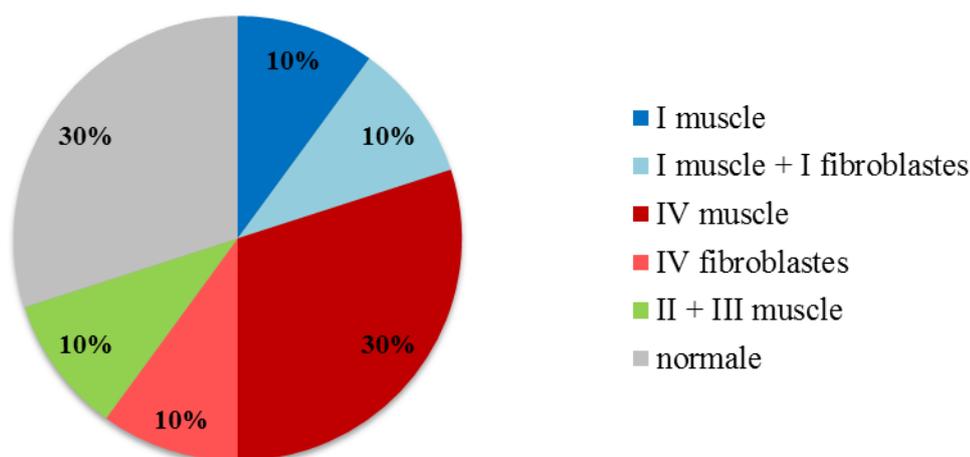


Figure 26 : Répartition des déficits en complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale chez les sujets avec un syndrome de Leigh radiologique

Le déficit en complexe I sur le muscle était retrouvé chez un patient avec la mutation m.14487T>C.

Le déficit en complexe I sur le muscle et les fibroblastes était retrouvé chez un patient avec une mutation du gène *NFUI*.

Le déficit en complexe IV sur les fibroblastes était retrouvé chez un patient avec une mutation m.9019A>T.

VIII - Biologie

Quarante-quatre patients (49 %) bénéficiaient d'une mesure du lactate dans le LCR. Cette analyse était pathologique chez 30 patients (68 %).

La chromatographie des acides aminés plasmatiques était réalisée chez 53 patients (59 %). Quarante pourcent des chromatographies réalisées retrouvaient un taux anormalement élevé d'alanine et 23 % un taux élevé de proline.

Nous n'avons pas assez de données pour interpréter de manière représentative les chromatographies des acides organiques urinaires.

IX - Génétique

1) ADN mitochondrial

Un variant pathogène de l'ADN mitochondrial était identifié chez 33% des patients.

Tableau 19 : Mutations de l'ADN mitochondrial par sous-groupe d'âge

< 1 mois	1 – 24 mois	> 24 mois
Délétion	m.14456A>G	(9 x) Délétion
m.8882C>D	m.15500G>A	(4 x) m.32434A>G
m.8993T>G		m.14487T>C
m.6915G>A		m.13513G>A
m.9019A>T		m.13051G>A
m.3348A>G		m.14484T>G
m.8882C>D		m.4309G>A
		m.11778G>A
		m.14459G>A
		m.8993T>G

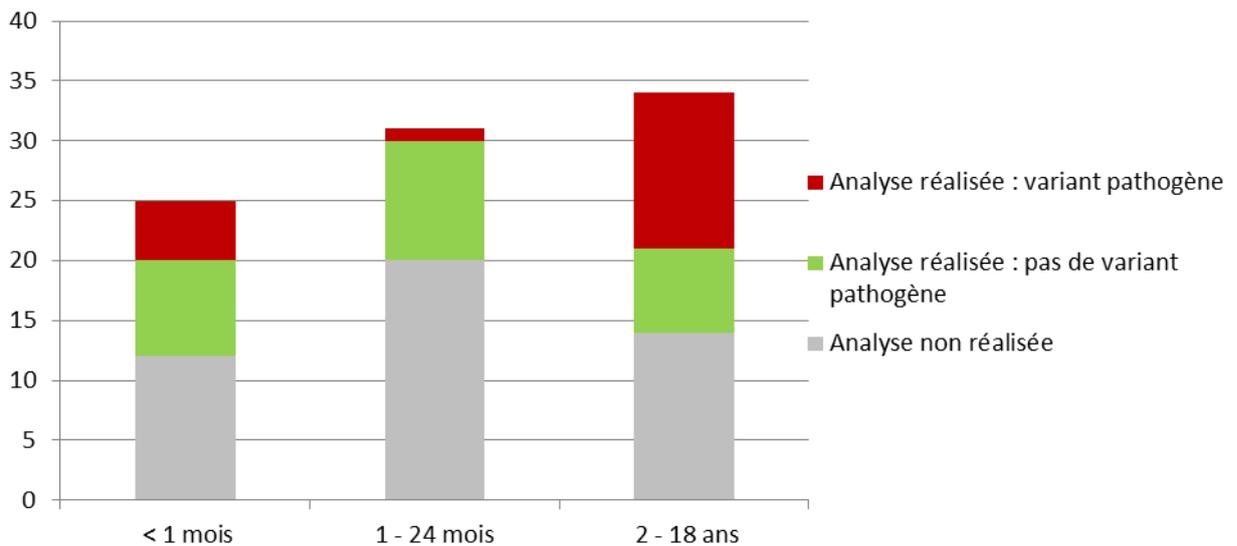


Figure 27 : Etude de l'ADN mitochondriale sur le muscle

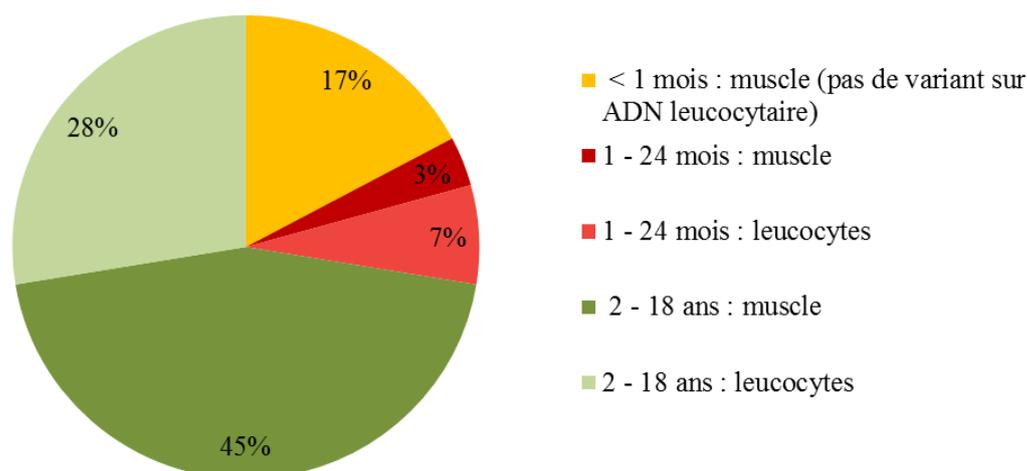


Figure 28 : Répartition des variants pathogènes de l'ADN mitochondrial par sous-groupe d'âge

La totalité des variants de l'ADNmt était retrouvée dans l'analyse musculaire ou leucocytaire mais aucun variant (semblable ou différent) n'a été retrouvé de manière simultanée dans les deux tissus.

Un ptosis ou une atteinte des nerfs optiques était plus souvent en lien avec une mutation de l'ADN mitochondrial ($p < 0,05$).

2) ADN nucléaire

Un variant pathogène de l'ADN nucléaire était retrouvé chez 9 sujets (10%). Les gènes impliqués étaient : *POLG* (3 enfants), *NFUI* (2 enfants), *DGUOK* (1 enfant), *NDUFAF1* (1 enfant), *NDUFB3* (1 enfant), *SURF1* (1 enfant).

Huit autres patients bénéficiaient d'une analyse (soit par NGS soit par analyse ciblée) de l'ADN nucléaire qui revenait négative. Sur les 8 patients, 6 avaient moins de 2 mois et deux avaient plus de 2 ans.

Tableau 20 : Descriptif des patients porteurs d'un variant pathogène de l'ADN nucléaire (N = 9)

Gène	Age	Symptômes inauguraux	Complexe déficitaire	
			Sur muscle	Sur fibroblastes
<i>NFUI</i>	0 jours	Hypotonie + épilepsie	IV	Pas de déficit
<i>POLG</i>	2 jours	Hypotonie	IV	<i>Non fait</i>
<i>POLG</i>	2 jours	Hypotonie	I	<i>Non fait</i>
<i>NFUI</i>	3 mois	Hypotonie + retard psychomoteur + atteinte du tronc cérébral + macrocéphalie	I+ II + IV	I
<i>DGUOK</i>	3 mois	Hypotonie + retard psychomoteur	I + IV	I
<i>NDUFAF1</i>	9 mois	Hypotonie + régression psychomotrice	II + III	Pas de déficit
<i>POLG</i>	11 mois	Epilepsie	Pas de déficit	<i>Non fait</i>
<i>NDUFB3</i>	13 mois	Epilepsie + régression psychomotrice	I + II + IV	Pas de déficit
<i>SURF1</i>	18 mois	Atteinte musculaire	IV	IV

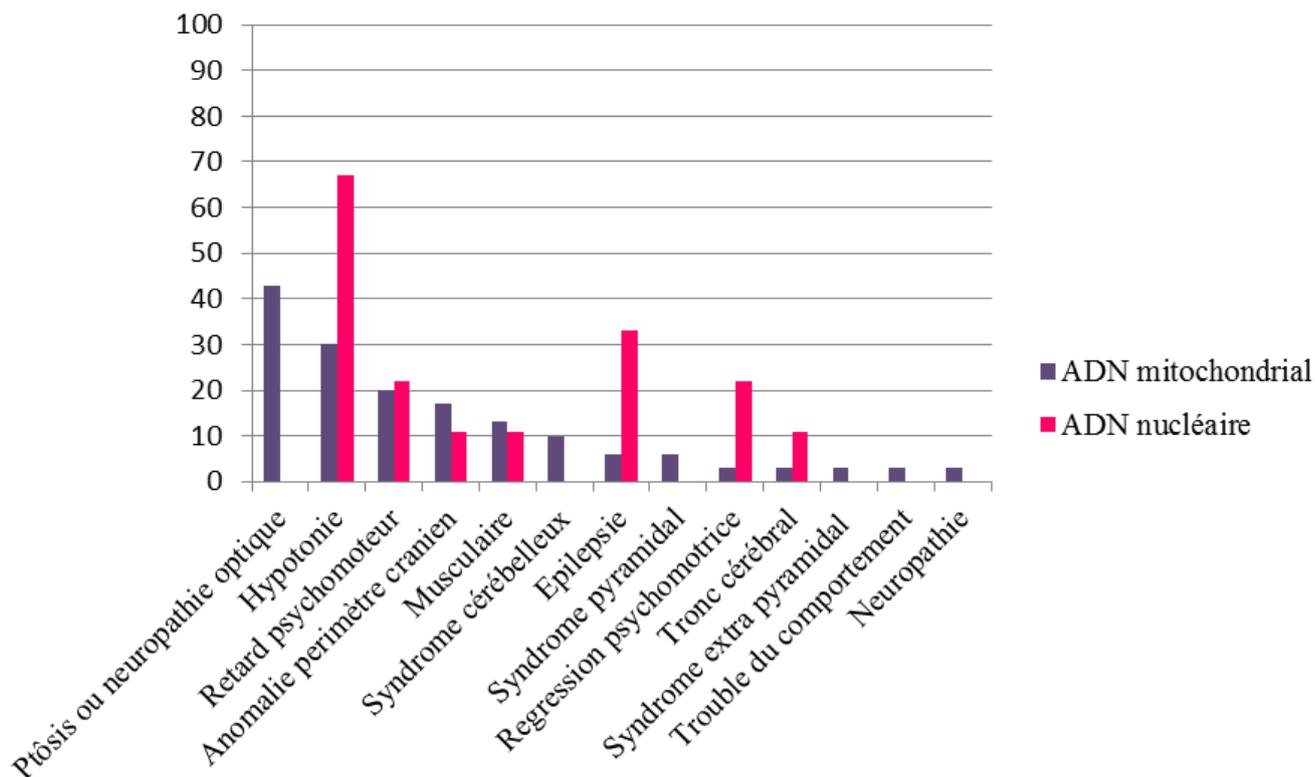


Figure 29 : Comparaison des symptômes neurologiques inauguraux des enfants avec atteinte de l'ADN mitochondrial (N = 30) ou de l'ADN nucléaire (N = 9) (en pourcentage)

X - « Mitochondrial disease criteria » (MDC) de Morava et al.

Une différence significative était retrouvée entre le score établi avec les symptômes initialement présents et celui établi avec les symptômes apparus dans un second temps ($p < 0,0001$).

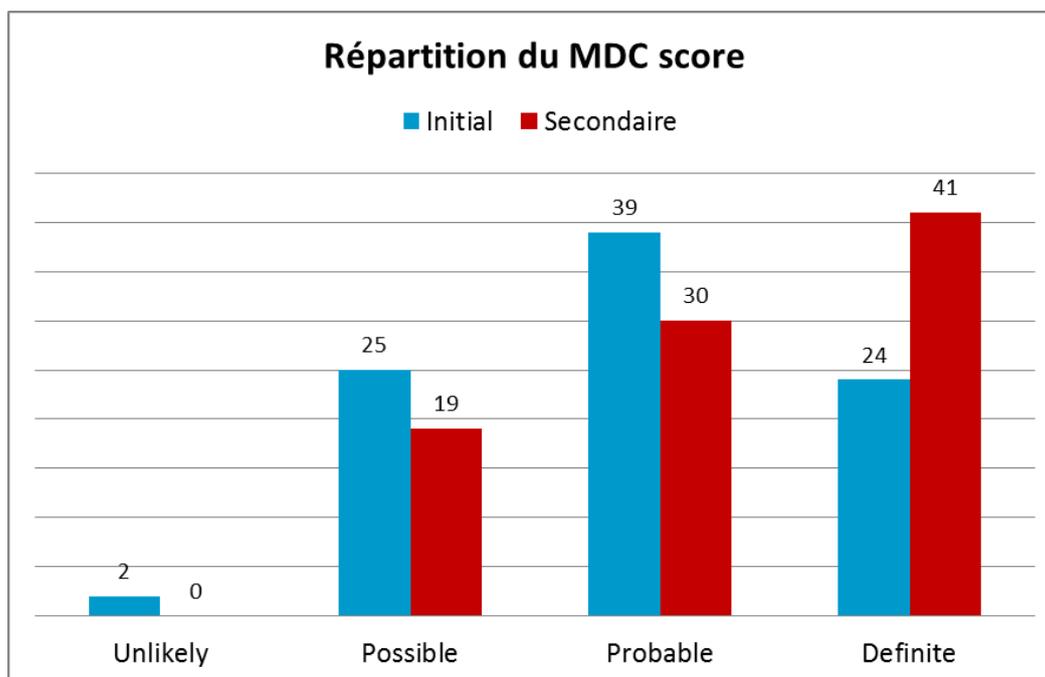


Figure 30 : Répartition des patients selon les catégories « unlikely », « possible », « probable » et « definite » définis par Morava et al. établis avec les symptômes initiaux puis avec les symptômes secondaires.

Au total, 48 % des enfants de moins de 1 mois changeaient de catégorie entre le score initial et le secondaire, 22,58 % chez les nourrissons de 1 à 24 mois et 32,35 % chez les plus de 2 ans. La différence entre les groupes d'âge était non significative ($p = 0,13$).

Le score initial n'était pas statistiquement différent chez les patients de moins de 1 mois, de 1 à 24 mois ou de plus de 24 mois.

On ne mettait pas en évidence de différence significative de survie entre les différentes catégories de score (« possible », « probable » ou « definite ») qu'il soient calculés avec les symptômes initiaux ou secondaires.

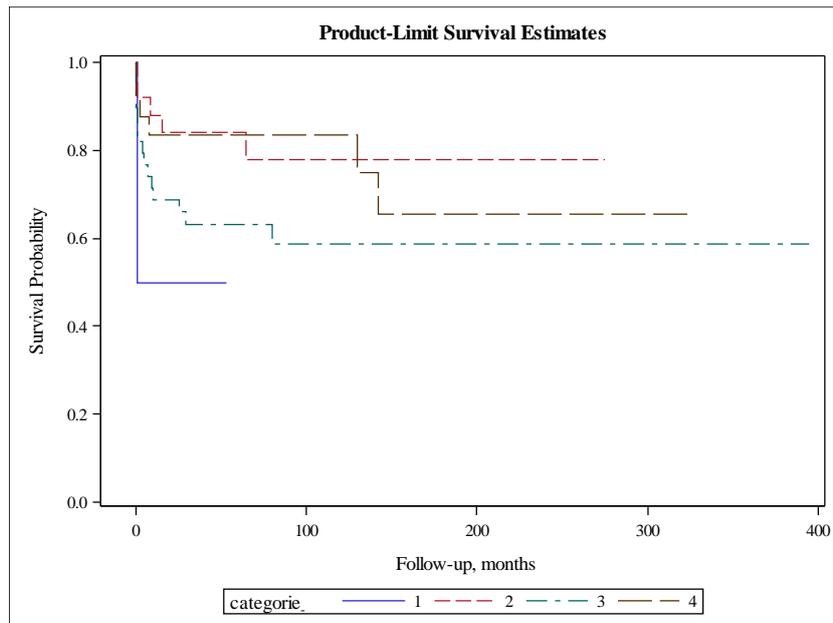


Figure 31 : Courbe de survie par catégorie de score établi avec les symptômes initiaux
(1 = « unlikely » ; 2 = « possible » ; 3 = « probable » ; 4 = « définitive »)

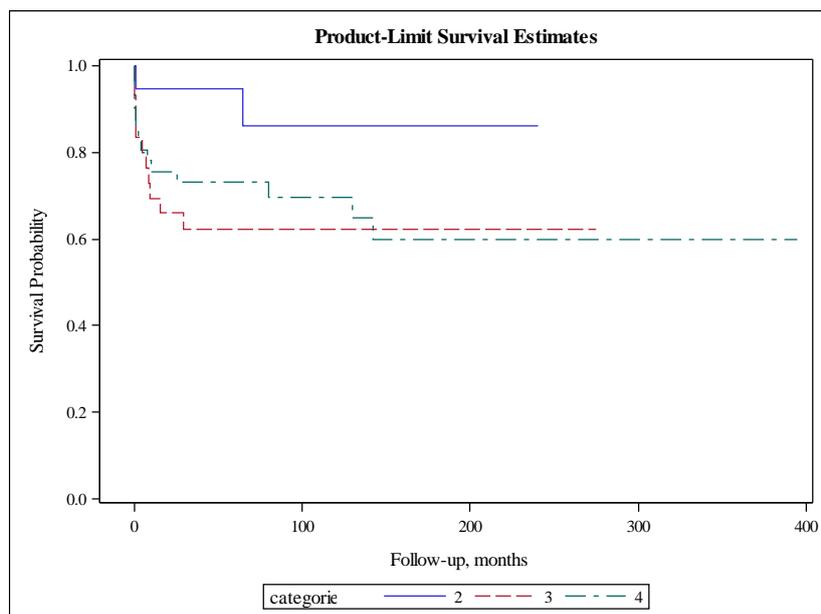


Figure 32 : Courbe de survie par catégorie de score établi avec les symptômes secondaires
(2 = « possible » ; 3 = « probable » ; 4 = « définitive »)

On observait des scores initiaux plus importants chez les patients qui avaient un variant de l'ADN mitochondrial ou nucléaire ($p < 0,05$).

On n'observait pas de différence des scores initiaux chez les patients qui avaient un variant de l'ADN mitochondrial.

Les effectifs de patients pour lesquels un variant pathogène de l'ADN nucléaire était mis en évidence étaient insuffisants pour rechercher une différence entre leurs scores initiaux et secondaires et ceux du reste de la cohorte.

Le score initial n'était pas différent selon le complexe déficitaire de la chaîne respiratoire. Seule la présence d'un déficit multiple de la chaîne respiratoire était significativement associée à un score initial plus élevé. ($p < 0,05$).

DISCUSSION

Caractéristiques de la population

Notre cohorte avait la particularité de provenir d'un recrutement sélectif sur la symptomatologie. Ce recrutement permet de se rapprocher d'avantage de celui réalisé au sein des établissements de santé sectorisés en services. Même si cette sélection a pu affaiblir la puissance statistique de nos résultats, notre cohorte reste de taille similaire aux plus grandes cohortes de la littérature étudiant de manière globale des cytopathies mitochondriales [60].

La prévalence, basée sur des variants pathogènes de l'ADN ou des anomalies de la chaîne respiratoire, était estimée à 1 / 5000 en 2006 [77]. Dix ans plus tard, la prévalence dans notre cohorte était de 1 / 6 864. Ce chiffre, quasi similaire alors que les patients ayant un premier symptôme non neurologique étaient exclus, laisse présumer une prévalence plus importante dans notre région que celles retrouvées auparavant. La décennie séparant ces deux estimations a sans doute permis un meilleur diagnostic grâce aux progrès techniques et à l'accès grandissant à l'étude de l'ADN nucléaire.

Nous avons limité notre étude aux patients diagnostiqués après 2006 car des changements de techniques dans les méthodes d'analyse enzymologique du tissu musculaire auraient rendu peu comparables les résultats rendus avant 2006.

Dans notre cohorte comme dans la littérature on constate une légère prédominance masculine (57 % dans la cohorte lilloise, 58 % dans les cohortes américaine et canadienne [60][83]). Cette différence peut être en partie expliquée par l'hérédité liée à l'X de certains gènes nucléaires mais également à une sévérité clinique plus importante chez les garçons. Il a pu être mis en évidence que cette proportion était plus importante chez le grand enfant qu'en période néonatale [84]. Ceci n'a pas été retrouvé ici.

Il existe peu de manifestations anténatales rapportées dans la littérature. Le retard de croissance intra utérin est le plus fréquent, puisqu'il a été identifié dans 20% des cytopathies

mitochondriales [85]. Dans notre cohorte on retrouvait une fréquence comparable de 16,9%. En comparaison, l'enquête nationale périnatale de 2010 portant sur 14 681 naissances en France avait permis d'identifier 8,9% de RCIU dans la population générale française [86].

Nous avons retrouvé ici une association très forte entre l'âge au diagnostic et la mortalité. Le décès précoce survenait chez environ la moitié des moins de 1 mois et chez un tiers des moins de 2 ans [83]. Chez le nourrisson les formes semblent plus sévères. La dépendance énergétique majeure liée à la croissance à cet âge peut être l'une des explications. Mais le phénotype, génétiquement déterminé, induit probablement des déficits enzymatiques plus importants entraînant une symptomatologie plus sévère et plus précoce.

Manifestations cliniques

Les symptômes neurologiques évocateurs de cytopathie mitochondriale dépendent de l'âge. On peut donc identifier trois tableaux cliniques différents :

- chez les moins de 1 mois avec une hypotonie majeure inaugurale suivie secondairement d'une épilepsie
- chez les 1 à 24 mois avec un retard des acquisitions et/ou une hypotonie suivi secondairement d'un syndrome pyramidal
- chez les plus de 24 mois avec une expression d'avantage myopathique (avec ptosis, ophthalmoplégie et/ou myopathie) suivi dans un second temps d'un syndrome cérébelleux.

Aucun symptôme n'est spécifique. Seule l'association de ces symptômes, leur cinétique d'apparition et/ou leur association à des symptômes extra neurologiques peut être spécifique. C'est pour cela, que la réalisation d'un examen neurologique, clinique, et paraclinique complet et systématique reste primordial.

La médiane des premiers symptômes est de 7 mois dans la littérature [83] contre 10,5 mois dans notre cohorte. Les symptômes précurseurs des cytopathies mitochondriales surviennent donc préférentiellement dans la première année de vie.

Dans cette série, il n'y avait pas de distinction entre hypotonie axiale ou périphérique. De plus, ce symptôme peut être étroitement lié à plusieurs autres atteintes (atteinte myopathique, retard

des acquisitions motrices, syndrome cérébelleux). Cependant, sa présence parmi les premiers symptômes d'un déficit de la chaîne respiratoire, est associée de manière indépendante à un risque plus élevé de décès.

La prévalence de l'épilepsie était de 34% dans une série incluant des déficits en pyruvate déshydrogénase et des cytopathies mitochondriales [83] contre 41% dans notre cohorte. Dans une étude portant sur 31 patients épileptiques ayant un déficit de la chaîne respiratoire, 53% d'entre eux avaient présenté une épilepsie comme premier symptôme [87]. Nous retrouvons 15% d'épilepsie inaugurale dans notre cohorte contre 17,5% dans une autre série de 56 patients épileptiques présentant un déficit de la chaîne respiratoire [88]. Dans 82,5% des cas l'épilepsie était précédée d'une défaillance multi viscérale, d'un retard de croissance, d'un retard de développement psychomoteur ou d'autres signes neurologiques.

L'âge de début de l'épilepsie était nettement plus fréquent dans la première année de vie. Ceci est corrélé avec les résultats de notre cohorte.

Dans une cohorte de 31 patients décédés, atteints de cytopathie mitochondriale, les premiers symptômes étaient un retard de développement dans 42 % des cas, une épilepsie dans 39 % des cas. 100% avaient une atteinte neurologique au cours de l'évolution [89]. Nous retrouvons cette association avec une diminution de la survie en présence d'une épilepsie inaugurale mais pas en cas de retard psychomoteur. L'épilepsie, qu'elle soit inaugurale ou non, semble grever le pronostic.

Tableau 21 : Comparaison de la répartition des symptômes neurologiques dans différentes cohortes

	Cohorte Lilloise	Cohorte de Seattle [90]	Cohorte Canadienne [83]	Cohorte de Houston [60]
Nombre de Patients	90	148	73	113
Retard psychomoteur	50%	53%	38%	-
Hypotonie	47%	30%	69%	79%
Epilepsie	41%	28%	34%	50%
Ophtalmoplégie	31%	-	-	32%
Ataxie	29%	7%	32% (chez > 2 ans)	6%
Extra pyramidal	26%	-	12%	-
Myopathie	29%	-	19%	-

Cependant, il est habituel de considérer que l'élément ayant le caractère pronostic le plus péjoratif reste la cardiomyopathie, avec un taux de survie de 18% à 16 ans lorsqu'elle est présente contre 95% au même âge lorsqu'elle est absente ($p < 0,0001$) [60]. Nous retrouvons ici un taux de survie de 36% à 16 ans lorsqu'une atteinte cardiaque était présente. Cependant ce chiffre exclut nécessairement toutes les formes graves d'atteintes cardiaques inaugurales d'une cytopathie mitochondriale.

En revanche, en l'absence de cardiopathie, la survie était de 76% à 16 ans dans notre cohorte. Il est probable que les cytopathies mitochondriales ne débutant ni par une atteinte cardiaque, ni par une atteinte neurologique ont des présentations moins sévères.

Dans une étude de 57 patients de moins de 1 mois chez qui était suspectée une cytopathie mitochondriale, les principaux symptômes inauguraux étaient neurologique dans 37% des cas, une hypotonie (33%), une atteinte hépato-intestinale (26%), une hypoglycémie (16%), un retard de croissance (14%), une atteinte cardiaque (5%) [91].

Cinquante-huit pourcents étaient décédés au dernier suivi, contre 48% dans notre cohorte.

Parmi les symptômes extra-neuromusculaires, les atteintes endocriniennes tel que le diabète, les dysthyroïdies, l'hyper ou l'hypogonadisme, l'insuffisance surrénalienne, l'hyperaldostérionisme secondaire, l'hypoparathyroïdie, le diabète insipide et l'hypopituitarisme ou le retard de croissance [91] ont été rapportés dans les cytopathies mitochondriales. Ici, on constate une atteinte endocrinienne chez 9% des patients. La majorité de ces atteintes ne sont pas présentes au diagnostic. Le bilan endocrinien doit donc être répété tout au long de l'évolution de la pathologie.

Biologie et étude de la chaîne respiratoire

Les déficits enzymologiques n'étaient que rarement corrélés entre les différents tissus. L'étude des fibroblastes ne retrouvait un déficit enzymatique que dans un tiers des cas. Cependant chez certains patients les fibroblastes permettaient d'objectiver un déficit en complexe qui n'avait pu être mis en évidence dans le muscle. Ceci souligne l'importance de réaliser de manière plus systématique des prélèvements multiples.

Tableau 22 : Comparaison des déficits en activité des différents complexes dans 4 cohortes

Déficit enzymatique	Cohorte Lilloise	Cohorte Australienne [79]	Cohorte Canadienne [83]	Cohorte de Houston [60]
Complexe I	8,9 %	31 %	25 %	32 %
Complexe II	2 %	1%	-	7 %
Complexe III	3 %	5 %	-	16 %
Complexe IV	40 %	23 %	27 %	19 %
Déficit multiple	20 %	29 %	13 %	26 %

On constatait dans notre cohorte une prédominance de déficit en complexe IV, alors que le complexe I est relevé dans de multiples études pour être le plus fréquemment retrouvé (Tableau 21). Plusieurs hypothèses pourraient expliquer cette inversion : les valeurs de référence de l'activité de chaque complexe n'étaient pas renseignées dans ces études et pourraient différer de celles appliquées au CHRU de Lille. Ces cohortes ont toutes plus de dix ans. Une évolution dans nos connaissances permet peut être actuellement d'inclure des patients dont la symptomatologie n'était pas évocatrice il y a 10 ans (comme par exemple les syndromes en lien avec une anomalie du génome nucléaire). Les trois cohortes avaient la particularité d'avoir un recrutement basé sur les critères de Walkers modifiés. Notre recrutement étant différent, un biais de sélection pourrait expliquer cet écart. L'importance du déficit, non spécifié dans cette étude est également à notifier. Le lien avec la génétique permettrait de mieux appréhender l'ensemble des déficits enzymologiques et préciser si il ne faut retenir que les déficits profonds ou non.

Une autre explication ne pouvant être écartée serait que les cytopathies mitochondriales se présentant par un premier symptôme neurologique soient plus souvent liées à un déficit en complexe IV.

Il n'existe pas de standardisation de l'étude spectrophotométrique en France. Une proportion différente des complexes déficitaires pourrait être expliquée par cette absence de standardisation des pratiques [93].

Seule l'étude tourangelle, retrouvait également une prédominance du complexe IV dans 56% des cas, le reste étant des déficits multiples [94].

Le complexe V n'est pas étudié en routine sur le muscle, au Centre Hospitalier Régional de Lille, pour des raisons de difficultés techniques.

Radiologique

Si un syndrome de Leigh radiologique est présent chez 11% des patients de notre cohorte, d'autres séries constatent une fréquence un peu plus importante de 18% [83]. Bien que le syndrome de Leigh fasse parti des symptômes les plus évocateurs de déficit énergétique, il n'est que rarement présent. Son absence ne doit donc pas faire écarter le diagnostic, d'autant que l'IRM cérébrale peut être normale si elle est réalisée précocement.

Dans l'étude d'El Beheiry, 100% des spectroscopies réalisées retrouvaient un pic de lactate (alors que 13% des IRM cérébrales étaient normales) [95].

On a pu montrer ici, que lorsqu'elle était réalisée, la spectroscopie était positive 38% cas. Ceci justifie donc sa réalisation de manière systématique devant une suspicion de cytopathie mitochondriale y compris en présence d'une IRM cérébrale normale.

On observait ici une corrélation entre la présence d'anomalies radiologiques à l'IRM cérébrale et un pronostic péjoratif. En effet, presque la moitié des enfants ayant des anomalies à l'IRM était décédés. De plus, l'absence d'anomalie à l'IRM était en faveur d'un pronostic plutôt rassurant puisque seuls 2 patients étaient décédés avec une neuro imagerie normale.

Génétique

L'identification moléculaire d'un variant pathogène de l'ADN nucléaire ou mitochondrial reste à l'heure actuelle la seule manière de poser un diagnostic de certitude de cytopathie mitochondriale.

Les mutations de l'ADN mitochondrial ne représentent pas plus de 10% des cytopathies mitochondriales. Cependant, dans notre cohorte elles représentaient 33% des patients inclus. De plus seuls 10% avaient une mutation de l'ADN nucléaire identifiée. Nous avons donc certainement un biais de sélection surreprésentant les cytopathies par anomalies du génome mitochondrial. L'étude de l'ADN nucléaire doit également être développée.

Les mutations de l'ADN nucléaire sont censées représenter la majorité des déficits de la chaîne respiratoire. Dans une prise en charge diagnostique optimale, l'étude de l'ADN nucléaire devrait précéder l'étude de l'ADN mitochondrial. Malheureusement, les difficultés techniques et d'interprétation du génome nucléaire ne permettent pas actuellement cette prise en charge. Cependant, nous voyons dans notre cohorte que le recours à l'étude nucléaire est bien trop peu fréquent et devrait être discuté de manière plus systématique et/ou être plus facilement accessible.

Les mutations de l'ADN mitochondrial semblent être d'avantage retrouvées chez l'enfant de plus de 2 ans à l'inverse des mutations de l'ADN nucléaire qui n'ont été retrouvées que chez des nourrissons de moins de 18 mois. Un biais peut cependant être présent puisque les mutations de l'ADN nucléaire étaient recherchées principalement chez les moins de 2 ans et de manière exceptionnelle chez les enfants plus âgés.

On retrouvait des variants de l'ADN mitochondrial de manière plus important sur les leucocytes que sur le muscle dans la tranche d'âge des 1-24 mois. Ceci est probablement en rapport avec le peu de prélèvements musculaires faits.

Toutefois, il semble exister une amélioration du diagnostic moléculaire puisqu'en 2004 Scaglia et al. trouvaient 11,5% de mutations de l'ADNmt et 2,6% de mutations de l'ADN nucléaire contre respectivement 33% et 10% dans notre cohorte [60]. Cette amélioration reste insuffisante puisque 67% des patients n'ont pas de confirmation génétique malgré la forte suspicion sur l'ensemble des arguments clinique, enzymologique et sur le score de Morava.

Score de Morava

L'étude du score MDC dans notre cohorte renforce notre présomption de n'avoir sélectionné que les patients ayant une cytopathie mitochondriale affirmée ou très probable. Les deux seuls patients ayant un score initialement faible (« unlikely »), ont vu leurs scores se majorer au fil de l'évolution, pour atteindre des catégories supérieures.

L'importance de la différence retrouvée entre le calcul réalisé sur les symptômes initiaux et celui calculé sur les symptômes secondaires, nous fait penser qu'il y a un intérêt important à appliquer ce score de manière répétée au cours du temps. Ceci est cohérent avec le caractère évolutif des cytopathies mitochondriales.

L'âge à l'apparition du premier symptôme ne semblait pas avoir d'influence sur le score ou sur son évolution. La réalisation répétée du score semble donc tout aussi importante en période néonatale que chez l'enfant plus grand.

La différence de score initial retrouvée dans le groupe des patients avec un variant pathogène de l'ADN mitochondrial ou nucléaire, qui n'est pas retrouvée dans le groupe avec un variant de l'ADN mitochondrial seul, laisse penser qu'il existe possiblement une différence de présentation initiale de la maladie entre celles liées à une mutation nucléaire et celles à une mutation mitochondriale.

Dans le groupe des déficits multiples en complexe de la chaîne respiratoire, les scores plus élevés sont logiquement expliqués par des atteintes cliniques plus importantes avec des symptômes probablement plus variés.

Cependant le score incluant l'examen histologique, il ne peut servir à poser l'indication de la biopsie musculaire.

Nous voyons également que l'évolution du score au cours de l'histoire naturelle de la maladie, en fait un outil d'intérêt restreint au stade précoce.

Donc, si le score de Morava peut être une aide lorsqu'une cytopathie est suspectée mais non prouvée sur le plan moléculaire, il ne peut servir à orienter le bilan diagnostique.

Prise en charge thérapeutique

Même si aucun traitement curatif n'existe, il est important de diagnostiquer ces pathologies, le plus précocement possible, afin de mettre en place les traitements symptomatiques adéquats et d'anticiper les décompensations en évitant les nombreux facteurs déclenchants.

Un des espoirs thérapeutiques repose sur la thérapie génique. Elle a pour but d'introduire une copie normale du gène déficient chez les patients. Le problème majeur reste l'hétéroplasmie, qui nécessiterait de corriger plusieurs tissus. Il est donc probable que les maladies avec une expression restreinte (comme les atteintes oculaires isolées) soit les premières qui pourraient bénéficier d'un tel traitement.

D'autres thérapeutiques en cours d'évaluation pourraient apporter un bénéfice supplémentaire [96]. Des mesures plus simples sont également proposées pour améliorer la phosphorylation oxydative comme des exercices physiques d'endurance [97].

CONCLUSION

Seul le diagnostic moléculaire permet de poser le diagnostic de certitude de cytopathie mitochondriale. C'est également uniquement par la mise en évidence d'un variant pathogène qu'un conseil génétique avec proposition de diagnostic pré natal est possible. Cependant, la confirmation moléculaire reste encore nettement insuffisante.

Afin d'améliorer le diagnostic moléculaire, le bilan biologique, radiologique, histologique et enzymologique doit être réalisé de manière plus systématique [Annexe 3]. De plus, si le diagnostic ne peut être établi avec certitude (déficit de la chaîne respiratoire sans anomalie génétique retrouvée), le dossier doit être réétudié régulièrement afin de réaliser des compléments d'analyses génétiques motivées par la découverte de nouveaux variants pathogènes de l'ADN nucléaire.

La grande hétérogénéité clinique rend difficile l'interprétation de chaque symptôme isolé. Cependant, nous voyons que certains symptômes, s'ils sont peu spécifiques sur le plan diagnostique, peuvent être des indices pronostiques importants.

Même s'il n'existe pas de traitement curatif, certaines mesures symptomatiques permettent une véritable amélioration de la prise en charge. Le diagnostic précoce est donc essentiel pour améliorer la qualité de vie de certains patients mais également éviter une errance diagnostique souvent douloureuse pour les enfants et leur famille.

Les projets de recherche fondamentale, nombreux sur le sujet, devraient permettre dans les années à venir de proposer des thérapeutiques, autres que de soutien, pour les patients

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Luft R, Ikkos D, Palmieri G, Ernster L, Afzelius B. A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *J Clin Invest.* 1962;41:1776–1804
- [2] Anderson S, Bankier T, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature.* 1981; 290:457–65
- [3] Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature.* 1988 Feb 25;331(6158):717-9
- [4] Holt IJ, Harding AE, Cooper JM, et al. Mitochondrial myopathies: Clinical and biochemical features of 30 patients with major deletions of muscle mitochondrial DNA. *Ann Neurol.* 1989; 26:699–708
- [5] Bourgeron T, et al. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nat Genet.* 1995;11:144–149
- [6] Chan DC. Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging and development. *Cell* 2006; 125: 1241–52
- [7] M Rio, A.-S. Lebre, A. Rötig, A. Munnich. Approche diagnostique des cytopathies mitochondriales de l'enfant. *EMC-Neurologie* 2013;10(4) :1-8
- [8] Lee-Jun C. Wong. *Mitochondrial Disorders Caused by Nuclear Genes.* Springer. 2013. 4 p.
- [9] Wai T, Teoli D, Shoubridge EA. The mitochondrial DNA genetic bottleneck results from replication of a subpopulation of genomes. *Nat Genet.* 2008;40:1484–1488
- [10] Jenuth FP, Peterson AC, Fu K, Shoubridge EA. Random genetic drift in the female germline explains the rapid segregation of mammalian mitochondrial DNA. *Nat Genet.* 1996;14:146–151
- [11] Hayashi J, Ohta S, Kikuchi A, Takemitsu M, Goto Y, Nonaka I. Introduction of disease-related mitochondrial DNA deletions into HeLa cells lacking mitochondrial DNA results in mitochondrial dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Dec 1;88(23):10614-8.
- [12] V. Carelli, C. Giordano, G. d'Amati Pathogenic expression of homoplasmic mtDNA mutations needs a complex nuclear–mitochondrial interaction. *Trends Genet.*, 19 (2003), pp. 257-262
- [13] DiMauro S, Bonilla E, De Vivo D. Does the patient have a mitochondrial encephalomyopathy? *J Child Neurol.* 1999; 14 (Suppl):S23–35
- [14] Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, Anselm I, Cohen BH, Falk

- MJ, Greene C, Gropman AL, Haas R, Hirano M, Morgan P, Sims K, Tarnopolsky M, Van Hove JL, Wolfe L, DiMauro S. Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med*. 2015 Sep;17(9):689-701
- [15] Debray FG, et al. Diagnostic accuracy of blood lactate-to-pyruvate molar ratio in the differential diagnosis of congenital lactic acidosis. *Clin Chem*. 2007;53(5):916–21
- [16] Chariot P, Ratiney R, Ammi-Said M, Hérigault R, Adnot S, Gherardi R. Optimal handling of blood samples for routine measurement of lactate and pyruvate. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:695-697
- [17] Tarun Agarwal, Veenu Jain. A study of lactate and pyruvate levels as reliable indicator of impaired tissue perfusion. *International Journal of Research in Medical Sciences* Agarwal T et al. *Int J Res Med Sci*. 2017 Jan;5(1):66-69
- [18] Naito E, Ito M, Yokota I, Saijo T, Matsuda J, Ogawa Y, Kitamura S, Takada E, Horii Y, Kuroda Y. Thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase deficiency in two patients caused by a point mutation (F205L and L216F) within the thiamine pyrophosphate binding region. *Biochim Biophys Acta*. 2002 Oct 9;1588(1):79-84
- [19] Hutchesson A, Preece MA, Gray G, Green A. Measurement of lactate in cerebrospinal fluid in investigation of inherited metabolic disease. *Clin Chem*. 1997;43:158–61.
- [20] Chow SL, Rooney ZJ, Cleary MA, Clayton PT, Leonard JV. The significance of elevated CSF lactate. *Arch Dis Child*. 2005;90:1188–9.
- [21] Chaussenot A, Rötig A, Paquis-Flucklinger V. Progrès dans les pathologies mitochondriales. 2011. Chapitre 5, page 69-89.
- [22] Haas RH, Parikh S, Falk MJ, Saneto RP, Wolf NI, Darin N, Wong LJ, Cohen BH, Naviaux RK. The in-depth evaluation of suspected mitochondrial disease. *Mol Genet Metab*. 2008 May;94:16-37
- [23] Finsterer J. Hematological manifestations of primary mitochondrial disorders. *Acta Haematol*. 2007;118:88–98.
- [24] Hammans S.R., Morgan-Hughes J.A. — Mitochondrial myopathies : clinical features, investigation, treatment and genetic counselling. *Mitochondrial disorders in neurology*. 1994, 49-74.
- [25] Patterson K. Mitochondrial muscle pathology. *Pediatr Dev Pathol* 2004;7:629-32
- [26] Rollins S, Prayson RA, McMahon JT, Cohen BH. Diagnostic yield of muscle biopsy in patients with clinical evidence of mitochondrial cytopathy. *Am J Clin Pathol* 2001;116:326-30
- [27] Khan NA, Govindaraj P, Meena AK, Thangaraj K. Mitochondrial disorders: Challenges in diagnosis & treatment. *The Indian Journal of Medical Research*. 2015;141(1):13-26

- [28] Kyriacou K, Mikellidou C. Ultrastructural diagnosis of mitochondrial encephalomyopathies revisited. *Ultrastruct Pathol* 1999;23:163-70
- [29] Mary Kay Koenig, MD. Presentation and Diagnosis of Mitochondrial Disorders in Children. *Pediatr Neurol.* 2008 May; 38(5): 305–313.
- [30] Jackson MJ, Schaefer JA, Johnson MA, Morris AA, Turnbull DM, Bindoff LA. Presentation and clinical investigation of mitochondrial respiratory chain disease: A study of 51 patients. *Brain.*1995; 188:339–57
- [31] Rustin P., Chretien D., Bourgeron T., Gerard B., Rotig A., SauDubray J.M. *et al.* Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clin. Chim. Acta*, 1994, 228 , 35-51
- [32] Rustin P., Lebidou J., Chretien D., Bourgeron T., Piechaud J.F., Rotig A. *et al.* Endomyocardial biopsies for early detection of mitochondrial disorders in hypertrophic cardiomyopathies. *J. Pediatr.*, 1994, 124, 224-228.
- [33] Elliott H, Samuels D, Eden J, Relton C, Chinnery P. Pathogenic mitochondrial DNA mutations are common in the general population. *Am J Hum Genet.* 2008;83:254–260.
- [34] Dimauro S, Davidzon G. Mitochondrial DNA and disease. *Ann Med.* 2005;37:222–32.
- [35] Ruiz-Pesini E¹, Lott MT, Procaccio V, Poole JC, Brandon MC, Mishmar D, Yi C, Kreuziger J, Baldi P, Wallace DC. An enhanced MITOMAP with a global mtDNA mutational phylogeny. *Nucleic Acids Res.* 2007 Jan;35 : D823-8.
- [36] Moraes CT, Atencio DP, Oca-Cossio J, Diaz F. Techniques and pitfalls in the detection of pathogenic mitochondrial DNA mutations. *J Mol Diagn.* 2003;5:197–208
- [37] Zhou S, Kassauei K, Cutler DJ, et al. An oligonucleotide microarray for high-throughput sequencing of the mitochondrial genome. *J Mol Diagn.* 2006;8:476–482
- [38] Chinnery PF, Wardell TM, Singh-Kler R, Hayes C, Johnson MA, Taylor RW, et al. The epidemiology of pathogenic mitochondrial DNA mutations. *Ann Neurol.* 2000;48:188–93
- [39] Mitchell AL, Elson JL, Howell N, Taylor RW, Turnbull DM. Sequence variation in mitochondrial complex I genes; mutation or polymorphism? *J Med Genet.* 2006;43:175–179
- [40] McCormick E, Place E, Falk MJ. Molecular genetic testing for mitochondrial disease: from one generation to the next. *Neurotherapeutics.* 2013;10:251–261
- [41] Bannwarth S, Procaccio V, Lebre AS, Jardel C, Chaussonnet A, Hoarau C, Maoulida H, Charrier N, Gai X, Xie HM, Ferre M, Fragaki K, Hardy G, Mousson de Camaret B, Marlin S, Dhaenens CM, Slama A, Rocher C, Paul Bonnefont J, Rötig A, Aoutil N, Gilleron M, Desquirit-Dumas V, Reynier P, Ceresuela J, Jonard L, Devos A, Espil-Taris C, Martinez D, Gaignard P, Le Quan

- Sang KH, Amati-Bonneau P, Falk MJ, Florentz C, Chabrol B, Durand-Zaleski I, Paquis-Flucklinger V. Prevalence of rare mitochondrial DNA mutations in mitochondrial disorders. *J Med Genet.* 2013 Oct;50(10):704-14
- [42] Cui H, Li F, Chen D, et al. Comprehensive next-generation sequence analyses of the entire mitochondrial genome reveal new insights into the molecular diagnosis of mitochondrial DNA disorders. *Genet Med.* 2013;15:388–394
- [43] Lynch M, Sung W, Morris K, Coffey N, Landry CR, Dopman EB, Dickinson WJ, Okamoto K, Kulkarni S, Hartl DL, Thomas WK. A genome-wide view of the spectrum of spontaneous mutations in yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Jul 8;105(27):9272-7
- [44] Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, Hofer T, Seo AY, Sullivan R, Jobling WA, Morrow JD, Van Remmen H, Sedivy JM, Yamasoba T, Tanokura M, Weindruch R, Leeuwenburgh C, Prolla TA. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science.* 2005 Jul 15;309(5733):481-4.
- [45] Wilson DM, Bohr VA. The mechanics of base excision repair, and its relationship to aging and disease. *DNA Repair (Amst).* 2007 Apr 1;6(4):544-59
- [46] Downs JA¹, Kosmidou E, Morgan A, Jackson SP. Suppression of homologous recombination by the *Saccharomyces cerevisiae* linker histone. *Mol Cell.* 2003 Jun;11(6):1685-92
- [47] Lamont PJ, Surtees R, Woodward CE, Leonard JV, Wood NW, Harding AE. Clinical and laboratory findings in referrals for mitochondrial DNA analysis. *Arch Dis Child.* 1998;79:22–7
- [48] Prévalence des maladies rares : Données bibliographiques. Les cahiers d'Orphanet. Novembre 2016-Numéro 2.
- [49] DiMauro S, Schon EA, Carelli V, Hirano M. The clinical maze of mitochondrial neurology. *Nat Rev Neurol.* 2013;9:429–444
- [50] Visapää I, et al. GRACILE syndrome, a lethal metabolic disorder with iron overload, is caused by a point mutation in *BCS1L*. *Am J Hum Genet.* 2002;71:863–876
- [51] Spinazzola A, Zeviani M. Disorders of nuclear-mitochondrial intergenomic signaling. *Gene.* 2005;354:162–168.
- [52] Wong LJ. Next generation molecular diagnosis of mitochondrial disorders. *Mitochondrion.* 2013;13:379–387.
- [53] Coon KD, Valla J, Szelinger S, et al. Quantitation of heteroplasmy of mtDNA sequence variants identified in a population of AD patients and controls by array-based resequencing. *Mitochondrion.* 2006;6:194–210.
- [54] Falk MJ, Pierce EA, Consugar M, et al. Mitochondrial disease genetic diagnostics: optimized whole-exome analysis for all MitoCarta nuclear genes and the mitochondrial genome. *Discov*

- Med. 2012;14:389–399.
- [55] Craigen WJ, Graham BH, Wong LJ, Scaglia F, Lewis RA, Bonnen PE. Exome sequencing of a patient with suspected mitochondrial disease reveals a likely multigenic etiology. *BMC Med Genet.* 2013;14:83.
- [56] Wong LJ, Scaglia F, Graham BH, Craigen WJ. Current molecular diagnostic algorithm for mitochondrial disorders. *Mol Genet Metab.* 2010 Jun;100(2):111-7
- [57] Saneto RP, Friedman SD, Shaw DWW. Neuroimaging of mitochondrial disease. *Mitochondrion.* 2008;8:396–413
- [58] Ito H, Mori K, Kagami S. Neuroimaging of stroke-like episodes in MELAS. *Brain Dev.* 2011;33:283–288
- [59] Bianchi MC, et al. Proton MR spectroscopy of mitochondrial diseases: analysis of brain metabolic abnormalities and their possible diagnostic relevance. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2003;24(10):1958–66
- [60] Scaglia F, Towbin JA, Craigen WJ, et al. Clinical spectrum, morbidity and mortality in 113 pediatric patients with mitochondrial disease. *Pediatrics.* 2004;114:925–31.
- [61] Walker UA, Collins S, Byrne E. Respiratory chain encephalo-myopathies: A diagnostic classification. *Eur Neurol.* 1996; 36:260–7
- [62] Bernier FP, Boneh A, Dennett X, Chow CW, Cleary MA, Thorburn DR. Diagnostic criteria for respiratory chain disorders in adults and children. *Neurology.* 2002; 59:1406–11.
- [63] Morava E, van den Heuvel L, Hol F, et al. Mitochondrial disease criteria. Diagnostic applications in children. *Neurology.* 2006;67:1823–6
- [64] Pfeffer G, Majamaa K, Turnbull DM, Thorburn D, Chinnery PF. Treatment for mitochondrial disorders. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;4:CD004426
- [65] Scholl-Burgi S, Holler A, Pichler K, Michel M, Haberlandt E, Karall D. Ketogenic diets in patients with inherited metabolic disorders. *J Inherit Metab Dis.* 2015;38:765–773
- [66] Gano LB, Patel M, Rho JM. Ketogenic diets, mitochondria, and neurological diseases. *J Lipid Res.* 2014 Nov;55(11):2211-28
- [67] Danhauser K, Smeitink JA, Freisinger P, Sperl W, Sabir H, Hadzik B, Mayatepek E, Morava E, Distelmaier F. Treatment options for lactic acidosis and metabolic crisis in children with mitochondrial disease. *J Inherit Metab Dis.* 2015 May;38(3):467-75
- [68] El-Hattab AW, Emrick LT, Chanprasert S, Craigen WJ, Scaglia F. Mitochondria: role of citrulline and arginine supplementation in MELAS syndrome. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;48:85–91
- [69] Koga Y, Akita Y, Junko N, Yatsuga S, Povalko N, Fukiyama R et al. Endothelial dysfunction in

- MELAS improved by L-arginine supplementation. *Neurology* 2006 ; 13 : 1766-9
- [70] Lara MC, Weiss B, Illa I, Madoz P, Massuet L, Andreu AL et al. Infusion of platelets transiently reduces nucleoside overload in MNGIE. *Neurology* 2006 ; 67 : 1461-3
- [71] Moran NF, Bain MD, Muqit MM, Bax BE. Carrier erythrocyte entrapped thymidine phosphorylase therapy for MNGIE. *Neurology* 2008 ; 71 : 686-8
- [72] Andre Mattman, MD, FRCPC, Margaret O'Riley, RN, MA, Paula J. Waters, PhD, FCCMG, Graham Sinclair, PhD, FCCMG, Michelle M. Mezei, MDCM, FRCPC, Lorne Clark, MDCM, FRCPC, FCCMG, Glenda Hendson, MBBCh, FRCPC, Hilary Vallance, MD, FRCPC, FCCMG, Sandra Sirrs, MD, FRCPC. Diagnosis and management of patients with mitochondrial disease. Issue: *BCMJ*, Vol. 53, No. 4, May 2011, page(s) 177-182
- [73] Chabrol B., Mancini J., Chrétien D., Rustin P., Munnich A. — Pinsard. Cytochrome c oxidase defect, fatal hepatic failure and valproate : a case report. *Eur. J. Pediatr.*, 1994, 153, 133-135.
- [74] Krahenbuhl S, Brandner S, Kleinle S, Liechti S, Straumann D. Mitochondrial diseases represent a risk factor for valproate-induced fulminant liver failure. *Liver*. 2000; 20:346–8.
- [75] Acco A, Comar JF, Bracht A. Metabolic effects of propofol in the isolated perfused rat liver. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2004;95:166–174
- [76] Bouchet C, Steffann J, Corcos J, Monnot S, Paquis V, Rotig A et al. Prenatal diagnosis of MELAS syndrome : contribution to understanding mitochondrial DNA segregation during human embryo fetal development. *J Med Genet* 2006 ; 43 : 788-92
- [77] Sanderson S, Green A, Preece MA, Burton H. The incidence of inherited metabolic diseases in the West Midlands, UK. *Arch Dis Child* 2006; 91: 896–9.
- [78] Darin N, Oldfors A, Moslemi A-R, Holme E, Tulinius M. The incidence of mitochondrial encephalomyopathies in childhood: Clinical features and morphological, biochemical, and DNA abnormalities. *Ann Neurol*. 2001;49:377–83
- [79] Skladal D, Halliday J, Thorburn DR. Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. *Brain*. 2003;126:1905–1
- [80] Schaefer AM, Taylor RW, Turnbull DM, Chinnery PF. The epidemiology of mitochondrial disorders - past, present and future. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1659:115–20
- [81] E. Ciafaloni, E. Ricci, S. Shanske, C.T. Moraes, G. Silvestri, M. Hirano, S. Simonetti, C. Angelini, M.A. Donati, C. Garcia, *et al.* MELAS: clinical features, biochemistry, and molecular genetics. *Ann. Neurol.*, 31 (1992), pp. 391-398
- [82] Munnich A, Chretien RD, Cormier V, et al. Clinical presentation of mitochondrial disorders in childhood. *J Inherited Metab Dis*. 1996; 19:521–7
- [83] Debray F-G, Lambert M, Chevalier I, et al. Long-term outcome and clinical spectrum of 73

- patients with mitochondrial disease. *Pediatrics*. 2007;119:722–733
- [84] Saneto, Russell P. Mitochondrial disease during infancy and childhood. *Journal of Pediatric Biochemistry*, vol. 4, no. 4, pp. 201-215, 2014
- [85] Von Kleist-Retzow J.C., Cormier-Daire V., De Lonlay P., Parfait B., Chretien D., Rustin P. et al. A high rate of parental consanguinity (20-30 %) in cytochrome oxidase deficiency. *Am. J. Hum. Genet.*, 1998, 63 , 428-435
- [86] Blondel B., Lelong N., Kermarrec M., Goffinet F. Coordination nationale des enquêtes nationales. Trends in perinatal health in France between 1995 and 2010: Results from the National Perinatal Surveys. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2012 ; 41 : 151-166
- [87] L. Canafoglia, S. Franceschetti, C. Antozzi, F. Carrara, L. Farina, T. Granata, et al. Epileptic phenotypes associated with mitochondrial disorders. *Neurology*, 56 (2001), pp. 1340-1346
- [88] El Sabbagh S, Lebre AS, Bahi-Buisson N, Delonlay P, Soufflet C, Boddaert N, Rio M, Rötig A, Dulac O, Munnich A, Desguerre I. Epileptic phenotypes in children with respiratory chain disorders. *Epilepsia*. 2010 Jul;51(7):1225-35.
- [89] Soyong Eom MD, Ha Neul Lee, Sunho Lee, Hoon-Chul Kang, Joon Soo Lee, Heung Dong Kim, Young-Mock Lee. Cause of Death in Children With Mitochondrial Diseases. *Pediatric Neurology* 66. pp. 82-88. 2017
- [90] Jeana T DaRe, Valeria Vasta, John Penn, Nguyen-Thao B Tran, et Si Houn Hahn . Targeted exome sequencing for mitochondrial disorders reveals high genetic heterogeneity. *BMC Med Genet* . 2013; 14: 118
- [91] Garcia-Cazorla A, De Lonlay P, Nossogne MC, Rustin P, Touati G, Saudubray JM. Long-term follow-up of neonatal mitochondrial cytopathies: a study of 57 patients. *Pediatrics*. 2005;116:1170–1177.
- [92] Vantghem MC1, Dobbelaere D, Mention K, Wemeau JL, Saudubray JM, Douillard C. Endocrine manifestations related to inherited metabolic diseases in adults. *Orphanet J Rare Dis*. 2012 Jan 28;7:11.
- [93] Medja F, Allouche S, Frachon P et al.: Development and implementation of standardized respiratory chain spectrophotometric assays for clinical diagnosis. *Mitochondrion* 2009, 9(5):331-339
- [94] S. Mercier, M. Josselin de Wasch, F. Labarthe, C. Jardel, A. Lombès, A. Munnich, A. Toutain , H. Nivet, E. Saliba, A. Chantepie, P. Castelnau. Variabilité clinique et conduite diagnostique des cytopathies mitochondriales : à propos d'une série de 18 cas pédiatriques. *Archives de pédiatrie*. Avril 2009. Volume 16, n° 4, pages 322-330
- [95] A., ElBeheiry, Ahmed M., Abougabal, Tarek I., Omar, Ashraf N. Etaby. Role of brain magnetic

resonance spectroscopy in the evaluation of suspected mitochondrial diseases in children:
Experience in 30 pediatric cases Ahmed The Egyptian Journal of Radiology and Nuclear
Medicine Volume 45, Issue 2, June 2014, Pages 523-533

- [96] Martinelli D, Catteruccia M, Piemonte F, et al. EPI-743 reverses the progression of the pediatric mitochondrial disease-genetically defined Leigh Syndrome. *Mol Genet Metab.* 2012;107(3):383–388
- [97] Taivassalo T, Gardner JL, Taylor RW, et al. Endurance training and detraining in mitochondrial myopathies due to single large-scale mtDNA deletions. *Brain.* 2006;129:3391–3401
- [98] Rötig A, Rio M, Munnich A. Maladies mitochondriales. Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale, INSERM U781, Université Paris Descartes. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades. 2010. pages 75-85.

ANNEXES

Annexe 1 : Symptômes les plus fréquemment observés dans les maladies mitochondriales en fonction de l'âge [98]

Période néonatale (0-1 mois)	
SNC	Apnées itératives, léthargie, somnolence, mort subite « récupérée » Hypotonie axiale et périphérique Acidose lactique congénitale Coma acidocétosique
Muscle	Macroglossie Myopathie Atrophie musculaire, hypotonie Rigidité, hypertonie Myoglobinuries récurrentes Mauvaise tenue de tête, peu de mouvements spontanés
Foie	Insuffisance hépatique, hépatomégalie
Cœur	Cardiomyopathie hypertrophique
Rein	Tubulopathie proximale (syndrome de De Toni-Debré-Fanconi)
Enfance (1 mois-2 ans)	
SNC	Apnées récurrentes, mort subite "récupérée" Coma acidocétosique Mauvaise tenue de tête, spasticité des membres Régression psychomotrice, retard mental Ataxie cérébelleuse "Stroke-like" Myoclonies, convulsions généralisées Encéphalomyopathie nécrosante (syndrome de Leigh) Poliodystrophie infantile progressive (syndrome d'Alpers)
Muscle	Myopathie Atrophie musculaire Faiblesse musculaire hypotonie

	Myalgies, intolérance à l'effort Myoglobinuries récurrentes
Foie	Hépatomégalie progressive Insuffisance hépatocellulaire Insuffisance hépatique induite par le Valproate
Coeur	Cardiomyopathie hypertrophique
Rein	Tubulopathie proximale (syndrome de De Toni-Debré-Fanconi) Néphropathie tubulointerstitielle (mimant une néphronoptise) Syndrome néphrotique Insuffisance rénale Syndrome urémique hémolytique
Intestin	Vomissement récurrents Diarrhée chronique, atrophie villositaire Insuffisance pancréatique exocrine Retard de croissance Pseudo-obstruction intestinale chronique
Système endocrinien	Petite taille, retard de maturation squelettique Hypoglycémies récurrentes Déficit hormonal multiple
Moelle	Anémie sidéroblastique Neutropénie, thrombopénie Syndrome myélodysplasique, syndrome dysérythropoïétique
Œil	Atrophie optique Diplopie Ophtalmoplégie externe progressive Rétinopathie "sel et poivre", rétinite pigmentaire Ptosis de la paupière Cataracte
Oreille	Surdit�e Surdit�e neurosensorielle
Peau	Pigmentation anormale des zones expos�ees au soleil Trichothiodystrophie Cheveux secs, épais et cassants

Enfance (> 2ans) et âge adulte	
SNC	<p>Myoclonies</p> <p>Convulsions (généralisées, focales, photosensibles, tonico clonies)</p> <p>Ataxie cérébelleuse</p> <p>Spasticité</p> <p>Régression psychomotrice, retard mental, démence</p> <p>"Stroke-like"</p> <p>Mal de tête hémicranial, migraine</p> <p>Hémiplégies récurrentes, cécité corticale, hémianopsie</p> <p>Leucodystrophie, atrophie corticale</p> <p>Neuropathie périphérique</p>
Muscle	<p>Myopathie progressive</p> <p>Faiblesse musculaire proximale</p> <p>Myalgies, intolérance à l'effort</p> <p>Myoglobinuries récurrentes</p>
Cœur	<p>Cardiomyopathie concentrique hypertrophique ou dilatée</p> <p>Bloc Atrio-Ventriculaire</p>
Système endocrinien	<p>Diabète (insulino et non-insulino dépendant)</p> <p>Déficit en hormone de croissance</p> <p>Hypoparathyroïdisme</p> <p>Hypothyroïdisme</p> <p>Déficit en adrénocorticotrophine</p> <p>Hyperaldostéronisme</p> <p>Infertilité (insuffisance ovarienne ou dysfonction hypothalamique)</p>
Œil	<p>Ptosis de la paupière</p> <p>Diplopie</p> <p>Ophtalmoplégie externe progressive</p> <p>Rétinopathie "sel et poivre", rétinite pigmentaire</p> <p>Cataracte, opacités cornéales</p> <p>Neuropathie optique de Leber</p>
Oreille	<p>Surdité neurosensorielle</p> <p>Surdité induite par les aminoglycosides (transmission maternelle)</p>

Annexe 2 : Mitochondrial Disease Criteria (MDC) de Morava et al. [63]**Table** Mitochondrial disease criteria (simplified version for bedside use)*

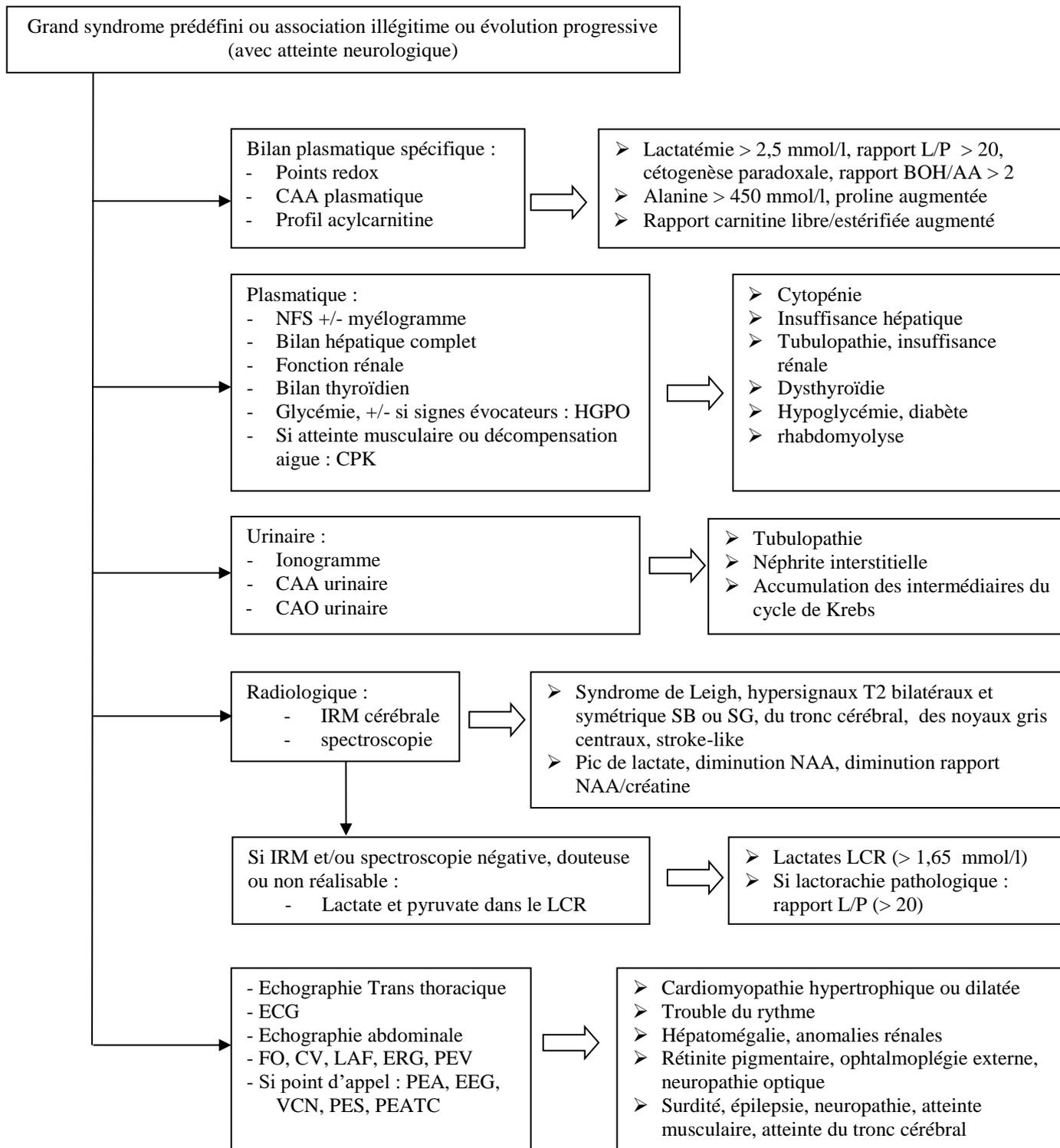
I. Clinical signs and symptoms, 1 point/symptom (max. 4 points)				
A. Muscular presentation (max. 2 points)	B. CNS presentation (max. 2 points)	C. Multisystem disease (max. 3 points)	II. Metabolic/imaging studies (max. 4 points)	III. Morphology (max. 4 points)
Ophthalmoplegia†	Developmental delay	Hematology	Elevated lactate†	Ragged red/blue fibers‡
Facies myopathica	Loss of skills	GI tract	Elevated L/P ratio	COX-negative fibers‡
Exercise intolerance	Stroke-like episode	Endocrine/growth	Elevated alanine†	Reduced COX staining‡
Muscle weakness	Migraine	Heart	Elevated CSF lactate†	Reduced SDH staining
Rhabdomyolysis	Seizures	Kidney	Elevated CSF protein	SDH positive blood vessels†
Abnormal EMG	Myoclonus	Vision	Elevated CSF alanine†	Abnormal mitochondria/EM†
	Cortical blindness	Hearing	Urinary TA excretion†	
	Pyramidal signs	Neuropathy	Ethylmalonic aciduria	
	Extrapyramidal signs	Recurrent/familial	Stroke-like picture/MRI	
	Brainstem involvement		Leigh syndrome/MRI†	
			Elevated lactate/MRS	

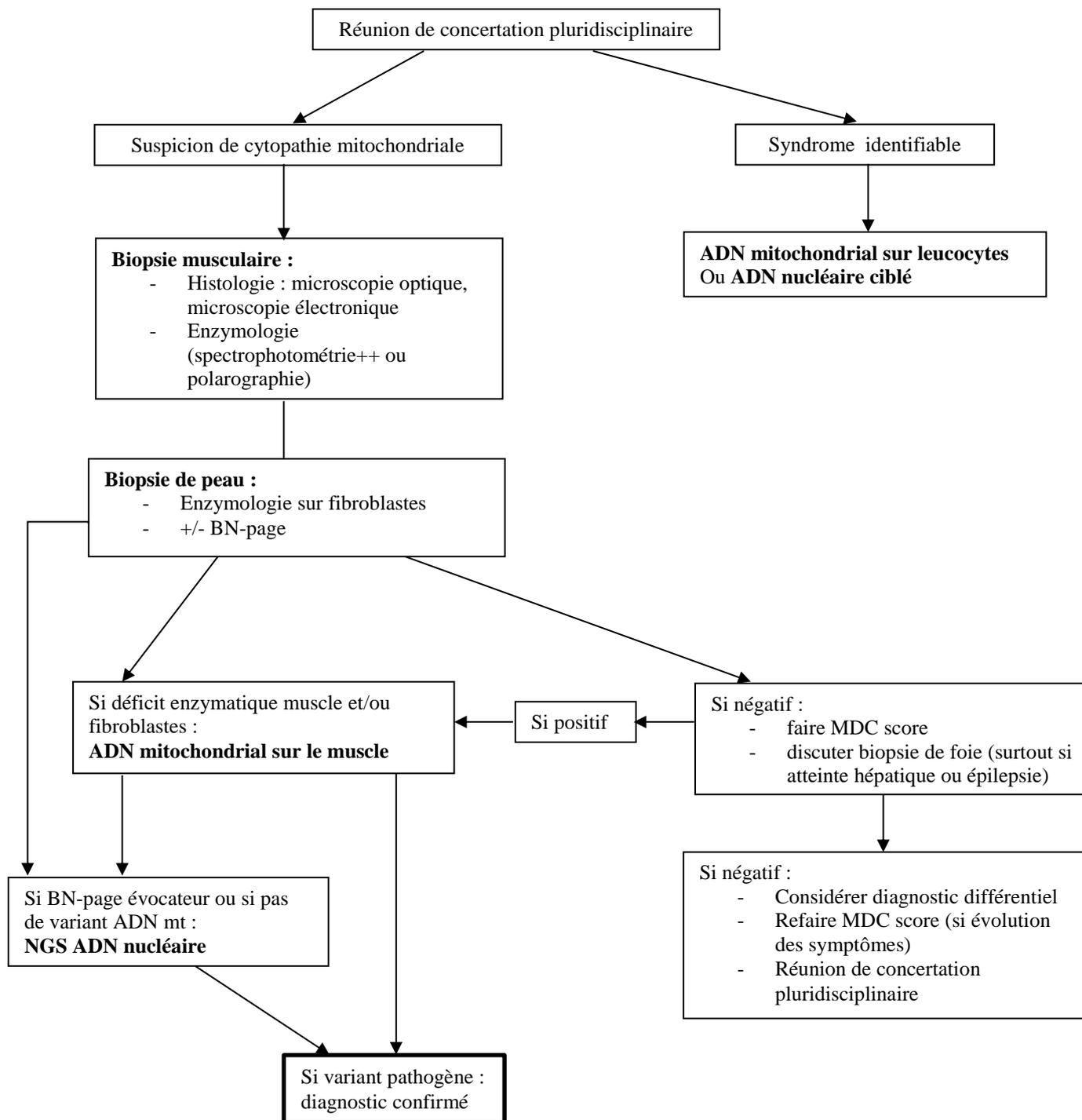
* Score 1: mitochondrial disorder unlikely; score 2 to 4: possible mitochondrial disorder; score 5 to 7: probable mitochondrial disorder; score 8 to 12: definite mitochondrial disorder.

† This specific symptom scores 2 points.

‡ This symptom in a higher percentage scores 4 points.

GI = gastrointestinal; L/P = lactate/pyruvate; COX = cytochrome *c* oxidase; SDH = succinate dehydrogenase; EM = electron microscopy; EMG = electromyography; TA = tricarboxylic acid.

Annexe 3 : Proposition de prise en charge diagnostic (Prérequis : atteinte neurologique)*Bilan initial (examens + principales anomalies à rechercher)*

Organigramme après réalisation du bilan initial

AUTEUR : Nom : CANON

Prénom : Mathilde

Date de Soutenance : Lundi 11 septembre 2017

Titre de la Thèse : Symptômes neurologiques révélant une cytopathie mitochondriale chez l'enfant. Etude de cas rapportés dans la région Nord-Pas-de-Calais de 2006 à 2016.

Thèse - Médecine - Lille 2017

Cadre de classement : DES pédiatrie, spécialité : neuropédiatrie

Mots-clés : cytopathie mitochondriale, chaine respiratoire, symptôme neurologique, Leigh, hypotonie, biopsie musculaire, maladie métabolique, déficit énergétique

Résumé :

Objectifs : Avec une prévalence de 1/5000 naissances, les cytopathies mitochondriales sont les maladies héréditaires du métabolisme les plus fréquentes. Même si elles sont toutes dues à un dysfonctionnement primaire de la chaîne respiratoire d'origine génétique, leur hétérogénéité clinique en fait un groupe particulièrement difficile à diagnostiquer. En effet, ce dysfonctionnement entraîne un déficit énergétique pouvant se révéler à tout âge, par tout symptôme, touchant n'importe quel tissu, avec tous degrés de gravité et par tout mode d'hérédité. Seule la biologie moléculaire permet un diagnostic de certitude. Cette analyse devant être orientée par la clinique, nous nous sommes intéressés aux symptômes neurologiques révélant une cytopathie mitochondriale chez l'enfant.

Méthode : Quatre-vingt-dix patients, présentant des signes neurologiques inauguraux avant l'âge de 18 ans, évoquant un diagnostic de cytopathie mitochondriale étaient inclus rétrospectivement entre 2006 et 2016. Ces patients étaient sélectionnés parmi les 272 ayant bénéficié sur cette période d'une étude de l'ADN mitochondrial sur leucocytes ou d'une biopsie musculaire avec étude de la chaîne respiratoire.

Résultats : La prévalence dans le Nord-Pas de-Calais était estimée à 1 / 6 864. Les quatre symptômes les plus fréquemment présents initialement étaient : l'hypotonie (45%), le retard psychomoteur (32%), l'anomalie du périmètre crânien (24%) et un ptosis ou une neuropathie optique (20%). Un examen neuroradiologique typique du syndrome de Leigh était présent chez 9% des patients. L'âge médian au premier symptôme était de 10,5 mois. Le décès survenait plus précocement chez les enfants de moins de 1 mois. La présence d'une hypotonie initiale, d'une épilepsie, d'anomalies du périmètre crânien diminuait la survie ($p < 0,05$). Un ptosis était associé aux formes moins sévères ($p < 0,05$). Un déficit de la chaîne respiratoire sur le muscle était retrouvé chez 63% des patients, avec 8% de déficit en complexe I et 30% de déficit en complexe IV. Un diagnostic moléculaire était établi pour 43% des patients (33% mitochondrial, 10% nucléaire).

Conclusion : Au total, l'hypotonie semble prédominer chez les moins de 2 ans et le ptosis ou l'atteinte du nerf optique, de sévérité moindre, chez les plus de 2 ans. La prise en charge diagnostique doit être optimisée par des réunions multidisciplinaires clinico-biologiques pour permettre de confirmer ses suspicions diagnostiques et améliorer le conseil génétique.

Composition du Jury : Président : Monsieur le Professeur Patrick TRUFFERT
Assesseurs : Madame le Professeur Sylvie NGUYEN THE TICH
Monsieur le Professeur Vincent PROCACCIO
Monsieur le Docteur Jean-Marie CUISSET
Madame le Docteur Anne-Frédérique DESSEIN
Madame le Docteur Karine MENTION