



**HAL**  
open science

# Étude phénotypique des mutations rares responsables de diabète mitochondrial

Anne-Gaëlle Poullot Decoux

► **To cite this version:**

Anne-Gaëlle Poullot Decoux. Étude phénotypique des mutations rares responsables de diabète mitochondrial . Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01360766

**HAL Id: dumas-01360766**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01360766>**

Submitted on 6 Sep 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE NICE SOPHIA ANTIPOLIS  
FACULTÉ DE MÉDECINE DE NICE

**ÉTUDE PHÉNOTYPIQUE DES MUTATIONS RARES  
RESPONSABLES DE DIABÈTE MITOCHONDRIAL**

Thèse d'exercice de Médecine présentée et soutenue publiquement

Le 5 Juillet 2016

Par **Anne-Gaëlle POULLOT épouse DECOUX**

Née le 30 Juillet 1986 à Nice

Pour l'obtention du Diplôme d'État de Docteur en Médecine

Membres du jury :

Président : Monsieur le Professeur Patrick FENICHEL

Assesseurs : Monsieur le Professeur Bertrand CANIVET

Madame le Professeur Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER

Monsieur le Professeur Jean-Louis SADOUL

Directeur de Thèse : Monsieur le Docteur Nicolas CHEVALIER



UNIVERSITÉ NICE-SOPHIA ANTIPOLIS

**FACULTÉ DE MÉDECINE**

Liste des professeurs au **1er septembre 2015** à la Faculté de Médecine de Nice

<b>Doyen</b>	M. BAQUÉ Patrick
<b>Vice-Doyen</b>	M. BOILEAU Pascal
<b>Assesseurs</b>	M. ESNAULT Vincent M. CARLES Michel Mme BREUIL Véronique M. MARTY Pierre
<b>Conservateur de la bibliothèque</b>	Mme DE LEMOS Annelise
<b>Directrice administrative des services</b>	Mme CALLEA Isabelle
<b>Doyens Honoraires</b>	M. AYRAUD Noël M. RAMPAL Patrick M. BENCHIMOL Daniel
<b>Professeurs Honoraires</b>	
M. BALAS Daniel	M. LALANNE Claude-Michel
M. BATT Michel	M. LAMBERT Jean-Claude
M. BLAIVE Bruno	M. LAZDUNSKI Michel
M. BOQUET Patrice	M. LEFEBVRE Jean-Claude
M. BOURGEON André	M. LE BAS Pierre
M. BOUTTÉ Patrick	M. LE FICHOUX Yves
M. BRUNETON Jean-Noël	Mme LEBRETON Elisabeth
Mme BUSSIERE Françoise	M. LOUBIERE Robert
M. CAMOUS Jean-Pierre	M. MARIANI Roger
M. CHATEL Marcel	M. MASSEYEFF René
M. COUSSEMENT Alain	M. MATTEI Mathieu
M. DAR COURT Guy	M. MOUIEL Jean
M. DELLAMONICA Pierre	Mme MYQUEL Martine
M. DELMONT Jean	M. OLLIER Amédée
M. DEMARD François	M. ORTONNE Jean-Paul
M. DOLISI Claude	M. SAUTRON Jean Baptiste
M. FRANCO Alain	M. SCHNEIDER Maurice
M. FREYCHET Pierre	M. SERRES Jean-Jacques
M. GÉRARD Jean-Pierre	M. TOUBOL Jacques
M. GILLET Jean-Yves	M. TRAN Dinh Khiem
M. GRELLIER Patrick	M VAN OBBERGHEN Emmanuel
M. HARTER Michel	M. ZIEGLER Gérard
M. INGLES AKIS Jean-André	

**M.C.A. Honoraire**

Mlle ALLINE Madeleine

**M.C.U. Honoraires**

M. ARNOLD Jacques  
 M. BASTERIS Bernard  
 Mlle CHICHMANIAN Rose-Marie  
 Mme DONZEAU Michèle  
 M. EMILIOZZI Roméo  
 M. FRANKEN Philippe  
 M. GASTAUD Marcel  
 M.GIRARD-PIPAU Fernand  
 M. GIUDICELLI Jean  
 M. MAGNÉ Jacques  
 Mme MEMRAN Nadine  
 M. MENGUAL Raymond  
 M. POIRÉE Jean-Claude  
 Mme ROURE Marie-Claire

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

M.	AMIEL Jean	Urologie (52.04)
M.	BENCHIMOL Daniel	Chirurgie Générale (53.02)
M.	BOILEAU Pascal	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	DARCOURT Jacques	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	DESNUELLE Claude	Biologie Cellulaire (44.03)
Mme	EULLER-ZIEGLER Liana	Rhumatologie (50.01)
M.	FENICHEL Patrick	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FUZIBET Jean-Gabriel	Médecine Interne (53.01)
M.	GASTAUD Pierre	Ophtalmologie (55.02)
M.	GILSON Éric	Biologie Cellulaire (44.03)
M.	GRIMAUD Dominique	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	HASSEN KHODJA Reda	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	HÉBUTERNE Xavier	Nutrition (44.04)
M.	HOFMAN Paul	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	LACOUR Jean-Philippe	Dermato-Vénérologie (50.03)
M.	MARTY Pierre	Parasitologie et Mycologie (45.02)
M.	MICHIELS Jean-François	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	MOUROUX Jérôme	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	PAQUIS Philippe	Neurochirurgie (49.02)
M.	PRINGUEY Dominique	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	QUATREHOMME Gérald	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	M.ROBERT Philippe	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	SANTINI Joseph	O.R.L. (55.01)
M.	THYSS Antoine	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)

### PROFESSEURS PREMIERE CLASSE

Mme	ASKENAZY-GITTARD Florence	Pédopsychiatrie (49.04)
M.	BAQUÉ Patrick	Anatomie - Chirurgie Générale (42.01)
M.	BÉRARD Étienne	Pédiatrie (54.01)
M.	BERNARDIN Gilles	Réanimation Médicale (48.02)
M.	BONGAIN André	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
M.	CASTILLO Laurent	O.R.L. (55.01)
Mme	CRENESSE Dominique	Physiologie (44.02)
M.	DE PERETTI Fernand	Anatomie-Chirurgie Orthopédique (42.01)
M.	DRICI Milou-Daniel	Pharmacologie Clinique (48.03)
M.	ESNAULT Vincent	Néphrologie (52-03)
M.	FERRARI Émile	Cardiologie (51.02)
M.	FERRERO Jean-Marc	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	GIBELIN Pierre	Cardiologie (51.02)
M.	GUGENHEIM Jean	Chirurgie Digestive (52.02)
Mme	ICHAÏ Carole	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	LONJON Michel	Neurochirurgie (49.02)
M.	MARQUETTE Charles-Hugo	Pneumologie (51.01)
M.	MOUNIER Nicolas	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	PADOVANI Bernard	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
Mme	PAQUIS Véronique	Génétique (47.04)
M.	PRADIER Christian	Épidémiologie, Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	RAUCOULES-AIMÉ Marc	Anesthésie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
Mme	RAYNAUD Dominique	Hématologie (47.01)
M.	ROSENTHAL Éric	Médecine Interne (53.01)
M.	SCHNEIDER Stéphane	Nutrition (44.04)
M.	STACCINI Pascal	Biostatistiques et Informatique Médicale (46.04)
M.	THOMAS Pierre	Neurologie (49.01)
M.	TRAN Albert	Hépto Gastro-entérologie (52.01)

### PROFESSEURS DEUXIEME CLASSE

M.	ALBERTINI Marc	Pédiatrie (54.01)
Mme	BAILLIF Stéphanie	Ophthalmologie (55.02)
M.	BAHADORAN Philippe	Cytologie et Histologie (42.02)
M.	BARRANGER Emmanuel	Gynécologie Obstétrique (54.03)
M.	BENZIRI Emmanuel	Chirurgie Générale (53.02)
M.	BENOIT Michel	Psychiatrie (49.03)
Mme	BLANC-PEDEUTOUR Florence	Cancérologie – Génétique (47.02)
M.	BREAUD Jean	Chirurgie Infantile (54-02)
Mlle	BREUIL Véronique	Rhumatologie (50.01)
M.	CANIVET Bertrand	Médecine Interne (53.01)
M.	CARLES Michel	Anesthésiologie Réanimation (48.01)
M.	CASSUTO Jill-Patrice	Hématologie et Transfusion (47.01)
M.	CHEVALLIER Patrick	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
Mme	CHINETTI Giulia	Biochimie-Biologie Moléculaire (44.01)
M.	DELOTTE Jérôme	Gynécologie-obstétrique (54.03)
M.	DUMONTIER Christian	Chirurgie plastique
M.	FONTAINE Denys	Neurochirurgie (49.02)
M.	FOURNIER Jean-Paul	Thérapeutique (48-04)
M.	FREDENRICH Alexandre	Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques (54.04)
Mlle	GIORDANENGO Valérie	Bactériologie-Virologie (45.01)
M.	GUÉRIN Olivier	Gériatrie (48.04)
M.	HANNOUN-LEVI Jean-Michel	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)

### PROFESSEURS DEUXIEME CLASSE (suite)

M.	IANNELLI Antonio	Chirurgie Digestive (52.02)
M	JEAN BAPTISTE Elixène	Chirurgie vasculaire (51.04)
M.	JOURDAN Jacques	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	LEVRAUT Jacques	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	PASSERON Thierry	Dermato-Vénérologie (50-03)
M.	PICHE Thierry	Gastro-entérologie (52.01)
M.	ROGER Pierre-Marie	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROHRLICH Pierre	Pédiatrie (54.01)
M.	RUIMY Raymond	Bactériologie-virologie (45.01)
Mme	SACCONI Sabrina	Neurologie (49.01)
M.	SADOUL Jean-Louis	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)
M.	TROJANI Christophe	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	VENISSAC Nicolas	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)

### PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

M.	HOFLIGER Philippe	Médecine Générale
----	-------------------	-------------------

### PROFESSEURS AGRÉGÉS

Mme	LANDI Rebecca	Anglais
Mme	ROSE Patricia	Anglais

### MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	ALUNNI Véronique	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	AMBROSETTI Damien	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	BANNWARTH Sylvie	Génétique (47.04)
M.	BENOLIEL José	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
Mme	BERNARD-POMIER Ghislaine	Immunologie (47.03)
Mme	BUREL-VANDENBOS Fanny	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	DOGLIO Alain	Bactériologie-Virologie (45.01)
M	DOYEN Jérôme	Radiothérapie (47.02)
M	FAVRE Guillaume	Néphrologie (52.03)
M.	FOSSE Thierry	Bactériologie-Virologie-Hygiène (45.01)
M.	GARRAFFO Rodolphe	Pharmacologie Fondamentale (48.03)
Mme	GIOVANNINI-CHAMI Lisa	Pédiatrie (54.01)
Mme	HINAULT Charlotte	Biochimie et biologie moléculaire (44.01)
Mme	LEGROS Laurence	Hématologie et Transfusion (47.01)
Mme	MAGNIÉ Marie-Noëlle	Physiologie (44.02)
Mme	MOCERI Pamela	Cardiologie (51.02)
Mme	MUSSO-LASSALLE Sandra	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	NAÏMI Mourad	Biochimie et Biologie moléculaire (44.01)
M.	PHILIP Patrick	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	POMARES Christelle	Parasitologie et mycologie (45.02)
M.	ROUX Christian	Rhumatologie (50.01)
M.	TESTA Jean	Épidémiologie Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	TOULON Pierre	Hématologie et Transfusion (47.01)

### **PROFESSEURS ASSOCIÉS**

M	COYNE John	Anatomie et Cytologie (42.03)
M.	GARDON Gilles	Médecine Générale
Mme	PACZESNY Sophie	Hématologie (47.01)
Mme	POURRAT Isabelle	Médecine Générale

### **MAITRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS**

M	BALDIN Jean-Luc	Médecine Générale
M.	DARMON David	Médecine Générale
Mme	MONNIER Brigitte	Médecine Générale
M.	PAPA Michel	Médecine Générale

### **PROFESSEURS CONVENTIONNÉS DE L'UNIVERSITÉ**

M.	BERTRAND François	Médecine Interne
M.	BROCKER Patrice	Médecine Interne Option Gériatrie
M.	CHEVALLIER Daniel	Urologie
Mme	FOURNIER-MEHOUAS Manuella	Médecine Physique et Réadaptation
M.	JAMBOU Patrick	Coordination prélèvements d'organes
M.	QUARANTA Jean-François	Santé Publique

## REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Patrick Fénichel,

Je suis honorée que vous ayez accepté de présider mon jury de thèse. Je vous suis sincèrement reconnaissante de m'avoir assurée de votre soutien tout au long de mon internat, et de me faire confiance pour la suite. J'espère être à la hauteur des espoirs que vous fondez en moi.

A Monsieur le Professeur Bertrand Canivet,

Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse alors que bien d'autres occupations plus réjouissantes rythment sans aucun doute vos grandes vacances. Vous avez marqué mon internat lors de mon passage dans votre service, et je retiendrai de vous vos compétences bien sûr, mais surtout votre gentillesse et votre humanité.

A Madame le Professeur Véronique Paquis-Flucklinger,

Je suis sincèrement honorée que vous ayez accepté de faire partie de ce jury de thèse, quand je sais à quel point votre temps est précieux. Merci d'avoir été l'initiatrice de ce travail que je souhaite à la hauteur de ce que vous en attendiez. Un grand merci également de représenter dignement la gente féminine dans mon jury, cela me tenait particulièrement à cœur.

A Monsieur le Professeur Jean-Louis Sadoul,

Un immense merci pour tout ce que j'apprends à vos côtés au quotidien. J'espère avoir la chance de profiter encore longtemps de votre expérience éminente. Soyez assuré de toute ma considération.



Au Docteur presque Professeur Nicolas Chevalier,

Je suis heureuse de trouver ici l'occasion de t'exprimer toute ma reconnaissance. Dès le début de mon internat, tu as fait preuve de beaucoup de bienveillance à mon égard. Tu as toujours été là, dans les hauts comme dans les bas. C'est auprès de toi que mes ambitions se sont aiguisées. Et c'est aussi grâce à toi qu'aujourd'hui je suis confiante en mon avenir professionnel. Un immense merci pour ton soutien permanent et ta confiance.

A l'ensemble de l'équipe du service d'endocrinologie de l'Archet, ma deuxième maison...

Aux Docteurs Madalina Muntianu, Sylvie Hiéronimus, Françoise Brucker-Davis et Stéphanie Pallé avec lesquelles j'ai la chance et le plaisir de travailler

A tou(te)s les infirmier(e)s, cadres, aides-soignant(e)s et ASH avec qui je passe le plus clair de mon temps et qui vont devoir me supporter encore longtemps

Aux secrétaires, en particulier Céline, Doriane et Nathalie, mes rayons de soleil !

A mes co-internes passés et présents, avec une pensée particulière pour Anne-Laure, Léonore, Marie, Solène, Charlotte et Stéphanie en qui j'ai trouvé des alliées

A l'équipe de biologie moléculaire du service de génétique médicale de l'Archet,

Un grand merci de m'avoir accueillie très chaleureusement pour les six mois de stage passés en votre compagnie. J'ai énormément apprécié de travailler avec vous. Un grand merci aussi pour toute l'aide apportée dans le travail qui fait aujourd'hui l'objet de cette thèse. Ce stage passé chez vous n'a fait que confirmer mon attrait pour la génétique, qui j'espère pourra trouver sa place dans ma pratique future.

A l'équipe de diabétologie de Pasteur et de médecine interne d'Antibes où j'ai passé six mois de stages intenses, à ma chef de clinique Ellada et à mes co-internes Jessica et Céline.

A l'équipe 7 du C3M avec laquelle j'ai passé une année de master très enrichissante tant scientifiquement qu'humainement. Mention spéciale pour Fred bien sûr, Stéphan et Zied, mais aussi évidemment pour Fabienne et Faustine en qui j'ai trouvé des amies. Fred, rendez-vous pour la thèse de sciences !

# TABLE DES MATIÈRES

## **I. INTRODUCTION** **13**

## **II. GÉNÉRALITÉS SUR LE DIABÈTE MITOCHONDRIAL** **16**

1. Historique.....	16
2. La mutation m.3243 A>G.....	19
2.1. L'ADNmt	19
2.2. La mutation m.3243 A>G	19
3. Fréquence du MIDD.....	20
4. Physiopathologie.....	21
5. Clinique.....	23
5.1. Caractéristiques du diabète	24
5.2. Atteintes associées au diabète	26
6. Diagnostic génétique.....	29
6.1. Mutation m.3243 A>G	29
6.2. Autres mutations classiques	29
6.3. Mutations rares	30

## **III. DIABÈTE ET MUTATIONS RARES DE L'ADN MITOCHONDRIAL : ÉTUDE PHÉNOTYPIQUE** **33**

1. <u>OBJECTIFS</u> .....	33
---------------------------	----

2. <u>MATERIEL ET METHODES</u> .....	33
2.1. Revue de la littérature.....	34
2.2. Étude de cas.....	34
2.3. Traitement des données.....	36
3. <u>RÉSULTATS</u> .....	37
3.1. Revue de la littérature.....	37
3.2. Étude de cas.....	44
3.2.1. Caractéristiques phénotypiques des diabètes liés à une mutation rare de l'ADNmt	44
3.2.1.1. Caractéristiques générales	44
3.2.1.2. Caractéristiques du diabète	47
3.2.1.3. Atteintes associées	57
3.2.2. Place du diabète dans la population suspecte de maladie mitochondriale sans mutation classique de l'ADNmt	59
3.2.2.1. Fréquence	59
3.2.2.2. Phénotype	61
3.2.3. Prévalence des mutations ponctuelles rares de l'ADNmt dans cette population suspecte de maladie mitochondriale présentant un diabète	64
 <b><u>IV. DISCUSSION</u></b> .....	 <b>64</b>
 <b><u>V. CONCLUSION</u></b> .....	 <b>77</b>
 <b><u>VI. BIBLIOGRAPHIE</u></b> .....	 <b>79</b>

---

SERMENT D'HIPPOCRATE.....94

RÉSUMÉ.....95

## I. INTRODUCTION

Le diabète sucré est une pathologie fréquente et hétérogène, définie par la présence d'une hyperglycémie chronique qui s'accompagne d'un risque de complications micro-angiopathiques (rétinopathie, néphropathie, neuropathie) et macro-angiopathiques (athérosclérose carotidienne, artériopathie oblitérante des membres inférieurs, coronaropathie, accidents vasculaires cérébraux). Le diabète est une pathologie grave, associée à une augmentation significative de la morbi-mortalité et une altération de la qualité de vie. Il connaît à l'heure actuelle une véritable épidémie mondiale, comme en témoigne le rapport de 2015 de l'*International Diabetes Federation* qui comptait 382 millions de diabétiques dans la population adulte en 2013, pour une prévision de 592 millions en 2035 (82). La prévalence du diabète a presque doublé depuis 1980, passant de 4,7% à 8,5% de la population mondiale entre 1980 et 2014. L'OMS estime qu'en 2012, 1,5 million de décès étaient directement dus au diabète, et que le diabète sera la septième cause de décès dans le monde en 2030 (83). Ces chiffres en font un problème majeur de santé publique.

Les mécanismes physiopathologiques conduisant au diabète sont multiples, impliquant une altération de l'insulino-sécrétion et/ou une altération de l'insulino-sensibilité à des degrés divers. Le terme de diabète intègre en fait de nombreuses entités cliniques différentes, aboutissant toutes à l'hyperglycémie. Une conjonction de facteurs génétiques et environnementaux est impliquée dans la plupart des diabètes.

Les deux principaux types de diabète sont :

- le diabète de type 1, par destruction auto-immune des cellules bêta pancréatiques, responsable d'une insulino-pénurie absolue ;

- et surtout, le diabète de type 2, lié primitivement à une insulino-résistance périphérique dans un contexte de syndrome métabolique ; c'est ce type de diabète qui est responsable de la pandémie mondiale de diabète connue à l'heure actuelle en parallèle de l'explosion de l'obésité.

Certains types de diabète ont en revanche un déterminisme uniquement génétique. Ces diabètes monogéniques, même si ils sont rares, comptent pour une proportion significative de patients diabétiques et méritent donc de l'attention. En effet, les conséquences thérapeutiques d'un tel diagnostic étiologique sont importantes, mais aussi ses implications en termes de conseil génétique. Pourtant, ils sont mal connus des cliniciens et donc rarement étiquetés. Cette classe de diabètes monogéniques comprend les diabètes MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young), les plus fréquents, ainsi que les diabètes mitochondriaux, probablement encore moins bien connus.

Les éléments suivants doivent faire penser à un diabète monogénique au cours de l'enquête étiologique d'un diabète inaugural :

- Age ou mode de début surprenant
- Association à des atteintes extra-pancréatiques
- Histoire familiale en faveur d'une hérédité mendélienne ou matrilinéaire
- Absence de stigmates cliniques ou biologiques d'auto-immunité devant un tableau de diabète de type 1
- Evolution atypique

En dehors de la mutation m.3243 A>G qui est de loin la plus fréquente, plusieurs autres mutations de l'ADN mitochondrial ont été décrites comme associées au diabète mitochondrial. Ces anomalies peuvent être des mutations ponctuelles mais aussi des

remaniements plus complexes de l'ADN mitochondrial (délétions, duplications partielles). Il est admis que ces mutations rares sont habituellement associées à des tableaux cliniques plus complexes où les atteintes extra-métaboliques sont marquées et où le diabète n'est pas toujours le signe prédominant. Cependant, les données disponibles sont rares. C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés au phénotype des diabètes liés aux mutations rares de l'ADN mitochondrial.



## II. GÉNÉRALITÉS SUR LE DIABÈTE MITOCHONDRIAL

### 1. Historique

Dans les années 1990, des études épidémiologiques révélaient un excès de transmission maternelle du diabète (par rapport à la transmission paternelle), mais il n'était pas bien déterminé si cet excès de transmission était lié à des facteurs d'environnement intra-utérin ou à des facteurs génétiques (35,71). La connaissance de l'hérédité exclusivement maternelle du génome mitochondrial a conduit à rechercher des liens entre ADN mitochondrial et diabète. C'est ainsi qu'ont été décrits les premiers diabètes secondaires à des anomalies du génome mitochondrial, ouvrant le spectre d'un nouveau cadre nosologique du diabète.

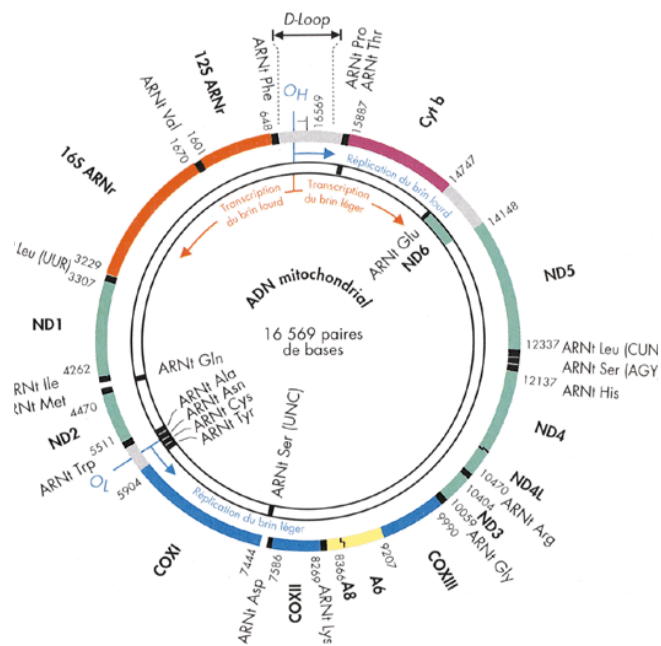
En 1992, deux équipes indépendantes décrivaient de façon simultanée deux familles, l'une britannique (55), l'autre allemande (74), présentant un diabète et une surdité neuro-sensorielle de transmission maternelle. Dans ces deux observations, le diabète co-segrégeait avec la mutation de l'ADN mitochondrial (ADNmt) m.3243 A>G touchant l'ARN de transfert de la leucine. Ainsi étaient rapportés les deux premiers cas de diabète mitochondrial.

Le phénotype décrit dans ces deux publications a conduit Maassen à nommer cette entité clinique le « MIDD » pour *Maternally Inherited Diabetes and Deafness* (diabète et surdité de transmission maternelle) (35).

## 2. La mutation m.3243 A>G

### 2.1. L'ADNmt

La mitochondrie a une particularité majeure : elle possède son propre matériel génétique sous la forme d'une molécule d'ADN circulaire double brin de 16 569 paires de bases, localisée dans la matrice mitochondriale (*figure 1*) (1).



*Figure 1 : L'ADN mitochondrial*

L'ADNmt code pour :

- 13 sous-unités de la chaîne respiratoire (7 sous-unités du complexe I, une sous-unité du complexe III, 3 sous-unités du complexe IV et 2 sous-unités du complexe V)
- 22 ARN de transfert
- 2 ARN ribosomiaux

Les ARN de transfert et ribosomiaux servent à la synthèse des protéines mitochondriales. Cependant, la plupart des composants de la chaîne respiratoire mitochondriale restent codés par le génome nucléaire.

L'ADNmt présente plusieurs particularités fondamentales pour la compréhension de la pathologie mitochondriale :

- **Transmission uniquement maternelle**

Le génome mitochondrial est hérité exclusivement de la mère car les mitochondries apportées par le spermatozoïde sont rapidement dégradées dans l'ovocyte fécondé.

- **Fort taux de mutations**

En comparaison à l'ADN nucléaire, l'ADNmt est beaucoup plus vulnérable. D'une part, ses systèmes de réparation sont moins efficaces. D'autre part, il est exposé à un stress oxydatif important à cause de taux élevés de radicaux libres formés par le flux d'électrons le long de la chaîne respiratoire. Ainsi, le taux de mutations de l'ADNmt est dix à vingt fois plus élevé que celui de l'ADN nucléaire, et les mutations s'accumulent avec l'âge (47,56).

- **Hétéroplasmie**

Chaque cellule contient plusieurs centaines de mitochondries (leur quantité étant en fait directement corrélée à la demande énergétique de la cellule) et de multiples copies d'ADNmt sont présentes dans chaque mitochondrie. Ainsi, une seule cellule peut contenir plus d'un millier de copies d'ADNmt par génome nucléaire. Chaque copie peut être individuellement mutée, et ainsi il peut co-exister dans une cellule des molécules d'ADNmt mutées et des molécules d'ADNmt non-mutées. La coexistence d'ADNmt sauvage (normal) et muté dans

des proportions variables au sein d'une mitochondrie, d'une cellule ou d'un tissu, définit l'hétéroplasmie. Quand toutes les molécules d'ADNmt sont mutées, ou au contraire qu'elles sont toutes sauvages, on parle d'homoplasmie.

Les mutations pathogènes sont généralement présentes à un état hétéroplasmique, avec des taux d'hétéroplasmie très variables d'un tissu à un autre.

## 2.2. La mutation m.3243 A>G

Cette mutation de l'ADNmt, initialement décrite dans le syndrome MELAS (Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, Stroke-like episodes), est la mutation la plus fréquente dans le MIDD (environ 85% des cas) (37).

Elle concerne l'ARN de transfert de la leucine (ARNt Leu(UUR)) (*figure 2*), région hautement conservée dans l'évolution.



*Figure 2 : La mutation m.3243 A>G dans l'ARNt Leu*

Cette mutation affecte la structure tertiaire de l'ARNt leucine mitochondrial en entraînant la dimérisation anormale de la molécule mutante. L'altération de l'ARNt Leu aboutit à une détérioration de la terminaison de la transcription mitochondriale et cause un défaut de la synthèse protéique mitochondriale.

Les phénotypes liés à la mutation m.3243 A>G ont été étudiés par plusieurs auteurs (18,48). La variabilité importante des tableaux cliniques illustre le concept de variabilité phénotypique inter et intra-familiale des mutations de l'ADNmt. Le MIDD (30%) et le MELAS (10%) sont les principaux phénotypes, suivis par le CPEO (ophtalmoplégie externe chronique progressive), la surdité isolée, le syndrome MERRF (épilepsie myoclonique avec fibres *ragged-red*) et l'association de ces différents phénotypes. Il est à noter la proportion non négligeable de patients asymptomatiques, ou encore de formes atypiques. A l'heure actuelle, les facteurs qui déterminent l'apparition de tel ou tel phénotype sont mal connus, et il est probable que d'autres facteurs que l'hétéroplasmie interviennent dans la variabilité clinique inter et intra-familiale liée à une même mutation.

### **3. Fréquence du MIDD**

La prévalence du MIDD a été souvent évaluée dans des populations variées. Les résultats sont contradictoires selon les études, dépendant de l'origine ethnique et des méthodes de recrutement des patients, mais une estimation raisonnable est aux alentours de 1,5% (entre 0,5 et 2,8%) de la population diabétique tout-venant (17,18,45,47). Cependant, compte tenu de l'augmentation massive et constante de la prévalence du diabète de type 2 à travers le monde, la proportion de diabètes mitochondriaux au sein de la population diabétique est logiquement amenée à diminuer.

La fréquence du diabète mitochondrial augmente considérablement (de deux à cinq fois) après sélection clinique des patients ayant une histoire familiale maternelle de diabète associé à une baisse de l'acuité auditive (17,47,52).

La prévalence connue est probablement sous-estimée, d'une part car elle ne tient pas compte des autres mutations plus rares (autres que la m.3243 A>G) qui peuvent être impliquées dans la survenue d'un diabète, d'autre part car les méthodes de diagnostic (en particulier sur les leucocytes) manquent de sensibilité. De plus, le syndrome MIDD souffre de la méconnaissance d'un grand nombre de médecin.

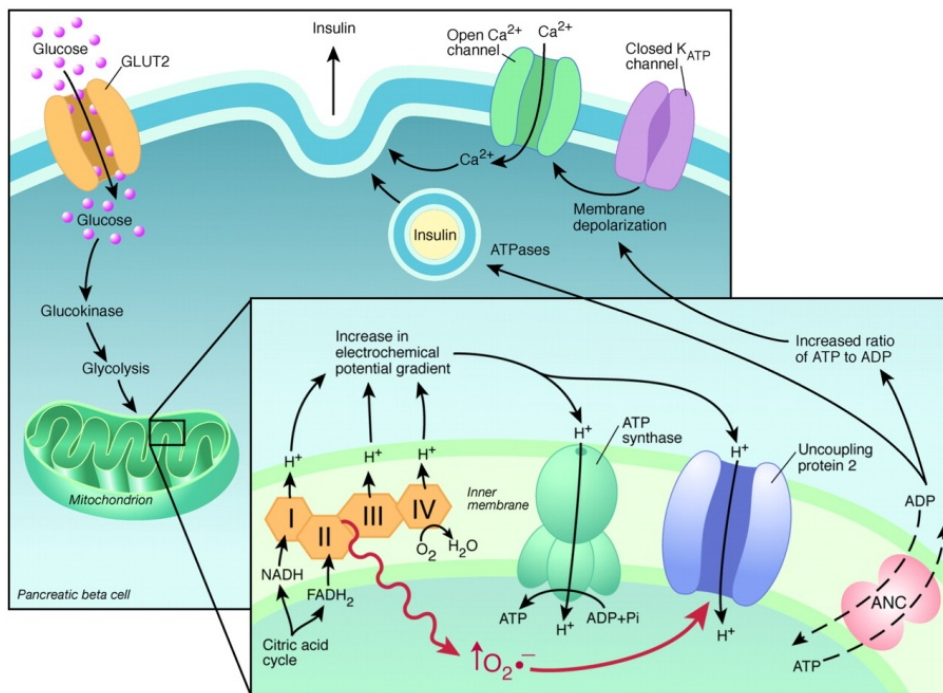
#### **4. Physiopathologie**

Un *substratum* physiopathologique explique le lien entre la fonction mitochondriale et la survenue d'un diabète. En effet, la phosphorylation oxydative mitochondriale joue un rôle majeur dans le couplage du glucose et de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta pancréatiques (17).

Le maintien de l'homéostasie du glucose implique un senseur du glucose dans les cellules bêta pancréatiques qui détecte l'augmentation de la glycémie et convertit ce signal en une augmentation de la sécrétion d'insuline via une séquence d'évènements métaboliques qui nécessitent une fonction mitochondriale intègre (*figure 3*) :

- entrée du glucose via le transporteur GLUT2
- phosphorylation du glucose par la glucokinase
- production de NADH et de pyruvate par la glycolyse
- production de NADH et de FADH<sub>2</sub> via le cycle de Krebs
- stimulation de la phosphorylation oxydative mitochondriale
- production d'ATP par la chaîne respiratoire mitochondriale

- augmentation du ratio ATP/ADP
- fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants
- dépolarisation du potentiel de membrane
- ouverture des canaux calciques
- augmentation de la concentration intracellulaire de calcium
- exocytose des granules d'insuline



*Figure 3 : Couplage du glucose avec la sécrétion d'insuline*

Ainsi, toute dysfonction mitochondriale est susceptible d'altérer la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose, et donc être impliquée dans l'apparition d'un diabète.

Les mécanismes physiopathologiques du diabète dans le MIDD sont complexes et incluent :

- une insulinopénie par déficit primitif de la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose, due à un défaut fonctionnel des cellules bêta (phase initiale d'insulino-sécrétion

absente en réponse à une charge en glucose, sécrétion globale d'insuline diminuée) (27,37,63,76) ;

- une perte de la masse cellulaire bêta, probablement due à la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène (les cellules bêta sont constitutivement très sensibles au stress oxydatif, et cette vulnérabilité pourrait être aggravée par le défaut mitochondrial). Il n'est généralement pas retrouvé de destruction par insulite auto-immune ou d'apoptose (27,36,51,76) ;
- pas (ou peu) d'insulino-résistance (un certain degré d'insulinorésistance liée à la glucotoxicité est possible en cas de déséquilibre glycémique important) (18,76).

Il a été montré que la proportion d'ADNmt muté augmente avec le temps à cause d'un avantage répliatif de l'ADNmt portant la mutation 3243, ce qui aboutit à un déclin progressif de l'insulino-sécrétion par les cellules bêta de façon âge-dépendante (32).

Les données concernant l'implication d'un processus auto-immun (comme dans le diabète de type 1) sont contradictoires. Les auto-anticorps sont dans la plupart des cas absents. Il n'y a *a priori* pas de place pour un processus d'auto-immunité dans le MIDD (27,35,45).

Plusieurs mécanismes reliés à des facteurs environnementaux (excès pondéral, grossesse...) ou impliquant le génome nucléaire pourraient être impliqués dans la sévérité variable du MIDD.

## **5. Clinique**

Le tableau clinique du MIDD dans la population caucasienne a été étudié par de nombreux auteurs (18,20,21,42,78).



Ses caractéristiques principales sont (21) :

- ✓ un âge jeune de découverte du diabète (37 ans en moyenne)
- ✓ un indice de masse corporelle (IMC) normal (20 kg/m<sup>2</sup> en moyenne)
- ✓ un antécédent de diabète maternel dans 80% des cas
- ✓ une pénétrance du diabète élevée dans la famille (estimée à 85%)

### 5.1. Caractéristiques du diabète

En ce qui concerne les caractéristiques du diabète en lui-même, le GEDIAM (Groupe d'Étude sur le DIABète Mitochondrial) a décrit en 2004 deux phénotypes distincts (20) :

- dans 17 % des cas, le MIDD mime un diabète de type 1, insulino-dépendant d'emblée, avec une décompensation acido-cétosique dans environ un tiers des cas : ce sous-type est nommé MIDD1 ;

- dans 83 % des cas, le MIDD emprunte le phénotype du diabète de type 2 : ce sous-type est nommé MIDD2. Il est le plus souvent de découverte fortuite. Ici, l'évolution vers l'insulinorequérance est relativement rapide par rapport au diabète de type 2 (10,7 +/- 6,8 ans dans la série du GEDIAM) (21), et elle est d'autant plus rapide que l'IMC est bas et l'HbA1c est haute au moment du diagnostic (45).

La comparaison entre ces deux formes cliniques montre dans le MIDD1 un âge de début plus jeune (25,4 +/- 9,6 ans vs 33,7 +/- 13,2 ans,  $p < 0,0005$ ), un IMC plus bas (18,2 +/- 2,3 vs 20,9 +/- 3,6 kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,0005$ ) et une HbA1c plus haute au diagnostic (9,5 +/- 2,0 vs 7,5 +/- 1,6%,  $p < 0,0005$ ) (*tableau 1 et tableau 2*). En fait, en fonction du degré d'insulinopénie au diagnostic, le tableau clinique imite celui d'un diabète de type 1 ou celui d'un diabète de type 2 (36).

	<b>MIDD1</b>	<b>MIDD2</b>	<b>p</b>
<b>Nombre de patients (%)</b>	13 (17%)	64 (83%)	
<b>Sex-ratio (H/F)</b>	8/5 (1.6)	23/41 (0.64)	NS
<b>Age au moment de l'étude (ans)</b>	43.4 +/- 8.1	49.3 +/- 10.0	< 0.0025
<b>Age au moment des premières manifestations (ans)</b>	25.4 +/- 9.6	33.7 +/- 13.2	< 0.0005
<b>Age au diagnostic de diabète (ans)</b>	30.3 +/- 10	39.4 +/- 8.5	< 0.0025
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	18.2 +/- 2.3	20.9 +/- 3.6	< 0.0005
<b>Histoire familiale de diabète (%)</b>	9/10 (90%)	34/47 (72%)	NS
<b>Histoire maternelle de diabète (%)</b>	7/9 (77.8%)	30/34 (88.2%)	NS
<b>Surdité (%)</b>	12/13 (92.3%)	60/64 (93.7%)	NS
<b>Age au diagnostic de surdité (ans)</b>	29.4 +/- 12.6	36.0 +/- 14.7	< 0.05
<b>Dystrophie maculaire réticulée (%)</b>	8/11 (72.7%)	48/56 (85.7%)	NS
<b>Atteinte neuro-musculaire (%)</b>	7/13 (53.8%)	25/61 (41%)	NS

NS = non significatif

*Tableau 1 : Comparaison des phénotypes MIDD1 et MIDD2*

*(tiré de Guillausseau et al, 2004 (20))*

Lorsqu'on compare le MIDD1 au diabète de type 1 classique, on retrouve un IMC plus bas (18,2 +/- 2,3 vs 24,0 +/- 3,6 kg/m<sup>2</sup>, p<0,0005), des hommes plus petits (166,1 +/- 3,2 vs 177,3 +/- 6,6 cm, p<0,0005) et une HbA1c plus haute (9,5 +/- 2,0 vs 8,2 +/- 1,0%, p<0,0025) au diagnostic de MIDD1. Quand on compare maintenant le MIDD2 au diabète de type 2 classique, on retrouve un IMC plus bas (20,9 +/- 3,6 vs 30,2 +/- 5,9 kg/m<sup>2</sup>, p<0,0005), des hommes plus petits (168,4 +/- 7,2 vs 173,6 +/- 6,6 cm, p<0,0025) et une HbA1c plus basse (7,5 +/- 1,6 vs 8,6 +/- 2,1%, p<0,0005) au diagnostic de MIDD2 (tableau 2).

	<b>MIDD1</b>	<b>DT1</b>	<b>P MIDD1 vs DT1</b>	<b>MIDD2</b>	<b>DT2</b>	<b>P MIDD2 vs DT2</b>	<b>P MIDD1 vs MIDD2</b>
<b>Nombre de patients</b>	13	24		64	115		
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	18.2 +/- 2.3	24.0 +/- 3.6	< 0.0005	20.9 +/- 3.6	30.2 +/- 5.9	< 0.0005	< 0.0005
<b>Poids (kg)</b>	49.1 +/- 7.4	72.1 +/- 15.7	< 0.0025	56.3 +/- 10.9	85.2 +/- 17.3	< 0.0005	< 0.0005
<b>Taille (cm)</b>	165.5 +/- 5.8	172.6 +/- 9.6	< 0.0025	162.6 +/- 8.7	164.8 +/- 9.3	NS	NS
<b>Hommes</b>	166.1 +/- 3.2	177.3 +/- 6.6	< 0.0005	168.4 +/- 7.2	173.6 +/- 6.6	< 0.0025	NS
<b>Femmes</b>	164.6 +/- 9.1	163.1 +/- 6.7	NS	158.9 +/- 7.6	159.9 +/- 6.5	NS	< 0.0025
<b>HbA1c (%)</b>	9.5 +/- 2.0	8.2 +/- 1.0	< 0.0025	7.5 +/- 1.6	8.6 +/- 2.1	< 0.0005	< 0.0005

*Tableau 2 : Comparaison des phénotypes MIDD1 vs Diabète de type 1*

*et MIDD2 vs Diabète de type 2 (tiré de Guillausseau et al, 2004 (20))*

Ainsi, à la découverte d'un diabète, un IMC bas et une taille plus petite que la taille cible (chez les hommes : taille cible en cm = (taille du père + taille de la mère en cm + 13) / 2) doivent attirer l'attention du diabétologue vis-à-vis d'un éventuel diabète mitochondrial. Aucune explication de la petite taille des hommes n'a pu être retrouvée par les auteurs (20).

L'absence d'insulino-résistance et la présence d'une insulino-pénie sont parfaitement illustrées par l'absence d'obésité dans cette population de patients présentant un diabète dont le phénotype ressemble plus volontiers à celui du diabète de type 2.

Maassen *et al* ont montré en 2004 une pénétrance quasiment complète des troubles de la tolérance au glucose en cas de mutation m.3243 A>G à l'âge de 70 ans, avec un âge moyen de découverte de 38 ans (36). Dans l'étude de Whittaker *et al* de 2007 (78), l'âge de découverte du diabète dans la population porteuse d'une mutation m.3243 était de 37,9 ans +/- 15,1. Au diagnostic, 12,9% des patients étaient insulino-requérants d'emblée. Au bout de 4 ans d'évolution, cette proportion était passée à 45,2%, ce qui témoigne d'une dégradation rapide de la sécrétion endogène d'insuline, conformément à la physiopathologie.

Dans certaines études, il a été montré un phénomène d'anticipation générationnelle, c'est à dire un âge de début du diabète de plus en plus jeune au fur et à mesure des générations (35).

## **5.2. Atteintes associées au diabète**

Les mitochondries sont responsables de la génération d'énergie sous la forme d'ATP par le processus de phosphorylation oxydative (OXPHOS) au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les symptômes résultent de l'accumulation de mitochondries mutées dans les

tissus et organes, en raison du déficit énergétique cellulaire consécutif à un défaut de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les mitochondries étant présentes dans toutes les cellules de l'organisme, les symptômes peuvent concerner tous les tissus ou organes, mais les tissus avec une demande énergétique importante (les plus métaboliquement actifs) sont préférentiellement touchés, comme le système nerveux central, le myocarde, le muscle squelettique, le rein, le pancréas, la cochlée et la rétine. Ces organes sont des tissus post-mitotiques, c'est à dire dont les cellules ne se divisent quasiment plus à partir de l'âge adulte. Ainsi, les mitochondries anormales s'y accumulent et le taux d'hétéroplasmie augmente. L'hétéroplasmie est un élément important pour expliquer l'hétérogénéité clinique des atteintes associées. En effet, il a été montré que les patients dont le taux d'hétéroplasmie est le plus élevé ont un profil clinique plus grave (75). D'un tissu à l'autre, chez une même personne, les taux d'hétéroplasmie peuvent être très variables. De la même façon, une mutation donnée peut donner un tableau phénotypique extrêmement variable chez deux individus selon la répartition de la mutation dans les organes (18).

#### ✓ L'oreille

La surdité est souvent de début précoce (âge moyen de 35 ans au diagnostic), et précède souvent le diagnostic de diabète (27). L'atteinte est bilatérale, neurosensorielle et prédomine sur les fréquences aiguës (80). L'intensité du déficit auditif est variable. Sur le plan histologique, il s'agit d'une dégénérescence de la strie vasculaire et des cellules ciliées de la cochlée.

#### ✓ L'œil

La dystrophie maculaire réticulée est un signe très spécifique du MIDD (40,41). Cliniquement, il n'y a pas ou peu de baisse d'acuité visuelle à la phase d'état. L'examen du

fond d'œil retrouve le plus souvent des lésions discrètes, à peine visibles, à type de dépôts pigmentés qui forment des lignes dans l'aire maculaire et péri-maculaire, évoluant vers la confluence et formant un aspect dit « réticulé ». L'angiographie rétinienne à la fluorescéine est l'examen le plus sensible et le plus spécifique pour poser le diagnostic. Elle retrouve des travées hypofluorescentes en réseau et une hyperfluorescence sur les bords des travées (60). La présence d'une dystrophie maculaire réticulée aurait en fait un rôle protecteur contre la rétinopathie diabétique, retrouvée cinq fois moins souvent que dans la population diabétique globale après appariement sur l'HbA1c et sur la durée du diabète (21,45).

✓ Le rein :

La néphropathie mitochondriale correspond à une atteinte sévère associée au diabète mitochondrial (15,19). Elle est à distinguer de la néphropathie diabétique classique. Cliniquement, elle se manifeste initialement par une protéinurie, et l'insuffisance rénale est 4 à 6 fois plus fréquente que dans la population diabétique globale. L'atteinte histologique correspond à une sclérose glomérulaire segmentaire et focale (39).

Dans l'étude prospective du GEDIAM réalisée en 2001 (21), les atteintes associées au diabète étaient retrouvées dans :

- ✓ 98% des cas pour la surdité
- ✓ 86% des cas pour la dystrophie maculaire réticulée
- ✓ 43% des cas pour la myopathie
- ✓ 28% des cas pour la néphropathie
- ✓ 18% des cas pour les troubles neuropsychiques
- ✓ 15% des cas pour la cardiopathie

En termes de valeur diagnostique des atteintes associées au diabète pour porter le diagnostic d'un MIDD, la présence d'une surdité a une sensibilité de 93,2% (spécificité non déterminée), la présence d'une dystrophie maculaire réticulée a une sensibilité de 84,4% et une spécificité de 100%, et la présence simultanée de ces deux atteintes possède une sensibilité de 98,6% (sensibilité non déterminée) (42).

## **6. Diagnostic génétique**

### **6.1. Mutation m.3243 A>G**

La méthode la plus fréquente de détection de la mutation m.3243 A>G dans les laboratoires en routine est l'amplification par *Polymerase Chain Reaction* (PCR) à la fois des allèles mutants et *wild type*, suivie de la digestion par enzymes de restriction. Cette méthode de PCR-*restriction fragment length polymorphism* (RFLP) a un taux de détection de l'hétéroplasmie autour de 5 à 10%, taux en dessous duquel la mutation est indétectable. La présence de la mutation est confirmée par une deuxième méthode qui consiste à séquencer la région entourant la position 3243 de l'ADNmt (détection de la mutation de manière fiable au-delà de 25% d'hétéroplasmie). A noter que ces deux techniques ne permettent pas de quantifier le taux d'hétéroplasmie de la mutation dans le tissu testé.

### **6.2. Autres mutations classiques**

La présence d'un diabète a également été décrite dans des maladies mitochondriales bien caractérisées autre que le MIDD, où prédomine un tableau assez sévère, le plus souvent neurologique, et où le diabète est au second plan de la symptomatologie (42,47).

- ✓ Le syndrome de Kearns-Sayre : ptosis, ophtalmoplégie externe, rétinite pigmentaire, troubles de la conduction cardiaque +/- diabète. L'anomalie génétique est le plus souvent une délétion de l'ADNmt d'apparition sporadique. (OMIM 530000)
  
- ✓ Le syndrome de Pearson : anémie sidéroblastique, insuffisance pancréatique exocrine, tubulopathie, insuffisance hépatique, diabète. L'anomalie génétique est ici aussi une délétion sporadique de l'ADNmt. Le pronostic est sombre, avec une évolution rapidement fatale. (OMIM 557000)
  
- ✓ Le syndrome MERRF (*Myoclonic Epilepsia and Ragged Red Fibbers*) : épilepsie myoclonique progressive, myopathie, ataxie, surdité, rarement un diabète. La mutation retrouvée dans 90% des cas est la mutation m.8344 A>G sur l'ARN de transfert de la lysine. (OMIM 545000)
  
- ✓ Le syndrome de Wolfram (ou DIDMOAD) : diabète insipide, atrophie optique, surdité, diabète insulino-dépendant débutant dans l'enfance. Des rares mutations ponctuelles ou des délétions de l'ADNmt ont été trouvées dans ce syndrome, mais dans la très grande majorité des cas, l'étiologie est une mutation du gène nucléaire WFS1 (de transmission autosomique récessive). (OMIM 222300, 598500, 604928, 614296)

### 6.3. Mutations rares

La confirmation diagnostique d'un diabète mitochondrial repose sur la mise en évidence d'une mutation pathogène sur un gène codant pour un élément constitutionnel ou fonctionnel

de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ce diagnostic moléculaire est fortement compliqué par le double contrôle génétique (ADNmt et ADN nucléaire) des composants de la chaîne respiratoire. Un millier de protéines compose le protéome mitochondrial, dont la grande majorité est codée par des gènes nucléaires (gènes impliqués dans la traduction mitochondriale, gènes de structure ou d'assemblage de la chaîne respiratoire, gènes impliqués dans le métabolisme de l'ADNmt...) qui sont donc autant de candidats potentiels à une mutation. Les mutations de l'ADNmt concernent 10 à 15% des patients suspects de maladie mitochondriale. La mise en place de nouvelles méthodes d'étude de l'ADNmt a permis des progrès importants ces dernières années dans l'identification de mutations pathogènes, comme la méthode *Surveyor* (Transgenomic) qui identifie les mutations hétéroplasmiques de l'ADNmt (5), et la puce de reséquençage Affymetrix (*GeneChip Mitochondrial Resequencing 2.0 Array*) qui détecte les mutations homoplasmiques de l'ADNmt (38).

Plusieurs éléments en lien avec la complexité de la biologie de l'ADNmt viennent compliquer le diagnostic moléculaire d'un diabète mitochondrial. Tout d'abord, les mutations pathogènes peuvent apparaître à presque n'importe quel site du génome mitochondrial, d'où la nécessité d'analyser en totalité la molécule d'ADNmt. De plus, des mutations pourraient ne pas être identifiées sur le tissu analysé en raison de leur taux variables d'hétéroplasmie dans les tissus. Enfin, des variants homoplasmiques non fonctionnels sont fréquents et doivent être distingués des mutations pathogènes.

Lorsqu'une nouvelle mutation est identifiée, la principale difficulté est d'affirmer sa pathogénicité et d'exclure qu'il s'agisse d'un polymorphisme non pathogène. Les études *in silico* ainsi qu'un ensemble de critères (*tableau 3*) peuvent apporter des arguments en faveur de la pathogénicité.



*Tableau 3 : Critères de pathogénicité d'une mutation*

Retrouvée à l'état hétéroplasmique
Affecte une paire de base hautement conservée dans l'évolution
Susceptible d'affecter la structure et la fonction de l'ARN correspondant au gène muté
Implique un changement d'acide aminé
Altère la phosphorylation oxydative (consommation d'oxygène, activité des complexes de la chaîne respiratoire)
Non décrite auparavant
Absente chez les sujets contrôles non apparentés

A ce jour, il n'a jamais été étudié si des phénotypes cliniques spécifiques pouvaient permettre de sélectionner les patients devant faire l'objet d'une recherche de mutation rare quand les mutations classiques ne sont pas retrouvées dans le cadre d'une suspicion de diabète mitochondrial.

### **III. DIABÈTE ET MUTATIONS RARES DE L'ADNmt :**

#### **ÉTUDE PHÉNOTYPIQUE**

Si la mutation la plus fréquemment en cause dans le diabète mitochondrial est la mutation ponctuelle m.3243A>G de l'ADNmt, d'autres mutations sont responsables de tableaux cliniques comprenant un diabète. Pourtant, les phénotypes qui leurs sont associés ont été peu étudiés.

#### **1. Objectifs**

**L'objectif principal** de notre travail était donc d'analyser les caractéristiques phénotypiques des diabètes liés à des mutations rares de l'ADNmt.

**Les objectifs secondaires** étaient de :

- déterminer la place du diabète dans la population suspecte de maladie mitochondriale sans mutation classique de l'ADNmt ;
- déterminer la prévalence des mutations ponctuelles rares de l'ADNmt dans cette population suspecte de maladie mitochondriale présentant un diabète.

#### **2. Matériel et méthodes**

Pour répondre à nos objectifs, nous avons réalisé d'une part une revue de la littérature et d'autre part une étude de nouveaux cas.

## 2.1. Revue de la littérature

Notre étude bibliographique a été effectuée sur le moteur de recherche PubMed dans la base de données bibliographiques MEDLINE. La recherche a été effectuée avec les mots clés suivants : « MIDD *and* mutation », « mitochondrial diabetes *and* mutation », « maternally inherited diabetes *and* mutation ». La recherche a concerné la période de janvier 1992 à mai 2016. Il n'y a pas eu de limitation de la recherche par type d'article. Les langues des articles ont été limitées au français et à l'anglais. Les articles ont été retenus lorsqu'ils décrivaient un ou plusieurs cas de diabète lié à une mutation de l'ADNmt autre que la mutation m.3243 A>G. N'ont pas été pris en compte les articles rapportant des cas de diabète dans le cadre des syndromes de Kearns-Sayre, de Pearson, MERFF et de Wolfram.

## 2.2. Étude de cas

L'étude de cas a concerné des patients extraits de la cohorte du Réseau Français sur les Maladies Mitochondriales ayant fait l'objet de l'étude *princeps* multicentrique « Prevalence of rare mitochondrial DNA mutations in mitochondrial disorders » ayant concerné 743 patients, publiée en 2013 dans le *Journal of Medical Genetics* par l'équipe du Professeur Véronique Paquis en collaboration avec de nombreux généticiens français (4).

L'objectif de cette étude *princeps* était de connaître la prévalence des mutations rares de l'ADNmt dans la population suspecte de maladie mitochondriale et les phénotypes associés.

Les critères d'inclusion des patients étaient :

- Signes cliniques évocateurs de maladie mitochondriale

- Absence de délétion de l'ADNmt et absence des mutations ponctuelles communes (m.3243 A>G, m.8344 A>G, m.8993 T>C/G)
- +/- Bilan métabolique évocateur d'une atteinte de la chaîne respiratoire mitochondriale
- +/- Déficit d'un ou plusieurs complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale sur un prélèvement tissulaire
- +/- Analyse histologique de biopsie musculaire en faveur d'une pathologie mitochondriale

Les analyses génétiques de l'ADNmt ont consisté en :

- Une analyse exhaustive de l'ADNmt par *Surveyor* à la recherche de mutations hétéroplasmiques
- En l'absence de mutation retrouvée, une analyse par *Mitochip* à la recherche de mutations homoplasmiques

Les mutations retrouvées chez les patients ont fait l'objet d'une étude *in silico* à partir de bases de données (études fonctionnelles avec Polyphen 2 et SIFT, présence dans MITOMAP Database et mtDB Database) permettant d'évaluer leur potentiel de pathogénicité. La conservation phylogénétique de la base concernée par la mutation a aussi été prise en compte. Les polymorphismes connus ont été exclus de l'étude.

A partir de cette cohorte, notre travail a consisté à extraire les patients présentant un diabète, puis à analyser leur phénotype en termes d'hérédité, d'atteintes associées et de caractéristiques du diabète. Les données ont été issues de la base de donnée de l'étude *princeps* et d'un questionnaire envoyé par mail aux médecins référents des patients étudiés

(génétiens, médecins traitants et/ou diabétologues selon les informations disponibles). Ce questionnaire (*annexe 1*) sollicitait des informations concernant :

- Le diagnostic du diabète : âge, mode de découverte, IMC, glycémie à jeun, HbA1c, résultats du test d'hyperglycémie provoquée par voie orale à 75 grammes de glucose, insulïnémie et dosage du peptide C à jeun et en post-prandial (évaluation de la sécrétion résiduelle endogène d'insuline), présence de stigmates d'auto-immunité (anticorps anti GAD et/ou anti IA2) ;
- Le traitement : traitement au diagnostic puis au cours de l'évolution, âge et données biologiques à l'instauration de l'insuline ;
- Les complications du diabète : données des analyses ophtalmologiques et rénales ;
- Les comorbidités présentées par le patient : hypertension artérielle, dyslipidémie, surdité (et caractéristiques), myopathie, atteinte neurologique, autres atteintes ;
- Les données aux dernières nouvelles : âge, HbA1c, traitement.

Ce questionnaire était complété par un des médecins référents contact s, puis retourné par mail, fax ou courrier postal à notre intention.

### **2.3. Traitement des données**

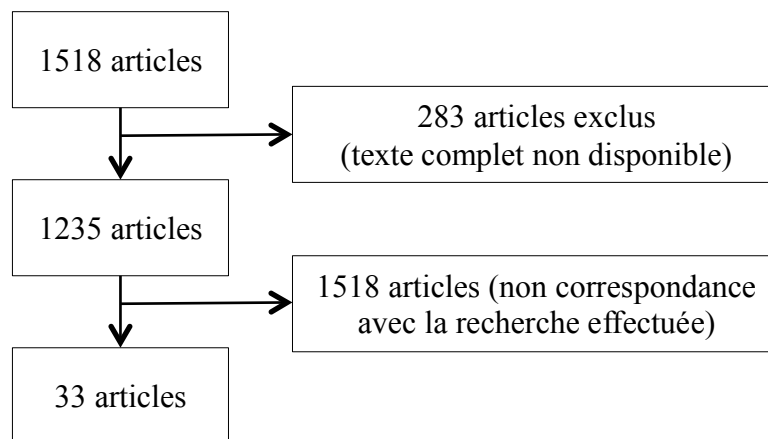
Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Excel<sup>®</sup>, et sur le site BiostaTGV (<http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=tests>) pour les calculs du test statistique du Chi2 avec correction de Yates. Le seuil de significativité statistique retenu a été fixé à  $p < 0,05$ .

Les variables qualitatives ont été exprimées en pourcentage et accompagnées de leurs effectifs. Les données quantitatives ont été présentées avec leur moyenne et leur écart-type, +/- leur médiane.

### 3. Résultats

#### 3.1. Revue de la littérature

La recherche bibliographique a retrouvé 111 articles avec les mots clés « MIDD *and* mutation », 1165 articles avec les mots clés « mitochondrial diabetes *and* mutation » et 242 articles avec les mots clés « maternally inherited diabetes *and* mutation », soit au total 1518 articles à analyser. Parmi ces articles, 283 ont été exclus de l'étude car l'article complet n'était pas disponible. 1202 autres ont été exclus car ils ne décrivaient pas un ou des cas clinique(s) correspondant au sujet de notre étude. Au total, 33 articles ont été retenus pour l'analyse de la littérature. Le *flow chart* de la recherche bibliographique est représenté dans la *figure 4*.



*Figure 4 : Flow chart de la recherche bibliographique*

Les résultats de la revue de la littérature sont présentés dans le *tableau 4*.

Mutation		Publication	Age (ans)	Sexe	Hérédité maternelle	Phénotype clinique							
Changement de nucléotide	Changement d'acide aminé (Gène)					Diab (âge)	Surdité (âge)	DMR (âge)	Myopathie (âge)	Cardiopathie (âge)	Neuropathie (âge)	Autre atteinte (âge)	
3156 A>G homoplasmique	(ARNr 16S)	Ohkubo, 2001 (50)	45	♀	+	ID	-	-	-	-	-	-	-
3252 A>G hétéroplasmique	(ARNt Leu)	Morten, 1993 (44)				+	+	+	+	+	+	+	+
3256 C>T hétéroplasmique	(ARNt Leu)	Hirai, 1998 (26)	54	♀	+	NID (44)	+	-	Atrophie musculaire	-	-	-	-
3260 A>G hétéroplasmique	(ARNt Leu)	Zeviani, 1991 (81)	30	♂	+	ID (21)	-	-	Hypertrophie et faiblesse musculaire	Hypertrophie concentrique non-obstructive du ventricule gauche	-	-	Cataracte bilatérale
3264 T>C hétéroplasmique	(ARNt Leu)	Suzuki, 1997 (66)	64	♂	+	ID (50)	+	-	Ptosis	Hypertrophie ventriculaire gauche	Paralysie faciale bilatérale (59) Ataxie cérébelleuse (63) Ophthalmoplogie (64)	-	Lipomes (59)
3271 T>C hétéroplasmique	(ARNt Leu)	Suzuki, 1996 (67) Tsukuda, 1997 (73) Suzuki, 2002 (68)	39	♂	+	NID	-	-	-	-	-	-	-
3310 C>T hétéroplasmique	Non syn Pro-Ser (ND1)	Hattori, 2003 (25) Hattori, 2005 (24)	57	♂	+	NID	-	-	-	Cardiomyopathie hypertrophique	Retard mental	-	Hémodialyse pour insuffisance rénale chronique terminale
3316 G>A homoplasmique	Non syn Ala-Thr (ND1)	Nakano, 1998 (46) Odawara, 1996 (49)	49	♀	+	ID	-	-	-	-	-	-	-
			44	♀	+	NID	+	-	-	-	-	-	-
			59	♂		NID	+	-	-	-	-	-	-
			61	♀		NID	+	-	-	-	-	-	-

Mutation		Publication	Age (ans)	Sexe	Hérédité maternelle	Phénotype clinique								
Changement de nucléotide	Changement d'acide aminé (Gène)					Diab (âge)	Surdité (âge)	DMR (âge)	Myopathie (âge)	Cardiopathie (âge)	Neuropathie (âge)	Autre atteinte (âge)		
3421 G>A homoplasmique	Non syn Val-Ile (ND1)	Chen, 2006 (10)	50	♀	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4289 T>C hétéroplasmique	(ARNt Ile)	Blakely, 2013 (7)	47	♀	-	-	+	(11)	Dysphagie	-	-	Déficit cognitif (15) Ataxie (20)	-	-
8296 A>G hétéroplasmique	(ARNt Lys)	Kameoka, 1998 (30)			+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
8344 A>G hétéroplasmique	(ARNt Lys)	Whittaker, 2007 (79)			+	+	-	-	Ptosis	-	-	Dysarthrie Ataxie cérébelleuse	-	-
		Suzuki, 1994 (64)		♂	+	+	-	-	Atrophie et faiblesse musculaire Convulsions myocloniques (41)	-	-	-	-	Atrophie optique
8356 T>C hétéroplasmique	(ARNt Lys)	Sano, 1996 (59)		♀	+	+	-	-	-	-	-	Démence Migraines AVC	-	Acidose lactique
8381 A>G homoplasmique	Non syn Thr-Ala (ATPase 8)	Perucca, 2000 (54)			+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
9267 G>C hétéroplasmique	Non syn Ala-Pro (COIII)	Tabebi, 2015 (69)	21	♀	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Néphropathie HTA
10003 T>C homoplasmique	(ARNt Gly)	Liu, 2015 (33)	70	♀	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
12258 C>A hétéroplasmique	(ARNt Ser)	Whittaker, 2007 (79)			+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lynn, 1998 (34) Choo-Kang, 2002 (12)	61	♀	+	+	-	-	Faiblesse musculaire	-	-	Dysarthrie	-	Constipation modérée Cataracte (30)
						+	+	-	-	-	-	Ataxie cérébelleuse (57)	-	



Mutation		Publication	Age (ans)	Sexe	Hérédité maternelle	Phénotype clinique						
Changement de nucléotide	Changement d'acide aminé (Gène)					Diab (âge)	Surdité (âge)	DMR (âge)	Myopathie (âge)	Cardiopathie (âge)	Neuropathie (âge)	Autre atteinte (âge)
12317 T>C hétéroplasmique	(ARNt Leu)	Blakely, 2013 (7)		♂	-	NID (30)	-	-	Ptosis bilatéral CPEO Myopathie proximale (48) Intolérance à l'effort	Dysfonction ventriculaire gauche (60)	-	-
14577 T>C hétéroplasmique	Non syn Ile-Val (ND6)	Tawata, 2000 (70)	69	♀	+	NID (47)	-	-	-	-	-	-
14709 T>C hétéroplasmique	(ARNt Glu)	Hao, 1995 (23) Violettes, 1997 (77) Mezghani, 2010 (43) Damore, 1999 (13) Choo-Kang, 2002 (12) Hanna, 1995 (22) Rigoli, 2001 (57)	29 47	♂ ♂	- +	ID (29) NID (30) +	- + -	- + -	Intolérance à l'exercice (27) Myopathie sévère -	- - -	- - -	- - HTA
<u>Délétion simple</u>		Whittaker, 2007 (79) (x 4)	68 50 10	♀ ♀ ♂	+	ID NID (45) ID (8)	- - +	- - (5)	Myopathie Myopathie -	- - -	- - -	- - -
6530-13831 (7301 pdb)		De Block, 2004 (14)	27	♀		ID (27)	+	+	CPEO	Bloc conducteur	Ataxie cérébelleuse	Fatigue Puberté retardée Aménorrhée primaire Ostéoporose

Mutation		Publication	Age (ans)	Sexe	Hérédité maternelle	Phénotype clinique							
Changement de nucléotide	Changement d'acide aminé (Gène)					Diab (âge)	Surdité (âge)	DMR (âge)	Myopathie (âge)	Cardiopathie (âge)	Neuropathie (âge)	Autre atteinte (âge)	
<u>Délétion unique</u> 8.5 kb hétéroplasmique		Souied, 1998 (61)	17	♀		ID (16)	+ (9)	+ (17)	-	-	-	-	Cataracte (17) Parotidite chronique Dépression modérée
10.4 kb hétéroplasmique		Ballinger, 1992 (2)		♂	+	ID	+	-	-	-	-	-	HTA modérée
<u>Délétions multiples</u>		Whittaker, 2007 (79)				+	+	-	Ptosis CPEO	-	-	Ataxie Dysarthrie	-

Diab = diabète, DMR = dystrophie maculaire réticulée, NID = non insulino-dépendant, ID = insulino-dépendant, AVC = accident vasculaire cérébral, CPEO = ophtalmoplégie externe chronique progressive, HTA = hypertension artérielle, pdb = paires de bases, kb = kilo-bases, non syn = non synonyme

*Tableau 4 : Résultats de la revue de la littérature sur les mutations de l'ADNmt associées au diabète mitochondrial (hors 3243 A>G)*

Cette revue de la littérature rapporte donc 40 cas. Sur les 40 patients, 32 (80%) sont porteurs d'une mutation ponctuelle et 8 (20%) sont porteurs d'une délétion. Vingt mutations ponctuelles différentes sont retrouvées chez ces 32 patients, dont 14 concernent des ARNt, ce qui confirme que ces gènes (notamment l'ARNt Leu et l'ARNt Glu) sont des *hotspot* pour les mutations associées au diabète mitochondrial. Par ordre de fréquence, c'est la mutation m.14709 T>C qui est retrouvée en deuxième place après la mutation en position m.3243.

En ce qui concerne les délétions, sept patients présentent une délétion unique et un patient est décrit avec des délétions multiples.

Une hérédité maternelle est retrouvée dans 24 cas sur 27 (89%) et absente dans 3 cas sur 27 (donnée non précisée dans les 13 cas restants). L'âge moyen d'apparition du diabète dans cette revue de la littérature (sachant que l'âge était précisé dans 15 cas sur 40) est de 31 ans (médiane : 30 ans, écart type : 15,8 ans). Le sex ratio retrouve 16 femmes pour 11 hommes (sexe non précisé dans 13 cas sur 40).

Compte-tenu du très faible nombre de patients concernés par une délétion, la comparaison en terme d'hérédité maternelle, d'âge moyen et de sex ratio entre les patients porteurs d'une mutation ponctuelle et ceux porteurs d'une délétion n'a pas été faite.

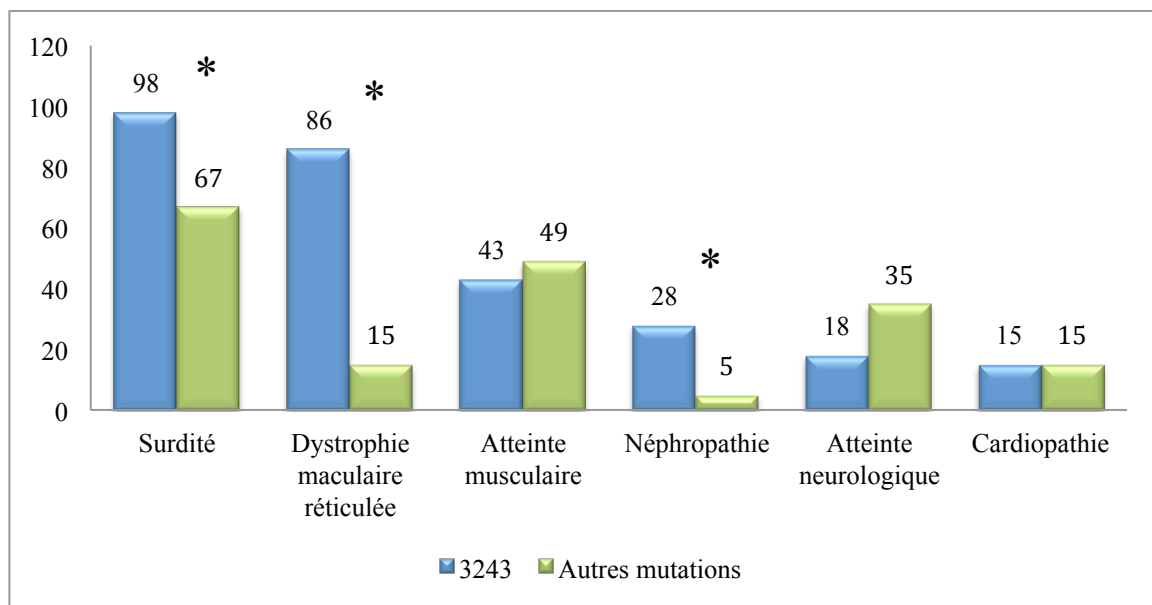
A noter que dans une publication est retrouvée la présence d'auto-anticorps habituellement impliqués dans le diabète de type 1 (73).

Sur le plan phénotypique, le diabète est isolé dans 4 cas sur 40 (10%), et associé uniquement à une surdité dans 8 cas sur 40 (20%). Les atteintes associées au diabète sont réparties ainsi:

- Surdité : présente dans 26 cas sur 39 (66,7%), absente dans 13 cas sur 39, non précisée dans 1 cas sur 40
- Dystrophie maculaire réticulée : présente dans 6 cas sur 39 (15,4%), absente dans 33 cas sur 39, non précisée dans 1 cas sur 40

- Atteinte musculaire : présente dans 19 cas sur 39 (48,7%), absente dans 20 cas sur 39, non précisée dans 1 cas sur 40
- Néphropathie : présente dans 2 cas sur 40 (5%), absente dans 38 cas sur 40
- Atteinte neurologique : présente dans 14 cas sur 40 (35%), absente dans 26 cas sur 40
- Cardiopathie : présente dans 6 cas sur 39 (15,4%), absente dans 33 cas sur 39, non précisée dans 1 cas sur 40

La comparaison de la fréquence des atteintes associées au diabète dans cette revue de la littérature avec la fréquence des atteintes associées au diabète dans le MIDD lié à la mutation 3243 (d'après l'étude du GEDIAM (21)) montre que les signes musculaires ( $p=0.75$ ) et surtout les signes neurologiques ( $p=0.099$ ) ont tendance à être plus fréquents dans les mutations rares (*figure 5*). Par ailleurs, la surdité est significativement moins fréquente dans les mutations rares que dans la mutation 3243 ( $p=9.8E-5$ ), de même que la dystrophie maculaire réticulée ( $p=1.9E-10$ ) et la néphropathie ( $p=0.01$ ).



*Figure 5 : Fréquence (en %) des atteintes associées au diabète en cas de mutation en position 3243 par rapport aux autres mutations (\*  $p < 0,05$ )*

## **3.2. Étude de cas**

### **3.2.1. Caractéristiques phénotypiques des diabètes liés à une mutation rare de l'ADNmt**

Notre étude a porté sur les dix patients diabétiques de l'étude *princeps* qui étaient porteurs d'une mutation rare de l'ADNmt pathogène ou potentiellement pathogène.

#### **3.2.1.1. Caractéristiques générales**

Les caractéristiques générales des 10 patients diabétiques porteurs d'une mutation sont décrites dans le *tableau 5* (sexe, âge de début des symptômes, histoire familiale de maladie mitochondriale, phénotype clinique, résultats des examens complémentaires d'imagerie et de biologie).

Le sex ratio était de 5 hommes pour 5 femmes. Des antécédents familiaux évocateurs d'une maladie mitochondriale et respectant la transmission matrilineaire étaient présents chez 4 patients, absents chez 5 patients et non précisés pour le dixième patient. Les premiers signes cliniques de maladie mitochondriale sont apparus avant l'âge de 1 an chez deux patients sur 10, entre 1 et 16 ans chez un patient sur 10 et après 16 ans chez 6 patients sur 10 (donnée non disponible pour un patient sur 10).

Patient	Mutation	Sexe	Age de début des symptômes	Histoire familiale de maladie mitochondriale	Phénotype clinique	IRM cérébrale	Biologie spécifique *	Histologie musculaire	Enzymologie
1	MT-TSI m.7472 InsC	F	Adulte	Donnée non disponible	Syndrome extra pyramidal Myopathie Myalgies Diabète non insulino-dépendant	Non faite	Non faite	Fibres ragged-red Fibres Cox négatives (25%)	Normale (muscle)
2	MT-TK m.8362 T>G	F	Adulte	Mère, frère et cousins maternels	Ataxie Surdité Diabète non insulino-dépendant Lipomes	Non faite	Non faite	Non faite	Non faite
3	MT-ND6 m.14535_14536 InsC	H	Adulte	Diabète chez la mère, diabète et surdité chez le frère	Diabète insulino-dépendant Surdité de perception bilatérale	Non faite	Non faite	Non faite	Déficit du complexe I (fibroblastes)
4	MT-TE m.14724 G>A	H	Enfance	Ptois chez la grand mère maternelle, la tante maternelle et les cousins maternels Surdité chez la mère	Ataxie Epilepsie Faiblesse musculaire Glomérulosclérose segmentaire et focale Dystrophie maculaire réticulée Surdité Diabète non insulino-dépendant Diarrhées	Leucodystrophie Atrophie cérébelleuse, corticale et supratentorielle Leucopathie postérieure	Hyper lactacidémie	Fibres ragged-red Accumulation de mitochondries	Non faite
5	MT-ND1 m.3395 A>G	F	Adulte	Absente	Myopathie Ophtalmoplogie externe chronique progressive Myalgies Ptois Cardiomyopathie hypertrophique Surdité de perception bilatérale Diabète non insulino-dépendant	Non faite	Non faite	Fibres ragged-red Fibres Cox négatives	Normale (fibroblastes)
6	MT-RNR1 m.1151 C>A	F	Petite enfance (avant 1 an)	Absente	Insuffisance cardiaque Insuffisance hépatique Insuffisance rénale terminale Dystrophie maculaire réticulée Retard de croissance post-natal Diabète insulino-dépendant Pancytopenie	Normale	Non faite	Non faite	Déficit multiple (rein) Normale (muscle)

Patient	Mutation retrouvée	Sexe	Age de début des symptômes	Histoire familiale de maladie mitochondriale	Phénotype clinique	IRM cérébrale	Biologie spécifique	Histologie musculaire	Enzymologie
7	MT-TF m.645 A>G	H	Donnée non disponible	Absente	Myopathie biologique Dystrophie maculaire réticulée Surdité Diabète insulino-dépendant	Non faite	Non faite	Non faite	Non faite
8	MT-ATP6 m.9193 C>T  MT-RNR2 m.2961 C>T	H	Petite enfance (avant 1 an)	Absente (A noter : notion de consanguinité)	Retard psycho-moteur Ataxie Encéphalopathie Myopathie Hypotonie Ophtalmoplégie externe chronique progressive Cardiomyopathie hypertrophique Diabète insulino-dépendant	Normale	Normale	Fibres ragged-red Fibres Cox négatives	Déficit du complexe I (muscle)
9	MT-ND2 m.4560 G>A	F	Adulte	Diabète chez la mère et la grand-mère maternelle Surdité chez la soeur et la nièce	Myopathie et faiblesse musculaire Dystrophie maculaire réticulée Surdité unilatérale Diabète insulino-dépendant	Non faite	Non faite	Fibres ragged-red Fibres Cox négatives	Déficit multiple (muscle)
10	MT-ND2 m.4768 T>C	H	Adulte	Absente	Neuropathie périphérique Ophtalmoplégie externe chronique progressive Ptosis Diabète non insulino-dépendant Polyglobulie de Vaquez	Non faite	Non faite	Fibres ragged-red Fibres Cox négatives (30%) Accumulation de mitochondries	Normale (muscle)

\* Biologie spécifique : dosage des lactates, du pyruvate, de l'hydroxy-butyrate, de l'acéto-acétate

*Tableau 5 : Description des caractéristiques phénotypiques générales des patients diabétiques porteurs d'une mutation rare de l'ADNmt*

### 3.2.1.2. Caractéristiques du diabète

Les données concernant le diabète (*annexe 1*) ont été obtenues pour 6 patients sur 10, dont les cas sont détaillés ci-dessous.

✓ **Patient 3** : (3)

***Mutation MT-ND6 m.14535\_14536 InsC (hétéroplasmique pathogène validée)***

Chez ce patient actuellement âgé de 76 ans, le diabète a été diagnostiqué à l'âge de 45 ans de façon fortuite au cours d'une visite à la médecine du travail. Il n'y avait aucun symptôme évocateur de diabète, et l'absence de contexte de surpoids (IMC au diagnostic mesuré à 22,5 kg/m<sup>2</sup>). Les antécédents familiaux comportaient un diabète chez sa mère et un tableau de diabète et surdité chez son frère. Les paramètres biologiques initiaux tels que la glycémie à jeun et l'HbA1c n'étaient pas disponibles. Il n'était pas retrouvé de stigmates d'auto-immunité tels que les anticorps anti-GAD et anti-IA2.

Le traitement initial était composé d'antidiabétiques oraux (non précisés), avec passage à une insulinothérapie à l'âge de 69 ans, soit au bout de 24 années d'évolution du diabète, en raison d'un mauvais contrôle de l'HbA1c. Cette insulinothérapie comportait initialement deux injections d'insuline NPH, mais a dû être intensifiée à raison de trois injections d'insuline prémix (Lispro/NPH 50/50 matin et midi et 25/75 le soir) en raison d'une HbA1c plafonnant à 9%.



Le bilan récent des complications du diabète objectivait une rétinopathie diabétique minime, et l'absence d'argument pour une néphropathie diabétique (clairance MDRD = 86 ml/min, microalbuminurie < 2 mg/24h) ou une neuropathie diabétique.

Le patient présentait également une surdité bilatérale prédominant sur les hautes fréquences, nécessitant un appareillage permanent. En revanche, il n'y avait aucune atteinte neuromusculaire, ni de signe de dystrophie maculaire réticulée.

Aux dernières nouvelles, ce patient de 76 ans avait un diabète relativement bien contrôlé (HbA1c = 7,6%) sous trois injections d'insuline prémix (Lispro/NPH 50/50 16U le matin et 16U le midi, et Lispro/NPH 25/75 30U le soir, soit au total 0,9 U/kg/jour).

Sur le plan génétique, chez ce patient, il faut noter que la mutation hétéroplasmique m.14535\_14536 InsC était favorisée par la présence du polymorphisme homoplasmique m.14530 T>C responsable d'une instabilité génétique par la formation d'une queue poly-C.

✓ **Patiente 5 :**

***Mutation MT-ND1 m.3395 A>G (homoplasmique pathogène validée)***

Chez cette patiente actuellement âgée de 61 ans, le diabète a été découvert fortuitement à l'âge de 53 ans sur un bilan biologique de routine retrouvant une glycémie à jeun à 1,46 g/l et une HbA1c à 5,4%, dans un contexte d'obésité sévère (IMC à 36,7 kg/m<sup>2</sup>). Les auto-anticorps n'ont pas été dosés devant la forte suspicion clinique de diabète de type 2, malgré l'absence d'antécédents familiaux de diabète.

Le traitement initial a consisté en la mise en place de règles hygiéno-diététiques. A 3 ans du diagnostic, elles se sont révélées insuffisantes et un traitement par inhibiteur de la DPP4 (sitagliptine 100mg par jour) a été initié. En raison d'une mauvaise tolérance (sans précision), ce traitement a été remplacé par un sulfamide hypoglycémiant (gliclazide 30mg par jour). Puis le traitement a été renforcé avec l'ajout d'un analogue du GLP1 (liraglutide 1,2mg par jour) devant un mauvais contrôle de l'HbA1c.

Sur le plan des complications microvasculaires du diabète, il n'y avait pas de rétinopathie diabétique, de neuropathie diabétique ni de néphropathie diabétique (clairance MDRD = 76,7 ml/min, microalbuminurie = 10,8 mg/24h).

Le tableau clinique comportait également un syndrome métabolique avec hypertension artérielle et dyslipidémie, ainsi que des signes de cytopathie mitochondriale principalement neuromusculaires (myopathie, myalgies, ptosis, ophtalmoplégie externe chronique progressive, cardiomyopathie hypertrophique avec FEVG à 71%) et une surdité bilatérale neurosensorielle.

Aux dernières nouvelles, cette patiente de 61 ans présentait un bon contrôle du diabète (HbA1c = 7,1%) sous bithérapie antidiabétique (gliclazide 30mg par jour + liraglutide 1,2mg par jour). L'évolution pondérale a également été favorable, avec un IMC actuel à 27,6 kg/m<sup>2</sup> contre 36,7 kg/m<sup>2</sup> lors du diagnostic.

✓ **Patiente 6 :**

***Mutation MT-RNR1 m.1151 C>A (hétéroplasmique probablement pathogène)***

Cette jeune patiente est le deuxième enfant d'un couple d'origine caucasienne sans consanguinité. Son frère aîné est en bonne santé. La patiente est née prématurée à 34 semaines d'aménorrhées et cinq jours sur rupture de la poche des eaux, APGAR 10/10/10 (poids de naissance 2000 grammes, taille 45cm, périmètre crânien 32cm). Ses problèmes de santé se sont initialement manifestés par une cassure de la courbe pondérale dès l'âge de 1 an, puis staturale 6 mois plus tard, qui ont conduit au diagnostic d'insuffisance rénale sévère à l'âge de 2 ans, sans étiologie déterminée à l'époque. Cette insuffisance rénale a été rapidement évolutive puisqu'elle a nécessité de débiter les dialyses un mois après le diagnostic. La ponction biopsie rénale était en faveur d'une néphrite tubulo-interstitielle chronique. Dès l'âge de 2 ans, l'analyse ophtalmologique montrait des signes de dystrophie maculaire réticulée débutante ; en revanche les potentiels évoqués auditifs ont toujours été normaux. A l'âge de trois ans sont apparus des signes neurologiques à type de crises convulsives, une hypertriglycémie importante et une pancytopenie par insuffisance médullaire.

Le diagnostic de diabète a été posé à l'âge de 3 ans et 2 mois (glycémie = 2,88 g/l, HbA1c = 5,6%) au décours immédiat d'une pancréatite aiguë sur hypertriglycémie importante (triglycérides = 6,36 g/l) favorisée par la nutrition entérale. Dans le même temps ont été diagnostiquées une hypertension artérielle pulmonaire sévère et une insuffisance hépatique.

Le tableau clinique de cette jeune patiente était donc dominé par une atteinte multi-systémique prédominant sur le rein, le pancréas, le foie et la moelle osseuse. Devant la forte suspicion de cytopathie mitochondriale, un traitement par vitamine E, vitamine K, vitamine C,

biotine (vitamine B8), thiamine (vitamine B1), riboflavine (vitamine B2) et co-enzyme Q10 a été débuté.

Concernant le traitement du diabète, l'insulinothérapie a été débutée d'emblée, initialement par une injection le soir d'insuline détémir (analogue d'action lente) à raison de 6 unités par jour (0,55 unités/kilo/jour) pour couvrir l'alimentation entérale nocturne. Après quatre mois de traitement, en raison d'un déséquilibre glycémique important lié à une alimentation orale et entérale très variable, la patiente a été mise sous infusion insulinique sous-cutanée en ambulatoire. Le débit de base initiale variait entre 0,30 et 0,35 unités/heure, soit environ 1 unité/kg/jour. Des bolus pour les repas étaient réalisés en fonction de la glycémie préprandiale et de la consommation de glucides selon le protocole suivant :

- Correction : 0,2 unités si glycémie > 2g/l, 0,3 unités si glycémie > 3 g/l, 0,4 unités si glycémie > 4 g/l
- Repas : 0,1 unité pour 10 grammes de glucides

L'état neurologique de la patiente s'est rapidement dégradé, avec l'augmentation de fréquence des épisodes convulsifs et un accident vasculaire cérébral ischémique à l'âge de 3 ans et demi. Le décès est survenu à l'âge de 4 ans sur l'aggravation de l'état neurologique et de l'hypertension artérielle pulmonaire responsable d'un arrêt cardiaque avec anoxie cérébrale sur bas débit systémique persistant. La dernière HbA1c était alors dosée à 5,6%.

✓ **Patient 7 :**

***Mutation MT-TF m.645 A>G (hétéroplasmique probablement pathogène)***

Chez ce patient actuellement âgé de 75 ans, le diabète a été diagnostiqué à l'âge de 29 ans devant un syndrome cardinal (syndrome polyuro-polydipsique et amaigrissement de 6

kilogrammes en quelques mois) avec un poids normal au moment du diagnostic (IMC = 21,8 kg/m<sup>2</sup>). La glycémie à jeun et l'HbA1c au diagnostic n'étaient pas précisées. Malgré une présentation clinique évoquant un diabète de type I, les anticorps anti-GAD et anti-IA2 étaient négatifs.

Le traitement initial par antidiabétiques oraux s'est révélé rapidement insuffisant, avec une évolution vers l'insulino-requérance au bout d'un an. Une injection par jour d'insuline lente a permis de maintenir un bon équilibre du diabète pendant 25 ans (avec même de fréquents épisodes de rupture thérapeutique de plusieurs semaines sans décompensation aiguë). L'insulinothérapie a ensuite été modifiée, avec arrêt de l'insuline lente et introduction de 3 injections d'insuline rapide au moment des repas, puis la reprise de deux injections d'insuline NPH en plus des trois injections d'insuline rapide au bout de 31 ans de diabète.

A l'âge de 45 ans, le diagnostic de dystrophie maculaire réticulée a été réalisé au cours du bilan ophtalmologique annuel de surveillance du diabète, mais sous une forme atrophique inhabituelle et responsable d'une baisse importante de l'acuité visuelle (3/10 à l'œil droit au diagnostic à l'âge de 45 ans, 1/20 à l'œil droit à l'âge de 75 ans). Par ailleurs, ce patient présentait une surdité bilatérale neurosensorielle prédominant sur les hautes fréquences et une myopathie asymptomatique mais biologique avec une augmentation des CPK   2 à 3 fois la limite supérieure de la normale. En revanche, il ne rapportait pas de symptômes neurologiques. Ses antécédents étaient également marqués par une hypercholestérolémie et une coronaropathie ayant bénéficié d'une angioplastie de la coronaire droite et de la marginale à l'âge de 60 ans.

Aux dernières nouvelles, le diabète de ce patient de 75 ans était bien équilibré (HbA1c = 7%) avec deux injections de NPH (8 unités le matin et 8 unités le soir) et deux injections d'analogue rapide (2 unités le midi et 4 unités le soir), soit une dose cumulée de 0,3 unités/kg par jour. L'IMC était à 22,4 kg/m<sup>2</sup>. Il n'y avait pas de complication microangiopathique au dernier bilan malgré 46 ans de diabète (pas de rétinopathie diabétique au fond d'œil, bilan rénal normal avec clairance MDRD = 71 ml/min et microalbuminurie = 18,7 mg/l).

✓ **Patient 8 :**

*Mutation MT-ATP6 m.9193 C>T (homoplasmique probablement pathogène)*

*ET*

*Mutation MT-RNR2 m.2961 C>T (homoplasmique, probable polymorphisme)*

Chez ce patient actuellement âgé de 14 ans, le diagnostic de diabète a été posé à l'âge de 3 mois et demi dans un contexte de déshydratation et de stagnation pondérale. L'hyperglycémie au diagnostic était majeure, avec une glycémie à jeun à 6,3 g/l et une HbA1c à 8,4%. Les anticorps anti-GAD et anti-IA2 étaient absents. Les dosages d'insulinémie et de peptide C à jeun et post-prandiaux étaient effondrés.

Initialement, le traitement du diabète a consisté en une insulinothérapie à la pompe sous-cutanée en ambulatoire d'emblée, avec des débits de base à 0,2 unités/h de 8h à 20h et à 0,1 unité/h de 20h à 8h, et des bolus au moment des repas de 1,8 unités par 24h, soit une dose cumulée à 1,1 unité/kilo/jour.

Le traitement par pompe a été interrompu à l'âge de 1 an et demi devant une mauvaise compréhension et gestion de la mère, et relayé par deux injections d'insuline prémix (9 unités d'insuline prémix 20/80 le matin et 5 unités d'insuline prémix 30/70 le soir), avec

augmentation des doses au fur et à mesure de la croissance. A l'âge de 7 ans, les prémix ont été stoppées au profit de deux injections d'insuline NPH (56 unités le matin et 16 unités le soir).

La suspicion de diabète mitochondrial a émergé suite au diagnostic de cardiomyopathie hypertrophique avec hypertension artérielle dans l'enfance associée à un retard psychomoteur et des atteintes neuromusculaires multiples (ataxie, encéphalopathie, myopathie, hypotonie, ophtalmoplégie externe chronique progressive).

Aux dernières nouvelles, ce patient de 14 ans présentait un diabète très mal équilibré (HbA1c = 11,5%) malgré d'importantes doses d'insuline (70 unités le matin et 16 unités le soir d'insuline NPH). Cependant, aucune complication microangiopathique de son diabète n'était retrouvée au dernier bilan (pas de rétinopathie diabétique au fond d'œil, pas d'argument pour une néphropathie diabétique [microalbuminurie = 17 mg/24h] ou une neuropathie diabétique).

✓ **Patiente 9 :**

***Mutation MT-ND2 m.4560 G>A (homoplasmique, probable polymorphisme)***

Le diagnostic de diabète a été porté chez cette patiente à l'âge de 49 ans devant un syndrome cardinal, sans précision sur le poids au diagnostic ni sur l'importance de l'hyperglycémie. Sur le plan biologique, le peptide C au diagnostic était effondré, et les anticorps anti-GAD et anti-IA2 ont été retrouvés à un titre très élevé (anticorps anti-GAD = 4178 U/ml, anticorps anti-IA2 = 189 U/ml).

Le traitement initial était composé d'une bithérapie anti-diabétique orale avec un sulfamide hypoglycémiant (glimépiride 6mg par jour) et un inhibiteur de l'alpha-glucosidase (acarbose 100mg trois fois par jour), mais l'évolution vers l'insulino-requérance s'est faite rapidement en 6 mois.

Au diagnostic de diabète, le bilan ophtalmologique ne retrouvait pas de rétinopathie diabétique au fond d'œil mais des remaniements maculaires de l'épithélium pigmentaire en faveur d'une dystrophie maculaire réticulée. Il n'y avait pas d'argument pour une néphropathie diabétique (créatininémie = 72  $\mu\text{mol/l}$ , microalbuminurie = 2 mg/24h). Par ailleurs, le tableau clinique était complété par une surdité unilatérale prédominant sur les hautes fréquences, et des myalgies avec fatigabilité à l'effort.

A noter que cette patiente présentait une histoire familiale fortement évocatrice de maladie mitochondriale : surdité chez sa sœur et sa nièce, diabète non insulino-dépendant chez sa mère et sa grand-mère maternelle.

Cette patiente ayant été perdue de vue un an après le diagnostic de diabète, aucune information sur l'évolution de la maladie n'a pu être obtenue.

Les données concernant les 6 patients décrits sont résumées dans le *tableau 6*.



	Paramètres	Patient 3	Patiente 5	Patiente 6	Patient 7	Patient 8	Patiente 9
Au diagnostic du diabète	Age de survenue (ans)	45	53	3 ans et 2 mois	29	3 mois	49
	Mode de diagnostic	Médecine du travail	Découverte fortuite	Post pancréatite aiguë	Syndrome cardinal	Déshydratation et stagnation pondérale	Syndrome cardinal
	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22.5	36.7		21.8	11.2	
	Glycémie à jeun (g/l)		1.46			6.4	
Traitement	HbA1c (%)		5.4	5.6		8.4	
	Auto-anticorps (U/ml)	Négatifs			Négatifs	Négatifs	Positifs (GAD 4178, IA2 189)
	Peptide C à jeun (nmol/l)			<0.1		0.6	
	Peptide C post-prandial (nmol/l)			0.11			
Complications du diabète	Traitement initial	ADO (gliclazide)	Règles hygiéno-dietétiques pendant 3 ans	Insulinothérapie (détémir le soir)	ADO	Pompe à insuline 1.1 U/kg/jour	ADO : glimépiride + acarbose
	Délai de l'instauration de l'insuline	24 ans	Non insulino-dépendant	Au diagnostic	1 an	Au diagnostic	6 mois
	Bilan ophtalmologique	Rétinopathie diabétique modérée	Fond d'oeil normal Héméralopie	Dystrophie maculaire réticulée	Dystrophie maculaire réticulée avec baisse de l'acuité visuelle (45 ans)	Fond d'oeil normal	Dystrophie maculaire réticulée
	Créatininémie (µmol/l)	86	68	Insuffisance rénale dialysée avant le diagnostic de diabète	91	44	72
Dernières nouvelles	Clairance de la créatinine (ml/mn)	82	76.7		71		
	Microalbuminurie (mg/l)	<2	10.8	<2	18.7	17	2
	Age (ans)	76	61	Décès à l'âge de 4 ans	75	14	
	IMC				22,4		
Dernières nouvelles	Dernier traitement connu	Prémix 50 (16U le matin et le midi) + Prémix 25 (30U le soir)	Gliclazide 30 mg + Liraglutide 1.2 mg par jour	Pompe à insuline en ambulatoire (en moyenne 1U/kg/jour)	NPH (8U matin et soir) Rapide (2U le midi et 4U le soir)	NPH 70U le matin 16U le soir	
	HbA1c (%)	7.6	7.1	5.6	7.0	11.5	

ADO = antidiabétiques oraux – IMC = indice de masse corporelle – U = unités

Tableau 6 : Résumé des caractéristiques du diabète chez les patients suspects de diabète mitochondrial avec mutation rare de l'ADNmt

### 3.2.1.3. Atteintes associées

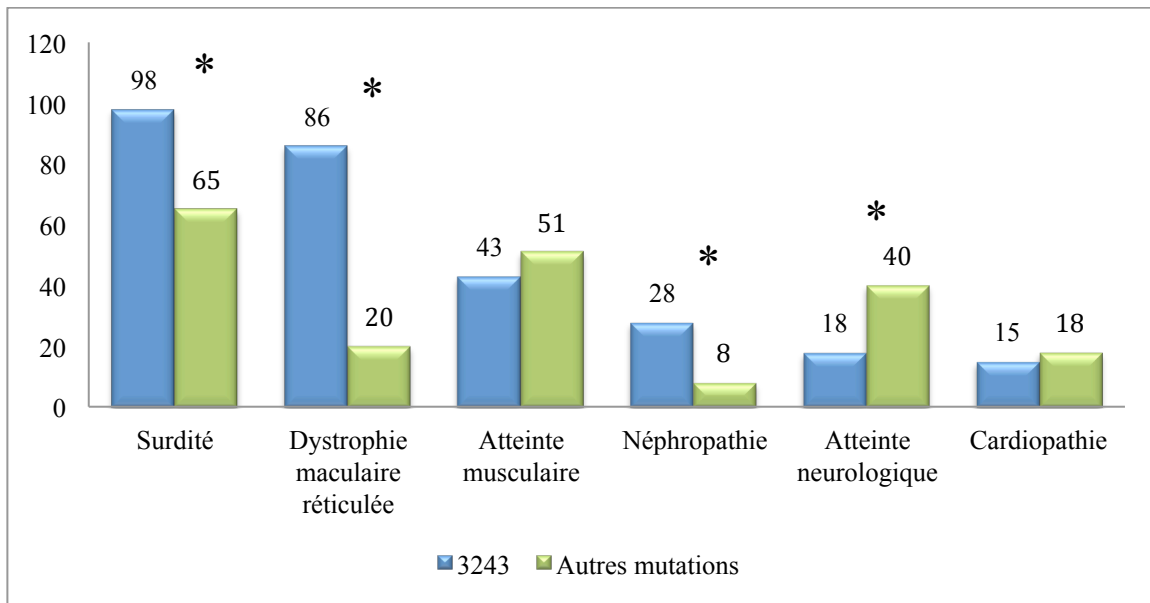
Parmi les 10 patients diabétiques porteurs d'une mutation rare de l'ADNmt, un seul présentait un tableau de diabète et surdité s'apparentant au classique MIDD lié à la mutation m.3243 de l'ADNmt. Les 9 autres patients présentaient un tableau multi-systémique au sein duquel le diabète apparaissait au second plan d'une atteinte neuro-musculaire plus ou moins sévère.

Chez ces 10 patients, les atteintes associées au diabète étaient réparties comme tel :

- Surdité : présente dans 6 cas sur 10 (60%), absente dans 4 cas sur 10
- Dystrophie maculaire réticulée : présente dans 4 cas sur 10 (40%), absente dans 6 cas sur 10
- Atteinte musculaire : présente dans 6 cas sur 10 (60%), absente dans 4 cas sur 10
- Néphropathie : présente dans 2 cas sur 10 (20%), absente dans 8 cas sur 10
- Atteinte neurologique : présente dans 6 cas sur 10 (60%), absente dans 4 cas sur 10
- Cardiopathie : présente dans 3 cas sur 10 (30%), absente dans 7 cas sur 10

Les atteintes les plus fréquentes étaient donc les signes neurologiques et musculaires ainsi que la surdité, suivis de l'atteinte ophtalmologique. Les patients porteurs d'une atteinte multi-systémique comptaient entre deux et six organes ou systèmes atteints en plus du diabète (moyenne = 3,5 ; écart-type = 1,6).

L'ajout de nos dix patients à ceux de la revue de la littérature permet de recalculer la fréquence des atteintes associées au diabète en cas de mutation en position 3243 par rapport aux autres mutations (*figure 6*).



*Figure 6 : Fréquence (en %) des atteintes associées au diabète en cas de mutation en position 3243 par rapport aux autres mutations (\*  $p < 0,05$ )*

Ainsi, avec l'augmentation de l'effectif du groupe des mutations rares, la fréquence de l'atteinte neurologique devient significativement plus élevée en cas de mutations autre que la 3243 ( $p=0.024$ ). L'analyse statistique concernant les autres atteintes ne varie pas (surdité :  $p=3.7E-5$  ; dystrophie maculaire réticulée :  $p=1.6E-10$  ; néphropathie :  $p=0.018$ ), même si la différence de fréquence de l'atteinte musculaire se rapproche du seuil de significativité ( $p=0.50$  vs  $0.75$  sans prise en compte des patients de notre étude de cas).

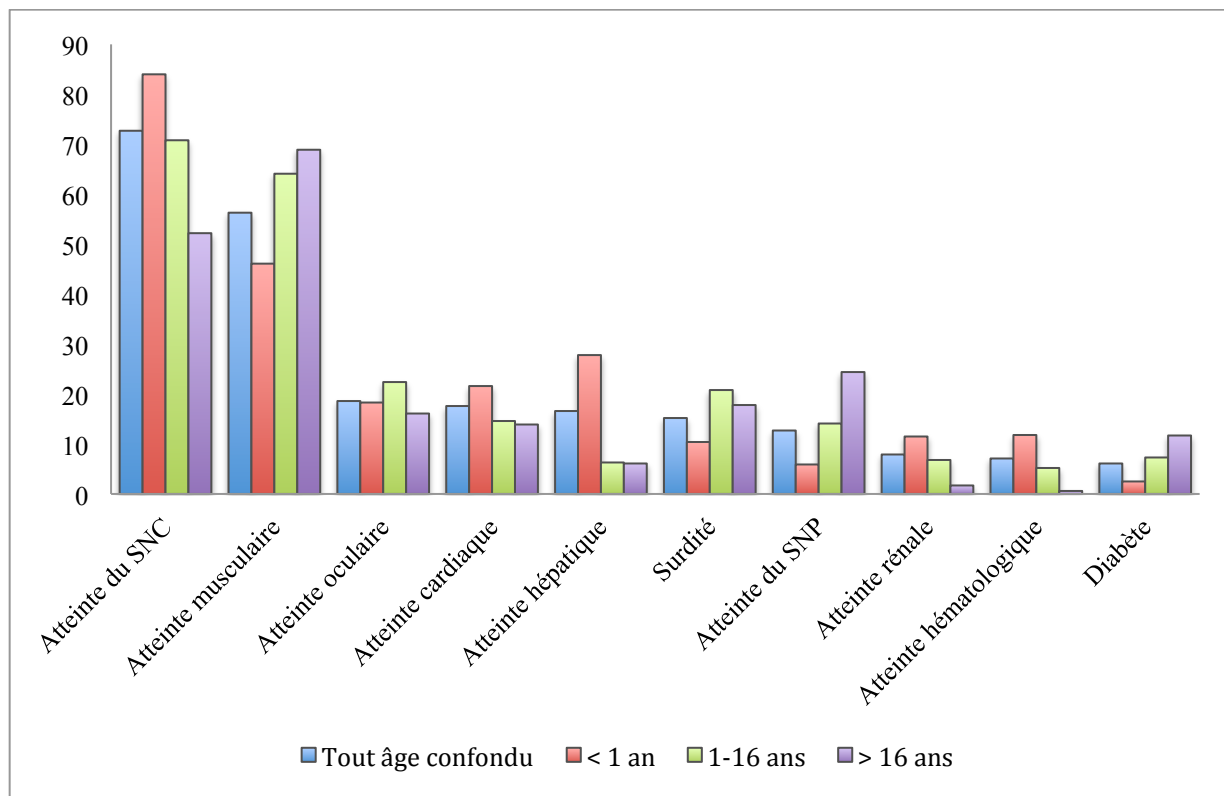
### **3.2.2 Place du diabète dans la population suspecte de maladie mitochondriale sans mutation classique de l'ADNmt**

#### **3.2.2.1 Fréquence**

L'étude *princeps* (4) avait inclus, sur une période de 3 ans, 743 patients (395 hommes et 348 femmes) suspects de maladie mitochondriale conformément aux critères d'inclusion, avec un âge moyen de 25 ans au moment de l'inclusion. La population a été divisée en trois tranches d'âge en fonction de l'âge au moment des premiers symptômes évocateurs de maladie mitochondriale (moins de 1 an, entre 1 et 16 ans, plus de 16 ans). Ces groupes comportaient respectivement 356, 192 et 180 patients (donnée non disponible pour 15 patients).

Parmi les 743 patients, 45 (6%) présentaient un diabète. L'âge moyen de cette population au moment de l'inclusion était de 46,9 ans (médiane = 50 ans, écart type = 24,9 ans, extrêmes = 4 - 91 ans). Le sex ratio n'a pas pu être déterminé (donnée manquante dans la base de données).

Si le diabète se classe dans l'étude *princeps* en dixième atteinte en termes de fréquence tout âge confondu d'apparition de la maladie, sa fréquence augmente avec l'avancée de l'âge d'apparition de la maladie (2.5% dans le groupe < 1 an, 7.3% dans le groupe 1-16 ans, 11.7% dans le groupe > 16 ans) (*figure 7*). Dans la population adulte, le diabète représente la septième atteinte la plus fréquente.



*Figure 7 : Fréquences (en %) des atteintes cliniques chez les 743 patients de la cohorte de l'étude princeps en fonction de l'âge de début des symptômes (SNC=syst me nerveux central, SNP=syst me nerveux périphérique)*

Sur les 45 patients diabétiques de l'étude, les signes de maladie mitochondriale avaient débuté avant un an chez 9 patients (20%), entre 1 et 18 ans chez 14 patients (31%) et après 18 ans chez 21 patients (47%) (donnée manquante pour 1 patient).

Ainsi, le diabète était plus fréquemment retrouvé chez les patients dont la maladie s'était déclarée à l'âge adulte. Cependant, la dispersion des âges était importante malgré un petit échantillon (pour mémoire : moyenne = 46,9 ans, médiane = 50 ans, écart type = 24,9 ans, extrêmes = 4 - 91 ans).

### 3.2.2.2 Phénotype

Parmi les 45 patients diabétiques de l'étude *princeps*, un seul présentait un diabète isolé (début dans l'enfance entre 1 et 16 ans), un autre présentait un tableau de diabète associé à une surdité isolée (début à l'âge adulte), et les 43 autres patients présentaient des atteintes multi-systémiques comprenant un diabète.

A l'inclusion dans l'étude, le diabète était insulino-dépendant dans 21 cas sur 45 (46%) et non insulino-dépendant dans les 24 autres cas sur 45 (54%).

Concernant les atteintes associées au diabète, étaient retrouvées par ordre de fréquence :

- une atteinte neurologique chez 32 patients sur 45 (71%) ;
- une surdité chez 24 patients sur 45 (53%) ;
- une atteinte musculaire chez 24 patients sur 45 (53%) ;
- une atteinte ophtalmologique (cataracte, dystrophie maculaire réticulée, atrophie optique) chez 15 patients sur 45 (33%) ;
- une cardiopathie chez 11 patients sur 45 (24%) ;
- une néphropathie chez 10 patients sur 45 (22%).

### 3.2.3. Prévalence des mutations ponctuelles rares de l'ADNmt dans cette population suspecte de maladie mitochondriale présentant un diabète

Comme exposé précédemment, parmi tous les patients diabétiques de l'étude *princeps*, 10 sur 45 (22%) étaient porteurs d'une mutation pathogène validée ou potentiellement pathogène.

Un de ces 10 patients était porteur de 2 mutations ponctuelles de l'ADNmt. Parmi les 11 mutations de notre étude de cas, aucune n'avait été retrouvée dans la revue de la littérature.

Parmi les 11 mutations retrouvées (*tableau 7*) :

- quatre étaient hétéroplasmiques pathogènes validées ;
- deux étaient hétéroplasmiques potentiellement pathogènes ;
- une était homoplasmique pathogène validée ;
- quatre étaient homoplasmiques potentiellement pathogènes.

Ces mutations impactaient :

- un ARN codant pour une protéine dans 5 cas sur 11 (dont 4 concernaient le complexe I et un concernait le complexe V de la chaîne respiratoire mitochondriale) ;
- un ARN de transfert dans 4 cas sur 11 ;
- un ARN ribosomal dans 2 cas sur 11.

Patient	MUTATION	Gène concerné	Changement d'acide aminé	MITOMAP DATABASE	POLYPHEN 2	SIFT	Fréquence dans mtDB DATABASE	CONSERVATION PHYLOGÉNÉTIQUE	STATUT	AU TOTAL
1	MT-TS1 m.7472 InsC	ARNt sérine	-	Pathogène	-	-	0	-	Hétéroplasmique (dans le muscle)	Pathogène validée
2	MT-TK m.8362 T>G	ARNt lysine	-	Pathogène	-	-	0	-	Hétéroplasmique (dans les leucocytes)	Pathogène validée
3	MT-ND6 m.14535_14536 InsC	Sous unité 6 du complexe I (NADH deshydrogenase 6)	Codon STOP	0	-	-	0	-	Hétéroplasmique (dans les fibroblastes)	Pathogène validée
4	MT-TE m.14724 G>A	ARNt acide glutamique	-	Pathogène	-	-	0	-	Hétéroplasmique (dans le muscle)	Pathogène validée
5	MT-ND1 m.3395 A>G	Sous unité 1 du complexe I (NADH deshydrogenase 1)	Tyr > Cys	Pathogène	Bénigne	Non tolérée	3	Elevée	Homoplasmiqum (dans les fibroblastes)	Pathogène validée
6	MT-RNR1 m.1151 C>A	ARNr 12S	-	0	-	-	0	Faible	Hétéroplasmique	Probablement pathogène
7	MT-TF m.645 A>G	ARNt phenylalanine	-	0	-	-	0	-	Hétéroplasmique	Probablement pathogène
8	MT-ATP6 m.9193 C>T	Sous unité 6 du complexe V	His > Tyr	0	Pathogène	Non tolérée	0	Moyenne	Homoplasmiqum	Probablement pathogène
8	MT-RNR2 m.2961 C>T	ARNr 16S	-	2	-	-	0	Faible	Homoplasmiqum	Probable polymorphisme
9	MT-ND2 m.4560 G>A	Sous unité 2 du complexe I (NADH deshydrogenase 2)	Val > Met	5	Bénigne	Tolérée	1	Faible	Homoplasmiqum	Probable polymorphisme
10	MT-ND2 m.4768 T>C	Sous unité 2 du complexe I (NADH deshydrogenase 2)	Met > Thr	1	Bénigne	Tolérée	0	Faible	Homoplasmiqum	Probable polymorphisme

*Tableau 7 : Potentiel de pathogénicité des mutations retrouvées chez les patients suspects de maladie mitochondriale*

*porteurs d'un diabète, à partir des études in silico*



## IV. DISCUSSION

Le diabète mitochondrial représente une proportion faible mais néanmoins non négligeable de la population diabétique et mérite à ce titre de l'attention. Si la mutation la plus fréquemment en cause est la mutation ponctuelle m.3243 A>G, d'autres mutations de l'ADNmt sont responsables de tableaux cliniques comprenant un diabète, mais leur place dans la pathologie mitochondriale est mal connue.

Notre étude avait pour objectif principal d'analyser les caractéristiques phénotypiques des diabètes liés à des mutations rares de l'ADNmt, dans le but de définir si le phénotype associé aux mutations rares différait de celui retrouvé en cas de mutation m.3243 A>G.

Grâce d'une part à la revue de la littérature et d'autre part à notre étude de cas, nous avons analysé le phénotype de 50 patients diabétiques porteurs d'une mutation de l'ADNmt autre que la mutation m.3243 A>G. Sur ces 50 patients, quatre seulement présentaient un diabète isolé (8%) et 9 présentaient un tableau classique de diabète associé à une surdité de transmission maternelle (18%). Les 37 autres patients présentaient des tableaux cliniques plus riches en atteintes associées au diabète. L'analyse statistique de nos données a montré que les symptômes neurologiques étaient statistiquement plus fréquents dans les mutations rares que dans la mutation 3243 ( $p=0.024$ ). Pour les atteintes musculaires se dessinait la même tendance ( $p=0.50$ ) sans que la significativité statistique ne soit atteinte, probablement en raison de la taille de notre cohorte. Ainsi, la présence de signes neurologiques dans le phénotype d'un patient suspect de diabète mitochondrial est un argument fort pour rechercher une mutation rare de l'ADNmt.

A l'inverse, la surdité, la dystrophie maculaire réticulée et la néphropathie étaient statistiquement moins fréquentes en cas de mutation rare qu'en cas de mutation 3243. Par conséquent, leur absence ne doit absolument pas faire éliminer le diagnostic de diabète mitochondrial lié à une mutation rare. Ainsi, les atteintes associées au diabète peuvent évoquer plutôt la mutation 3243 ou plutôt une mutation rare, comme résumé dans le *tableau 8*.

<b>Mutation 3243</b>	<b>Mutations rares</b>
Surdité (10/10)	Surdité (7/10)
Dystrophie maculaire (9/10)	Atteinte musculaire (5/10)
Atteinte musculaire (4/10)	Atteinte neurologique (4/10)
Atteinte rénale (3/10)	Dystrophie maculaire (2/10)
Atteinte neurologique (2/10)	Atteinte rénale (1/10)

*Tableau 8 : Comparaison des atteintes associées au diabète par ordre de fréquence en cas de mutation 3243 et en cas de mutation rare*

Les phénotypes diabétiques présentés par nos patients étaient très hétérogènes, que ce soit sur l'âge, le mode d'apparition du diabète, la prise en charge thérapeutique et les signes cliniques et biologiques associés. Bien sûr, ces données ne concernant que 6 patients, il n'y avait aucune étude statistique possible permettant de retrouver des caractéristiques communes. Nous n'avons donc pas pu dégager de phénotype diabétique spécifique orientant vers l'existence d'une mutation rare de l'ADNmt chez un patient présentant un diabète suspect d'une origine mitochondriale. Ainsi, un diabète mitochondrial peut emprunter des phénotypes diabétiques très variables.

La principale force de notre étude est son exhaustivité. En effet, l'étude *princeps* a porté sur la cohorte du réseau français sur les maladies mitochondriales, qui inclut environ 90% des patients explorés pour une suspicion de mitochondriopathie en France. Cela exclut donc un biais de sélection significatif. De plus, la revue de la littérature a couvert selon nous une proportion importante de l'ensemble des articles publiés décrivant des diabètes liés à une mutation rare de l'ADNmt. Les critères d'exclusion de la recherche bibliographique étaient seulement une langue étrangère à l'anglais et au français, et l'absence d'accès à l'article complet. Nous pensons donc que les 50 patients analysés dans notre étude représentent une proportion importante des patients concernés par le sujet de ce travail.

Notre étude pâtit cependant de plusieurs limites. La première concerne la non-exhaustivité des réponses obtenues à la demande des données concernant le phénotype des patients diabétiques de notre étude de cas (taux de non-réponse = 4/10), et constitue un biais d'information majeur. Une explication plausible est que les médecins référents contactés étaient le plus souvent les généticiens qui avaient inclus les patients dans l'étude, donc ce n'était pas eux qui suivaient les patients ou qui avaient fait le diagnostic de diabète. Dans la majorité des cas quand même, le généticien avait transmis le questionnaire au diabétologue ou nous avait transmis les coordonnées du diabétologue que nous avons alors contacté directement.

La deuxième limite concerne les cas discutables de notre étude de cas. La patiente 6 a eu un diabète diagnostiqué dans les suites d'une pancréatite aiguë. En dehors d'un contexte de maladie mitochondriale, il est classique qu'une pancréatite aiguë cause un diabète insulino-dépendant par destruction des cellules bêta-pancréatiques au cours du processus inflammatoire aigu. On peut penser qu'une pancréatite aiguë sur le pancréas immature d'une petite fille de 3 ans ait des conséquences majeures sur la fonction pancréatique endocrine,

d'autant plus si celle-ci est fragilisée par une cytopathie mitochondriale associée. Ainsi, dans le cas de la patiente 6, il est très difficile de faire la part des choses entre l'implication de la pancréatite aiguë et l'implication de la maladie mitochondriale dans la survenue du diabète. Il est possible que la mitochondriopathie ait sensibilisé les cellules bêta pancréatiques à l'agression représentée par la pancréatite aiguë. De ce fait, il est difficile de tirer des conclusions à partir de ce cas-là, notamment en ce qui concerne l'insulinorequérance immédiate. Par ailleurs, compte tenu de l'âge de la patiente et de ses comorbidités (insuffisance rénale dialysée), aucun autre traitement antidiabétique n'aurait pu être proposé. Chez la patiente 9 dont le diagnostic de diabète a été posé à l'âge de 49 ans devant un syndrome cardinal, des taux d'anticorps anti-GAD et anti-IA2 particulièrement élevés ont été retrouvés au diagnostic. Il s'agit donc très probablement d'un diabète de type 1 classique. Ceci n'exclut pas que cette patiente soit effectivement atteinte d'une authentique maladie mitochondriale (les arguments sont en effets nombreux : histoire familiale de transmission maternelle, présence d'une dystrophie maculaire réticulée, histologie musculaire et analyse enzymologique spécifiques). Il a été bien décrit que le diabète mitochondrial peut mimer un diabète de type 1 dans 17% des cas, avec même de véritables décompensations acido-cétosiques inaugurales (20), mais il n'y a classiquement pas de place pour un phénomène d'auto-immunité dans ce diabète en dehors de cas isolés où des auto-anticorps ont été retrouvés (45,68). Il a été montré que des titres aussi importants d'anticorps anti-GAD peuvent également être responsables de signes notamment neurologiques (6). Notre patiente ne présentait pas spécifiquement de signes neurologiques, mais elle présentait une surdité unilatérale (ce qui n'est pas classique dans les maladies mitochondriales) et des signes musculaires. L'implication des forts taux d'anticorps anti-GAD est donc à discuter. De la même façon que pour la patiente 5, nous ne pouvons pas déterminer la responsabilité de l'atteinte mitochondriale dans le diabète de cette patiente. Il est très probable qu'il s'agisse

d'un authentique diabète de type 1, sans pouvoir exclure une implication du dysfonctionnement mitochondrial dans la physiopathologie de son diabète (rôle sensibilisateur de la maladie mitochondriale ?). Nous n'avons retrouvé dans la littérature aucune donnée concernant une susceptibilité accrue aux pathologies auto-immunes dans les maladies mitochondriales.

Le troisième cas discutable de notre étude est celui du patient 7. Chez ce patient, le diagnostic de diabète remontait à 46 ans avant l'étude, soit dans les années 1960. Les options thérapeutiques disponibles n'étaient pas identiques à celles d'aujourd'hui, et le passage rapide à l'insuline ne signe pas que le diabète était authentiquement insulino-prive lors du diagnostic. D'ailleurs, le fait que l'équilibre diabétique ait été obtenu pendant 25 ans avec seulement une injection d'insuline lente n'est pas très en faveur d'une insulino-pénie absolue, d'autant plus que le traitement a été stoppé à plusieurs reprises pendant quelques semaines sans décompensation aiguë.

Ainsi, chez ces trois patients, aucune conclusion ne peut être tirée sur le caractère insulino-requérant du diabète mitochondrial, chez les deux premières patientes car une autre étiologie intervient certainement dans la physiopathologie du diabète (respectivement un diabète secondaire à une pancréatite et un diabète de type 1) et dans le troisième cas compte tenu des moyens et des habitudes thérapeutiques à l'époque de la prise en charge du patient.

Par conséquent, il ne nous semble pas adapté de considérer le caractère insulino-requérant ou non insulino-requérant d'un diabète pour orienter ou non vis-à-vis de la possibilité d'une mutation rare de l'ADNmt.

Le taux d'hétéroplasmie est un facteur essentiel pour expliquer la traduction clinique d'une mutation. Dans notre étude, l'évaluation des taux d'hétéroplasmie n'a pas été réalisée. Cependant, le taux d'hétéroplasmie retrouvé sur le tissu étudié (leucocytes, fibroblastes ou

même muscle) ne présage en rien du taux d'hétéroplasmie dans les organes d'intérêt, donc aurait été finalement peu informatif, en l'absence d'évaluation directe sur les cellules bêta-pancréatiques. Il est donc difficile de déterminer le poids de la mutation en elle-même et le poids de son taux d'hétéroplasmie dans la sévérité du tableau clinique des patients décrits.

Notre étude avait pour objectif secondaire de définir la prévalence du diabète dans une population suspecte de maladie mitochondriale sur des arguments cliniques et biologiques chez laquelle les mutations les plus fréquentes (délétions ou mutations ponctuelles m.3243 A>G, m.8344 A>G, m.8993 T>C/G) n'étaient pas présentes. Ainsi, nous avons retrouvé une fréquence de 6% de patients diabétiques dans cette population. Ce chiffre peut sembler faible compte tenu que les cellules bêta-pancréatiques représentent un tissu préférentiel pour l'expression du déficit mitochondrial en raison de leur faible renouvellement cellulaire et de leur demande énergétique importante. Pourtant, ce pourcentage est fiable puisqu'il est tiré d'une étude qui inclut, comme évoqué précédemment, 90% de la population concernée par le problème.

Pour l'interpréter, il faut tenir compte du fait que l'étude *princeps* exclut les trois mutations ponctuelles les plus communes dans la pathologie mitochondriale et les délétions de l'ADNmt. En effet, si la fréquence du diabète lié à la mutation m.3243 A>G est estimée autour de 1,5% des diabétiques et expliquerait environ 85% des diabètes mitochondriaux (73), la place des autres mutations exclues de l'étude dans le diabète mitochondrial n'est pas connue. La mutation m.8344 A>G est classiquement associée au syndrome MERRF, et les délétions de l'ADNmt se retrouvent dans les syndrmes de Pearson et de Kearns-Sayre. Ces

trois syndromes n'ont pas été pris en compte dans notre étude puisqu'ils correspondent à des syndromes bien caractérisés en pathologie mitochondriale.

Quant à la mutation m.8993 T>C/G, elle est retrouvée dans le syndrome de Leigh (encéphalopathie subaiguë évoluant par poussées et débutant dans l'enfance avec atteinte cérébelleuse ou extrapyramidale et régression psychomotrice) ou dans le syndrome NARP (neuropathie ataxiante et rétinite pigmentaire). Il n'est classiquement pas retrouvé de diabète dans le tableau clinique de ces syndromes.

Notre étude bibliographique rapporte deux publications décrivant des cas de diabètes mitochondriaux liés à la mutation m.8344 A>G, et cinq cas en association avec des délétions de l'ADNmt, qu'il s'agisse de délétions uniques ou de délétions multiples. Nous n'avons par contre retrouvé aucun cas décrit avec la mutation m.8993 T>C/G.

Ainsi, les diabètes mitochondriaux liés à la mutation m.8344 A>G ou à des délétions de l'ADNmt (en dehors des syndromes de Pearson, de Kearns-Sayre et MERRF) représentent seulement une petite proportion des diabètes mitochondriaux, qui n'est pas prise en compte dans le pourcentage de diabète retrouvé dans notre étude.

L'ensemble de ces données confirme que le diabète mitochondrial lié aux mutations rares de l'ADNmt est exceptionnel dans la population générale, il n'y a donc aucune indication à réaliser sa recherche de façon systématique dans la population diabétique globale.

Si l'on s'intéresse maintenant aux différentes tranches d'âge, on constate que la fréquence du diabète augmente avec l'avancée en âge des patients au moment des premiers signes de maladie mitochondriale, et ce de façon assez marquée (pour mémoire : 2,5% avant 1 an, 7,3% entre 1 et 16 ans, 11,7% après 16 ans). Par conséquent, devant une suspicion de diabète mitochondrial, la probabilité de trouver une mutation rare de l'ADNmt sera plus importante

chez un patient dont les premiers signes sont apparus à l'âge adulte. Cependant, la dispersion des âges est importante, donc l'âge de début ne doit pas exclure la possibilité d'un diabète mitochondrial. D'ailleurs, le seul patient de l'étude *princeps* présentant un diabète isolé avait été diagnostiqué dans l'enfance.

Une mutation ponctuelle de l'ADNmt pathogène validée ou potentiellement pathogène a été retrouvée chez seulement 10 des 45 patients diabétiques de l'étude *princeps*, soit 22%. Ce nombre est légèrement inférieur à celui retrouvé dans la population totale de l'étude, qui était de 29,8% (7,4% de mutations pathogènes validées et 22,4% de mutations potentiellement pathogènes) (4). Il faut rappeler la difficulté à interpréter la pathogénicité d'une nouvelle mutation compte tenu du polymorphisme important de l'ADNmt. Il existe également la possibilité de variants non pathogènes mais pouvant influencer la pathogénicité d'une mutation lorsqu'ils lui sont associés, ce qui a d'ailleurs été retrouvé chez le patient 3 de notre étude (3). Chez le patient 8, deux mutations ont été retrouvées, toutes deux à l'état homoplasmique. Les études *in silico* prédisent que la mutation m.9193 C>T serait plutôt celle qui est pathogène tandis que la mutation m.2961 C>T correspondrait à un polymorphisme, sans que la possible influence de ce polymorphisme sur la pathogénicité de la première mutation ne soit bien clair.

La sensibilité des techniques d'analyse moléculaire de l'ADNmt, notamment vis-à-vis des taux d'hétéroplasmie, peut aussi être impliquée dans le pourcentage modéré de mutations rares retrouvées chez nos patients.

L'implication de mutations de gènes nucléaires est très probablement l'explication du nombre important de cas dans lesquels aucune mutation de l'ADNmt n'est retrouvée. En effet, la



machinerie mitochondriale est bien sûr dépendante de l'ADNmt, mais la majorité des composants de la chaîne respiratoire mitochondriale est codée par le génome nucléaire.

Notre étude montre que les mutations responsables de diabète mitochondrial peuvent être localisées dans tous les types de gènes portés par l'ADNmt. Dans notre étude de cas, les mutations les plus fréquemment retrouvées concernaient des gènes codant pour des protéines de la chaîne respiratoire mitochondriale (5 cas sur 11). Venaient ensuite les gènes des ARN de transfert (4 cas sur 11) puis les gènes des ARN ribosomiaux (2 cas sur 11). La revue de la littérature rapportait 20 mutations ponctuelles dont 14 étaient localisées dans les gènes des ARNt, ce qui confirme qu'il s'agit de *hotspot* pour les mutations pathogènes. Ces résultats impliquent qu'en cas de suspicion de diabète mitochondrial, l'analyse génétique ne doit pas se limiter aux gènes des ARNt en l'absence de mutation en position 3243 de l'ADNmt.

Parmi les 11 mutations retrouvées chez nos dix patients, quatre ont déjà été décrites en lien avec des phénotypes variés : m.7472 InsC (8,29,72) ; m.8362 T>G (62) ; m.14724 G>A (53) ; m.3395 A>G (9). Les sept autres mutations n'ont à ce jour pas été rapportées dans la littérature. Mais aucune de ces 11 mutations n'a déjà été décrite comme responsable d'un diabète mitochondrial, et aucune n'était d'ailleurs retrouvée dans notre revue de la littérature.

Une des questions sous-tendues par notre étude était de savoir si il était intéressant de chercher les mutations rares de l'ADNmt si la mutation m.3243 A>G n'était pas retrouvée. D'après notre étude, la recherche de mutation rare a pu « rattraper » le diagnostic de diabète mitochondrial dans 22% des cas étudiés. Mais quand on connaît les difficultés à obtenir un diagnostic moléculaire en cas de suspicion de diabète mitochondrial en l'absence de la mutation classique m.3243 A>G, on peut se demander si les enjeux d'un tel diagnostic ont un intérêt suffisant. La réponse à cette question est d'après nous clairement positive. Outre

l'aspect gratifiant intellectuellement pour l'endocrinologue/diabétologue, le diagnostic adéquat de diabète mitochondrial est essentiel car il a des conséquences pratiques et il conditionne la prise en charge du patient et la possibilité d'un conseil génétique.

Sur le plan thérapeutique, il n'existe pas de traitement étiologique spécifique du diabète mitochondrial, mais le traitement par coenzyme Q10 a montré dans quelques études des résultats encourageants. Suzuki *et al* (65) retrouve une élévation de la sécrétion d'insuline, une amélioration de l'hypoacousie et une diminution de la production de lactate après un effort après trois ans de traitement à la dose de 150mg par jour. Salles *et al* (58) montre également une amélioration de la sécrétion d'insuline au bout de trois mois de traitement, sans aucun effet indésirable. Cependant, il n'existe à l'heure actuelle aucun consensus sur l'indication d'un traitement par coenzyme Q10 tant les données sont rares. Notre étude n'apporte pas d'élément de réponse quant à l'efficacité éventuelle de ce traitement sur l'évolution du diabète.

Les traitements habituels du diabète sont donc utilisés, en sachant néanmoins que la metformine, de la famille des biguanides, est théoriquement contre-indiquée en raison de la vulnérabilité à l'acidose lactique des patients avec une fonction mitochondriale altérée.

De plus, les patients doivent être informés de l'évolution habituellement rapide vers l'insulinorequérance. Notre étude n'a pas retrouvé de caractéristiques précises des diabètes en lien avec des mutations rares de l'ADNmt vis-à-vis de leur sensibilité aux différents traitements antidiabétiques.

Concernant la prise en charge des patients, la fréquence élevée de complications majeures associées au diabète pousse à une prévention adaptée, un suivi rapproché, un dépistage précoce et une prise en charge intensive pour réduire leur morbi-mortalité.

Il n'existe pas de recommandations en vigueur pour la prise en charge du diabète mitochondrial. Plusieurs auteurs ont proposé un bilan initial et un rythme de surveillance des patients atteints (31,45). Le bilan initial devrait comporter un examen clinique complet, une évaluation ophtalmologique, un audiogramme, un électrocardiogramme (ECG) et un bilan rénal sanguin et urinaire. L'échographie cardiaque devrait être réalisée dès l'âge de 35 ans de façon au moins annuelle, et le holter-ECG en cas d'anomalie clinique ou à l'ECG. Le bilan rénal, l'audiogramme et l'examen ophtalmologique devraient être mis à jour chaque année, ou plus tôt selon l'apparition de point d'appel clinique. A la lumière de notre étude, nous pensons qu'un dépistage clinique poussé des anomalies neurologiques et musculaires est également essentiel en cas de diabète lié à une mutation rare de l'ADNmt, puisque nous avons montré que, dans cette situation, ces signes sont plus fréquents qu'en cas de mutation classique m.3243 A>G. Des explorations complémentaires (imagerie cérébrale, électromyogramme...) ne nous semblent en revanche pas indiquées en l'absence de signe clinique. Par contre, l'utilisation des statines nous semble contre-indiquée dans le contexte car le risque est élevé d'aggraver une myopathie infra-clinique.

Une prise en charge multi-disciplinaire est donc indiquée à la suite d'un diagnostic de diabète mitochondrial. L'évitement de facteurs aggravant la perte d'audition pourrait permettre de retarder l'installation de la surdité (16,28). Dans le même sens, un contrôle optimal de la tension artérielle par un traitement néphroprotecteur (inhibiteur de l'enzyme de conversion ou antagoniste de l'angiotensine II) peut être proposé pour retarder l'apparition d'une néphropathie mitochondriale. Le dépistage des atteintes associées permet de mettre en place précocement le traitement symptomatique adéquat.

Enfin, comme pour toute maladie génétique, un diagnostic de diabète mitochondrial a des retombées majeures sur les apparentés du patient. L'identification d'une mutation de

l'ADNmt chez un patient ouvre la possibilité de réaliser un conseil génétique. L'élément clé de ce conseil génétique est la transmission exclusivement maternelle des mutations de l'ADNmt : un homme atteint n'a donc pas de risque de transmettre la mutation, et doit donc être rassuré sur l'absence de risque de transmission de la maladie à ses descendants. En revanche, tous les apparentés maternels devraient être considérés comme porteurs de la mutation, à des taux d'hétéroplasmie pouvant être très variables. Le conseil génétique est compliqué par la grande variabilité phénotypique associée à une mutation donnée, avec une présentation clinique et un âge d'apparition très difficiles à prédire.

Le rôle de l'endocrinologue/diabétologue est avant tout de savoir évoquer le diagnostic de diabète mitochondrial. Il n'est pas rare que la connaissance du diabète mitochondrial se limite à l'association d'un diabète et d'une surdité avec transmission maternelle. La découverte d'un diabète inaugural requiert de l'attention et de la curiosité de la part du clinicien pour aboutir à un diagnostic étiologique adéquat, dont découleront les spécificités de prise en charge dont nous venons de parler. La sélection des patients est fondamentale pour rentabiliser le diagnostic moléculaire. Elle se fait sur des critères cliniques portant principalement sur la transmission matrilineaire et sur les atteintes associées au diabète. Notre étude montre que l'absence de surdité ou de dystrophie maculaire réticulée ne doit pas conduire à exclure le diagnostic car leur fréquence est moindre dans les diabètes mitochondriaux liés aux mutations rares de l'ADNmt qu'en cas de mutation 3243. La présence de signes musculaires et surtout neurologiques est un argument fort pour rechercher une mutation rare de l'ADNmt.

Après sélection clinique des patients et obtention de leur consentement éclairé (*annexe 2*), le prélèvement (le plus souvent sanguin) est transmis au laboratoire de génétique. Le généticien

cible alors la recherche sur les anomalies génétiques correspondant au tableau clinique. La fiche de renseignements cliniques (*annexe 3*) accompagnant le prélèvement génétique a donc un rôle fondamental pour une recherche performante. Elle doit être complétée de manière la plus précise et la plus exhaustive possible par l'endocrinologue/diabétologue. Classiquement, par argument de fréquence, les mutations en position m.3243, m.8344 et m.14709 sont recherchées en première intention, de même qu'en position m.1555 en cas de surdité associée. Lorsqu'aucune de ces mutations n'est retrouvée, une concertation entre l'endocrinologue/diabétologue et le généticien est nécessaire afin de déterminer si la suspicion diagnostique engage à réaliser des analyses moléculaires plus poussées. Des examens complémentaires à ce stade peuvent étayer le diagnostic (présence d'une dystrophie maculaire réticulée à l'examen ophtalmologique, présence d'une élévation des lactates, des dérivés du cycle de Krebs et des CPK au bilan biologique, présence d'anomalies spécifiques à l'IRM cérébrale). Les analyses moléculaires peuvent aussi être réalisées sur des tissus dans lesquels le taux d'hétéroplasmie est classiquement plus important que dans le sang (urines ou frottis buccal non invasifs, biopsies de peau ou de muscle plus invasives) (*annexe 4*). La biopsie musculaire permet en outre de réaliser des études biochimiques et enzymologiques pour étudier l'activité des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale, et une analyse histologique à la recherche de signes typiques de mitochondriopathie. Enfin, en cas de symptomatologie fortement évocatrice et si aucune mutation n'est retrouvée, le généticien discutera l'intérêt d'un séquençage haut débit de l'ADNmt, à la frontière entre la routine et la recherche.

## V. CONCLUSION

Notre étude avait pour objectif d'analyser les caractéristiques phénotypiques des diabètes liés à des mutations rares de l'ADNmt, afin de savoir chez quels patients leur recherche pourrait être rentable.

Notre avons mis en évidence que le diabète mitochondrial peut emprunter des phénotypes métaboliques très variables, et qu'il s'intègre le plus souvent dans un tableau multisystémique. Nous n'avons pas retrouvé de phénotype métabolique spécifique pouvant faire évoquer ou au contraire faire éliminer l'implication d'une mutation rare de l'ADNmt. Le caractère insulinorequérant ou non d'un diabète ne semble pas pouvoir orienter vis-à-vis de la possibilité d'une mutation rare de l'ADNmt. La transmission matrilineaire est la règle, même si des mutations *de novo* sont possibles.

Les symptômes neurologiques sont statistiquement plus fréquents dans les mutations rares que dans la mutation 3243, et la même tendance ressort avec les symptômes musculaires. La présence de ces signes est donc un argument fort pour rechercher une mutation rare en cas de suspicion de diabète mitochondrial. En revanche, la surdité, la dystrophie maculaire réticulée et la néphropathie étaient statistiquement moins fréquentes en cas de mutation rare. Ainsi, leur absence ne doit pas faire éliminer le diagnostic de diabète mitochondrial.

Nos résultats confirment que le diabète mitochondrial lié aux mutations rares de l'ADNmt est exceptionnel dans la population générale, il n'y a donc aucune indication à réaliser sa recherche de façon systématique dans la population diabétique globale. Même si la probabilité

de trouver une mutation rare de l'ADNmt est plus importante chez un patient dont les premiers signes sont apparus à l'âge adulte, la dispersion des âges est importante, donc l'âge de début ne doit pas exclure la possibilité d'un diabète mitochondrial.

Le rôle de l'endocrinologue/diabétologue est avant tout de savoir quand évoquer le diagnostic de diabète mitochondrial, et de collaborer avec les généticiens pour déterminer la stratégie diagnostique la plus adaptée à l'obtention du diagnostic moléculaire. Notre étude montre que la recherche d'une mutation rare de l'ADNmt a pu « rattraper » le diagnostic de diabète mitochondrial dans 22% des cas étudiés. Un tel diagnostic est essentiel car il a des implications majeures sur la prise en charge globale du patient (recherche et prévention d'atteintes associées), son traitement (contre-indication de la metformine) et bien sûr pour ses apparentés qui accèdent alors à un conseil génétique.

## VI. BIBLIOGRAPHIE

1. Attardi G, Schatz G. Biogenesis of mitochondria. *Annu Rev Cell Biol.* 1988;4:289-333.
2. Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV, Trounce I, Polak MA, Koontz DA, et al. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA deletion. *Nat Genet.* avr 1992;1(1):11-5.
3. Bannwarth S, Abbassi M, Valéro R, Fragaki K, Dubois N, Vialettes B, et al. A novel unstable mutation in mitochondrial DNA responsible for maternally inherited diabetes and deafness. *Diabetes Care.* déc 2011;34(12):2591-3.
4. Bannwarth S, Procaccio V, Lebre AS, Jardel C, Chaussenot A, Hoarau C, et al. Prevalence of rare mitochondrial DNA mutations in mitochondrial disorders. *J Med Genet.* oct 2013;50(10):704-14.
5. Bannwarth S, Procaccio V, Paquis-Flucklinger V. Surveyor Nuclease: a new strategy for a rapid identification of heteroplasmic mitochondrial DNA mutations in patients with respiratory chain defects. *Hum Mutat.* juin 2005;25(6):575-82.
6. Bayreuther C, Hieronimus S, Ferrari P, Thomas P, Lebrun C. Auto-immune cerebellar ataxia with anti-GAD antibodies accompanied by de novo late-onset type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* sept 2008;34(4 Pt 1):386-8.
7. Blakely EL, Yarham JW, Alston CL, Craig K, Poulton J, Brierley C, et al. Pathogenic mitochondrial tRNA point mutations: nine novel mutations affirm their importance as a cause of mitochondrial disease. *Hum Mutat.* sept 2013;34(9):1260-8.
8. Cardaioli E, Da Pozzo P, Cerase A, Sicurelli F, Malandrini A, De Stefano N, et al. Rapidly progressive neurodegeneration in a case with the 7472insC mutation and the A7472C polymorphism in the mtDNA tRNA ser(UCN) gene. *Neuromuscul Disord.* janv 2006;16(1):26-31.
9. Chamkha I, Mkaouar-Rebai E, Aloulou H, Chabchoub I, Kifagi C, Fendri-Kriaa N, et al. A novel m.3395A>G missense mutation in the mitochondrial ND1 gene associated with the new tRNA(Ile) m.4316A>G mutation in a patient with hypertrophic cardiomyopathy and profound hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun.* 7 janv 2011;404(1):504-10.
10. Chen FL, Liu Y, Song XY, Hu HY, Xu HB, Zhang XM, et al. A novel mitochondrial DNA missense mutation at G3421A in a family with maternally inherited diabetes and deafness. *Mutat Res.* 1 déc 2006;602(1-2):26-33.
11. Chen J, Hattori Y, Nakajima K, Eizawa T, Ehara T, Koyama M, et al. Mitochondrial complex I activity is significantly decreased in a patient with maternally inherited type 2 diabetes mellitus and hypertrophic cardiomyopathy associated with mitochondrial DNA C3310T mutation: a cybrid study. *Diabetes Res Clin Pract.* nov 2006;74(2):148-53.



12. Choo-Kang ATW, Lynn S, Taylor GA, Daly ME, Sihota SS, Wardell TM, et al. Defining the importance of mitochondrial gene defects in maternally inherited diabetes by sequencing the entire mitochondrial genome. *Diabetes*. juill 2002;51(7):2317-20.
13. Damore ME, Speiser PW, Slonim AE, New MI, Shanske S, Xia W, et al. Early onset of diabetes mellitus associated with the mitochondrial DNA T14709C point mutation: patient report and literature review. *J Pediatr Endocrinol Metab*. avr 1999;12(2):207-13.
14. De Block CEM, De Leeuw IH, Maassen JA, Ballaux D, Martin J-J. A novel 7301-bp deletion in mitochondrial DNA in a patient with Kearns-Sayre syndrome, diabetes mellitus, and primary amenorrhoea. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. févr 2004;112(2):80-3.
15. Doleris LM, Hill GS, Chedin P, Nochy D, Bellanne-Chantelot C, Hanslik T, et al. Focal segmental glomerulosclerosis associated with mitochondrial cytopathy. *Kidney Int*. nov 2000;58(5):1851-8.
16. Estivill X, Govea N, Barceló E, Badenas C, Romero E, Moral L, et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment of aminoglycosides. *Am J Hum Genet*. janv 1998;62(1):27-35.
17. Gerbitz KD, Gempel K, Brdiczka D. Mitochondria and diabetes. Genetic, biochemical, and clinical implications of the cellular energy circuit. *Diabetes*. févr 1996;45(2):113-26.
18. Gerbitz KD, van den Ouweland JM, Maassen JA, Jaksch M. Mitochondrial diabetes mellitus: a review. *Biochim Biophys Acta*. 24 mai 1995;1271(1):253-60.
19. Guéry B, Choukroun G, Noël L-H, Clavel P, Rötig A, Lebon S, et al. The spectrum of systemic involvement in adults presenting with renal lesion and mitochondrial tRNA(Leu) gene mutation. *J Am Soc Nephrol*. août 2003;14(8):2099-108.
20. Guillausseau PJ, Dubois-Laforgue D, Massin P, Laloi-Michelin M, Bellanné-Chantelot C, Gin H, et al. Heterogeneity of diabetes phenotype in patients with 3243 bp mutation of mitochondrial DNA (Maternally Inherited Diabetes and Deafness or MIDD). *Diabetes Metab*. avr 2004;30(2):181-6.
21. Guillausseau PJ, Massin P, Dubois-LaForgue D, Timsit J, Virally M, Gin H, et al. Maternally inherited diabetes and deafness: a multicenter study. *Ann Intern Med*. 1 mai 2001;134(9 Pt 1):721-8.
22. Hanna MG, Nelson I, Sweeney MG, Cooper JM, Watkins PJ, Morgan-Hughes JA, et al. Congenital encephalomyopathy and adult-onset myopathy and diabetes mellitus: different phenotypic associations of a new heteroplasmic mtDNA tRNA glutamic acid mutation. *Am J Hum Genet*. mai 1995;56(5):1026-33.
23. Hao H, Bonilla E, Manfredi G, DiMauro S, Moraes CT. Segregation patterns of a novel mutation in the mitochondrial tRNA glutamic acid gene associated with myopathy and diabetes mellitus. *Am J Hum Genet*. mai 1995;56(5):1017-25.

24. Hattori Y, Takeoka M, Nakajima K, Ehara T, Koyama M. A heteroplasmic mitochondrial DNA 3310 mutation in the ND1 gene in a patient with type 2 diabetes, hypertrophic cardiomyopathy, and mental retardation. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. juin 2005;113(6):318-23.
25. Hattori Y, Nakajima K, Eizawa T, Ehara T, Koyama M, Hirai T, et al. Heteroplasmic mitochondrial DNA 3310 mutation in NADH dehydrogenase subunit 1 associated with type 2 diabetes, hypertrophic cardiomyopathy, and mental retardation in a single patient. *Diabetes Care*. mars 2003;26(3):952-3.
26. Hirai M, Suzuki S, Onoda M, Hinokio Y, Hirai A, Ohtomo M, et al. Mitochondrial deoxyribonucleic acid 3256C-T mutation in a Japanese family with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. mars 1998;83(3):992-4.
27. Hosszúfalusi N, Karcagi V, Horváth R, Palik E, Várkonyi J, Rajczy K, et al. A detailed investigation of maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) including clinical characteristics, C-peptide secretion, HLA-DR and -DQ status and autoantibody pattern. *Diabetes Metab Res Rev*. févr 2009;25(2):127-35.
28. Hyde GE, Rubel EW. Mitochondrial role in hair cell survival after injury. *Otolaryngol Head Neck Surg*. nov 1995;113(5):530-40.
29. Jaksch M, Hofmann S, Kleinle S, Liechti-Gallati S, Pongratz DE, Müller-Höcker J, et al. A systematic mutation screen of 10 nuclear and 25 mitochondrial candidate genes in 21 patients with cytochrome c oxidase (COX) deficiency shows tRNA(Ser)(UCN) mutations in a subgroup with syndromal encephalopathy. *J Med Genet*. nov 1998;35(11):895-900.
30. Kameoka K, Isotani H, Tanaka K, Kitaoka H, Ohsawa N. Impaired insulin secretion in Japanese diabetic subjects with an A-to-G mutation at nucleotide 8296 of the mitochondrial DNA in tRNA(Lys). *Diabetes Care*. nov 1998;21(11):2034-5.
31. Karaa A, Goldstein A. The spectrum of clinical presentation, diagnosis, and management of mitochondrial forms of diabetes. *Pediatr Diabetes*. févr 2015;16(1):1-9.
32. Katagiri H, Asano T, Ishihara H, Inukai K, Anai M, Yamanouchi T, et al. Mitochondrial diabetes mellitus: prevalence and clinical characterization of diabetes due to mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) gene mutation in Japanese patients. *Diabetologia*. mai 1994;37(5):504-10.
33. Liu H, Li R, Li W, Wang M, Ji J, Zheng J, et al. Maternally inherited diabetes is associated with a homoplasmic T10003C mutation in the mitochondrial tRNA(Gly) gene. *Mitochondrion*. mars 2015;21:49-57.
34. Lynn S, Wardell T, Johnson MA, Chinnery PF, Daly ME, Walker M, et al. Mitochondrial diabetes: investigation and identification of a novel mutation. *Diabetes*. nov 1998;47(11):1800-2.
35. Maassen JA, Kadowaki T. Maternally inherited diabetes and deafness: a new diabetes subtype. *Diabetologia*. avr 1996;39(4):375-82.

36. Maassen JA, 't Hart LM, Van Essen E, Heine RJ, Nijpels G, Jahangir Tafrechi RS, et al. Mitochondrial diabetes: molecular mechanisms and clinical presentation. *Diabetes*. févr 2004;53 Suppl 1:S103-9.
37. Maassen JA, Janssen GMC, 't Hart LM. Molecular mechanisms of mitochondrial diabetes (MIDD). *Ann Med*. 2005;37(3):213-21.
38. Maitra A, Cohen Y, Gillespie SED, Mambo E, Fukushima N, Hoque MO, et al. The Human MitoChip: a high-throughput sequencing microarray for mitochondrial mutation detection. *Genome Res*. mai 2004;14(5):812-9.
39. Massin P, Dubois-Laforgue D, Meas T, Laloi-Michelin M, Gin H, Bauduceau B, et al. Retinal and renal complications in patients with a mutation of mitochondrial DNA at position 3,243 (maternally inherited diabetes and deafness). A case-control study. *Diabetologia*. sept 2008;51(9):1664-70.
40. Massin P, Guillausseau PJ, Vialettes B, Paquis V, Orsini F, Grimaldi AD, et al. Macular pattern dystrophy associated with a mutation of mitochondrial DNA. *Am J Ophthalmol*. août 1995;120(2):247-8.
41. Massin P, Virally-Monod M, Vialettes B, Paques M, Gin H, Porokhov B, et al. Prevalence of macular pattern dystrophy in maternally inherited diabetes and deafness. GEDIAM Group. *Ophthalmology*. sept 1999;106(9):1821-7.
42. Meas T, Laloi-Michelin M, Virally M, Ambonville C, Kevorkian J-P, Guillausseau P-J. [Mitochondrial diabetes: clinical features, diagnosis and management]. *Rev Med Interne*. mars 2010;31(3):216-21.
43. Mezghani N, Mkaouar-Rebai E, Mnif M, Charfi N, Rekik N, Youssef S, et al. The heteroplasmic m.14709T>C mutation in the tRNA(Glu) gene in two Tunisian families with mitochondrial diabetes. *J Diabetes Complicat*. août 2010;24(4):270-7.
44. Morten KJ, Cooper JM, Brown GK, Lake BD, Pike D, Poulton J. A new point mutation associated with mitochondrial encephalomyopathy. *Hum Mol Genet*. déc 1993;2(12):2081-7.
45. Murphy R, Turnbull DM, Walker M, Hattersley AT. Clinical features, diagnosis and management of maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) associated with the 3243A>G mitochondrial point mutation. *Diabet Med*. avr 2008;25(4):383-99.
46. Nakano S, Fukuda M, Hotta F, Ito T, Ishii T, Kitazawa M, et al. Mitochondrial DNA point mutation at nucleotide pair 3316 in a Japanese family with heterogeneous phenotypes of diabetes. *Endocr J*. oct 1998;45(5):625-30.
47. Narbonne H, Vialettes B. Les diabètes par cytopathie mitochondriale. *Médecine thérapeutique / Endocrinologie*. 29 juin 2000;2(3):217-28.
48. Nesbitt V, Pitceathly RDS, Turnbull DM, Taylor RW, Sweeney MG, Mudanohwo EE, et al. The UK MRC Mitochondrial Disease Patient Cohort Study: clinical phenotypes associated with the m.3243A>G mutation--implications for diagnosis and management. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. août 2013;84(8):936-8.

49. Odawara M, Sasaki K, Yamashita K. A G-to-A substitution at nucleotide position 3316 in mitochondrial DNA is associated with Japanese non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochem Biophys Res Commun.* 3 oct 1996;227(1):147-51.
50. Ohkubo K, Yamano A, Nagashima M, Mori Y, Anzai K, Akehi Y, et al. Mitochondrial gene mutations in the tRNA(Leu(UUR)) region and diabetes: prevalence and clinical phenotypes in Japan. *Clin Chem.* sept 2001;47(9):1641-8.
51. Otabe S, Yasuda K, Mori Y, Shimokawa K, Kadowaki H, Jimi A, et al. Molecular and histological evaluation of pancreata from patients with a mitochondrial gene mutation associated with impaired insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun.* 27 mai 1999;259(1):149-56.
52. Paquis-Flucklinger V, Vialettes B, Vague P, Canivet B, Hieronimus S, Oliver C, et al. Importance of searching for mtDNA defects in patients with diabetes and hearing deficit. *Diabetologia.* juin 1998;41(6):740-1.
53. Pereira C, Nogueira C, Barbot C, Tessa A, Soares C, Fattori F, et al. Identification of a new mtDNA mutation (14724G>A) associated with mitochondrial leukoencephalopathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 23 mars 2007;354(4):937-41.
54. Perucca-Lostanlen D, Narbonne H, Hernandez JB, Staccini P, Saunieres A, Paquis-Flucklinger V, et al. Mitochondrial DNA variations in patients with maternally inherited diabetes and deafness syndrome. *Biochem Biophys Res Commun.* 2 nov 2000;277(3):771-5.
55. Reardon W, Ross RJ, Sweeney MG, Luxon LM, Pembrey ME, Harding AE, et al. Diabetes mellitus associated with a pathogenic point mutation in mitochondrial DNA. *Lancet.* 5 déc 1992;340(8832):1376-9.
56. Richter C, Park JW, Ames BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci USA.* sept 1988;85(17):6465-7.
57. Rigoli L, Prisco F, Caruso RA, Iafusco D, Ursomanno G, Zuccarello D, et al. Association of the T14709C mutation of mitochondrial DNA with maternally inherited diabetes mellitus and/or deafness in an Italian family. *Diabet Med.* avr 2001;18(4):334-6.
58. Salles JE, Kasamatsu TS, Dib SA, Moisés RS. Beta-cell function in individuals carrying the mitochondrial tRNA leu (UUR) mutation. *Pancreas.* janv 2007;34(1):133-7.
59. Sano M, Ozawa M, Shiota S, Momose Y, Uchigata M, Goto Y. The T-C(8356) mitochondrial DNA mutation in a Japanese family. *J Neurol.* juin 1996;243(6):441-4.
60. Souied EH, Kaplan J, Coscas G, Soubrane G. Les dystrophies maculaires. *Journal Français d'Ophthalmologie.* sept 2003;26(7):743-62.
61. Souied EH, Salès MJ, Soubrane G, Coscas G, Bigorie B, Kaplan J, et al. Macular dystrophy, diabetes, and deafness associated with a large mitochondrial DNA deletion. *Am J Ophthalmol.* janv 1998;125(1):100-3.

62. Sternberg D, Chatzoglou E, Laforêt P, Fayet G, Jardel C, Blondy P, et al. Mitochondrial DNA transfer RNA gene sequence variations in patients with mitochondrial disorders. *Brain*. mai 2001;124(Pt 5):984-94.
63. Suzuki S, Hinokio Y, Hirai S, Onoda M, Matsumoto M, Ohtomo M, et al. Pancreatic beta-cell secretory defect associated with mitochondrial point mutation of the tRNA(LEU(UUR)) gene: a study in seven families with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS). *Diabetologia*. août 1994;37(8):818-25.
64. Suzuki S, Hinokio Y, Hirai S, Onoda M, Matsumoto M, Ohtomo M, et al. Diabetes with mitochondrial gene tRNALYS mutation. *Diabetes Care*. déc 1994;17(12):1428-32.
65. Suzuki S, Hinokio Y, Ohtomo M, Hirai M, Hirai A, Chiba M, et al. The effects of coenzyme Q10 treatment on maternally inherited diabetes mellitus and deafness, and mitochondrial DNA 3243 (A to G) mutation. *Diabetologia*. mai 1998;41(5):584-8.
66. Suzuki Y, Suzuki S, Hinokio Y, Chiba M, Atsumi Y, Hosokawa K, et al. Diabetes associated with a novel 3264 mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) mutation. *Diabetes Care*. juill 1997;20(7):1138-40.
67. Suzuki Y, Tsukuda K, Atsumi Y, Goto Y, Hosokawa K, Asahina T, et al. Clinical picture of a case of diabetes with mitochondrial tRNA mutation at position 3271. *Diabetes Care*. nov 1996;19(11):1304-5.
68. Suzuki Y, Taniyama M, Shimada A, Atumi Y, Matsuoka K, Oka Y. GAD antibody in mitochondrial diabetes associated with tRNA(UUR) mutation at position 3271. *Diabetes Care*. juin 2002;25(6):1097-8.
69. Tabebi M, Mkaouar-Rebai E, Mnif M, Kallabi F, Ben Mahmoud A, Ben Saad W, et al. A novel mutation MT-COIII m.9267G>C and MT-COI m.5913G>A mutation in mitochondrial genes in a Tunisian family with maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) associated with severe nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun*. 10 avr 2015;459(3):353-60.
70. Tawata M, Hayashi JI, Isobe K, Ohkubo E, Ohtaka M, Chen J, et al. A new mitochondrial DNA mutation at 14577 T/C is probably a major pathogenic mutation for maternally inherited type 2 diabetes. *Diabetes*. juill 2000;49(7):1269-72.
71. Thomas F, Balkau B, Vauzelle-Kervroedan F, Papoz L. Maternal effect and familial aggregation in NIDDM. The CODIAB Study. CODIAB-INSERM-ZENECA Study Group. *Diabetes*. janv 1994;43(1):63-7.
72. Tiranti V, Chariot P, Carella F, Toscano A, Soliveri P, Girlanda P, et al. Maternally inherited hearing loss, ataxia and myoclonus associated with a novel point mutation in mitochondrial tRNASer(UCN) gene. *Hum Mol Genet*. août 1995;4(8):1421-7.
73. Tsukuda K, Suzuki Y, Kameoka K, Osawa N, Goto Y, Katagiri H, et al. Screening of patients with maternally transmitted diabetes for mitochondrial gene mutations in the tRNA[Leu(UUR)] region. *Diabet Med*. déc 1997;14(12):1032-7.

74. van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, Sandkuijl LA, de Vijlder MF, Struyvenberg PA, et al. Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat Genet.* août 1992;1(5):368-71.
75. van den Ouweland JM, Lemkes HH, Trembath RC, Ross R, Velho G, Cohen D, et al. Maternally inherited diabetes and deafness is a distinct subtype of diabetes and associates with a single point mutation in the mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) gene. *Diabetes.* juin 1994;43(6):746-51.
76. Velho G, Byrne MM, Clément K, Sturis J, Pueyo ME, Blanché H, et al. Clinical phenotypes, insulin secretion, and insulin sensitivity in kindreds with maternally inherited diabetes and deafness due to mitochondrial tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) gene mutation. *Diabetes.* avr 1996;45(4):478-87.
77. Vialettes BH, Paquis-Flucklinger V, Pelissier JF, Bendahan D, Narbonne H, Silvestre-Aillaud P, et al. Phenotypic expression of diabetes secondary to a T14709C mutation of mitochondrial DNA. Comparison with MIDD syndrome (A3243G mutation): a case report. *Diabetes Care.* nov 1997;20(11):1731-7.
78. Whittaker RG, Schaefer AM, McFarland R, Taylor RW, Walker M, Turnbull DM. Prevalence and progression of diabetes in mitochondrial disease. *Diabetologia.* oct 2007;50(10):2085-9.
79. Whittaker RG, Schaefer AM, McFarland R, Taylor RW, Walker M, Turnbull DM. Diabetes and deafness: is it sufficient to screen for the mitochondrial 3243A>G mutation alone? *Diabetes Care.* sept 2007;30(9):2238-9.
80. Yamasoba T, Oka Y, Tsukuda K, Nakamura M, Kaga K. Auditory findings in patients with maternally inherited diabetes and deafness harboring a point mutation in the mitochondrial transfer RNA(Leu) (UUR) gene. *Laryngoscope.* janv 1996;106(1 Pt 1):49-53.
81. Zeviani M, Gellera C, Antozzi C, Rimoldi M, Morandi L, Villani F, et al. Maternally inherited myopathy and cardiomyopathy: association with mutation in mitochondrial DNA tRNA(Leu)(UUR). *Lancet.* 20 juill 1991;338(8760):143-7.
82. IDF diabetes atlas - Home [Internet]. [cité 14 juin 2016]. Disponible sur: <http://www.diabetesatlas.org/>
83. OMS | Rapport mondial sur le diabète [Internet]. WHO. [cité 13 juin 2016]. Disponible sur: <http://www.who.int/diabetes/global-report/fr/>

## **VII. ANNEXES**

### **Annexe 1 :**

Questionnaire adressé aux médecins référents des patients

### **Annexe 2 :**

Consentement de prélèvement

### **Annexe 3 :**

Fiche de renseignements cliniques

### **Annexe 4 :**

Procédure de prélèvement et d'envoi

## Annexe 1 : Questionnaire adressé aux médecins référents des patients

### HISTOIRE CLINIQUE DU DIABETE

NOM DU PATIENT :

**Première partie : DIAGNOSTIC**

**Age** au diagnostic de diabète =

**Mode de découverte** :

- Découverte fortuite
- Syndrome cardinal
- Décompensation aiguë
  - Acido-cétosique
  - Hyperosmolaire
- Autre → Préciser :

**IMC** au diagnostic =

**Glycémie à jeun** au diagnostic =

**HbA1c** au diagnostic =

**HGPO** au diagnostic :

	T0	30'	1h	2h
Glycémie				

**Auto-immunité** : Présence d'auto-anticorps anti GAD ou anti IA2

- OUI    Si Oui, titre des Anticorps =
- NON



**Evaluation de la sécrétion d'insuline endogène** au diagnostic :

- Insulinémie à jeun =
- Insulinémie post-prandiale =
- Peptide C à jeun =
- Peptide C post-prandial =

<b>Deuxième partie : TRAITEMENT</b>
-------------------------------------

**Traitement initial :**

- Règles hygiéno-diététiques seules
- ADO → Préciser :
- Insulinothérapie → Préciser :

**Evolution du traitement** et raison des modifications :

**Age à l'instauration de l'insuline =**

**Evaluation de la sécrétion d'insuline endogène** à l'instauration de l'insuline :

- Insulinémie à jeun =
- Insulinémie post-prandiale =
- Peptide C à jeun =
- Peptide C post-prandial =

### Troisième partie : COMPLICATIONS

- **Sur le plan ophtalmologique :**

*(En cas d'anomalie, merci de préciser l'âge d'apparition)*

- Pas d'anomalie
- Rétinopathie diabétique
- Dystrophie maculaire réticulée
- Autre anomalie → Préciser :

- **Sur le plan rénal :**

*(En cas d'anomalie, merci de préciser l'âge d'apparition)*

- Créatininémie / Clairance MDRD =
- Microalbuminurie =
- Histologie sur PBR (s'il y a lieu) :
  - Normale
  - Sclérose glomérulaire segmentaire et focale
  - Autre anomalie → Préciser :

### Quatrième partie : COMORBIDITES

- HTA
- Dyslipidémie
- Surdité
  - Bilatérale
  - Neurosensorielle
  - Prédominant sur les hautes fréquences

**Myopathie** → Préciser :

**Atteinte neurologique** → Préciser :

**Autre** → Préciser :

<b>Cinquième partie : AUX DERNIERES NOUVELLES</b>
---------------------------------------------------

- **Age** du patient :
- Dernière **HbA1c** :
- **Traitement** actuel :

## **Annexe 2 : Consentement de prélèvement**

### **CHU de Nice**

Service de Génétique médicale

Hôpital de l'Archet 2, 151 route de Saint Antoine de Ginestière, B.P. 3079, 06202 Nice Cedex 3

Tél : 04 92 03 62 43 Fax : 04 92 03 64 65

### **CONSENTEMENT DE PRELEVEMENT DANS UN BUT D'ETUDE GENETIQUE ET/OU DE CONSERVATION DANS UNE BANQUE D'ADN**

Je soussigné(e).....  
autorise le Docteur..... à faire exécuter à partir du prélèvement  
réalisé ce jour/le.....\*,  
sur ma personne ou celle de mon enfant\*.....  
les analyses chromosomiques (étude du caryotype) et/ou moléculaires (étude de l'ADN) qui peuvent  
aider au diagnostic ou à la prévention de la maladie qui motive la présente consultation.  
Le Docteur..... m'a informé(e) de la nature de ces analyses,  
notamment le fait qu'elles sont effectuées par un Laboratoire agréé, qu'elles peuvent ne pas aboutir  
rapidement et nécessiter des analyses complémentaires, voire la pratique d'un autre prélèvement,  
qu'elles peuvent ainsi s'étendre sur des délais relativement longs et que le prélèvement, ou les produits  
de celui-ci, seront conservés tout le temps nécessaire.  
Le Docteur..... m'a informé(e) de la portée de ces analyses,  
notamment en ce qui concerne les caractéristiques de la maladie recherchée, des moyens de la  
détecter, des possibilités de prévention et de traitement.  
J'autorise le recueil, la saisie et le traitement des données contenues dans mon dossier médical en toute  
confidentialité. J'ai été informé(e) que, conformément aux dispositions de la loi n°78-17 du 6 janvier  
1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, je dispose d'un droit d'accès et de  
rectification par l'intermédiaire du médecin que je désignerai à cet effet.  
Je demande/refuse\* que les résultats des analyses menées me soient communiqués et expliqués par le  
Docteur..... qui les a prescrites. Je pourrai à tout moment réviser ma  
position à cet égard et, si je le désire, demander que le prélèvement qui m'a été fait ou les produits de  
celui-ci me soient restitués.  
Si les résultats de ces analyses apparaissaient utiles à d'autres membres de ma famille,  
j'accepte/refuse\* qu'ils puissent être utilisés à cette fin et que l'information strictement nécessaire soit  
transmise aux médecins des membres de ma famille qui en feraient la demande.  
Je donne mon accord /je m'oppose\* à ce que le prélèvement ou la partie du prélèvement non utilisée à  
visée diagnostique soit mise à la disposition de la communauté scientifique, sous forme anonymisée, à  
des fins de recherche biomédicale.

Fait à....., le ...../...../....., en double exemplaire.

Signature et nom du praticien

Signature de l'intéressé(e)

\* Rayer la mention inutile.

### **ATTESTATION DE CONSULTATION**

Je soussigné, Docteur....., certifie avoir reçu en consultation  
Madame/Mademoiselle/Monsieur....., lui avoir apporté les  
informations définies selon l'article R 1131-5 du Code de la Santé Publique et avoir recueilli son  
consentement éclairé dans les conditions prévues à l'article R 1131-4.

Signature du praticien

### Annexe 3 : Fiche de renseignements cliniques

**Centre de Référence des Pathologies Mitochondriales**  
**Service de Génétique – Hôpital L'ARCHET 2 – NICE**  
 Fiche de renseignements cliniques

**PATIENT**  
 Nom : .....  
 Prénom : .....  
 Date de naissance : .....  
 Lieu de naissance : .....

**MEDECIN PRESCRIPTEUR**  
 Nom : .....  
 Adresse : .....  
 .....

Ethnie : ..... Maladie évolutive.....  
 Consanguinité : ..... Début : .....  
 Hérité : ..... *Joindre un arbre généalogique* ..... Décès : .....

<p><b>SYSTEME NERVEUX (O/N)</b></p> <p><b>CENTRAL</b> : Atteinte des fonctions :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Pyramidales.....</li> <li>Sensitives.....</li> <li>Tronc cérébral.....</li> <li>Cérébelleuses.....</li> <li>Visuelles.....</li> <li>Sphinctériennes.....</li> <li>Cognitives.....</li> </ul> <p>Psychomotricité : Normal / Retard / Régression</p> <p>Encéphalopathie : .....</p> <p>Epilepsie : ..... aggravée par VPA.....</p> <p>Mouvements anormaux : .....</p> <p>Céphalées : .....</p> <p>Hypotonie axiale/hypertonie périphérique : .....</p> <p><b>PERIPHERIQUE</b>: Neuropathies périphériques              sensitive/ motrice - axonale / démyélinisante</p> <p><b>MUSCLE (O/N)</b></p> <p>Hypotonie globale : .....</p> <p>Faiblesse musculaire : ..... Myalgies : .....</p> <p>Ophthalmoparésie : ..... Ptosis : .....</p>	<p><b>COEUR (O/N)</b></p> <p>Cardiomyopathie :...Hypertrophique / Dilatée / Restrictive</p> <p>Trouble de la conduction..... QT long.....</p> <p><b>FOIE (O/N)</b> Insuffisance hépatique.....</p> <p>Hépatomégalie..... Cholestase..... Cytolyse.....</p> <p><b>REIN (O/N)</b> Tubulopathie.....Insuffisance rénale.....</p> <p><b>OPHTALMOLOGIE (O/N)</b></p> <p>Rétinite pigmentaire..... Atrophie optique.....</p> <p>Cataracte..... Dystrophie maculaire .....</p> <p><b>SURDITE (O/N)</b>.....</p> <p><b>DIVERS (O/N)</b></p> <p>Retard de croissance intra-utérin..... post-natal.....</p> <p>Diabète :..... Insulino-traité.....</p> <p>Insuffisance pancréatique externe.....</p> <p>Diarrhée..... Pseudo-obstruction intestinale.....</p> <p>Anémie..... Sidéroblastique.....microcytaire.....</p> <p>Neutropénie.....permanente.....cyclique.....</p> <p><b>Autres</b>.....</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**IRM / Scanner : (O/N)**

Anomalies de la substance blanche : ..... Localisation.....

Atteinte des noyaux gris centraux : ..... Calcifications.....

Spectro : ..... pic de lactates.....

**BIOCHIMIE :**

Hypoglycémie..... AJ.....PP..... Autres.....

Hyperlactatémie ..... Hyperlactatorachie..... Lactates/pyruvates..... OHbutyrate/Acétocétate .....

AGTLC.....CAA plasmatiques..... CAO urinaire ..... Carnitine et acyl-carnitine : .....

**HISTOLOGIE MUSCLE :**

Normal..... Surcharge lipidique..... Autres.....

Fibres Ragged Red .....Fibres Cox négative.....

## Annexe 4 : Procédure de prélèvement et d'envoi

Tous les prélèvements doivent être accompagnés du consentement éclairé du patient ou des parents en cas de patient mineur, ainsi que des renseignements cliniques. En cas de prélèvement extérieur au CHU de Nice, joindre également un bon de facturation.

<b>Prélèvements</b>	<b>Procédure de prélèvement</b>	<b>Procédure d'envoi</b>
<b>Sanguin</b>	Sur tube EDTA : au minimum 10 ml de sang pour un adulte, et quelques ml pour un enfant	
<b>Urinaire</b>	20 ml d'urines (au moins 10 ml) dans un pot stérile	- Envoyer à l'adresse ci-dessus
<b>Frottis buccal</b>	- Gratter la face interne de la joue avec une palette en plastique (4 à 5fois) - La déposer dans un pot stérile (NE PAS utiliser d'écouvillon en coton ou de palette en bois)	- à <u>température ambiante</u> - dans les <u>plus brefs délais</u> par un service de livraison rapide (ex : chronopost)
<b>Cutané</b>	- Conditions stériles : nettoyage de la peau avec un produit désinfectant non iodé - Prélèvement cutané immédiatement plongé dans un tube stérile rempli de sérum physiologique - <u>Spécifier la suspicion de maladie mitochondriale</u> pour que la biopsie soit mise dès réception dans un milieu de culture adapté	Pour le <b>frottis buccal</b> : réception au <u>plus tard le JEUDI</u> .
<b>Tissulaire (muscle, foie, rein, cœur...)</b>	Deux morceaux tissulaires d'une taille minimum de 5 mm de côté doivent être mis <u>immédiatement</u> dans un tube sec (type NUNC) étiqueté et congelé <u>immédiatement</u> dans l'azote liquide (penser à amener un container plein dans le bloc avant le début de la biopsie). Une fois congelé, le prélèvement doit être stocké à <u>-80°C</u> , en attendant son acheminement vers le laboratoire.	- Envoyer à l'adresse ci-dessus <u>Obligatoirement</u> : - Dans la carboglace (ou dans l'azote liquide si acheminé directement depuis le bloc) - Dans les <u>plus brefs délais</u> - Et <u>surtout</u> sans rupture de la chaîne du froid.

## SERMENT D'HIPPOCRATE



En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admise dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'Humanité.

Respectueuse et reconnaissante envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

## RÉSUMÉ

Contexte : Si la mutation la plus fréquente dans le diabète mitochondrial est la mutation ponctuelle m.3243A>G de l'ADN mitochondrial (ADNmt), la place des mutations rares de l'ADNmt est mal connue.

Objectif : L'objectif principal était d'analyser les caractéristiques phénotypiques des patients diabétiques porteurs d'une mutation rare de l'ADNmt.

Matériel et méthodes : Notre étude observationnelle qualitative et quantitative a été menée d'une part à partir d'une revue de la littérature réalisée sur la base de données PubMed de 1992 à mai 2016, et d'autre part à partir d'une cohorte de patients extraits d'une étude *princeps* sur la place des mutations rares dans les maladies mitochondriales. Les données ont été issues de la base de données de l'étude *princeps* et d'un questionnaire envoyé aux médecins référents des patients.

Résultats : Notre étude a inclus 50 patients (40 de la revue de la littérature et 10 de l'étude *princeps*). Les phénotypes diabétiques étaient très hétérogènes en termes d'âge et de mode d'apparition du diabète, de prise en charge thérapeutique et de signes cliniques et biologiques associés. Les symptômes neurologiques étaient statistiquement plus fréquents en cas de mutation rare qu'en cas de mutation 3243 (40 vs 18%,  $p=0.024$ ). A l'inverse, la surdité (65 vs 98%,  $p=3.7E-5$ ), la dystrophie maculaire réticulée (20 vs 86%,  $p=1.6E-10$ ) et la néphropathie (8 vs 28%,  $p=0.018$ ) étaient statistiquement moins fréquentes en cas de mutation rare.

Conclusion : S'il ne semble pas exister de phénotype métabolique spécifique des mutations rares de l'ADNmt, le phénotype se distingue de celui du MIDD classique associé à la mutation m.3243A>G sur les atteintes associées au diabète, avec une moindre fréquence de la surdité, de la dystrophie maculaire réticulée et de la néphropathie, et au contraire une fréquence plus élevée des signes neurologiques associés.