



**HAL**  
open science

# Place des maladies mitochondriales dans une cohorte de patients porteurs d'épilepsie à début précoce évalués dans un centre de référence entre 2007 et 2017

Julien Neveu

## ► To cite this version:

Julien Neveu. Place des maladies mitochondriales dans une cohorte de patients porteurs d'épilepsie à début précoce évalués dans un centre de référence entre 2007 et 2017. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02613825

**HAL Id: dumas-02613825**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02613825>**

Submitted on 20 May 2020

**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.

**PLACE DES MALADIES MITOCHONDRIALES DANS  
UNE COHORTE DE PATIENTS PORTEURS D'EPILEPSIE  
A DEBUT PRECOCE EVALUES DANS UN CENTRE DE  
REFERENCE ENTRE 2007 ET 2017**

THESE D'EXERCICE DE MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 22 octobre 2019

à la Faculté de Médecine de Nice

par

Monsieur Julien NEVEU

Né le 20 février 1991 à Cagnes-sur-Mer (06)

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

Spécialité Pédiatrie

JURY :

Madame le Professeur Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER	Présidente du Jury
Monsieur le Docteur Christian RICHELME	Assesseur
Monsieur le Professeur Pierre THOMAS	Assesseur
Monsieur le Professeur Mathieu MILH	Directeur



Liste des enseignants au 1er septembre 2018 à la Faculté de Médecine de Nice

**Doyen**

**Pr. BAQUÉ Patrick**

**Vice-doyens**

**Pédagogie  
Recherche  
Etudiants**

**Pr. ALUNNI Véronique  
Pr DELLAMONICA jean  
M. JOUAN Robin**

**Chargé de mission projet Campus**

**Pr. PAQUIS Philippe**

Conservateur de la bibliothèque

Mme AMSELLE Danièle

Directrice administrative des services

Mme CALLEA Isabelle

Doyens Honoraires

M. RAMPAL Patrick  
M. BENCHIMOL Daniel

**Liste des enseignants au 1er septembre 2018 à la Faculté de Médecine de Nice**
**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

M.	AMIEL Jean	Urologie (52.04)
M.	BAQUÉ Patrick	Anatomie - Chirurgie Générale (42.01)
M.	BERNARDIN Gilles	Réanimation Médicale (48.02)
M.	BOILEAU Pascal	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	DARCOURT Jacques	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	ESNAULT Vincent	Néphrologie (52-03)
M.	FENICHEL Patrick	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FUZIBET Jean-Gabriel	Médecine Interne (53.01)
M.	GILSON Éric	Biologie Cellulaire (44.03)
M.	GUGENHEIM Jean	Chirurgie Digestive (52.02)
M.	HASSEN KHODJA Reda	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	HÉBUTERNE Xavier	Nutrition (44.04)
M.	HOFMAN Paul	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
Mme	ICHAÏ Carole	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	LACOUR Jean-Philippe	Dermato-Vénérologie (50.03)
M.	LEFTHERIOTIS Geogres	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (51.04)
M.	MARQUETTE Charles-Hugo	Pneumologie (51.01)
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)
Mme	PAQUIS Véronique	Génétique (47.04)
M.	PAQUIS Philippe	Neurochirurgie (49.02)
M.	QUATREHOMME Gérald	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	RAUCOULES-AIMÉ Marc	Anesthésie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	ROBERT Philippe	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	SANTINI Joseph	O.R.L. (55.01)
M.	THYSS Antoine	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	TRAN Albert	Hépatogastro-entérologie (52.01)

**Liste des enseignants au 1er septembre 2018 à la Faculté de Médecine de Nice**
**PROFESSEURS PREMIERE CLASSE**

Mme	ASKENAZY-GITTARD Florence	Pédopsychiatrie (49.04)
M.	BARRANGER Emmanuel	Gynécologie Obstétrique (54.03)
M.	BÉRARD Étienne	Pédiatrie (54.01)
Mme	BLANC-PEDEUTOUR Florence	Cancérologie – Génétique (47.02)
M.	BONGAIN André	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
Mme	BREUIL Véronique	Rhumatologie (50.01)
M.	CASTILLO Laurent	O.R.L. (55.01)
M.	CHEVALLIER Patrick	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	DE PERETTI Fernand	Anatomie-Chirurgie Orthopédique (42.01)
M.	DRICI Milou-Daniel	Pharmacologie Clinique (48.03)
M.	FERRARI Émile	Cardiologie (51.02)
M.	FERRERO Jean-Marc	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	FONTAINE Denys	Neurochirurgie (49.02)
M.	GIBELIN Pierre	Cardiologie (51.02)
M.	HANNOUN-LEVI Jean-Michel	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	LEVRAUT Jacques	Médecine d'urgence (48.05)
M.	LONJON Michel	Neurochirurgie (49.02)
M.	MOUNIER Nicolas	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	PADOVANI Bernard	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	PICHE Thierry	Gastro-entérologie (52.01)
M.	PRADIER Christian	Épidémiologie, Économie de la Santé et Prévention (46.01)
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.	TROJANI Christophe	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)

**Liste des enseignants au 1er septembre 2018 à la Faculté de Médecine de Nice**
**PROFESSEURS DEUXIEME CLASSE**

Mme	ALUNNI Véronique	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	ANTY Rodolphe	Gastro-entérologie (52.01)
M.	BAHADORAN Philippe	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	BAILLIF Stéphanie	Ophthalmologie (55.02)
Mme	BANNWARTH Sylvie	Génétique (47.04)
M.	BENIZRI Emmanuel	Chirurgie Générale (53.02)
M.	BENOIT Michel	Psychiatrie (49.03)
M.	BOZEC Alexandre	ORL- Cancérologie (47.02)
M.	BREAUD Jean	Chirurgie Infantile (54-02)
M.	CHEVALIER Nicolas	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)
Mme	CHINETTI Giulia	Biochimie-Biologie Moléculaire (44.01)
M.	CLUZEAU Thomas	Hématologie (47.01)
M.	DELLAMONICA Jean	réanimation médicale (48.02)
M.	DELOTTE Jérôme	Gynécologie-obstétrique (54.03)
M.	FOURNIER Jean-Paul	Thérapeutique (48-04)
Mlle	GIORDANENGO Valérie	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	GIOVANNINI-CHAMI Lisa	Pédiatrie (54.01)
M.	GUÉRIN Olivier	Méd. In ; Gériatrie (53.01)
M.	IANNELLI Antonio	Chirurgie Digestive (52.02)
M.	ILIE Marius	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M	JEAN BAPTISTE Elixène	Chirurgie vasculaire (51.04)
M.	PASSERON Thierry	Dermato-Vénérologie (50-03)
M.	ROGER Pierre-Marie	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROHRLICH Pierre	Pédiatrie (54.01)
M.	ROUX Christian	rhumatologie (50.01)
M.	RUIMY Raymond	Bactériologie-virologie (45.01)
Mme	SACCONI Sabrina	Neurologie (49.01)
M.	SADOUL Jean-Louis	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)

**Liste des enseignants au 1er septembre 2018 à la Faculté de Médecine de Nice**
**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

M.	AMBROSETTI Damien	Cytologie et Histologie (42.02)
M.	BENOLIEL José	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
Mme	BERNARD-POMIER Ghislaine	Immunologie (47.03)
M.	BRONSARD Nicolas	Anatomie Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (42.01)
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	HINAULT Charlotte	Biochimie et biologie moléculaire (44.01)
M.	HUMBERT Olivier	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
Mme	LAMY Brigitte	Bactériologie-virologie (45.01)
Mme	LONG-MIRA Elodie	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	MAGNIÉ Marie-Noëlle	Physiologie (44.02)
Mme	MOCERI Pamela	Cardiologie (51.02)
M.	MONTAUDIE Henri	Dermatologie (50.03)
Mme	MUSSO-LASSALLE Sandra	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	NAÏMI Mourad	Biochimie et Biologie moléculaire (44.01)
Mme	POMARES Christelle	Parasitologie et mycologie (45.02)
M.	SAVOLDELLI Charles	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie (55.03)
Mme	SEITZ-POLSKI barbara	Immunologie (47.03)
M.	TESTA Jean	Épidémiologie Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	TOULON Pierre	Hématologie et Transfusion (47.01)



**Liste des enseignants au 1er septembre 2018 à la Faculté de Médecine de Nice**
**PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS**

M. HOFLIGER Philippe Médecine Générale (53.03)

**MAITRE DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS**

M. DARMON David Médecine Générale (53.03)

**PROFESSEURS AGRÉGÉS**

Mme LANDI Rebecca Anglais

**PRATICIEN HOSPITALIER UNIVERSITAIRE**

M. DURAND Matthieu Urologie (52.04)

**PROFESSEURS ASSOCIÉS**

M. GARDON Gilles Médecine Générale (53.03)

Mme MONNIER Brigitte Médecine Générale (53.03)

**MAITRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS**

Mme CASTA Céline Médecine Générale (53.03)

M. GASPERINI Fabrice Médecine Générale (53.03)

M. HOGU Nicolas Médecine Générale (53.03)

## Liste des enseignants au 1er septembre 2018 à la Faculté de Médecine de Nice

### Constitution du jury en qualité de 4ème membre

#### Professeurs Honoraires

M ALBERTINI Marc	M. GASTAUD Pierre
M. BALAS Daniel	M. GÉRARD Jean-Pierre
M. BATT Michel	M. GILLET Jean-Yves
M. BLAIVE Bruno	M. GRELLIER Patrick
M. BOQUET Patrice	M. GRIMAUD Dominique
M. BOURGEON André	M. JOURDAN Jacques
M. BOUTTÉ Patrick	M. LAMBERT Jean-Claude
M. BRUNETON Jean-Noël	M. LAZDUNSKI Michel
Mme BUSSIERE Françoise	M. LEFEBVRE Jean-Claude
M. CAMOUS Jean-Pierre	M. LE FICHOUX Yves
M. CANIVET Bertrand	Mme LEBRETON Elisabeth
M. CASSUTO Jill-patrice	M. MARIANI Roger
M. CHATEL Marcel	M. MASSEYEFF René
M. COUSSEMENT Alain	M. MATTEI Mathieu
Mme CRENESSE Dominique	M. MOUIEL Jean
M. DAR COURT Guy	Mme MYQUEL Martine
M. DELLAMONICA Pierre	M. ORTONNE Jean-Paul
M. DELMONT Jean	M. PRINGUEY Dominique
M. DEMARD François	M. SAUTRON Jean Baptiste
M. DESNUELLE Claude	M. SCHNEIDER Maurice
M. DOLISI Claude	M. TOUBOL Jacques
Mme EULLER-ZIEGLER Liana	M. TRAN Dinh Khiem
M. FRANCO Alain	M VAN OBBERGHEN Emmanuel
M. FREYCHET Pierre	M. ZIEGLER Gérard

#### M.C.U. Honoraires

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

## REMERCIEMENTS

### **A Madame le Professeur Véronique Paquis-Flucklinger,**

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse et d'apporter votre expertise dans le domaine de la génétique.

Je vous remercie pour votre bienveillance et votre pédagogie qui m'ont beaucoup apporté au cours de ces années d'internat.

Soyez assurée de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

### **A Monsieur le Professeur Pierre Thomas,**

Merci de me faire l'honneur d'être membre de ce jury de thèse et d'avoir accepté d'évaluer mon travail, en apportant votre expertise dans le domaine de la neurologie.

Soyez assuré de ma sincère gratitude.

### **A Monsieur le Docteur Christian Richelme,**

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté de juger ce travail.

Vous avez su me donner l'envie de m'orienter vers la neuropédiatrie. Je vous remercie pour votre bienveillance, votre enseignement et vos conseils durant ces années d'internat.

Je suis fier et honoré de pouvoir bientôt travailler avec vous.

Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

### **A Monsieur le Professeur Mathieu Milh,**

Je te remercie d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse.

Merci de m'avoir conseillé, aidé et corrigé durant ce travail. Je te suis reconnaissant de tout ce que tu as pu m'apporter jusqu'ici.

Tes connaissances, ta bienveillance et ta pédagogie sont pour moi un véritable exemple, et je suis honoré de pouvoir faire prochainement partie de ton équipe.

Sois assuré de ma profonde et sincère admiration.

## REMERCIEMENTS

### **A mes parents, mes grands-parents et à mon frère Sylvain,**

Merci pour votre soutien pendant toutes ces années d'études, je n'aurais pas pu y arriver sans vous. Je vous dédie cette thèse.

Je vous aime.

*A Daniel et à Claude.*

### **A Flo,**

Je te souhaite tous les robinets à l'endroit et les pizzas à l'ananas que tu voudras (sache que oui, on te juge), qui va me surveiller dans les taxis de retour maintenant ? J'espère que tout ira bien pour vous pendant cette parenthèse parisienne et qu'on se reverra vite !

### **A Thomas,**

Si tu n'existais pas, je crois qu'il faudrait t'inventer. Le fait que tu sois toujours en un seul morceau malgré de nombreuses expériences à base de plongée en eaux peu profondes et de voyages en pays hostiles restera un mystère pour la science. Je te souhaite plein de bonheur car tu le mérites.

### **A Alric,**

Même si le réchauffement climatique nous tuera tous d'ici quelques années, je te souhaite plein de bonnes choses et j'espère que ça se passera bien pour ta nouvelle formation. Fais quand même attention aux éoliennes sur le chemin.

### **A Arthur,**

Je suis vraiment heureux de te voir aller mieux dans ta nouvelle vie lyonnaise, même si ça veut dire qu'on se voit beaucoup moins souvent, espèce de cornichon, va !

### **A Pauline,**

Coach sportive, consœur de râlage à l'internat, mais surtout une vraie amie, je suis content de savoir que tu as trouvé un poste qui te correspond et je vous souhaite tout le bonheur du monde avec Guillaume au pays des frites et de la bière. J'espère qu'on arrivera à garder contact. Coeur avec les doigts ;)

### **A Maxime et Elody,**

La route a été longue depuis la P2 et les Lauréades, mais on arrive enfin au bout. Vous faites une magnifique famille avec votre petit Lucas. Je vous souhaite plein de bonnes choses pour la suite.

### **A John,**

Quel chemin parcouru depuis les sutures épiques sur patients alcoolisés et les Tulle gras en pleine nuit à St Roch, en passant par de nombreuses soirées internat toujours très productives et intelligentes... Merci d'être là, je te souhaite le meilleur pour la suite.

### **A Vincent,**

Je n'ai pas encore acheté la roulotte mais j'y songe, je te garde une place ?

Je te souhaite d'être heureux quelle que soit la direction que tu prendras, et n'oublie pas : la ventoline, c'est 2,5 mg.

Aux autres copains de l'externat,

**Michael, Jim, Djé, Martin, Flore,** même si la distance s'est installée, l'externat et la D4 n'auraient pas été pareils sans vous.

A mes anciens et actuels co-internes,

**Blandine**, toujours à ton service ; plein de bonheur dans votre nouvelle vie parisienne, en espérant qu'on arrivera à se voir de temps en temps !

**Sarah et Agnès**, force et honneur pour l'hiver qui vient, on se revoit bientôt !

**Mathilde M**, merci d'apporter ta bonne humeur, même dans les moments difficiles, Et bien sûr **Jojo, Philou, Clara, Marion, Cécile, Mélissa, Clémentine, Elise, Marine, Pascaline, Jennifer R, Julie B, Anne-Lise, Aymène, Sophie, Sidonie, Jade, Amandine, Mathilde V, Chloé, JB, Jean-Marc, Julie S, Robin, Ivana, Emma, Pierre, Lorenzo, Jennifer B**, j'espère vous revoir, à l'hôpital ou ailleurs !

A **Edeline**, j'espère que ta route ira là où tu le souhaites,

A **Pierre-Yves**, dommage pour Nice et Marseille, tant mieux pour Strasbourg... Plein de bonnes choses pour la suite à toi et toute ta famille !

A **Anne-Laure, Camille, Mathilde, Sibylle, Eva, Marie, Bérengère, Charlotte, Nacim, Elsa, Elvira, Marie-Amélie, Margot, Stéphanie, Valérie, Mickaël, Audrey, Emmanuelle, Sébastien et tous les pédiatres niçois**, merci pour tout ce que vous m'avez apporté au cours de mon internat.

A **tu.te.s les infirmier.e.s et auxiliaires de Lenval et de l'Archet**, pour tout ce que vous m'avez appris (combien de fois j'ai pu faire illusion et éviter de faire n'importe quoi en vous écoutant ?), et pour votre soutien au cours d'un internat pas toujours facile,

A **l'équipe du 5e**, dont certaines m'ont connu externe, ce qui donne bien sûr une crédibilité à toute épreuve, je vous dis à bientôt en espérant que vous arriverez à me supporter,

A **l'équipe des urgences**, toujours présente même pour les gardes les plus horribles en plein cœur de l'hiver, à bientôt également,

A **l'équipe de réa néonatal**, même si je ne viens plus depuis un moment, c'est toujours un plaisir de vous revoir. A **Sandrine**, merci pour ton aide dans ma recherche de dossiers.

A **l'équipe de réa pédiatrique**, merci pour ce dernier semestre, pour votre compétence et votre bonne humeur même dans les mauvais jours, ça a été un plaisir de travailler avec vous.

Un merci particulier à **Gérald** entre autres pour ton sauvetage héroïque de téléphone, et à **Angélique** (je n'ai pas oublié pour l'arroser !!)

A toute **l'équipe des EFSN de Lenval**,

Au **Dr Georges Suisse**, pour tout ce que vous m'avez appris pendant ces 6 mois, pour les kilomètres d'EEG regardés ensemble et pour avoir redonné du sens au mot compagnonnage, en vous souhaitant de profiter d'une retraite amplement méritée,

Au **Pr Georges Leftheriotis** et au **Dr Nathalie Dehan**,

A **Marie-Pierre, Emilie, Jean-Marc, Fabien, Régine et Sébastien**, meilleurs techniciens du monde, merci pour ce que vous m'avez apporté, j'espère avoir encore longtemps la chance de travailler avec vous.

A toute **l'équipe du service de neuropédiatrie et maladies métaboliques du CHU de Marseille**,

Au **Pr Brigitte Chabrol**, pour votre exemple, votre enseignement dans le domaine des maladies neurologiques et métaboliques et votre soutien pour ce poste partagé pendant 2 ans, je suis fier de pouvoir rejoindre votre équipe,

Au **Dr Aline Cano**, pour ta rigueur, tes connaissances et ton aide précieuse pour la prise en charge des patients niçois,

A **Celia et Francesca**, en espérant que vous arriverez à me supporter pendant un an !!

**A toute l'équipe de neuropédiatrie du CHU de Lille,**

Au **Pr Sylvie Nguyen**, pour votre enseignement pendant ces 6 mois et pour votre aide pendant les moments difficiles,

Et à **Lucie, Maxime et Manu**, pour votre soutien, votre cuisine, et votre ambiance sonore parfois douteuse mais toujours divertissante,

**A toute l'équipe du laboratoire de génétique du Pr Paquis,**

Merci pour votre accueil pendant cette année de Master 2,

Au **Pr Sylvie Bannwarth**, pour ta rigueur, ton enseignement et ton aide pour cette initiation à la recherche scientifique, et aussi pour la carboglace dans l'eau (un franc succès à chaque fois),

Au **Dr Annabelle Chaussonot**, au **Dr Konstantina Fragaki**, au **Dr Cécile Rouzier**, au **Dr Samira Saadi** et à **Claire Hoarau** pour votre aide précieuse dans la préparation et la rédaction de cette thèse,

A **Elamine et Loïc**, les Tic et Tac de la génétique,

Et un merci tout particulier à **Gaëlle** (et voilà... c'est fini !!) et à **Mathieu** (m'voyeeez).

Merci au **Pr François Rivier**, au **Dr Florence Riccardi** et au **Dr Laurent Villard** pour leur aide dans mon recueil de données.

Un remerciement tout particulier au **Dr Antoine Tran**, pour ton aide indispensable pour la partie statistique, ta disponibilité en plein milieu d'anniversaires d'enfants le dimanche et ton sens de l'humour à toute épreuve.

## Table des matières

<b>Liste des abréviations</b>	<b>14</b>
<b>Introduction</b>	<b>15</b>
<b>Matériel et méthodes</b>	<b>17</b>
<b>Résultats</b>	<b>20</b>
<b>Discussion</b>	<b>33</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>39</b>
<b>Résumé</b>	<b>42</b>
<b>Abstract</b>	<b>43</b>
<b>Annexes</b>	<b>44</b>

**LISTE DES ABREVIATIONS**

ADN : acide désoxyribonucléique

ADNmt : ADN mitochondrial

ATP : adénosine triphosphate

BN-PAGE : Blue Native-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

CDG : congenital disorder of glycosylation

CGH-array : comparative genomic hybridization array

CMD : cardiomyopathie dilatée

CMH : cardiomyopathie hypertrophique

COX : cytochrome oxydase

CRM : chaîne respiratoire mitochondriale

GABA : acide gamma-aminobutyrique

IRM : imagerie par résonance magnétique

MDC : Mitochondrial Disease Criteria

MELAS : Mitochondrial Encephalomyopathy with Lactic Acidosis and Stroke-like events

MERRF : Myoclonic Epilepsy with Ragged-Red Fibers

NGS : next-generation sequencing

OXPHOS : phosphorylation oxydative

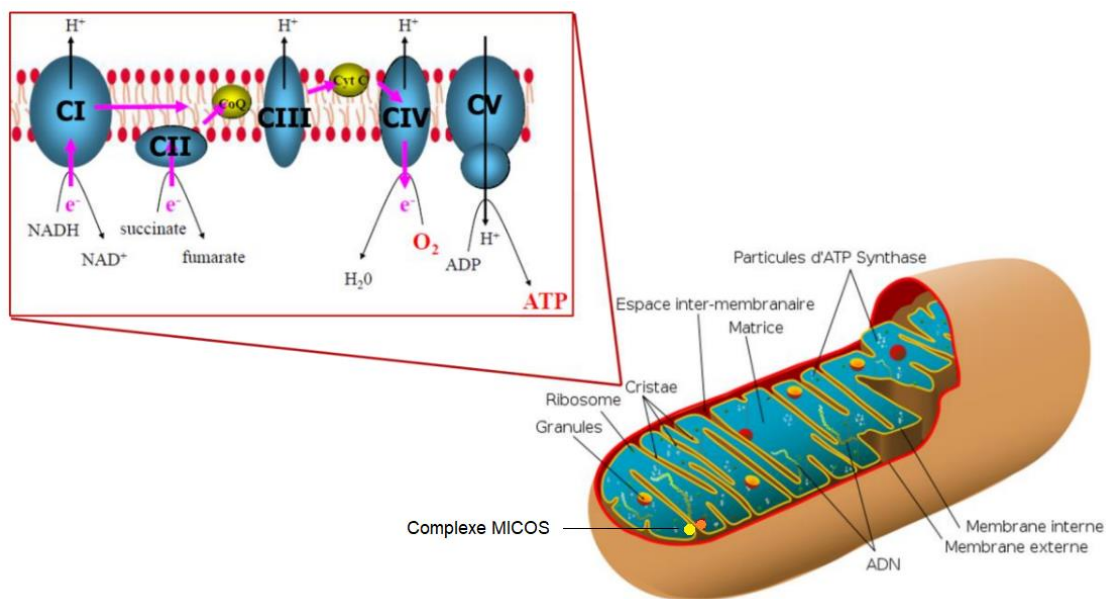
TND : trouble du neurodéveloppement

WES : whole exome sequencing



## 1) INTRODUCTION

Les mitochondries sont des organites à double membrane, présentes dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. Elles ont pour fonction principale la production d'énergie de la cellule sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). Elles sont constituées d'une membrane externe perméable pour les molécules de faible poids moléculaire, d'un espace intermembranaire, d'une membrane interne qui présente des invaginations pour former les crêtes mitochondriales et d'une matrice. Elles sont organisées en réseau mitochondrial dynamique, en mouvement constant grâce à la fusion et la fission des membranes externes et internes. Les mitochondries possèdent leur propre ADN (ADNmt), molécule circulaire à double brin présente sous forme de multiples copies dans les mitochondries, comprenant 16569 paires de bases codant pour 37 gènes (1). La chaîne respiratoire mitochondriale est composée de 4 complexes multi-protéiques (complexes CI à CIV) et de l'ATP synthase (complexe CV) qui sont codés par le génome mitochondrial et le génome nucléaire (à l'exception du complexe II qui est uniquement codé par l'ADN nucléaire). La production d'ATP est réalisée grâce à la phosphorylation oxydative (OXPHOS, CI à CIV) et à l'ATP synthase (CV) (**Figure 1**) (2).



**Figure 1 : Structure de la mitochondrie et des complexes de la phosphorylation oxydative.** Structure d'une mitochondrie avec sa double membrane, ses crêtes, le complexe MICOS (Mitochondrial contact site and Cristae Organizing System), la matrice et l'ADNmt. Zoom sur une crête mitochondriale pour observer les différents complexes OXPHOS. CI = NADH CoQ réductase, CII = Succinate CoQ réductase, CoQ = coenzyme Q, CIII = Ubiquinol Cyt c réductase, Cyt c = cytochrome c, CIV = Cytochrome oxydase, CV = F0/F1 ATP synthase.

Au sens strict, le terme de maladie mitochondriale est utilisé pour désigner des pathologies dues à un dysfonctionnement primaire de la chaîne respiratoire mitochondriale, par opposition aux déficits secondaires observés dans un grand nombre de pathologies neurodégénératives (3), mais également de pathologies neuromusculaires ou de maladies héréditaires du métabolisme (4). Les maladies mitochondriales représentent une part importante des maladies héréditaires du métabolisme, avec une incidence estimée d'environ 1/5000 naissances (5). Une prévalence minimale d'environ 1/7600 à la naissance de déficits de la chaîne respiratoire mitochondriale avec début clinique avant 16 ans a également été calculée (6). Les formes de l'enfant évoluent généralement selon un phénotype plus sévère que celles de l'adulte. Les présentations cliniques sont extrêmement variées et peuvent toucher tous les organes de manière aiguë ou progressive (7,8). L'atteinte neurologique a été rapportée comme étant la plus fréquente chez les patients pédiatriques porteurs de maladies mitochondriales, avec 90% de patients atteints (9). Le spectre des manifestations neurologiques possibles est large : épilepsie, encéphalopathie, troubles du neurodéveloppement, ataxie, dystonie, troubles du comportement, épisodes stroke-like. Dans une cohorte pédiatrique récente de patients porteurs de maladie mitochondriale, un début des symptômes avant l'âge de 6 mois était identifié comme un facteur prédictif de mortalité indépendant (10). Dans une autre cohorte, 61% des patients présentaient une épilepsie, pharmacorésistante dans 70% des cas (11). Cependant, à notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée spécifiquement aux épilepsies de début précoce.

La confirmation du diagnostic des maladies mitochondriales est souvent difficile. Les examens paracliniques de première intention peuvent mettre en évidence des anomalies évocatrices au niveau biologique (hyperlactatémie, hyperalaninémie, élévation des intermédiaires du cycle de Krebs à la chromatographie des acides organiques urinaires, acidurie 3-méthylglutaconique...) ou de l'imagerie cérébrale (pic de lactates en spectro-IRM, atteintes de topographie particulière) mais ces éléments pris isolément ne sont pas spécifiques. Plusieurs scores ont été développés pour tenter de colliger ces critères, dont un des plus utilisés est le score MDC (Mitochondrial Disease Criteria), initialement publié en 2002 (12) et réactualisé en 2018 (13). La mise en évidence d'un déficit biochimique au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale est un argument important en faveur d'une dysfonction mitochondriale, mais ne permet pas formellement de différencier maladies mitochondriales et déficits secondaires de la chaîne respiratoire (4). Elle peut être compromise, soit du fait de difficultés techniques, soit du fait d'une expression tissu-spécifique du déficit. Les défauts génétiques (mutations ponctuelles ou délétions) pourvoyeurs de maladies mitochondriales peuvent être localisés dans le génome mitochondrial ou nucléaire, et conduisent à des défauts pouvant toucher les sous-unités et l'assemblage de la chaîne respiratoire mitochondriale, les enzymes et transporteurs localisés dans la mitochondrie, la

transcription ou la traduction de l'ADNmt, la maintenance de l'ADNmt, la biogénèse et la dynamique mitochondriale (4). Les mutations localisées au niveau de l'ADNmt peuvent être hétéroplasmiques (co-existence à degrés variables selon les tissus de mitochondries porteuses du génome muté et de mitochondries non porteuses), ou homoplasmiques (présence de la mutation dans le génome de toutes les mitochondries). L'exploration de l'ADNmt était antérieurement réalisée par recherche de mutations ponctuelles associées à des syndromes bien identifiés, éventuellement complétée en cas de déficit biochimique par la recherche de mutations hétéroplasmiques par la méthode Surveyor (14) et éventuellement de mutations homoplasmiques par la méthode MitoChips (15). A l'heure actuelle, le séquençage de l'ADNmt est réalisé par séquençage à haut débit (NGS). Ces pathologies sont transmises selon un mode d'hérédité maternelle (ADNmt) ou mendélienne (ADN nucléaire). La survenue de mutations *de novo* a également été décrite. L'identification des mutations responsables est le seul moyen de confirmer le diagnostic de ces maladies. A l'heure actuelle, plus de 300 gènes nucléaires ont été impliqués grâce au développement des techniques de NGS (panel ciblé de gènes nucléaires, exome), mais dans la majorité des cas le défaut causal reste à identifier.

L'objectif principal de notre étude était de définir la place des maladies mitochondriales parmi les causes d'épilepsie précoce dans une cohorte de patients évalués dans le Centre de Référence des Maladies Mitochondriales de l'Enfant à l'Adulte du CHU de Nice sur une période de 10 ans. L'objectif secondaire était de rechercher une différence en termes de présentation clinique et paraclinique entre les patients porteurs de maladie mitochondriale et de déficit secondaire de la chaîne respiratoire d'une part, et selon la probabilité de maladie mitochondriale d'autre part.

## **2) MATERIELS ET METHODES**

### **a. Patients**

Les patients ont été sélectionnés parmi les patients enregistrés dans le logiciel utilisé pour le référencement des prélèvements par le service de Génétique médicale du CHU de Nice (TD-Genet). Les données ont été recueillies de façon rétrospective dans le dossier médical du service de Génétique médicale du CHU de Nice et dans les dossiers médicaux des services hospitaliers dont provenaient les prélèvements tissulaires (CHU de Nice et Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille).

Les critères d'inclusion étaient :

- Patients pour lesquels au moins un prélèvement tissulaire (muscle, foie, fibroblastes, coeur, ou rein) exploitable avait été adressé au service de Génétique médicale du CHU de Nice (Centre de Référence des Maladies Mitochondriales de l'Enfant à l'Adulte) pour suspicion de maladie mitochondriale, entre le 01/01/2007 et le 31/12/2017 ;
- Âgés de moins de 18 ans au moment de la réalisation du prélèvement tissulaire ;
- Présentant une épilepsie précoce (survenue de la première crise avant l'âge de 2 ans) ;
- Dont les prélèvements avaient été adressés par un médecin du CHU de Nice ou du CHU de Marseille.

Le traitement des données des patients a été déclaré à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL) avec une inscription au registre de traitement du CHU de Nice sous la référence R04-007 et sur le site de l'Institut National des Données de Santé (INDS) sous la référence MR 1815020519.

## **b. Données cliniques**

Les données suivantes ont été recueillies : âge du patient (à la dernière visite si patient vivant, sinon âge lors du décès) ; sexe ; antécédents familiaux ; consanguinité ; évènements en période périnatale ; développement psychomoteur (normal, trouble du neurodéveloppement ou absence totale d'acquisition) ; acquisition de la station assise et de la marche autonome ; notion de régression psychomotrice ; courbes de croissance (poids, taille, périmètre crânien) ; alimentation entérale (par sonde nasogastrique ou gastrostomie) ; caractéristiques de l'épilepsie (âge de début, type, pharmacorésistance, notion d'état de mal épileptique) ; autre atteinte neurologique (mouvements anormaux non épileptiques, neuropathie, myopathie) ; atteinte extra-neurologique ; lactatémie (dosage effectué à la date la plus proche du prélèvement tissulaire) ; rapport lactate/pyruvate (uniquement si lactatémie > 2 mmol/l) ; lactatorachie ; anomalies spécifiques de la chromatographie des acides aminés sanguins ou urinaires ; pic de lactate sur la séquence de spectrométrie de l'IRM cérébrale ; autres anomalies en IRM cérébrale ; type de prélèvements tissulaires réalisés ; anomalies histologiques des prélèvements tissulaires ; anomalies biochimiques de la chaîne respiratoire mitochondriale (spectrophotométrie, polarographie, électrophorèse par technique Blue Native-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (BN-PAGE)) ; bilans réalisés sur le plan génétique.

Pour chaque patient, nous avons calculé le score clinique MDC (Mitochondrial Disease Criteria) initialement proposé par Wolf et al (12) et récemment revu par Witters et al (13),

reproduit en **Annexe 1**.

Nous avons réparti les patients pour lesquels un diagnostic de certitude avait été établi, par l'identification de mutations pathogènes responsables, en 3 catégories : maladie mitochondriale lorsque le gène concerné était impliqué de façon primaire dans la phosphorylation oxydative, déficit secondaire de la chaîne respiratoire mitochondriale lorsque le gène concerné n'était pas directement impliqué dans la phosphorylation oxydative mais qu'un déficit biochimique avait été retrouvé (spectrophotométrie, oxymétrie ou BN-PAGE), et enfin les autres diagnostics sans déficit de la chaîne respiratoire.

Dans un second temps, afin de prendre en compte les patients pour lesquels aucun diagnostic de certitude n'avait été établi, nous avons réparti les patients en 3 catégories de probabilité de maladie mitochondriale : forte probabilité (score MDC compris entre 5 et 8 associé à un déficit biochimique de la chaîne respiratoire), probabilité intermédiaire (score MDC compris entre 5 et 8 ou déficit biochimique de la chaîne respiratoire), faible probabilité (score MDC compris entre 0 et 4 et absence de déficit biochimique de la chaîne respiratoire).

### **c. Etude biochimique de la chaîne respiratoire**

Les mesures de l'activité enzymatique des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale et de la citrate synthase ont été réalisées par spectrophotométrie à 37°C sur homogénat obtenus à partir de muscle congelé, de foie congelé ou de fibroblastes obtenus à partir de biopsies cutanées, selon les procédures standards (16).

L'exploration oxymétrique de la chaîne respiratoire mitochondriale a été réalisée par polarographie sur homogénat de fibroblastes obtenus à partir de biopsie cutanée selon les procédures standards (16).

Les normes utilisées pour ces mesures sont reproduites en **Annexes 2 à 5**.

L'étude de l'assemblage des complexes et supercomplexes de la chaîne respiratoire mitochondriale a été réalisée par technique de BN-PAGE, selon les procédures standard (17).

### **d. Analyses statistiques**

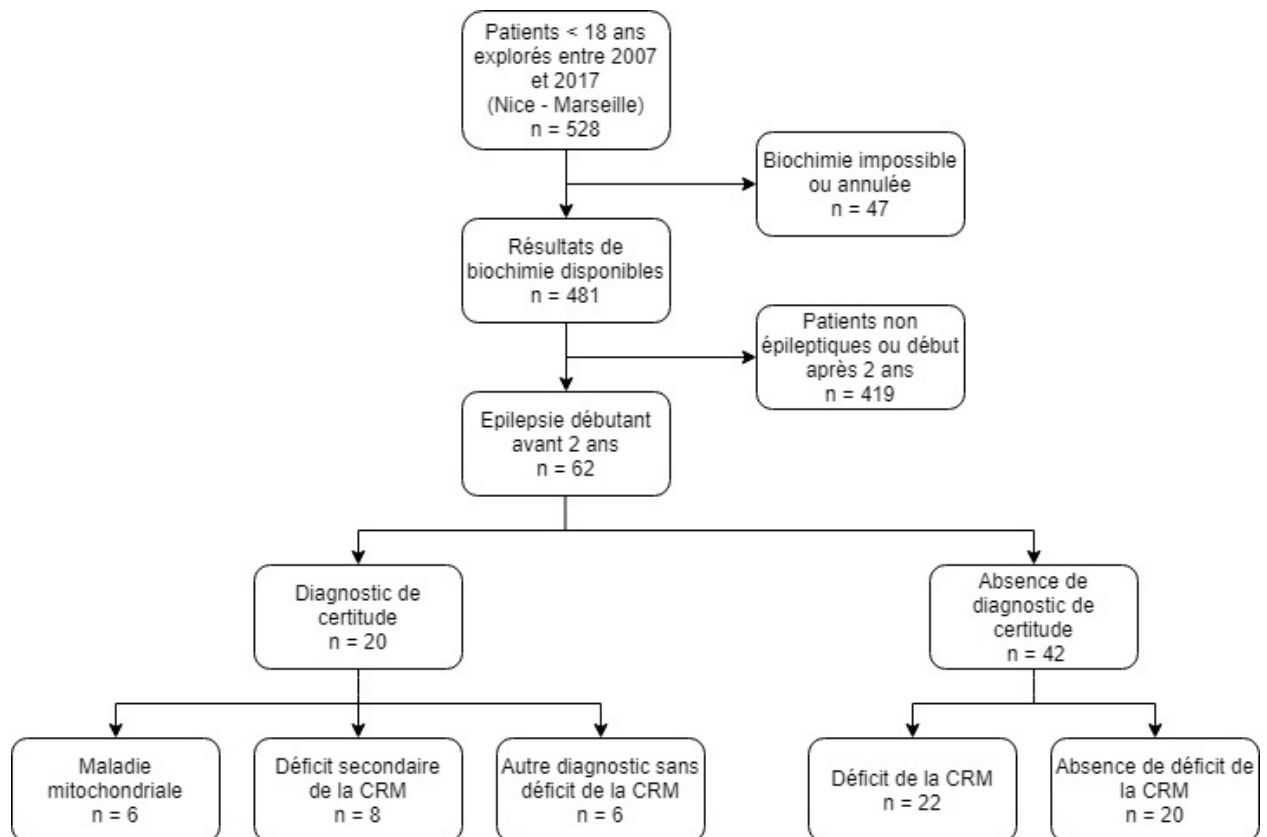
Les données numériques sont rapportées en pourcentages pour les variables catégorielles et en médianes (écart interquartile) pour les variables continues car elles ne suivent pas la loi normale. Les variables quantitatives ont été comparées au moyen du test de Wilcoxon et les variables catégorielles ont été comparées au moyen du test du chi<sup>2</sup> ou du test exact de Fisher, selon les cas. Les données suivantes ont été présentées selon leur présence ou absence : consanguinité,

antécédents familiaux d'ordre neurologique, décès, symptômes en période pré ou périnatale, développement normal, trouble du neurodéveloppement ou absence de développement, notion de régression psychomotrice, microcéphalie, retard de croissance staturale ou pondérale, alimentation entérale par sonde nasogastrique, alimentation entérale par gastrostomie, épilepsie pharmacorésistante, type d'épilepsie, mouvements anormaux, neuropathie, autres atteintes cliniques. La survie des patients a été analysée par la méthode de Kaplan-Meier. Une valeur de  $p$  inférieure à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative. Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels STATA version 10.0 (Stata Corp, College Station, TX) et R Studio version 3.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche) pour Macintosh.

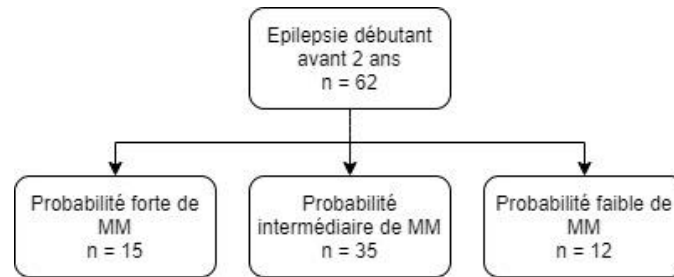
### 3) RESULTATS

#### a) Diagramme de flux

Le diagramme de flux de l'étude est représenté dans les **Figures 2a et 2b**.



**Figure 2a : Diagramme de flux de l'étude.** CRM : chaîne respiratoire mitochondriale.

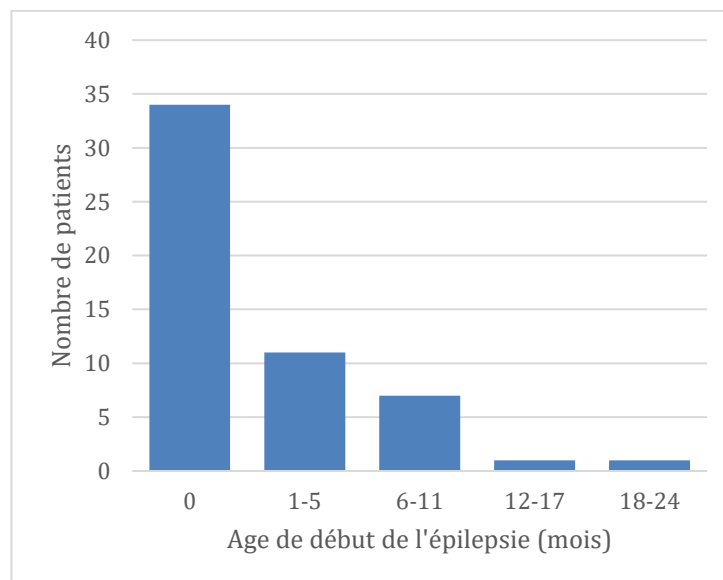


**Figure 2b : Diagramme de flux de l'étude (suite).** MM : maladie mitochondriale.

### b) Présentation clinique des patients inclus

Entre le 01/01/2007 et le 31/12/2017, nous avons identifié 62 patients (38 garçons, 24 filles) répondant aux critères d'inclusion précédemment décrits. Les caractéristiques cliniques des patients inclus sont détaillées dans le **Tableau 1**.

La répartition des patients en fonction de l'âge de début de l'épilepsie est représentée dans la **Figure 3**. La majorité des patients avait une épilepsie à début néonatal, et presque tous les patients avaient débuté leur épilepsie avant l'âge d'un an.



**Figure 3 : Répartition des patients en fonction de l'âge de début de l'épilepsie.**

Tableau 1 : Caractéristiques des patients inclus.

<b>Sex-ratio (M:F)</b>	<b>1,6:1</b>
<b>Parents apparentés</b>	<b>10/54</b>
<b>Antécédents familiaux d'ordre neurologique</b>	<b>16/54</b>
<i>Décès périnatal de cause inconnue</i>	3/54
<i>Tableau identique dans la fratrie</i>	7/54
<i>Epilepsie</i>	10/54
<i>Polyhandicap</i>	4/54
<i>Trouble du neurodéveloppement ou déficience intellectuelle</i>	7/54
<b>Patients décédés</b>	<b>30/55</b>
<i>Âge au décès (mois)</i>	1 (0-8,25)
<i>Dont décès en période néonatale</i>	12/55
<b>Symptômes en période pré- ou périnatale</b>	<b>32/55</b>
<i>Retard de croissance intra-utérin</i>	8/55
<i>Anomalies morphologiques en échographie anténatale</i>	5/55
<i>Prématurité</i>	8/55
<i>Anomalies du rythme cardiaque fœtal</i>	10/55
<i>Hypotonie néonatale</i>	11/55
<i>Détresse respiratoire néonatale</i>	14/55
<i>Malaise grave</i>	5/55
<i>Hypoglycémie</i>	3/55
<b>Développement psychomoteur</b>	
<i>Normal</i>	2/55
<i>Trouble du neurodéveloppement</i>	16/55
<i>Absence de développement</i>	37/55
<i>Patients ayant acquis la station assise</i>	13/55
<i>Patients ayant acquis la marche autonome</i>	6/55
<b>Régression psychomotrice</b>	<b>16/35</b>
<i>Âge de survenue (mois)</i>	9 (3-12)
<b>Microcéphalie</b>	<b>22/54</b>
<i>Congénitale</i>	6/54
<i>Acquise</i>	13/54
<i>Non précisé</i>	3/54
<b>Retard de croissance staturale ou pondérale</b>	<b>23/39</b>
<b>Alimentation entérale</b>	<b>16/37</b>
<i>Par sonde nasogastrique</i>	2/37
<i>Par gastrostomie</i>	14/37
<b>Caractéristiques de l'épilepsie</b>	
<i>Âge de début (mois)</i>	0 (0-3)
<i>Dont début en période néonatale</i>	34/54
<i>Pharmacorésistance</i>	44/54
<i>Type d'épilepsie</i>	
<i>Encéphalopathie épileptique précoce</i>	2/62
<i>Syndrome de West</i>	5/62
<i>Epilepsie focale</i>	31/62
<i>Dont épilepsie avec crises migrantes</i>	13/62
<i>Epilepsie myoclonique</i>	8/62
<i>Autre type d'épilepsie généralisée</i>	8/62
<i>Epilepsie non classable</i>	14/62
<i>Etats de mal épileptique</i>	25/54
<i>Epilepsie toujours active à la date de l'étude</i>	45/55



Tableau 1 (suite et fin).

<b>Mouvements anormaux</b>	<b>17/54</b>
<i>Spasticité</i>	8/54
<i>Dystonie</i>	9/54
<i>Ataxie</i>	3/54
<i>Choréo-athétose</i>	3/54
<b>Neuropathie</b>	<b>0/55</b>
<b>Atteinte musculaire</b>	<b>6/56</b>
<b>Autres atteintes cliniques</b>	<b>21/53</b>
<i>Atteinte visuelle</i>	9/53
<i>Surdité</i>	4/53
<i>Atteinte hépatique</i>	8/53
<i>Cardiomyopathie</i>	8/53
<i>Atteinte hématologique</i>	2/53

Les variables sont rapportées en nombre de patients/nombre de patients pour lesquels l'information était disponible pour les valeurs catégorielles, et en médiane (quartile Q1-Q3) pour les variables continues. Pour les catégories « régression psychomotrice », « retard de croissance staturale ou pondérale » et « alimentation entérale », les patients décédés dans les deux premiers mois de vie sans sortie de service de néonatalogie ont été exclus.

### c) Etiologies retrouvées

Un diagnostic de certitude avait pu être établi chez 20 patients. Pour 6 patients, il avait été conclu à une maladie mitochondriale devant une mutation génétique identifiée de pathogénie certaine. 14 patients avaient un autre diagnostic que celui de maladie mitochondriale, dont 8 présentant un déficit secondaire de la chaîne respiratoire. Les diagnostics identifiés sont détaillés dans le **Tableau 2**.

Enfin, 42 patients restaient sans diagnostic établi, dont 22 présentant des anomalies fonctionnelles au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale (spectrophotométrie, polarographie ou BN-PAGE).

Tableau 2 : Etiologies retrouvées.

Patient	Résumé clinique	Gène en cause (méthode diagnostique)	Physiopathologie
<i>Maladies mitochondriales</i>			
<b>01</b>	Epilepsie focale et myoclonique, microcéphalie, TND, dyskinésies, rétinite pigmentaire	<i>MDH2</i> (exome)	Atteinte de la malate déshydrogénase, enzyme du cycle de Krebs (gène de l'ADN nucléaire)
<b>02</b>	Syndrome de Leigh, décès à 2 mois	<i>NDUFA9</i> (exome)	Atteinte d'une sous-unité du complexe I de la CRM (gène de l'ADN nucléaire)
<b>03</b>	Epilepsie néonatale (crises migrantes), CMH, insuffisance hépatique	<i>MT-CYB</i> (Sanger)	Atteinte d'une sous-unité du complexe III de la CRM (gène de l'ADNmt)
<b>04</b>	Syndrome de Leigh, décès à 12 mois	<i>NDUFS6</i> (panel NGS)	Atteinte d'une sous-unité du complexe I de la CRM (gène de l'ADN nucléaire)
<b>05</b>	Epilepsie focale, microcéphalie, surdité, polyhandicap, décès à 9 mois	<i>ECHS1</i> (panel NGS)	Atteinte d'une enzyme impliquée dans la $\beta$ -oxydation mitochondriale des acides gras (gène de l'ADN nucléaire)
<b>06</b>	Epilepsie, microcéphalie, CMH, décès en période néonatale	<i>TMEM70</i> (Sanger)	Atteinte d'une sous-unité du complexe V de la CRM (gène de l'ADN nucléaire)
<i>Déficits secondaires de la CRM</i>			
<b>07</b>	Epilepsie focale avec crises migrantes, régression à 3 mois, macrocéphalie, polyhandicap, décès à 17 mois	<i>EIF2B4</i> (exome)	Forme sévère de syndrome CACH (Childhood Ataxia with Central Hypomyelination) Atteinte de la synthèse protéique
<b>08</b>	Epilepsie focale peu active, TND, ophtalmoplégie complète et ptosis bilatéral	<i>CHRND</i> (exome)	Syndrome myasthénique congénital
<b>09</b>	Epilepsie focale, polyhandicap, CMD, surdité, décès à 22 mois	<i>Délétion 1p36</i> (CGH-array)	Syndrome polymalformatif dû à une anomalie chromosomique
<b>10</b>	Epilepsie focale néonatale avec crises migrantes, microcéphalie, tétraparésie spastique avec dystonie, polyhandicap, décès à 8 ans	<i>TBC1D24</i> (exome)	Atteinte du système de transport vésiculaire intracellulaire
<b>11</b>	Epilepsie focale néonatale, TND	<i>FHF1</i> (exome)	Atteinte de protéines cytosoliques interagissant avec un canal sodique
<b>12</b>	Epilepsie généralisée, régression à 9 mois, TND, microcéphalie, dystonie focale	<i>RANBP2</i> (Sanger)	Encéphalopathie nécrosante aiguë Atteinte d'une protéine impliquée dans les pores nucléaires
<b>13</b>	Epilepsie myoclonique, régression à 2 ans, dystonie, choréo-athétose, atrophie optique, surdité, polyhandicap	<i>SIAT9</i> (exome)	Déficit de synthèse des gangliosides GM3 (glycosphingolipides membranaires)
<b>14</b>	Epilepsie myoclonique, régression à 3 ans ½, choréo-athétose, atrophie optique, polyhandicap	<i>SIAT9</i> (exome)	Cf ci-dessus

Tableau 2 (suite et fin)

Patient	Résumé clinique	Gène en cause (méthode diagnostique)	Physiopathologie
<i>Autres diagnostics sans déficit de la CRM</i>			
15	Epilepsie généralisée à début néonatal, TND	<i>ATP1A3</i> (exome)	Atteinte d'une Na/K ATPase d'expression neuronale
16	Epilepsie focale après syndrome de West, microcéphalie, dysmorphie faciale, polyhandicap	<i>SETBP1</i> (Sanger)	Physiopathologie inconnue Syndrome de Schinzel-Giedion
17	Epilepsie focale, microcéphalie, TND, entéropathie exsudative, hépatomégalie	<i>ALG8</i> (Sanger)	Déficit congénital de la N-glycosylation des protéines (CDG syndrome type 1H)
18	Epilepsie focale néonatale avec crises migrantes, décès en période néonatale	<i>KCNT1</i> (panel NGS)	Atteinte d'un canal potassique à expression membranaire neuronale
19	Encéphalopathie myoclonique précoce, décès en période néonatale	<i>UBA5</i> (exome)	Atteinte d'une protéine impliquée dans des modifications protéiques post-traductionnelles Physiopathologie exacte inconnue
20	Epilepsie focale à début néonatal, microcéphalie, TND	<i>GABRB3</i> (panel NGS)	Atteinte d'un récepteur du GABA (neurotransmetteur inhibiteur)

ADNmt : ADN mitochondrial ; CDG : congenital disorder of glycosylation ; CMD : cardiomyopathie dilatée ; CMH : cardiomyopathie hypertrophique ; CRM : chaîne respiratoire mitochondriale ; GABA : acide gamma-aminobutyrique ; TND : trouble du neurodéveloppement.

#### d) Présentation clinique initiale et évolution

Dans un premier temps, nous avons réalisé une analyse de la survie des patients par courbe de Kaplan-Meier, d'abord pour la cohorte entière (**Figure 4a**) puis en comparant la survie pour les groupes de patients porteurs de maladie mitochondriale et de déficit secondaire de la CRM (**Figure 4b**). Nous avons retrouvé une différence significative de la probabilité de survie en fonction du temps, plus élevée pour le groupe déficit secondaire de la CRM.

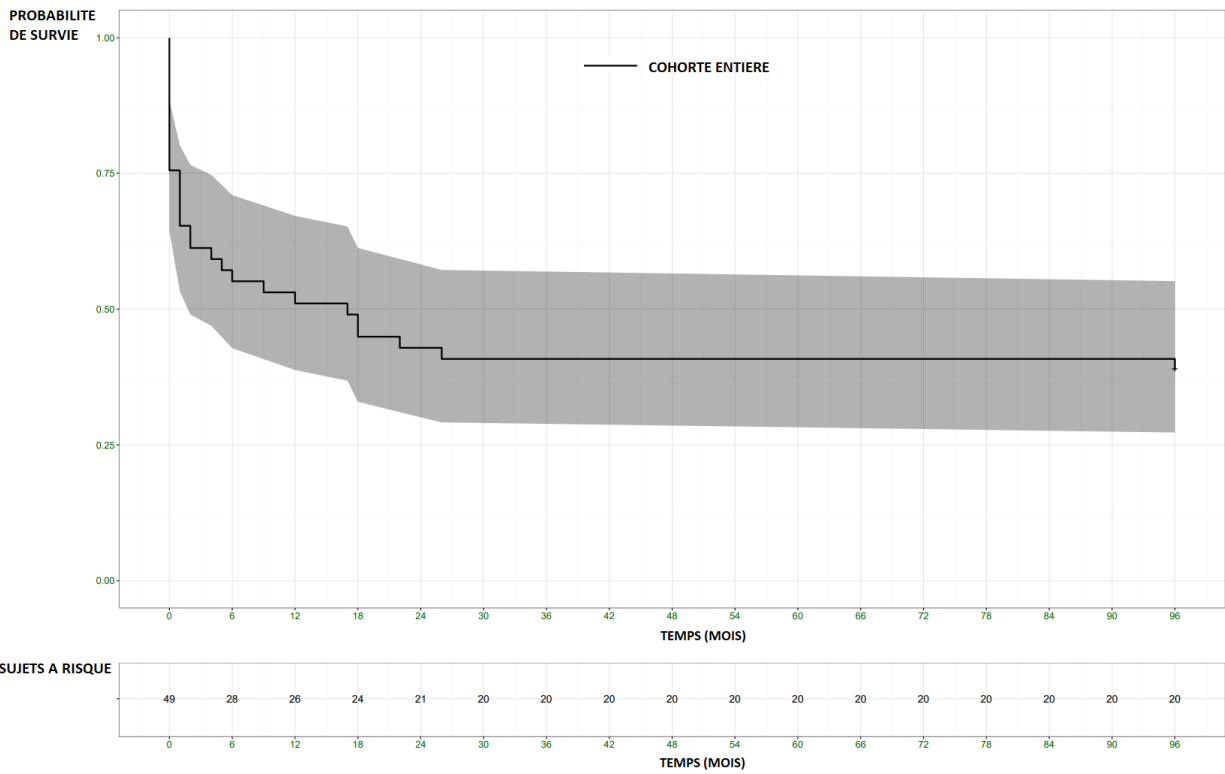


Figure 4a : Analyse de la survie des patients par courbe de Kaplan-Meier sur la cohorte entière.

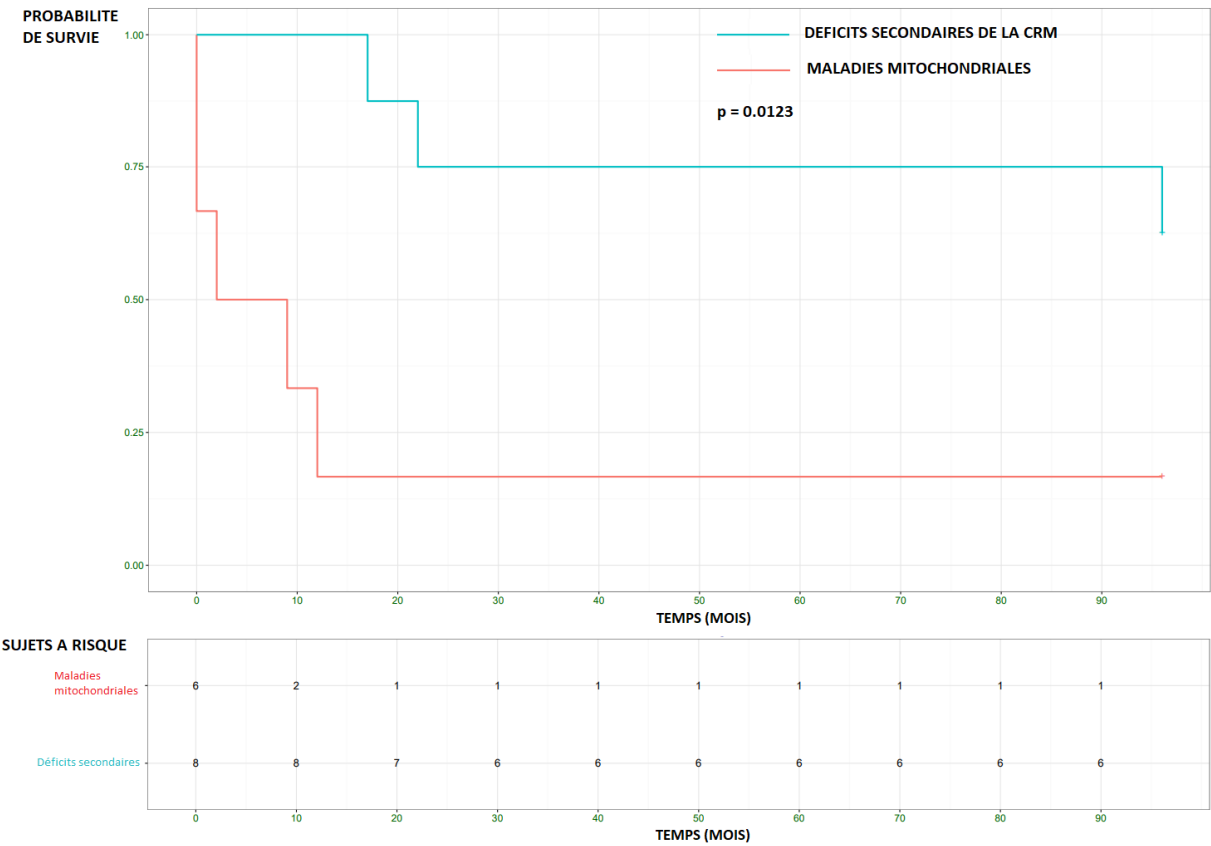


Figure 4b : Analyse de la survie des patients par courbe de Kaplan-Meier selon le diagnostic (maladie mitochondriale ou déficit secondaire de la CRM).

Nous avons ensuite comparé les caractéristiques cliniques des patients porteurs de maladie mitochondriale et des patients atteints de déficit secondaire de la chaîne respiratoire. Cette analyse ne nous a pas permis de mettre en évidence de différence statistiquement significative entre ces deux groupes, en particulier pas de différence en termes de caractéristiques de l'épilepsie. Il existait cependant une tendance à un taux de décès plus élevé, un âge au décès plus précoce, un âge de survenue d'épisode de régression psychomotrice plus précoce dans le groupe maladie mitochondriale.

Enfin, nous avons réalisé une comparaison selon les groupes de probabilité de maladie mitochondriale. Nous avons retrouvé une différence statistiquement significative entre les groupes sur le plan du taux de décès. Il existait une tendance à un âge de début plus tardif de l'épilepsie dans le groupe de faible probabilité. Les autres caractéristiques de l'épilepsie des patients ne semblaient pas différer.

Les variables cliniques mesurées selon les groupes sont détaillées dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 : Comparaison des données cliniques

DONNEES CLINIQUES	Total	Maladies mitochondriales	Déficits secondaires	Probabilité forte	Probabilité intermédiaire	Probabilité faible
<b>Sexe</b>						
<i>Féminin</i>	38,7(26,6-51,9)	0,0(0,0-45,9)	25,0(3,1-65,0)	33,3(11,8-61,6)	34,2(19,1-52,2)	58,3(27,6-84,8)
<i>Masculin</i>	61,2(48,0-73,4)	100,0(54,0-100,0)	75,0(34,9-96,8)	66,6(38,3-88,1)	65,7(47,7-80,8)	41,6(15,1-72,3)
<b>Parents apparentés</b>	18,5(9,2-31,4)	16,6(0,4-64,1)	37,5(8,5-75,5)	33,3(11,8-61,6)	14,8(4,1-33,7)	8,3(0,2-38,4)
<b>Antécédents familiaux d'ordre neurologique</b>						
<i>Décès périnatal de cause inconnue</i>	5,5(1,1-15,3)	33,3(4,3-77,7)	0,0(0,0-36,9)	13,3(1,6-40,4)	3,7(0,1-18,9)	0,0(0,0-26,4)
<i>Tableau identique dans la fratrie</i>	12,9(5,3-24,9)	0,0(0,0-45,9)	37,5(8,5-75,5)	13,3(1,6-40,4)	7,4(0,9-24,2)	25,0(5,4-57,1)
<i>Epilepsie</i>	18,5(9,2-31,4)	0,0(0,0-45,9)	37,5(8,5-75,5)	26,6(7,7-55,1)	7,4(0,9-24,2)	33,3(9,9-65,1)
<i>Polyhandicap</i>	7,4(2,0-17,8)	0,0(0,0-45,9)	25,0(3,1-65,0)	13,3(1,6-40,4)	3,7(0,1-18,9)	8,3(0,2-38,4)
<i>Trouble du neurodéveloppement ou déficience intellectuelle</i>	12,9(5,3-24,9)	16,6(0,4-64,1)	12,5(0,3-52,6)	13,3(1,6-40,4)	11,1(2,3-29,1)	16,6(2,1-48,4)
<b>Patients décédés†</b>	59,6(46,4-71,9)	83,3(35,8-99,5)	37,5(8,5-75,5)	80,0(51,9-95,6)	60,0(42,1-76,1)	33,3(9,9-65,1)
<i>Dont décès en période néonatale</i>	40,0(22,6-59,4)	40,0(5,2-85,3)	0,0(0,0-70,7)	25,0(5,5-57,2)	50,0(23,0-76,9)	50,0(6,7-93,2)
<i>Age au décès (en mois)</i>	1,0(0,0-8,2)	2,0(0,0-9,0)	22,0(19,5-59,0)	4,5(0,7-13,2)	0,5(0,0-5,0)	0,5(0,0-1,0)
<b>Symptômes en période pré- ou périnatale</b>	58,1(44,1-71,3)	33,3(4,3-77,7)	37,5(8,5-75,5)	46,6(21,2-73,4)	65,5(45,6-82,0)	54,5(23,3-83,2)
<i>Retard de croissance intra-utérin</i>	14,5(6,5-26,6)	16,6(0,4-64,1)	12,5(0,3-52,6)	20,0(4,3-48,0)	13,7(3,9-31,6)	9,1(0,2-41,2)
<i>Anomalies morphologiques en échographie anténatale</i>	9,1(3,0-19,9)	0,0(0,0-45,9)	12,5(0,3-52,6)	0,0(0,0-21,8)	13,8(3,9-31,6)	9,1(0,2-41,2)
<i>Prématurité</i>	14,5(6,5-26,6)	0,0(0,0-45,9)	12,5(0,3-52,6)	13,3(1,6-40,4)	13,8(3,9-31,6)	18,1(2,2-51,7)
<i>Anomalies du rythme cardiaque fœtal</i>	18,1(9,0-30,9)	16,6(0,4-64,1)	0,0(0,0-36,9)	20,0(4,3-48,1)	20,7(8,0-39,7)	9,1(0,2-41,2)
<i>Hypotonie néonatale</i>	20,0(10,4-32,9)	16,6(0,4-64,1)	0,0(0,0-36,9)	6,6(0,1-31,9)	27,6(12,7-47,2)	18,1(2,2-51,7)
<i>Détresse respiratoire néonatale</i>	25,4(14,6-39,0)	33,3(4,3-77,7)	25,0(3,2-65,1)	20,0(4,3-48,1)	27,6(12,7-47,2)	27,2(6,0-60,9)
<i>Malaise grave</i>	9,1(3,0-19,9)	16,6(0,4-64,1)	0,0(0,0-36,9)	6,6(0,1-31,9)	10,3(2,2-27,3)	9,1(0,2-41,2)
<i>Hypoglycémie</i>	5,4(1,1-15,1)	0,0(0,0-45,9)	0,0(0,0-36,9)	0,0(0,0-21,8)	10,3(2,2-27,3)	0,0(0,0-28,5)
<b>Développement psychomoteur</b>						
<i>Normal</i>	3,6(0,4-12,5)	0,0(0,0-45,9)	0,0(0,0-36,9)	0,0(0,0-21,8)	3,5(0,1-18,3)	8,3(0,2-38,4)
<i>Trouble du neurodéveloppement</i>	29,1(17,6-42,9)	33,3(4,3-77,7)	37,5(8,5-75,5)	20,0(4,3-48,1)	32,1(15,8-52,3)	33,3(9,9-65,1)
<i>Absence de développement</i>	67,2(53,3-79,3)	66,6(22,2-95,6)	62,5(24,5-91,4)	80,0(51,9-95,6)	64,3(44,0-81,3)	58,3(27,6-84,8)
<b>Régression psychomotrice</b>	45,7(28,8-63,3)	50,0(6,7-93,2)	50,0(15,7-84,3)	70,0(34,7-93,3)	44,4(21,5-69,2)	14,3(0,3-57,8)
<i>Âge de survenue (mois)</i>	9,0(3,0-12,0)	3,5(2,2-4,7)	16,5(7,5-28,5)	6,0(3,0-11,5)	9,0(4,5-11,0)	20,0(20,0-20,0)
<b>Microcéphalie</b>	40,7(27,5-54,9)	50,0(11,8-88,2)	37,5(8,5-75,5)	46,6(21,2-73,4)	39,3(21,5-59,4)	36,3(10,9-69,2)
<i>Dont microcéphalies congénitales</i>	31,5(12,5-56,5)	33,3(0,8-90,5)	50,0(1,2-98,7)	40,0(5,2-85,3)	30,0(6,6-65,2)	25,0(0,6-80,6)
<i>Dont microcéphalies acquises</i>	68,4(43,4-87,4)	66,6(9,4-99,1)	50,0(1,2-98,7)	60,0(14,6-94,7)	70,0(34,7-93,3)	75,0(19,4-99,3)
<b>Retard de croissance staturale ou pondérale</b>	58,9(42,1-74,4)	75,0(19,4-99,3)	37,5(8,5-75,5)	72,7(39,0-93,9)	45,0(23,0-68,4)	75,0(34,9-96,8)
<b>Alimentation entérale</b>						
<i>Par sonde nasogastrique</i>	5,4(0,6-18,2)	25,0(0,6-80,6)	0,0(0,0-36,9)	10,0(0,2-44,5)	5,2(0,1-26,0)	0,0(0,0-36,9)
<i>Par gastrostomie</i>	37,8(22,4-55,2)	25,0(0,6-80,6)	62,5(24,5-91,4)	50,0(18,7-81,3)	42,1(20,2-66,5)	12,5(0,3-52,6)

Tableau 3 (suite et fin)

DONNEES CLINIQUES	Total	Maladies mitochondriales	Déficits secondaires	Probabilité forte	Probabilité intermédiaire	Probabilité faible
<b>Caractéristiques de l'épilepsie</b>						
Âge de début (mois)	0,0(0,0-3,0)	0,0(0,0-5,2)	2,5(0,0-4,5)	2,0(0,0-3,0)	0,0(0,0-0,0)	20,0(20,0-20,0)
Pharmacorésistance	81,4(68,5-90,7)	100,0(54,0-100,0)	50,0(15,7-84,3)	86,6(59,5-98,3)	77,7(57,7-91,3)	83,3(51,6-97,9)
<i>Type d'épilepsie</i>						
Encéphalopathie épileptique précoce	3,2(0,4-11,1)	0,0(0,0-45,9)	0,0(0,0-36,9)	0,0(0,0-21,8)	2,8(0,0-14,9)	8,3(0,2-38,4)
Syndrome de West	8,0(2,6-17,8)	0,0(0,0-45,9)	0,0(0,0-36,9)	6,6(0,1-31,9)	5,7(0,7-19,1)	16,6(2,1-48,4)
Epilepsie focale	50,0(37,0-62,9)	83,3(35,8-99,5)	62,5(24,5-91,4)	60,0(32,3-83,6)	42,8(26,3-60,6)	58,3(27,6-84,8)
Epilepsie myoclonique	12,9(5,7-23,8)	16,6(0,4-64,1)	25,0(3,2-65,1)	20,0(4,3-48,1)	11,4(3,2-26,7)	8,3(0,2-38,4)
Autre type d'épilepsie généralisée	12,9(5,7-23,8)	0,0(0,0-45,9)	12,5(0,3-52,6)	0,0(0,0-21,8)	17,1(6,5-33,6)	16,6(2,1-48,4)
Epilepsie non classable	22,5(12,9-34,9)	16,6(0,4-64,1)	0,0(0,0-36,9)	26,6(7,8-55,1)	25,7(12,5-43,2)	8,3(0,2-38,4)
Etats de mal épileptique	46,3(32,6-60,4)	33,3(4,3-77,7)	62,5(24,5-91,4)	53,3(26,6-78,7)	51,8(31,9-71,3)	25,0(5,5-57,2)
Epilepsie toujours active à la date de l'étude	81,8(69,1-90,9)	100,0(54,0-100,0)	62,5(24,5-91,4)	93,3(68,0-99,8)	78,5(59,0-91,7)	75,0(42,8-94,5)
<b>Mouvements anormaux</b>						
Spasticité	14,8(6,6-27,1)	0,0(0,0-45,9)	12,5(0,3-52,6)	6,6(0,1-31,9)	18,5(6,3-38,0)	16,6(2,1-48,4)
Dystonie	16,6(7,9-29,3)	16,6(0,4-64,1)	37,5(8,5-75,5)	20,0(4,3-48,1)	18,5(6,3-38,0)	8,3(0,2-38,4)
Ataxie	5,5(1,1-15,4)	0,0(0,0-45,9)	0,0(0,0-36,9)	6,6(0,1-31,9)	0,0(0,0-12,7)	16,6(2,1-48,4)
Choréo-athétose	5,5(1,1-15,4)	0,0(0,0-45,9)	25,0(3,1-65,1)	13,3(1,6-40,4)	3,7(0,1-18,9)	0,0(0,0-26,4)
Neuropathie	0,0(0,0-6,5)	0,0(0,0-45,9)	0,0(0,0-36,9)	0,0(0,0-21,8)	0,0(0,0-12,3)	0,0(0,0-26,4)
<b>Autres atteintes cliniques</b>						
Atteinte visuelle	47,2(33,6-61,2)	66,6(22,2-95,6)	50,0(15,7-84,3)	60,0(32,3-83,6)	46,4(27,5-66,1)	33,3(9,9-65,1)
Atteinte auditive	16,9(8,0-29,8)	16,6(0,4-64,1)	37,5(8,5-75,5)	20,0(4,3-48,1)	15,3(4,3-34,8)	16,6(2,1-48,4)
Surdité	7,5(2,1-18,2)	16,6(0,4-64,1)	25,0(3,2-65,1)	6,6(0,1-31,9)	11,5(2,4-30,1)	0,0(0,0-26,4)
Atteinte hépatique	15,1(6,7-27,6)	16,6(0,4-64,1)	0,0(0,0-36,9)	13,3(1,6-40,4)	19,2(6,5-39,3)	8,3(0,2-38,4)
Atteinte musculaire	14,3(6,3-26,2)	16,6(0,4-64,1)	0,0(0,0-36,9)	13,3(1,6-40,4)	17,2(5,8-35,7)	8,3(0,2-38,4)
Cardiomyopathie	15,1(6,7-27,6)	33,3(4,3-77,7)	12,5(0,3-52,6)	20(4,33-48,1)	15,3(4,3-34,8)	8,3(0,2-38,4)
Atteinte hématologique	3,7(0,4-12,9)	0,0(0,0-45,9)	0,0(0,0-36,9)	0(0-21,8)	3,8(0,1-19,64)	8,3(0,2-38,4)

Les variables sont rapportées en pourcentage (IC95%) pour les variables catégorielles et en valeur médiane (quartiles Q1-Q3) pour les variables continues.

Les groupes de probabilité sont définis comme suit : forte probabilité (score MDC compris entre 5 et 8 associé à un déficit biochimique de la chaîne respiratoire), probabilité intermédiaire (score MDC compris entre 5 et 8 ou déficit biochimique de la chaîne respiratoire), faible probabilité (score MDC compris entre 0 et 4 et absence de déficit biochimique de la chaîne respiratoire).

†p < 0,05 (comparaison entre les groupes maladies mitochondriales et déficits secondaires)

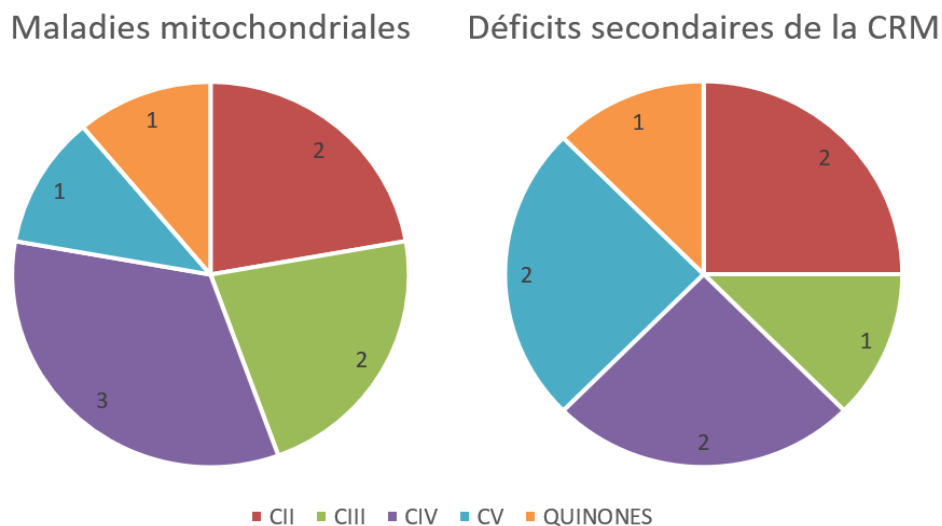
‡p < 0,05 (comparaison entre les groupes probabilité forte, intermédiaire et faible)

### e) Examens paracliniques

Dans un premier temps, nous avons comparé les résultats des examens paracliniques de première intention (biochimie, imagerie cérébrale) et histologiques chez les patients porteurs de maladie mitochondriale et les patients atteints de déficit secondaire de la chaîne respiratoire. Cette analyse ne nous a pas permis de mettre en évidence de différence statistiquement significative entre ces deux groupes. Il existait cependant une tendance à une fréquence plus élevée d'hyperlactatémie, d'hyperlactatorachie, d'hyperalaninémie et d'acidurie 3-méthylglutaconique sur le plan biochimique, une fréquence plus élevée d'atteinte des noyaux gris centraux et de pic de lactate en spectrométrie, et une fréquence plus élevée de stéatose hépatique dans le groupe maladie mitochondriale.

Dans un second temps, nous avons réalisé une comparaison selon les groupes de probabilité de maladie mitochondriale. Nous avons retrouvé une différence statistiquement significative entre les groupes sur le plan de l'hyperlactatémie, de l'hyperlactatorachie, de l'acidurie 3-méthylglutaconique et de l'atteinte de la substance blanche en IRM cérébrale. Les variables paracliniques mesurées selon les groupes sont détaillées dans le **Tableau 4**.

Les déficits biochimiques de la chaîne respiratoire mitochondriale retrouvés étaient très variables selon les patients. La répartition des déficits chez les patients porteurs de maladie mitochondriale et de déficit secondaire de la chaîne respiratoire est représentée dans la **Figure 5**.



**Figure 5 : Répartition des complexes de la chaîne respiratoire déficitaires chez les patients porteurs de maladie mitochondriale ou de déficit secondaire de la chaîne respiratoire.** Les valeurs indiquent le nombre de patients chez lesquels un déficit a été mis en évidence. Un déficit en quinone était défini par un déficit en activités quinone-dépendantes (CI+III, CII+III). CII : complexe II ; CIII : complexe III ; CIV : complexe IV ; CV : complexe V ; CRM : chaîne respiratoire mitochondriale.



Tableau 4

EXAMENS PARACLINIQUES	Total	Maladies mitochondriales	Déficits secondaires	Probabilité forte	Probabilité intermédiaire	Probabilité faible
<b>Hyperlactatémie</b> ‡	44,2(30,4-58,6)	83,3(35,8-99,5)	28,5(3,6-70,9)	73,3(44,9-92,2)	37,0(19,4-57,6)	20,0(2,5-55,6)
<b>Elévation du rapport lactate/pyruvate en cas d'hyperlactatémie</b>	81,2(54,3-95,9)	100,0(39,7-100,0)	100,0(2,5-100,0)	75,0(34,9-96,8)	100,0(54,0-100,0)	50,0(1,2-98,7)
<b>Hyperlactatorachie</b> ‡	25,0(11,4-43,4)	100,0(29,2-100,0)	20,0(0,5-71,6)	71,4(29,0-96,3)	15,8(3,3-39,5)	0,0(0,0-45,9)
<b>Hyperalaninémie</b>	18,5(9,2-31,4)	50,0(11,8-88,2)	0,0(0,0-36,9)	33,3(11,8-61,6)	18,5(6,3-38,0)	0,0(0,0-26,4)
<b>Elévation des intermédiaires du cycle de Krebs</b>	16,9(8,0-29,8)	16,6(0,4-64,1)	25,0(3,2-65,1)	20,0(4,3-48,1)	21,4(8,3-40,9)	0,0(0,0-30,8)
<b>Acidurie 3-méthylglutaconique</b> ‡	15,1(6,7-27,6)	50,0(11,8-88,2)	12,5(0,3-52,6)	33,3(11,8-61,6)	10,7(2,2-28,2)	0,0(0,0-30,8)
<b>Anomalies IRM</b>						
<i>Atteinte de la substance blanche</i> ‡	48,1(34,3-62,1)	75,0(19,4-99,3)	62,5(24,5-91,4)	76,9(46,2-94,9)	44,8(26,4-64,3)	25,0(5,5-57,2)
<i>Atteinte des noyaux gris centraux</i>	25,4(14,6-39,0)	75,0(19,4-99,3)	25,0(3,1-65,1)	46,1(19,2-74,8)	13,3(3,7-30,7)	33,3(9,9-65,1)
<i>Pic de lactate en spectrométrie</i>	28,5(15,7-44,5)	50,0(6,7-93,2)	0,0(0,0-40,9)	46,1(19,2-74,8)	28,5(11,2-52,1)	0,0(0,0-36,9)
<b>Anomalies histologiques</b>						
<i>Surcharge lipidique musculaire</i>	34,7(21,6-49,6)	50,0(6,7-93,2)	50,0(11,8-88,2)	45,4(16,7-76,6)	39,3(21,5-59,4)	10,0(0,2-44,5)
<i>Surcharge glycogénique musculaire</i>	26,5(14,9-41,0)	50,0(6,7-93,2)	33,3(4,3-77,7)	27,2(6,0-60,9)	28,5(13,2-48,6)	20,0(2,5-55,6)
<i>Stéatose hépatique</i>	26,1(10,2-48,4)	100,0(2,5-100,0)	50,0(1,2-98,7)	33,3(0,8-90,5)	23,0(5,0-53,8)	28,5(3,6-70,9)

Les variables sont rapportées en pourcentage (IC95%) pour les variables catégorielles et en valeur médiane (quartiles Q1-Q3) pour les variables continues.

Les groupes de probabilité sont définis comme suit : forte probabilité (score MDC compris entre 5 et 8 associé à un déficit biochimique de la chaîne respiratoire), probabilité intermédiaire (score MDC compris entre 5 et 8 ou déficit biochimique de la chaîne respiratoire), faible probabilité (score MDC compris entre 0 et 4 et absence de déficit biochimique de la chaîne respiratoire).

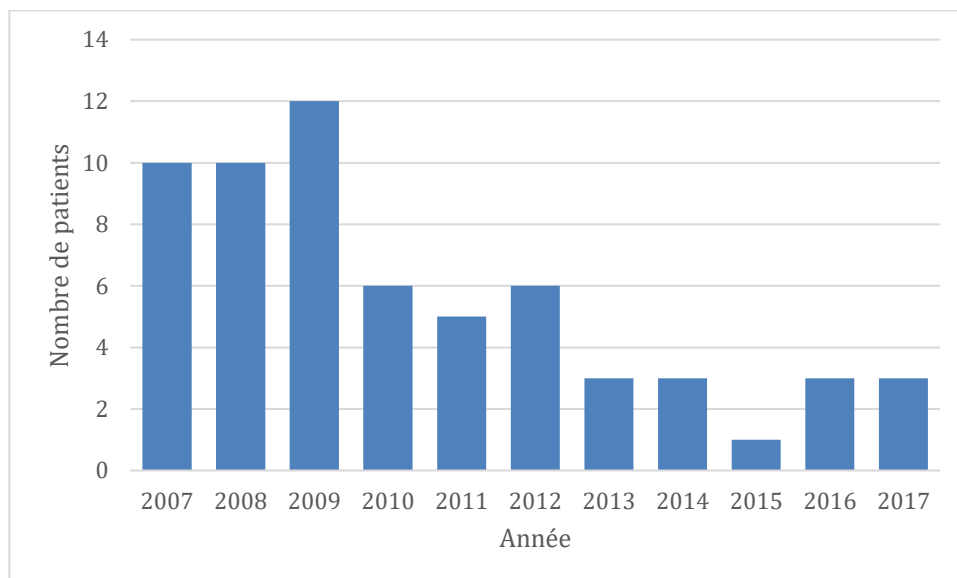
†p < 0,05 (comparaison entre les groupes maladies mitochondriales et déficits secondaires)

‡p < 0,05 (comparaison entre les groupes probabilité forte, intermédiaire et faible)

### f) Prise en charge diagnostique sur le plan génétique

Le diagnostic génétique avait été permis par un séquençage d'exome pour 10 patients, par un panel de gènes pour 4 patients, par un séquençage Sanger d'emblée pour 5 patients et par CGH-array pour 1 patient. Aucune délétion ni aucune déplétion de l'ADNmt n'avait été retrouvée dans notre cohorte.

Le nombre de patients évalués sur la période 2007-2012 était plus important (49 patients) que sur la période 2013-2017 (13 patients). L'année 2013 correspondait à une forte baisse du nombre de patients répondant aux critères d'inclusion (**Figure 6**).



**Figure 6 : Répartition des patients en fonction du temps.** L'année choisie est celle de réception des prélèvements tissulaires.

Les explorations pratiquées sur le plan génétique étaient variables selon les patients et les périodes. La proportion de patients pour lesquels un séquençage de l'ADNmt par NGS avait été réalisée était beaucoup plus élevée pour la période la plus récente. La proportion de patients pour lesquels une étude de l'ADN nucléaire par NGS (panel de gènes ou exome) avait été réalisée était également plus élevée pour la période 2013-2017. La répartition des analyses génétiques est détaillée dans le **tableau 5**. Le taux de rendement diagnostique dans notre cohorte était de 58% (10/17) pour les patients explorés par exome. Le panel NGS des gènes nucléaires impliqués dans les maladies mitochondriales avait été réalisé pour 2 patients, permettant un diagnostic dans un cas (2 autres patients étaient porteurs de mutations retrouvées par exome mais actuellement présentes dans ce panel). Le panel NGS des épilepsies monogéniques avait été réalisé pour 7 patients, permettant un diagnostic dans 2 cas (4 autres patients étaient porteurs de mutations

retrouvées par exome mais actuellement présentes dans ce panel). La liste des gènes actuellement inclus dans ces panels est reproduite en **Annexes 6 et 7**. Enfin, les explorations de l'ADNmt (par méthode Surveyor ou NGS), réalisées chez 29 patients, n'avaient pas permis de diagnostic. Le seul patient porteur d'une mutation de l'ADNmt (gène MT-CYB) avait été diagnostiqué d'emblée par un séquençage Sanger, orienté par le déficit en complexe III identifié en enzymologie.

Tableau 5 : Explorations génétiques.

	Période 2007 - 2012	Période 2013-2017
<b>Etude de l'ADN nucléaire</b>	49/49	13/13
Panel NGS de gènes nucléaires ou exome	19/49	7/13
<i>Dont exome</i>	15/49	2/13
<i>Dont panel NGS</i>	5/49	5/13
Séquençages ciblés (Sanger) uniquement	30/49	6/13
<b>Etude de l'ADNmt</b>	49/49	12/13
Séquençages ciblés uniquement (recherche des mutations 3243, 8344 et 8993)	27/49	5/13
Recherche de mutations hétéroplasmiques par technique Surveyor	18/49	0/13
NGS ADNmt	4/49	7/13

ADNmt : ADN mitochondrial ; NGS : next generation sequencing.

#### 4) **DISCUSSION**

Nous avons rapporté ici une cohorte de 62 patients porteurs d'épilepsie ayant débuté avant l'âge de 2 ans, évalués pour une suspicion de maladie mitochondriale dans un centre de référence. Nos patients présentaient globalement, et ce quelle que soit l'étiologie retrouvée, une atteinte clinique très sévère, comme le montrent le nombre de patients décédés au moment de l'étude (30 patients dont 12 en période néonatale) et le nombre de patients porteurs d'un polyhandicap (absence totale de développement chez 37 patients et développement normal chez seulement 2 patients). Par ailleurs, notre étude illustre la difficulté du diagnostic chez ces patients porteurs de pathologies rares, avec un diagnostic de certitude porté chez seulement 20 patients. Ceci démontre l'intérêt de disposer de centres de référence, à même de centraliser les informations et d'organiser la prise en charge diagnostique et thérapeutique dans ces situations difficiles.

Nous avons fait le choix de situer notre seuil de début de l'épilepsie à l'âge de 2 ans pour sélectionner les patients de notre cohorte, afin de nous concentrer sur des épilepsies à début précoce mais sans se restreindre uniquement aux épilepsies à début néonatal. En effet, ce seuil est

classiquement utilisé pour séparer les stades de nourrisson (“Infancy” en anglais) et d’enfant (“Childhood”) en pédiatrie, d’une manière générale. C’est également celui choisi dans le diagramme synthétique des syndromes épileptiques de l’enfant publié en 1999 et très utilisé en France, pour séparer les épilepsies du nourrisson et de l’enfant (18). Le choix de se concentrer sur des épilepsies à début précoce nous a semblé pertinent car nous n’avons pas retrouvé dans la littérature d’études portant spécifiquement sur ces formes d’épilepsie dans les maladies mitochondriales. La survenue d’une épilepsie de façon précoce est un facteur préoccupant en termes de neurodéveloppement. Il a été montré chez des patients d’âge pédiatrique qu’une absence de contrôle de l’épilepsie était significativement associée à une atteinte cognitive, d’autant plus sévère que le début de l’épilepsie était précoce (19). Une récente étude de cohorte rétrospective retrouvait également une incidence plus élevée de déficience intellectuelle chez des patients ayant présenté des convulsions en période néonatale, et ce quelle que soit l’étiologie (20). Nous retrouvons cette sévérité clinique dans notre cohorte, puisque nos patients présentaient un très fort taux de trouble du neurodéveloppement et de polyhandicap, associés à une atteinte plus globale (taux élevé de retard de croissance staturopondérale, de nécessité d’alimentation entérale). Sur le plan du type d’épilepsie, les patients de notre cohorte présentaient majoritairement des épilepsies focales, pharmacorésistantes. Certains phénotypes épileptiques étaient totalement absents de notre cohorte, par exemple l’épilepsie partielle continue. Dans le groupe de patients porteurs de maladies mitochondriales confirmées, nous avons retrouvé également une majorité d’épilepsies focales (5 patients sur 6), ainsi qu’un cas d’épilepsie myoclonique. Nous n’avons retrouvé dans ce groupe aucun syndrome de West, ni aucun tableau d’encéphalopathie épileptique précoce. Les cohortes publiées de patients épileptiques porteurs de maladies mitochondriales que nous avons retrouvées dans la littérature comportaient plus d’épilepsies myocloniques (27 à 48%) et moins d’épilepsies focales (24 à 50%), ainsi que quelques cas d’encéphalopathie épileptique précoce et d’épilepsie partielle continue (21–23). Cependant, les cas définis comme maladies mitochondriales n’étaient pas toujours confirmés génétiquement, et ces publications rapportaient également des patients dont l’épilepsie avait débuté plus tardivement. Certains syndromes mitochondriaux, tels que les syndromes MERRF (Myoclonic Epilepsy with Ragged-Red Fibers) ou MELAS (Mitochondrial Encephalomyopathy with Lactic Acidosis and Stroke-like events), sont classiquement décrits comme débutant plus tardivement sur le plan de l’épilepsie (24), ce qui explique certainement pourquoi nous n’en avons pas retrouvé ici. Enfin, nous n’avons retrouvé aucune mutation du gène *POLG* (impliqué dans des syndromes d’Alpers et des épilepsies partielles continues) dans notre cohorte, ce qui est possiblement lié au fait que d’éventuels patients atteints aient eu une analyse ciblée du gène sans biopsie tissulaire préalable. De plus, l’âge de début des symptômes est rarement décrit avant 2 ans (25).

La place des biopsies tissulaires dans la stratégie d'exploration des patients suspects de maladie mitochondriale a été très discutée dans la littérature. La tendance actuelle est plutôt, chez un patient stable, de proposer des explorations génétiques (idéalement, séquençage d'exome) et de différer la réalisation de biopsies tissulaires. Wortmann et al. ont récemment proposé de réserver la réalisation de biopsies aux patients présentant une atteinte clinique très sévère et instable, et à ceux pour lesquels les explorations génétiques sont restées négatives, ou lorsque la découverte d'un nouveau variant génétique impose la réalisation d'études fonctionnelles (26). Sur le plan histologique, certains marqueurs classiques de maladie mitochondriale en histologie musculaire existent (fibres rouges déchiquetées ou "ragged-red fibers", fibres COX-négatives), mais nous n'en avons retrouvé aucun chez nos patients. Nous avons observé une grande fréquence de surcharges lipidiques en histologie musculaire, ce qui est un argument non spécifique en faveur d'une maladie mitochondriale. Nous avons aussi observé une surcharge glycogénique dans environ un quart des biopsies musculaires réalisées, mais cela n'est pas rapporté comme un argument en faveur d'une maladie mitochondriale dans la littérature (27). Enfin, nous avons retrouvé chez tous nos patients porteurs de maladie mitochondriale mais également dans la moitié des cas de déficit secondaire une stéatose hépatique microvésiculaire ou microvacuolaire, isolée ou associée à une atteinte hépatique. Là encore, cette atteinte est évocatrice d'une maladie mitochondriale mais non spécifique (28). Le score MDC que nous avons fait le choix d'utiliser est la version la plus récente, publiée en 2018 (13). Cette version omet volontairement les anomalies histologiques car elle propose de ne pratiquer de biopsie musculaire que chez les patients ayant déjà eu des explorations génétiques (exome) sans variant pathogène retrouvé et classé comme "maladie mitochondriale possible" (score compris entre 2 et 4/8). Ce score ne nous a pas semblé entièrement adapté pour l'évaluation des patients décédés de façon très précoce, puisque certains items ne sont pas pertinents (par exemple "motor delay" ou "developmental delay"). Le fait que nous n'ayons pas retrouvé de différence statistiquement significative sur le plan clinique en dehors du taux de décès selon les groupes de probabilité de maladie mitochondriale en est possiblement le reflet. Cependant, il n'existe pas à ce jour de score plus adapté. Le type de déficit rencontré au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale n'a pas été un élément discriminant dans notre cohorte pour différencier les maladies mitochondriales des déficits secondaires de la chaîne respiratoire. En effet, nous n'avons pas pu repérer de pattern spécifique, mais plutôt des déficits isolés de chaque complexe (sauf complexe I), rarement des déficits combinés. Nous n'avons retrouvé aucune mutation responsable de déficit primaire en quinones, malgré la présence d'un déficit biochimique compatible chez 5 de nos patients, correspondant donc probablement à un déficit secondaire (29). Enfin, nous n'avons retrouvé aucun cas de délétions ou de déplétion de l'ADNmt dans notre cohorte.

Comme d'autres auteurs, nous avons fait le choix de définir les maladies mitochondriales comme une atteinte primaire de toute la voie de la phosphorylation oxydative, incluant donc des atteintes extérieures à la chaîne respiratoire mitochondriale proprement dite (par exemple, atteinte d'enzymes du cycle de Krebs) (4,7,26). Nous avons également décrit dans notre cohorte un déficit secondaire de la chaîne respiratoire chez 8 patients. Dans le cas du patient porteur d'un déficit en GM3 synthase (mutation dans le gène *SIAT9*), des études *in vitro* ont montré que le déficit de la chaîne respiratoire était associé à une diminution du potentiel de membrane mitochondrial et une augmentation de l'apoptose, mais la physiopathologie exacte reste inconnue (30). Dans le cas du patient porteur d'une mutation dans le gène *FHFI*, gène impliqué dans le transport vésiculaire intracellulaire, la physiopathologie du déficit secondaire n'est pas claire, et il pourrait s'agir d'un déficit transitoire (31). D'autres patients porteurs d'épilepsie d'origine génétique avec déficit secondaire de la chaîne respiratoire ont également été rapportés, sans non plus d'explication physiopathologique claire en dehors d'une hypothétique atteinte secondaire de la dynamique mitochondriale (fusion et fission des mitochondries) (32). Concernant les syndromes myasthéniques congénitaux, seuls deux autres patients présentant un déficit secondaire de la chaîne respiratoire ont été rapportés dans la littérature, en lien avec des mutations dans d'autres gènes que celui de notre patient (gènes *COLQ* et *DOK7*) (33). De plus, il faut noter que dans le cas de notre patient, la mutation retrouvée expliquait les symptômes liés au syndrome myasthénique congénital (ptosis, faiblesse musculaire, etc.) mais pas son épilepsie, cependant peu active. Concernant les délétions 1p36, un cas de déplétion de l'ADNmt a été rapporté (34), mais pas d'autre cas de déficit biochimique de la chaîne respiratoire. Concernant les mutations dans les gènes *RANBP2* et *TBC1D24*, nous n'avons pas non plus retrouvé d'autres patients porteurs de déficits de la chaîne respiratoire rapportés dans la littérature. Là encore, les hypothèses envisageables pourraient être une atteinte secondaire de la dynamique mitochondriale, ou bien un digénisme, c'est-à-dire un déficit expliqué par une autre mutation non mise en évidence.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence statistiquement significative entre les patients porteurs de maladie mitochondriale et les patients porteurs de déficit secondaire de la chaîne respiratoire, que ce soit sur le plan clinique ou paraclinique. Il existait une tendance à une plus grande gravité clinique (taux et âge de décès, âge de régression psychomotrice) et à une fréquence plus élevée d'anomalies « classiques » (hyperlactatémie, hyperlactatorachie, hyperalaninémie, acidurie 3-méthylglutaconique, pic de lactates en spectro-IRM) dans le groupe maladie mitochondriale. L'absence de confirmation statistique est possiblement liée à un manque de puissance (faible nombre de patients dans ces deux catégories). L'existence d'une différence statistiquement significative des marqueurs biochimiques cités entre les différents groupes de probabilité de maladie mitochondriale n'est que le reflet de leur présence dans le score MDC utilisé

pour définir les groupes.

Les étiologies retrouvées dans notre cohorte sont diverses (maladies mitochondriales de causes variées, épilepsies d'autres causes génétiques, mais aussi certaines étiologies plus inattendues telles que syndrome myasthénique congénital ou CDG syndrome). Cette diversité explique la difficulté du diagnostic dans ces situations où les patients sont porteurs de pathologies sévères mais dont les symptômes sont souvent peu spécifiques (épilepsie, trouble du neurodéveloppement, mouvements anormaux). Une étude récente portant sur une cohorte de patients sur 117 patients, dont 77% d'âge pédiatrique, suspects de maladie mitochondriale retrouvait un taux de diagnostic de 20% après exploration de l'ADNmt et de 49% supplémentaires après WES (whole exome sequencing, ou séquençage d'exome) (35). La comparaison directe avec notre cohorte est difficile puisque tous nos patients n'ont pas eu d'exploration complète de l'ADNmt ou de WES. Cependant, il est intéressant de noter d'une part, que dans notre groupe de patients avec diagnostic établi, le diagnostic a pu être posé dans la moitié des cas à la suite d'un WES, et que d'autre part, dans notre groupe de patients sans diagnostic établi, seulement 7 patients sur 42 avaient été explorés par WES. Ceci explique sans doute le faible taux de diagnostic dans notre cohorte, car la plupart des patients ont été explorés à une époque où les techniques de séquençage à haut débit étaient d'accès difficile. Par ailleurs, certaines explorations avaient un rendement très faible dans notre cohorte : nous n'avons retrouvé aucun cas de délétions ou de déplétion de l'ADNmt, et les explorations de l'ADNmt n'ont permis qu'un seul diagnostic (mutation du gène *MT-CYB* retrouvée par séquençage Sanger).

Une des principales limites de notre étude est son caractère rétrospectif. Certaines données n'ont pas pu être retrouvées ou n'avaient pas été recueillies au cours du suivi des patients. Certains patients ont été perdus de vue au cours du suivi. Le choix des critères d'inclusion a également limité notre étude, puisque nous avons choisi de n'inclure que des patients pour lesquels des données biochimiques (mesures d'activité enzymatiques, polarographie ou BN-PAGE) étaient disponibles. Il est donc très probable que nous n'ayons pas pris en compte des dossiers d'enfants pour lesquels un diagnostic a été posé sur la base d'explorations génétiques sans explorations biochimiques préalables. Les changements rapides amenés dans la stratégie diagnostique avec l'apparition des techniques de séquençage à haut débit ont conduit à de grandes différences dans les explorations pratiquées chez les patients les plus anciens de notre cohorte, par rapport aux plus récents. Certains de ces patients ont déjà bénéficié de compléments d'exploration, mais cela n'a pas encore pu être proposé de manière systématique. Enfin, le faible nombre de patients est également à prendre en compte, mais ce biais est difficilement évitable du fait de la rareté des pathologies étudiées ici.

Au total, nous avons décrit une cohorte de 62 patients évalués pour une épilepsie à début précoce et une suspicion de maladie mitochondriale. Un diagnostic de maladie mitochondriale avait pu être porté chez 6 patients. Un diagnostic génétique associé à un déficit secondaire de la chaîne respiratoire mitochondriale avait pu être porté chez 8 patients, et un diagnostic génétique sans déficit associé chez 6 patients. Le diagnostic avait été permis dans la moitié des cas par un séquençage d'exome. Nous avons retrouvé une plus grande gravité clinique (taux de décès plus élevé) chez les patients atteints de maladie mitochondriale par rapport aux patients porteurs de déficit secondaire de la chaîne respiratoire, mais il n'a pas été possible de mettre en évidence de signes cliniques discriminants pour guider l'évaluation paraclinique. Les signes biochimiques classiquement décrits (hyperlactatémie, hyperlactatorachie, hyperalaninémie, acidurie 3-méthylglutaconique, pic de lactates en spectro-IRM) sont possiblement plus fréquents dans le groupe maladie mitochondriale que dans le groupe déficit secondaire chez les patients porteurs d'une épilepsie débutant avant 2 ans, et pourraient donc orienter les explorations génétiques vers les gènes responsables de maladie mitochondriale plutôt que vers les gènes d'épilepsie monogénique. Comme cela a été décrit dans d'autres publications (35), le séquençage d'exome prend une place de plus en plus importante dans la prise en charge diagnostique de ces patients. Pour les patients en impasse diagnostique, il pourrait être intéressant de proposer une reprise des explorations avec les nouvelles techniques disponibles (NGS de l'ADNmt, séquençage d'exome, voire séquençage du génome entier). L'adressage des patients vers les différents centres de références concernés et le travail des centres en collaboration est bien sûr indispensable pour la prise en charge des patients, et afin de continuer à mieux définir et comprendre ces pathologies rares.



## 5) REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* 2005;6:389-402.
2. Signes A, Fernandez-Vizarra E. Assembly of mammalian oxidative phosphorylation complexes I-V and supercomplexes. *Essays Biochem* 2018;62:255-70.
3. DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N Engl J Med* 2003;348:2656-68.
4. Niyazov DM, Kahler SG, Frye RE. Primary Mitochondrial Disease and Secondary Mitochondrial Dysfunction: Importance of Distinction for Diagnosis and Treatment. *Mol Syndromol* 2016;7:122-37.
5. Schaefer AM, Taylor RW, Turnbull DM, Chinnery PF. The epidemiology of mitochondrial disorders--past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 2004;1659:115-20.
6. Skladal D, Halliday J, Thorburn DR. Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. *Brain* 2003;126:1905-12.
7. Paiva Coelho M, Martins E, Vilarinho L. Diagnosis, management, and follow-up of mitochondrial disorders in childhood: a personalized medicine in the new era of genome sequence. *Eur J Pediatr* 2019;178:21-32.
8. Keshavan N, Rahman S. Natural history of mitochondrial disorders: a systematic review. *Essays Biochem* 2018;62:423-42.
9. Chi C-S. Diagnostic Approach in Infants and Children with Mitochondrial Diseases. *Pediatrics & Neonatology* 2015;56:7-18.
10. Debray F-G, Lambert M, Chevalier I, Robitaille Y, Decarie J-C, Shoubbridge EA, et al. Long-term outcome and clinical spectrum of 73 pediatric patients with mitochondrial diseases. *Pediatrics* 2007;119:722-33.
11. Khurana D, Salganicoff L, Melvin J, Hobdell E, Valencia I, Hardison H, et al. Epilepsy and respiratory chain defects in children with mitochondrial encephalopathies. *Epilepsia* 2008;49:1972.
12. Wolf NI, Smeitink JAM. Mitochondrial disorders: a proposal for consensus diagnostic criteria in infants and children. *Neurology* 2002;59:1402-5.
13. Witters P, Saada A, Honzik T, Tesarova M, Kleinle S, Horvath R, et al. Revisiting mitochondrial diagnostic criteria in the new era of genomics. *Genet Med* 2018;20:444-51.
14. Bannwarth S, Procaccio V, Paquis-Flucklinger V. Rapid identification of unknown heteroplasmic mitochondrial DNA mutations with mismatch-specific surveyor nuclease. *Methods Mol Biol* 2009;554:301-13.
15. 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* 2004;14:812-9.

16. Rustin P, Chretien D, Bourgeron T, Gérard B, Rötig A, Saudubray JM, et al. Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clin Chim Acta* 1994;228:35-51.
17. Schägger H, Pfeiffer K. The ratio of oxidative phosphorylation complexes I-V in bovine heart mitochondria and the composition of respiratory chain supercomplexes. *J Biol Chem* 2001;276:37861-7.
18. Tich SN, Péréon Y. Semiological seizure classification. *Epilepsia* 1999;40:531.
19. Berg AT, Zelko FA, Levy SR, Testa FM. Age at onset of epilepsy, pharmaco-resistance, and cognitive outcomes. *Neurology* 2012;79:1384-91.
20. Oh A, Thurman DJ, Kim H. Independent role of neonatal seizures in subsequent neurological outcomes: a population-based study. *Dev Med Child Neurol* 2019;61:661-6.
21. Lee H-F, Chi C-S, Tsai C-R, Chen C-H. Epileptic seizures in infants and children with mitochondrial diseases. *Pediatr Neurol* 2011;45:169-74.
22. El Sabbagh S, Lebre A-S, Bahi-Buisson N, Delonlay P, Soufflet C, Boddaert N, et al. Epileptic phenotypes in children with respiratory chain disorders. *Epilepsia* 2010;51:1225-35.
23. Caietta E, Cano A, Halbert C, Hugonenq C, Mancini J, Milh M, et al. [Epilepsy and mitochondrial diseases: retrospective study on 53 epileptic children]. *Arch Pediatr* 2012;19:794-802.
24. Nordli DR, Korff C, Bast T. Epilepsy and inborn errors of metabolism: a practical approach. In: *Epileptic Syndromes In Infancy, Childhood and Adolescence*. 5th edition. John Libbey Eurotext; 2012. p. 441-54.
25. Rouzier C, Chausseot A, Serre V, Fragaki K, Bannwarth S, Ait-El-Mkadem S, et al. Quantitative multiplex PCR of short fluorescent fragments for the detection of large intragenic POLG rearrangements in a large French cohort. *Eur J Hum Genet* 2014;22:542-50.
26. Wortmann SB, Mayr JA, Nuoffer JM, Prokisch H, Sperl W. A Guideline for the Diagnosis of Pediatric Mitochondrial Disease: The Value of Muscle and Skin Biopsies in the Genetics Era. *Neuropediatrics* 2017;48:309-14.
27. Molnar MJ, Kovacs GG. Mitochondrial diseases. *Handb Clin Neurol* 2017;145:147-55.
28. Silva GH, Hessel G, Coelho KIR, Escanhoela CAF. Steatosis of indeterminate cause in a pediatric group: is it a primary mitochondrial hepatopathy? *Sao Paulo Med J* 2011;129:217-23.
29. Rötig A, Mollet J, Rio M, Munnich A. Infantile and pediatric quinone deficiency diseases. *Mitochondrion* 2007;7 Suppl:S112-121.
30. Fragaki K, Ait-El-Mkadem S, Chausseot A, Gire C, Mengual R, Bonesso L, et al. Refractory epilepsy and mitochondrial dysfunction due to GM3 synthase deficiency. *Eur J Hum Genet* 2013;21:528-34.

31. Villeneuve N, Abidi A, Cacciagli P, Mignon-Ravix C, Chabrol B, Villard L, et al. Heterogeneity of FHF1 related phenotype: Novel case with early onset severe attacks of apnea, partial mitochondrial respiratory chain complex II deficiency, neonatal onset seizures without neurodegeneration. *Eur J Paediatr Neurol* 2017;21:783-6.
32. Barcia G, Barnerias C, Rio M, Siquier-Pernet K, Desguerre I, Colleaux L, et al. A novel mutation in STXBP1 causing epileptic encephalopathy (late onset infantile spasms) with partial respiratory chain complex IV deficiency. *Eur J Med Genet* 2013;56:683-5.
33. Guo Y, Menezes MJ, Menezes MP, Liang J, Li D, Riley LG, et al. Delayed diagnosis of congenital myasthenia due to associated mitochondrial enzyme defect. *Neuromuscul Disord* 2015;25:257-61.
34. De Lonlay P. Diagnostics différentiels des déficits de la chaîne respiratoire. 2019; Présentation dans le cadre du Diplôme Inter Universitaire Maladies Héréditaires du Métabolisme.
35. Theunissen TEJ, Nguyen M, Kamps R, Hendrickx AT, Sallevelt SCEH, Gottschalk RWH, et al. Whole Exome Sequencing Is the Preferred Strategy to Identify the Genetic Defect in Patients With a Probable or Possible Mitochondrial Cause. *Front Genet* 2018;9:400.

## 6) RESUME

*Introduction* - Les maladies mitochondriales représentent une part importante des maladies héréditaires du métabolisme. L'atteinte neurologique a été rapportée comme étant la plus fréquente chez les patients pédiatriques, avec une grande part d'épilepsies, souvent pharmacorésistantes. La mise en évidence d'un déficit biochimique au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale (CRM) est un argument important en faveur d'une dysfonction mitochondriale, mais ne permet pas formellement de différencier maladies mitochondriales et déficits secondaires de la CRM. L'objectif principal était de définir la place des maladies mitochondriales parmi les causes d'épilepsie précoce dans une cohorte de patients évalués dans un centre de référence. L'objectif secondaire était de rechercher une différence en termes de présentation clinique et paraclinique entre les patients porteurs de maladie mitochondriale et de déficit secondaire de la CRM d'une part, et selon la probabilité de maladie mitochondriale d'autre part. *Matériels et méthodes* – Nous avons inclus les patients présentant une épilepsie avant 2 ans et pour lesquels au moins un prélèvement tissulaire exploitable avait été adressé au service de Génétique médicale du CHU de Nice pour suspicion de maladie mitochondriale, entre 2007 et 2017. Les patients avec diagnostic de certitude étaient répartis entre maladies mitochondriales, déficits secondaires de la CRM et autres diagnostics sans déficit. Tous les patients étaient ensuite répartis en 3 groupes de probabilité de maladie mitochondriale (forte, intermédiaire, faible). *Résultats* – Sur 62 patients identifiés, 20 patients avaient eu un diagnostic de certitude (6 maladies mitochondriales, 8 déficits secondaires et 6 autres diagnostics sans déficit). Le diagnostic avait été permis dans la moitié des cas par un séquençage d'exome. Nous n'avons pas retrouvé de différence statistiquement significative en termes de présentation clinique ou paraclinique entre les groupes maladie mitochondriale et déficit secondaire. Il existait cependant une tendance à un taux de décès plus élevé, un âge au décès plus précoce, une fréquence plus élevée d'anomalies biologiques classiques (hyperlactatémie, hyperlactatorachie, hyperalaninémie, acidurie 3-méthylglutaconique) et d'imagerie (atteinte des noyaux gris centraux, pic de lactates en spectro-IRM) dans le groupe maladie mitochondriale. Nous avons retrouvé un taux de décès significativement différent entre les groupes de probabilité de maladie mitochondriale. Il n'existait pas de pattern spécifique des déficits biochimiques retrouvés au niveau des complexes de la CRM. *Conclusion* - Les signes biochimiques classiquement décrits (hyperlactatémie, hyperlactatorachie, hyperalaninémie, acidurie 3-méthylglutaconique, pic de lactates en spectro-IRM) sont possiblement plus fréquents dans le groupe maladie mitochondriale que dans le groupe déficit secondaire chez les patients porteurs d'une épilepsie débutant avant 2 ans, et pourraient donc orienter les explorations génétiques vers les gènes responsables de maladie mitochondriale plutôt que vers les gènes d'épilepsie monogénique. Le séquençage d'exome prend une grande place dans la prise en charge diagnostique de ces patients. L'adressage des patients vers les différents centres de références concernés et le travail des centres en collaboration est indispensable.

## 7) **ABSTRACT**

*Introduction* – Mitochondrial diseases are an important category of inborn errors of metabolism. Neurological symptoms have been reported as the most frequent in pediatric patients, with frequent and often drug-resistant epilepsy. A biochemical deficiency of one or more complexes of the mitochondrial respiratory chain (MRC) is an important sign of mitochondrial dysfunction, but does not allow to distinguish with certainty between primary mitochondrial diseases (PMD) and secondary mitochondrial dysfunction (SMD). Our primary objective was to define how mitochondrial diseases were involved in early epilepsies in a cohort of patients evaluated in a french reference center. Our secondary objective was to search for a difference in clinical or paraclinical presentation between patients with PMD and SMD on one hand, and according to overall mitochondrial disease probability on the other hand. *Material and methods* – We included patients with epilepsy onset before 2 years and for whom at least one tissular biopsy was sent to the National Center for Mitochondrial Diseases of the Nice University Hospital, from 2007 to 2017. Patients with certain diagnosis were divided between PMD, SMD and other diagnoses without biochemical deficiency. All the patients were then divided between 3 groups of mitochondrial disease probability (high, intermediate, low). *Results* – Among 62 included patients, 20 had an established diagnosis (6 PMD, 8 SMD and 6 other diagnoses without biochemical deficiency). A diagnosis was made in half cases using whole exome sequencing (WES). We did not find any statistically significant difference in clinical or paraclinical parameters between PMD and SMD groups. We observed a trend for a higher death rate, earlier age of death, and higher frequency of classical biochemical findings (hyperlactatemia, high CSF lactate, hyperalaninemia, 3-methylglutaconic aciduria) and MRI findings (basal ganglia involvement, lactate peak in spectroscopy) in the PMD group. We found a significantly different death rate between mitochondrial disease probability groups. We did not find a specific pattern of respiratory chain complexes deficiency. *Conclusion* – Classical biochemical findings (hyperlactatemia, high CSF lactate, hyperalaninemia, 3-methylglutaconic aciduria, lactate peak in spectroscopy) are possibly more frequent in the PMD group than in the SMD group in patients with epilepsy onset before 2 years, and therefore might guide genetic explorations toward mitochondrial disease genes rather than monogenic epilepsy genes. WES takes a growing importance in diagnosis for these patients. Patient referral toward reference centers and collaborative work between centers is mandatory for optimal care.

## 8) ANNEXES

Features		
Muscular	Myopathy	Maximal score for muscle is 2
	Abnormal EMG	
	Motor developmental delay	
	Exercise intolerance	
Neurological	Developmental delay or ID	Maximal score for neuro is 2
	Speech delay	
	Dystonia	
	Ataxia	
	Spasticity	
	Neuropathy	
Multisystem	Seizures or encephalopathy	Maximal score for multisystem 3
	Any gastrointestinal tract disease	
	Growth delay or failure to thrive	
	Endocrine	
	Immune	
	Eye (vision) or Hearing	
	Renal tubular acidosis	
	Cardiomyopathy	
<b>Total clinical</b>		<b>Total clinical score is maximal 4</b>
Metabolic	Lactate high at least 2x: (score 2)	Total metabolic & MRI is maximal 4
	Alanine high at least 2x	
	Krebs' cycle intermediates <sup>a</sup>	
	Ethyl malonic and methyl malonic acid	
	3 methyl glutaconic acid	
	CSF lactate, alanine	
Imaging /other	Leigh disease** (score 2)	Total metabolic & MRI is maximal 4
	Stroke like episodes (score 2)	
	Lactate peak on MRS	
	Leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement <sup>b</sup>	
	Cavitating leukoencephalopathy <sup>b</sup>	
	Leukoencephalopathy with thalamus involvement <sup>b</sup>	
	Deep cerebral white matter involvement and corpus callosum agenesis <sup>b</sup>	
<b>Total MDC score (clinical, metabolic, imaging)</b>		<b>Total score is maximal 8</b>

COX, Cytochrome c oxidase; EMG, electromyography; LP, lactate/pyruvate; SDH, succinate dehydrogenase.

Every element scores 1 unless indicated differently. The severity of each finding is not taken into account due to the progressive nature of the disease. A total score of 1 indicates unlikely mitochondrial disorder, score 2-4: possible mitochondrial disorder, score 5-7 probable mitochondrial disorder and score  $\geq 8$  definite mitochondrial disorder.

<sup>a</sup>Krebs' cycle intermediates: alpha-ketoglutarate, succinate, fumarate. <sup>b</sup>Recently numerous MRI patterns characteristic of mitochondrial disease have been described in addition to Leigh syndrome, and basal ganglia with brainstem involvement. We now include Leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement (DARS2),<sup>26</sup> Cavitating leukoencephalopathy (LYRM7),<sup>27</sup> Leukoencephalopathy with thalamus involvement (EARS2),<sup>28</sup> Deep cerebral white matter involvement and corpus callosum agenesis (NUBP1).<sup>29</sup>

### Annexe 1 : Critères du score MDC (Mitochondrial Disease Criteria). Reproduit d'après Witters et al (13).

**ACTIVITES DES COMPLEXES ENZYMATIQUES ET ENZYMES MARQUEURS  
(nmol/min/mg protéines) NORMES**

Complexe I (NADH CoQ réductase)	9.0-27.1
Complexe II (Succinate CoQ réductase)	18.5-54.0
Complexe III (Ubiquinol CytC réductase)	57.4-190.0
Complexe IV (Cytochrome oxydase)	109.9-350.0
Complexe V (ATPase)	22.0-46.2
Segment II+III (Succinate CytC réductase)	13.3-37.2
Segment G3P+III (G3P CytC réductase)	5.6-23.0
G3P deshydrogenase	11.9-40.0
Citrate synthase	74.7-161.1
Lactate deshydrogenase	2642-8600

**Annexe 2 :** Normes pour l'exploration spectrophotométrique de la chaîne respiratoire mitochondriale sur homogénat et isolat de mitochondries de fibroblastes obtenus à partir d'une biopsie de peau.

**ACTIVITES DES COMPLEXES ENZYMATIQUES ET ENZYMES MARQUEURS  
(nmol/min/mg protéines) NORMES**

Complexe I (NADH CoQ réductase)	10.5 / 39.0
Complexe II (Succinate CoQ réductase)	20.3 / 64.4
Complexe III (Ubiquinol CytC réductase)	94.0 / 330.0
Complexe IV (Cytochrome oydase)	89.0 / 395.0
Complexe V (ATPase)	32.0 / 120.0
Segment I+III (NADH CytC réductase)	11.0 / 55.0
Segment II+III (Succinate CytC réductase)	17.0 / 59.0
Citrate synthase	82.0 / 300.0
Lactate deshydrogenase	1259 / 8500

**Annexe 3 :** Normes pour l'exploration spectrophotométrique de la chaîne respiratoire mitochondriale sur homogénat obtenu à partir d'une biopsie de muscle congelé.

**ACTIVITES DES COMPLEXES ENZYMATIQUES ET ENZYMES MARQUEURS**  
**(nmol/min/mg protéines)** **NORMES**

Complexe I (NADH CoQ réductase)	13.0 / 50.0
Complexe II (Succinate CoQ réductase)	78.0 / 267.0
Complexe III (Ubiquinol CytC réductase)	124.0 / 320.0
Complexe IV (Cytochrome oxydase)	146.0 / 410.0
Complexe V (ATPase)	41.3 / 116.5
Segment I+III (NADH CytC réductase)	33.0 / 110.0
Segment II+III (Succinate CytC réductase)	39.4 / 112.3
Citrate synthase	43.2 / 180.0
Lactate deshydrogenase	736 / 2700

**Annexe 4 : Normes pour l'exploration spectrophotométrique de la chaîne respiratoire mitochondriale sur homogénat obtenu à partir d'une biopsie de foie congelé.**

**CONSOMMATION D'OXYGENE**  
**(nmol O<sub>2</sub>/min/mg protéines)**

**NORMES**

Cellules entières	5.90-13.80	
Cellules perméabilisées	avec glutamate+malate	8.00-16.60
	avec succinate	8.00-15.80
	avec glycérol-3-phosphate	4.90-13.50

**Annexe 5 : Normes pour l'exploration oxymétrique de la chaîne respiratoire mitochondriale sur homogénat de fibroblastes obtenus à partir d'une biopsie de peau.**





Liste des 368 gènes nucléaires du panel "maladies mitochondriales" classés  
par fonction/mécanisme d'action ou voie métabolique

Sous-unités et facteurs d'assemblage OXPHOS		Enzymes			Transcription / traduction	Maintenance de l'ADN mitochondrial, biogenèse et/ou dynamique mitochondriales	
AIFM1	NDUFB10	ABCB7	FXN	PC	AARS2	ABAT	MFF
ATP5A1	NDUFB11	ACAD8	GAMT	PCCA	CARS2	AFG3L2	MFN1
ATP5D	NDUFS1	ACAD9	GATM	PCCB	C1QBP	AGK	MFN2
ATP5E	NDUFS2	ACADM	GCDH	PCK2	C12orf65	AK2	MGME1
ATPAF2	NDUFS3	ACADS	GCK	PDHA1	DARS2	ATAD3	MICU1
BCS1L	NDUFS4	ACADSB	GCSH	PDHB	EARS2	c10orf2	MINOS1
BOLA3	NDUFS6	ACADVL	GFER	PDHX	ELAC2	C19orf70	MSTO1
COA5	NDUFS7	ACAT1	GK	PDK3	ERAL1	CHCHD2	MPV17
COA6	NDUFS8	ACO2	GLDC	PDP1	ERCC6	CHCHD3	OPA1
COA7	NDUFV1	ALAS2	GLRX5	PDSS1	FARS2	CHCHD4	OPA3
COX4I2	NDUFV2	ALDH4A1	GLUD1	PDSS2	FTSJ2	CHCHD6	PARK2
COX5A	NUBPL	ALDH6A1	HADH	PITRM1	GARS	CHCHD10	PARK7
COX6A1	PET100	AMACR	HADHA	PMPCA	GFM1	DDHD1	PIF1
COX6B1	SCO1	AMT	HADHB	PMPCB	GFM2	DGUOK	PINK1
COX7B	SCO2	APOA1BP	HIBCH	PNPLA2	GTPBP3	DNA2	POLG
COX8A	SDHA	APTX	HK1	PNPLA4	HARS2	DNM1L	POLG2
COX10	SDHAF1	ATL1	HLCS	PPA2	HCCS	DNM2	REEP1
COX14	SDHAF2	AUH	HMGCL	PPOX	HSD17B10	ETFA	RRM2B
COX15	SDHB	BCAT2	HMGCS2	RTN4IP1	KARS	ETFB	SERAC1
COX20	SDHC	BCKDHA	HOGA1	TAZ	LARS2	ETFDH	SLC25A4
CYC1	SDHD	BCKDHB	IARS2	TPK1	LRPPRC	FBXL4	SPG7
FOXRED1	SURF1	BTD	IDH1	VAR2	MARS2	FIS1	SSBP1
NDUFA1	TMEM70	CA5A	IDH2	WARS2	MRPL3	GDAP1	SUCLA2
NDUFA2	TMEM126B	CLPB	IDH3A	WWOX	MRPL12	HSPD1	SUCLG1
NDUFA4	TTC19	CLPP	IDH3B	XPNPEP3	MRPL44	HTRA2	SUCLG2
NDUFA9	UQQC2	COASY	ISCA1	YME1L1	MRPS7	IBA57	TARS2
NDUFA10	UQQC3	COQ2	ISCA2		MRPS2	IMMT	TK2
NDUFA11	UQCRB	COQ4	ISCU		MRPS16	KIF13A	TYMP
NDUFA12	UQCRC2	COQ5	IVD		MRPS22	KIF1A	UNG
NDUFA13	UQCRQ	COQ6	L2HGDH		MRPS23	KIF1B	WFS1
NDUFAP1		COQ7	LIAS		MRPS34	KIF5A	
NDUFAP2		COQ8A	LIPT1		MTFMT		
NDUFAP3		COQ8B	LIPT2		MTO1		
NDUFAP4		COQ9	LONP1		MTPAP		
NDUFAP5		CPS1	MAOA		NARS2		
NDUFAP6		CPT1A	MCCC1		NME1		
NDUFAP8		CPT2	MCCC2		PARS2		
NDUFB3		CRAT	MCEE		PNPT1		
NDUFB8		CYB5R3	MDH2		PUS1		
NDUFB9		CYCS	MECR		QRSL1		
<b>Transporteurs</b>		CYP27A1	MIPEP		RARS2	<b>Autres</b>	
APOPT1	SLC25A22	D2HGDH	MLYCD		RMND1	CEP89	SACS
CACNA1A	SLC25A26	DBT	MMAA		RNASEH1	CISD2	SAMHD1
DNAJC19	SLC25A32	DECR1	MMAB		SARS2	DIABLO	SFXN4
MPC1	SLC25A38	DHODH	MMADHC		STAT2	EIF2AK3	SPAST
SLC19A2	SLC25A42	DLAT	MUT		TACO1	FDX1L	SPG20
SLC19A3	SLC25A46	DLD	NADK2		TRIT1	HTT	STAR
SLC22A5	SLC33A1	DMGDH	NAGS		TRMT5	LYRM4	TMEM65
SLC25A1	SLC6A8	ECHS1	NFS1		TRMT10C	LYRM7	TMEM126A
SLC25A3	TIMM8A	ETHE1	NSUN3		TRMU	NFU1	TXN2
SLC25A12	TIMM50	FASTKD2	OAT		TRNT1	PACS2	YWHAE
SLC25A13	TIMMDC1	FBP1	OGDH		TSFM	PNKD	
SLC25A15		FDXR	OTC		TUFM	PNPLA8	
SLC25A19		FH	OXCT1		YARS2		
SLC25A20		FLAD1	PANK2				

**Annexe 6 :** Liste des gènes inclus dans le panel NGS "maladies mitochondriales" du laboratoire de Génétique du CHU de Nice.

**Liste gènes pour PAGEM 2018 (116 gènes)**

ADSL	GRIN1	PRDM8
ALDH4A1	GRIN2A	PRICKLE1
ALDH7A1	GRIN2B	PRRT2
ALG13	GRIN2D	QARS
AP3B2	HCN1	RORB
ARHGEF9	HDAC4	SCARB2
ARX	HNRNPU	SCN1A
ATIC	IQSEC2	SCN1B
ATP1A3	KCNA2	SCN2A
BRAT1	KCNB1	SCN8A
BTD	KCNC1	SIK1
CACNA1A	KCNH1	SLC1A2
CAD	KCNJ10	SLC12A5
CASK	KCNQ2	SLC13A5
CDKL5	KCNQ3	SLC19A3
CHD2	KCNT1	SLC25A22
CHRNA2	KCTD7	SLC2A1
CHRNA4	LGI1	SLC35A2
CHRNB2	MBD5	SLC6A1
CPA6	MECP2	SLC9A6
CSTB	MEF2C	SPTAN1
DEPDC5	MOCS1	ST3GAL3
DNM1	MOCS2	ST3GAL5
DYRK1A	MTOR	STAMBP
EEF1A2	NEDD4L	STX1B
EPM2A	NHLRC1	STXBP1
FARS2	NPRL2	SYN1
FHF1	NPRL3	SYNGAP1
FOLR1	NR2F1	SYNJ1
FOXP1	PACS2	SZT2
FRRS1L	PCDH19	TBC1D24
GABBR2	PIGA	TCF4
GABRA1	PIGG	UBA5
GABRB1	PIGN	UBE3A
GABRB2	PIGO	WDR45
GABRB3	PIGQ	WWOX
GABRG2	PLCB1	
GEPH	PNKP	
GNAO1	PNPO	
GOSR2	POLG	

**Annexe 7 : Liste des gènes inclus dans le panel NGS “épilepsies monogéniques” réalisé par les laboratoires diagnostiques du réseau EPIGENE (pour notre cohorte, laboratoire de Génétique du CHU de Marseille).**