

## Atteinte rénale au cours des cytopathies mitochondriales

Agnès Rötig  
Agnès Lehnert  
Dominique Chrétien  
Pierre Rustin  
Marie-Claire Gubler  
Arnold Munnich  
Patrick Niaudet

Les maladies mitochondriales ont comme dénominateur commun un déficit enzymatique de la chaîne respiratoire mitochondriale, lieu de la respiration cellulaire couplée à la production d'énergie. Les différents complexes multi-enzymatiques qui la composent ont une double origine génétique puisque certaines protéines sont codées par le génome mitochondrial et d'autres par le génome nucléaire. Tous les tissus peuvent être touchés, entraînant une grande diversité de maladies, dont les manifestations neuromusculaires sont les plus connues. L'atteinte rénale est rare au cours des cytopathies mitochondriales et toujours associée à celle d'autres organes. La manifestation rénale la plus fréquente est un syndrome de De Toni-Debré-Fanconi, mais il peut également s'agir d'un syndrome néphrotique ou d'une néphropathie tubulo-interstitielle chronique.

### ADRESSES

A. Rötig : chargée de recherche à l'Inserm. Unité de recherches sur les handicaps génétiques de l'enfant, Inserm U. 393. A. Lehnert : chef de clinique-assistante. Service de néphrologie pédiatrique, département de pédiatrie, hôpital des Enfants-Malades, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France. D. Chrétien : technicien université Paris V. P. Rustin : directeur de recherche au Cnrs. Inserm U. 393. M.C. Gubler : directeur de recherche à l'Inserm. Unité de recherches sur le rein en développement et néphropathies héréditaires, Inserm U. 423. A. Munnich : professeur à l'université, praticien hospitalier, directeur de l'U. 393 Inserm. Service de génétique médicale, Tour Lavoisier, hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France. P. Niaudet : professeur à l'université, praticien hospitalier. Service de néphrologie pédiatrique, département de pédiatrie, Hôpital des Enfants-Malades, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France.

Les maladies mitochondriales qui peuvent atteindre différents organes ou tissus ont un dénominateur commun, un déficit enzymatique de la chaîne respiratoire mitochondriale [1, 2]. Les déficits de la chaîne respiratoire ont longtemps été considérés comme responsables de maladies purement neuromusculaires (*m/s* n° 7, vol. 4, p. 457). Les manifestations musculaires regroupent des myopathies, des faiblesses musculaires, des amyotrophies, un ptosis. Les principales manifestations neurologiques sont des convulsions, une hypotonie, des myoclonies, une ataxie, une neuropathie périphérique, une leucodystrophie (*m/s* n° 2, vol. 5, p. 123). Cependant, le

fonctionnement d'un grand nombre d'organes et de tissus non neuromusculaires dépend de la fourniture d'énergie par la chaîne respiratoire, et un déficit à ce niveau peut (théoriquement) provoquer n'importe quel symptôme dans n'importe quel organe ou tissu. Ainsi, les maladies mitochondriales peuvent se traduire par des manifestations hépatiques (hépatomégalie, cytolysse hépatique), cardiaques (myocardiopathie hypertrophique, troubles de la conduction), digestives (atrophie villositaire, insuffisance pancréatique externe, pseudo-obstruction colique), endocriniennes (diabète insulino-dépendant (*m/s* n° 6, vol. 8, p. 599 et n° 9, vol. 8, p. 1001), déficit en hormone de crois-

sance, hypoparathyroïdie), hémato-  
logiques (pancytopénie), sensorielles  
(surdité, atrophie optique, rétinite  
pigmentaire). Enfin, elles peuvent  
 galement donner lieu à des atteintes  
rénales qui font l'objet de cet article.  
Ces maladies mitochondriales sont  
donc caractérisées par une très  
grande variabilité d'expression cli-  
nique et par l'atteinte simultanée de  
plusieurs organes. En outre, compte  
tenu de la double origine génétique  
des protéines de la chaîne respira-  
toire, ces maladies peuvent présenter  
différents modes de transmission.

### La chaîne respiratoire mitochondriale

La mitochondrie est le si ge de nom-  
breuses réactions du métabolisme  
intermédiaire telles que la  $\beta$ -oxyda-  
tion des acides gras, le cycle de  
Krebs, le cycle de l'urée... La mito-  
chondrie est également le si ge de la  
respiration cellulaire couplée à la  
production d'énergie: c'est la phos-  
phorylation oxydative. Celle-ci a lieu  
au niveau de la chaîne respiratoire  
située dans la membrane mitochon-  
driale interne et fait intervenir, d'une  
part, des réactions d'oxydation qui  
aboutissent à une consommation  
d'oxygène et, d'autre part, une réac-  
tion de phosphorylation de l'ADP  
intramitochondrial en ATP. La  
chaîne respiratoire est composée de  
quatre complexes multi-enzyma-  
tiques qui fonctionnent comme  
transporteurs d'électrons [3]: le  
complexe I (NADH-CoQ réductase),  
le complexe II (succinyl-CoQ r duc-  
tase), le complexe III (ubiquinone-  
cytochrome c réductase) et le com-  
plexe IV (cytochrome c oxydase).  
Enfin, le complexe V ou ATPase  
assure la synthèse de l'ATP à partir  
de l'ADP et du phosphate inorga-  
nique dans la matrice mitochon-  
driale (figure 1). L'activité de ces dif-  
f rents complexes peut être estimée,  
soit par des études de polarographie,  
soit par des études de spectrophoto-  
m trie. Si ces études peuvent se faire  
en principe sur n'importe quel  
organe, il est recommandé, dans la  
mesure du possible, d'explorer le  
tissu (ou l'organe) qui exprime la  
maladie. Ainsi, dans le cas d'atteintes  
rénales, le tissu de choix est bien  vi-  
demment le rein. Cependant, la rela-  
tive difficulté d'obtenir une biopsie

rénale justifie que, dans un premier  
temps, seuls les lymphocytes ou/et le  
muscle soient explorés. Il est  
d'ailleurs important de noter, dans  
notre expérience au moins, que le  
déficit est très souvent détecté dans  
ces tissus et qu'il est donc rarement  
nécessaire de recourir à une biopsie  
rénale pour confirmer le diagnostic.  
L'étude enzymologique de la chaîne  
respiratoire est l'examen qui permet  
le plus souvent d'établir le diagnostic  
de cytopathie mitochondriale.

### Investigation métabolique

Un déficit enzymatique de la chaîne  
respiratoire provoque une modifica-  
tion profonde des équilibres d'oxy-  
dor duction cytoplasmiques et mito-  
chondriaux par accumulation  
d'équivalents réduits (NADH, FADH),  
provoquant une diminution de l'acti-  
vit  des enzymes du cycle de Krebs.  
Dans la mitochondrie, cette accumu-  
lation de NADH entraîne la transfor-  
mation de l'acéto-acétate en 3-  
hydroxybutyrate et, donc, une  
 l vation du rapport 3-hydroxybuty-  
rate/acéto-acétate. De même, dans le  
cytoplasme, la transformation du  
pyruvate en lactate sera favorisée et le  
rapport lactate/pyruvate sera donc  
 lev  par augmentation de la concen-  
tration en lactate (figure 1). Cela est  
particulièrement vrai en période  
postprandiale, quand l'oxydation des  
substrats glycolytiques conduit à une  
production accrue de pyruvate dont  
l'oxydation mitochondriale se trouve  
indirectement bloquée en raison du  
déficit de la chaîne respiratoire. De  
même, et du fait de la diminution  
d'activité du cycle de Krebs, la syn-  
thèse des corps cétoniques augmente  
après les repas, l'entrée de l'acétyl  
CoA dans la cétogenèse étant alors  
favorisée. L'élévation des corps céto-  
niques est alors paradoxale, puisque  
ceux-ci devraient normalement dimi-  
nuer après les repas sous l'action de  
l'insuline lib r e. Devant une hyper-  
lactacidémie persistante, une pertur-  
bation des équilibres rédox et une  
cétonémie paradoxale, il faut prati-  
quer une exploration enzymologique  
de la chaîne respiratoire.  
Cependant, ces tests diagnostiques  
peuvent échouer dans la détection  
d'anomalies des rapports d'oxydor -  
duction plasmatiques et, tout particu-

### RÉFÉRENCES

1. Rötig A, Bonnefont J, Colonna M, Cormier V, Rustin P, Saudubray J, Munnich A. Les remaniements du génome mitochondrial dans les déficits énergétiques de l'enfant: de nouvelles maladies de système? *Med Sci* 1989; 5: 459-71.
2. Dreyfus J. Les maladies du génome mitochondrial. *Med Sci* 1991; 7: 172-4.
3. Hatefi Y. The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Annu Rev Biochem* 1985; 54: 1015-69.
4. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981; 290: 457-65.
5. R tig A, Lehnert A, Rustin P, et al. Kidney involvement in mitochondrial disorders. *Adv Nephrol* 1995; 24: 367-78.
6. R tig A, Bessis JL, Romero N, et al. Maternally inherited duplication of the mitochondrial DNA in proximal tubulopathy with diabetes mellitus. *Am J Hum Genet* 1991; 50: 364-70.
7. Goto Y, Koga Y, Horai S, et al. Chronic progressive external ophthalmoplegia: a correlative study of mitochondrial DNA deletions and their phenotypic expression in muscle biopsies. *J Neurol Sci* 1990; 100: 63-9.
8. Brun P, Ogier de Baulny H, Peuchmaur M, et al. Les atteintes rénales des cytopathies mitochondriales. *Journées Parisiennes de P diatrie*. Paris: Flammarion 1994: 227-34.
9. Kitano A, Nishiyama S, Miike T, Hattori S, Ohtani Y, Matsuda I. Mitochondrial cytopathy with lactic acidosis, carnitine deficiency and de Toni-Fanconi-Debré syndrome. *Brain Dev* 1986; 8: 289-95.

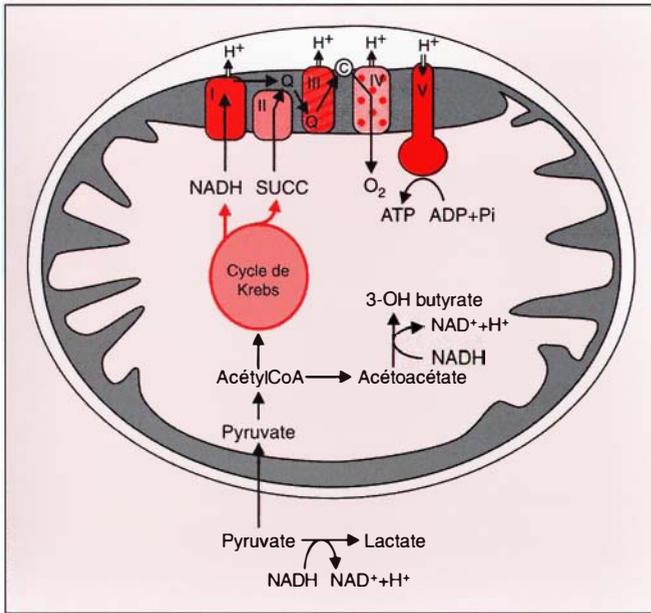


Figure 1. **Métabolisme oxydatif et chaîne respiratoire mitochondriale.** I, II, III, IV, V: complexes I-V de la chaîne respiratoire; Q: quinone; c: cytochrome c; SUCC: succinate; H<sup>+</sup>: proton.

mener une étude métabolique plus poussée et, tout particulièrement, rechercher une acidurie organique qui sera le reflet d'un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale.

## Génome mitochondrial

Le génome mitochondrial est une molécule circulaire bicaténaire, comptant 16 569 paires de bases, localisée dans la matrice mitochondriale [4]. Les deux brins diffèrent par leur composition en bases. Le brin lourd (HS, *heavy strand*) comprend plus de résidus guanine (G), le brin léger (LS, *light strand*) plus de résidus cytosine (C). La première particularité de cet ADNmt est son très important compactage. Effectivement, à l'exception d'une petite région localisée autour de l'origine de réplication (boucle de déplacement, *D-loop*), le génome mitochondrial est saturé de gènes sans introns (figure 2). Les gènes qui le composent sont 2 gènes codant pour des ARN ribosomiques (ARNr), 22 gènes codant pour des ARN de transfert (ARNt) nécessaires à l'expression du génome mitochondrial et 13 gènes codant pour des pro-

lièrement, dans le cas d'atteinte rénale. En effet, une tubulopathie proximale peut diminuer la concentration sanguine de lactate et augmenter sa concentration urinaire. Dans ce cas, des analyses en spectrométrie de masse peuvent permettre de déterminer les

lactates urinaires et les intermédiaires du cycle de Krebs. Une lactatémie et des rapports d'oxydoréduction normaux chez des patients présentant une atteinte rénale ne permettent donc pas d'exclure l'hypothèse d'une maladie mitochondriale. Il faut dans ces cas-là

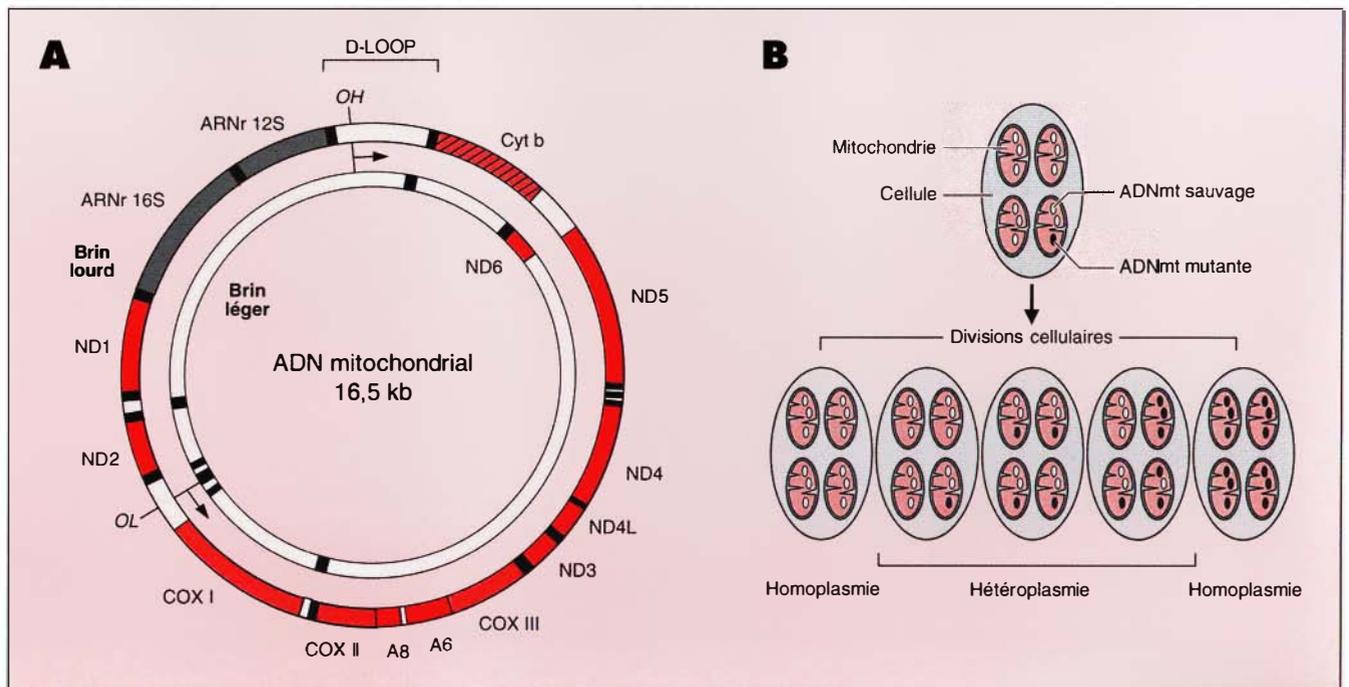


Figure 2. **A. Structure de l'ADN mitochondrial.** D-loop: boucle de déplacement. OH, OL: origines de réplication du brin lourd et du brin léger. ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5, ND6: NADH déshydrogénase 1-6 (complexe I). cyt b: cytochrome b (complexe III). COXI, COXII, COXIII: cytochrome c oxydase I-III (complexe IV). A6, A8: ATPase6, ATPase8 (complexe V). Les traits noirs représentent les 22 ARNt. **B. Ségrégation mitotique et hétéroplasmie.**

téines de la chaîne respiratoire: sept protéines du complexe I (NADH déshydrogénase: ND1-ND6 et ND4L), une protéine du complexe III (cytochrome b), trois protéines du complexe IV (la cytochrome c oxydase: COX I-III), deux protéines du complexe V (ATPase6, 8). Tous les autres gènes codant pour des protéines de la chaîne respiratoire et les protéines impliquées dans des interactions avec l'ADNmt sont codées par des gènes nucléaires et importées dans la mitochondrie. Chaque mitochondrie contient 2 à 10 copies d'ADNmt. Ainsi, malgré sa très petite taille (16,5 kb), l'ADNmt est fortement représenté dans les tissus humains, surtout ceux riches en mitochondries.

hommes ne transmettent jamais leur ADNmt. Dans le cas des maladies mitochondriales, l'étude génétique de la famille est souvent déroutante car les enfants d'une même famille ne sont pas toujours tous atteints. En effet, ils peuvent tous présenter la mutation mais la proportion de molécules mutées peut être variable d'un individu à l'autre et donner lieu à des phénotypes différents. Parfois, seule l'étude moléculaire peut établir de façon certaine la transmission maternelle de la maladie.

## Maladies mitochondriales et atteinte rénale

Les cytopathies mitochondriales peuvent donner lieu à différents types d'atteinte rénale. Au cours des dernières années, nous avons suivi onze enfants ayant une atteinte rénale au cours d'une cytopathie mitochondriale. Dans sept de nos cas, des déficits enzymatiques de la chaîne respiratoire ont pu être mis en évidence. Les déficits trouvés touchent les différents complexes de la chaîne respiratoire. Ils peuvent être isolés, affecter deux complexes ou être généralisés. Il n'a jamais été possible d'établir une relation entre le complexe déficitaire et le type d'atteinte rénale. De la même façon, dans les quelques cas où un remaniement de l'ADNmt a pu être identifié, ni la taille ni la localisation de la délétion n'ont pu être corrélées à un type de maladie ou à sa gravité. Nous rapportons les observations de trois enfants afin d'illustrer les différentes atteintes rénales ainsi que le spectre des signes extrarénaux observés chez ces malades.

### • Syndrome de De Toni-Debré-Fanconi

*Malade 3.* Une fille de 3,170 kg naît au terme d'une grossesse normale après un accouchement normal. Les parents ne sont pas consanguins. Une sœur et deux frères sont bien portants. A l'âge de 4 ans, elle est examinée en raison d'une anorexie avec diarrhée et cassure de la courbe statur pondérale. Sa taille est de 88 cm [-3,5 déviations standard (DS) et son poids de 11,6 kg (-3 DS)]. Les examens biologiques révèlent une acidose avec un pH sanguin de 7,19, une réserve alcaline basse (13 mmol/l) et une cétonémie. La glycémie est nor-

## RÉFÉRENCES

- Majander A, Suomalainen A, Vetteranta K, *et al.* Congenital hypoplastic anemia, diabetes, and severe renal tubular dysfunction associated with a mitochondrial DNA deletion. *Pediatr Res* 1991; 30: 327-30.
- Niaudet P, Heidet L, Munnich A, *et al.* Deletion of the mitochondrial DNA in a case of de Toni-Debré-Fanconi syndrome and Pearson syndrome. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 164-8.
- Eviatar L, Shanske S, Gauthier B, *et al.* Kearns-Sayre syndrome presenting as renal tubular acidosis. *Neurology* 1990; 40: 1761-3.
- Goto Y, Itami N, Kajii N, *et al.* Renal tubular involvement mimicking Bartter syndrome in a patient with Kearns-Sayre syndrome. *J Pediatr* 1990; 116: 904-10.
- Rötig A, Goutieres F, Niaudet P, *et al.* Deletion of mitochondrial DNA in patient with chronic tubulointerstitial nephritis. *J Pediatr* 1995; 126: 597-601.
- Egger J, Lake BD, Wilson J. Mitochondrial cytopathy. A multisystem disorder with ragged red fibers on muscle biopsy. *Arch Dis Child* 1981; 56: 741-52.
- Donaldson MDC, Warner AA, Trompeter RS, *et al.* Familial juvenile nephronophthisis, Jeune's syndrome, and associated disorders. *Arch Dis Child* 1985; 60: 426-34.
- Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV, Trounce I, Polak MA, Koontz DA, Wallace DC. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA deletion. *Nature Genet* 1992; 1: 11-5.
- Nelson I, Degoul F, Marsac C, Ponsot G, Lestienne P. Des délétions de l'ADN mitochondrial dans le syndrome de Kearns-Sayre et autres myopathies avec ophtalmoplégie externe progressive. *médecine/sciences* 1989; 5: 472-9.
- Kadowaki T, Kadowaki H, Mori Y, Tobe K, Sakuta R, *et al.* A subtype of diabetes mellitus associated with a mutation of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 1994; 330: 962-8.

## Génétique mitochondriale

### • Hétéroplasmie

Chaque cellule humaine possède plusieurs mitochondries et chaque mitochondrie plusieurs copies d'ADNmt. En général, les copies d'ADNmt sont toutes identiques, on parle alors d'homoplasmie. Cependant, il peut parfois y avoir un mélange de molécules normales et de molécules mutées, on parlera alors d'hétéroplasmie (*figure 2*), phénomène presque constant dans les cas d'anomalies de l'ADNmt. Le génotype mitochondrial ne se définit donc plus seulement par l'existence d'une mutation, mais également par la quantité de molécules mutées dans un tissu. En effet, un tissu présentant 20 % de molécules mutées pourra être phénotypiquement normal. Le phénotype dépend essentiellement du nombre de molécules mutées et, pour des tissus différents, le seuil peut varier à partir duquel une mutation aura une conséquence pathologique.

### • Hérité maternelle

Les mitochondries suivent une hérédité cytoplasmique indépendante de l'hérédité mendélienne. Chez les mammifères, l'ADN du noyau du spermatozoïde étant retenu au cours de la fécondation, l'hérédité cytoplasmique est une hérédité maternelle. Les mères transmettent leur ADNmt à tous leurs enfants. Les filles, à leur tour, transmettent leur ADNmt à la génération suivante. En revanche, les

Tableau I						
PRÉSENTATION CLINIQUE DES CYTOPATHIES MITOCHONDRIALES AVEC ATTEINTE RÉNALE						
	Patients	Sexe	Âge de début	Premier signe	Évolution clinique	Réf
<b>Tubulopathie proximale</b>	1	F	6 mois	Retard staturo-pondéral	Rachitisme, atrophie villositaire, anémie, insuffisance pancréatique, <i>syndrome de Fanconi (4 ans)</i> , déficit en GH	11
	2	M	4 mois	Retard psychomoteur	<i>Tubulopathie proximale (8 mois)</i> , hypotonie, encéphalopathie	5
	3	F	4 ans	Anorexie Diarrhée	<i>Tubulopathie proximale (4 ans)</i> , diabète insulino-dépendant	5
	4	F	7 mois	Amaigrissement Chute des cheveux	Anémie, retard psychomoteur, <i>tubulopathie proximale (3 ans)</i> , trichothiodystrophie, syndrome pyramidal	5
	5	F	28 mois	Retard staturo-pondéral Troubles de la marche	<i>Tubulopathie proximale (28 mois)</i> , syndrome pyramidal, syndrome extrapyramidal, encéphalopathie convulsivante	
	6	F	1 an	Anorexie Anomalies cutanées <i>Tubulopathie proximale</i>	Diarrhée, rétinite pigmentaire, rachitisme, hépatomégalie, diabète insulino-dépendant, ataxie cérébelleuse, surdité, cécité, retard psychomoteur, obésité	6
	7	F	20 mois	Troubles digestifs Retard staturo-pondéral	Accès d'hypotonie avec somnolence, <i>tubulopathie proximale (20 mois)</i> , insuffisance hépatique, pancytopenie	
	8	M	5 mois	Anémie, thrombopénie	Insuffisance pancréatique, tubulopathie proximale (5 ans), insuffisance rénale, ataxie cérébelleuse	
<b>Syndrome néphrotique</b>	9	M	11 mois	Retard statural	Syndrome pyramidal, myopathie, ptosis, surdité, <i>syndrome néphrotique (5 ans)</i>	5
<b>Néphropathie tubulo-interstitielle et insuffisance rénale</b>	10	M	11 ans	<i>Insuffisance rénale</i>	Rétinite pigmentaire, syndrome cérébelleux, syndrome pyramidal, surdité, retard mental	14
	11	F	9 ans	Retard statural	Surdité, atrophie corticale, <i>insuffisance rénale (13 ans)</i> , rétinite pigmentaire, convulsions, cardiomyopathie	5

male. Le seuil de réabsorption des bicarbonates est diminué (12 mmol/l) et l'on retrouve également une hyperaminoacidurie généralisée, une hypophosphorémie (0,5 mmol/l) avec un taux de réabsorption tubulaire du phosphore diminué à 48 %, une hypouricémie et une protéinurie tubulaire modérée. Le débit de filtration glomérulaire est normal. Il n'existe aucune anomalie hématologique ni hépatique. Son état général s'améliore

avec une nutrition entérale nocturne et un supplément de bicarbonates. On détecte alors un diabète insulino-dépendant puis, à l'âge de 5 ans, une discrète altération de la filtration glomérulaire. Les rapports d'oxydoréduction plasmatique sont normaux (*Tableau II*); en revanche, l'étude des acides organiques urinaires révèle une hyperlactaturie ainsi qu'une excrétion des intermédiaires du cycle de Krebs (*Tableau III*). En outre, une étude enzy-

mologique de la chaîne respiratoire mitochondriale permet d'identifier un déficit généralisé dans le muscle et le rein (*Tableau IV*).

Nous avons observé plusieurs malades présentant un syndrome de De Toni-Debré-Fanconi [5]. Le *Tableau I* décrit la présentation clinique de ces malades. L'exploration métabolique a montré des concentrations de lactate, de pyruvate, de corps cétoniques ainsi que des rapports

Tableau II							
INVESTIGATION MÉTABOLIQUE							
	Patient	Lactate (mmol/l)	Pyruvate (mmol/l)	L/P	$\beta$ -OH butyrate (mmol/l)	acéto-acétate (mmol/l)	$\beta$ -OH butyrate/acéto-acétate
Tubulopathie proximale	1	2,35	0,15	15,6	0,57	0,12	4,7
	2	1,2	0,09	13	0,56	0,13	4,3
	3	1,18	0,07	17	3,5	0,6	6
	4	2,4	0,16	15	<0,02	0,06	<1
	5	1,48	0,12	12,6	0,87	0,24	3,6
	6	2,83	0,17	16,6	0,042	0,043	0,97
	7	5,83	0,32	18,2	0,16	0,09	1,8
	8	1,56	0,13	12	0,09	0,09	1
Syndrome néphrotique	9	1,5	0,12	12,2	0,23	0,11	2,1
Néphropathie tubulo-interstitielle	10	3,5	0,16	22	0,03	0,04	0,7
	11	1,7	0,15	12	<0,02	0,07	<1
Témoins		0,6-2,4	0,045-0,19	<20	0,02-0,09	0,016-0,04	<3

L/P = rapport des concentrations lactate/pyruvate.

Tableau III			
ACIDES ORGANIQUES URINAIRES CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE TUBULOPATHIE PROXIMALE			
	Lactate ( $\mu$ mol/mmol créatinine)	Fumarate ( $\mu$ mol/mmol créatinine)	Malate ( $\mu$ mol/mmol créatinine)
1	254	96	99
2	383	78	114
3	433	82	136
4	3155	115	165
5	++	232	ND
6	++	ND	ND
7	79000	188	ND
8	1245	13	5
Témoins	<50	<14	<8

ND: non déterminé.

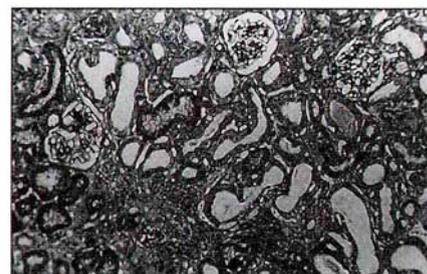


Figure 3. **Syndrome de De Toni-Debré-Fanconi.** Altérations irrégulières de l'épithélium tubulaire proximal caractérisées par la clarification du cytoplasme liée à la présence de microvacuolisations, la hauteur réduite des cellules et l'absence de bordure en brosse. Microscopie optique. Trichrome vert lumière.

d'oxydoréduction presque toujours normaux (Tableau II). En revanche, l'étude des acides organiques urinaires a révélé des quantités de lactate ainsi que des intermédiaires du cycle de Krebs très anormalement élevées (Tableau III). Ce sont ces données métaboliques anormales ainsi que la coexistence de plusieurs signes cliniques chez ces enfants qui ont permis d'évoquer le diagnostic de cytopathie mitochondriale et ont conduit à mesurer l'activité de la chaîne respiratoire. Nous avons ainsi pu décrire l'existence d'un déficit de

la chaîne respiratoire dans le muscle, les lymphocytes ou le rein de cinq malades (Tableau IV).

La manifestation rénale la plus fréquente au cours des maladies mitochondriales est le syndrome de De Toni-Debré-Fanconi, une tubulopathie proximale conduisant à une fuite urinaire d'acides aminés, de glucose, de protéines, de phosphate, d'acide urique, de bicarbonate, de potassium et d'eau. Un syndrome de De Toni-Debré-Fanconi associé à un déficit de la chaîne respiratoire a été rapporté dans la littérature chez

32 malades, 23 filles et 9 garçons [6-11]. Les fuites urinaires sont souvent modérées et, chez cinq malades, seule une hyperaminoacidurie a été notée. Les premiers signes de la maladie ont été observés dans la période néonatale chez 13 enfants et avant l'âge de deux ans pour 27 autres. L'existence d'autres enfants dans la famille présentant les mêmes symptômes a parfois permis d'évoquer une transmission autosomique récessive. Le syndrome de Fanconi peut parfois se compliquer d'une insuffisance rénale modérée,

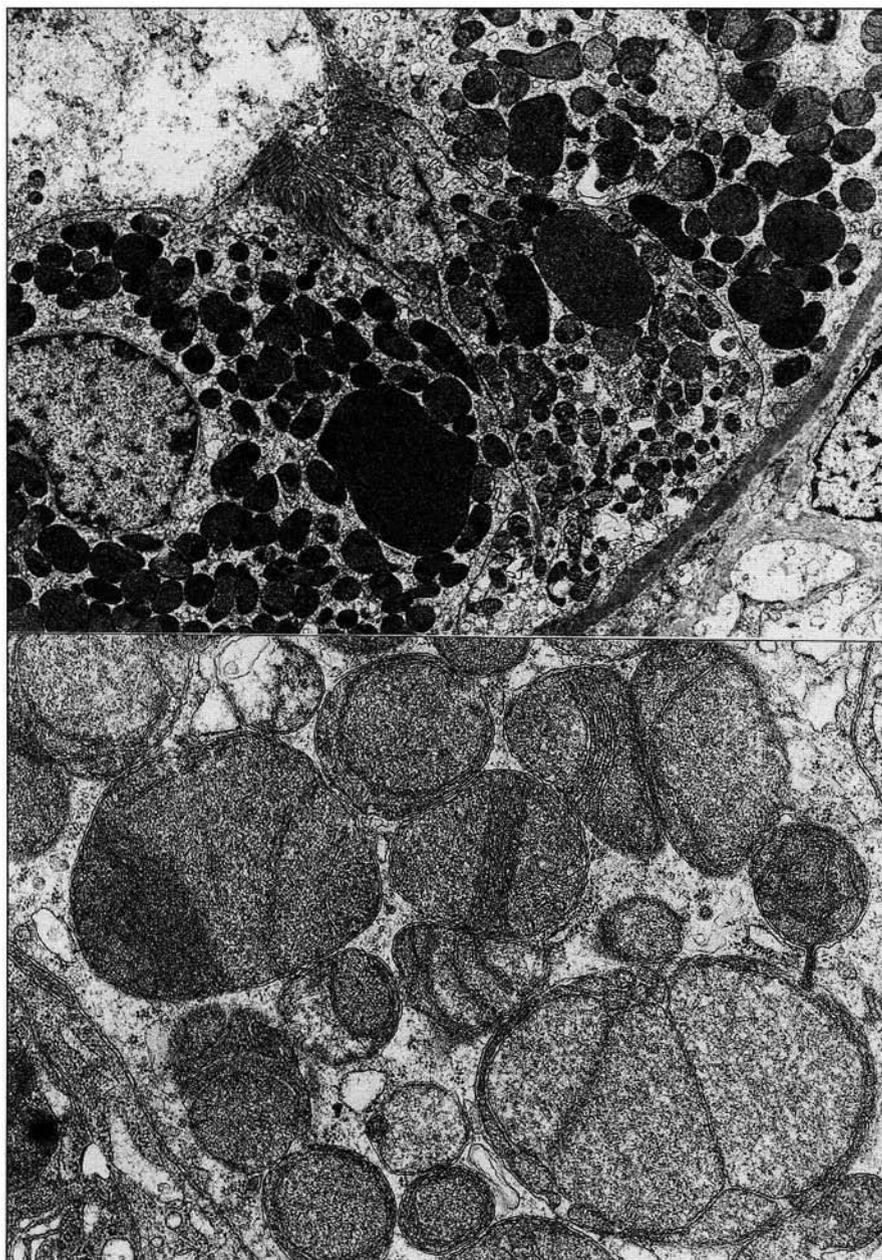


Figure 4. **Syndrome de De Toni-Debré-Fanconi.** Tubule proximal. **A.** Présence de mitochondries de taille extrêmement variable, certaines géantes, atteignant presque la taille du noyau (x 7500). **B.** Détail des altérations mitochondriales: taille irrégulière, désorganisation des crêtes, clarification de la matrice. Microscopie électronique (x 23 000) acétate d'uranyl citrate de plomb.

comme cela a été observé chez deux malades. Dans 10 des cas publiés, une étude histologique du rein a montré des anomalies non spécifiques plus ou moins sévères de l'épithélium tubulaire, accompagnées de dilatations et d'oblitérations par des cylindres, une dédifférenciation ou une atrophie

(figure 3). Certaines cellules tubulaires renferment des vacuolisations cytoplasmiques et on peut parfois observer des mitochondries géantes (figure 4A, 4B). Dans tous les cas, les malades ont développé des signes extrarénaux: une myopathie, des symptômes neurologiques, une

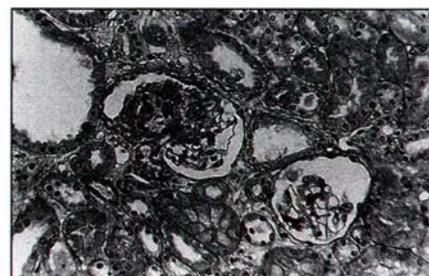


Figure 5. **Syndrome néphrotique.** Présence d'une large lésion de scléro-hyalinose segmentaire dans un glomérule; le glomérule voisin est normal. Microscopie optique. Trichrome vert lumière.

atteinte hépatique, un syndrome de Pearson\*, des signes cardiaques ou un diabète sucré. Il faut noter que la maladie était d'autant plus sévère qu'elle était d'apparition précoce. Des déficits de la chaîne respiratoire ont également été décrits dans certains cas d'acidose tubulaire proximale [12]. Par ailleurs, le cas d'un enfant présentant un syndrome de Bartter\* a été rapporté [13]. Ces patients présentaient également plusieurs signes extrarénaux (surdité, signes neurologiques, retard de croissance, diabète).

#### • Atteinte glomérulaire

*Malade 9.* Un garçon de 3,320 kg naît au terme d'une grossesse normale après un accouchement normal. Ses parents ne sont pas consanguins. A l'âge de 9 mois apparaît une anorexie et l'examen révèle des signes de myopathie. A l'âge de 3 ans, on note un syndrome pyramidal avec une amyotrophie proximale, un ptosis bilatéral et une surdité. Deux ans plus tard apparaît un syndrome néphrotique avec protéinurie massive, hypoalbuminémie et œdèmes. Il n'y a pas d'hématurie ni de signe de tubulopathie proximale. Le débit de filtration glomérulaire est normal. La biopsie rénale montre des lésions glomérulaires minimes avec hyalinose segmentaire et focale (figure 5). En raison d'un retard statur pondéral important avec dénutrition, une nutrition entérale nocturne est débutée, permettant d'améliorer l'état

\* Voir glossaire, p. 27.

nutritionnel avec un gain de 3,5 kg en quelques mois. Cependant, on décide de ne pas entreprendre de corticothérapie en raison de la présence d'une myopathie. Un traitement immunosuppresseur par carylysine reste sans effet sur le syndrome néphrotique. L'enfant meurt brusquement à son domicile à l'âge de six ans. Un déficit du complexe I de la chaîne respiratoire a été mis en évidence dans le muscle de cet enfant (Tableau IV).

Des atteintes glomérulaires ont été rapportées chez deux autres malades présentant une cytopathie mitochondriale. Il s'agit de deux petites filles âgées de 20 et 26 mois présentant un syndrome néphrotique et chez lesquelles la biopsie rénale a montré des lésions de hyalinose segmentaire et focale [6]. Une de ces filles a présenté une diminution de la filtration glomérulaire à l'âge de 9 ans. Ces deux enfants présentaient également une myopathie, une ophtalmoplégie, une rétinite pigmentaire et une hypoparathyroïdie.

#### • Néphropathie tubulo-interstitielle

*Malade 11.* Il s'agit d'une fille pesant 3,600 kg à la naissance. La grossesse et l'accouchement ont été normaux. Les parents ne sont pas consanguins. A l'âge de neuf ans, elle reçoit un traitement par hormone de croissance recombinante en raison d'un retard de croissance à - 3 DS, bien que le bilan endocrinien soit normal. Ce traitement pendant six mois ne

permet pas d'accélérer la croissance staturale. A l'âge de 12 ans survient une baisse de l'audition nécessitant un appareillage. A 13 ans, l'enfant présente une méningite lymphocytaire traitée par antituberculeux durant six mois. Le scanner cérébral révèle une atrophie cortico-sous-corticale, une dilatation ventriculaire et des calcifications des noyaux gris centraux. La fonction rénale est alors normale. Une insuffisance rénale va bientôt apparaître et évoluer en deux ans et demi vers l'insuffisance rénale terminale. La biopsie rénale, effectuée alors que la clairance de la créatinine est de 10 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, montre des lésions tubulo-interstitielles majeures associées à une fibrose et une atrophie du cortex avec des glomérules, soit en « pain à cacheter », soit présentant des lésions hyalines segmentaires. L'évolution est marquée par une dégradation neurologique aboutissant à un état grabataire et des crises convulsives. Une maladie dégénérative héréditaire de la rétine est également mise en évidence. Une dialyse péritonéale, débutée à l'âge de 16 ans, permet une amélioration spectaculaire de l'état neurologique, coïncidant avec l'arrêt du traitement anticonvulsivant. L'enfant est de nouveau autonome. A l'âge de 18 ans, un œdème aigu du poumon avec surcharge hydrique révèle une insuffisance cardiaque due à une myocardiopathie hypertrophique. Elle est alors traitée par hémodialyse périodique. Les bilans hépatiques et hématologiques

sont normaux. L'étude métabolique montre des rapports d'oxydoréduction normaux dans le plasma (Tableau II), mais l'étude enzymatique permet de mettre en évidence un déficit du complexe I de la chaîne respiratoire dans le muscle (Tableau IV).

Nous avons pu diagnostiquer une maladie mitochondriale chez un autre enfant présentant une néphropathie tubulo-interstitielle (figure 6) et qui a développé ensuite une atteinte neurologique (malade 10, Tableau I).

L'atteinte rénale des maladies mitochondriales peut se traduire par une néphropathie tubulo-interstitielle chronique [15, 16]. Ces malades présentent une insuffisance rénale chronique sans fuite tubulaire proximale.

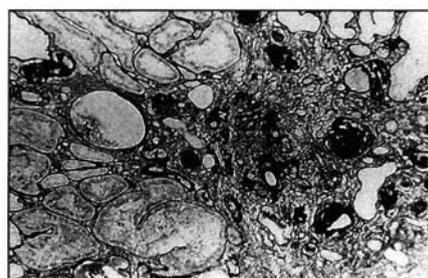


Figure 6. **Néphropathie tubulo-interstitielle.** Large travée de tubes atrophiés à basale épaissie, dédoublée et plissée. L'interstitium est fibreux. Les glomérules sont transformés en pain à cacheter. Microscopie optique. Imprégnation argentique.

Tableau IV				
INVESTIGATION DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE ET DE L'ADNmt				
	Patient	Déficit	Tissu examiné	Étude moléculaire
Tubulopathie proximale	1	Normal	Lymphocytes	Délétion de l'ADNmt
	2	Complexe III	Muscle	Normal
	3	Généralisé	Rein, Muscle	Délétion de l'ADNmt
	4	Complexe III	Muscle, Lymphocytes	Normal
	5	ND	Normal	Normal
	6	Complexe III	Muscle, Lymphocytes	Duplication partielle de l'ADNmt
	7	Complexe IV	Lymphocytes	Délétion de l'ADNmt
	8	Normal	Lymphocytes	Délétion de l'ADNmt
Syndrome néphrotique	9	Complexe I	Muscle	Normal
Néphropathie tubulo-interstitielle	10	Normal	Muscle	Délétion de l'ADNmt
	11	Complexe I	Muscle	

Parmi les six cas rapportés, trois présentaient une polyurie avec un défaut de concentration des urines. L'étude histologique de la biopsie rénale chez trois de ces malades a montré une fibrose interstitielle diffuse avec une atrophie tubulaire et une sclérose glomérulaire dans les régions de fibrose interstitielle. Tous ces malades présentaient également des signes extrarénaux : surdité et cardiomyopathie, myopathie et retard de croissance, détérioration neurologique et dégénérescence rétinienne.

### • Diabète

Plusieurs études font état d'altérations du génome mitochondrial chez des malades atteints de diabète insulino-dépendant ou non insulino-dépendant qui peuvent ultérieurement développer une néphropathie diabétique [15]. On retrouve souvent un diabète chez les malades atteints de syndrome de Kearns-Sayre\* [18]. Une mutation de l'ADNmt impliquant la substitution d'une guanine à la place de l'arginine en position 3243 de l'ARN de transfert de la leucine a été décrite dans plusieurs familles ayant un diabète de transmission maternelle associé à une surdité. Cette mutation a également été retrouvée au Japon chez des sujets diabétiques [19], et chez des malades présentant un syndrome MELAS\*. Il est possible que cette mutation de l'ADNmt affecte les cellules de Langerhans du pancréas et contribue au développement de la maladie. On peut estimer qu'environ 1 % à 2 % des sujets diabétiques ont une cytopathie mitochondriale. Une telle anomalie doit être envisagée si la maladie affecte plusieurs membres de la même famille ou si elle s'accompagne d'autres symptômes, en particulier une surdité.

### • Bases moléculaires

Les différentes protéines de la chaîne respiratoire mitochondriale étant codées en partie par le génome mitochondrial (pour 13 d'entre elles) et en partie par des gènes nucléaires, un déficit de la phosphorylation oxydative peut avoir une origine soit

mitochondriale, soit nucléaire. Dans la plupart des cas, les études enzymologiques ne permettent pas de définir la sous-unité déficitaire dans un complexe multiprotéique et il est donc impossible de connaître l'origine génétique des déficits observés chez les malades. Il peut s'agir soit de mutations ponctuelles ou de délétions de l'ADNmt, soit de mutations siégeant dans des gènes nucléaires codant pour des sous-unités de la chaîne respiratoire, soit encore de mutations dans des gènes participant à la mise en place et au contrôle de la chaîne respiratoire et de l'ADNmt. Ce grand éventail d'anomalies génétiques possible permet d'expliquer qu'encre maintenant peu de mutations aient pu être rapportées à des déficits de la chaîne respiratoire. Certains des malades que nous avons explorés présentaient des délétions de grande taille de l'ADNmt (*malades 1, 3, 6, 7, 8, 10*) (*figure 7*). Ces délétions ont été mises en évidence par des études en *Southern blot*: l'ADN génomique (contenant l'ADN nucléaire et l'ADNmt) est digéré par une enzyme de restriction qui linéarise l'ADNmt puis, après migration sur gel d'agarose, on révèle l'ADNmt par hybridation avec une sonde spécifique. Les délétions de l'ADNmt peuvent maintenant également être mises en évidence par amplification PCR de grande taille. Ces délétions comprenant de 2 à 7 kb emportent des gènes codant pour des protéines de la chaîne respiratoire mais aussi des gènes codant pour des ARNt. Chez une de ces enfants (*malade 6*), le remaniement consistait, en fait, en une duplication partielle de l'ADNmt comprenant une molécule normale plus une molécule délétée [4]. Par ailleurs, ce même remaniement a pu être retrouvé, à l'état de traces, chez la mère de cet enfant confirmant une transmission maternelle de la maladie. En effet, la mère de cette petite fille présentait un ptosis et une faiblesse musculaire, signes classiques d'une maladie mitochondriale à expression musculaire. D'autres délétions de l'ADNmt ont été identifiées chez quelques malades rapportés dans la littérature. Ainsi des délétions de grande taille (2 à 9 kb) ont été retrouvées dans le muscle, les lymphocytes ou le rein de six malades présentant un syndrome de De Toni-

Debré-Fanconi [5, 8], chez un malade présentant une acidose tubulaire [10] et un autre présentant un syndrome de Bartter [11].

## Conclusion

Ces différents exemples montrent qu'une anomalie rénale chez l'enfant peut avoir pour origine un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale. C'est rarement l'existence d'une hyperlactacidémie, comme dans les autres maladies mitochondriales, qui permet d'évoquer le diagnostic de cytopathie mitochondriale. En revanche, la coexistence d'autres signes cliniques et l'évolutivité de la maladie sont des signes évocateurs d'une maladie mitochondriale. Effectivement, chez tous ces enfants l'atteinte rénale n'était jamais isolée. Les signes cliniques qui l'accompagnent peuvent être très variés. On peut observer en association avec l'atteinte rénale une atteinte neurologique ou neuromusculaire, un retard de croissance, une rétinopathie, une surdité, une cécité, un diabète, une insuffisance pancréatique externe, une atrophie villositaire ou une atteinte cutanée. L'atteinte rénale peut être le signe d'appel de la maladie ou apparaître au cours de l'évolution de la maladie. Néanmoins, l'atteinte rénale est peu fréquente au cours des cytopathies mitochondriales. En effet, sur l'ensemble des cas de déficits de la chaîne respiratoire que nous avons identifiés (environ 300 depuis 7 ans), seuls onze malades pré-

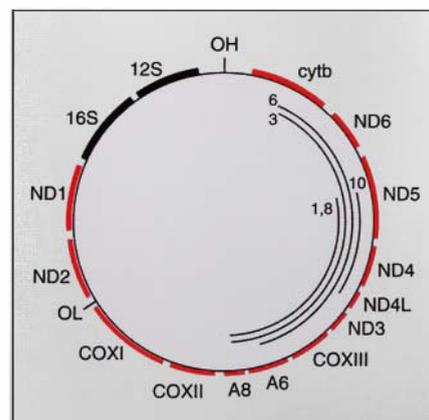


Figure 7. Localisation des délétions de l'ADN mitochondrial dans des atteintes rénales.

\* Voir glossaire, p. 27.

sentaient une atteinte rénale. La manifestation rénale la plus fréquente est une tubulopathie proximale mais il peut également s'agir d'un syndrome néphrotique ou d'une néphrite tubulo-interstitielle chronique conduisant à l'insuffisance rénale.

Des remaniements de l'ADNmt ont été mis en évidence dans quelques cas seulement. Il s'agit soit de délétions, soit de duplications partielles. Dans les autres cas, les bases moléculaires des déficits observés n'ont pas pu être identifiées. Il peut s'agir soit de mutations ponctuelles de l'ADNmt (non identifiables par la technique de *Southern blot*), soit de mutations dans les gènes nucléaires codant pour des sous-unités de la chaîne respiratoire. Dans la plupart des cas que nous avons observés, nous n'avons pas retrouvé d'histoire familiale; les frères et sœurs des malades étaient bien portants, suggérant donc qu'il s'agit de cas sporadiques. Dans un cas, seulement (*malade 4*), les parents sont consanguins, ce qui suggère une hérédité autosomique récessive de la maladie. Enfin, dans un cas (*malade 6*), la mise en évidence du même remaniement de l'ADNmt chez la mère et la fille suggère une transmission maternelle de la maladie.

C'est l'association de plusieurs signes cliniques chez ces patients qui nous a mis sur la voie d'un déficit énergétique et nous a conduit à mettre en évidence des enzymopathies de la

chaîne respiratoire et, chez certains patients, des remaniements de l'ADNmt. L'origine mitochondriale d'autres symptômes néphrologiques sera vraisemblablement rapportée dans l'avenir. Il importe donc d'évoquer une maladie mitochondriale chaque fois que l'on est en présence d'une atteinte évolutive, inexpliquée et associée à d'autres symptômes que rien n'explique, quels que soient l'âge d'apparition des signes, la nature des organes atteints et l'anamnèse familiale ■

\* GLOSSAIRE \*

**Syndrome de Pearson:** *pancytopénie de la première enfance avec insuffisance pancréatique.*

**Syndrome de Bartter:** *hypokaliémie chronique avec kaliurie excessive, élévation de la rénine circulante, sécrétion excessive d'aldostérone et hypertrophie de l'appareil juxta-glomérulaire.*

**Syndrome de Kearns-Sayre:** *syndrome caractérisé par l'association d'une ophtalmoplégie externe, d'une rétinite pigmentaire et de troubles de la conduction cardiaque.*

**MELAS:** *mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes.*

TIRÉS À PART

A. Rötig.

Summary

Kidney involvement in mitochondrial disorders

Mitochondrial disorders are genetic defects of oxidative phosphorylation. Oxidative phosphorylation occurs in the mitochondrial inner membrane and includes the oxidation of fuel molecules by oxygen and the concomitant energy transduction into ATP. The mitochondrial respiratory chain is a very complicated metabolic pathway. It is made up of about 100 polypeptides. Most of them are encoded in the nucleus and 13 are encoded in the mitochondria. Renal involvement in mitochondrial cytopathies is rare and usually manifests as tubular dysfunction. However, some patients presented with nephrotic syndrome or tubulo-interstitial nephritis. Here, we report eleven cases of children with mitochondrial cytopathy developing renal dysfunction. In some patients, we could identify mitochondrial DNA rearrangements (deletion, duplication). However, no correlation could be established between the clinical severity, the enzyme deficiency and the type of mitochondrial DNA rearrangement.

INTERACTIONS STRUCTURALES ET FONCTIONNELLES ENTRE LES CELLULES ÉPITHÉLIALES ET LA MATRICE EXTRACELLULAIRE : RÔLE DES PROTÉINES D'ADHÉSION

PARIS, 23-24 AVRIL 1997

Mercredi 23 avril 1997

Judi 24 avril 1997

INTRODUCTION (9.00-9.15)

SESSION 1 : BASES MOLÉCULAIRES DES INTERACTIONS ENTRE LES CELLULES ÉPITHÉLIALES ET LA MATRICE EXTRACELLULAIRE

- 9.15-10.00. Les membranes basales épithéliales  
B. Clément, Rennes, France
- 10.00-10.45. Les intégrines : structure, expression et régulation  
A. Sonnenberg, Amsterdam
- 10.45-11.30. Intégrines et signalisation intracellulaire  
K.M. Yamada, Bethesda, USA
- 11.30-12.15. Biologie moléculaire des contacts focaux et des hémidesmosomes  
F.G. Gianciotti, New York
- 12.15-13.00. Les protéoglycans : rôle à l'interface entre cellules épithéliales et matrice extracellulaire  
B. Lelongt, Paris, France

SESSION 2 : MATRICE EXTRACELLULAIRE ET PROTÉINES D'ADHÉSION : RÔLE DANS LA MORPHOGENÈSE ET LA DIFFÉRENCIATION ÉPITHÉLIALES

- 15.00-15.45. Adhésion et morphogenèse : mécanismes généraux  
L. Larue, Paris, France
- 15.45-16.30. L'exemple de l'organogenèse intestinale  
M. Kedinger, Strasbourg, France
- 16.30-17.15. L'exemple de l'organogenèse rénale  
I. Virtanen, Helsinki, Finlande
- 17.15-18.00. Matrice extracellulaire, intégrines et différenciation cellulaire  
M.J. Bissell, San Francisco, USA

SESSION 3 : IMPLICATIONS EN CANCÉROLOGIE

- 9.00-9.45. Intégrines et contrôle de la prolifération cellulaire  
L.R. Languino, Boston, USA
- 9.45-10.30. Intégrines et régulation de l'apoptose  
P. Möller, Ulm, Allemagne
- 10.30-11.15. Intégrines et cancérogenèse : rôle dans l'invasion et la dissémination métastatique  
M. Pignatelli, Londres, Grande-Bretagne
- 11.15-12.00. Protéines CD44 et cancérogenèse  
P. Lustenberger, Nantes, France
- 12.00-12.45. Interactions entre cellules tumorales et cellules mésenchymateuses pour la production du stroma tumoral  
J. Rosenbaum, Bordeaux, France

SESSION 4 : RÔLE DANS LA FIBROGENÈSE

- 14.30-15.15. Rôle des cellules épithéliales dans la fibrose tissulaire : l'exemple des cellules biliaires  
S. Milani, Florence, Italie
- 15.15-16.00. Interactions entre intégrines et protéases  
L. Rémy, Lyon, France
- 16.00-16.45. Intégrines et fibrogenèse : l'exemple du foie  
J.-Y. Scoazec, Paris, France
- 16.45-17.30. Intégrines en physiopathologie rénale  
D. Droz, Paris, France
- 17.30-18.15. Stratégies thérapeutiques anti-intégrines  
J. McGregor, Lyon, France

CONCLUSIONS (18.15-18.30)