

Diagnostic des maladies mitochondriales

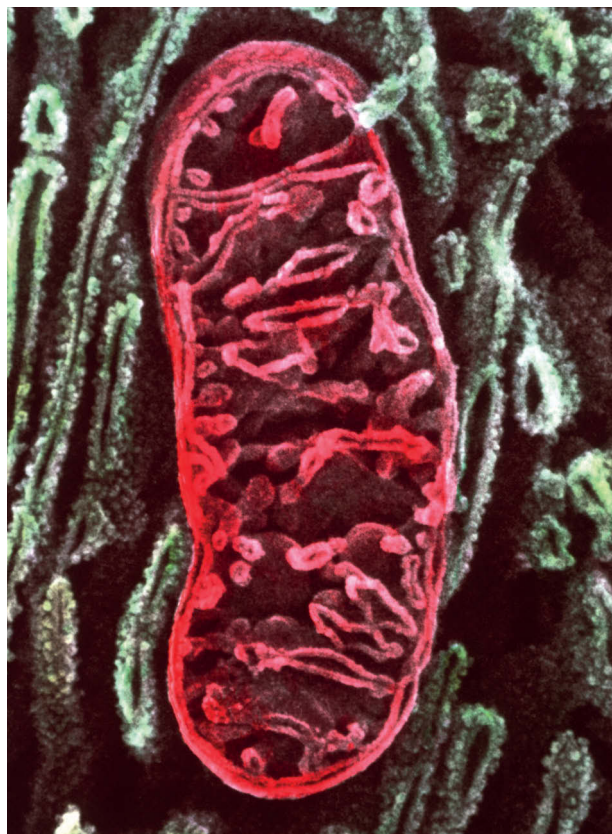
Claude Jardel*, Benoît Rucheton

UF de biochimie des maladies neurométaboliques, UF de cardiomyogénétique, service de Biochimie Métabolique, Hôpitaux universitaires Pitié Salpêtrière-Charles Foix, 47 boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France.

*Auteur correspondant : claud.jardel@aphp.fr (C. Jardel).

RÉSUMÉ

Les maladies mitochondriales, définies comme les affections dues à un défaut de la chaîne des oxydations phosphorylantes (OXPHOS), sont les plus fréquentes des maladies héréditaires du métabolisme. Ce sont des maladies de présentation clinique très variée et de diagnostic difficile. Elles sont essentiellement génétiques, dues à l'altération de gènes très divers localisés soit sur l'ADN mitochondrial (ADNmt), soit sur le génome nucléaire. Les avancées technologiques récentes (NGS) avec le séquençage de l'exome (WES) ont permis la découverte de nombreux gènes impliqués et de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de ces maladies. La démarche diagnostique repose sur la présentation clinique, des explorations biochimiques, d'imagerie, d'histopathologie et génétiques communes. Les investigations génétiques portent sur la totalité de l'ADNmt puis en cas de négativité sur des panels larges de gènes nucléaires. Seule la mise en évidence du gène causal permet d'affirmer le diagnostic de maladie mitochondriale; en l'absence de traitement de ces maladies elle permet un conseil génétique et la possibilité pour les parents de mettre au monde des enfants non atteints.



© SPL/PHANIE

MOTS CLÉS

- ADNmt
- chaîne des OXPHOS
- diagnostic moléculaire
- maladies héréditaires du métabolisme
- maladies mitochondriales

KEY WORDS

- genetic diagnosis
- metabolism inherited diseases
- mitochondrial disorders
- mtDNA
- OXPHOS

ABSTRACT

Mitochondrial diseases diagnosis

Mitochondrial diseases, defined as disorders due to a defect in the phosphorylative oxidation chain (OXPHOS), are the most common inherited diseases of metabolism. These diseases have of very large clinical presentation and difficult diagnosis. They are essentially genetic, due to the alteration of very diverse genes located either on the mitochondrial DNA (mtDNA), or on the nuclear genome. Recent technological advances (NGS) with exome sequencing (WES) have allowed the discovery of many new genes and a better understanding of the pathophysiological mechanisms of these diseases. The diagnostic approach is based on the clinical presentation, biochemical explorations, imaging, histopathology and genetics. The genetic investigations concern the entire mtDNA, followed, if negative, by analysis of large panels of nuclear genes. Only the detection of the causal gene allows to affirm the diagnosis of mitochondrial disease; in the absence of treatment for these diseases, it allows for genetic counseling and the possibility for parents to give birth to unaffected children.

► Introduction

Les maladies mitochondriales sont le plus souvent définies comme les maladies dues à un dysfonctionnement de la chaîne des oxydations phosphorylantes (OXPHOS) [1] à l'exclusion des déficits des autres voies métaboliques de la mitochondrie (bêta-oxydation, cycle de l'urée ou cycle de Krebs). Elles constituent un large groupe de maladies qui peuvent affecter des sujets de tout âge; avec une prévalence d'environ 1 sur 5 000 naissances [2,3], elles sont les maladies héréditaires du métabolisme les plus fréquentes. Maladies de présentations cliniques très variées, leur diagnostic est difficile, reposant sur des explorations biochimiques, d'imagerie, d'histopathologie et génétiques communes. La physiopathologie des maladies mitochondriales est complexe et implique des mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) et des gènes nucléaires (ADNn). L'ADNmt est entièrement dévolu au fonctionnement de la chaîne respiratoire; il code pour 13 sous-unités protéiques ainsi que pour 2 ARN ribosomiques et 22 ARN de transfert nécessaires à leur traduction dans la mitochondrie. Toutefois, l'ADNmt à lui seul ne permet pas de synthétiser une chaîne respiratoire fonctionnelle, complète; les sous-unités manquantes sont codées par l'ADN nucléaire ainsi que tous les facteurs qui régulent la biogénèse mitochondriale et le maintien de l'ADNmt. Cette double origine génétique implique que les maladies mitochondriales peuvent avoir tous les modes de transmission (sporadique et maternelle pour l'ADNmt, autosomique récessive ou dominante et liée à l'X pour l'ADNn). Ces maladies sont le plus souvent primitives mais peuvent être plus rarement secondaires à des traitements (antirétroviraux) ou des toxiques.

► Chaîne des OXPHOS

La chaîne respiratoire mitochondriale permet de produire l'énergie de la cellule sous forme d'ATP grâce à la phosphorylation oxydative (OXPHOS). Elle est localisée dans la membrane interne mitochondriale. Elle se compose de 4 grands complexes multienzymatiques (CI à CIV) qui transfèrent les électrons produits par le métabolisme intermédiaire jusqu'à l'oxygène avec formation d'eau. Ces réactions d'oxydoréduction s'accompagnent d'un transfert de protons de la matrice mitochondriale vers l'espace inter-membranaire, ce qui induit le potentiel de membrane mitochondrial indispensable au fonctionnement de l'ATP-synthase pour la production d'ATP. Ce potentiel de membrane est également essentiel à l'importation des protéines mitochondriales ou du calcium [4]. Cette production d'ATP s'accompagne de la génération de radicaux libres (ROS: « Reactive Oxygen Species »), agents mutagènes qui, lorsqu'ils sont produits en grande quantité, sont impliqués dans les phénomènes de mort cellulaire par apoptose. Toutes les cellules de l'organisme, à l'exception des érythrocytes, possèdent des mitochon-

dries et donc une chaîne des OXPHOS leur assurant l'énergie dont elles ont besoin. Le corollaire est qu'en cas de dysfonctionnement de cette chaîne des OXPHOS, tout tissu ou organe pourra être potentiellement affecté.

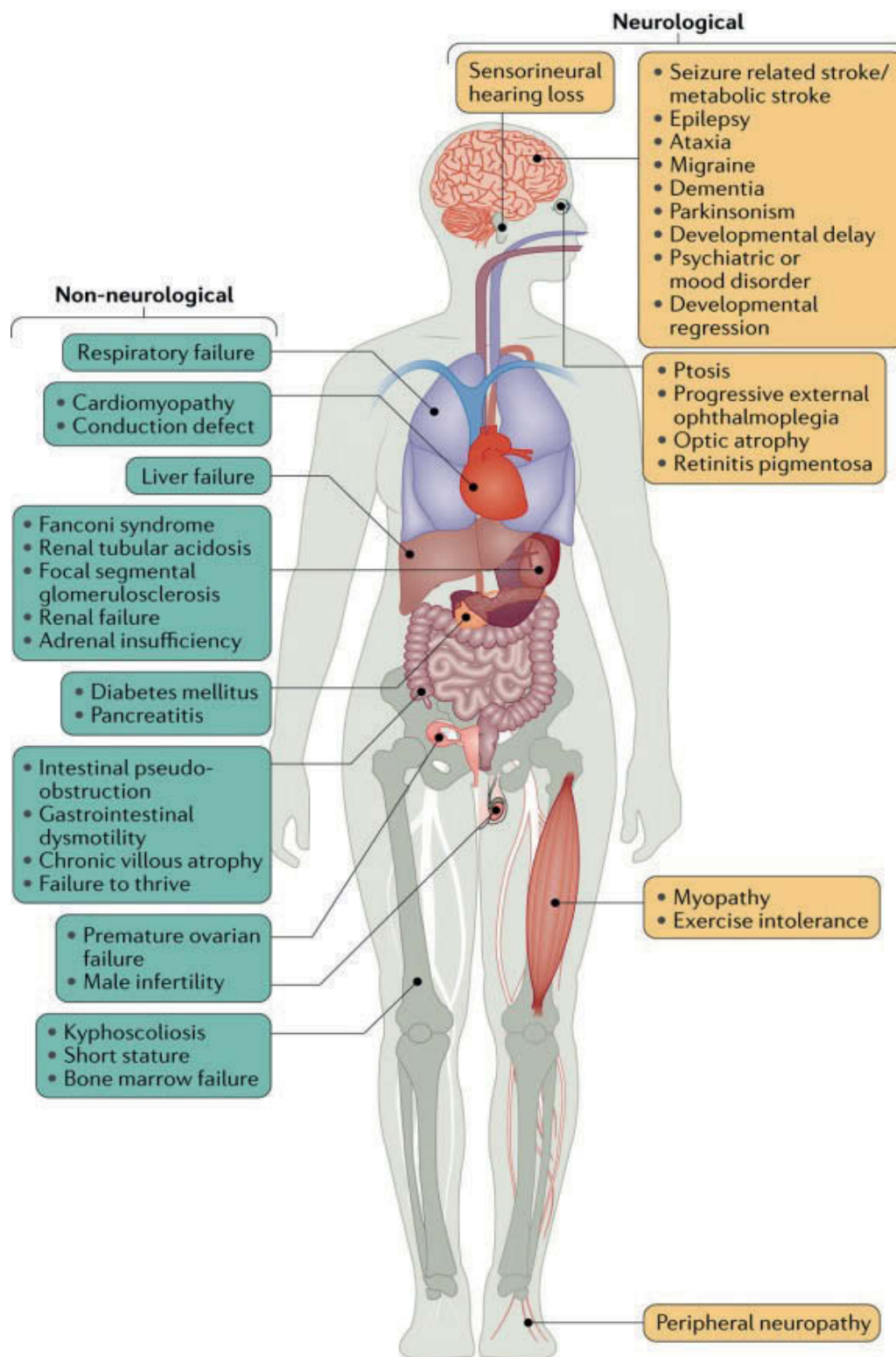
► Présentations cliniques des maladies mitochondriales

Les maladies mitochondriales peuvent survenir à tout âge mais on admet l'existence de 2 périodes d'apparition de la maladie; un premier pic pendant les 3 premières années de vie suivi d'une période beaucoup plus large s'étendant de la fin de l'adolescence à la quatrième décennie de vie; toutefois les maladies mitochondriales peuvent apparaître beaucoup plus tard en particulier l'ophtalmoplégie externe chronique progressive (CPEO). Elles sont en général progressives. Le diagnostic clinique est rendu difficile par un phénotype très divers qui englobe le dysfonctionnement de presque tous les organes [5] (**tableau 1, figure 1**).

Tableau 1. Signes cliniques des maladies mitochondriales.

Organe/Tissu	Symptômes ou signes caractéristiques des maladies mitochondriales
Cerveau	Pseudo-accidents vasculaires, épilepsie, ataxie encéphalopathie, hypotonie dystonie, syndrome extrapyramidal, Parkinson, retard ou régression du développement, déclin cognitif
Œil	Ptosis, ophtalmoplégie externe progressive, cataracte, rétinite pigmentaire, neuropathie et atrophie optique
Oreille	Surdité neurosensorielle, neuropathie auditive
Coeur	Cardiomyopathie hypertrophique, cardiomyopathie dilatée, anomalies de conduction (syndrome de Wolff-Parkinson-White), bloc complet
Poumon	Hypertension pulmonaire
Rein	Tubulopathie de type Fanconi, néphrite (glomérulosclérose focale segmentaire), syndrome néphrotique cortico-résistant
Foie	Dysfonction/insuffisance hépatique aiguë, hépatomégalie, hypoglycémie
Intestin	Entéropathie, dysmotilité, pseudo-obstruction, insuffisance pancréatique externe
Glandes endocrines	Diabète, hypo/hyper-thyroïdie, déficit en hormone de croissance, hypoparathyroïdie, insuffisance surrénalienne
Gonades	Insuffisance ovarienne primitive, hypogonadisme hypo/hypergonadotrophique
Moelle osseuse	Anémie sidéroblastique, neutropénie, pancytopénie, dysérythropoïèse
Muscle squelettique	Myopathie (le plus souvent proximale, mais peut être distale ou généralisée)
Nerf périphérique	Neuropathie axonale sensorimotrice ou démyélinisante
Peau et phanères	Hypertrichose

Figure 1. Présentation clinique des maladies mitochondriales.



La présentation clinique des maladies mitochondriales est variable et peut englober le dysfonctionnement de n'importe quel organe ou tissu, incluant des atteintes neurologiques ou non neurologiques et impliquant habituellement des atteintes multi-organes. D'après [1].



Dossier scientifique

Cytopathies mitochondriales

Même s'il existe quelques présentations cliniques limitées à un seul organe telle la Neuropathie Optique Héréditaire de Leber (NOHL) la majorité des patients présente une atteinte multi-systémique [6,7]. Les tissus le plus souvent symptomatiques sont le système nerveux (central et périphérique), le muscle (squelettique et cardiaque), et les organes sensoriels de la vue et de l'audition. Il n'existe que très peu de signes directement évocateurs de maladie mitochondriale. C'est le cas des pseudo-accidents vasculaires qui font partie de la définition du syndrome MELAS (« *Mitochondrial Encephalomyopathy Lactic Acidosis and Stroke Like Episodes* ») [8], de l'atteinte des ganglions de la base et du tronc cérébral sous-tendant le syndrome de Leigh [9], de l'atteinte des muscles oculomoteurs dans le cas des ophtalmoplégies chroniques, et d'une intolérance sévère à l'effort.

Le plus souvent c'est le caractère multi-systémique du tableau qui évoque une maladie métabolique, et a fortiori une maladie mitochondriale [10,11]. En particulier l'existence d'associations dites illégitimes (diabète-surdité) d'atteintes d'organes n'ayant pas de lien embryologique ou fonctionnel est évocatrice. Un certain nombre de ces présentations multi-systémiques ont conduit à la description de syndromes dont la reconnaissance permet parfois d'identifier directement la cause de la maladie. Les principaux syndromes connus, avec les gènes responsables et le mode de transmission sont présentés dans le **tableau 2**.

► Diagnostic des maladies mitochondriales

Il n'existe pas d'arbre décisionnel unique pour l'ensemble des maladies mitochondriales. Ce diagnostic est difficile en raison du grand nombre de manifestations cliniques possibles et repose sur un faisceau d'arguments parmi lesquels l'observation clinique est primordiale. Celle-ci conduira à la réalisation d'investigations métaboliques, biochimiques, histo-pathologiques et d'imagerie pour conforter cette suspicion diagnostique; enfin, la mise en évidence de l'altération génétique permettra d'affirmer le diagnostic de cytopathie mitochondriale. C'est la stratégie de « la fonction vers le gène ». Toutefois, les énormes progrès de ces dernières années dans la connaissance des gènes responsables, avec la définition de syndromes cliniques et de symptomatologie associées de façon récurrente à certains gènes conduisent parfois les cliniciens experts à commencer par l'analyse génétique. Cette approche « génétique d'abord » nécessite ensuite de prouver l'impact de l'altération génétique mise en évidence, par un retour « du gène à la fonction » [12]. Il est important de noter que seule l'identification du gène responsable

permet d'affirmer le diagnostic de maladie mitochondriale primitive.

Investigations métaboliques

Elles visent à mettre en évidence l'altération de la fonction de ré-oxydation du NADH en NAD, en montrant l'augmentation des rapports redox cellulaires et l'accumulation des substrats en amont de la chaîne des OXPHOS comme le lactate, le pyruvate ou les corps cétoniques (bêta-hydroxybutyrate et acéto-acétate). Ces investigations sont réalisées au repos ou au cours d'épreuve (jeûne, test de préhension soutenu, effort sur bicyclette). De façon usuelle seront aussi réalisés une chromatographie des acides aminés sanguins et des acides organiques urinaires, un profil des acyl-carnitines, un dosage des CK et de l'hémoglobine.

Recherche d'altérations mitochondriales histologiques

Cette recherche est essentiellement réalisée dans le muscle car il est très souvent impliqué dans les maladies mitochondriales même en absence de myopathie [13]; il s'agit d'une prolifération anormale de mitochondries donnant un aspect caractéristique de « *ragged red fibers* » ou RRF (fibres rouges déchiquetées). Peuvent également être mises en évidence des déficits des activités des complexes II (histoenzymologie de la SDH) et IV (histoenzymologie de la cytochrome-c oxydase) (**figure 2**) [14]. Toutefois, il existe des résultats faussement positifs : des anomalies mitochondriales existent dans les myosites inflammatoires et un petit nombre de fibres COX négatives (1-2%) peut être retrouvé chez des patients après 65 ans; il s'agit d'accumulation de mutations somatiques de l'ADNmt liées à l'âge et sans évidence d'une quelconque maladie mitochondriale. À l'inverse, il est fréquent que l'histologie soit normale dans les déficits en complexes I et V et chez les enfants.

Activités de la chaîne respiratoire

La mesure des activités de la chaîne des OXPHOS, chaque complexe pris isolément, ou globalement par mesure de la respiration associée ou non à la synthèse d'ATP permet de mettre en évidence un déficit isolé ou combiné, qui orientera la suite des investigations génétiques. La mise en évidence d'un déficit des activités I+III et II+III est le signe d'un déficit en Coenzyme Q10. Celui-ci pourra être confirmé par dosage du coenzyme Q10 dans la biopsie musculaire. Ce déficit responsable en particulier d'encéphalomyopathie, ataxie cérébelleuse et syndrome de Leigh est traitable par supplémentation en Coenzyme Q. Il est donc primordial d'en faire un diagnostic précoce.

Tableau 2. Principaux syndromes décrits dans les maladies mitochondriales.

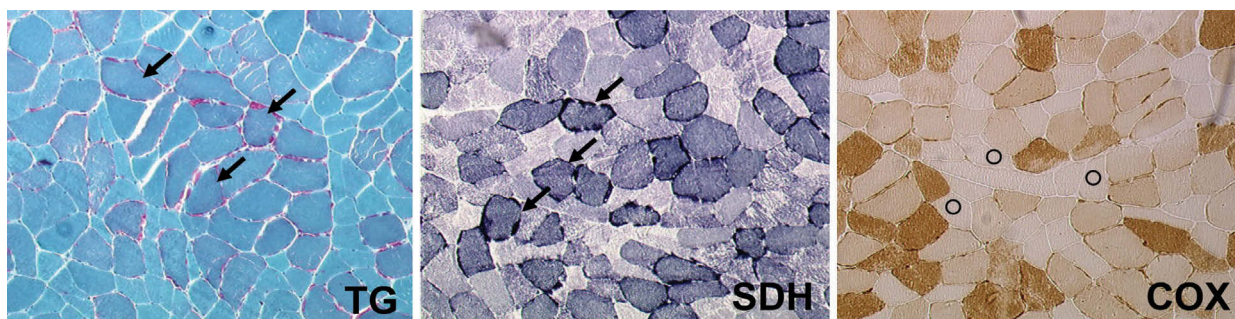
Syndrome	Gènes associés	Signes cliniques
Maladies mitochondriales d'apparition précoce		
Alpers Huttenlocher	<i>POLG, FARS2, NARS2, PARS2</i> (AR)	Retard de développement/régression, état de mal épileptique avec ou sans insuffisance hépatique
Barth	<i>TAZ</i> (lié à l'X)	Cardiomyopathie, myopathie, petite taille et neutropénie
Bjornstad	<i>BCS1L</i> (AR)	Surdité neurosensorielle congénitale et pili torti
Gracile	<i>BCS1L</i> (AR)	Retard de croissance, aminoacidurie, cholestase, surcharge en fer, acidose lactique et décès précoce
HUPRA (HyperUricemia, Pulmonary hypertension, Renal failure, Alkalosis)	<i>SARS2</i> (AR)	Insuffisance rénale précoce avec alcalose métabolique, hypertension pulmonaire, hypotonie et retard de développement
Leigh	> 75 gènes <i>ADNn</i> et <i>ADNmt</i>	Episodes aigus de régression neuro-développementale avec récupération partielle, hypotonie, retard de croissance, dystonie, dysphagie, épilepsie, encéphalopathie et lésions du tronc cérébral et des ganglions de la base.
LBSL (Leukoencephalopathy with Brainstem and Spinal cord involvement and Lactate elevation)	<i>DARS1</i> (AR)	Leuco-encéphalopathie avec atteinte du tronc cérébral et de la moelle épinière; hyperlactacidémie; spasticité et mouvements anormaux
MEGDEL (3-methylglutaconic aciduria with deafness, encephalopathy and Leigh like syndrome)	<i>SERAC1</i> (AR)	Surdité neurosensorielle, retard de croissance, encéphalopathie, hypotonie, retard psychomoteur, hypoglycémie, hépatopathie et acidose lactique
MLASA (Myopathy, Lactic Acidosis and Sideroblastic anemia)	<i>YARS2</i> (AR)	Atteinte muscle squelettique et cardiaque et anémie sidéroblastique
Pearson	Délétion simple de grande taille de l' <i>ADNmt</i>	Anémie sidéroblastique avec insuffisance pancréatique exocrine, pancytopenie et tubulopathie
Sengers	<i>AGK</i> (AR)	Cataracte congénitale, CMH, myopathie, intolérance à l'effort et acidose lactique
Maladies mitochondriales d'apparition tardive		
ADOA (Autosomal Dominant Optic Atrophy)	<i>OPA1</i> (AD)	Atrophie optique de type I ; perte progressive de la vision débutant dans la 1 ^{re} décennie plus ou moins associée à une surdité neurosensorielle
Kearns Sayre (KSS)	Délétion simple de grande taille de l' <i>ADNmt</i>	PEO, rétinite pigmentaire, troubles du rythme cardiaque, ataxie, hyperprotéinorachie ; avant 20 ans
LHON (Leber Hereditary Optic Neuropathy)	<i>ADNmt</i>	Neuropathie optique héréditaire de Leber, perte brutale indolore de la vision du jeune adulte (homme préférentiellement)
MELAS (Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis and Stroke like episodes)	<i>ADNmt</i> (<i>MT-TL1</i> m.3243A > G dans 80% des cas)	Encéphalomyopathie, acidose lactique, faiblesse musculaire, migraines, vomissements et pseudo- AVC, déclin cognitif
MERRF (Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers)	<i>ADNmt</i> (<i>MT-TK</i> et autres) <i>POLG</i> (AR)	Myopathie, neuropathie périphérique, lipomatose

Tableau 2. Principaux syndromes décrits dans les maladies mitochondriales (suite).

Syndrome	Gènes associés	Signes cliniques
Maladies mitochondriales d'apparition tardive (suite)		
MIDD (Maternal Inherited Diabetes and Deafness)	ADNmt (<i>MT-TL1</i> , m. 3243A > G)	Diabète insulino-dépendant et surdité d'hérédité maternelle
MNGIE (Mitochondrial Neurogastrointestinal Encephalopathy)	<i>TYMP</i> mais aussi <i>POLG</i> , <i>RRM2B</i> (AR) et ADNmt <i>MT-TL1</i> , <i>MT-TV</i>	Chez l'adolescent ou le jeune adulte, dysmotilité gastro-intestinale, neuropathie périphérique et leucoencéphalopathie
NARP (Neuropathy, Ataxia and Retinis Pigmentosa)	ADNmt <i>MT-ATP6</i>	Neuropathie, ataxie, rétinite pigmentaire
PEO (Progressive External Ophthalmoplegia)	ADNmt délétion simple ou mutations <i>POLG</i> , <i>TYMP</i> , <i>RRM2B</i> , <i>SLC25A4</i> (AD)	Ophtalmoplégie externe progressive +/- myopathie
Perrault	<i>TWINK</i> , <i>HARS2</i> , <i>LARS2</i> , <i>CLPP</i> (AR)	Insuffisance ovarienne précoce, surdité
SANDO (Sensory Ataxia, Neuropathy, Dysarthrie, Ophtalmoplégia)	<i>POLG</i> , <i>TWINK</i> , <i>OPA1</i> (AR)	Spectre des neuropathies ataxiantes récessives
SCAE (Spinocerebellar Ataxia with Epilepsy)	<i>POLG</i> (AR)	Ataxie spinocérébelleuse et épilepsie
Wolfram	<i>WFS1</i> (AR)	Diabète insipide, diabète sucré, atrophie optique, surdité

AVC : accident vasculaire cérébral, CMH : cardiomyopathie hypertrophique, PEO : ophtalmoplégie externe progressive.

Figure 2. Altérations histopathologiques des mitochondriopathies.



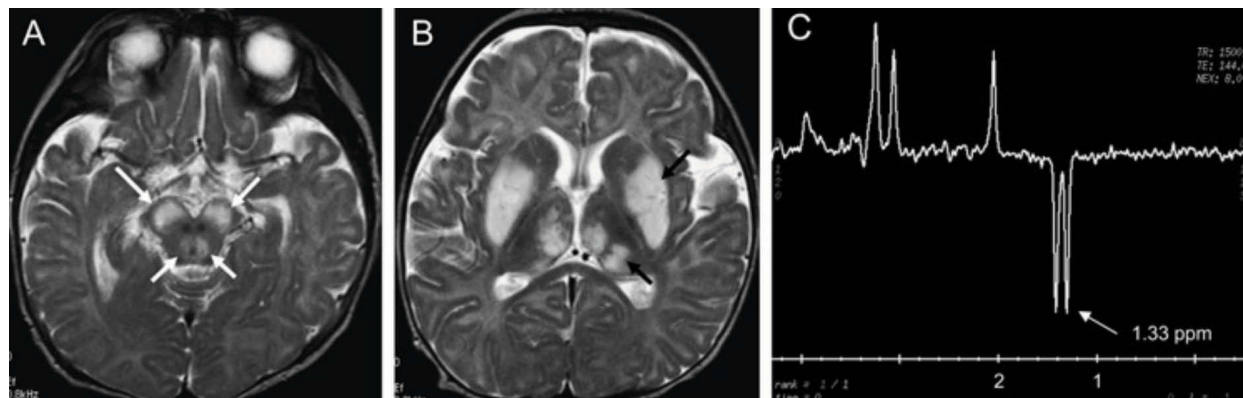
Coloration histologique par le trichrome de Gomori (TG) et révélation histochemique de l'activité succinate-déshydrogénase (SDH) et cytochrome c-oxydase (COX) chez un patient porteur d'une mutation délétère dans l'un des ARN de transfert portés par l'ADN mitochondrial.

Ces techniques mettent en évidence la prolifération mitochondriale anormale (flèches) colorée en rouge par le TG et en noir par la SDH ainsi que le déficit profond en COX (cercles) dans de très nombreuses fibres musculaires du patient

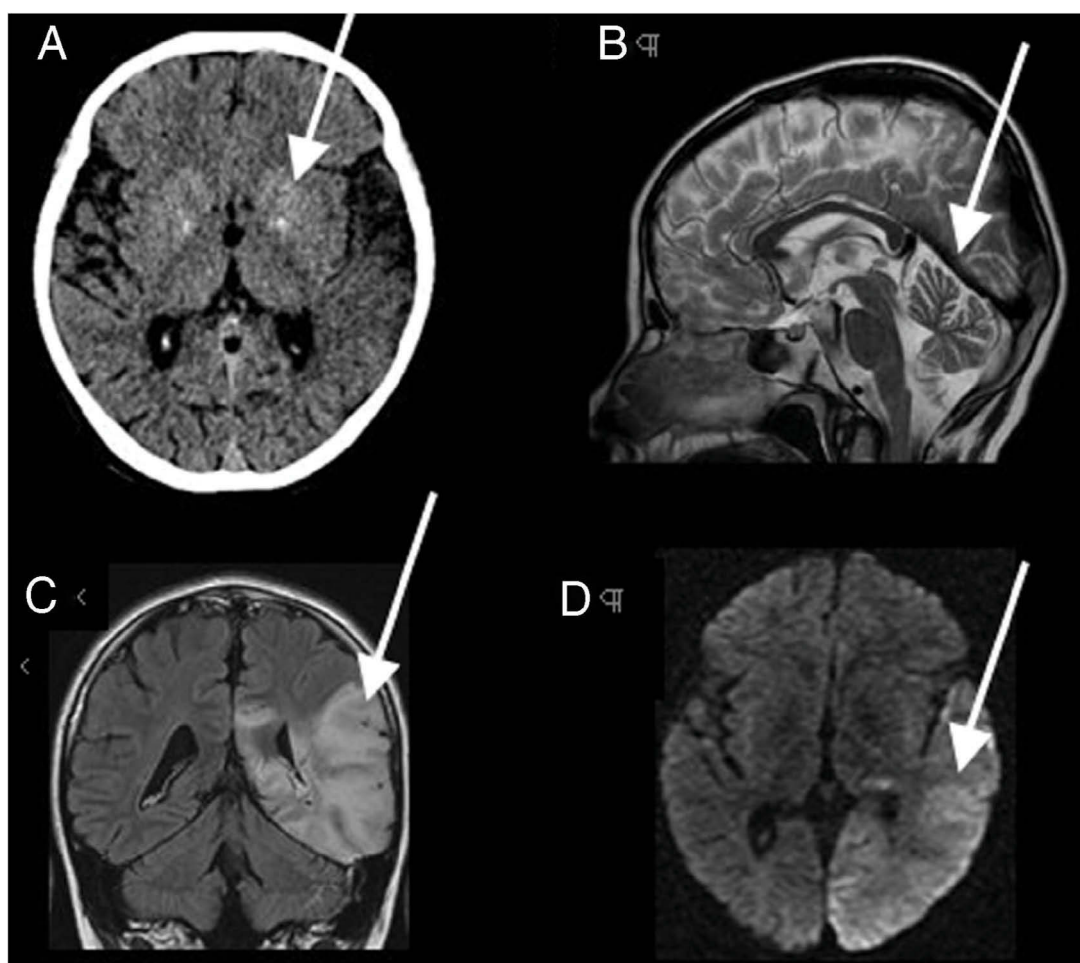
D'après [14].

© Jardi C. 2015

Figure 3. Apport de l'imagerie cérébrale au diagnostic des cytopathies mitochondriales.



IRM cérébrale d'un enfant de 4 mois, atteint d'un déficit en complexe I avec mutation de l'ADNmt dans le gène MT-ND6 (A) hyper-intensités bilatérales du tronc (flèches blanches) Axial T2. (B) hyper-intensités dans les noyaux lenticulaires et les thalami (flèches noires) Axial T2. (C) RMN des noyaux lenticulaires pic de lactate [15].



(A-D) Encéphalomyopathie mitochondriale avec acidose lactique et « stroke-like episodes » (MELAS) mutation m.3243A > G. IRM et CT scan d'un enfant de 10 ans avec la mutation MELAS. (A) CT scan: calcifications des noyaux de la base. (B) Sagittal T2s (B) atrophie cérébelleuse. (C) Coronal FLAIR et (D) images pondérées en diffusion: lésion de pseudo-AVC dans le cortex pariéto-occipital [16].

D'après [15,16].

Imagerie

De nombreuses maladies mitochondriales s'accompagnent de signes neuroradiologiques à l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) cérébrale permettant d'orienter le diagnostic. Ces lésions peuvent même caractériser le syndrome comme dans le cas du syndrome de Leigh défini comme un profil neuro-pathologique, associant des lésions nécrotiques focales, bilatérales, des ganglions de la base, des thalami et du tronc cérébral [9] (**figure 3-1**). Les patients atteints du syndrome de MELAS présentent des lésions ischémiques à type d'Accidents Vasculaires Cérébraux (AVC) mais ne respectant pas le territoire vasculaire d'où le nom de pseudo stroke, et des anomalies de signal des ganglions de la base ± une atrophie du cervelet (**figure 3-2**) [15]. Des études plus récentes ont décrit certaines associations : ainsi les patients atteints d'un déficit en complexe I avec mutations de l'ADNmt présentent des anomalies du tronc cérébral ± des ganglions de la base ± épisodes de stroke like ± atrophie cérébelleuse alors que les patients atteints d'un déficit en complexe I liés à un gène nucléaire présentent des anomalies du tronc cérébral ± des ganglions de la base ± une leuco encéphalopathie ; chez les patients avec anomalies de traduction les lésions les plus fréquentes seraient l'atrophie corticale (gènes *RARS2* ou *FARS2*) ou une leuco encéphalopathie sévère (*DARS2* ou *EARS2*). Un algorithme décisionnel permettant d'orienter les analyses génétiques a même été proposé [16]. Au cours de l'IRM, l'acquisition de séquence par spectroscopie par résonance magnétique (¹H-RMN) permet de mesurer une augmentation du lactate intracérébral, qui peut survenir alors que l'acide lactique périphérique peut être normal.

Biomarqueurs circulants

L'accès à un bio-marqueur circulant sensible et spécifique serait d'un apport évident dans l'approche diagnostique des maladies mitochondriales. C'est ainsi que le dosage du FGF-21 (*Fibroblast Growth Factor 21*) circulant a été proposé. Celui-ci serait significativement augmenté dans les atteintes musculaires liées à un défaut d'énergie et aurait une meilleure spécificité que les marqueurs sanguins (lactate, rapport lactate/pyruvate, CK) actuellement disponibles [17]. L'expression de FGF-21 étant augmentée pour contrer le déficit métabolique sous-jacent, l'augmentation du FGF21 circulant est observée dans d'autres maladies métaboliques fréquentes comme le diabète, l'obésité et le syndrome métabolique, ce qui en limite l'utilisation en

pratique diagnostique. De même le GDF15 (*Growth Differentiation Factor 15*) [18] qui a été proposé comme aillant une meilleure sensibilité dans le diagnostic des maladies mitochondriales, indépendamment du phénotype clinique est augmenté dans d'autres présentations cliniques comme l'insuffisance cardiaque.

Génétique moléculaire

Les investigations génétiques des maladies mitochondriales sont très particulières, car toutes les transmissions sont possibles et le gène causal peut être porté par l'ADNmt ou nucléaire. Les recommandations du réseau français des laboratoires diagnostiques des maladies mitochondriales, sont d'analyser l'ADNmt en priorité, d'une part pour la fréquence de ses mutations responsables [19] et d'autre part pour écarter son implication dans le cadre du conseil génétique ; en effet la majorité des maladies mitochondriales liées aux gènes nucléaires sont autosomiques récessives avec un risque de 25 % d'avoir un enfant atteint alors qu'une mère peut transmettre son ADNmt muté à tous ses enfants. Si cette recherche est négative, les investigations seront poursuivies par l'étude des gènes nucléaires, parfois de façon ciblée mais de plus en plus souvent par panel large de gènes.

Analyser l'ADNmt en priorité, pour la fréquence de ses mutations responsables et pour écarter son implication dans le cadre du conseil génétique

L'ADNmt

L'ADNmt est un ADN circulaire de petite taille (16,5 kb) facilement accessible au séquençage dans sa totalité ; toutefois deux caractéristiques, son caractère polymorphe (une des particularités de l'ADNmt est son fort taux de mutations, environ 10 fois supérieur à celui du génome nucléaire) et le phénomène d'hétéroplasmie (coexistence dans une cellule, un tissu, de molécules d'ADNmt sauvage et muté) rendent complexes l'analyse moléculaire et l'interprétation des résultats.

Du fait de l'hétéroplasmie des mutations de l'ADNmt, la répartition tissulaire est souvent variable et nécessite d'analyser le tissu atteint ou à défaut le muscle qui reste le tissu le plus informatif. En pratique, l'étude de l'ADNmt comportera la recherche de délétions simples de grande taille, de délétions multiples, de déplétions et de mutations ponctuelles. La mise en évidence d'une délétion unique, si elle est en quantité suffisante, fait le diagnostic de syndrome de Kearns Sayre [20,21], Pearson [22,23], ou de CPEO [24]. Il s'agit le plus souvent d'un événement sporadique [25]. La mise en évidence de délétions multiples, associées ou non à une diminution du nombre de copies d'ADNmt signe un défaut dit « de maintenance » en relation avec une anomalie de réplication de l'ADNmt [26] ; les gènes en cause sont tous nucléaires (**tableau 3**) ; il s'agit des gènes codant

Tableau 3. Gènes nucléaires décrits dans des maladies mitochondriales.

Complexes de la Chaîne des OXPHOS	
Sous-unités protéiques des complexes	
Complexe I :	NDUFA1,NDUFA2,NDUFA9,NDUFA10,NDUFA11,NDUFA12,NDUFA13,NDUFB3,NDUFB9,NDUFB11,NDUFS1,NDUFS2,NDUFS3,NDUFS4,NDUFS6,NDUFS7,NDUFS8,NDUFV1,NDUFV2
Complexe II	SDHA, SDHB, SDHC, SDHD
Complexe III	CYC1, UQCRB, UQCRC2, UQCRCQ
Complexe IV	COX412, COX6B1, COX7B,
Complexe V	ATP5A1,ATP5E
Biogenèse de la chaîne des OXPHOS	
Synthèse des cofacteurs	
Biosynthèse du coenzyme Q10	COQ2, COQ4, COQ6, COQ8A, COQ8B, COQ9, PDSS1, PDSS2
Homéostasie des centres Fer Soufre	FRDA
Transporteurs	Cuivre : ATP7A, SCO1, SCO2 ; fer : ABC7
Assemblage	
Complexe I :	FOXRED1, NDUFAF1, NDUFAF2, NDUFAF3, NDUFAF4, NDUFAF5, NDUFAF6, NDUFB11
Complexe II	SDHAF1, SDHAF2
Complexe III	BCS1L, TTC19, LYRM4, LYRM7, UQCC2, UQCC3
Complexe IV	CEP89, COA5, COX10, COX14, COX15, COX20, PET100, SURF1
Complexe V	ATPAF2, TMEM70
Dynamique membranaire: fusion et fission des mitochondries	MFN2, OPA1, DNML, GDAP1,
Protéase	SPG7
Métabolisme des phospholipides	AGK, SERAC1, TAZ
complexe MICOS	CHCHD10, QIL1
Homéostasie de l'ADNmt	
Réplication	POLG, POLG2, TWNK
dNTPs mitochondriaux	DGUOK, TK2, RRM2B, SLC25A4, SUCLG1, SUCLA2, TYMP, MPV17?
Réparation	MGME1, DNA2
Expression des gènes de l'ADNmt	
Régulation	TACO1, LRPPRC
Transcription	RMRP
Modification ARNt	MTO1, MTFMT, TRMU, PUS1, TRNT
Traduction	GFM1, EFG1, TUFM, TSFM, C12orf65, RMND1
Protéines mitoribosomales	MRPS16, MRPS22, MRPL3, MRP12, MRPL44, MRPS34
Amino-acyl-ARNt-synthétases	AARS2, CARS2, DARS2, EARS2, FARS2, GARS, HARS2, IARS2, KARS, LARS2, MARS2, NARS2, PARS2, RARS2, SARS2, TARS2, VARS2, WARS2, YARS2
Métabolisme des composés toxiques	HIBCH, ECHS1, ETHE1 et MPV17?

des protéines directement impliquées dans la synthèse de l'ADNmt [*POLG*, *POLG2* codant pour la polymérase gamma, *TWNK* codant pour l'hélicase mitochondriale], dans la fourniture du pool de nucléotides mitochondriaux (*DGUOK*, *TK2*, *RRM2B*, *SLC25A4*, *TYMP*) ou dans la réparation (*DNA2*, *MGME1*). Ces gènes sont responsables de phénotypes cliniques variables; les délétions sont généralement retrouvées dans des formes sévères et précoces (période néonatale ou dans l'enfance) qui se transmettent selon un mode autosomique récessif. Les mutations dans les gènes *DGUOK*, *POLG*, *MPV17*, *TK2* ont été décrites dans ces pathologies. À l'inverse, les délétions multiples de l'ADNmt vont plutôt se retrouver dans des formes de l'adulte de transmission autosomique dominante. Les signes cliniques sont généralement une PEO, un ptosis et une faiblesse progressive des muscles extra-oculaires et squelettiques mais également neurologiques. D'autres gènes sont impliqués dans les délétions multiples de l'ADNmt il s'agit de *OPA1*, *MFN2*, *FBXL4* impliqués dans la dynamique mitochondriale et le remodelage du réseau mitochondrial mais également le gène *SPG7*, codant pour une métalloprotéase (la paraplegine), puisque des mutations de ce gène ont été rapportées dans des cas d'ophtalmoplégie progressive chronique avec présence de délétions multiples de l'ADNmt dans le muscle des patients [27].

En dehors de quelques syndromes qui vont orienter l'étude à quelques gènes ciblés porteurs de mutations récurrentes (MELAS: *MT-TL1*, *MERRF*, *MT-TK*, *NARP*, *MT-ATP6*), ou de quelques mutations fréquentes dans un type de pathologie (3 mutations de l'ADNmt sont responsables de 85 % des neuropathies optiques héréditaires de Leber), la tendance est au séquençage de tout l'ADNmt. La difficulté réside dans l'interprétation des variants identifiés, dont il n'est pas toujours aisé de prouver le rôle pathogène [28]. Il faut alors s'aider des données complémentaires de l'imagerie et des activités enzymatiques; ainsi un variant d'un gène codant un ARN de transfert s'accompagne d'un déficit combiné touchant les complexes dépendant de l'ADNmt. La base de données «mitomap» dédiée aux variants de l'ADNmt, contient plus de 40 000 séquences d'ADNmt est d'une grande utilité dans l'interprétation des variants, en particulier en fonction des haplogroupes (www.mitomap.org). Par ailleurs, si un variant est pathogène, il est le plus souvent à l'état hétéroplasmique et la charge mutationnelle doit être suffisante pour qu'il soit considéré responsable de la maladie [29]. Cela nécessite des études pluritissulaires et ne permet pas toujours de trancher. Enfin, il faut être conscient que l'absence de détection de mutation dans l'ADN leucocytaire ne permet pas d'exclure sa possible existence dans un autre tissu.

Le séquençage de large panels de gènes (200 à 400) est maintenant accessible à de nombreux laboratoires

Gènes nucléaires

Pour l'ADN nucléaire, la difficulté tient dans le très grand nombre de gènes candidats, connus ou non à ce jour. Le séquençage haut débit et l'analyse d'exomes a permis d'identifier de nombreux gènes responsables de cytopathies mitochondriales et il est maintenant possible de séquencer de larges panels contenant 200 à 400 gènes connus; le rendement diagnostique en est grandement amélioré mais en dehors de quelques gènes (de maintenance essentiellement, voir plus haut) il est rare que le même gène soit impliqué dans plusieurs familles. Des tentatives d'arbres décisionnels selon les portes d'entrée cliniques, enzymatiques, histologiques sont progressivement mises en place mais restent difficiles en pratique car ils doivent tenir compte du type de présentation (neurologique centrale ou neuromusculaire), de l'âge d'apparition...

Les gènes nucléaires responsables de déficit des OXPHOS sont trop nombreux pour permettre la description de tous les tableaux cliniques associés à leur altération. De plus, pour un grand nombre de ces gènes, le nombre de patients identifiés est trop petit pour que l'on puisse établir les relations génotype/phénotype. En quelques années, les avancées technologiques ont révolutionné la connaissance des gènes responsables de maladies mitochondriales; le séquençage haut débit en autorisant le séquençage de l'exome et de larges panels de gènes a permis d'une part la découverte de nouveaux gènes mais également l'implication de certains d'entre eux dans des phénotypes non attendus; c'est ainsi que le gène *DGUOK*, responsable de déplétion de l'ADNmt hépatique entraînant un syndrome hépato-cérébral néonatal [30] s'est avéré également responsable de PEO de l'adulte avec délétions multiples de l'ADNmt musculaire [31]. De même, *SLC25A4* premier gène de maintenance rapporté [32] comme responsable de PEO autosomique dominante de l'adulte est également impliqué sur un mode autosomique récessif dans un tableau de cardiopathie et d'intolérance à l'effort sans ptosis ni ophtalmoplégie [33]. *RRM2B*, connu pour une atteinte musculaire et PEO AD avec délétions multiples de l'ADNmt chez l'adulte [34] est également responsable d'une encéphalomyopathie sévère et tubulopathie rénale avec acidose lactique néonatale [35] et d'un syndrome type MNGIE [36]. Ces exemples montrent que les relations génotype-phénotype peuvent être une orientation pour les investigations moléculaires mais qu'en aucun cas l'étude génétique ne doit s'y restreindre.

Les altérations des gènes nucléaires peuvent être regroupées en grandes classes de gènes (**tableau 3**): ceux codant une sous-unité de la chaîne des OXPHOS,

ceux codant un facteur impliqué dans la biogenèse des OXPHOS (import, métabolisme des centres redox, assemblage, dynamique membranaire comme la fusion et la fission des mitochondries, maintien de la structure des crêtes), et ceux codant pour l'un des facteurs impliqués dans la réplication et/ou l'expression de l'ADNmt. Les anomalies de gène codant une sous-unité des OXPHOS sont associées au déficit du complexe. Le déficit est le plus souvent exprimé dans les fibroblastes cutanés en culture. Les déficits des complexes I, II, IV et V induisent le plus souvent des tableaux d'encéphalopathie associée à d'autres atteintes tissulaires. L'atteinte cérébrale est souvent proche du syndrome de Leigh. La description des présentations cliniques est facilement trouvée dans la base de données OMIM sur le site Pubmed (www.ncbi.nlm.nih.gov/omim). Les anomalies des gènes impliqués dans la biogenèse des OXPHOS donnent des tableaux particulièrement divers, en accord avec leurs mécanismes variés. Le mécanisme altéré peut être partagé par des voies autres que les OXPHOS : ACAD9, par exemple, code pour une acyl-CoA-déshydrogénase intervenant dans la bêta-oxydation mais également dans l'assemblage du complexe I ; son dysfonctionnement entraîne un déficit profond en complexe I et se traduit par un tableau précoce et sévère associant une cardiomyopathie hypertrophique, une encéphalopathie et une acidose lactique [37]. Parfois la présentation clinique oriente prioritairement vers certains gènes : ainsi OPA1, dynamine impliquée dans la fission mitochondriale est très fréquemment mutée dans les atrophies optiques dominantes [38]. Dans d'autres cas, les analyses complémentaires, telles le BN PAGE (*Blue Native Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*) mettent en évidence le défaut d'assemblage et permettent l'étude ciblée d'un gène : c'est le cas de NDUF54 dans le syndrome de Leigh avec déficit en CI [39].

Le rôle et les constituants essentiels du complexe MICOS (*Mitochondrial COntact Site*) sont progressivement élucidés ; ce complexe est essentiel dans la stabilité des crêtes et l'architecture mitochondriale, dont dépend le fonctionnement harmonieux de la chaîne des OXPHOS dont les complexes sont localisés dans les membranes internes des crêtes ; le gène QIL1 a été identifié comme élément essentiel dans l'assemblage de ce complexe et la formation des crêtes et plus récemment impliqué dans un tableau clinique sévère d'encéphalopathie avec atteinte hépatique [40,41]. Les anomalies des gènes codant pour l'un des facteurs impliqués dans la réplication de l'ADNmt (voir plus haut) entraînent une réduction de la quantité d'ADNmt par cellule (déplétion) et/ou l'accumulation d'altérations qualitatives de

l'ADNmt (mutations ponctuelles ou délétions) [26]. Pour les cas pédiatriques, en dehors des mutations du gène TK2 qui entraînent une myopathie isolée sévère, les tableaux cliniques sont toujours multi-systémiques, avec atteinte cérébrale et souvent atteinte hépatique. Les altérations du gène POLG sont les plus fréquentes de cette catégorie. Elles induisent des tableaux divers. Lorsque la transmission est récessive, le spectre clinique va d'une maladie très sévère hépato-cérébrale du très jeune enfant (syndrome d'Alpers ou apparenté) [42] jusqu'à des formes essentiellement neuromusculaires de l'adulte [43].

Les anomalies de gènes impliqués dans l'expression des gènes de l'ADNmt sont très nombreuses et de plus en plus rapportées dans les cytopathies mitochondriales.

Elles peuvent être responsables de maladies très sévères, à début très précoce, associées à un déficit profond de toutes les activités OXPHOS qui dépendent de l'ADNmt, c'est-à-dire tous les complexes sauf le complexe II. C'est le cas des mutations de gènes codant certaines protéines des ribosomes mitochondriaux comme MRPS22 [44]. Dans d'autres cas, l'altération génétique n'induit pas de déficit majeur de la traduction mitochondriale. Dans ces cas, les mécanismes physiopathologiques restent mystérieux et les expressions cliniques sont diverses.

Le meilleur exemple de cette dernière situation sont les mutations des diverses aminoacyl-tRNA-synthétases, dont la caractérisation date de 2005 [45]. Après une première description de mutations dans DARS2 en 2007 [46], responsables de leucodystrophies particulières (LBSL) impliquant le tronc cérébral et la moelle, en seulement 10 ans, des mutations dans chacun des gènes nucléaires codant pour les 19 aminoacyl-tRNA-synthétases ont été rapportées dans des pathologies humaines avec des manifestations cliniques très diverses [47-49]. Douze sont responsables d'atteinte du système nerveux central dont huit d'encéphalopathies (RARS2, NARS2, CARS2, IARS2, FARS2, PARS2, TARS2, VARS2) quatre de leucodystrophies (ARS2, DARS2, EARS2, MARS2) et 2 de syndrome de Perrault (HARS2, LARS2), trois sont responsables de cardiomyopathies (ARS2, GARS2 et KARS2) une du syndrome MLASA, associant myopathie, acidose lactique et anémie sidéroblastique (YARS2) et une du syndrome de HUPRA, associant une insuffisance rénale et une hypertension pulmonaire avec hyper-uricémie et alcalose métabolique (SARS2). Une difficulté dans l'étude de ces gènes réside dans l'interprétation des variants qui ne répondent pas aux logiciels de prédiction *in silico* habituels ; l'utilisation de la base de données « MitSynPat » est très utile [50] <http://misynpat.org>. De nombreuses études sont encore

La description des présentations cliniques est facilement trouvée dans la base de données OMIM sur le site Pubmed



Dossier scientifique

Cytopathies mitochondriales

nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes impliqués et la discordance des signes cliniques observée entre les aminoacyl-tRNA-synthétases et leur ARNt homologues [51].

Malgré des investigations moléculaires larges de l'ADNmt et des gènes nucléaires, le rendement diagnostique reste faible, de l'ordre de 20 à 30%. La tentation, comme pour d'autres maladies (retard du développement, autisme) est de séquencer l'exome dans sa totalité (WES). Techniquement, cette approche est possible car les séquenceurs haut débit alliés à des techniques de capture de plus en plus performantes et des «pipelines» bio-informatiques d'analyse sont disponibles dans de nombreux centres diagnostiques; toutefois, se pose alors de façon aiguë, la question de l'interprétation des variants, déjà omniprésente dans les laboratoires en raison de la masse de données à analyser et de la difficulté de conclure à la pathogénicité ou non de la majorité des variants. De plus on sait que le WES, qui est limité à l'analyse des régions codantes permet le diagnostic dans moins de 50% des cas; s'ouvrent alors d'autres champs d'investigation que sont la recherche de réarrangements géniques complexes et le séquençage du transcriptome (technique du RNASeq) [52].

Conclusion

La mise en évidence des gènes responsables des maladies mitochondriales, même si elle reste très incomplète, est indispensable pour leur compréhension physiopathologique et l'espoir de les guérir. De plus, en l'absence de réel traitement dans la majorité des cas, l'identification de l'anomalie génétique responsable permet l'accès au conseil génétique. Grâce au DPN (diagnostic prénatal)/DPI (diagnostic préimplantatoire), il est alors possible aux parents de mettre au monde des enfants non atteints. ■■

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Points à retenir

- Les maladies mitochondriales sont définies comme les affections dues à un défaut de la chaîne des oxydations phosphorylantes (OXPHOS)
- Les maladies mitochondriales sont des pathologies à expression très hétérogène aussi bien dans leur présentation clinique que dans l'âge d'apparition des symptômes

Références

- [1] Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, et al. Mitochondrial diseases. Nat rev Dis Primers 2016; 2:16080
- [2] Schaefer AM, Mc Farland R, Blakely EL et al. Prevalence of mitochondrial DNA disease in adults Ann Neurol 2008; 63:35-39
- [3] Skladal D, Halliday J, Thorburn DR. Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. Brain 2003; 126:1905-12
- [4] Lehninger AL. Le transport d'électrons et la phosphorylation oxydative. Biochimie. Bases Moléculaires de la structure et des fonctions cellulaires. 6ème Ed Paris: Flammarion médecine-sciences, 1972:365-393
- [5] Mc Farland R, Taylor R, Turnbull DM et al. A neurological perspective on mitochondrial disease. Lancet Neurol. 9,829-840 2010
- [6] Auré K, Jardel C, Lombès A. Mitochondrial diseases: molecular mechanisms, clinical presentations and diagnosis investigations. Ann Pathol 2005; 25:270-81.
- [7] Auré K, Ogier de Baulny H, Laforet P, et al. Chronic progressive ophthalmoplegia with large-scale mtDNA rearrangement: can we predict progression? Brain 2007; 130:1516-1524
- [8] Pavlakis SG, Phillips PC, DiMauro S, et al. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: a distinctive clinical syndrome. Ann.Neurol. 1984; 16:481-488.
- [9] Leigh D. Subacute necrotizing encephalomyelopathy in an infant. J neurochem 1951; 14:216-21.
- [10] Munnich A, Rustin P. Clinical spectrum and diagnosis of mitochondrial disorders. Am J Med Genet 2001;106:4-17.
- [11] DiMauro S. Mitochondrial diseases. Biochim Biophys Acta 2004;1658:80-8.
- [12] Wortmann SB, Mayr JA, Nuoffer JM et al. A guideline for the diagnosis of pediatric mitochondrial disease: the value of muscle and skin biopsies in the genetics area. Neuropediatrics 2017;48(4):309-314
- [13] Fayet G, Jansson M, Sternberg D, et al. Ageing muscle: clonal expansions of mitochondrial DNA point mutations and deletions cause focal impairment of mitochondrial function. Neuromuscul Disord 2002; 12(5):484-493.
- [14] Lombès A, Auré K et Jardel C. Physiopathologie des maladies mitochondriales. Biologie aujourd'hui 2015; 209(2),125-32

- [15] Lebre AS, Rio M, Faivre d'Arcier L et al. A common pattern of brain MRI imaging in mitochondrial diseases with complex I deficiency. J Med Genet 2010; 48(1):16-23.
- [16] Bricout M, Grévent D, Lebre AS et al. Brain imaging in mitochondrial respiratory chain deficiency: combination of brain MRI features as a useful tool for genotype/phenotype correlations. J Med Genet 2014; 51: 429-435
- [17] Suomalainen A, Elo JM, Pietiläinen KH et al. FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study. Lancet Neurol. 2011; 10(9):806-18
- [18] Yatsuga S, Fujita Y, Ishii A et al. Growth Differentiation Factor 15 as a Useful Biomarker for Mitochondrial Disorders. Ann neurol. 2015; 78:81
- [19] Bannwarth S, Procaccio V, Lebre AS, et al. Prevalence of rare mitochondrial DNA mutations in mitochondrial disorders. J Med Genet. 2013; 50(10):704-14. 4-823
- [20] Kearns TP, Sayre GP. Retinitis pigmentosa, external ophthalmoplegia and complete heart block. Unusual syndrome with histologic study in one of two cases. Arch Ophthalmol (Chicago) 1958;60:280.
- [21] Lestienne P, Ponsot G. Kearns-Sayre syndrome with muscle mitochondrial DNA deletion. The Lancet 1988;i:885.
- [22] Pearson HA, Lobel JS, Kocoshis SA, et al. A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction. J.Pediatrics 1979; 95:976-984.
- [23] Rötig A, Colonna M, Blanche S, et al. Deletion of blood mitochondrial DNA in pancytopenia. Lancet 1988;2:567-568.
- [24] Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. Nature 1988;331:717-719.
- [25] Chinnery PF, DiMauro S, Shanske S, et al. Risk of developing a mitochondrial DNA deletion disorder. Lancet 2004;364:592-6.
- [26] Ahmed N, Ronchi D, et Comi GP. Genes and pathways involved in adult onset disorders featuring muscle mitochondrial DNA instability. Int.J.Mol.Sci.2015;18054-76
- [27] Casari G, De Fusco M, Ciarmatori, et al. A. Spastic paraplegia and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease. Cell 93: 973-83, 1998.
- [28] McFarland R, Elson JL, Taylor RW, et al. Assigning pathogenicity to mitochondrial tRNA mutations: when "definitely maybe" is not good enough. Trends Genet 2004;20:591-6.

- [29] Chinnery PF, Howell N, Lightowlers RN, et al. Molecular pathology of MELAS and MERRF. The relationship between mutation load and clinical phenotypes. *Brain* 1997;120:1713-21.
- [30] Mandel H, Szargel R, Labay V. The deoxyguanosine kinase gene is mutated in individuals with depleted hepatocerebral mitochondrial DNA. *Nature Genet* 2001; 29: 337-41.
- [31] Ronchi, D., Garone, C., Bordoni, A. et al. Next-generation sequencing reveals DGUOK mutations in adult patients with mitochondrial DNA multiple deletions. *Brain* 2012;135: 3404-15.
- [32] Chen, X. J. Induction of an unregulated channel by mutations in adenine nucleotide translocase suggests an explanation for human ophthalmoplegia. *Hum. Molec. Genet* 2002;11: 1835-43.
- [33] Tosserams A, Papadopoulos C, Jardel C, et al. Two new cases of mitochondrial myopathy with exercise intolerance, hyperlactatemia and cardiomyopathy, caused by recessive SLC25A4 mutations. *Mitochondrion*. 2017 Aug 18.
- [34] Tynismaa, H., Ylikallio, E., Patel M. et al. A heterozygous truncating mutation in RRM2B causes autosomal-dominant progressive external ophthalmoplegia with multiple mtDNA deletions. *Am. J. Hum. Genet.* 2009; 85: 290-5.
- [35] Bourdon, A, Minai L, Serre V, et al. Mutation of RRM2B, encoding p53-controlled ribonucleotide reductase (p53R2), causes severe mitochondrial DNA depletion. (Letter) *Nature Genet.* 39: 776-80, 2007.
- [36] Shaibani A, Shchelochkov OA, Zhang S, et al. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalopathy due to mutations in RRM2B. *Arch. Neurol.* 66: 1028-32, 2.
- [37] Schiff M, Haberberger B, Xia C, et al. Complex I assembly function and fatty acid oxidation enzyme activity of ACAD9 both contribute to disease severity in ACAD9 deficiency. *Hum. Molec. Genet.* 2015; 24: 3238-3247.
- [38] Alexander C, Votruba M, Pesch UEA et al. OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Nature Genet.* 2000; 26: 211-5.
- [39] Assouline Z, Jambou, M, Rio M, et al. A constant and similar assembly defect of mitochondrial respiratory chain complex I allows rapid identification of NDUFS4 mutations in patients with Leigh syndrome. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(6):1062-9.
- [40] Guarani, V, McNeill EM, Paulo JA, et al.. QIL1 is a novel mitochondrial protein required for MICOS complex stability and cristae morphology. *eLife* 2015; 4: e06265..
- [41] Guarani V, Jardel C, Chrétien D et al. QIL1 mutation causes MICOS disassembly and early onset fatal mitochondrial encephalopathy with liver disease. *Elife.* 2016 Sep 13;5.
- [42] Ferrari G, Lamantea E, Donati A, et al. Infantile hepatocerebral syndromes associated with mutations in the mitochondrial DNA polymerase-gamma. *Brain* 2005;128:723-31.
- [43] Tchikviladze M, Gilleron M, Maissonobe T, et al. A diagnostic flow chart for POLG-related diseases based on signs sensitivity and specificity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014.
- [44] Saada A, Shaag A, Arnon S, et al. Antenatal mitochondrial disease caused by mitochondrial ribosomal protein (MRPS22) mutation. *J Med Genet* 2007;44:784-6.
- [45] Bonnefond L, Fender A, Rudinger-Thirion J, et al. Toward the full set of human mitochondrial aminoacyl-tRNA synthetases: Characterization of AspRS and TyrRS. *2005 Biochemistry*, 44, 4805-16.
- [46] Scheper GC, van der Klok T, van Andel RJ, et al. Mitochondrial aspartyl-tRNA synthetase deficiency causes leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation. *Nat Genet* 2007;39:534-9
- [47] Diodato D, Melchionda L, Haack TB, et al. VARS2 and TARS2 mutations in patients with mitochondrial encephalomyopathies. *Hum Mutat.* 2014 ;35(8):983-9.
- [48] Coughlin CR 2nd, Scharer GH, Friederich MW, et al. Mutations in the mitochondrial cysteinyl-tRNA synthase gene, CARS2, lead to a severe epileptic encephalopathy and complex movement disorder. *J Med Genet.* 2015;52(8):532-40.
- [49] Diodato D., Ghezzi D., Tiranti V. et al. The Mitochondrial Aminoacyl tRNA Synthetases: Genes and Syndromes. *International Journal of Cell Biology*, 2014, 787956.
- [50] Moulinier L, Ripp R, Castillo G. et al MiSynPat: An integrated knowledge base linking clinical, genetic, and structural data for disease-causing mutations in human mitochondrial aminoacyl-tRNA synthetases. 2017; *Hum Mutat.* 2017 Oct;38(10):1316-24.
- [51] Sissler M, González-Serrano LE, Westhof E, et al. Recent Advances in Mitochondrial Aminoacyl-tRNA Synthetases and Disease. 2017; *Trends Mol Med.* 2017 Aug;23(8):693-708.
- [52] Kremer LS, Bader DM, Mertens C. et al. Genetic diagnosis of Mendelian disorders via RNA sequencing. 2017 *Nat Commun.* Jun 12;8:15824.