

UNIVERSITE D'ANGERS

FACULTE DE MEDECINE

Année 2014

N°.....

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Qualification en : OPHTALMOLOGIE

Par

Angélique CAIGNARD

Née le 12 janvier 1985 à VANNES (56)

Présentée et soutenue publiquement le : 23 juin 2014

***CREATION D'UNE BASE DE DONNEES SPECIFIQUE DES MUTATIONS
OPAI POUR L'ANALYSE DES CORRELATIONS GENOTYPE-PHENOTYPE
DE L'ATROPHIE OPTIQUE DOMINANTE***

Président : Monsieur le Professeur MILEA Dan

Directeurs : Madame le Docteur LERUEZ Stéphanie

Monsieur FERRÉ Marc

UNIVERSITE D'ANGERS

FACULTE DE MEDECINE

Année 2014

N°.....

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Qualification en : OPHTALMOLOGIE

Par

Angélique CAIGNARD

Née le 12 janvier 1985 à VANNES (56)

Présentée et soutenue publiquement le : 23 juin 2014

***CREATION D'UNE BASE DE DONNEES SPECIFIQUE DES MUTATIONS
OPAI POUR L'ANALYSE DES CORRELATIONS GENOTYPE-PHENOTYPE
DE L'ATROPHIE OPTIQUE DOMINANTE***

Président : Monsieur le Professeur MILEA Dan

Directeurs : Madame le Docteur LERUEZ Stéphanie

Monsieur FERRÉ Marc

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE D'ANGERS

Doyen
Vice doyen recherche
Vice doyen pédagogie

Pr. RICHARD
Pr. PROCACCIO
Pr. COUTANT

Doyens Honoraires : Pr. BIGORGNE, Pr. EMILE, Pr. REBEL, Pr. RENIER, Pr. SAINT-ANDRÉ

Professeur Émérite : Pr. Gilles GUY, Pr. Jean-Pierre ARNAUD

Professeurs Honoraires : Pr. ACHARD, Pr. ALLAIN, Pr. ALQUIER, Pr. BASLÉ, Pr. BIGORGNE, Pr. BOASSON, Pr. BOYER, Pr. BREGEON, Pr. CARBONNELLE, Pr. CARON-POITREAU, Pr. M. CAVELLAT, Pr. COUPRIS, Pr. DAUVER, Pr. DELHUMEAU, Pr. DENIS, Pr. DUBIN, Pr. EMILE, Pr. FOURNIÉ, Pr. FRANÇOIS, Pr. FRESSINAUD, Pr. GESLIN, Pr. GROSIEUX, Pr. GUY, Pr. HUREZ, Pr. JALLET, Pr. LARGET-PIET, Pr. LARRA, Pr. LE JEUNE, Pr. LIMAL, Pr. MARCAIS, Pr. PARÉ, Pr. PENNEAU, Pr. PENNEAU-FONTBONNE, Pr. PIDHORZ, Pr. POUPLARD, Pr. RACINEUX, Pr. REBEL, Pr. RENIER, Pr. RONCERAY, Pr. SIMARD, Pr. SORET, Pr. TADEI, Pr. TRUELLE, Pr. TUCHAIS, Pr. VERRET, Pr. WARTEL

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	Physiologie
ASFAR Pierre	Réanimation médicale
AUBÉ Christophe	Radiologie et imagerie médicale
AUDRAN Maurice	Rhumatologie
AZZOUZI Abdel-Rahmène	Urologie
BARON Céline	Médecine générale
BARTHELAIX Annick	Biologie cellulaire
BATAILLE François-Régis	Hématologie ; Transfusion
BAUFRETON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BEAUCHET Olivier	Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement
BEYDON Laurent	Anesthésiologie-réanimation
BIZOT Pascal	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BONNEAU Dominique	Génétique
BOUCHARA Jean-Philippe	Parasitologie et mycologie
CALÈS Paul	Gastroentérologie ; hépatologie
CAMPONE Mario	Cancérologie ; radiothérapie
CAROLI-BOSC François-Xavier	Gastroentérologie ; hépatologie
CHABASSE Dominique	Parasitologie et mycologie
CHAPPARD Daniel	Cytologie et histologie
COUTANT Régis	Pédiatrie
COUTURIER Olivier	Biophysique et Médecine nucléaire
DARSONVAL Vincent	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
de BRUX Jean-Louis	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
DIQUET Bertrand	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie
ENON Bernard	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
FANELLO Serge	Épidémiologie, économie de la santé et prévention
FOURNIER Henri-Dominique	Anatomie
FURBER Alain	Cardiologie

GAGNADOUX Frédéric	Pneumologie
GARNIER François	Médecine générale
GARRÉ Jean-Bernard	Psychiatrie d'adultes
GINIÈS Jean-Louis	Pédiatrie
GOHIER Bénédicte	Psychiatrie
GRANRY Jean-Claude	Anesthésiologie-réanimation
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion
HAMY Antoine	Chirurgie générale
HUEZ Jean-François	Médecine générale
HUNAUT-BERGER Mathilde	Hématologie ; transfusion
IFRAH Norbert	Hématologie ; transfusion
JEANNIN Pascale	Immunologie
JOLY-GUILLOU Marie-Laure	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
LACCOURREYE Laurent	Oto-rhino-laryngologie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation
LAUMONIER Frédéric	Chirurgie infantile
LE JEUNE Jean-Jacques	Biophysique et médecine nucléaire
LEFTHÉRIOTIS Georges	Physiologie
LEGRAND Erick	Rhumatologie
LEROLLE Nicolas	Réanimation médicale
LERMITE Emilie	Chirurgie générale
LUNEL-FABIANI Françoise	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MALTHIÉRY Yves	Biochimie et biologie moléculaire
MARTIN Ludovic	Dermato-vénéréologie
MENEI Philippe	Neurochirurgie
MERCAT Alain	Réanimation médicale
MERCIER Philippe	Anatomie
NGUYEN Sylvie	Pédiatrie
PICHARD Eric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile
PROCACCIO Vincent	Génétique
PRUNIER Fabrice	Cardiologie
REYNIER Pascal	Biochimie et biologie moléculaire
RICHARD Isabelle	Médecine physique et de réadaptation
RODIEN Patrice	Endocrinologie et maladies métaboliques
ROHMER Vincent	Endocrinologie et maladies métaboliques
ROQUELAURE Yves	Médecine et santé au travail
ROUGÉ-MAILLART Clotilde	Médecine légale et droit de la santé
ROUSSEAU Audrey	Anatomie et cytologie pathologiques
ROUSSELET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
ROY Pierre-Marie	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
SAINT-ANDRÉ Jean-Paul	Anatomie et cytologie pathologiques
SENTILHES Loïc	Gynécologie-obstétrique
SUBRA Jean-François	Néphrologie
URBAN Thierry	Pneumologie
VERNY Christophe	Neurologie

WILLOTEAUX Serge
ZANDECKI Marc

Radiologie et imagerie médicale
Hématologie ; transfusion

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ANNAIX Claude
ANNWEILER Cédric
AUGUSTO Jean-François
BEAUVILLAIN Céline
BELIZNA Cristina
BLANCHET Odile
BOURSIER Jérôme
BOUTON Céline
CAILLIEZ Éric
CAPITAIN Olivier
CASSEREAU Julien
CHEVAILLER Alain
CHEVALIER Sylvie
CONNAN Laurent
CRONIER Patrick
CUSTAUD Marc-Antoine
de CASABIANCA Catherine
DUCANCELLE Alexandra
DUCLUZEAU Pierre-Henri
FORTRAT Jacques-Olivier
GOHIER Bénédicte
GUARDIOLA Philippe
HINDRE François
JEANGUILLAUME Christian
JOUSSET-THULLIER Nathalie
KEMPF Marie
LACOEUILLE Franck
LERMITTE Emilie
LETOURNEL Franck
LOISEAU-MAINGOT Dominique
MARCHAND-LIBOUBAN Hélène
MAY-PANLOUP Pascale

MESLIER Nicole
MOUILLIE Jean-Marc
PAPON Xavier
PASCO-PAPON Anne
PELLIER Isabelle
PENCHAUD Anne-Laurence
PIHET Marc
PRUNIER Delphine
PUISSANT Hugues
ROUSSEAU Audrey
SAVAGNER Frédéric

Biophysique et médecine nucléaire
Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement
Néphrologie
Immunologie
Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement
Hématologie ; transfusion
Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Médecine générale
Médecine générale
Cancérologie ; radiothérapie
Neurologie
Immunologie
Biologie cellulaire
Médecine générale
Anatomie
Physiologie
Médecine générale
Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Nutrition
Physiologie
Psychiatrie d'adultes
Hématologie ; Transfusion
Biophysique et médecine nucléaire
Biophysique et médecine nucléaire
Médecine légale et droit de la santé
Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
Biophysique et médecine nucléaire
Chirurgie Générale
Biologie cellulaire
Biochimie et biologie moléculaire
Biologie cellulaire
Biologie et médecine du développement et de la reproduction
Physiologie
Philosophie
Anatomie
Radiologie et Imagerie médicale
Pédiatrie
Sociologie
Parasitologie et mycologie
Biochimie et biologie moléculaire
Génétique
Anatomie et cytologie pathologiques
Biochimie et biologie moléculaire

SIMARD Gilles
TANGUY-SCHMIDT Aline
TURCANT Alain

Biochimie et biologie moléculaire
Hématologie ; transfusion
Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique

septembre 2013

COMPOSITION DU JURY

Président du jury :

Monsieur le Professeur MILEA Dan

Directeur de thèse :

Madame le Docteur LERUEZ Stéphanie

Monsieur FERRÉ Marc

Membres du jury :

Monsieur le Professeur PROCACCIO Vincent

Monsieur le Professeur REYNIER Pascal

Monsieur FERRÉ Marc

Madame le Docteur LERUEZ Stéphanie

Remerciements

A Monsieur le Professeur Dan MILEA,

Vous me faites l'honneur de présider le jury de cette thèse ; vous avez été l'investigateur de ma collaboration avec cette talentueuse équipe, ce dont je vous suis reconnaissante. Merci pour vos encouragements dans mes premiers travaux d'écriture, et pour votre enthousiasme contagieux pour la recherche.

Veillez trouver ici l'expression de mon plus profond respect.

A Madame le Docteur Stéphanie LERUEZ,

Tu m'as fait l'honneur d'accepter la codirection de cette thèse, et tu as été d'un grand soutien particulièrement lors de ces dernières semaines intenses. L'alliance de tes compétences professionnelles et de ton amitié a valorisé ces années d'internat.

Reçois ici le témoignage de toute ma gratitude.

A Monsieur Marc FERRÉ,

Malgré mes tâtonnements en bio-informatique, vous avez fait preuve durant ces quelques mois d'une patience et d'une disponibilité sans égale. C'est un grand plaisir d'apprendre à vos côtés ; vous m'avez fait l'honneur de codiriger cette thèse, recevez ici le témoignage de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Vincent PROCACCIO,

A Monsieur le Professeur Pascal REYNIER,

Votre savoir et votre enthousiasme pour la recherche, tout comme votre accessibilité, sont un exemple à mes yeux. Vous me faites l'honneur de juger ce travail, je vous en remercie et vous assure de mon plus profond respect.

A Monsieur le Docteur Julien CASSEREAU,

A Madame le Docteur Patrizia AMATI BONNEAU,

A Monsieur le Professeur Dominique BONNEAU,

Pour leur participation à ce travail

A Madame le Docteur Ghislaine JALLET,

Merci d'avoir prolongé quelques temps votre activité hospitalière : quelle déception cela aurait été de ne pas bénéficier de vos enseignements et de votre expérience...

Soyez assurée de ma profonde estime.

A Monsieur le Docteur Marc EBRAN,

L'étendue de vos connaissances tant médicales que générales force mon admiration.

Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Philippe GOHIER,

Votre implication et votre dévouement pour la formation des internes notamment sur le plan chirurgical ont été déterminants durant cet internat.

Veuillez trouvez ici l'expression de toute ma gratitude.

A Madame le Docteur Jacqueline GOETZ,

Pour vos attentions et votre soutien au bloc opératoire,

Soyez assurée de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Lionel BIHL, Mesdames les Docteurs Claire HERPE et Eloïse GUYENNET,

Praticiens hospitaliers du service d'ophtalmologie du CH de Laval

Vous avez marqué de votre empreinte l'ophtalmologiste que je serai.

Soyez assurés par ce travail de toute ma reconnaissance et de mes bons souvenirs.

Aux Docteurs Sylvia GIRAUDET, Axelle ALPHANDARI, Christian BEZO, Alix GRAFFE,

Votre aide et votre disponibilité en tant que chef de clinique et assistants furent précieuses durant ces années.

Soyez assurés de l'expression de toute ma gratitude.

A mes co-internes : Anne, David, Solène, Marion, Mathieu, Aurélien, Morgane, Mehdi, Thomas, Alexandre,

Vous avez enrichi cette formation professionnelle d'amitiés et d'excellents souvenirs, merci pour votre gentillesse et votre solidarité au quotidien.

A Claire, Marielle, Sophie, et les autres membres de l'équipe d'orthoptie

C'est un plaisir de découvrir l'orthoptie à vos côtés, merci pour le dynamisme et la bonne humeur que vous insufflez en consultation.

A Mesdames les infirmières du bloc opératoire,

A Mesdames et Messieurs les infirmiers d'hospitalisation et de consultation,

A Mesdames les secrétaires d'hospitalisation et de consultation,

Merci pour votre aide au quotidien, votre patience et vos attentions.

A mes parents et ma sœur,

Vous êtes à la fois les piliers et les moteurs de ce parcours. Je ne saurais suffisamment exprimer toute ma reconnaissance pour votre patience « d'ange », vos incessants encouragements et votre confiance en moi. Merci d'avoir rendu tout cela possible dans les meilleures conditions.

A Matthieu,

Le soutien et la compréhension dont tu fais preuve me portent chaque jour, merci pour ton indéfectible présence à mes côtés.

A ma grand-mère Amédée,

A la famille GILET et CAIGNARD

Merci pour vos encouragements et votre fierté, malgré mes absences répétées des tablées familiales.

A la famille GRENIÉ et SALOMON

Merci pour votre accueil chaleureux et votre bienveillance

A Charlotte et Claire,

Ma « dream team médecine », qui m'a offert une entraide et surtout beaucoup de bons souvenirs et de moments de rigolade pendant ces années de formation.

A mes amis bretons, toulousains, parisiens mais avant tout amis du Roaliguen,

Tout au long de ce parcours aux escales multiples, merci d'être restés compréhensifs pendant ses périodes loin de vous, et d'avoir gardé non seulement un œil sur moi, mais aussi une place au chaud sur notre radeau.

Abréviations

AA : Amino Acids

ADOA : Autosomal Dominant Optic Atrophy

AOD : Atrophie Optique Dominante

C/D : rapport Cup sur Disc

GCL : Ganglion Cell Layer

LSDB : Locus Specific DataBase

NO : Neuropathie Optique

NPSV : Non-Pathogenic Sequence Variants

OCT : Optical Coherence Tomography

OPA1 : OPTic Atrophy 1 gene

RNFL : Retinal Nerve Fiber Layer

SEPL : Sclérose En Plaques Like

Plan

<u>Chapitre 1</u> : Introduction générale	1
<u>Chapitre 2</u>: Article en langue anglaise	9
<u>Chapitre 3</u>: Discussion générale, conclusions et perspectives	24
References	26
Listes des figures	31
Table des matières	32
Annexes	33

Chapitre 1 : Introduction générale

L'atrophie optique dominante (AOD), ou maladie de Kjer, du nom du premier ophtalmologiste danois à décrire cette pathologie en 1959, est une neuropathie optique (NO) héréditaire responsable d'une atrophie optique bilatérale [1]. L'AOD est la première NO héréditaire en France, avec une prévalence de 1/30 000. Il existe une pénétrance incomplète avec une importante variabilité, à la fois intra- et interfamiliale, de l'expression phénotypique de l'AOD [2].

Présentation clinique de l'atteinte ophtalmologique

La baisse de vision débute classiquement dans l'enfance, mais de part son évolution symétrique et progressive, passe souvent initialement inaperçue. Le diagnostic peut ainsi n'être posé qu'à l'âge adulte, et parfois après une baisse rapide de l'acuité visuelle [3]. Si la diminution de l'acuité visuelle est généralement modérée, elle peut aussi être profonde ou à l'inverse inexistante dans les formes infra-cliniques. L'atteinte visuelle peut s'aggraver, surtout dans la première partie de vie ; en revanche, on considère la perte visuelle comme irréversible bien qu'un cas de récupération partielle ait été rapporté dans la littérature [4].

L'examen ophtalmologique retrouve au fond d'œil une pâleur papillaire prédominant en temporal dans la moitié des cas (Figure 1), ou diffuse dans 1/3 des cas [5]. L'examen du nerf optique révèle toujours l'absence d'un anneau neurorétinien temporal sain, ainsi qu'une atrophie péri-papillaire dans près de 70% des cas [5].

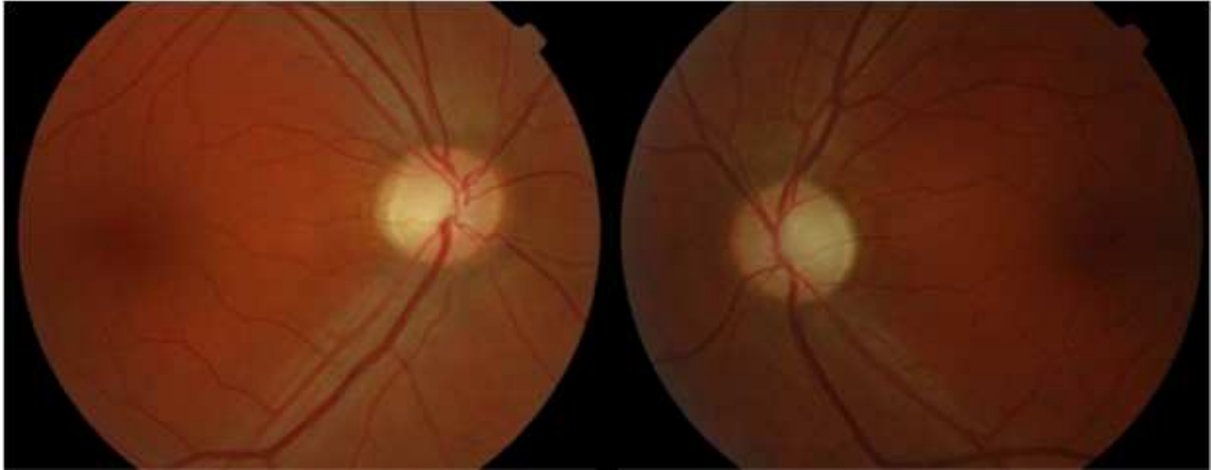


Figure 1 : *Fonds d'œil droit et gauche d'un patient atteint d'AOD : on note la pâleur du secteur temporal des deux nerfs optiques*

Un patient sur deux présente une excavation papillaire avec un rapport cup sur disc (c/d) > 0,5 en l'absence de glaucome associé, et à la différence de cette dernière pathologie, l'excavation sera volontiers en pente douce, et localisée dans le quadrant temporal [5]. Le reste de l'examen du fond d'œil ne montre pas d'hémorragie péri-papillaire, ni de (pseudo) œdème papillaire.

L'étude des champs visuels montre des déficits surtout caeco-centraux (Figure 2), éventuellement paracentraux, centraux ou diffus ; la périphérie, elle, reste conservée. La vision des couleurs montre une dyschromatopsie acquise d'axe tritan (bleu-jaune) ou un déficit diffus non systématisé.

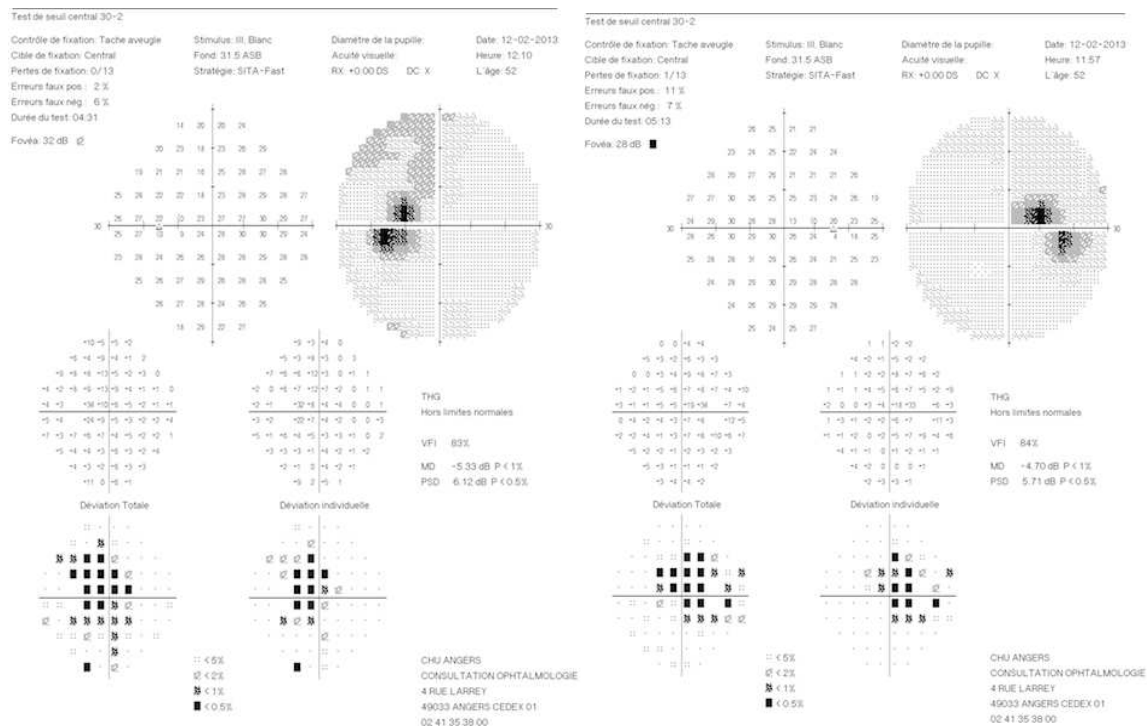


Figure 2 : Champs visuels automatisés de Humphrey 30.2 de l'oeil gauche et de l'oeil droit : il existe un déficit caecocentral bilatéral.

L'analyse de la taille du nerf optique montre que les patients AOD présente une tête du nerf optique significativement plus petite que celle de la population témoin [6]. Plusieurs études se sont intéressées à l'épaisseur du Retinal Nerve Fiber Layer (RNFL). Elles ont étudié le RNFL péri-papillaire, démontrant que celui-ci est aminci dans les 4 quadrants, avec une perte axonale maximale dans les quadrants temporal et inférieur (Figure 3), suivis du quadrant supérieur et enfin du quadrant nasal, qui semble être le dernier atteint [7]. Ces constatations indiquent une fragilité du faisceau des petites fibres inter-papillo-maculaires, reconnue dans les neuropathies optiques mitochondriales. L'analyse du RNFL de la région maculaire montre d'ailleurs un amincissement diffus chez les patients OPA1, parfois même alors que le RNFL péri-papillaire est normal, suggérant que la perte de fibres nerveuses maculaires précède la perte péri-papillaire[8] (Figure 4). Ces conclusions sont confirmées par

une récente étude menée sur les cellules ganglionnaires [9]. La mesure en OCT du Ganglion Cell Layer (GCL) montre une diminution profonde et précoce de l'épaisseur du GCL circonscrite à la région maculaire chez les patients AOD avec une acuité visuelle conservée ou modérément altérée (< 0,4 LogMAR). Cet amincissement prédomine dans les quadrants nasaux inférieur et supérieur qui correspondent au faisceau inter-papillomaculaire. Chez les patients avec une baisse de vision plus profonde, et donc une atteinte plus évoluée, le RNFL péri-papillaire semble en revanche être un meilleur outil pour évaluer la perte globale de cellules ganglionnaires [9].

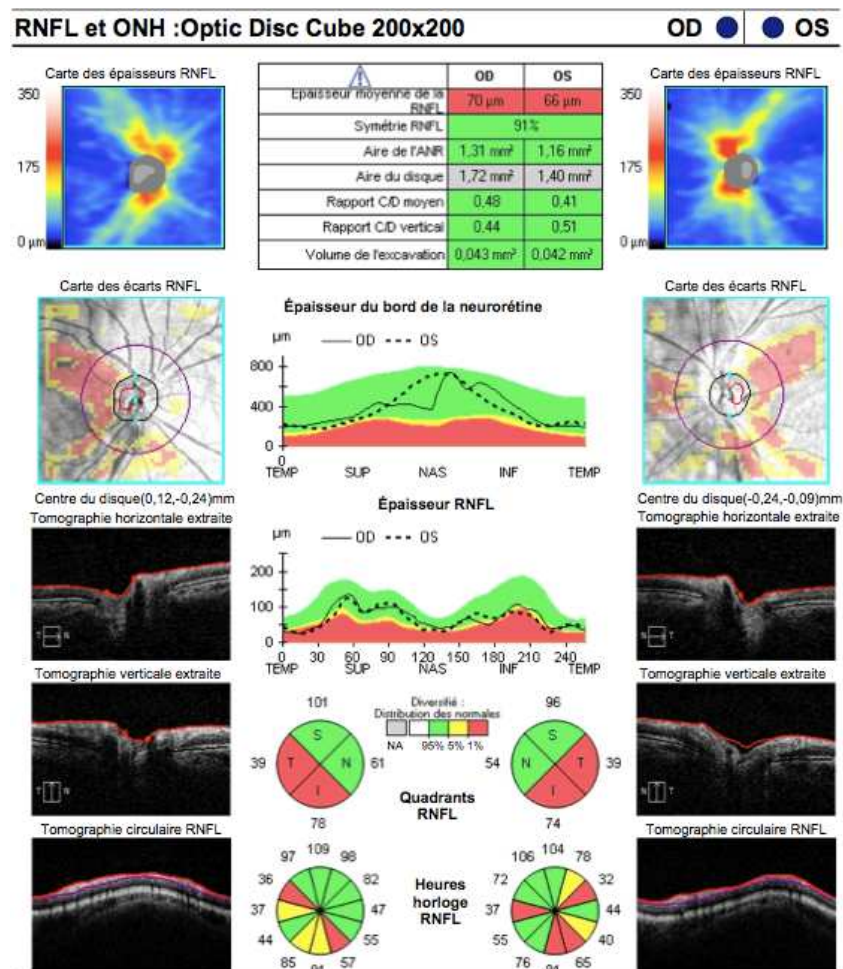


Figure 3 : OCT RNFL péri-papillaire, Cirrus, Carl Zeiss: on constate un amincissement dans les quadrants temporal et inférieur aux 2 yeux

Il existe au cours des années une perte physiologique des fibres nerveuses rétiniennes ; l'étude de l'amincissement du RNFL moyen lié à l'âge chez les patients AOD et les patients sains n'a pas montré de différence significative entre les 2 groupes [10]. En revanche, il semble que cette perte affecte principalement les quadrants supérieur et inférieur, possiblement parce que le quadrant temporel enregistre déjà un contingent de fibres très diminué [10]. L'ensemble de ces conclusions laisse à penser que la perte en fibres nerveuses rétiniennes serait très précoce, dans les deux premières décades de vie, voire possiblement congénitale.

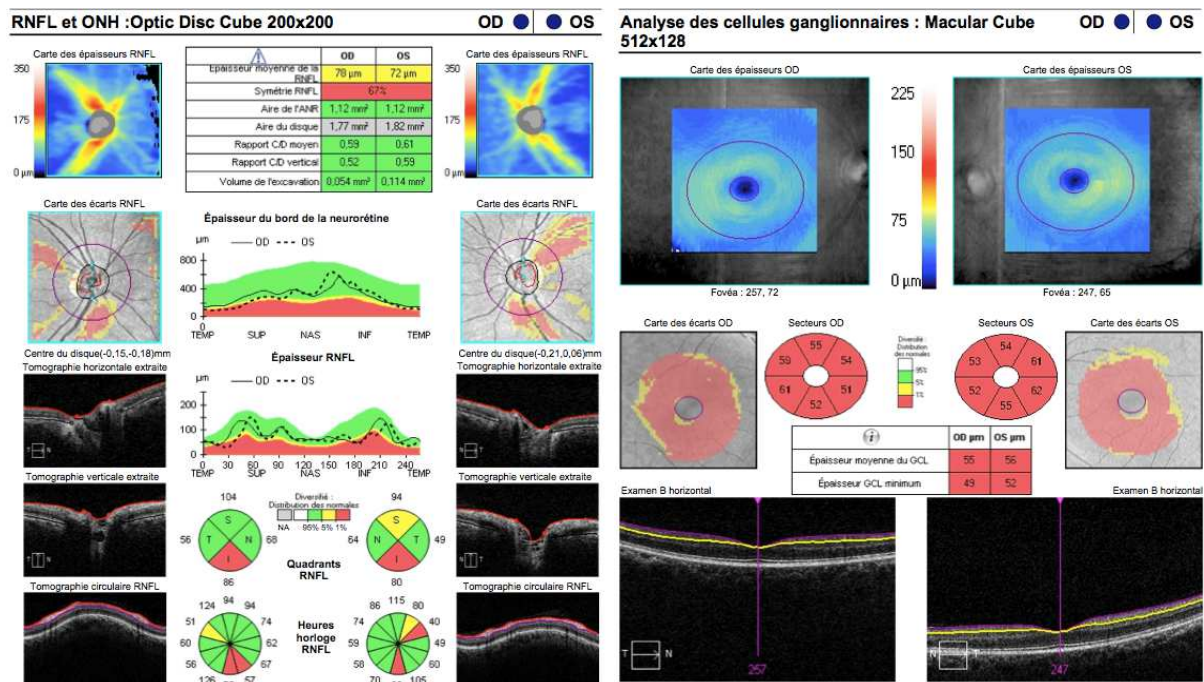


Figure 4 : OCT RNFL péri-papillaire et GCL maculaire, Cirrus, Carl Zeiss : l'épaisseur des fibres nerveuses rétiniennes est très abaissée de façon diffuse dans la région maculaire ; en péri-papillaire en revanche, l'atteinte se limite pour le moment au quadrant inférieur et temporel.

Le syndrome d'atrophie optique dominante ou AOD+

Des anomalies extra-ophtalmologiques sont retrouvées chez 20% des patients souffrant d'une AOD. L'atteinte visuelle chez ses patients est superposable à celles des formes AOD pures, mais semblerait néanmoins plus sévère [11].

La surdité neurosensorielle est l'atteinte extra-ophtalmologique la plus commune, diagnostiquée plus tardivement que l'atteinte visuelle, dans l'adolescence ou au début de la vie adulte. L'atteinte auditive est progressive, symétrique, et la baisse d'audition est plus souvent minime à modérée, plus rarement sévère (1/3 cas) [12].

Les autres atteintes extra-ophtalmologiques sont essentiellement neurologiques : l'ophtalmoplégie externe progressive, l'ataxie, les neuropathies sensitivo-motrices, la paraplégie spastique, les « scléroses en plaques-like » (SEPL)... Enfin, l'analyse de biopsies musculaires chez certains patients AOD a retrouvé des *Ragged Red Fibers* et des fibres COX-, évocatrices d'une atteinte de type myopathie mitochondriale [12].

Biologie moléculaire

L'AOD (MIM# 165500) résulte d'une mutation du gène *OPA1* (MIM# 605290) dans 60 à 80% des cas, les autres cas étant secondaires à une mutation des gènes *OPA2* à *OPA8*. Le gène *OPA1* est localisé sur le chromosome 3q28-3q29, qui comporte 30 exons codants, dont 3 alternatifs (4, 4b et 5b) [13]. Il code pour une protéine d'environ 1000 acides aminés, localisée dans la membrane interne mitochondriale. Cette dynamine-GTPase est impliquée dans la dynamique mitochondriale et plus largement dans le maintien des fonctions mitochondriales.

A ce jour, plus de 300 mutations ont été mises en évidence ; elle se répartissent sur l'ensemble du gène mais prédominent sur le domaine GTPase, la région centrale dynamine et le domaine C-terminal [14] (Figure 5).

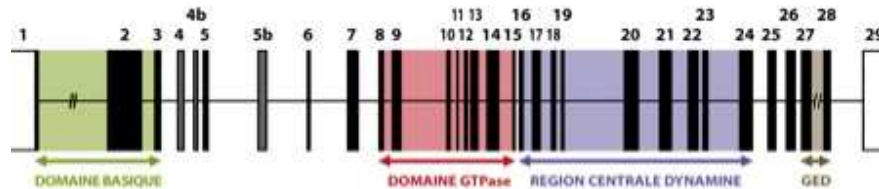


Figure 5 : Figure représentative du gène OPA1, extrait de l'article de Ferré et al (Hum Mutat, 2005)

La plupart des mutations d'OPA1 mènent à une situation d'haplo-insuffisance, conduisant à une réduction de 50% de la quantité de protéines OPA1. De ce fait, les différentes mutations d'OPA1 ne présagent pas de la sévérité de l'atteinte, et les relations génotype-phénotype sont difficiles à établir. Les seules corrélations retrouvées à ce jour sont l'association des mutations faux-sens avec les AOD « plus », mais aussi avec des phénotypes sévères (définis par l'importance de l'amincissement du RNFL et du GCL) [10] et la fréquence augmentée de la mutation c.1334G>A (p.Arg445His) dans les AOD avec surdité [12]. La création d'une base de données clinique et moléculaire pourrait contribuer à la recherche de nouvelles corrélations.

Travail de thèse

Cette thèse est basée sur un article destiné à être publié dans un journal scientifique, et est organisée autour de trois chapitres. Tout d'abord, le sujet a été introduit dans ce premier chapitre en s'appuyant sur les données bibliographiques pour présenter les caractéristiques cliniques et moléculaires de l'AOD. Le travail de thèse est ensuite exposé dans le chapitre 2 sous la forme d'un article en langue anglaise. Enfin, une conclusion générale clôt cet exposé, et est suivie d'annexes, comportant des informations complémentaires.

Chapitre 2: Article en langue anglaise

The Locus-Specific Database for Mutations in *OPA1* Now Includes Advanced Patient's Clinical Data

Marc Ferré^{1,2*}, Angélique Caignard^{1,3}, Dan Milea^{1,3,4}, Stéphanie Leruez^{1,3}, Julien Cassereau^{1,5}, Patrizia Amati-Bonneau^{1,2}, Dominique Bonneau^{1,2}, Vincent Procaccio^{1,2}, and Pascal Reynier^{1,2}

¹CNRS 6214/INSERM 1083, Angers University, Angers, France

²Department of Biochemistry and Genetics, University Hospital, Angers, France

³Department of Ophthalmology, University Hospital, Angers, France

⁴Singapore National Eye Centre, Singapore Eye Research Institute, Duke-NUS, Singapore

⁵Department of Neurology, University Hospital, Angers, France

* Correspondence to Marc Ferré, Institut de Biologie en Santé, CHU d'Angers, 4 rue Larrey, 49933 Angers Cedex 9, France. Phone: +33 2 41 35 58 86; E-mail: marc.ferre@univ-angers.fr

Abstract

Introduction

Autosomal dominant optic atrophy (ADOA; MIM# 165500) is a genetically determined optic neuropathy characterized by a progressive bilateral decrease of visual acuity. Mutations in the optic atrophy 1 gene (*OPA1*; MIM# 605290) are responsible for about 60–80% of the cases of ADOA. The phenotypic presentations of patients carrying *OPA1* mutations are heterogeneous, and genotype-phenotype correlations are difficult to infer. Our objective in this project was to develop a clinicobiological database to characterize the spectrum of clinical phenotypes due to *OPA1* mutations.

Methods and Results

We have established a locus-specific database for *OPA1* using the Leiden Open-source Variation Database (LOVD). Contributors can submit a clinical and molecular description online, with respect of anonymous of the patient. A standardized description of the 31 clinical items and 26 molecular items is set up using drop-down lists with predefined variables

To date, the *OPA1* database contains 302 unique variants, and offers the possibility of a detailed description of the ophthalmological data of the patients including mean retinal nerve fiber layer (RNFL) and mean ganglion cell layer (GCL) thickness, as measured with optical coherence tomography (OCT). Features of hearing loss and neurological symptoms can also be recorded. As a test we have already successfully registered about 20 patients with full clinical data from our institution.

Conclusion

Larger submissions to the *OPA1* LSDB, which is part of the mitodyn.org (portal of database of genes incriminated in disorders involving mitochondrial dynamics), will allow a comprehensive analysis to address genotype-phenotype correlations.

Keywords: optic atrophy 1; *OPA1*; locus-specific database; LSDB; e*OPA1*

Introduction

Autosomal dominant optic atrophy (ADOA; MIM# 165500), the most frequent form of hereditary optic atrophy, was first described by Kjer in 1959 [1]. The worldwide frequency of the disease is estimated at 1/30,000 [15], and 1:10,000 in Denmark due to a founder effect [3;13]. The disease is generally diagnosed in early childhood and is characterized by a progressive bilateral decrease of visual acuity, blue-yellow dyschromatopsia or generalized color vision deficits, variable centrocecal, central or paracentral visual field defects, and temporal or diffuse optic nerve pallor with optic disc excavation [2]. ADOA is associated with a marked intra- and interfamilial clinical variability and an incomplete penetrance, estimated at about 90% in the familial forms of the disease [16]. In about 20% of cases extra-ocular neurological complications may occur [12].

Mutations in the optic atrophy 1 gene (*OPA1*; MIM# 605290), located on chromosome 3q28-q29, are responsible for about 60–80% of the cases of ADOA [17-20]. *OPA1*, which has 30 coding exons (including three alternative exons)[21], encodes a mitochondrial dynamin-related GTPase, an ubiquitously expressed protein[22,23], which is anchored to the mitochondrial inner membrane. The *OPA1* protein is involved in multiple functions, playing a key role in the fusion of mitochondria and thus in the organization of the mitochondrial network [22,23]. The other functions of the *OPA1* protein are related to oxidative phosphorylation and maintenance of membrane potential [24-26], maintenance of

mtDNA [27,28], and organization of cristae and control of mitochondrial apoptosis through the compartmentalization of cytochrome c [26,29].

Phenotype-genotype studies of optic atrophies have led to the identification of severe phenotypes, the so-called “ADOA plus” phenotypes, which associate *OPA1* mutations with syndromic forms of optic atrophy including sensorineural deafness (ADOAD; MIM# 125250)[12,30], and ataxia, myopathy, peripheral neuropathy and progressive external ophthalmoplegia [27,28,31-34] in up to 20% of the patients [12]. *OPA1*-related diseases have become so diverse since the initial description by Kjer [1] they now cover a broad clinical spectrum in children and in adults.

More than three hundred *OPA1* mutations, often family-specific, have been reported (see <http://opa1.mitodyn.org/>). Most of these mutations result in the loss of function of the mutated allele involved in most cases of ADOA, supporting the notion that haploinsufficiency is the most likely pathomechanism of the disease [35]. In 2009, we have reported the results of the molecular screening for hereditary optic neuropathy in 980 patients referred over a four-year period to our laboratory [36]. The *eOPA1* database was originally published in 2005 [37], and contained only the published variants with references to the original publications. At the time, standardized nomenclature for sequence variants was not always utilized, or differed from the current naming. In addition, reference sequences were unmentioned, description of variants was unclear, and publications lacked information on genomic positions. Since the original publication of the database, several new causative variants have been published or directly submitted without publication. This database

focused on a list of pathogenic variants, in the absence of available clinical data. But today, after more than a thousand patients who have been diagnosed in the laboratory [36], we are aware that there is a gap between genotyping and the phenotypic expression of ADOA.

With these considerations in mind, we aimed to evolve from a purely molecular database into a clinicobiological database. Our objectives in this project were to update the *eOPA1* Locus Specific DataBase (LSDB), and also adding with detailed neuro-ophthalmological clinical data. Thus, our LSDB aims to collect all the *OPA1* mutations incriminated in disorders involving mitochondrial dynamics and bioenergetics, with a full record of clinical, electrophysiological and biochemical data. We here describe the construction of the database, the procedure for data submission, and the presentation of the data.

Materials and methods

The original eOPA1 database published in 2005 [37] was used as the starting point.

Nomenclature of the mutations

All names, symbols, and OMIM numbers were checked to see if they corresponded to the current official names given by the HUGO Gene Nomenclature Committee [38] and Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM® database [39,40]. Updated information about the genomic variants was also collected from the literature, using the NCBI PubMed search tool [41], and included into the database.

The *OPA1* mutations are described according to the *OPA1* transcript variant 8 (RefSeq: NM_130837.2), representing the longest transcript. This variant (8), based on an alternate splice pattern characterized by Delettre et al.[21], contains two additional exons, 4b and 5b, compared to transcript variant 1, the original transcript identified. It however, maintains the same reading frame and encodes an isoform (8) of 1015 amino acids (AA). The exons are numbered 1–30, instead of 1–4, 4b, 5, 5b, 6–28 as it was originally proposed by Dr. Delettre and colleagues [22]. Nevertheless, we added three columns to describe variants with nomenclature according to variant 1 (*DNA change/variant 1*, *Exon/variant*, and *Protein/isoform 1*) to maintain historical compatibility. The nucleotide numbering reflects cDNA numbering with +1 corresponding to the A of the ATG translation initiation codon in the reference sequence, according to the recommendations of the Human Genome Variation Society: <http://www.hgvs.org/mutnomen> [42,43]. The initiation codon is codon 1.

RNA level changes were added from original papers, or deduced from DNA if not experimentally studied. According to by HGVS guidelines, deduced changes were given between brackets.

Variant data collection

The nomenclature of all causative variants in the original eOPA1 database, published in 2005 [37], was reexamined. New causative variants were also searched and collected from the literature, using the NCBI PubMed search tool [41].

The position and adjacent sequence of each poorly localizable variant was checked from the original article. Positions for variants in reference transcripts were determined and updated according to the current Human Genome Variation Society nomenclature [42,43] (<http://www.hgvs.org/mutnomen>). Correct naming at the nucleotide and protein level was verified and reevaluated, if needed, using the batch interface for the Mutalyzer 2.0.beta-21 *Name Checker* [44] (<https://mutalyzer.nl/batchNameChecker>). Genomic positions were determined using the batch interface for the Mutalyzer 2.0.beta-21 *Position Converter* (<https://mutalyzer.nl/batchPositionConverter>). Exon numbering was updated to correspond to longest reference sequence (transcript variant 8), rather than the originally identified (transcript variant 1).

Information on the number of patients carrying each causative variant, as well as their nationality, and the homo- or heterozygosity for the sequence variant, was determined from both original or review papers, and data gathered from our ophthalmology consultation. Additional information on the genetic origin of the allele, segregation with the

disease phenotype, and frequency data in the control population were collected. Functional study results were also looked for. The NCBI *Variation Reporter* tool (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/reporter>) was used to identify known variants, and to get reference SNP (rs) numbers for our database. Single nucleotide changes, not present in the NCBI dbSNP database, were submitted to that database as clinical variants (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/transNP/VarBatchSub.cgi>), to retrieve their numbers.

The criteria of pathogenicity, dependent on the clinical context and molecular findings, are stated in the *Variant data* fields: *Reported pathogenicity* and *Concluded pathogenicity* (Figure 6b). Putative novel mutations detected in affected patients must segregate according to disease status and not be present in control individuals. Putative mutations are graded according to type of mutation: frameshift and nonsense mutations are considered to be pathogenic; missense mutations are described as being of unknown pathogenicity when detected in single families, or as probably pathogenic when detected in a group of families; the mutations are considered to be pathogenic when so proven by experimental evidence or detected in multiple families.

Then, as new patients are added with existing mutations, the status of mutations is reviewed by a Variant Curation Committee. This committee consists of molecular biologists, geneticists, neurologists and ophthalmologists and meets twice a year to reassess the variants on the basis of new patient data submitted.

Database implementation

A major task was to provide a user-friendly way to submit, curate and share variants, which we accomplished by transferring the database to the *Leiden Open Variation Database* (LOVD) platform [45,46], following the guidelines for locus-specific databases [47]. The database implementation is based on the LOVD v.2.0 Build 35 [45,46]; the hosting is done on our servers together with the database *GDAP1* gene which we ensure the curation [48].

This database includes a total of 31 clinical items and 22 variant items. Figure 6 shows a typical entry. A standardized description of the clinical and molecular items is set up using drop-down lists or list boxes with predefined variables. The clinical features are based on a larger panel of symptoms encountered in mitochondrial diseases.

The data is openly accessible and should prove a valuable tool for clinicians and researchers alike since it will contain published as well as unpublished sequence variants. Contributors can submit their variants online to the database after registering for a login and password. This contact information is collected for reference purposes and clarification of the data submitted. Variations submitted directly to the LSDB are rechecked with these tools.

The *OPA1* database reviews the clinical and molecular data of patients carrying *OPA1* mutations published in peer-reviewed literature, as well as unpublished contributions that may be directly submitted. While most variants can be described in terms of the latest update of the standard nomenclature [43,49], some inaccuracies may persist because gene anomalies discovered earlier might have been named according to a convention now out of use. Eventually, the DNA published field of the page dedicated to each variant (Figure 6b) indicates whether the published name of the mutation has been modified by the curator.

The *OPA1* LSDB website requires absolute compliance with the rules set out below to describe sequence variants in order to provide uniform and comparable data.

a

Patient data (#000522)	
Gender	Male
Disease	ADOA
Age of onset	11-20 years
Age at last examination	23 years
Duration of disease	< 11 years
Affected relatives	Yes
Additional features	-
Visual acuity	OD: Moderately impaired vision (Log MAR: 0.2-0.1), OS: Severely impaired vision (Log MAR: 0.9-0.3)
Evolution of vision loss	Unknown
Optic disc	OD: Temporal pallor, OS: Temporal pallor
Cupping	OD: [0-0.4], OS: [0-0.4]
Color vision	OD: Normal, OS: Normal
Visual field	OD: Type: Humphrey/Octopus automated perimetry, OD: MD: [0 to -4], OD: Result: Central scotoma, OS: Type: Humphrey/Octopus automated perimetry, OS: MD: [0 to -4], OS: Result: Central scotoma
OCT	OD: Mean RNFL: Thinning in 2 or more quadrants, OD: Mean GCL: Mean average GCL thickness thinner, OS: Mean RNFL: Thinning in 2 or more quadrants, OS: Mean GCL: Mean average GCL thickness thinner, Device: Cirrus
Visual handicap	D: Able to drive, F: Able to eat, cook and buy food without help, SL: No difficulty at all
Hearing loss	No
Pure tone audiometry	-
Auditory brainstem responses	-
Otoacoustic emission	-
Functional disability	-
Clinical score	-
Electroneuromyography	-
Histology	Muscle biopsy: Not performed, Nerve biopsy: Not performed
Brain imaging	-
Habits	Tobacco: Occasionally, Alcohol: Occasionally
Geographic origin	France
Reference	France:Angers
Remarks	-
# Reported	1
Submitter	Angelique Caignard

b

Variant data	
Allele	Unknown
Reported pathogenicity	Pathogenic
Concluded pathogenicity	Unknown
DB-ID	OPA1_00207
DNA change (cDNA)	c.2635C>T (View in UCSC Genome Browser , Ensembl)
Type	Substitution
Location	Exon
Exon	26
Affected domain	Dynamin Central (exons 18-26)
RNA change	-
Protein	p.(Arg879*)
Reference	Ferre et al. (2009)
Technique	SEQ
Template	DNA
Tissue	Blood
Re-site	-
DNA change/variant 1	NM_015560.1:c.2470C>T
Exon/variant 1	24
Protein/isoform 1	NP_056375.1:p.(Arg824*)
DNA published	-
Variant remarks	eOPA1 identifier (obsolete):OA_00216; Nucleotide change: C to T at 2470 (reference: OPA1 transcript variant 1, NM_015560.1)
Frequency	-

Figure 6: Sample record in the *OPA1* database. a: clinical items; and b: molecular items.

Results and discussion

The database contains two independent tables, visible on the display of a typical web page entry: one for the molecular data (figure 6a) and the other for clinical data (figure 6b).

Molecular data

To date, the *OPA1* database contains 302 unique variants; 241 of which are considered as pathogenic sequence variants, 48 of which are considered as non-pathogenic sequence variants (NPSV), and the remaining with an unknown effect. Pathogenic mutations, which affect the coding sequence of the gene, are more frequently found in exon 11 (17 mutations) and exons 16, 19 and 22 (15 mutations each) (Figure 7a). The most frequent mutational protein consequences are missense mutations observed in 26% of the cases. In addition, 16% frameshifts, 14% nonsense, 12% complex and 7% deletion mutations have also been reported (Figure 7b).

Whereas few mutations are recurrent, some have been frequently reported: the c.2873_2876del mutation with consequence p.(Val958Glyfs*3) reported five times.

Among all the pathogenic variants mentioned in the database, more than two third are located in the Dynamin-GTPase domains of the protein (Figure 7c), highlighting the important role of these domains in protein function.

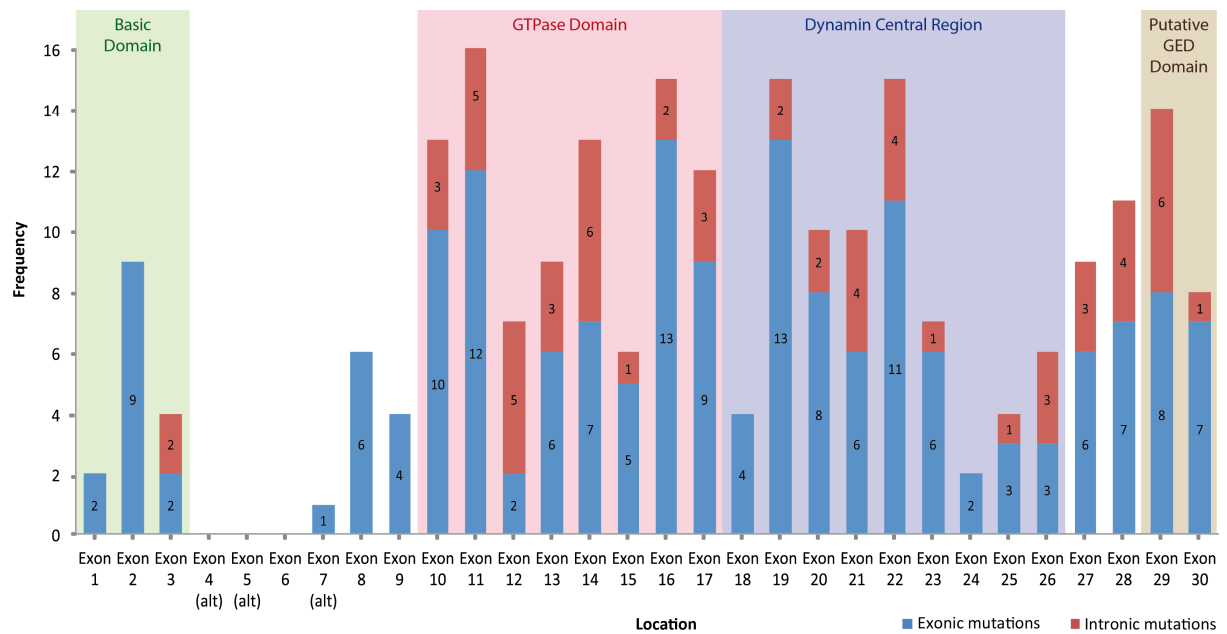


Figure 7. Distribution of the 233 pathogenic mutations in the *OPA1* gene. Six large deletion are excluded: c.1-?_3048+?del (whole gene), c.1-?_2983+?del (almost the whole gene), c.1-?_678+?del (exons 1–6), c.1036-?_1149+?del (exon 11), c.2013-?_2178+?del (exon 22), and c.2521-?_2661+?del (exon 26); and two large duplication: c.33-?_2983+?dup (almost the whole gene), and c.844-?_1149+?dup (exons 9–11). Data from Mitodyn.org updated in June 07, 2014. **a:** exons involved in the mutations are shown as blue bars; the mutations in the intronic neighbourhood of the exons are shown as red bars; **b:** type; and **c:** domain. alt: alternative exon; bp: base pairs.

Clinico-ophthalmological data

To date, the database includes 328 patients (15 females, 19 males and 294 not specified): 270 with isolated ADOA, 6 with ADOA “plus”, and 3 with ADOAD. The database shows the clinical data for 35 patients reported, as well as data in the remaining 293 patients, retrieved by the curator from previous publications.

Clinical information includes the age of the first visual symptoms, the best corrected visual acuity, visual field parameters, and both mean retinal nerve fiber layer (RNFL) and mean ganglion cell layer (GCL) thickness, as measured with optical coherence tomography (OCT). Visual acuity is expressed using the LogMAR chart, the de facto standard in research: Excellent vision is defined as LogMAR < 0.1; moderately impaired vision as LogMAR 0.2–0.1; severely impaired vision as LogMAR 0.9–0.3; and profound visual loss as LogMAR > 0.9. The OCT data is recorded together with mean RNFL and GCL thickness due to the heterogeneity of the measures between devices. The visual handicap items refer to the consequence of visual loss, i.e. ability for driving, feeding, social life and working.

The evolution of vision loss since diagnosis (defined as “worsening” if loss of two or more decimal lines; improvement if gain of two or more decimal lines, stable in between those two situations) can be recorded. as well as the presence of affected relatives genetically confirmed can be indicated. The features of hearing loss are detailed allowing further quantitative analysis, including pure tone audiometry, auditory brainstem responses and otoacoustic emission.

A standardized description of the clinical and molecular items is set up using drop-down lists with predefined variables. We specifically propose list widgets, which address neuroophthalmic features, without a free-text option. However the submitter has the

possibility to interact with the expert curator, for appropriate submissions. A dedicated field (non public) has been designed for this purpose. All submission are signed and are not anonymous, but it relates to a process of curation, or if necessary interaction. As a test we have already successfully registered about 20 patients with full clinical data from our institution. Our interim analysis of the limited entered data does not allow us yet to affirm genotype- phenotype correlations, but we hope that larger submissions will allow a comprehensive analysis in large numbers of cases.

A few patients referred to our database with an *OPA1* mutation also carried a mutation in the *GDAP1* gene (internal data, not yet published). Our database is allowed to report such cases of multiple gene mutations. The *OPA1* database is part of the MITOchondrial DYNamics variation portal (mitodyn.org), dedicated to disorders of mitochondrial dynamics, such as the gene *GDAP1* [48]. The mitodyn.org will therefore incorporate other genes involved in neurological diseases affecting mitochondrial dynamics and bioenergetics. Thus, we will then integrate *MFN2*, responsible for CMT2A2 [MIM# 609260] [50], and *DNM1L* associated with encephalopathy with lactic acidosis [MIM# 603850] [51]. Since the same patients may be affected by these different diseases involving mitochondrial dysfunction, the data collected should interest physicians and researchers alike. Eventually, we hope to be able to refine genotype-phenotype correlations in diseases involving mitochondrial dynamics by comparing and crosschecking the clinical, ophthalmological, electrophysiological and biochemical data recorded in the mitodyn.org databases.

Conclusion

In conclusion, our new *OPA1* LSDB, which is to our knowledge the only *OPA1* gene related clinic-biological database, is now ready to receive submission from other centers. We are preparing NGS screening and we will move to LOVD 3 as soon as an upgrade script will be available.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the patients' associations; we are grateful to (by alphabetic order): Association contre les Maladies Mitochondriales, Kjer France, Ouvrir les yeux, Retina France and Union Nationale des Aveugles et Déficients Visuels. We are grateful to Kanaya Malkani for critical reading and comments on the manuscript.

Chapitre 3: Discussion générale, conclusions et perspectives

Les troubles associés à la mutation du gène *OPA1* appartiennent à une nouvelle catégorie émergente de pathologies mitochondriales. En prenant compte de la diversité des phénotypes cliniques associés aux mutations *OPA1* et de la diversité des fonctions de ce gène, les pathologies associées au gène *OPA1* représentent un paradigme de la nouvelle catégorie émergente de maladies neurodégénératives liées à des défauts de plasticité mitochondriale.

L'étude des patients porteurs de mutations *OPA1* pathogènes a révélé une grande diversité de présentation clinique de l'AOD, et la mise en évidence de corrélations génotype-phénotype est un défi aux vues de la variabilité intra- et interfamiliale de son expression phénotypique. Si la capacité à fournir un pronostic visuel en fonction de la mutation retrouvée représente un intérêt notamment dans le cadre du conseil génétique, les difficultés précédemment décrites sont majorées par les manifestations hétérogènes individuelles de l'AOD+. Ces diverses manifestations multi-systémiques rencontrées dans les familles AOD+ et la remarquable variabilité de la pénétrance entre les porteurs d'un même variant suggèrent l'influence de facteurs secondaires modulateurs sur l'expression phénotypique de la mutation *OPA1*.

Cet article est donc la première étape d'un travail de recueil de données cliniques et moléculaires de patients *OPA1*, à une échelle nationale voire internationale. Nous espérons que les conclusions fournies par cette LSDB *OPA1* permettront à travers un second article clinique de mieux caractériser les AOD syndromiques, et d'établir d'éventuelles corrélations génotype-phénotype.

References

- [1] Kjer P. Infantile optic atrophy with dominant mode of inheritance: a clinical and genetic study of 19 Danish families. *Acta Ophthalmol Suppl* 1959;164(suppl):1–147.
- [2] Lenaers G, Hamel C, Delettre C, Amati-Bonneau P, Procaccio V, Bonneau D et al. Dominant optic atrophy. *Orphanet J Rare Dis*. 2012 9;7:46.
- [3] Kjer B, Eiberg H, Kjer P, Rosenberg T. Dominant optic atrophy mapped to chromosome 3q region. II. Clinical and epidemiological aspects. *Acta Ophthalmol Scand*. 1996;74:3-7.
- [4] Cornille K, Milea D, Amati-Bonneau P, Procaccio V, Zazoun L, Guillet V et al. Reversible Optic Neuropathy with *OPA1* Exon 5b Mutation. *Ann Neurol* 2008;63:667–671
- [5] Votruba M, Thiselton D, Bhattacharya S S. Optic disc morphology of patients with *OPA1* autosomal dominant optic atrophy. *Br J Ophthalmol*. 2003;87:48-53.
- [6] Barboni P, Carbonelli M, Savini G, Foscari B, Parisi V, Valentino ML et al. *OPA1* mutations associated with dominant optic atrophy influence optic nerve head size. *Ophthalmology*. 2010;117:1547-53.
- [7] Barboni P, Savini G, Parisi V, Carbonelli M, La Morgia C, Maresca A et al. Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Dominant Optic Atrophy. Measurements by Optical Coherence Tomography and Correlation with Age. *Ophthalmology*. 2011;118:2076–2080
- [8] Ito Y, Nakamura M, Yamakoshi T, Lin J, Yatsuya H, Terasaki H. Reduction of Inner Retinal Thickness in Patients with Autosomal Dominant Optic Atrophy Associated with *OPA1* Mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:4079-86.
- [9] Barboni P, Savini G, Cascavilla ML, Caporali L, Milesi J, Borrelli E. Early macular retinal ganglion cell loss in dominant optic atrophy: genotype-phenotype correlation. *Am J Ophthalmol*. 2014 pii: S0002-9394(14)00323-7. doi: 10.1016/j.ajo.2014.05.034. [Epub ahead of print]
- [10] Milea D, Sander B, Wegener M, Jensen H, Kjer B, Martini Jørgensen T, et al. Axonal loss occurs early in dominant optic atrophy. *Acta Ophthalmol*. 2010;88:342–346.
- [11] Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Gorman GS, Lourenco CM, Wright AF, Auer-Grumbach M. Multi-system neurological disease is common in patients with *OPA1* mutations. *Brain* 2010;133; 771–786.

- [12] Leruez S, Milea D, Defoort-Dhellemmes S, Colin E, Crochet M, Procaccio V, et al. Sensorineural hearing loss in OPA1-linked disorders. *Brain*. 2013;136(Pt 7):e236.
- [13] Eiberg H, Kjer B, Kjer P, Rosenberg T. Dominant optic atrophy (OPA1) mapped to chromosome 3q region. I. Linkage analysis. *Hum Mol Genet*. 1994;3:977-80.
- [14] Amati-Bonneau P, Milea D, Bonneau D, Chevrollier A, Ferré M, Guillet V. OPA1-associated disorders: Phenotypes and pathophysiology. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009;41:1855-65.
- [15] Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Burke A, Sellar PW, Clarke MP, Gnanaraj L et al. The prevalence and natural history of dominant optic atrophy due to OPA1 mutations. *Ophthalmology*. 2010;117:1538-46.
- [16] Cohn AC, Toomes C, Potter C, Towns KV, Hewitt AW, Inglehearn CF et al. Autosomal dominant optic atrophy: penetrance and expressivity in patients with OPA1 mutations. *Am J Ophthalmol*. 2007;143:656-62.
- [17] Alexander C, Votruba M, Pesch UE, Thiselton DL, Mayer S, Moore A et al. OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Nat Genet*. 2000;26:211-5.
- [18] Amati-Bonneau P, Guichet A, Olichon A, Chevrollier A, Viala F, Miot S et al. OPA1 R445H mutation in optic atrophy associated with sensorineural deafness. *Ann Neurol*. 2005;58:958-63.
- [19] Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P et al. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet*. 2000;26:207-10.
- [20] Kjer P, Jensen OA, Klinken L. Histopathology of eye, optic nerve and brain in a case of dominant optic atrophy. *Acta Ophthalmol.(Copenh)* 1983;61:300-12.
- [21] Delettre C, Griffoin JM, Kaplan J, Dollfus H, Lorenz B, Faivre L et al. Mutation spectrum and splicing variants in the OPA1 gene. *Hum Genet*. 2001;109:584-91.
- [22] Delettre C, Lenaers G, Pelloquin L, Belenguer P, Hamel CP. OPA1 (Kjer type) dominant optic atrophy: a novel mitochondrial disease. *Mol Genet Metab*. 2002;75:97-107.
- [22] Olichon A, Guillou E, Delettre C, Landes T, Arnaune-Pelloquin L, Emorine LJ et al. Mitochondrial dynamics and disease, OPA1. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1763:500-9.

- [24] Amati-Bonneau P, Guichet A, Olichon A, Chevrollier A, Viala F, Miot S et al. OPA1 R445H mutation in optic atrophy associated with sensorineural deafness. *Ann Neurol*. 2005;58:958-63.
- [25] Lodi R, Tonon C, Valentino ML, Iotti S, Clementi V, Malucelli E et al. Deficit of in vivo mitochondrial ATP production in OPA1-related dominant optic atrophy. *Ann Neurol*. 2004; 56:719-23.
- [26] Olichon A, Baricault L, Gas N, Guillou E, Valette A, Belenguer P et al. Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis. *J Biol Chem*. 2003;278:7743-6.
- [27] Amati-Bonneau P, Valentino ML, Reynier P, Gallardo ME, Bornstein B, Boissiere A et al. OPA1 mutations induce mitochondrial DNA instability and optic atrophy 'plus' phenotypes. *Brain*. 2008;131(Pt 2):338-51.
- [28] Hudson G, Amati-Bonneau P, Blakely EL, Stewart JD, He L, Schaefer AM et al. Mutation of OPA1 causes dominant optic atrophy with external ophthalmoplegia, ataxia, deafness and multiple mitochondrial DNA deletions: a novel disorder of mtDNA maintenance. *Brain*. 2008;131(Pt 2):329-37.
- [29] Frezza C, Cipolat S, Martins de Brito O, Micaroni M, Beznoussenko GV, Rudka T et al. OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. *Cell*. 2006;126:177-89.
- [30] Amati-Bonneau P, Odent S, Derrien C, Pasquier L, Malthiery Y, Reynier P et al. The association of autosomal dominant optic atrophy and moderate deafness may be due to the R445H mutation in the OPA1 gene. *Am J Ophthalmol*. 2003;136:1170-1.
- [31] Hoyt CS. Autosomal dominant optic atrophy. A spectrum of disability. *Ophthalmology*. 1980;87:245-51.
- [32] Meire F, De Laey JJ, de Bie S, van Staey M, Matton MT. Dominant optic nerve atrophy with progressive hearing loss and chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO). *Ophthalmic Paediatr Genet*. 1985;5:91-7.
- [33] Payne M, Yang Z, Katz BJ, Warner JE, Weight CJ, Zhao Y et al. Dominant optic atrophy, sensorineural hearing loss, ptosis, and ophthalmoplegia: a syndrome caused by a missense mutation in OPA1. *Am J Ophthalmol*. 2004;138:749-55.
- [34] Treft RL, Sanborn GE, Carey J, Swartz M, Crisp D, Wester DC et al. Dominant optic atrophy, deafness, ptosis, ophthalmoplegia, dystaxia, and myopathy. A new syndrome. *Ophthalmology*. 1984;91:908-15.

- [35] Pesch UE, Leo-Kottler B, Mayer S, Jurklics B, Kellner U, Apfelstedt-Sylla E et al. OPA1 mutations in patients with autosomal dominant optic atrophy and evidence for semi-dominant inheritance. *Hum Mol Genet.* 2001;10:1359-68.
- [36] Ferre M, Bonneau D, Milea D, Chevrollier A, Verny C, Dollfus H et al. Molecular screening of 980 cases of suspected hereditary optic neuropathy with a report on 77 novel OPA1 mutations. *Hum Mutat.* 2009;30:E692-705.
- [37] Ferre M, Amati-Bonneau P, Tourmen Y, Malthiery Y, Reynier P. eOPA1: an online database for OPA1 mutations. *Hum Mutat.* 2005;25:423-8.
- [38] Gray KA, Daugherty LC, Gordon SM, Seal RL, Wright MW, Bruford EA. Genenames.org: the HGNC resources in 2013. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(Database issue):D545-52.
- [39] Hamosh A, Scott AF, Amberger J, Valle D, McKusick VA. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). *Hum Mutat.* 2000;15:57-61.
- [40] Hamosh A, Scott AF, Amberger JS, Bocchini CA, McKusick VA. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders. *Nucleic Acids Res.* 2005;33(Database issue):D514-7.
- [41] Sayers EW, Barrett T, Benson DA, Bolton E, Bryant SH, Canese K, Chetvernin V, Church DM, Dicuccio M, Federhen S and others. 2010. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res* 38(Database issue):D5-16.
- [42] den Dunnen JT, Antonarakis SE. Nomenclature for the description of human sequence variations. *Hum Genet.* 2001;109:121-4.
- [43] den Dunnen JT, Paalman MH. Standardizing mutation nomenclature: why bother? *Hum Mutat.* 2003;22:181-2.
- [44] Wildeman M, van Ophuizen E, den Dunnen JT, Taschner PE. Improving sequence variant descriptions in mutation databases and literature using the Mutalyzer sequence variation nomenclature checker. *Hum Mutat.* 2008;29:6-13.
- [45] Fokkema IF, den Dunnen JT, Taschner PE. LOVD: easy creation of a locus-specific sequence variation database using an "LSDB-in-a-box" approach. *Hum Mutat.* 2005;26:63-8.

[46] Fokkema IF, Taschner PE, Schaafsma GC, Celli J, Laros JF, den Dunnen JT. LOVD v.2.0: the next generation in gene variant databases. *Human mutation*. 2011;32:557-63.

[47] Vihinen M, den Dunnen JT, Dagleish R, Cotton RG. Guidelines for establishing locus specific databases. *Hum Mutat*. 2012;33:298-305.

[48] Cassereau J, Chevrollier A, Bonneau D, Verny C, Procaccio V, Reynier P et al. A locus-specific database for mutations in GDAP1 allows analysis of genotype-phenotype correlations in Charcot-Marie-Tooth diseases type 4A and 2K. *Orphanet J Rare Dis*. 2011;6:87.

[49] den Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. *Hum Mutat*. 2000;15:7-12.

[50] Zuchner S, Mersiyanova IV, Muglia M, Bissar-Tadmouri N, Rochelle J, Dadali EL et al. Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Nat Genet*. 2004;36:449-51.

[51] Waterham HR, Koster J, van Roermund CW, Mooyer PA, Wanders RJ, Leonard JV. A lethal defect of mitochondrial and peroxisomal fission. *N Engl J Med*. 2007;356:1736-41.

Listes des figures

Figure 1: Fonds d'œil droit et gauche d'un patient atteint d'AOD

Figure 2: Champs visuels automatisés de Humphrey 30.2 de l'œil gauche et de l'œil droit

Figure 3: OCT RNFL péri-papillaire

Figure 4: OCT RNFL péri-papillaire et GCL maculaire

Figure 5: Diagramme représentatif du gène OPA1 et d'une partie des mutations provoquant une AOD+

Figure 6: Sample record in the OPA1 database. a: clinical items; and b: molecular items.

Figure 7: Distribution of the 233 pathogenic mutations in the OPA1 gene.

Table des matières

<u>Chapitre 1 : Introduction générale</u>	1
Présentation clinique de l'atteinte ophtalmologique	1
Le syndrome d'atrophie optique dominante ou <i>AODplus</i>	6
Biologie moléculaire.....	6
Travail de thèse.....	8
<u>Chapitre 2: Article en langue anglaise</u>	9
Introduction	9
Materials and methods	14
Nomenclature of the mutations.....	14
Variant data collection	15
Database implementation	17
Results and discussion.....	19
Molecular data	19
Clinico-ophthalmological data.....	21
Conclusions	23
<u>Chapitre 3: Discussion générale, conclusions et perspectives</u>	24
Références bibliographiques	26
Listes des figures	31
Table des matières	32
Annexes	33

Annexe 1 : Tableau récapitulatif de la description clinique de 18 patients angevins

Identifiant	Sexe	Age de début	Age au dernier examen	Existence d'un parent atteint	Pathologies associées	Meilleure acuité visuelle		Déficit du champ visuel		Valeur du MD		Aspect du nerf optique		Rapport c/d	Vision des couleurs	OCT RNFL	OCT GCL
						Od	Og	Od	Og	Od	Og	Od	Og				
ANG2013#1	M	7	50	2	SEPL, DN	3	2	2	3	2	2	2	2	2	5	7	3
ANG2013#2	F	X	28	1	X	3	3	3; 4	3; 4	3	2	2; 4	2; 4	1	5	7	X
ANG2013#3	F	3	66	1	Cata, OI	3	4	3; 4	5	3	4	3; 5	3; 5	1	X	7	X
ANG2013#4	F	6	52	1	X	2	2	2; 4	1	2	2	2; 5	1; 5	1	X	7	X
ANG2013#5	F	X	22	1	X	3	3	2; 4	3; 4	3	3	3; 5	3	1	X	7	X
ANG2013#6	M	5	21	2	X	3	3	2; 4	4	3	3	2; 5	2; 4	1	5	7	3
ANG2013#7	M	7	55	2	Diab, HTA	4	4	5	2	2	3	2	2	X	X	X	X
ANG2013#8	M	7	34	X	X	4	4	2	5	3	4	3	3	1	5	7	X
ANG2013#9	F	4	12	1	X	3	3	3	3	X	X	0	0	X	5	X	X
ANG2013#10	F	4	12	1	X	4	4	3	3	X	X	0	0	X	5	X	X
ANG2013#11	F	3	5	2	X	4	4	X	X	X	X	2	2	1	5	X	X
ANG2013#12	M	3	6	2	X	3	3	X	X	X	X	3	3	X	X	X	X
ANG2013#13	M	8	53	1	X	4	4	X	X	X	X	2	2	2	X	7	X
ANG2013#14	F	X	53	1	Diab, HTA, IR	3	3	2	2; 4	3	3	2; 5	2; 5	2	5	7	X
ANG2013#15	F	X	38	X	X	4	4	2; 4	2	3	3	3; 5	3; 5	2	X	7	X
ANG2014#1	M	5	68	1	HTA	4	4	2; 4	2; 4	3	3	2; 5	2; 5	2	X	7	3
ANG2014#2	F	1	50	1	X	2	2	1	4	2	3	2	2	1	1	3	3
ANG2014#3	M	5	23	1	X	2	3	3	3	2	2	2	2	1	1	7	3

Od : Œil droit, Og : Œil gauche, X : donnée inconnue, SEPL : sclérose en plaque *like*, DN : douleur neuropathique, Cata : cataracte, OI : obstruction intestinale, Diab : diabète, HTA : hypertension artérielle, IR : insuffisance rénale

Age de début des symptômes en années : 1 Asymptomatique, 2 [<1], 3 [1-5], 4 [6-10], 5 [11-20], 6 [21-30], 7 [31-40], 8 [41-50], 9 [>50]

Meilleure acuité visuelle en log MAR : 1 [<0.1], 2[0.2-0.1], 3[0.9-0.3], 4[>0.9]

Déficit du champ visuel : 1 Normal, 2 Scotome centrocaecal, 3 Scotome central, 4 Scotome paracentral, 5 Déficit temporel supérieur, 6 Déficit diffus

Valeur du MD (Mean Deviation) : 1 >0 , 2 [0 à -4], 3 [-4.01 à -12], 4 [-12.01 à -20], 5 <-20

Aspect du nerf optique : 1 Normal, 2 Pâleur temporale, 3 Pâleur diffuse, 4 : Croissant gris pigmenté temporel, 5 Atrophie péripapillaire

Rapport c/d (cup sur disc) : 1 [0-0.4], 2 [0.5-0.7], 3 [0.8-1]

Vision des couleurs : 1 Normale, 2 Tritanopie, 3 Protanopie, 4 Deutéranopie, 5 Déficit généralisé non systématisé

OCT RNFL (Retinal Nerve Fiber Layer) : 1 Non connu, 2 Normale, 3 Amincissement quadrant temporel seul, 4 Amincissement quadrant supérieur seul, 5 Amincissement quadrant inférieur seul, 6 Amincissement quadrant nasal seul, 7 Amincissement sur plus de 2 quadrants

OCT GCL (Ganglion Cell Layer) : 1 Non connu, 2 Normale, 3 Epaisseur moyenne diminuée

Annexe 2 : Analyse statistique des données cliniques réalisées sur 18 patients angevins

Sexe (n=18)		44% d'hommes, 55% de femmes
Age moyen du début des symptômes (n=14)		5 ans
Existence d'un parent atteint, prouvé génétiquement (n=16)		69% des patients
Pathologies associées (n=5)		- HTA n=3 - Diabète n=2 - Isolé : SEPL, DN, cata, IR, OI
Meilleure acuité visuelle (n=18)		83% d'atteinte sévère à très sévère (Log MAR ≥ 0.3)
Valeur du MD (n=13)	Od	62% [-4 à -12] 38% [0 à -4]
	Og	54% [-4 et -12] 31% [0 à -4]
Aspect du nerf optique (n=18)	Od	61% pâleur temporale isolée et 28% de pâleur diffuse 39% d'atrophie péripapillaire
	Og	56% pâleur temporale isolée et 28% de pâleur diffuse 28% d'atrophie péripapillaire
Rapport c/d du nerf optique (n=14)		64% non excavé (c/d < 0.5) 36% entre 0.5 et 0.7
Vision des couleurs (n=10)		80% de déficit généralisé non systématisé
OCT RNFL (n=13)		92% avec un amincissement sur plus de 2 quadrants 8% avec amincissement isolé en temporal
OCT GCL (n=5)		100% avec une épaisseur moyenne diminuée

Od : Œil droit, Og : Œil gauche, SEPL : sclérose en plaques *like*, DN : douleur neuropathique, Cata : cataracte, IR : insuffisance rénale, OI : obstruction intestinale, MD : Mean deviation, c/d : cup sur disc, RNFL : Rétinal Nerve Fiber Layer, GCL : Ganglion Cell Layer

PERMIS D'IMPRIMER

**THÈSE DE Mademoiselle CAIGNARD
Angélique**

Vu, le Directeur de thèse




Vu, le Président du jury de thèse



**Vu, le Doyen de la
Faculté de Médecine
d'ANGERS**




Professeur I. RICHARD

Vu et permis d'imprimer

Création d'une base de données spécifique des mutations *OPA1* pour l'analyse de corrélations génotype-phénotype dans l'atrophie optique dominante

RÉSUMÉ

Introduction

L'atrophie optique dominante (AOD) est une neuropathie optique dégénérative caractérisée par une baisse d'acuité visuelle bilatérale progressive, avec une prévalence de 1/30 000. Parmi les AOD, 50-60 % sont associées à une mutation du gène *OPA1*.

La présentation phénotypique des patients porteurs de la mutation *OPA1* est hétérogène ; chez environ 20 % des patients il existe des symptômes extra oculaires.

Le but de ce travail est de créer une base de données publique, accessible sur Internet, pour recenser les manifestations phénotypiques associées aux mutations du gène *OPA1*.

Matériel et méthodes

Nous avons conçu une base de données spécifique (*Locus-specific database*, LSDB) du locus *OPA1*, en utilisant le logiciel Leiden Open-Source Variation Database (LOVD). Elle permet d'enregistrer de façon anonyme la description clinique et moléculaire détaillée d'un patient, à laquelle seront rattachés un ou plusieurs variants. La description clinique est standardisée grâce à un formulaire web, comprenant 31 items cliniques/paracliniques dont 26 items ophtalmologiques.

Résultats

Notre LSDB répertorie à ce jour 302 variants pathogènes et non pathogènes du gène *OPA1*. Les données cliniques ophtalmologiques recueillies regroupent l'acuité visuelle, le fond d'œil, l'atteinte du nerf optique et le handicap visuel. Les autres informations concernent les modes de vie et les éventuelles atteintes neurologiques ou auditives associées.

Conclusion

Notre LSBD *OPA1* de mitodyn.org., seule initiative de ce type à ce jour, devrait permettre une description exhaustive des mutations génétiques et des manifestations cliniques de l'AOD, afin d'affiner les corrélations génotypes-phénotypes dans les AOD.

MOTS-CLÉS

Atrophie optique dominante	AOD
Optic atrophy 1	OPA1
Locus-specific database	LSDB

FORMAT

Mémoire
 Article¹ : à soumettre soumis accepté pour publication publié
suivi par : Monsieur FERRÉ Marc

¹ statut au moment de la soutenance