

2m11. 2994.9

**Université de Montréal**

**UN ESSAI CLINIQUE AVEC LA DIMÉTHYLGLYCINE  
POUR LE TRAITEMENT D'ENFANTS PORTEURS D'UN  
DÉFICIT CONGÉNITAL EN CYTOCHROME C OXYDASE  
DE TYPE SAGUENAY-LAC-SAINT-JEAN**

**par**

**Jean-Michel Liet**

**Programme de Sciences biomédicales**

**Faculté de médecine**

**Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M.Sc.)  
en Sciences biomédicales**

**Décembre, 2001**

© **Jean-Michel Liet, 2001**



W  
4  
U58  
2002  
v.098

**Université de Montréal  
Faculté des études supérieures**

**Ce mémoire intitulé :**

**UN ESSAI CLINIQUE AVEC LA DIMÉTHYLGLYCINE POUR LE  
TRAITEMENT D'ENFANTS PORTEURS D'UN DÉFICIT  
CONGÉNITAL EN CYTOCHROME C OXYDASE DE TYPE  
SAGUENAY-LAC-SAINT-JEAN**

**présenté par :**

**Jean-Michel Liet**

**a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :**

**Isabel Fortin  
présidente-rapporteuse**

**Jacques Lacroix  
directeur de recherche**

**Baruch Toledano  
Codirecteur**

**membre du jury  
Marie Lambert**

**Mémoire accepté le : .....**

## RESUME EN FRANCAIS

**Objectif :** Evaluer l'intérêt de la diméthylglycine (DMG) sur la consommation en oxygène ( $VO_2$ ) des enfants avec un déficit congénital en cytochrome-c oxydase de type Saguenay-lac-Saint-Jean (SLSJ-COX).

**Méthode :** Dans un essai clinique randomisé à double-insu en chassé croisé, 5 enfants atteints (SLSJ-COX), suffisamment stables et âgés pour tolérer une mesure de leur  $VO_2$ , ont été traités par soit du placebo soit de la DMG pendant 3 jours, puis par le traitement alternatif après une période sans traitement de 2 semaines. La  $VO_2$  a été mesurée par calorimétrie indirecte avant et après l'administration de chaque traitement.

Les apports caloriques ont été calculés pendant 3 jours avant chaque mesure. La moyenne des apports caloriques journaliers était de 1562 et 1342 kcal.m<sup>-2</sup> avant et pendant placebo, 1336 et 1380 avant et pendant DMG.

**Résultats:** La DMG a été bien tolérée avec des taux sanguins qui sont passés de 0-2  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  à  $617 \pm 203 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Les  $VO_2$  moyennes étaient plus faibles après traitement que ce soit après DMG ( $-1 \pm 3 \text{ mL.min}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ), ou après placebo ( $-6 \pm 4$ ), avec des variations non statistiquement significatives. Aucun effet du traitement par DMG n'a pu être détecté sur les taux sanguins de lactate, pyruvate, bicarbonate ou pH. Les valeurs de  $VO_2$  de ces enfants (intervalle: 101-135  $\text{mL.min}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ) étaient plus basses que les normes publiées (150-160).

### MOTS-CLÉS:

enfant, adolescent, acidose lactique congénitale, déficit en cytochrome C oxydase, diméthylglycine, essai clinique, calorimétrie, maladie mitochondriale, acidose lactique congénitale.

## RESUME EN ANGLAIS

**The effect of short term dimethylglycine treatment on oxygen consumption in cytochrome oxidase deficiency: a double blind randomized crossover clinical trial**

**Objective:** To study the effectiveness of dimethylglycine (DMG) on oxygen consumption ( $\text{VO}_2$ ) in children with Saguenay-Lac-Saint-Jean cytochrome-*c* oxidase (SLSJ-COX) deficiency.

**Study design:** In this crossover randomized double-blind clinical trial, five children with SLSJ-COX deficiency, stable and old enough to comply with  $\text{VO}_2$  measurement, were treated with placebo or DMG for 3 days, and with the alternate treatment after a 2-week washout period.  $\text{VO}_2$  was measured by indirect calorimetry before and after treatment. Dietary caloric intake was calculated for 3 days before each measurement. Mean caloric intakes per day were 1562 and 1342 kcal.m<sup>-2</sup> before and during placebo, 1336 and 1380 before and during DMG.

**Results:** DMG was well tolerated and in all cases resulted in markedly increased blood DMG levels ( $617 \pm 203 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ), versus  $0-2 \mu\text{mol.L}^{-1}$  without treatment. Mean  $\text{VO}_2$  was lower following administration of either DMG ( $-1 \pm 3 \text{ mL.min}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ) or placebo ( $-6 \pm 4$ ), but neither difference was statistically significant. There was no detectable effect of DMG treatment on blood levels of lactate, pyruvate, bicarbonate or pH.  $\text{VO}_2$  values of patients (range: 101–135 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>) were lower than published norms (150-160).

**Conclusion:** This study suggests that treatment with DMG does not substantially change  $\text{VO}_2$  in children with SLSJ-COX deficiency.

### KEY WORDS:

Cytochrome-*c* oxidase; energy metabolism; calorimetry; controlled trial, randomized; crossover study; child, adolescent; acidosis, lactic; mitochondrial diseases.

# SOMMAIRE

## Bases du projet:

Le déficit congénital en cytochrome C oxidase, dont souffrent de nombreux enfants issus de familles originaires de la région du Saguenay-Lac Saint-Jean, provoque une insuffisance respiratoire cellulaire des organes où cet enzyme est déficient comme le foie, le cerveau et les muscles. A l'occasion d'une infection le plus souvent bénigne, ces enfants présentent une acidose lactique majeure conduisant le plus souvent au décès en quelques heures à quelques jours.

L'objectif de cette étude est de vérifier si l'on peut améliorer la respiration cellulaire de ces enfants en leur administrant de la N,N-diméthylglycine (DMG) susceptible de contourner le déficit enzymatique et de rechercher les effets sur leur consommation corporelle totale d'oxygène.

La DMG est déjà donnée en désespoir de cause par certains parents à leur enfant ayant un déficit congénital en cytochrome C oxidase, étant donné la mortalité élevée liée à la maladie et l'absence de traitement médical efficace. Il était important de savoir si cette molécule est réellement efficace car elle pourrait avoir des effets toxiques.

## Méthodes:

Dans un essai clinique randomisé à double-insu en chassé croisé, chaque enfant reçoit dans un ordre aléatoire soit du placebo, soit de la N,N-diméthylglycine (DMG). La consommation corporelle totale d'oxygène ( $VO_2$ ) est mesurée à l'aide d'un calorimètre (Deltatrac II), juste avant l'administration du premier produit (placebo ou DMG), puis 3 jours plus tard après son administration. Une période sans traitement de deux semaines permet l'élimination de l'effet éventuel du premier produit. Ensuite, la  $VO_2$

est mesurée à nouveau avant et après le second traitement (DMG ou placebo). La différence entre la  $VO_2$  avant et après le placebo est comparée à la différence entre la  $VO_2$  avant et après la DMG.

### Résultats:

Les données brutes semblent indiquer chez les enfants souffrant d'un déficit congénital en cytochrome C oxydase du type Saguenay-Lac-Saint-Jean qu'il pourrait y avoir des différences de consommation corporelle totale d'oxygène selon qu'ils recevaient du placebo ou de la N,N-diméthylglycine. Cependant ces différences ne sont pas significatives et l'analyse des facteurs de confusion a permis de mettre en évidence que les faibles variations de la consommation d'oxygène observées peuvent être liées aux variations des apports caloriques.

Seulement 5 enfants ont pu être inclus dans cet essai. Il était difficile d'inclure plus d'enfants, homogènes pour cette maladie rare, suffisamment stables cliniquement et suffisamment âgés pour se plier à la mesure de la  $VO_2$  par calorimétrie. Une erreur de type II (faux négatif) ne peut pas être totalement exclue. Toutefois, comme la variance observée est faible, cette étude était capable de détecter une augmentation de la consommation d'oxygène de l'ordre de  $16 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ .

Aucune bénéfice clinique n'a été observé. Les données de la littérature rapportent que la DMG est potentiellement toxique. En l'absence de toute efficacité prouvée, il n'est donc pas possible de recommander un tel traitement.

### Mots-clés:

enfant, adolescent, acidose lactique congénitale, déficit en cytochrome C oxydase, diméthylglycine, essai clinique, calorimétrie, maladie mitochondriale, acidose lactique congénitale.

## TABLE DES MATIÈRES

PAGE DE TITRE	
IDENTIFICATION DU JURY	
SOMMAIRE	page 3
TABLE DES MATIERES	page 5
LISTE DES TABLEAUX	page 6
LISTE DES FIGURES	page 8
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	page 9
REMERCIEMENTS	page 10

<b>CHAPITRE I:</b> PROTOCOLE	page 11
------------------------------	---------

<b>CHAPITRE II:</b> RESULTATS	page 18
-------------------------------	---------

<b>CHAPITRE III:</b> PUBLICATIONS	page 26
-----------------------------------	---------

<b>CHAPITRE IV:</b> DISCUSSION ET CONCLUSION	page 53
--	---------

<b>ANNEXE :</b>	UN ESSAI CLINIQUE RANDOMISE A DOUBLE INSU SUR LE TRAITEMENT NON INVASIF DES BRONCHIOLITES GRAVES DUES AU VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL AVEC UN MELANGE OXYGENE-HELIUM.
-----------------	--



# LISTE DES TABLEAUX

## Chapitre II:

### TABLEAU 1.

POPULATION : DONNEES BIOLOGIQUES

### TABLEAU 2.

POPULATION : DONNEES MORPHOMETRIQUES ET APPORTS CALORIQUES.

### TABLEAU 3.

RESULTATS DE LA CALORIMETRIE INDIRECTE.

### TABLEAUX 4.

TAUX SANGUINS.

## Chapitre III:

### TABLEAU 1.

CHARACTERISTICS OF CHILDREN WITH SLSJ-COX INCLUDED IN THE STUDY

### TABLEAU 2.

OXYGEN CONSUMPTION ( $VO_2$ ), RESPIRATORY QUOTIENT (RQ) AND CALORIC INTAKE

### TABLEAU 3.

BLOOD pH, LACTATE, PYRUVATE, AND PLASMA BICARBONATE, DMG AND BETAINÉ LEVELS.

**Annexe:**

TABLEAU 1.

CALCUL DE LA TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

TABLEAU 2.

DONNÉES RELEVÉES AU COURS DE L'ÉTUDE

## LISTE DES FIGURES

### Chapitre III :

FIGURE 1.

ELECTRON TRANSPORT CHAIN

### Annexe :

FIGURE 1.

SCHEMA ILLUSTRANT LA STRUCTURE DE L'ETUDE

## LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

I: complexe I (NADH-CoQ réductase)

II: complexe II (succinate-CoQ réductase)

III: complexe III (ubiquinone-cytochrome-*c* réductase)

IV: complexe IV (cytochrome-*c* oxidase)

V: complexe V (ATPase)

ATP: adénosine 5'triphosphate

CO<sub>2</sub>: gaz carbonique

CoQ: coenzyme Q

COX: cytochrome *c* oxidase

C: cytochrome *c*

DCA: dichloroacétate

DMG: diméthylglycine

ETF: electron transfer flavoprotein

FAD: flavine adénine dinucléotide

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peroxyde d'hydrogène

PDH : pyruvate déhydrogénase

NAD : nicotinamide adénine dinucléotide

O<sub>2</sub> : oxygène

RQ : respiratory quotient (quotient respiratoire)

SLSJ-COX: Saguenay-Lac-Saint-Jean cytochrome *c* oxidase

RLDO: radicaux libres dérivés de l'oxygène

TO<sub>2</sub> : transport de l'O<sub>2</sub>

VO<sub>2</sub>: consommation d'oxygène

## REMERCIEMENTS

Au Docteur Jacques Lacroix qui m'a accueilli à Montréal et m'a permis de me former en recherche clinique, puis soutenu dans la réalisation d'une étude clinique qui aujourd'hui est en cours de part et d'autre de l'Atlantique et qui, je l'espère, permettra de contribuer à améliorer les soins que nous donnons aux enfants malades.

Au Docteur Baruch Tolédano qui a contribué par son enthousiasme et sa rigueur scientifique à l'avancement de mon travail de recherche clinique.

Aux différents chercheurs dont la participation a été essentielle à la réalisation de l'étude sur la DMG : Grant Mitchell, Véronique Pelletier, Brian Robinson, Charles Morin, Sylvain Morneau, Denis Lebel.

Aux familles des enfants atteints d'acidose lactique et originaires de la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean, dont le témoignage vivant de leur courage quotidien et leur attente des résultats de la recherche médicale m'ont porté dans l'avancement de ces travaux.

## CHAPITRE I: Protocole

### UN ESSAI CLINIQUE RANDOMISE A DOUBLE INSU EN CHASSE-CROISE AVEC LA DIMETHYLGLYCINE (DMG) POUR LE TRAITEMENT D'ENFANTS PORTEURS D'UN DEFICIT CONGENITAL EN CYTOCHROME C OXYDASE DE TYPE SAGUENAY-LAC-SAINT-JEAN

par Jean-Michel Liet\*, M.D., Grant Mitchell\*, M.D., Jacques Lacroix\*, M.D., Véronique Pelletier\*,  
M.D., Charles Morin†, M.D., Brian Robinson°, Ph.D., Denis Lebel&, Pharm.D., Sylvain Morneau¶, Inh.

\* Département de Pédiatrie, Université de Montréal et Groupe de Recherches Evaluatives, Cliniques et  
Epidémiologiques (GRECE), Centre de Recherches, Hôpital Sainte-Justine.

& Département de Pharmacie, Hôpital Sainte-Justine.

† Département de Pédiatrie, Hôpital de Chicoutimi.

° Department of Biochemical Genetics, Hospital for Sick Children, Toronto.

¶ Service d'inhalothérapie, Hôpital Sainte-Justine.

#### 1. REVUE DE LA LITTERATURE

La cytochrome C oxydase est une enzyme de la phosphorylation oxydative; un déficit entraîne un dysfonctionnement mitochondrial et une insuffisance respiratoire cellulaire. Plusieurs variétés de déficience congénitale en cytochrome oxydase sont connues [1]. Une variété a récemment été mise à jour

par des chercheurs cliniciens de la région du Saguenay Lac St-Jean en collaboration avec des médecins de l'Hôpital Sainte-Justine et du Hospital for Sick Children de Toronto [1-3]. Des études épidémiologiques ont permis de constater l'importance du problème dans la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean où 3 à 5 % de la population est porteuse du défaut génétique [1]. Cliniquement, ces patients ont des anomalies neurologiques discrètes, telles un retard psychomoteur modéré, de l'ataxie, du strabisme, une hypotonie, etc. [2]. Sur le plan biochimique, ils présentent continuellement une augmentation du taux sanguin d'acide lactique, mais ce taux est modérément élevé - environ deux fois la norme - et ne se traduit pas par une acidose lactique systémique très élevée tant que le patient ne présente pas une complication [2]. Les «crises acidotiques» entraînent une décompensation fulminante qui se termine au bout de quelques heures ou de quelques jours par un décès dans la majorité des cas - 11 cas sur 12 selon le groupe de Chicoutimi - [2]. A l'autopsie, le cerveau de ces enfants comporte des lésions qui ressemblent aux anomalies décrites dans le syndrome de Leigh [1]. Un traitement qui améliorerait la symptomatologie de ces patients ou qui permettrait de diminuer l'incidence de telles crises serait donc le bienvenu.

Le bon fonctionnement des cellules nécessitent une respiration cellulaire aérobie adéquate. Celle-ci se produit au niveau des mitochondries, par phosphorylation oxydative. Il en résulte une production d'ATP, molécule énergétique par excellence des cellules; en fait, 36 molécules d'ATP sur 38 proviennent de cette phosphorylation [4]. La phosphorylation oxydative est réalisée par une série d'enzymes mitochondriales, parmi lesquels figure la cytochrome oxydase. Normalement, les cellules répondent à une agression en augmentant leur «respiration», c'est-à-dire en accroissant leur production d'ATP par les mitochondries. La consommation d'oxygène, la respiration cellulaire et la production d'ATP des organes déficients, comme le foie, le cerveau et les muscles, sont déjà limitées chez les patients déficients en cytochrome oxydase, d'où l'hyperlactatémie qu'ils présentent tous continuellement, même lorsqu'ils ne sont pas en crise acidotique.

La N, N-diméthylglycine (DMG) pourrait rendre la respiration mitochondriale plus efficace. La DMG intervient dans le circuit respiratoire mitochondrial après le complexe I, au niveau de la Coenzyme Q [5]

et est vendue sur le marché de la médecine dite naturelle en tant qu'ingrédients de produits dénommés acide pangamique ou vitamine B15. Parce que cette molécule a la réputation d'améliorer l'extraction tissulaire en oxygène (sans fondement scientifique établi) et qu'elle n'est pas détectée par les tests antidopage de routine, des athlètes peu scrupuleux l'ont utilisée pour améliorer leur performance dans des courses d'endurance [6, 7].

Une étude pilote (non publiée) a montré la bonne tolérance de la DMG lors d'un traitement sur plusieurs semaines chez 5 enfants souffrant d'une AL-COX-SLSJ. Le taux sanguin des lactates avait tendance à diminuer ce qui pouvait laisser supposer un effet bénéfique sur le métabolisme aérobique. Sur ces éléments et du fait de l'absence de traitement efficace, quelques enfants souffrant d'une AL-COX-SLSJ ont été traités par DMG. Toutefois, l'absence d'effets secondaires d'un traitement prolongé par DMG est loin d'être établie. L'acide pangamique est responsable de complications oculaires et neurologiques et a des propriétés mutagènes chez l'animal [8-10]. Une étude complémentaire était donc nécessaire.

Pour évaluer l'intérêt de la DMG pour les enfants souffrant d'une AL-COX-SLSJ, nous avons souhaité étudier les effets de ce traitement sur leur consommation d'oxygène globale ( $VO_2$ ): la  $VO_2$  constituera la variable dépendante primaire de l'essai clinique. Nous nous intéresserons en outre à quelques variables secondaires. Nous vérifierons quels sont les effets de la DMG sur le taux sanguin de  $PCO_2$ , de bicarbonate, de lactate et de pyruvate, sur le ratio lactate/pyruvate et sur le quotient respiratoire ( $VCO_2/VO_2$ ) des enfants étudiés.

## 2. METHODES

Hypothèse : Nous émettons l'hypothèse que l'administration de N,N-diméthylglycine (DMG) améliorera la symptomatologie d'enfants souffrant d'une acidose lactique due à un déficit congénital en cytochrome C oxydase, forme du Saguenay-Lac-Saint-Jean (AL-COX-SLSJ).



Objectif : L'AL-COX-SLSJ provoque l'insuffisance respiratoire cellulaire des organes où cet enzyme est déficient, comme le foie, le cerveau et les muscles; cela entraîne dans tous les cas une hyperlactatémie persistante, ce qui devrait se traduire par une diminution de la consommation corporelle d'oxygène ( $VO_2$ ). L'objectif de l'étude est de vérifier si l'on peut améliorer la respiration cellulaire et la  $VO_2$ , telles qu'évaluées à l'aide d'un appareil Deltatrac II™, en administrant à des enfants souffrant d'une AL-COX-SLSJ de la DMG, une molécule susceptible de contourner le déficit enzymatique et de permettre une meilleure respiration cellulaire.

Population : Tous les enfants souffrant d'une AL-COX-SLSJ, suivis dans la province de Québec, qui sont assez âgés pour accepter une mesure de la  $VO_2$ , et qui ne sont pas en phase de décompensation métabolique, sont éligibles dans l'étude. Un consentement éclairé des parents, et lorsque c'est possible de l'enfant lui-même, est nécessaire pour l'inclusion.

Mesure de la  $VO_2$  : Le Deltatrac II™ (Datex Instrumentation, Helsinki, Finland) est un moniteur sophistiqué qui permet de mesurer la  $VO_2$ , la  $VCO_2$  et le quotient respiratoire (RQ) minute par minute chez des individus au repos. Ce moniteur permet de mesurer avec précision les volumes d'oxygène inspirés et expirés par un individu pendant une période donnée: la différence entre l'oxygène inspiré  $\{O_2 \text{ inspiré} = V_i \times FiO_2\}$  et l'oxygène expiré  $\{O_2 \text{ expiré} = V_e \times FeO_2\}$  rend compte de l'oxygène consommé  $\{VO_2 = O_2 \text{ inspiré} - O_2 \text{ expiré}\}$ .

Les moniteurs Deltatrac II™ utilisent un analyseur paramagnétique (OM-101, Datex) pour la détection de l'oxygène qui fonctionne en mesurant la pression partielle d'oxygène à l'inspiration et à l'expiration; il est donc facile de faire la différence entre les deux mesures ( $\Delta FO_2$ ). Le  $CO_2$  est mesuré par absorption infrarouge (CX-104, Datex). Il est aussi fondamental de mesurer le flux gazeux, puisque le volume d'oxygène échangé égale le flux d'air multiplié par la concentration en oxygène; on assure un flux constant d'air en utilisant un générateur de flux constant.

C'est une méthode qui a été validée à de nombreuses reprises chez l'enfant [11-14]. La validité intrinsèque de cet appareil est excellente. Chez l'adulte, Tissot et al. [12] démontrent que le biais de la mesure de la  $VO_2$  par cette méthode est de  $2,3 \pm 1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $x \pm 2 \text{ SD}$ ) lorsqu'on la compare à des mesures faites par spectrométrie de masse; de plus, ils ont trouvé que la précision de l'appareil était excellente (environ 1,3 % pour le quotient respiratoire) et ils n'ont pu mettre en évidence une dérive significative. Chez l'enfant, la même comparaison montre une variation de  $2,8 \% \pm 20 \%$  lorsque la  $VO_2$  se situe entre 50 et 210  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  [13].

Apports caloriques : Pendant au moins 3 jours avant chaque mesure de  $VO_2$ , les enfants devront conserver leurs habitudes alimentaires et tout ce qu'ils mangent devra être noté sur un cahier. Par la suite, après un entretien avec la famille, une diététicienne calculera précisément les apports caloriques journaliers pour chacune des périodes précédant la mesure de  $VO_2$ .

Résumé de la méthode. – Nous proposons de faire un essai clinique randomisé à double-insu en chassé-croisé (ou en permutations croisées). Chaque enfant recevra dans un ordre aléatoire soit du placebo, soit de la DMG. La  $VO_2$  sera mesurée à l'aide d'un calorimètre Deltatrac II™ juste avant que commence l'étude, puis trois jours plus tard après l'administration du premier produit (placebo ou DMG). Il y aura ensuite une période sans traitement (wash-out period) qui durera deux semaines. Ensuite, la  $VO_2$  sera de nouveau mesurée avant et après le deuxième traitement (DMG ou placebo). La différence entre la  $VO_2$  avant et après le placebo sera ensuite comparée à la différence entre la  $VO_2$  avant et après l'administration de DMG par un test non paramétrique pour mesures appariées.

Lors de la conception du protocole, une grande attention a été portée sur les facteurs pouvant modifier la dépense énergétique de ces enfants. En particulier, tout a été pensé pour diminuer autant que possible l'anxiété des enfants, leur activité physique et leur dépense thermique. Les mesures de  $VO_2$  seront faites tôt le matin, les enfants étant à jeun, après avoir dormi à proximité du centre de recherche, leur transport étant effectué par fauteuil roulant.

## Références :

1. Merante F, Petrova-Benedict R, MacKay N, et al. A biochemically distinct form of cytochrome C oxidase (COX) deficiency in the Saguenay-Lac-Saint-Jean region of Quebec. *Am J Hum Genet* 1993;53:481-7.
2. Morin C, Mitchell G, Larochelle J, et al. Clinical, metabolic, and genetic aspects of cytochrome C oxidase (COX) deficiency in the Saguenay-Lac-Saint-Jean region of Quebec. *Am J Hum Genet* 1993;53:488-96.
3. Morin C, Dubé J, Robinson B, et al. Stroke-like episodes in autosomal recessive cytochrome oxidase deficiency. *Ann Neurol* 1999;45:389-392.
4. Chaudry IH, Harkema JM, Dean RE. Alterations in energy production: A manifestation of cell injury. In: Bihari DJ, Cerra FB, Ed. *New horizons. Multiple organ failure*. Fullerton: The Society of Critical Care Medicine, 1989:277-96.
5. Binzak BA, Wevers RA, Moolenaar SH, Lee YM, Hwu WL, Poggi-Bach J, et al. Cloning of dimethylglycine dehydrogenase and a new human inborn error of metabolism, dimethylglycine dehydrogenase deficiency. *Am J Hum Genet* 2001 ;68 :839-47.
6. Gray ME, Titlow LW. The effect of pangamic acid on maximal treadmill performance. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:424-7.
7. Tonda ME, Hart LL. N,N dimethylglycine and L-carnitine as performance enhancers in athletes. *Ann Pharmacother* 1992;26:935-7.
8. Herbert V. Pangamic acid ("vitamin B15"). *Am J Clin Nutr* 1979;32:1534-40.
9. Herbert V, Gardner A, Colman N. Mutagenicity of dichloroacetate, an ingredient of some formulations of pangamic acid (trade-named "vitamin B15"). *Am J Clin Nutr* 1980;33:1179-82.

10. Colman N, Herbert V, Gardner A, Gelernt M. Mutagenicity of dimethylglycine when mixed with nitrite : possible significance in human use of pangamates. *Proc Soc Exp Biol Med* 1980 ;164 :9-12.
11. Capderou A, Douguet D, Losay J, Zelter M. Comparison of indirect calorimetry and thermodilution cardiac output measurement in children. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1930-4.
12. Tissot S, Delafosse B, Bertrand O, Bouffard Y, Viale JP, Annat G. Clinical evaluation of the Deltatrac monitoring system in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med* 1995;21:149-53.
13. Weyland W, Weyland A, Fritz U, Redecker K, Ensink FB, Braun U. A new paediatric metabolic monitor. *Intensive Care Med* 1994;20:51-7.
14. Joosten KF, Jacobs FI, van Klaarwater E, Baartmans MG, Hop WC, Meriläinen PT, et al. Accuracy of an indirect calorimeter for mechanically ventilated infants and children : The influence of low rates of gas exchange and varying FiO<sub>2</sub>. *Crit Care Med* 2000 ;28 :3014-18.

## CHAPITRE II: Résultats

La plupart des résultats sont détaillés dans l'article inclus dans la maîtrise au chapitre III. Seuls sont présentés dans ce chapitre les détails qui se sont pas rapportés dans l'article.

Nous avons réalisé l'étude de février à juin 1999.

Seulement cinq patients ont complété l'étude. Lors de la conception du protocole, 9 enfants étaient éligibles, mais 3 d'entre eux sont décédés d'une acidose lactique et une famille n'a pas souhaité que leur enfant soit inclus dans cette étude.

Les données cliniques des 5 enfants inclus sont très semblables. L'un d'entre eux (PP) est en vie en dépit de plusieurs crises d'acidose lactique dans la petite enfance. Toutes les familles sont originaires de la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean. Le suivi médical était assuré le plus souvent conjointement par l'hôpital de Chicoutimi et de Montréal.

L'enfant NH a arrêté un traitement par DMG 2 semaines avant le début de l'étude. L'enfant VL a poursuivi un traitement anti-épileptique. Ces enfants ne recevaient aucun autre médicament, aucun traitement chronique n'étant disponible pour cette maladie.

Tableau 1. Population : données biologiques

	<b>NH</b>	<b>SB</b>	<b>VL</b>	<b>PP</b>	<b>MG</b>
Année du diagnostic	1985	1991	1994	1985	1995
<b>Activité COX dans les hépatocytes</b> ( $\mu\text{mol/g wet wt/mn}$ )					
Patient	0.33	-	-	0.00	-
contrôle	2.38	-	-	2.68	-
<b>Activité COX dans les fibroblastes</b> ( $\text{nmol/mg protéine/mn}$ )					
Patient	1.99	1.84	-	-	1.26
contrôle	4.24	4.48	-	-	5.61
valeur de référence 4-5.6					

- ; donnée non disponible dans le dossier de l'hôpital Sainte-Justine

L'activité COX dans les hépatocytes et les fibroblastes est effondrée chez ces enfants et permet de confirmer le diagnostic.

Tableau 2. Population : Données morphométriques et apports caloriques.

	NH	SB	VL	PP	MG	<i>moy</i>	<i>DS</i>
âge (années)	17	10	16	17	9	13	4
poids (kg)	59	41	40	43	38	44	8
taille (cm)	167	135	144	153	133	146	14
surface corporelle (m <sup>2</sup> )	1.66	1.22	1.26	1.36	1.16	1.33	0.20
<b>Apport calorique (kcal.m<sup>-2</sup>)</b>							
avant placebo	1807	1529	1619	1574	1280	1562*	190
après placebo	1476	1414	1246	993	1582	1342	230
avant DMG	1560	1287	1222	1338	1272	1336	132
après DMG	1518	1205	1595	868	1716	1380	343

NH et SB ont reçu la DMG puis 15 jours plus tard le placebo, alors que VL, PP et MG ont reçu d'abord le placebo puis 15 jours plus tard la DMG.

Concernant les apports caloriques, il apparaît que la moyenne des apports quotidiens reçus durant les 3 jours qui ont précédé l'administration de placebo a été supérieure à celle des apports avant l'administration de DMG (\* $p = 0.04$  ; Wilcoxon).

Tableau 3. Résultats de la calorimétrie indirecte.

	NH	SB	VL	PP	MG	moy	DS
<b>Quotient Respiratoire</b>							
avant placebo	0.85	0.86	0.86	0.76	0.85	0.84	0.04
après placebo	0.91	0.88	0.86	0.84	0.86	0.87	0.03
avant DMG	0.83	0.85	0.88	0.80	0.89	0.85	0.04
après DMG	0.84	0.79	0.86	0.83	0.90	0.84	0.04
<b><math>\dot{V}O_2</math> (mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>)</b>							
avant placebo	120	132	114	135	129	126	8
DS	11	5	5	12	5		
t	26	24	27	22	26		
après placebo	119	122	104	126	127	120	9
DS	10	4	6	13	6		
t	25	24	30	28	26		
avant DMG	125	129	101	124	128	121	12
DS	8	7	5	19	7		
t	30	29	25	27	28		
après DMG	123	123	102	125	127	120	10
DS	8	3	6	8	3		
t	28	22	27	21	28		
<b><math>\Delta VO_{2Placebo}</math></b>							
( $VO_2$ après placebo - $VO_2$ avant placebo)	-1	-10	-10	-8	-3	-6	4
<b><math>\Delta VO_{2DMG}</math></b>							
( $VO_2$ après DMG - $VO_2$ avant DMG)	-1	-6	+2	+1	-1	-1	3
<b><math>\Delta VO_{2DMG} - \Delta VO_{2Placebo}</math></b>							
	+0	+4	+12	+9	+2	+5	5



DS ; déviation standard

t ; durée de l'enregistrement en minutes après la phase de stabilisation.

Les mesures de  $VO_2$  que ce soit après placebo ou après DMG sont inférieures aux mesures de base respectives.

Les données brutes semblent indiquer chez les enfants souffrant d'un déficit congénital en cytochrome C oxidase du type Saguenay-Lac-Saint-Jean qu'il pourrait y avoir des différences de consommation corporelle totale d'oxygène selon qu'ils recevaient du placebo ou de la N,N-diméthylglycine. Cependant ces différences ne sont pas significatives et l'analyse des facteurs de confusion a permis de mettre en évidence que les faibles variations de la consommation d'oxygène observées peuvent être liées aux variations des apports caloriques. Les seules valeurs de  $VO_2$  et d'apports caloriques vraiment distinctes des autres sont celles observées avant l'administration du placebo ( $1562 \text{ kcal.m}^{-2}$  et  $126 \text{ mL.min}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ).

Tableaux 5. Taux sanguins.

	NH	SB	VL	PP	MG	<i>moy</i>	<i>DS</i>
<b>Lactatémie (mmol/L)</b>							
avant placebo	3.6	3.7	2.8	1.6	2.6	2.9	0.9
après placebo	2.6	4.2	2.1	1.9	2.5	2.7	0.9
avant DMG	1.9	2.6	2.3	1.3	2.7	2.2	0.6
après DMG	2.2	2.9	2.1	1.7	3.5	2.5	0.7
<b>Pyruvatémie (µmol/L)</b>							
avant placebo	149	185	118	90	119	134	34
après placebo	125	223	122	102	108	136	50
avant DMG	76	134	83	38	160	98	49
après DMG	95	142	90	91	132	110	25
<b>ratio lactate/pyruvate</b>							
avant placebo	24	20	23	16	22	21	3
après placebo	23	19	17	18	23	20	3
avant DMG	25	20	28	34	17	25	7
après DMG	24	21	27	20	26	24	3
<b>Bicarbonates (mmol/L)</b>							
avant placebo	23	20	23	25	22	23	2
après placebo	23	20	24	23	21	22	2
avant DMG	23	22	23	24	21	23	1
après DMG	24	20	24	25	22	23	2
<b>pH</b>							
avant placebo	7.40	7.45	7.39	7.47	7.49	7.44	0.04
après placebo	7.41	7.42	7.40	7.43	7.41	7.41	0.01
avant DMG	7.39	7.46	7.41	7.45	7.44	7.43	0.03
après DMG	7.44	7.43	7.38	7.42	7.43	7.42	0.02
<b>PCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>							
avant placebo	37	28	38	33	24	32	6
après placebo	36	29	40	35	31	34	4
avant DMG	39	28	37	35	27	33	5
après DMG	35	32	41	38	30	35	4

### Dosage bétaine plasmatique

( $\mu\text{mol/l}$ )

avant placebo	29.5	21.3	22.6	27.4	22.3	24.6	3.6
après placebo	28.6	22.1	-	23.8	25.3	24.3	2.7
avant DMG	32.7	24.2	27.2	25.5	22.0	26.3	4.0
après DMG	34.1	40.8	41.0	26.4	30.0	34.5	6.5

### Dosage DMG plasmatique

( $\mu\text{mol/L}$ )

avant placebo	2	1	1	2	0	1	1
après placebo	1	0	-	2	1	1	1
avant DMG	2	2	0	2	1	1	1
après DMG	475	868	689	698	354	617	203

- ;donnée non disponible

Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les taux sanguins (sauf bien sûr en ce qui concerne le dosage de la DMG). Les taux sanguins de DMG obtenus après 3 jours d'administration sont tout à fait satisfaisants.

Alors que la lactacidémie et la pyruvicémie varient en fonction de l'état nutritionnel et la situation d'oxygénation des tissus, les rapports lactate/pyruvate ne varient pas en fonction de l'état nutritionnel, quelque soit l'âge considéré. Il est donc important de remarquer que la DMG ne semble pas avoir d'effet sur ce ratio. Comme attendu dans le cadre d'une atteinte de la chaîne respiratoire, ce ratio est anormalement élevé (les normes à cet âge sont inférieures ou égales à 20).

## CHAPITRE III: Publications

1. Présentation des résultats préliminaires lors d'une communication orale au 3ème Congrès Mondial de Soins Intensifs Pédiatriques. Résultats publiés par la suite sous forme de résumé dans la revue *Pediatric Critical Care Medicine* :

**CONGENITAL LACTIC ACIDOSIS: EFFECTS OF DIMETHYLGLYCINE (DMG) ON OXYGEN CONSUMPTION (VO<sub>2</sub>).**

JM Liet, G Mitchell, J Lacroix, V Pelletier, C Morin, S Morneau et al.

Division of Pediatric Intensive Care, Department of Pediatrics, Sainte-Justine Hospital and University of Montreal, Montréal (Qc), Canada.

**Background.** Children with cytochrome C oxidase deficiency in Saguenay-Lac-Saint-Jean (COX-SLSJ) can have acidotic crises; most of them die despite aggressive support\*. Treatment which could prevent crises or treat them is required. DMG plays a role in mitochondrial respiration after complex I, on coenzyme Q. High doses of DMG could short-circuit complex I and, by mass effect, improve mitochondrial respiratory function in these patients.

**Objective.** Study the effects of DMG on VO<sub>2</sub> of children with COX-SLSJ.

**Type of research.** Cross-over, randomized, double-blind, clinical trial with at least 2 weeks of wash-out period.

**Site.** Research Center of Sainte-Justine Hospital, University of Montreal.

**Patients and methods.** 5 children with COX-SLSJ not in metabolic crisis. The measurement of VO<sub>2</sub> was performed by indirect calorimetry, Deltatrac II™. Every child was taken in random order and during 3 days a placebo or DMG was given; then after a washout period of 2 weeks they received the second agent. Measurement of VO<sub>2</sub> was performed before and after each treatment (placebo and DMG).

$\Delta VO_{2dmg}$  (=VO<sub>2</sub>afterDMG- VO<sub>2</sub>beforeDMG) was compared with  $\Delta VO_{2p}$  (=VO<sub>2</sub>after placebo- VO<sub>2</sub>before placebo), by a paired t test.

**Results.** No side effects and no clinical changes have been noticed after DMG. VO<sub>2</sub> (mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>) in children with COX-SLSJ are below norms.  $\Delta VO_{2dmg}$ (=VO<sub>2</sub>afterDMG- VO<sub>2</sub>before DMG) are not statistically different from  $\Delta VO_{2p}$ (=VO<sub>2</sub>after placebo- VO<sub>2</sub>before placebo), p= 0.07.

Child, years	17	10	16	17	9	<i>mean</i>
VO <sub>2</sub> moy	122	126	105	128	128	122
$\Delta VO_{2dmg}-\Delta VO_{2p}$	0	+4	+12	+9	+2	+5

**Conclusion.** For children with COX-SLSJ,  $\Delta VO_{2}$  before and after DMG trend to increase when compared with  $\Delta VO_{2}$  before and after placebo, but the small sample size does not allow us to conclude its clinical relevance. Yet, in the case of this rare disease it is difficult to include more children (homogeneous for the disease, old enough to be compliant for VO<sub>2</sub> measurement and clinically stable).

These results enhance further research as to the aim to find a cure or prophylactic treatment for metabolic crisis in children with COX-SLSJ and those with alteration of mitochondrial oxidative phosphorylation.

\* Morin C, Mitchell G, Laroche J, et al. Clinical, metabolic, and genetic aspects of cytochrome C oxidase (COX) deficiency in the Saguenay-Lac-Saint-Jean region of Quebec. Am J Hum Genet 1993;53:488-96.

Liet JM, Mitchell G, Lacroix J, Pelletier V, Morin C et al.  
Congenital lactic acidosis : effects of dimethylglycine (DMG) on oxygen consumption (VO<sub>2</sub>).  
3<sup>rd</sup> World Congress on Pediatric Intensive Care, Montreal, June 2000.  
Pediatr Crit Care Med 2000 ;1(suppl.) :5.

2. Article envoyé à la revue médicale *Journal of Pediatrics*

**The effect of short term dimethylglycine treatment on oxygen consumption in cytochrome oxidase deficiency: a double blind randomized crossover clinical trial**

Jean-Michel Liet, MD\*, Véronique Pelletier, MD\*, Brian H. Robinson, Ph.D\*\*, Maurice D. Laryea, PhD\*\*\*, Udo Wendel, MD\*\*\*, Sylvain Morneau, Inh\*, Charles Morin, MD&, Grant Mitchell, MD\*, Jacques Lacroix, MD\*.

From the \*Department of Pediatrics, Sainte-Justine Hospital, Montréal, Québec, Canada; the \*\*Department of Biochemical Genetics, Hospital for Sick Children, Toronto, Ontario, Canada; the \*\*\*Metabolic Unit, Children's Hospital, Düsseldorf, Germany; and the &Department of Pediatrics, Hospital of Chicoutimi, Chicoutimi, Québec, Canada.

This work was supported by the "Association de parents pour l'acidose lactique au Saguenay-Lac-Saint-Jean".

This work was presented in part at the 3<sup>rd</sup> World Congress on Pediatric Intensive Care, June 25-29, 2000; Montréal, Québec, Canada,.

MAILING ADDRESS:

Dr Jacques Lacroix, Pediatric Intensive Care Unit, Hôpital Sainte-Justine, 3175 Côte Sainte-Catherine, MONTREAL (Québec), Canada H3T 1C5. *Fax:* (514) 345-4822. *Phone:* (514) 345-4675. *E-mail:* jacques\_lacroix@ssss.gouv.qc.ca

RUNNING TITLE: Dimethylglycine and SLSJ-COX deficiency

KEY WORDS: Cytochrome-c oxidase; energy metabolism; calorimetry; controlled trial, randomized; crossover study; child, adolescent; acidosis, lactic; mitochondrial diseases.

## ABSTRACT

**Objective:** To study the effectiveness of dimethylglycine (DMG) on oxygen consumption ( $VO_2$ ) in children with Saguenay-Lac-Saint-Jean cytochrome-*c* oxidase (SLSJ-COX) deficiency.

**Study design:** In this crossover randomized double-blind clinical trial, five children with SLSJ-COX deficiency, stable and old enough to comply with  $VO_2$  measurement, were treated with placebo or DMG for 3 days, and with the alternate treatment after a 2-week washout period.  $VO_2$  was measured by indirect calorimetry before and after treatment. Dietary caloric intake was calculated for 3 days before each measurement. Mean caloric intakes per day were 1562 and 1342 kcal.m<sup>-2</sup> before and during placebo, 1336 and 1380 before and during DMG.

**Results:** DMG was well tolerated and in all cases resulted in markedly increased blood DMG levels ( $617 \pm 203$  mmol.L<sup>-1</sup>), versus 0-2 mmol.L<sup>-1</sup> without treatment. Mean  $VO_2$  was lower following administration of either DMG ( $-1 \pm 3$  mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>) or placebo ( $-6 \pm 4$ ), but neither difference was statistically significant. There was no detectable effect of DMG treatment on blood levels of lactate, pyruvate, bicarbonate or pH.  $VO_2$  values of patients (range: 101–135 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>) were lower than published norms (150-160).

**Conclusion:** This study suggests that treatment with DMG does not substantially change  $VO_2$  in children with SLSJ-COX deficiency.



## LIST OF ABBREVIATIONS

CoQ: co-enzyme Q

COX: cytochrome *c* oxidase

C: cytochrome *c*

$\Delta\text{VO}_{2\text{DMG}}$ :  $\text{VO}_2$  after 3 days of treatment with DMG minus baseline value

$\Delta\text{VO}_{2\text{Placebo}}$ :  $\text{VO}_2$  after 3 days of treatment with placebo minus baseline value

DMG: dimethylglycine

ETF: electron transfer flavoprotein

FAD: flavine adenine dinucleotide

I: complex I (NADH-CoQ reductase)

II: complex II (succinate-CoQ reductase)

III: complex III (ubiquinone-cytochrome-*c* reductase)

IV: complex IV (cytochrome-*c* oxidase)

PDH: pyruvate dehydrogenase

SLSJ-COX deficiency: Saguenay-Lac-Saint-Jean cytochrome *c* oxidase deficiency

V: complex V (ATPase)

$\text{VO}_2$ : oxygen consumption

Saguenay-Lac-Saint-Jean cytochrome-c oxidase or SLSJ-COX deficiency is a distinct form of congenital lactic acidosis manifested by psychomotor retardation, hypotonia, facial dysmorphism, hepatic steatosis and chronically mild elevation of blood level of lactate [1]. Patients have low COX activities in liver and brain, and half-normal activity in skin fibroblasts, amniocytes and skeletal muscle, whereas values for kidney and heart are nearly normal [1-2]. SLSJ-COX deficiency is an autosomal recessive disease that maps to chromosome 2p16 [3]. The carrier frequency in the Saguenay-Lac-Saint-Jean region of North Eastern Quebec is estimated to be 4% [1-2].

The main acute complication of SLSJ-COX deficiency is acidotic crises, defined as a bicarbonate level  $< 12 \text{ mMol.L}^{-1}$ . Typically associated with a febrile infection, most crises occur before 2 years of age, but older children remain at risk. There is no satisfactory therapy for crises, and 92% of patients die of multiple organ dysfunction syndrome, despite aggressive support [1]. Thus, there is a need for effective prophylactic treatment in SLSJ-COX deficiency as in other types of congenital lactic acidosis. However, since acidotic crises are rare and the numbers of patients quite limited, it is important to establish a surrogate endpoint. Anecdotal unpublished observations have suggested that treatment with dimethylglycine may have beneficial effects in some patients with congenital lactic acidosis. Because of the lack of solid data, and because the possible improvement of patients with congenital lactic acidosis following DMG treatment had aroused the interest of families, we elected to test the effectiveness of short term DMG treatment in SLSJ-COX deficiency. The goals of the present study were to obtain baseline data on oxygen consumption in patients with SLSJ-COX deficiency and to assess whether brief treatment with high doses of DMG resulted in any change in this parameter or in clinical status.

## **METHODS**

### *Study population*

All SLSJ-COX deficiency children followed in the Province of Québec who were old enough to comply with  $VO_2$  measurement and not in metabolic crisis were eligible for the study. This study was approved by the Institutional Review Board of Sainte-Justine Hospital. Informed consent for inclusion in the study was obtained from parents and, when possible, from the patients themselves.

### *Design*

The study was a crossover randomized double-blind clinical trial. Each child received either placebo or DMG for three days in a randomized order. After a 2-week washout period, they received the alternate treatment. The order of administration of placebo and DMG was randomized using a one-block sequence generated from a random number table [4].

### *Materials*

Dimethylglycine and placebo were prepared by the pharmacy of Sainte-Justine Hospital from capsules containing 125 mg of DMG (ICN™, Saint-Basile, Canada). Children weighing less than 33 kg were given 50 mg/kg/day in 3 doses, and those weighing more than 33 kg received 5 g per day in 3 doses. Capsules containing placebo or DMG were indistinguishable by appearance, taste and texture as DMG.

A washout period of at least two weeks was used to allow drug elimination from the organism and a complete return to initial state between the two phases of the study [5]. Since the

elimination half-life of DMG is estimated to be less than 24 hours [6], the two-week washout period exceeded 5 elimination half-lives.

### *Measurements*

Four measurements of oxygen consumption were performed for each child by indirect calorimetry (Deltatrac II™, Datex Instrumentation, Helsinki, Finland). This open indirect calorimetric system had previously been validated [7-9]. Before each measurement, the machine was calibrated against a standard gas mixture (95% oxygen, 5% carbon dioxide) and ambient barometric pressure.  $VO_2$ , carbon dioxide elimination, respiratory quotient, and energy expenditure were measured each minute, and the mean for the period of interest was calculated.

The schedule of the trial was as follows. The child arrived at the hospital 12 to 24 hours before the first test ( $VO_2$  measurement). The first test began at 8h00 A.M. the following morning. Immediately after the first  $VO_2$  measurement, the child began a 3-day course of DMG or placebo. During the 3-day “treatment” period, the patients and their parents were lodged in comfortable quarters in the same building as the testing. The second test of the first part of the trial was performed at 8h00 (~72 h after the first dose). The child was discharged for 2 weeks without treatment, then returned to receive the other treatment with the same protocol of investigation.

The following precautions were taken in order to limit anxiety and to control energy expenditure of the patients during  $VO_2$  measurements. First, the day before  $VO_2$  measurement, patients visited the room where the test would be performed, tested the canopy and met the respiratory therapist who would perform the test; this was done to decrease the anxiety of the children. The following morning, patients were brought in a wheelchair from their bed to the room where measurements were performed, without going outside the hospital. Then,  $VO_2$  measurements were performed at 8h00 A.M., after 20 minutes of rest and stabilization, in a quiet thermoneutral room. Patients

remained fasting until the end of the procedure. They were supine and breathing room air. Parents stayed at the bedside to calm their children. Measurements were obtained in canopy mode for a total of 40 minutes (10 min of acclimatization and 30 min of steady-state measurement).

Compliance with treatment was controlled by counting the number of capsules given to the family at the beginning and returned at the end of the 3-day treatment.

Secondary outcomes included changes in blood pH, lactatemia, pyruvatemia and bicarbonatemia. Venous blood samples were taken shortly after each  $\text{VO}_2$  measurement. To measure lactate and pyruvate, blood samples were immediately deproteinized by precipitation of 200  $\mu\text{L}$  titrated whole blood with 400  $\mu\text{L}$  of perchloric trichloroacetic acid 2%. These were transported on ice and centrifuged at 2200 rpm, 4°C for 10 min. Supernatants were then neutralized with bicarbonate and frozen at  $-80^\circ\text{C}$ . Lactate and pyruvate were determined by an enzymatic method as previously reported [10]. Plasma DMG and betaine levels were measured by high-performance liquid chromatography [11].

At least 72 hours before each  $\text{VO}_2$  measurement children were asked to maintain their usual dietary intake, and parents were asked to record on a notebook the quantity and the nature of the food really taken by the child. Then, a dietitian who was kept blinded to drug allocation (DMG or placebo) determined daily caloric intake for 3 days before each measurement.

Parents were asked about all medications taken by their child. All non-essential medications were stopped 2 weeks before each measurement and before starting the  $\text{VO}_2$  measurement.

### *Statistical Analysis*

The primary outcome under study was the  $\Delta\text{VO}_2$ . Given typical published  $\text{VO}_2$  values of about 150-160  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  in normal human beings [12-14], preliminary calculations as follows

predicted that a 12% variation would be detectable with the expected participation of 7 patients. As different values have been reported in the literature for the standard deviation of  $\text{VO}_2$  measurement by indirect calorimetry (4 to 37  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ) [15-18], it was assumed that the variance of  $\text{VO}_2$  measurement would be about 400  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ . With an expected population of 7 children, the  $\text{VO}_2$  difference ( $\Delta$ ) detectable with a power of 80% was 18  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ :

$\Delta^2 = \{s^2 \times (Z\alpha + Z\beta)^2\}/n$  [19] where  $s^2$  = inpatient variance,  $Z\alpha = 1.64$  (5% unilateral test),  $Z\beta = 0.842$  (80% power) and  $n = 7$ .

$\Delta\text{VO}_{2\text{DMG}}$  (=  $\text{VO}_{2\text{ after DMG}} - \text{VO}_{2\text{ before DMG}}$ ) was compared with  $\Delta\text{VO}_{2\text{Placebo}}$  (=  $\text{VO}_{2\text{ after Placebo}} - \text{VO}_{2\text{ before Placebo}}$ ) using the Wilcoxon signed rank test, a non parametric test for two-related samples. Differences between baseline caloric intakes and between blood analyses after treatment were compared using the Wilcoxon signed rank test.

$\text{VO}_2$  ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ) was expressed as the mean  $\pm$  standard deviation. A two-sided  $p$  of  $<0.05$  was considered statistically significant.

## **RESULTS**

Nine children were eligible for the study. Three died of acidotic crisis prior to study. Parental consent was refused in one surviving patient. Five children (9 to 17 years of age) were included in the trial (Table 1). All families originated from the Saguenay-Lac-Saint-Jean region of the Province of Québec. The diagnosis of COX deficiency was proven for all children by measuring COX activity in liver and in cultured fibroblasts, as described by Robinson [20]. The height and weight of two children were below the third percentile. All children had psychomotor delay, hypotonia, facial dysmorphism and strabismus. All had truncal ataxia with a hesitant, wide-based gait and intention tremor. Two families had lost another child with SLSJ-COX deficiency after

acidotic crisis. Patient 4 had survived several crises during infancy, and patient 3 had experienced a stroke-like episode [21]. Patient 1 had stopped DMG intake 2 weeks before the study. Patient 3 was taking carbamazepine for epilepsy. The other children were not under any treatment.

No side effects or clinical changes were observed after 3 days of treatment with DMG.

Compliance was assessed as perfect, and families were highly motivated to carry out the study.

VO<sub>2</sub> values are reported in Table 2. Baseline VO<sub>2</sub> in all SLSJ-COX deficiency patients ( $124 \pm 10$  mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>; range: 101-135) was below published norms (150-160 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> [12-14]).

Mean caloric intakes per day were 1336 kcal.m<sup>-2</sup> and 1380 kcal.m<sup>-2</sup> before and during DMG, 1562 kcal.m<sup>-2</sup> and 1342 kcal.m<sup>-2</sup> before and during placebo. Mean baseline caloric intakes before placebo were greater than before DMG ( $p = 0.04$ ). The average VO<sub>2</sub> was 121 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> and 120 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> before and during DMG, 126 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> and 120 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> before and during placebo. A small decrease in VO<sub>2</sub> was observed after treatment by either DMG or placebo.

The decrease was slightly lower after 3 days of treatment with DMG than with placebo:  $\Delta VO_{2\text{DMG}}$  ( $= VO_{2\text{ after DMG}} - VO_{2\text{ before DMG}}$ ) was  $-1 \pm 3$  mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> while  $\Delta VO_{2\text{ placebo}}$  ( $= VO_{2\text{ after Placebo}} - VO_{2\text{ before Placebo}}$ ) was  $-6 \pm 4$  mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>, but failed to reach statistical significance ( $p = 0.08$ ). Variance of the VO<sub>2</sub> measurement was lower than initially estimated (100 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>), and the study could detect an increase in VO<sub>2</sub> measurement equal to or greater than 16 mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> with a power of 80% and  $p < 0.05$  [22].

DMG treatment had no detectable effects on blood pH, lactatemia, pyruvatemia, lactate/pyruvate ratio or bicarbonatemia despite high DMG plasma levels after treatment:  $617 \pm 203$  μmol.L<sup>-1</sup> (Table 2). Betaine plasma levels also tended to increase after DMG treatment.

## DISCUSSION

The results of this study suggest that treatment with DMG does not change  $VO_2$  in children with SLSJ-COX deficiency.

The mitochondrial respiratory chain catalyses the terminal oxidation of fuel molecules and subsequent ATP synthesis [23]. Cytochrome oxidase (COX, complex IV) is one of five respiratory chain complexes (Figure 1). COX transfers electrons from cytochrome-*c* to reduce molecular oxygen and synthesize water. It exports one  $H^+$  ion to the intermembrane space of mitochondria, contributing to the proton gradient that drives ATP synthesis. Cytochrome-*c* oxidase deficiency therefore causes impairment of the normal energy generation.

There are several forms of COX deficiency in human beings [24], with diverse clinical and biochemical features [25, 26]. All children included in the present clinical trial had the same molecular defect that maps to the SLSJ-COX locus on chromosome 2p16.

DMG is a component of pangamic acid (“vitamin B15”), sold in health food stores in many countries. The sale of pangamic acid as medicine is not authorized in Canada or the USA because of its potential toxicity and the lack of clear indication. In addition to DMG, preparations may contain calcium, glycine, methionine, aminobenzoic acid and dichloroacetate [27-29]. Because dichloroacetate, an activator of pyruvate dehydrogenase, has documented effect on lactic acid metabolism [30] that could obscure the effects, if any, of DMG, we elected to use pure DMG rather than pangamic acid.

The mechanism by which DMG might improve respiratory chain function is not obvious. DMG is oxidized by a FAD-dependent dehydrogenase and its electrons enter the respiration chain at the level of coenzyme Q, upstream of COX (Figure 1). DMG is transformed to sarcosine by dimethylglycine dehydrogenase, another mitochondrial enzyme [31]. It is clear that even with the



large amount of DMG that we administered to patients in this study it does not represent a substantial energy source. However, the metabolic effects of DMG have not been exhaustively studied and some beneficial effect cannot be excluded. For instance, DMG has been suggested to be a free radical scavenger [32].

Because DMG has been suggested to improve oxygen uptake (without any scientific data to our knowledge), and because DMG is undetectable by the usual toxicology tests, it has been used illicitly by athletes as a performance enhancer in long-distance running [28, 33]. No toxicity and no benefit were observed when DMG was studied in humans for its immunomodulatory properties [34] or for treatment of autistic disorders [35] or epilepsy [36]. However, ocular and neurological injuries had been reported with pangamic acid [27, 29]. In animal long-term treatment with pangamic acid may be mutagenic [27, 37], but more recent tests with DMG did not confirm this toxicity [38].

A pilot study by our group showed good tolerance to DMG during a few weeks of treatment in five children with SLSJ-COX deficiency (2 to 16 years of age). No clinical changes were observed. Mean lactatemia was  $2.58 \pm 0.99$  mmol.L<sup>-1</sup> after treatment versus  $3.22 \pm 1.00$  before treatment ( $p=0.14$ ). In pediatric septic shock, which resembles some aspects of SLSJ-COX deficiency acidotic crises, reduction of lactate levels is predictive of recovery [39].

This protocol was designed to study differences in oxygen consumption with treatment. It is striking, however, that the absolute value of  $VO_2$  in these SLSJ-COX deficiency children ( $101 - 135$  mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>) is considerably lower than published values for normal children ( $150 - 160$  mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>) [12-14]. This observation is intuitively reasonable given that COX deficiency directly influences energy consumption. However, documentation of resting body  $VO_2$  in congenital lactic acidosis is rare in the literature. Hoppel et al. found paradoxical increased resting

VO<sub>2</sub> in an infant with complex 1 deficiency [40]. Of note as well we have observed that the hyperlactic acidemia of SLSJ-COX deficiency patients is mild or sometimes absent (Table 3; [41]). A normal level of blood lactate is not a reliable criterion for excluding this diagnosis. For the children included in this study, clinically suspected diagnosis of cytochrome-c oxidase deficiency has been proven by measuring COX activity in liver and in cultured skin fibroblasts, as described by Robinson [42].

In this randomized crossover clinical trial, we found that  $\Delta VO_{2\text{ DMG}}$  tended to be slightly lower than  $\Delta VO_{2\text{ Placebo}}$  ( $-1 \pm 3$  vs  $-6 \pm 4$  mL.min<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>), but the differences were small and failed to reach statistical significance ( $p= 0.08$ ). VO<sub>2</sub> is dependent not only on muscular activity and the efficacy of cellular respiration, but also on caloric intake [43]. The subjects had a higher caloric intake during the 3 days preceding the measurement of VO<sub>2</sub> before Placebo than the DMG administration ( $p = 0.04$ ) (Table 2); we cannot explain this difference in caloric intake. The only values of VO<sub>2</sub> and caloric intake which were distinct from the others were those before placebo. The difference between  $\Delta VO_{2\text{ DMG}}$  and  $\Delta VO_{2\text{ Placebo}}$  could be attributable to a difference in caloric intake.

Despite the high levels of circulating DMG during treatment (Table 3), no changes in blood lactate levels were noted after 3 days of DMG treatment, consistent with a lack of DMG effects on VO<sub>2</sub> in children with SLSJ-COX deficiency.

These results were not related to the sequence of treatment administration (2 children received DMG first and 3 received placebo first) or to a difference in the procedure. The protocol that we followed for measuring VO<sub>2</sub> was determined to have a high reproducibility [44]. The power of this clinical trial was indeed limited by the small number of affected children who were available. For this rare disease, it is impossible to assemble a larger group of affected children, old enough

to be compliant for  $\text{VO}_2$  measurement and clinically stable. The power of the trial was increased by its crossover design and the variance of the  $\text{VO}_2$  measurement was lower than initially estimated: the study could find an increase in  $\text{VO}_2$  measurement equal to or greater than  $16 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  with a power of 80%.

In conclusion, we found no significant change in clinical status or  $\text{VO}_2$  after treatment with DMG compared to placebo in children with SLSJ-COX deficiency. A subtle long-term effect cannot be ruled out. Because of its potential toxicity and the absence of beneficial effect, we cannot recommend such treatment.

No satisfactory therapy is currently available for respiratory chain deficiency [45]. A child with complex III deficiency and pruritus was treated with menadione and vitamin C; the serum bile acid levels normalized and the pruritus improved [46]. A woman with mitochondrial cardiomyopathy had a resolution of severe heart failure following idebenone treatment [47]. In patients with complex 1 deficiency, riboflavin has been reported to improve neuromuscular activity and in vitro nearly normalized the adenosine production in fibroblasts [48-49]. Dichloroacetate treatment of patients with severe lactic acidosis can improve arterial blood lactate concentrations and pH, but its impact on survival, if any, remains unproved [50].

The death rate of acidotic crisis is very high (92% [1]) in children with SLSJ-COX. The lack of any effective therapy for this often-lethal disease should lead to the performance of further research to find a curative or prophylactic treatment for metabolic crisis in children with SLSJ-COX deficiency and those with alteration of mitochondrial oxidative phosphorylation.

### **Acknowledgment**

The authors are grateful to the pharmacist D. Lebel and the research nurse M.F. Gagné for skilled technical assistance.

## REFERENCES

1. Morin C, Mitchell G, Larochelle J, Lambert M, Ogier H, Robinson BH, et al. Clinical, metabolic, and genetic aspects of cytochrome C oxidase deficiency in Saguenay-Lac-Saint-Jean. *Am J Hum Genet* 1993;53:488-96.
2. Merante F, Petrova-Benedict R, MacKay N, Mitchell G, Lambert M, Morin C et al. A biochemically distinct form of cytochrome oxidase (COX) deficiency in the Saguenay-Lac-Saint-Jean Region of Quebec. *Am J Hum Genet* 1993;53:481-7.
3. Lee N, Daly MJ, Delmonte T, Lander ES, Xu F, Hudson TJ, et al. A genome wide linkage-disequilibrium scan localizes the Saguenay-Lac-Saint-Jean cytochrome oxidase deficiency to 2p16. *Am J Hum Genet* 2001;68:397-409.
4. Fisher RA, Yates F. *Statistical tables for biological, agricultural and medical research*. Edinburgh: Oliver and Boyd;1963.
5. Spriet A, Simon P. *Méthodologie des essais cliniques des médicaments*. 2<sup>nd</sup> ed. Paris: Les Editions de la prospective médicale; 1982: p.232.
6. Girandola RN, Wiswell RA, Bulbulian R. Effects of pangamic acid (B15) ingestion on metabolic response to exercise. *Biochem Med* 1980;24:218-22.
7. Weyland W, Weyland A, Fritz U, Redecker K, Ensink FB, Braun U. A new paediatric metabolic monitor. *Intensive Care Med* 1994;20:51-7.
8. Tissot S, Delafosse B, Bertrand O, Bouffard Y, Viale JP, Annat G. Clinical evaluation of the Deltatrac monitoring system in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med* 1995;21:149-53.

9. Joosten KF, Jacobs FI, van Klaarwater E, Baartmans MG, Hop WC, Meriläinen PT, et al. Accuracy of an indirect calorimeter for mechanically ventilated infants and children: The influence of low rates of gas exchange and varying  $FiO_2$ . *Crit Care Med* 2000;28:3014-8.
10. Marbach EP, Weil MH. Rapid enzymatic measurement of blood lactate and pyruvate. *Clin Chem* 1967;13:314-25.
11. Laryea MD, Steinhagen F, Pawliczek S, Wendel U. Simple method for routine determination of betaine and N,N-dimethylglycine in blood and urine. *Clin Chem* 1998;44:1937-41.
12. Childs C. Metabolic rate at rest and during sleep in a thermoneutral environment. *Arch Dis Child* 1993;68:658-61.
13. Harris JA, Benedict FG. A biometric study of basal metabolism in man. Carnegie Institute of Washington Publication N° 279, Washington D.C. 1919.
14. Guimond JG, Lacroix J, Farrell CA, Gauthier M. Mesures physiologiques. In: Lacroix J, Gauthier M, Beaufils F, editors. *Urgences et soins intensifs pédiatriques*. Montréal et Paris: Presses de l'Université de Montréal et Doin; 1994: p. 917-33.
15. Bizouarn P, Soulard D, Blanloeil Y, Guillet A, Goarin Y. Oxygen consumption after cardiac surgery - a comparison between calculation by Fick's principle and measurement by indirect calorimetry. *Intensive Care Med* 1992;18:206-9.
16. Levinson M, Groeger J, Miodownik S, Ray C, Brennan M. Indirect calorimetry in the mechanically ventilated patient. *Crit Care Med* 1987;15:144-7.
17. Smithies M, Royston B, Makita K, Konieczko K, Nunn J. Comparison of oxygen consumption measurements: indirect calorimetry versus the reversed Fick method. *Crit Care Med* 1991;19:1401-6.

18. Chiolero R, Bracco D, Revelly JP. Does indirect calorimetry reflect energy expenditure in the critically ill? In: Willmore DW and Carpenter YA, editors. Update in intensive care and emergency medicine, 17. Berlin: Springer;1993:p. 95-119.
19. Fleiss JL, editor. The design and analysis of clinical experiment. New York: John Wiley & Sons;1986:p. 432.
20. Robinson BH, Glerum DM, Chow W, Petrova-Benedict R, Lightowlers R, Capaldi R. The use of skin fibroblast cultures in the detection of respiratory chain defects in patients with lacticacidemia. *Pediatr Res* 1990;28:549-55.
21. Morin C, Dubé J, Robinson BH, Lacroix J, Michaud J, De Braekeleer M, et al. Stroke-like episodes in autosomal recessive cytochrome oxidase deficiency. *Ann Neurol* 1999;45:389-92.
22. Dewailly J. Nombre de sujets nécessaires. In: Bouvenot G, Vray M, editors. *Essais Cliniques: théorie, pratique et critique*. Paris: Médecine-Sciences Flammarion;1994:p39-55.
23. Olson MS. Bioenergetics and oxidative metabolism. In: Devlin TM, editor. *Textbook of biochemistry with clinical correlations*. New-York: Wiley-Liss;1997:p. 217-64.
24. Robinson BH. Human cytochrome oxidase deficiency. *Pediatr Res* 2000;48:581-5.
25. Lombes A, Romero NB, Touati G, Frachon P, Cheval MA, Giraud M, et al. Clinical and molecular heterogeneity of cytochrome c oxidase deficiency in the newborn. *J Inherit Metab Dis* 1996;19:286-95.
26. Von Kleist-Retzow JC, Vial E, Chantrel-Groussard K, Rotig A, Munnich A, Rustin P, et al. Biochemical, genetic and immunoblot analyses of 17 patients with an isolated cytochrome c oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta* 1999;1455:35-44.
27. Herbert V, Gardner A, Colman N. Mutagenicity of dichloroacetate, an ingredient of some formulations of pangamic acid (trade-named "vitamin B15"). *Am J Clin Nutr* 1980;33:1179-82.

28. Gray ME, Titlow LW. The effect of pangamic acid on maximal treadmill performance. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:424-7.
29. Herbert V. Pangamic acid ("vitamin B15"). *Am J Clin Nutr* 1979;32:1534-40.
30. Stacpoole PW, Henderson GN, Yan Z, James MO. Clinical pharmacology and toxicology of dichloroacetate. *Environ Health Perspect* 1998;106:989-94.
31. Binzak BA, Wevers RA, Moolenaar SH, Lee YM, Hwu WL, Poggi-Bach J, et al. Cloning of dimethylglycine dehydrogenase and a new human inborn error of metabolism, dimethylglycine dehydrogenase deficiency. *Am J Hum Genet* 2001;68:839-47.
32. Hariganesh K, Prathiba J. Effect of dimethylglycine on gastric ulcers in rats. *J Pharm Pharmacol* 2000;52:1519-22.
33. Tonda ME, Hart LL. N,N dimethylglycine and L-carnitine as performance enhancers in athletes. *Ann Pharmacother* 1992;26:935-7.
34. Graber CD, Goust JM, Glassman AD, Kendall R, Loadholt CB. Immunomodulating properties of dimethylglycine in humans. *J Infect Dis* 1981;143:101-5.
35. Bolman WM, Richmond JA. A double-blind, placebo-controlled, crossover pilot trial of low dose dimethylglycine in patients with autistic disorder. *J Autism Dev Disord* 1999;29:191-4.
36. Gascon G, Patterson B, Yearwood K, Slotnick H. N,N dimethylglycine and epilepsy. *Epilepsia* 1989;30:90-3.
37. Colman N, Herbert V, Gardner A, Gelernt M. Mutagenicity of dimethylglycine when mixed with nitrite: possible significance in human use of pangamates. *Proc Soc Exp Biol Med* 1980;164:9-12.
38. Hoorn AJ. Dimethylglycine and chemically related amines tested for mutagenicity under potential nitrosation conditions. *Mutat Res* 1989;222:343-50.

39. Dugas MA, Proulx F, de Jaeger A, Lacroix J, Lambert M. Markers of tissue hypoperfusion in pediatric septic shock. *Intensive Care Med* 2000;26:75-83.
40. Hoppel CL, Kerr DS, Dahms B, Roessmann U. Deficiency of the reduced nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase component of complex I of mitochondrial electron transport. *J Clin Invest* 1987;80:71-77.
41. Janvier A, Morin C, Robinson B, Lee N, DeBraekeleer M, Lambert M, et al. Clinical course of Saguenay-Lac St-Jean cytochrome oxidase deficiency (SLSJ-COX), a retrospective study. *J Inherit Metab Dis* 2000;23:S148.
42. Robinson BH, Glerum DM, Chow W, Petrova-Benedict R, Lightowlers R, Capaldi R. The use of skin fibroblast cultures in the detection of respiratory chain defects in patients with lacticacidemia. *Pediatr Res* 1990;28:549-55.
43. Keys A, editor. *The biology of human starvation*. Minneapolis: University of Minnesota Press; 1950
44. Ventham JC, Reilly JJ. Reproducibility of resting metabolic rate measurement in children. *Br J Nutr* 1999;81:435-7.
45. Munnich A, Rötig A, Chrétien D, Saudubray JM, Cormier V, Rustin P. Clinical presentations and laboratory investigations in respiratory chain deficiency. *Eur J Pediatr* 1996;155:262-74.
46. Mowat D, Kirby DM. Respiratory chain complex III deficiency with pruritus: a novel vitamin responsive clinical feature. *J Pediatr* 1999;134:352-4.
47. Lerman-Sagie T, Rustin P, Lev D, Yanoov M, Leshinsky-Silver E, Sagie A, et al. Dramatic improvement in mitochondrial cardiomyopathy following treatment with idebenone. *J Inherit Metab Dis* 2001;24:28-34.



48. Ogle RF, Christodoulou J, Fagan E, Blok RB, Kirby DM, Seller KL, et al. Mitochondrial myopathy with tRNA(Leu(UUR)) mutation and complex I deficiency responsive to riboflavin. *J Pediatr* 1997;130:138-45.
49. Bar-Meir M, Elpeleg ON, Saada A. Effect of various agents on adenosine triphosphate synthesis in mitochondrial complex I deficiency. *J Pediatr* 2001;139:868-70.
50. Stacpoole PW, Wright EC, Baumgartner TG, Bersin RM, Buchalter S, Curry SH, et al. A controlled trial of dichloroacetate for treatment of lactic acidosis in adults. The Dichloroacetate-Lactic Acidosis Study Group. *N Eng J Med* 1992;327:1564-9.

**Table 1.** Characteristics of children with SLSJ-COX included in the study, oxygen consumption ( $\text{VO}_2$ ), respiratory quotient (RQ) and caloric intake.

$\text{VO}_2$  ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ) and caloric intake ( $\text{kcal}\cdot\text{m}^{-2}$  per day) are expressed as the mean  $\pm$  standard deviation. Patients 1 and 2 received DMG before placebo and patients 3-5 received placebo first, according to randomization. No significant differences were found in  $\text{VO}_2$ . No effect of the order was found as mean  $\text{VO}_2$  was  $126 \pm 9 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  as measured during the first admission and  $121 \pm 11$  during the second admission ( $p=0.14$ ).

Mean baseline caloric intakes was greater before placebo than before DMG ( $p = 0.04$ ). Mean caloric intakes during the 3 days of treatment by placebo and during the 3 days of treatment by DMG did not differ significantly ( $p=0.69$ ).

Patient	1	2	3	4	5	<i>mean</i> ± <i>SD</i>
Age (years)	17	10	16	17	9	
Gender	M	F	F	M	F	
Height (cm)	167	135	144	153	133	
Weight (kg)	59	41	40	43	38	
VO <sub>2</sub> before Placebo	120 ± 11	132 ± 5	114 ± 5	135 ± 12	129 ± 5	126 ± 8
(RQ)	(0.85)	(0.86)	(0.86)	(0.76)	(0.85)	(0.84)
caloric intake	1807	1529	1619	1574	1280	1562 ± 190
VO <sub>2</sub> after Placebo	119 ± 10	122 ± 4	104 ± 6	127 ± 13	127 ± 6	120 ± 9
(RQ)	(0.91)	(0.88)	(0.86)	(0.84)	(0.86)	(0.87)
caloric intake	1476	1414	1246	993	1582	1342 ± 230
Δ VO <sub>2</sub> Placebo	-1	-10	-10	-8	-2	-6 ± 4
VO <sub>2</sub> before DMG	125 ± 8	129 ± 7	101 ± 5	124 ± 19	127 ± 7	121 ± 12
(RQ)	(0.83)	(0.85)	(0.88)	(0.80)	(0.89)	(0.85)
caloric intake	1560	1287	1222	1338	1272	1336 ± 132
VO <sub>2</sub> after DMG	124 ± 8	123 ± 3	103 ± 6	125 ± 8	127 ± 3	120 ± 10
(RQ)	(0.84)	(0.79)	(0.86)	(0.83)	(0.90)	(0.84)
caloric intake	1518	1205	1595	868	1716	1380 ± 343
Δ VO <sub>2</sub> DMG	-1	-6	2	1	0	-1 ± 3

**Table 2.** Blood pH, lactate, pyruvate, and plasma bicarbonate, DMG and betaine levels after placebo and after DMG treatment. Blood samples were taken shortly after each  $\text{VO}_2$  measurement. No significant effect of DMG treatment was observed.

Patient		1	2	3	4	5	<i>mean</i>	Reference range
Blood pH	placebo	7.41	7.42	7.40	7.43	7.41	7.41	7.36-7.44
	DMG	7.44	7.43	7.38	7.42	7.43	7.42	
Lactatemia (mmol.L <sup>-1</sup> )	placebo	2.6	4.2	2.1	1.9	2.5	2.7	1.0-1.8
	DMG	2.2	2.9	2.1	1.7	3.5	2.5	
Pyruvatemia (μmol.L <sup>-1</sup> )	placebo	125	223	122	102	108	136	34-125
	DMG	95	142	90	91	132	110	
Bicarbonatemia (mmol.L <sup>-1</sup> )	placebo	23	20	24	23	21	20	21-25
	DMG	24	20	24	25	22	24	
DMG plasma level (μmol.L <sup>-1</sup> )	placebo	1	0	NA	2	1	1	4-13
	DMG	475	868	689	698	353	617	
Betaine plasma level (μmol.L <sup>-1</sup> )	placebo	29	22	NA	24	25	24	20-144
	DMG	34	41	41	26	30	34	

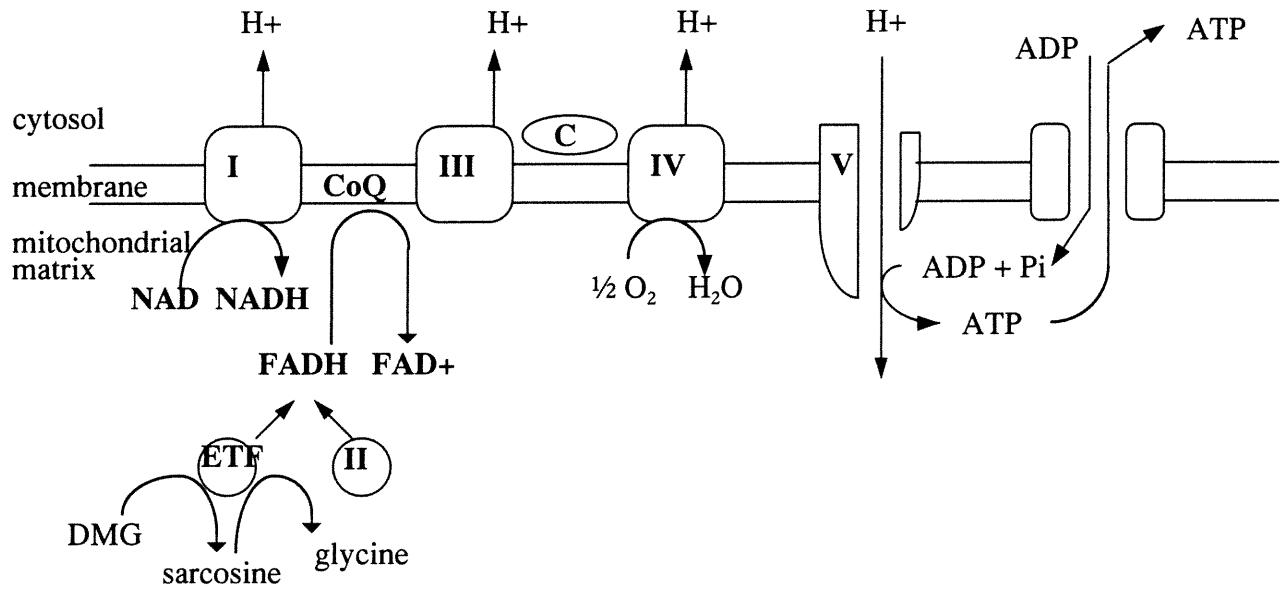
NA, not available

**Figure 1.** The electron transport chain.

In this figure, the cytosol is at the top of the picture and the mitochondrial body is under the mitochondrial membrane matrix. DMG is metabolized to sarcosine (N-methylglycine), donating an electron to FADH. Then, coenzyme Q serves as to transport electrons operating between reduced flavoproteins and complex III.

C: cytochrome C, CoQ: co-enzyme Q, NAD: nicotinamide adenine dinucleotide, ADP: adenosine diphosphate, ATP: adenosine triphosphate, ETF: electron-transfer flavoprotein, FAD: flavine adenine dinucleotide, I: complex I (NADH-CoQ reductase), II: complex II (succinate-CoQ reductase), III: complex III (ubiquinone-cytochrome-*c* reductase), IV: complex IV (cytochrome-*c* oxidase), V: complex V (ATPase), Pi: organic phosphorus.

Figure 1.



## CHAPITRE IV: Discussion et conclusion

### 1. DISCUSSION

Plusieurs remarques découlent des résultats observés.

Premièrement, les consommations globales en oxygène avant traitement de ces enfants souffrant d'une acidose congénitale due à un déficit en cytochrome *c* oxidase ( $101 - 135 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ) sont beaucoup plus faibles que celles publiées pour des enfants non malades ( $150 - 160 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ). Ces données, rarement rapportées dans la littérature médicale, reflètent l'importance de l'atteinte du métabolisme oxydatif.

Deuxièmement, cette étude permet également de souligner qu'un taux sanguin normal de lactate ne permet pas d'éliminer le diagnostic de cytopathie mitochondriale.

Troisièmement, cette étude clinique ne met pas en évidence d'effets de la DMG sur la consommation globale en oxygène chez des enfants souffrant d'une AL-COX-SLSJ. Ces résultats ne sont pas reliés à la séquence d'administration du traitement (2 enfants ont reçus d'abord le DMG, les 3 autres d'abord le placebo) ni à des différences de procédure. Le protocole que nous avons suivi pour la mesure de la  $\text{VO}_2$  a été démontré être très reproductible même chez l'enfant. Enfin, bien qu'un très petit nombre d'enfants ait été inclus, cette étude en chassé-croisé pouvait détecter une augmentation de la  $\text{VO}_2$  de l'ordre de  $16 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  avec une puissance de 80%. Malgré des taux sanguins élevés en DMG, aucune diminution de la lactacidémie n'a pas non plus été observée.

L'interprétation que nous avons avancée pour expliquer la petite différence non significative entre les différentes consommation d'oxygène repose sur l'analyse des données de l'enquête alimentaire. Nous



avons en effet émis l'hypothèse que les faibles variations de la consommation en oxygène étaient à rapprocher des variations des apports caloriques mesurés. La validité des enquêtes alimentaires repose sur la méthodologie utilisée [1-3]. La méthode la plus fiable semble être l'enquête sur plusieurs jours réalisée au moyen du journal alimentaire avec vérification par l'entretien avec l'enquêteur. C'est cette méthode qui a été utilisée.

Aucune bénéfice clinique n'a été observé. Les données de la littérature rapportent que la DMG est potentiellement toxique. En l'absence de toute efficacité prouvée, il n'est donc pas possible de recommander actuellement ce traitement.

Aucun traitement satisfaisant n'est malheureusement actuellement disponible pour traiter des personnes ayant une atteinte de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Le taux de mortalité chez les enfants ayant un déficit congénital en cytochrome C oxydase est effroyablement élevé en cas de décompensation. L'absence de thérapeutique efficace doit nous inciter à poursuivre la recherche dans ce domaine.

La méthode utilisée qui évalue donc la consommation en oxygène semble intéressante : d'une part elle est peu contraignante pour ces enfants fragiles, même si elle les oblige à séjourner quelques jours loin de leur domicile ; d'autre part les résultats, qui mettent en évidence des consommations basales en oxygène chez ces enfants très inférieures aux normes habituelles, semblent indiquer qu'une normalisation de ces valeurs par l'administration d'un traitement pourrait refléter l'intérêt de celui-ci. Il resterait toutefois à prouver que l'augmentation de la consommation en oxygène corresponde bien à une augmentation de l'anabolisme et non à un hypercatabolisme.

On pourrait imaginer tester ainsi dans l'avenir d'autres molécules issues de la recherche expérimentale.

## 2. CONCLUSION [4-7]

Le travail effectué dans le cadre de la maîtrise m'a permis d'approfondir mes connaissances dans le domaine de la recherche clinique.

Le protocole concernant l'étude de la diméthylglycine chez les enfants souffrant d'un déficit en cytochrome c oxidase était déjà rédigé lorsque j'ai commencé ma maîtrise. Je l'ai cependant amélioré et participé aux discussions concernant les derniers problèmes rencontrés pour sa réalisation. J'ai coordonné le déroulement des différents tests, dont la mesure de la consommation d'oxygène, effectués chez les enfants. Par la suite, je me suis occupé du recueil des données et de leur analyse statistique. L'interprétation des résultats m'a exposé à de nombreuses discussions avec différents experts. Les résultats ont été analysés en détail et interprétés en fonction de la méthodologie de l'essai.

J'ai présenté les résultats préliminaires lors d'une communication orale pendant le 3<sup>ème</sup> Congrès Mondial de Soins Intensifs Pédiatriques. Enfin, j'ai rédigé un article scientifique rapportant les résultats définitifs et nos conclusions.

Après une synthèse des connaissances disponibles, la question posée pour un essai doit donc être bien formulée, reposer sur des fondements scientifiques suffisants, et être utile pour la prise en charge des patients. Une étude ne peut répondre qu'à une question principale, dont la formulation détermine son schéma et le nombre de sujets qui seront inclus. Il est indispensable que la formulation de la question fasse l'objet d'une réflexion consensuelle et multidisciplinaire lors de la préparation de l'essai. La méthodologie doit ensuite exposer clairement les traitements comparés, la population de l'étude et le critère de jugement retenu.

Durant la maîtrise, la formation acquise lors des cours m'a apporté les bases pour rédiger un projet de recherche clinique. Cet essai, rapporté en annexe, est intitulé « essai clinique randomisé à double insu sur

le traitement non invasif des bronchiolites graves dues au virus respiratoire syncytial avec un mélange oxygène-hélium ». Il a été accepté et reconnu par le FRSQ (Fonds de la Recherche en Santé du Québec) comme un projet de recherche original (reconnaissance à 100%). Conçu initialement pour être fait dans un seul centre, il est devenu multicentrique à la demande de la compagnie qui a subventionné le projet. Cette étude est en cours et se déroule actuellement à Montréal (Québec), Ottawa (Ontario), Sherbrooke (Québec) et Nantes (France).

Ayant appris à réaliser une recherche clinique en concrétisant le projet sur la diméthylglycine chez les enfants souffrant d'un déficit en cytochrome c oxidase, mon travail sur l'hélium dans le traitement des bronchiolites graves m'a permis de compléter ma formation en rédigeant moi-même le protocole. La rédaction de celui-ci m'a amené à repérer et résoudre les difficultés méthodologiques d'un essai clinique. J'ai appris à extraire les données publiées concernant l'usage de l'hélium comme traitement des enfants en difficulté respiratoire et à en faire un bon compte-rendu. J'ai dû démontrer la pertinence clinique d'un tel traitement et en particulier son intérêt potentiel pour les enfants.

Des critères d'inclusion et d'exclusion ont été définis de façon à avoir une population homogène et donc espérer avoir par la suite des groupes comparables. La taille de l'effectif (nombre d'inclusion) nécessaire pour déterminer si le traitement est efficace ou non a été calculé après avoir défini le risque  $\alpha$  (la probabilité de conclure par erreur à une différence entre les 2 traitements alors que la différence n'existe pas) et le risque  $\beta$  (probabilité de conclure par erreur à l'absence de différence entre les 2 traitements alors que cette différence existe). Pour faire le calcul du nombre de sujets nécessaires, il a fallu définir auparavant un critère principal d'efficacité.

Une randomisation a été prévue de façon à s'affranchir le plus possible de facteurs confondants. Elle permet la répartition aléatoire des malades entre les 2 groupes et donc l'imprévisibilité du traitement alloué.

L'étude a été conçue en double insu pour que l'efficacité thérapeutique ne soit pas biaisée par l'impression que le malade ou le médecin peuvent avoir des traitements à l'étude. Il a fallu utiliser de nombreux artifices techniques et une grande rigueur pour que le double-insu puisse être maintenu jusqu'à la fin des résultats.

J'ai aussi démontré la faisabilité de l'étude à partir du nombre d'enfants hospitalisés les années précédentes pour bronchiolites, des traitements déjà utilisés, des compétences existantes des équipes médicales et paramédicales.

L'aspect éthique de cette recherche sur l'humain a été abordé. L'avis favorable du comité d'éthique a dû être sollicité et obtenu. Une lettre d'information concise et claire permettant un consentement éclairé des familles a été rédigée en français et en anglais.

Des prévisions budgétaires ont été faites. Le projet a été soumis à un organisme nord-américain apte à subventionner une telle étude.

J'ai appris également bien des choses sur la validation du livret d'observation, sur la préparation et la validation de la base de données, sur l'enseignement à donner aux différents centres hospitaliers participant à l'étude, sur la surveillance à maintenir durant la recherche, sur l'assurance de qualité des données obtenues.

En conclusion, je pense que cette maîtrise m'aura donné l'occasion d'être confronté aux problèmes courants de la recherche clinique. Elle m'aura permis de concrétiser un essai clinique puis de rédiger un article scientifique rapportant les résultats de cet essai. Enfin, j'ai appris à construire moi-même un tel projet qui, à son tour, est en cours de réalisation.

#### Références bibliographiques :

1. Davies PS, Coward WA, Gregory J, White A, Mills A. Total energy expenditure and energy intake in the pre-school child : a comparison. Br J Nutr 1994 ;72 :13-20.

2. Kaskoun MC, Johnson RK, Goran MI. Comparison of energy intake by semiquantitative food-frequency questionnaire with total energy expenditure by the doubly labeled water method in young children. *Am J Clin Nutr* 1994 ;60 :43-7.
3. O'Connor J, Ball EJ, Steinbeck KS, Davies PS, Wishart C, Gaskin KJ, Baur LA. Comparison of total energy expenditure and energy intake in children aged 6-9 y. *Am J Clin Nutr* 2001 ;74 :643-9.
4. Fleiss JL. *The design and analysis of clinical experiment*. New York: John Wiley & Sons, 1986
5. Huguier M, Flahault A. *Biostatistiques au quotidien*. Paris : Elsevier, 2000.
6. Bouvenot G, Vray M. *Essais Cliniques : théorie, pratique et critique*. Paris :Médecine-Sciences Flammarion, 1994.
7. Jenicek M, Cléroux R. *Epidémiologie clinique*. Québec :Edisem, 1985.

## ANNEXE

### UN ESSAI CLINIQUE RANDOMISÉ À DOUBLE INSU SUR LE TRAITEMENT NON INVASIF DES BRONCHIOLITES GRAVES DUES AU VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL AVEC UN MÉLANGE OXYGÈNE-HÉLIUM

par Jean-Michel Liet\*, M.D., Jacques Lacroix\*, M.D., Sylvain Morneau†, Inh., Isabel Fortier°, M.D.,  
Ph.D., Marisa Tucci\*, M.D., France Gauvin\*, M.D.

Projet accepté et reconnu par le FRQS, Fonds de la Recherche en Santé du Québec.

Projet subventionné et commandité par la Compagnie AIR LIQUIDE Santé INTERNATIONAL.

\* Section des soins intensifs pédiatriques, Département de Pédiatrie, Université de Montréal; Centre de  
Recherches, hôpital Sainte-Justine.

† Service d'inhalothérapie, hôpital Sainte-Justine.

° Groupe de Recherches cliniques, Centre de Recherches, hôpital Sainte-Justine.

Chercheurs locaux: Jean-Michel Liet (CHU de Nantes, France), France Gauvin, M.D. (Hôpital Sainte-  
Justine, Montréal); James S. Hutchison, M.D. (Children's Hospital of Eastern Ontario, Ottawa); Sophie  
Laflamme, M.D. (Centre Universitaire de Santé de l'Estrie, Sherbrooke).

L'ensemble de ces mesures permettra d'uniformiser l'échantillon, ce qui devrait faciliter l'interprétation des résultats.

## 2.2 INTUBATION ET VENTILATION MÉCANIQUE

La bronchiolite est la pathologie la plus fréquemment rencontrée en pédiatrie (chez le nourrisson) durant la période hivernale [4]. Elle expose à une détresse respiratoire aiguë nécessitant parfois une ventilation mécanique en pression positive au masque ou par une sonde nasopharyngée ou endotrachéale. L'intubation — nasopharyngée ou endotrachéale — et la ventilation mécanique au masque ou par sonde nasopharyngée ou endotrachéale permettent d'assurer l'oxygénation du patient dans les formes graves, mais toutes ces mesures thérapeutiques comportent plusieurs inconvénients.

L'intubation nasopharyngée permet d'offrir au malade une assistance respiratoire en pression positive tout en lui laissant la chance de ventiler spontanément; on peut même ajouter une fréquence respiratoire au besoin. Ce mode de ventilation spontanée avec PEP (VS-PEP) associé ou non à une fréquence respiratoire est réalisé au moyen d'une sonde d'intubation posée par le nez, dont l'extrémité ne dépasse pas le nasopharynx et qui est reliée à un respirateur par son circuit habituel. L'avantage de cette méthode, c'est qu'elle ne nécessite pas la mise en place d'une sonde dans la trachée, ce qui élimine tous les risques inhérents à ce type d'intubation. De plus, le confort du patient est meilleur puisque c'est lui qui mène sa respiration et qui déclenche le respirateur plutôt que l'inverse, du moins jusqu'à un certain point (cela dépend de la fréquence respiratoire prescrite). Par contre, le soutien respiratoire apporté par cette méthode de ventilation mécanique non invasive est moins puissant qu'une ventilation mécanique administrée par une sonde endotrachéale. On pourrait donc douter de l'efficacité de cette approche thérapeutique, mais certaines données de la littérature médicale laissent entendre qu'elle peut s'avérer utile dans certains cas de bronchiolite grave. En effet, plusieurs auteurs ont eu recours avec succès à une ventilation à pression positive continue par voie nasale (CPAP) avec ou sans fréquence inspiratoire [5-7]; il faut reconnaître toutefois qu'aucun essai clinique de qualité n'a été fait pour prouver l'efficacité de cette stratégie thérapeutique. Les inconvénients d'une intubation nasopharyngée sont mal connus. Il est possible qu'elle nuise à la respiration des nourrissons âgés de quelques semaines, car ceux-ci n'ont pas le réflexe de respirer par la bouche en cas d'obstruction nasale (c'est ce qui explique qu'un nouveau-né puisse mourir d'une atrésie des choanes). De plus, ces sondes imposent inévitablement une certaine résistance à la respiration. Elles peuvent en outre s'obstruer complètement, ce qui peut empirer la détresse respiratoire du patient et même causer un arrêt respiratoire chez les tout petits. Finalement, l'utilité de l'intubation nasopharyngée reste à démontrer. C'est donc dire qu'en réalité, le rapport coûts/utilité de l'intubation nasopharyngée pour traiter une bronchiolite grave du nourrisson est inconnu. Cependant, les intensivistes de l'hôpital Sainte-Justine ont pris l'habitude de recourir souvent à cette méthode thérapeutique avant de se résoudre à mettre en place une sonde endotrachéale chez les nourrissons souffrant d'une bronchiolite grave, à moins que le patient ne soit épuisé ou que l'insuffisance respiratoire ne soit gravissime (exemple:  $PCO_2 > 100$  mm Hg). Les principaux investigateurs du présent essai clinique ont donc jugé bon de respecter cette coutume clinique; c'est pourquoi ils laisseront au médecin traitant le choix d'intuber un patient par voie nasopharyngée ou endotrachéale lorsqu'un cas donné répondra aux critères de ventilation mécanique décrits plus loin.

L'intubation endotrachéale est plus envahissante que l'intubation nasopharyngée, mais c'est une mesure thérapeutique dont l'utilité ne fait pas de doute dans les cas d'insuffisance respiratoire particulièrement grave. Malheureusement, elle comporte plusieurs inconvénients. Une sonde d'intubation endotrachéale stimule inévitablement la trachée et les voies aériennes inférieures, ce qui accroît le risque de bronchospasme et augmente la production de sécrétions trachéobronchiques. L'intubation trachéale constitue donc un facteur supplémentaire de détérioration dans les pathologies caractérisées par une hyper-réactivité bronchique et par une augmentation des sécrétions, comme la bronchiolite [8]. L'intubation trachéale supprime la défense anatomique contre les infections pulmonaires que constitue la barrière glottique. De plus, une sonde endotrachéale rend moins efficace la toux des patients en faisant obstacle à l'expulsion normale des sécrétions respiratoires par le larynx. L'intubation trachéale augmente ainsi le risque de contracter une pneumopathie nosocomiale bactérienne [9, 10]. Elle s'accompagne d'un risque de lésions laryngo-trachéales allant du simple œdème trachéal à la sténose sous-glottique, pouvant nécessiter une correction chirurgicale complexe. Il peut même arriver que les sécrétions respiratoires obstruent complètement la sonde endotrachéale, ce qui peut évidemment entraîner un arrêt respiratoire. Enfin, chez l'adulte, il a été démontré que la ventilation assistée sur sonde d'intubation endotrachéale est souvent inconfortable et source d'anxiété pour la personne ventilée [10]. L'usage d'une sonde endotrachéale pour traiter une bronchiolite n'est donc pas une manœuvre sans dangers ni sans inconvénients.

Une ventilation mécanique au masque comporte l'avantage de ne pas exposer le patient aux complications inhérentes aux sondes nasopharyngées ou endotrachéales. Cependant, c'est un mode de ventilation moins efficace, car l'on ne peut imposer des pressions positives très élevées. En outre, certains nourrissons tolèrent très mal le masque. De plus, le masque doit être scellé au visage et la compression qu'il faut donc absolument exercée pour parvenir à accorder une assistance respiratoire significative peut blesser l'enfant au visage, tout particulièrement à la base du nez. L'utilité d'une ventilation mécanique au masque pour traiter une insuffisance respiratoire causée par une bronchiolite reste aussi à démontrer. C'est quand même un mode de ventilation auquel nous recourons assez régulièrement avant de se résoudre à mettre une sonde endotrachéale si l'état du patient permet d'essayer pendant un certain temps cette stratégie thérapeutique. Les principaux investigateurs du présent essai clinique ont donc jugé bon de respecter aussi cette coutume clinique; c'est pourquoi ils laisseront au médecin traitant le choix d'entreprendre une ventilation au masque lorsqu'un cas donné répondra aux critères de ventilation mécanique décrits plus loin.

Une ventilation mécanique par une sonde endotrachéale constitue la seule méthode d'assistance respiratoire qui puisse offrir au patient un repos complet de ses muscles respiratoires. C'est parfois la seule mesure qui permette de sauver un malade en insuffisance respiratoire, mais elle n'est pas non plus sans dangers. Elle peut s'avérer de réalisation difficile au cours d'une bronchiolite grave en raison de l'obstruction des bronchioles: cette obstruction oblige souvent à ventiler l'enfant avec une forte pression de crête (pression inspiratoire positive ou PIP en français, peak inspiratory pressure en anglais), ce qui comporte un risque de barotraumatisme; il peut aussi en résulter une rétention de gaz en phase expiratoire, puis éventuellement une surdistension alvéolaire dont on peut évaluer l'importance en examinant les radiographies pulmonaires du patient ou en mesurant sa PEP intrinsèque (PEPi). De plus, cette obstruction est inhomogène, ce qui peut empirer localement les problèmes ventilatoires et amplifier le risque de causer un barotraumatisme dans les zones mieux ventilées. Finalement, il faut signaler que toute ventilation mécanique nécessite l'usage d'un matériel coûteux (respirateur, nombreux appareils de surveillance comme un oxymètre de pouls, épreuves de laboratoire comme les gaz sanguins, etc.).

Toute mesure thérapeutique qui permettrait de prévenir ou d'obvier aux besoins d'une intubation nasopharyngée ou endotrachéale ou d'une assistance respiratoire par ventilation mécanique en pression positive serait donc la bienvenue. Certaines données suggèrent que l'hélium permettrait de soulager significativement certains patients présentant une obstruction des voies aériennes en diminuant l'effort respiratoire qu'il leur faut fournir; on peut donc espérer que l'hélium puisse réduire le risque qu'il faille entreprendre une ventilation mécanique en pression positive pour un cas grave de bronchiolite. C'est pourquoi nous proposons de réaliser un essai clinique randomisé à double insu dans le but de vérifier si l'administration d'hélium permet de prévenir un certain nombre de ventilation mécanique au masque ou par sonde nasopharyngée ou endotrachéale chez des nourrissons souffrant d'une bronchiolite grave due au VRS. Dans cet essai clinique, nous n'incluons que des cas de bronchiolite grave définie par une admission aux soins intensifs et une  $\text{PaCO}_2 > 50 \text{ mm Hg}$ , une  $\text{SpO}_2 < 92 \%$  à l'air ambiant ou une  $\text{PaO}_2 < 40 \text{ mm Hg}$  à l'air ambiant.

### 2.3 CONSIDÉRATIONS CONCERNANT LE MÉLANGE HÉLIUM-OXYGÈNE

L'hélium est un gaz inerte qui n'interagit pas avec les tissus vivants et qui n'a pas de toxicité propre. Sa densité est plus faible que celle de l'azote et de l'oxygène: la densité de l'hélium est de  $0,178 \text{ g/L}$  ( $0^\circ\text{C}$ ,  $1 \text{ atmosphère}$ ) alors que celle de l'azote est de  $1,251 \text{ g/L}$ , soit 7 fois plus. Un mélange à 80% d'hélium et 20% d'oxygène a une densité approximativement égale au tiers de l'air. Ainsi, selon la loi de Poiseuille qui détermine la résistance à l'écoulement d'un gaz au travers d'un orifice, ce mélange a une résistance à l'écoulement trois fois plus faible que celle de l'air:

$$R = \{(\eta \times l) \div (\pi \times r^4)\}$$

où R = résistance,  $\eta$  = densité du gaz, l = longueur du conduit et r = rayon du conduit.

Les unités «Reynolds» expriment le rapport entre les propriétés cinétiques et visqueuses d'un gaz ou d'un mélange gazeux; ce rapport permet de prédire si un flux gazeux sera turbulent ou laminaire dans un tube donné, le flux devenant généralement turbulent lorsque le nombre de Reynolds dépasse 2000 Unités Reynolds [11]. L'équation permettant de calculer le nombre de Reynolds est la suivante:

$$\text{Re} = \{(\rho \times v \times d) \div \mu\}$$

où Re = nombre de Reynolds,  $\rho$  = densité du gaz, v = vitesse de l'écoulement, d = diamètre du conduit et  $\mu$  = viscosité du gaz. Le nombre de Reynolds de l'air dans les voies aériennes d'un patient en difficulté respiratoire et tachypnéique ("high flow condition") comme un asthmatique en crise se chiffre entre 2100 et 2500 U [11]. La faible densité de l'hélium permet de diminuer le nombre de Reynolds et en pratique, de transformer un tel flux turbulent en un flux laminaire, ce qui diminue beaucoup le travail ventilatoire nécessaire aux échanges gazeux. Le gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ) diffuse également 3 à 4 fois plus vite dans un mélange  $\text{O}_2/\text{He}$  que dans un mélange  $\text{O}_2/\text{azote}$  [12].



Par ailleurs, il faut savoir que les effets de l'hélium diminuent dès que les apports gazeux doivent contenir plus de 40% d'oxygène, c'est-à-dire moins de 60% d'hélium. Ainsi, plus les besoins en oxygène d'un malade s'élèvent, moins la concentration en hélium pourra être importante et moins le mélange O<sub>2</sub>/He aura d'effets thérapeutiques. Cependant, une concentration en hélium inférieure à 60% n'est probablement pas totalement sans effets. Dans l'essai clinique, nous administrerons le taux maximal d'hélium possible, mais sans abaisser la FiO<sub>2</sub> à des taux si bas qu'ils puissent nuire à une bonne oxygénation du patient; de plus, les résultats de l'étude seront analysés en intention de traiter. Au cours de l'essai clinique, nous ne nous gênerons donc pas pour diminuer au besoin la fraction inspirée en hélium (FiHe) en bas de 60%, quitte même à cesser l'hélium si nécessaire.

Un effet bénéfique du mélange O<sub>2</sub>/He a été rapporté en cas d'obstruction des voies aériennes supérieures: œdème sous-glottique, trachéomalacie, stridor post-extubation, compression extrinsèque d'une bronche souche [13]. Les données sont moins solides en ce qui concerne les maladies caractérisées par une obstruction des voies aériennes inférieures.

Il y a peu d'études sur l'hélium comme traitement de la bronchiolite, mis à part trois séries de cas [14-16]. Une étude de Gross et al. [14] faite chez des nourrissons ventilés suggère que le mélange O<sub>2</sub>/He diminue le gradient alvéolo-artériel en oxygène. L'obstruction des petites voies aériennes observée dans les cas de bronchiolite est très semblable à celle rencontrée dans la crise d'asthme. Or il existe plusieurs études cliniques corroborant l'intérêt thérapeutique du mélange O<sub>2</sub>/He dans la prise en charge de la crise d'asthme grave: amélioration du transport des particules inhalées [17], diminution du recours à l'intubation chez des enfants asthmatiques [18], diminution des paramètres ventilatoires [11, 19, 20] et augmentation des flux expiratoires [21]. L'essai clinique randomisé de Kass et Teregino [22] a corroboré ces données en démontrant qu'un mélange O<sub>2</sub>/He de 30%/70% constitue un traitement efficace de l'état de mal asthmatique grave chez des adultes non intubés. L'intérêt de l'hélium a également été retrouvé dans la dysplasie bronchopulmonaire, une autre affection comportant une hyper-réactivité bronchique [23]. Il existe donc plusieurs données qui suggèrent que l'hélium pourrait constituer un traitement intéressant de la bronchiolite, d'où l'essai clinique que nous proposons.

#### 2.4 CONSIDÉRATIONS CONCERNANT LA CAGOULE

Nous nous servons d'une cagoule pour administrer un mélange O<sub>2</sub>/He ou O<sub>2</sub>/azote aux patients inclus dans l'étude. Une cagoule est un sac en plastique transparent dans lequel circule un flux continu de gaz humidifiés, comme un mélange d'oxygène et d'hélium. La cagoule recouvre entièrement la tête de l'enfant; elle est maintenue en place à l'aide d'un lien qui doit être légèrement resserré sur un jersey placé autour du cou de l'enfant de telle sorte que le système soit assez étanche pour que le sac puisse se gonfler. L'épuration du CO<sub>2</sub> est assurée par le flux gazeux qui circule dans la cagoule à un débit d'au moins 9 litres par minute.

La cagoule constitue un système peu onéreux qui a surtout le mérite de permettre d'administrer des gaz respiratoires (oxygène, azote, hélium) à des concentrations beaucoup plus stables qu'une cage faciale, laquelle constitue encore dans bien des milieux la façon standard d'administrer ces gaz à des nourrissons non intubés [24, 25]; l'administration de gaz par une cagoule semble aussi plus fiable qu'avec une lunette nasale ou un masque facial, deux autres méthodes souvent employées en pédiatrie. Cette stabilité du taux des gaz données par cagoule est due au fait qu'elle est plus étanche. Nous avons démontré sur un modèle inanimé utilisant une poupée que la variation de la FiO<sub>2</sub> était indétectable à l'intérieur d'une cagoule au travers de laquelle passait un flux de 9, 12 ou 15 L/min d'un mélange O<sub>2</sub>/azote (FiO<sub>2</sub> de 40%) [24]. De plus, la cagoule n'entraîne pas une majoration des sécrétions rhinopharyngées. Le confort de l'enfant est également meilleur, car il n'est pas dérangé par un tube dans le nez ni par un masque appuyé contre son visage.

La cagoule constitue un système qui est utilisé depuis de nombreuses années, mais il faut en réserver l'emploi dans un service de soins intensifs, car il nécessite la présence constante d'une infirmière au chevet et un monitoring continu avec alarme centralisée au cas où le sac se dégonflerait et viendrait obstruer les voies aériennes supérieures du patient. Aucun incident grave n'a été rapporté à ce jour.

Par ailleurs, on pourrait craindre qu'un sac gonflable fermé comme une cagoule puisse nuire à l'évacuation du gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) expiré par le patient. Tel n'est pas le cas: nous avons vérifié au cours d'une étude-pilote chez quelques patients souffrant d'une bronchiolite grave que la fraction expirée de CO<sub>2</sub> (FeCO<sub>2</sub>) contenue dans les cagoules ne dépasse pas 0,03%, ce qui correspond à la concentration de CO<sub>2</sub> (FeCO<sub>2</sub>) contenue habituellement dans le circuit expiratoire des patients recevant une assistance respiratoire [24, 25].

Enfin, le système est difficilement utilisable chez des enfants de plus d'un an, étant donné la petite dimension des sacs gonflables. Les cagoules sont en effet trop petites pour s'adapter confortablement à un nourrisson pesant plus de 10 kg. C'est pourquoi les patients pesant plus de 10 kg seront exclus de l'étude.

## 2.5 CONSIDÉRATIONS CONCERNANT LA PRESSION POSITIVE CONTINUE

Le maintien d'une pression positive continue, y compris pendant l'expiration (on parle alors de PEP ou de pression positive expiratoire en français, de PEEP ou de Positive End Expiratory Pressure en anglais), permet de maintenir les voies aériennes ouvertes en fin d'expiration et de prévenir l'apparition d'atélectasies. Les atélectasies sont fréquentes dans les cas de bronchiolite grave, d'où l'intérêt potentiel d'une PEP dans ces circonstances; par contre, la même PEP pourrait théoriquement nuire à l'expiration des patients souffrant d'une obstruction des voies aériennes inférieures, ce qui constitue justement le problème principal des bronchiolites. Il n'est donc pas clair si une PEP constitue un traitement favorable ou nuisible pour les cas de bronchiolite grave, mais les données de la littérature suggèrent que les bénéfices dépassent les inconvénients pour cette modalité thérapeutique. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté qu'une pression positive continue (CPAP ou Continuous Positive Airway Pressure) exercée par voie nasale à l'aide d'une sonde d'intubation nasopharyngée améliorait le sort des enfants souffrant d'une bronchiolite [5-7, 26, 27]. Il reste que l'utilité d'une PEP chez les enfants traités pour bronchiolite reste à prouver. Au cours de l'essai clinique, nous laisserons au médecin traitant le choix d'administrer ou non une PEP au patient.

Les gaz administrés par une cagoule le sont à l'aide d'un flux gazeux continu. Ce flux doit être assez important pour faire gonfler la cagoule, sans quoi le patient ne peut respirer à son aise, car le sac peut venir s'accoler à son visage et obstruer ses voies aériennes supérieures. Le débit gazeux requis pour gonfler une cagoule de façon convenable pourrait donc théoriquement entraîner l'apparition d'une PEP significative. Nous nous sommes effectivement demandés quelle PEP une cagoule peut générer. Nous avons démontré sur un modèle inanimé qu'un flux de 9 ou 12 L/mn d'un mélange O<sub>2</sub>/azote (FiO<sub>2</sub> de 40%) générerait dans une cagoule une PEP se chiffrant à environ 0,25 cm H<sub>2</sub>O et qu'un flux de 15 L/mn générerait une PEP d'environ 0,5 cm H<sub>2</sub>O [24]. Aucune étude n'a été réalisée jusqu'à présent chez l'humain pour préciser la pression réellement reçue par le malade avec des flux semblables, mais des données préliminaires obtenues chez quelques nourrissons traités aux soins intensifs de l'hôpital Sainte-Justine démontrent que la PEP exercée par une cagoule dans laquelle circule un débit gazeux de 12 litres par minute se chiffre aux environs de 0.5 cm H<sub>2</sub>O [25]. L'effet PEP que pourrait exercer une cagoule risque donc d'être négligeable étant donné les débits de gaz que nous comptons administrer au cours de l'étude, lesquels devraient se chiffrer entre 9 et 15 L/min. Il reste qu'au cours de l'essai clinique que nous proposons, les patients se verront tous imposer en même temps une discrète PEP (< 1 cm H<sub>2</sub>O) que l'usage d'une cagoule impose inévitablement.

## 2.6 QUESTIONS DE L'ÉTUDE

La question principale de l'étude que nous proposons est de vérifier si l'administration d'hélium permet de prévenir un nombre cliniquement et statistiquement significatif de ventilation mécanique au masque ou par sonde nasopharyngée ou endotrachéale chez des nourrissons souffrant d'une bronchiolite à VRS grave.

Dans cet essai clinique, les patients recevront leur mélange gazeux (O<sub>2</sub>/He ou O<sub>2</sub>/azote) par une cagoule dans laquelle nous veillerons à ce que la PEP ne dépasse pas 1 cm H<sub>2</sub>O. De plus, la FeCO<sub>2</sub> dans la cagoule sera surveillée de près afin d'éviter toute rétention indue de CO<sub>2</sub> par le patient que la cagoule pourrait induire.

## 3. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 3.1 ÉCHANTILLON

#### 3.1.1 Critères d'inclusion

Tous les patients admis en réanimation pédiatrique pour une bronchiolite seront considérés comme éligibles pour cette étude. Les patients éligibles qui répondront à tous les critères suivants seront inclus dans l'étude:

1. enfant âgé de moins de 9 mois, pesant moins de 10 kg;
2. diagnostic de bronchiolite basé sur la présence d'au moins deux des critères suivants: tachypnée, tirage, sifflement à l'auscultation, distension pulmonaire à la radiographie pulmonaire;
3. première bronchiolite;
4. signe d'insuffisance respiratoire (ex. PaCO<sub>2</sub> > 50 mm Hg, SpO<sub>2</sub> < 92 % à l'air ambiant ou PaO<sub>2</sub> < 40 mm Hg) justifiant une surveillance aux soins intensifs;
5. radiographie pulmonaire compatible avec le diagnostic de bronchiolite (distension pulmonaire, atélectasies, pas de pneumopathie alvéolaire systématisée);
6. présence de VRS dans les sécrétions rhinopharyngées (test rapide: Abbott TESTPACK® VRS, Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois).

7. accord des parents (cet accord pourra initialement être uniquement oral, mais il devra impérativement être confirmé par écrit dans les 48 heures par l'un des deux parents ou un tuteur légal en signant le formulaire de consentement qui se trouve en annexe).

### 3.1.2 Critères d'exclusion

Les patients éligibles qui présenteront l'un des critères suivants seront d'emblée exclus de l'étude (exclusion a priori; un seul critère suffit pour exclure un patient):

1. enfant déjà intubé (intubation nasopharyngée ou endotrachéale);
2. enfant déjà sous ventilation mécanique au masque ou par sonde nasopharyngée ou endotrachéale;
3. délai après entrée dans le service de réanimation dépassant 8 heures;
4. indication posée pour un traitement par ribavirine;
5. pneumothorax ou pneumomédiastin;
6. mucoviscidose (fibrose kystique du pancréas);
7. cardiopathie cyanogène non corrigée ou décompensation cardiaque d'une cardiopathie;
8. myopathie et maladie neuromusculaire;
9. manifestations respiratoires d'une allergie aux protéines bovines;
10. refus d'inclusion dans l'étude de la part des parents ou du tuteur;
11. refus d'inclusion de la part du médecin traitant.

Les patients qui présenteront l'un des critères suivants après le début de l'étude seront exclus de l'essai clinique avant analyse des résultats (attrition ou exclusion a posteriori; un seul critère suffit pour exclure un patient): le dossier s'est perdu; le dossier est trop incomplet pour que l'on puisse l'inclure dans l'étude; des erreurs d'enregistrement des données obligent à exclure le cas.

Des observations minimales seront compilées sur les patients exclus — a priori et a posteriori — afin de vérifier si l'échantillon retenu est biaisé ou non. Ces observations spécifiées dans le livret d'observation comprennent des données démographiques ainsi que des données cliniques disponibles lors de l'admission dans le service de réanimation ou au moment où le patient aurait été inclus dans l'étude (baseline data).

### 3.1.3 Taille de l'échantillon

Nous émettons l'hypothèse nulle ( $H_0$ ) que nous ne trouverons pas de différence statistiquement significative entre le taux d'intubation des patients ayant été traités avec un mélange  $O_2/He$  et celui des nourrissons ayant été traités avec un mélange  $O_2/azote$ . Le calcul de la taille de l'échantillon a été fait à l'aide du logiciel InStat version 2.03 for MacIntosh (GraphPad, Lawson Research Institute, U.S.A., 1994); les résultats sont exposés dans le tableau 1. Les critères de signification retenus sont une erreur de type I  $< 5\%$  ( $\alpha = 0,05$ ) pour un test bilatéral et une erreur de type II  $< 20\%$ , soit une puissance = 0,8 ( $\beta = 0,2$ ). Nous nous attendons à ce qu'environ 15% des enfants du groupe expérimental (hélium) et environ 65% des enfants du groupe contrôle aient à subir une ventilation mécanique en pression positive (différence de 50%). Il faudra alors inclure 18 enfants dans chaque groupe de l'essai clinique pour disposer d'un échantillon susceptible de démontrer une différence statistiquement significative.

Dans l'essai clinique de Guerguerian et al. [28] qui portait sur l'efficacité de la ribavirine comme traitement des cas de bronchiolite intubés, nous avons observé une attrition de 5% (2 cas parmi 44 patients). On s'attend donc à ce que l'attrition dans le présent essai clinique soit  $< 5\%$ . Lachin [29] propose l'équation suivante pour calculer la taille d'un échantillon en tenant compte de l'attrition:

$$n_{\text{corrigé}} = n/(1-R)^2$$

où  $n = 18$  et  $R = 5\%$  ( $R =$  taux d'attrition attendu). On obtient un  $n$  corrigé de 20 cas dans chacun des deux groupes, soit 40 cas de bronchiolite grave au total.

TABLEAU 1. CALCUL DE LA TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

% intubés	d = 40%	d = 50%	d = 60%
10%	25 (10% vs 50%)	17 (10% vs 60%)	13 (10% vs 70%)
15%	26 (15% vs 55%)	18 (15% vs 65%)	13 (15% vs 75%)
20%	28 (20% vs 60%)	19 (20% vs 70%)	13 (20% vs 80%)

En ordonnée: proportion d'enfants intubés dans le groupe hélium.

En abscisse: différence (d) minimale jugée significative.

Entre parenthèses: (% d'enfants intubés dans le groupe hélium versus % d'enfants intubés dans le groupe contrôle).

### 3.2 DÉFINITION DES TERMES ET MÉTHODES DE SURVEILLANCE

#### 3.2.1 Identification du VRS et des autres pathogènes

La détection rapide du VRS est nécessaire pour confirmer l'éligibilité d'un patient pour l'étude; elle sera faite au lit du malade par détection antigénique dans les sécrétions rhinopharyngées en se servant d'un test rapide (Abbott TESTPACK® VRS, Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois) que nous avons déjà employé pour une autre étude sur les bronchiolites graves [28]; cela prend moins de 20 minutes pour réaliser ce test.

La culture virale à partir des sécrétions rhinopharyngées est réalisée de routine dans le service de réanimation pédiatrique de l'hôpital Sainte-Justine lorsqu'une bronchiolite cause une détresse respiratoire suffisamment grave pour justifier l'admission aux soins intensifs. Ces cultures virales permettront de confirmer la présence de VRS. Cependant, les faux négatifs sont fréquents, car la culture du VRS n'est pas un test parfaitement fiable; les patients qui ne présenteront pas de VRS à la culture seront donc gardés dans l'étude. De telles cultures virales pourraient aussi mettre en évidence un autre virus que le VRS. Les patients qui présenteront un autre virus à la culture des sécrétions respiratoires seront malgré tout conservés dans l'échantillon de l'étude si le test rapide pour le VRS était bien positif.

Les laryngotrachéites bactériennes constituent une complication assez fréquente des bronchiolites graves: Guerguerian et al. [28] en rapportent dans 14% des cas de bronchiolite ayant nécessité une intubation endotrachéale. On pourrait imaginer que les cas de bronchiolite grave associés à une laryngotrachéite bactérienne répondent moins bien à l'hélium, car l'hélium ne devrait pas agir sur le pus qui obstruent les bronches de ces patients [30]. Il serait donc important de s'assurer que la proportion de patients inclus dans l'essai clinique et présentant une laryngotrachéite bactérienne soit semblable dans le groupe expérimental traité à l'hélium et dans le groupe contrôle. Une culture bactérienne des sécrétions endotrachéales sera donc faite chez tous les patients intubés dans la trachée afin de détecter ce genre d'infections, comme cela se fait présentement de façon standard dans notre service de réanimation.

#### 3.2.2 Randomisation, assignation, temps zéro et données de base

Les enfants éligibles qui répondront aux critères d'inclusion sans présenter un critère d'exclusion a priori seront distribués par randomisation dans l'un des deux groupes, après accord des parents et détection du VRS dans les sécrétions rhinopharyngées. La randomisation entre les deux groupes sera faite à l'aide d'une table de nombres aléatoires afin de minimiser tout biais de sélection. Après randomisation, les enfants seront inclus, soit dans le groupe oxygène/hélium (O<sub>2</sub>/He), soit dans le groupe O<sub>2</sub>/azote. Après signature du formulaire de consentement par les parents du patient, un inhalothérapeute vérifiera quel est le numéro du patient sur le tableau prévu à cet effet (annexe 10.9), puis il prendra l'enveloppe du patient portant le même numéro: l'assignation prévue pour chaque patient a déjà été indiquée dans ces enveloppes dont le contenu est précisé dans la section 4.2 du protocole.

Le temps zéro correspondra au positionnement de l'enfant dans la cagoule pour les deux groupes; le temps zéro correspondra aussi au début du traitement avec le mélange O<sub>2</sub>/He pour les patients du groupe expérimental. Les données de base recueillies au temps zéro seront:

1. le numéro de dossier du patient à l'hôpital
2. la date de naissance
3. le terme de naissance, c'est-à-dire la durée de la grossesse (en semaines)

4. le sexe
5. l'origine ethnique (asiatique, caucasien, natif canada, africain)
6. le poids (en kg)
7. les antécédents médicaux
8. la notion d'asthme chez les parents
9. la notion de tabagisme chez les parents
10. la date du début des symptômes (rhinorrhée, toux, respiration sifflante)
11. les dates et heures d'entrée à l'hôpital, aux soins intensifs et dans l'étude
12. les scores RDAI, PRISM et PELOD à l'entrée dans le service et à l'entrée dans l'étude (ces scores sont détaillés en annexe; le score RDAI est une échelle clinimétrique conçue et validée pour évaluer la gravité de la dyspnée au cours d'une maladie obstructive pédiatrique, le PRISM est un score de gravité de l'état général d'un enfant admis en réanimation pédiatrique et le PELOD est un score d'insuffisance polyviscérale).

### 3.2.3 Manœuvres et comanœuvres: description et monitoring

#### 3.2.3.1 Manœuvres: hélium, azote et cagoule

- Cas du groupe hélium. – Après aspiration nasale, l'enfant est placé sous une cagoule dans laquelle circule un mélange humidifié contenant de l'oxygène et de l'hélium à un débit total de 9 à 15 L/min. La  $FiO_2$  de départ sera celle que recevait le patient, mais elle sera abaissée le plus vite possible tant que le patient le tolère et parvient à maintenir sa  $SpO_2 > 92\%$ , ceci afin d'obtenir une  $FiHe$  d'au moins 60%. Par la suite, au cours des premières 24 heures de traitement à l'hélium, les concentrations d' $O_2$  et d'hélium seront ajustées en fonction des besoins du patient, l'objectif étant de continuer à lui offrir la concentration en hélium ( $FiHe$ ) la plus élevée possible tout en lui garantissant une oxygénation satisfaisante. Le sevrage de l'hélium ne sera pas commencé avant 24 heures de traitement.

Cas du groupe contrôle. – Après aspiration nasale, l'enfant est placé sous une cagoule avec mélange  $O_2$ /azote selon les besoins en oxygène et un débit humidifié de 9 à 15 L/min. La  $FiO_2$  de départ sera celle que recevait le patient, mais elle sera abaissée tant que le patient le tolère et parvient à maintenir sa  $SpO_2 \geq 92\%$ . Par la suite, la  $FiO_2$  sera ajustée en fonction des besoins du patient, l'objectif étant d'imposer au patient la  $FiO_2$  la plus basse possible.

Sevrage. – Une tentative de sevrage de l'hélium sera faite au moins une fois par jour à partir du deuxième jour de l'étude ( $J_2$ ). L'hélium sera repris si une heure après le sevrage, le score Respiratory Distress Assessment Instrument (RDAI) est tel que les points attribués au sifflement respiratoire ou au tirage sont  $> 3$ . L'hélium ne sera pas administré autrement que dans la cagoule. La cagoule sera cessée en même temps que l'hélium.

Dans les deux groupes, la cagoule et le mélange gazeux à l'étude ( $O_2/He$  ou  $O_2/azote$ ) seront retirés dès que les besoins en oxygène ( $FiO_2$ ) seront  $< 25\%$ . L'enfant sera replacé sous cagoule et le mélange gazeux de son groupe de randomisation s'il présente à nouveau pendant qu'il se trouve aux soins intensifs un score RDAI tel que les points attribués au sifflement respiratoire ou au tirage dépasse 3. Par la suite, le sevrage sera effectué de la même façon. Si la  $FiO_2$  redevient supérieure à 25% sans que ne réapparaissent les critères du score RDAI cités ci-dessus, l'oxygène et l'air pourront alors être administrés par cage faciale à l'aide d'un humidificateur.

Fidélité au protocole (compliance). – La  $FiHe$  variera d'un patient à l'autre, selon la quantité d'oxygène qu'il faudra administrer au patient. Nous colligerons donc la quantité d'hélium vraiment donnée au patient en mesurant la  $FiHe$ : celle-ci sera calculée par l'équation  $FiHe = \{100\% - FiO_2\}$ . Tous les patients qui n'auront pas pu recevoir une  $FiHe > 60\%$  pendant au moins 12 heures seront considérés comme non fidèles au protocole (non compliants); ces patients seront inclus dans le groupe expérimental (hélium) dans l'analyse statistique en intention de traiter, mais ils en seront exclus dans l'analyse statistique "as treated" (analyse aussi dénommée "per protocol").

#### 3.2.3.2 Comanœuvres

##### 3.2.3.2.1 Oxygène

Les patients des deux groupes recevront évidemment de l'oxygène. Dans aucun des deux groupes, l'oxygène ne sera délivré par cage faciale, lunette nasale ou masque facial non étanche avant la fin du sevrage décrit ci-haut. Dans les deux groupes, la  $FiO_2$  délivrée devra permettre une saturation mesurée chez l'enfant par oxymètre de pouls ( $SpO_2$ )  $> 92\%$ . Lors de l'admission aux soins intensifs, l'enfant recevra initialement la même  $FiO_2$  que celle donnée dans le service d'où il vient (à défaut de renseignements, il recevra 40% d'oxygène). Si besoin est, les apports d'oxygène seront augmentés pour obtenir une  $SpO_2 > 92\%$ , jusqu'à une  $FiO_2$  de 100% si nécessaire. Pour les enfants inclus dans le groupe hélium, cela pourrait donc vouloir dire qu'ils ne bénéficieront plus alors de l'effet potentiel de l'hélium puisqu'ils n'en recevront plus.

Un sevrage en O<sub>2</sub> sera débuté dès que la SpO<sub>2</sub> dépassera 95% pendant plus de deux heures consécutives. La FiO<sub>2</sub> sera alors diminuée de 5% à 10% aux 15 minutes jusqu'à 21% tant que la SpO<sub>2</sub> se maintiendra au-dessus de 95%.

#### 3.2.3.2.2 Ventilation mécanique

Les patients des deux groupes qui nécessiteront une ventilation mécanique par voie nasopharyngée ou par voie endotrachéale seront ventilés selon les habitudes du service.

#### 3.2.3.2.3 Autres comanœuvres

Certaines comanœuvres seront employées en suivant les recommandations d'Adcock et al. [31] dans le but de standardiser les soins donnés aux cas de bronchiolite. Un antibiotique sera administré uniquement aux cas présentant des signes d'appel évoquant une surinfection bactérienne (température rectale > 39 °C, compte de globules blancs >15000, otite associée, suspicion de pneumonie ou d'état septique, etc.); l'antibiotique sera cessé 48 à 72 heures plus tard si aucune bactérie n'est isolée dans les cultures (hémoculture, urine, éventuellement sécrétions endotrachéales et liquide céphalo-rachidien). Les corticostéroïdes seront réservés aux enfants chez qui on pourrait soupçonner que la bronchiolite est partiellement due à une crise d'asthme parce que l'un des parents a fait de l'asthme. L'inhalation d'un bronchodilatateur (salbutamol, épinéphrine) peut s'avérer efficace dans certains cas de bronchiolite; des traitements inhalés avec ces produits seront réalisés chez les patients qui auront répondu clairement à une tentative thérapeutique (ces traitements seront administrés sans retirer la cagoule). Au moment de la randomisation tous les enfants auront une aspiration des sécrétions nasales avec du sérum physiologique; cette comanœuvre sera répétée au besoin. Les enfants seront gardés à jeun au moins pendant 4 heures; cette mesure sera maintenue tant qu'un risque d'intubation ne sera pas définitivement écarté. En attendant la réalimentation orale, les patients seront perfusés avec un soluté glucosé (G5%) avec NaCl (0,25% à 0,9%) administré aux besoins de base (besoins d'entretien), soit 4 mL/kg/h.

Le transfert de l'enfant hors des soins intensifs aura lieu après amélioration clinique à la discrétion du médecin traitant.

#### 3.2.4 Surveillance

La surveillance clinique (exemple: signes vitaux) de l'enfant sera assurée par l'infirmière ayant en charge l'enfant.

La surveillance paraclinique sera réalisée à l'aide d'un cardioscope Hewlett Packard Model 665 (Hewlett Packard, Rockville, Maryland), d'un appareil oscillométrique permettant une mesure intermittente de la pression artérielle (Dinamap™ Vital Signs Monitor 8100, Critikon, Tampa, Florida) et d'un oxymètre de pouls (saturomètre transcutané) (Ohmeda Biox 3700 Pulse Oximeter, Ohmeda, Louisville, Connecticut).

Les prélèvements sanguins prévus dans l'étude correspondent aux prises de sang normalement réalisées en cas de bronchiolite grave; ces prises de sang seront faites par méthode capillaire ou par voie artérielle si un cathéter artériel a été mis en place. Les prélèvements seront faits au T0 (temps zéro), T2h (2e heure), T4h, T8h puis T24h, pour surveiller le pH, la PCO<sub>2</sub> et la PO<sub>2</sub>.

Le pourcentage d'oxygène (FiO<sub>2</sub>) et la proportion d'hélium administrés (FiHe = 100 – FiO<sub>2</sub>%), la pression de fin d'expiration (PEP) moyenne et la fraction expirée de CO<sub>2</sub> (FeCO<sub>2</sub>) régnant dans la cagoule, seront relevés par l'inhalothérapeute du service des soins intensifs ayant en charge l'enfant toutes les heures tant que le patient sera sous cagoule ou ventilé au masque ou par voie nasopharyngée. La FiO<sub>2</sub> administrée sera mesurée avec un appareil Teledyne Oxymeter Model TED 200 (Teledyne Electronics Devices, City of Industry, California). La FeCO<sub>2</sub> régnant dans la cagoule sera surveillée pendant 24 heures au moins à l'aide d'un capnomètre Normocap® 200 (Datex Instrument Corporation, Helsinki, Finlande).

#### 3.2.5 Variable dépendante primaire

La ventilation mécanique en pression positive — au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale — constitue la variable dépendante principale (critère d'évaluation, primary outcome) de cet essai clinique.

Les critères de mise en route d'une ventilation mécanique en pression positive auxquels nous nous référerons pendant l'étude seront identiques pour une ventilation mécanique au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale. C'est le médecin traitant qui décidera si un patient doit ou non recevoir une assistance respiratoire par ventilation mécanique en pression positive et quand il doit la recevoir. C'est ce même médecin qui décidera s'il est approprié d'essayer une ventilation au masque ou par sonde nasopharyngée plutôt que d'intuber d'emblée le patient dans la trachée. S'il choisit de recourir d'abord à une ventilation au masque ou par sonde nasopharyngée, il pourra changer d'avis et réaliser par la suite une intubation endotrachéale quand il le jugera bon. En cas de ventilation au masque ou nasopharyngée, l'hélium ne sera pas poursuivi. La justification de la mise en route d'une ventilation mécanique en pression positive devra en être minutieusement précisée dans les notes d'évolution du malade, quelle

que soit la forme de ventilation mécanique en pression positive (au masque, par voie nasopharyngée ou endotrachéale).

Les réanimateurs pédiatres du service des soins intensifs pédiatriques de l'hôpital Sainte-Justine se sont entendus par méthode de Delphes [32] pour adopter les critères suivants pour initier une ventilation mécanique en pression positive au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale, en se basant sur les résultats d'un essai clinique déjà réalisé dans le service [28] et en s'inspirant des données de la littérature [1]:

1. épuisement clinique: arrêt respiratoire imminent ou apnée grave faisant suite à une détresse respiratoire significative;
2. hypoxie:  $SpO_2 < 92\%$  avec  $FiO_2 > 90\%$ ;
3. acidose respiratoire décompensée:  $PCO_2 > 70$  mm Hg avec  $pH < 7,25$ .

La présence d'un seul de ces critères suffira pour justifier une ventilation mécanique en pression positive au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale et il comptera quel que soit le délai après l'inclusion dans l'étude.

### 3.2.6 Variables dépendantes secondaires et définitions

Nous nous intéresserons aussi à quelques variables dépendantes secondaires.

Score clinique de gravité RDAI. – Pour apprécier l'efficacité d'un traitement par épinéphrine sur le wheezing des nourrissons, Lowell et al. [33] ont mis au point un score clinique largement repris par la suite dans différentes études cliniques sur la bronchiolite du nourrisson, score qui se dénomme RDAI (Respiratory Distress Assessment Instrument) [34-36]. Sa reproductibilité, ainsi que son exactitude (reliability) ont été vérifiées par plusieurs centres. Le RDAI sera calculé par un inhalothérapeute aux temps suivants: T0 (temps zéro), T30min (30 minutes plus tard), T2h, T4h, T8h, T24h, puis les jours suivants, deux fois par jour tant que l'enfant se trouvera dans le service des soins intensifs. Le score RDAI sera évalué au moins 30 minutes après tout soin ou traitement qui pourrait en changer la valeur (exemple: séance de physiothérapie ou aspiration nasopharyngée).

Gaz sanguins. – Gaz sanguins: pH,  $PO_2$ ,  $PCO_2$ . Ils seront prélevés à T0, T2h, T4h, T8h et à T24h. Ces prélèvements sont habituellement faits dans notre service de réanimation pour ce type de pathologie. Les prélèvements capillaires seront réalisés par le préposé aux prélèvements. Des prélèvements artériels seront faits si un cathéter artériel a été mis en place par les soignants; ces prélèvements seront réalisés par l'infirmière du patient.

Signes vitaux. – La fréquence respiratoire, la fréquence cardiaque, la température et la tension artérielle seront relevées chaque heure par l'infirmière ayant en charge l'enfant.

$SpO_2$ . – La  $SpO_2$  et la  $FiO_2$  seront relevées chaque heure par l'infirmière ayant en charge l'enfant tant que celui-ci sera en réanimation.

Durée du jeûne. – Tous les enfants inclus dans l'étude seront gardés à jeun tant qu'ils seront à risque de devoir nécessiter une intubation. Nous prendrons note du délai de réalimentation orale ou entérale; nous considérerons que l'alimentation est vraiment reprise à partir du moment où elle n'est plus interrompue et que le patient reçoit au moins 5 mL/h de gavage ou de boire.

Durée des traitements. – Durée de ventilation mécanique, de séjour dans le service de réanimation pédiatrique, dans l'hôpital, etc.

Réactions adverses. – Incidents survenus (ex. pneumothorax) et mortalité éventuelle au cours du séjour dans le service de réanimation pédiatrique.

**TABLEAU 2. DONNÉES RELEVÉES AU COURS DE L'ÉTUDE**

T0	T30min , T2h, T4h, T8h, T24h, Toutes les 12 h	Sortie des SIP
Données démographiques, poids, âge, etc.		Intubation Durée aux SIP Incidents
Signes vitaux* Score RDAI PRISM, PELOD	Signes vitaux Score RDAI	
FiO <sub>2</sub> , SpO <sub>2</sub> PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> PCO <sub>2</sub> , pH	FiO <sub>2</sub> , SpO <sub>2</sub> PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> PCO <sub>2</sub> , pH	Délai du sevrage en O <sub>2</sub> ,
Fi <sub>He</sub> , FeCO <sub>2</sub> PEP	Fi <sub>He</sub> , FeCO <sub>2</sub> PEP	

Légende: PRISM = Pediatric Risk of Mortality score (voir annexe); PELOD = PEdiatric LOGistic Dysfunction score (voir annexe); RDAI = Respiratory Distress Assessment Instrument (voir annexe); SIP = soins intensifs pédiatriques/réanimation pédiatrique.

\* Signes vitaux: fréquence respiratoire, fréquence cardiaque, tension artérielle, température.

### 3.2.7 Gestion des données

Le tableau 2 donne un aperçu du moment et des principales données qui seront surveillées et annotées pendant l'étude d'un patient. Cette surveillance des enfants inclus dans l'étude est identique à celle normalement effectuée pour des cas semblables par le personnel du service de réanimation, mis à part certaines données qui seront relevées par un assistant de recherche (exemple: PRISM, PELOD, score RDAI, données démographiques) ou par un inhalothérapeute (FiHe, FeCO<sub>2</sub>, PEP).

### 3.2.8 Arrêt de l'étude d'un patient

La fin de l'essai clinique pour un patient donné sera déterminée soit par la survenue d'une intubation endotrachéale, soit par la sortie du service de réanimation pédiatrique. L'étude systématique d'un patient sera considérée comme complétée après sa sortie de l'hôpital.

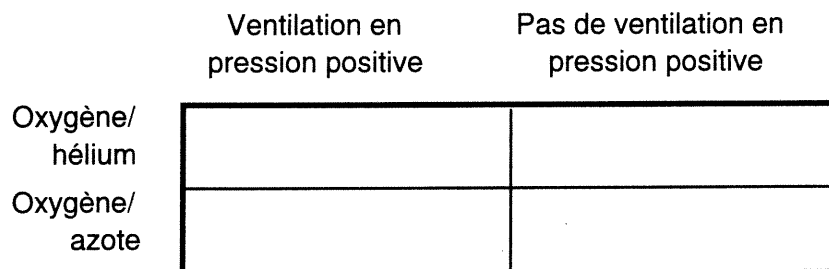


Figure 1. Schéma illustrant la structure de l'étude. – Il s'agira d'un essai clinique randomisé à double insu au cours duquel on comparera le taux de ventilation mécanique en pression positive au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale chez des patients ayant reçu de l'hélium et chez des cas contrôles traités sans hélium. Les différences du taux de ventilation mécanique seront analysées par test de Fischer ou Chi carré avec correction de Yates.



## 4. PROJET DE DÉMONSTRATION

### 4.1 CLASSIFICATION DE L'ÉTUDE

L'étude que nous proposons est un essai clinique randomisé à double insu.

L'étude sera faite en double aveugle. Bien sûr, les inhalothérapeutes qui seront responsables d'administrer les gaz sauront nécessairement si le patient reçoit ou non de l'hélium. Par contre, les autres soignants (infirmières et médecins) ainsi que la famille du patient seront tenus à l'écart des données concernant l'administration de l'hélium; on peut donc dire qu'il s'agira d'une étude à double insu.

### 4.2 STRATÉGIE POUR MAINTENIR LE DOUBLE INSU

Nous avons prévu plusieurs mesures afin de s'assurer que l'essai clinique soit fait en double insu.

Nous avons préparé d'avance une série d'enveloppes cachetées et numérotées de façon consécutive. L'assignation prévue pour chaque patient a déjà été indiquée dans ces enveloppes par un des chercheurs (JL). Le numéro du prochain patient à inclure dans l'essai clinique sera précisée dans un tableau qui sera gardé dans le fichier «recherches» du service de réanimation, fichier dans lequel se trouveront aussi des exemplaires du protocole de recherche, les lettres de consentement et les enveloppes. Après signature du formulaire de consentement par les parents du patient, l'inhalothérapeute qui prendra charge du patient cochera le numéro du patient sur le tableau prévu à cet effet (annexe 10.9), puis il prendra l'enveloppe du patient portant le même numéro. Chaque enveloppe contiendra les documents suivants: une feuille d'assignation du patient au groupe hélium ou au groupe contrôle, feuille sur laquelle J Lacroix aura précisé quel mélange gazeux ( $O_2/He$  ou  $O_2/azote$ ) le patient recevra; un livret d'observation, ses trois tableaux et ses trois annexes décrivant les scores PRISM, PELOD et RDAI; une série de feuilles d'ordonnance pour le dossier hospitalier du patient; une série de feuilles d'ordonnance pour les inhalothérapeutes; une copie de l'annexe 10.2. Les inhalothérapeutes garderont tous ces documents dans le porte-document qu'ils gardent normalement auprès du respirateur du malade, sauf la feuille d'ordonnance destinée au dossier hospitalier. Ils remettront tous ces documents à l'un des chercheurs une fois terminé l'essai clinique pour le patient en question.

Il est fondamental que ni les parents ni les soignants ne puissent savoir si le patient reçoit ou non de l'hélium. Cliniquement, il est impossible de différencier un mélange gazeux d' $O_2/He$  et d' $O_2/azote$ : l'aspect des deux mélanges est identique et tous deux ne dégagent aucune odeur particulière. Les soignants ne pourront donc pas reconnaître le groupe d'appartenance des patients inclus dans l'étude par l'aspect des gaz donnés; cependant, ils pourraient y parvenir si les montages utilisés pour administrer les gaz sont différents ou encore si des précautions ne sont pas prises pour cacher les débits gazeux de l' $O_2$ , de l'azote et de l'hélium. Pour maintenir les soignants dans l'ignorance quant au groupe — expérimental ou contrôle — auquel le patient appartient, les inhalothérapeutes installeront une bonbonne d'hélium et un montage identique pour les patients des deux groupes. En outre, ils recouvreront les débitmètres pour l'Héliox® (c'est le mélange  $O_2/hélium$  qui sera utilisé pendant l'étude), l'oxygène et l'azote avec un sac opaque afin d'en cacher les valeurs. De plus, ils annoteront les données relatives à l'hélium sur une feuille spéciale (voir en annexe le tableau 3 du livret d'observation), feuille dont l'accès leur sera réservé jusqu'à la fin de l'étude d'un patient. Les inhalothérapeutes pourront renseigner les soignants quant à la PEP reçue par le patient, la  $FiO_2$ , la  $FeCO_2$  et le score RDAI, mais pas la  $FiHe$ .

Toutes ces mesures devraient faire en sorte que ni les parents, ni les infirmières ni les médecins ne puissent savoir si le patient reçoit ou non de l'hélium. En outre, nous prendrons la précaution de faire en sorte que les données soient analysées par un biostatisticien qui sera tenu dans l'ignorance du groupe d'appartenance des patients ( $O_2/He$  vs  $O_2/azote$ ). Toutes ces précautions devraient permettre de maintenir l'approche à double insu de l'essai clinique et de réduire ainsi le risque de biais de la part des soignants et des analystes.

### 4.3 STRATÉGIE DE COMPILATION DES DONNÉES

Les données recueillies seront annotées dans le livret d'observation prévue à cet effet (voir annexe 10.2) en servant d'un code prédéterminé. La clarté et la fiabilité de ce livret ont déjà été testées par des assistants de recherche; les questions semblent claires et les définitions, bien comprises.

Les réponses codées seront ensuite directement transcrites sur une base de données (Microsoft Office 98, Microsoft Corporation, Seattle, USA). Les données d'un sous-groupe choisi au hasard comprenant 10% des patients seront entrées à deux reprises afin de les comparer; si le taux d'erreurs dépasse 1%, nous compléterons l'entrée des données de tous les patients afin de pouvoir comparer la totalité des deux bases de données. Toute discordance sera réglée en

consultant le livret original du patient ou son dossier hospitalier. La base de données revue et corrigée sera ensuite transférée au besoin sur l'ordinateur du Centre de la Recherche de l'hôpital Sainte-Justine, puis les données seront analysées avec un logiciel statistique (exemple: StatView 4.5, Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA, 1992).

#### 4.3 ANALYSE DES DONNÉES

##### 4.3.1 Objectif primaire

L'objectif principal de l'essai clinique est de déterminer si un traitement non invasif avec un mélange gazeux contenant de l'hélium diminue l'incidence des ventilations mécaniques en pression positive au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale entreprises pour traiter une bronchiolite grave.

##### 4.3.2 Objectifs secondaires

Nous évaluerons aussi le retentissement de l'hélium sur l'évolution du score RDAI et des signes vitaux, sur le délai de réanimation, sur la durée d'hospitalisation dans le service de réanimation pédiatrique, sur la mortalité éventuelle et les incidents survenus. L'effet de l'hélium sera évalué également sur l'évolution des pH et des capnies ( $PCO_2$ ) mesurées sur des prélèvements sanguins, ainsi que sur les besoins en oxygène, la  $SpO_2$ , et le rapport  $PaO_2/FiO_2$ .

##### 4.3.3 Analyse des données

###### 4.3.3.1 Considérations statistiques préalables

Données sur les patients exclus. – Les données suivantes seront étudiées afin de vérifier si les patients exclus différeraient significativement des patients inclus dans l'étude:

- origine ethnique;
- antécédents médicaux du patient (notion de prématurité, cardiopathie, etc.);
- données démographiques (sexe, âge, poids, etc.);
- durée des symptômes avant l'arrivée en réanimation pédiatrique;
- hospitalisation préalable à l'admission en réanimation pédiatrique;
- scores de PRISM, RDAI et PELOD.

Données de base (baseline data). – Les données de base suivantes seront décrites dans un tableau afin de vérifier si les patients inclus dans les deux groupes à l'étude sont semblables: nombre de patients dans chaque groupe, notion d'asthme ou de tabagisme chez l'un des deux parents, antécédent de prématurité, sexe, origine ethnique, âge, nombre de nouveau-nés âgé de moins de 28 jours, poids, durée des symptômes et durée de l'hospitalisation avant l'inclusion dans l'étude, délai d'inclusion dans l'étude après l'admission en réanimation pédiatrique, présence d'une co-infection virale ou d'une laryngotrachéite bactérienne, et plusieurs données cliniques et paracliniques recueillies au temps zéro (exemple: score RDAI,  $SpO_2$ ,  $PO_2$ ,  $PCO_2$ , pH sanguin, etc.).

Facteurs de confusion. – Au cours d'études antérieures, nous avons démontré que des antécédents de prématurité et l'âge au moment de la bronchiolite sont des facteurs de risque pour contracter une bronchiolite grave [28, 37]. Ce sont là deux facteurs de confusion possible. Il y aura donc stratification des patients en deux sous-groupes si le taux de prématurité est statistiquement différent entre les deux groupes; cette stratification sera faite avant l'analyse statistique décrite dans la section 4.3.3.2. Il y aura ajustement si l'âge est statistiquement différent entre les deux groupes et si ce facteur semble interagir avec la variable dépendante primaire, soit le taux de ventilation mécanique en pression positive par masque ou par sonde nasopharyngée ou endotrachéale.

Comanœuvres. – Certaines comanœuvres peuvent influencer le taux ventilation mécanique d'un cas de bronchiolite, comme l'administration d'un bronchodilatateur. Le taux d'incidence de chacune de ces comanœuvres sera décrit dans un autre tableau, en distinguant le taux du groupe expérimental (avec hélium) et celui du groupe contrôle (sans hélium). Si les taux d'incidence d'une des ces comanœuvres diffèrent significativement entre les deux groupes, nous vérifierons l'effet de cette comanœuvre sur le taux d'intubation; cette analyse sera faite a posteriori après l'analyse statistique décrite dans la section 4.3.3.2.

###### 4.3.3.2 Analyses statistiques

Analyse primaire. – L'analyse statistique primaire comparera dans les deux groupes le taux d'enfants ayant reçu une ventilation mécanique en pression positive au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale. Cette analyse sera faite seulement après que l'on aura inclus dans l'étude le nombre de patients prévu pour la considérer complétée, c'est-à-dire après avoir rassemblé 40 patients; il n'y aura donc pas d'analyse intermédiaire des résultats. Cette comparaison des pourcentages d'enfants ayant reçu une ventilation mécanique en pression positive dans les

deux groupes sera faite en intention de traiter ("intention to treat analysis") par un test de Fischer ou un Chi carré avec correction de Yates (voir figure 1). Une valeur  $p < 0.05$  sera considérée comme statistiquement significative (test bilatéral).

- Analyses secondaires. – Les analyses statistiques secondaires suivantes seront aussi faites.

Tout d'abord, il est clair que les complications associées à une intubation endotrachéale sont plus graves que celles qui sont attribuables à une intubation nasopharyngée ou à une ventilation au masque; nous reprendrons donc la comparaison primaire en intention de traiter, mais en n'utilisant comme critère d'évaluation que la ventilation mécanique par voie endotrachéale. Ceci est faisable étant donné que nous avons prévu de faire poursuivre la manœuvre à l'étude — l'administration d'hélium — chez les patients du groupe expérimental qui seront ventilés au masque ou par voie nasopharyngée.

Deuxièmement, nous reprendrons l'analyse primaire, mais en ne gardant dans le groupe hélium que les patients qui auront reçu suffisamment d'hélium pour considérer qu'ils ont été "fidèles" ou compliants au protocole (analyse "as treated"). La compliance au traitement est définie dans la section 3.2.3.1.

Finalement, nous nous intéresserons à d'autres critères d'évaluation que la ventilation mécanique. Les analyses secondaires suivantes seront faites en intention de traiter. La comparaison de l'évolution des scores de gravité et des différents paramètres relevés de façon répétée sera faite par analyse de variance (ANOVA). Les autres données seront comparées en utilisant un test  $t$  de Student pour les variables continues et un Chi carré dans le cas contraire.

## 5. FAISABILITÉ DE L'ÉTUDE PROPOSÉE

Les traitements et les appareils de surveillance qui seront utilisés au décours de l'étude sont déjà disponibles en réanimation pédiatrique.

Les principaux intervenants (médecins, infirmières, inhalothérapeutes, etc.) ont déjà été contactés et se sont tous dits intéressés à collaborer à la réalisation de l'étude.

Durant l'hiver 1997-98 (dernier hiver dont les données sont entièrement informatisées), 41 enfants ont été hospitalisés aux soins intensifs de l'hôpital Sainte-Justine avec le diagnostic de bronchiolite sur un total de 192 enfants hospitalisés à l'hôpital Sainte-Justine pour une bronchiolite causée par le VRS (culture ou ELISA positif). D'après les 39 dossiers disponibles, au moins 12 enfants auraient été éligibles pour la présente étude (âge adéquat, non intubé avant l'hospitalisation aux soins intensifs, VRS confirmé). Parmi ces 12 enfants, six ont été intubés aux soins intensifs (50%), au moins un a été mis sous cagoule (donnée difficile à retrouver dans les dossiers) et un sous CPAP (ce qui implique une intubation nasopharyngée). Au total, 7 enfants sur 12 ont subi une intubation nasopharyngée ou endotrachéale (58%). Si l'étude se met en place, le nombre d'intubations à l'étage et aux urgences avant l'admission aux soins intensifs devrait diminuer. On peut donc raisonnablement espérer que l'étude soit complétée en deux ou trois ans consécutifs.

Notre service de réanimation pédiatrique possède une expertise particulière avec l'usage des cagoules qui constitue une méthode fiable, simple et peu coûteuse pour administrer l'hélium.

Les principaux investigateurs de la présente étude connaissent bien la littérature concernant les bronchiolites graves, comme en témoignent les nombreuses publications qu'ils ont faites sur le sujet [1, 28, 30, 37]. De plus, ils ont démontré leur capacité à compléter un essai clinique sur les bronchiolites graves puisqu'ils ont déjà publié un essai clinique étudiant l'efficacité de la ribavirine pour des cas de bronchiolite grave déjà intubés [28].

Le financement de l'étude est déjà garanti par le Compagnie AIR LIQUIDE Santé INTERNATIONAL et par son représentant au Québec, la Compagnie VitalAire.

## 6. PERTINENCE DE L'ÉTUDE PROPOSÉE

L'étude que nous proposons est justifiée par plusieurs considérations.

La bronchiolite hivernale due au VRS est un problème majeur de santé publique: c'est la principale cause d'hospitalisation en pédiatrie durant les mois d'hiver.

- La question du traitement des bronchiolites par l'hélium est présentement débattue dans la littérature médicale (éditorial dans la revue *Critical Care Medicine*, octobre 98 [38]). En fait, aucune réponse concernant l'efficacité de l'hélium comme traitement de la bronchiolite grave n'a été apportée à ce jour; or il serait certainement très intéressant pour les cliniciens de découvrir que l'hélium permet réellement d'éviter une ventilation mécanique en pression positive au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale à des nourrissons qui ont contracté une

maladie qui est passagère, qui se déroule de façon monophasique et dont la durée d'évolution est habituellement courte.

## 7. CONSIDÉRATIONS ÉTHIQUES

Un bénéfice direct pour les enfants est attendu, car on recherche une méthode permettant d'éviter les complications potentielles d'une intubation nasopharyngée ou endotrachéale et d'une ventilation mécanique en pression positive au masque ou par voie nasopharyngée ou endotrachéale. En cas d'aggravation des besoins en oxygène, la ventilation mécanique sera toutefois choisie pour ne pas courir le risque d'un arrêt respiratoire. Les critères retenus pour indiquer qu'une ventilation mécanique est justifiée ont été choisis après qu'un consensus ait été obtenu auprès de tous les pédiatres intensivistes du service des soins intensifs pédiatriques de l'hôpital Sainte-Justine.

Toute l'étude se déroulera dans un service de réanimation pédiatrique, avec une surveillance paramédicale continue et la présence constante d'un médecin dans le service. Nous avons déjà vérifié sur quelques enfants d'âge comparable à ceux qui seront inclus dans l'étude que les taux de CO<sub>2</sub> dans la cagoule sont négligeables lorsque le débit des gaz est de 9 L/mn ou plus, débit qu'il est prévu d'administrer à tous les patients inclus dans l'étude.

Ce projet de recherches a été soumis au comité d'éthique de l'hôpital Sainte-Justine qui l'a approuvée. Une lettre de consentement (écrite en français et en anglais) devra être signée par les parents des patients avant que ceux-ci puissent être enrôlés dans l'étude.

## 8. BIBLIOGRAPHIE

1. Furfaro S, Gauthier M, Spier S. Bronchiolite grave. In: Lacroix J, Gauthier M, Beaufils F, éd. Urgences et soins intensifs pédiatriques. Paris: Doin, 1994:447-62.
2. Stokes GM, Milner AD, Groggins RC. Work of breathing, intra-thoracic pressure and clinical findings in a group of babies with bronchiolitis. *Acta Paediatr Scand* 1981;70(5):689-94.
3. Brooks AM, McBride JT, McConnochie KM, Aviram M, Long C, Hall CB. Predicting deterioration in previously healthy infants hospitalized with respiratory syncytial virus infection. *Pediatrics* 1999;104:463-7.
4. Wang EL, Law BJ, Stephens D. Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) prospective study of risk factors and outcomes in patients hospitalized with respiratory syncytial viral lower respiratory tract infection. *J Pediatr* 1995;126:212-9.
5. Beasley JM, Jones SF. Continuous positive pressure in bronchiolitis. *Br Med J* 1981;283:1506-8.
6. Duncan AW, Oh TE, Hillman DR. PEEP and CPAP. *Anaesth Intensive Care* 1986;14:236-50.
7. Cahill J, Moore KP, Wren WS. Nasopharyngeal continuous positive airway pressure in the management of bronchiolitis. *Ir Med J* 1983;76(4):191-2.
8. Andersen P. Pathogenesis of lower respiratory tract infections due to Chlamydia, Mycoplasma, Legionella and viruses. *Thorax* 1998;53:302-7.
9. Fayon M, Tucci M, Lacroix J, et al. Nosocomial bacterial pneumonia and tracheitis in pediatric intensive care: A prospective study. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:162-9.
10. Hotchkiss JR, Marini JJ. Noninvasive ventilation: An emerging supportive technique for the emergency department. *Ann Emerg Med* 1998;32:470-9.
11. Gluck EH, Onorato DJ, Castriotta R. Helium-oxygen mixtures in intubated patients with status asthmaticus and respiratory acidosis. *Chest* 1990;98:693-98.
12. Christopherson SK, Hlastala MP. Pulmonary gas exchange during altered density gas breathing. *J Appl Physiol* 1982;52:221-7.
13. Tobias JD. Heliox in children with airway obstruction. *Pediatr Emerg Care* 1997;13(1):29-32.
14. Gross M, Spear R, Peterson B. Helium-oxygen mixture decreases intrapulmonary shunting in mechanically ventilated children with bronchiolitis. *Crit Care Med* 1999;27(1):A163.
15. Hollman G, Shen G, Zeng L, et al. Helium-oxygen improves clinical asthma scores in children with acute bronchiolitis. *Crit Care Med* 1998;26(10):1731-6.
16. Paret G, Dekel B, Vardi A, Szeinberg A, Lotan D, Barzilay Z. Heliox in respiratory failure secondary to bronchiolitis: A new therapy. *Pediatr Pulmonol* 1996;22:322-3.
17. Anderson M, Svartengren M, Bylin G, Philipson K, Camner P. Deposition in asthmatics of particles inhaled in air or in helium-oxygen. *Am Rev Respir Dis* 1993;147(3):524-8.
18. Kudukis TM, Manthous CA, Schmidt GA, Hall JB, Wylam ME. Inhaled helium-oxygen revisited: Effect of inhaled helium-oxygen during the treatment of status asthmaticus in children. *J Pediatr* 1997;130(2):217-24.

19. Gross EH, Onorato DJ, Castriotta R. Helium-oxygen mixtures in intubated patients with status asthmaticus and respiratory acidosis. *Chest* 1990;98:693-8.
20. Michael JG, Blocklage T, Tobias JD. Helium administration during mechanical ventilation in children with respiratory failure. *J Intensive Care Med* 1999;14(3):140-7.
21. Manthous CA, Hall JB, Caputo MA, et al. Heliox improves pulsus paradoxus and peak expiratory flow in nonintubated patients with severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:310-4.
22. Kass JE, Teregino CA. The effect of heliox in acute severe asthma: A randomized controlled trial. *Chest* 1999;116:296-300.
23. Wolfson MR, Bhutani VK, Shaffer TH, Bowen FW, Jr. Mechanics and energetics of breathing helium in infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1984;104(5):752-7.
24. Gauvin F, Morneau S, Chaïbou M, Lacroix J. PEEP, FiO<sub>2</sub>, FiHe and FeCO<sub>2</sub> in critically ill infants with severe bronchiolitis receiving helium by a plastic inflatable head hood. 3rd World Congress on Pediatric Intensive Care, Montréal, June 2000. *Pediatric Critical Care Medicine* 2000 ;1 :S158.
25. Gauvin F, Morneau S, Chaïbou M, Lacroix J. Mesure de la PEP, FiO<sub>2</sub>, FiHe et FeCO<sub>2</sub> lors de l'administration d'un mélange hélium et oxygène avec cagoule chez les enfants souffrant d'une bronchiolite grave. 29<sup>ème</sup> Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française, Paris, 2001. *Réanimation Urgences* 2000 ;9 :109S.
26. Soong WJ, Hwang B, Tang RB. Continuous positive airway pressure by nasal prongs in bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol* 1993;16:163-6.
27. Tatsuno K, Imai Y, Konno S. Therapeutic use of helium-oxygen mixture in continuous positive airway pressure for early weaning from mechanical ventilation after cardiovascular surgery in infants. *J Thor Cardiovasc Surg* 1976;72:119-22.
28. Guerguerian AM, Gauthier M, Lebel M, Farrell CA, Lacroix J. A randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial of ribavirin in children mechanically ventilated for a bronchiolitis caused by respiratory syncytial virus. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:829-34.
29. Lachin JM. Introduction to sample size determination and power analysis for clinical trials. *Control Clin Trials* 1981;2:93-113.
30. Lacroix J, Limoges P. Laryngotrachéite bactérienne. In: Lacroix J, Gauthier M, Beaufilets F, éd. *Urgences et soins intensifs pédiatriques*. Paris: Doin, 1994:421-6.
31. Adcock PM, Sanders CL, Marshall GS. Standardizing the care of bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1998;152(8):739-44.
32. Jones J, Hunter D. Consensus methods for medical and health services research. *Br Med J* 1995;311:376-80.
33. Lowell DI, Lister G, Von Koss H, McCarthy P. Wheezing in infants: The response to epinephrine. *Pediatrics* 1987;79(6):939-45.
34. Kellner JD, Ohlsson A, Gadomski AM, Wang EE. Efficacy of bronchodilator therapy in bronchiolitis. A meta-analysis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1996;150(11):1166-72.
35. Klassen TP, Sutcliffe T, Watters LK, Wells GA, Allen UD, Li MM. Dexamethasone in salbutamol-treated inpatients with acute bronchiolitis: A randomized, controlled trial. *J Pediatr* 1997;130(2):191-6.
36. Reijonen T, Korppi M, Pitkakangas S, Tenhola S, Remes K. The clinical efficacy of nebulized racemic epinephrine and albuterol in acute bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995;149(6):686-92.
37. Lebel MH, Gauthier M, Lacroix J, Rousseau É, Buithieu M. Respiratory failure and mechanical ventilation in severe bronchiolitis. *Arch Dis Child* 1989;64:1431-7.
38. Barnes SD. Does heliox decrease the need for intubation in acute bronchiolitis. *Crit Care Med* 1998;26(10):1633-5.
39. Pollack MM, Ruttimann UE, Getson PR. Pediatric risk of mortality (PRISM) score. *Crit Care Med* 1988;16:1110-6.
40. Leteurtre S, Duhamel A, Gauvin F, et al. Development of a pediatric multiple organ dysfunction score. Use of two strategies. *Med Decision Making* 1999;19:399-410.