

Митохондриальные нарушения у пациентов с семейной формой синдрома MERRF

А.Ш. Латыпов, Е.В. Проскурина, С.В. Котов, О.П. Сидорова, И.А. Василенко, Д.В. Кассина, А.С. Котов

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; Россия, 129110 Москва, ул. Шепкина, 61/2, корп. 1

Контакты: Ольга Петровна Сидорова sidorovaop2019@mail.ru

Синдром MERRF (myoclonic epilepsy ragged-red fibers) относится к группе первичных митохондриальных заболеваний, характеризуется сочетанием миоклонической эпилепсии и феномена рваных красных волокон при биопсии мышц. Цель работы – изучить митохондриальные нарушения у пациентов из семьи с синдромом MERRF с помощью определения цитохимической активности митохондриальных ферментов лимфоцитов в периферической крови и уровня лактата в крови.

Представлены клинические случаи сестры 25 лет и брата 19 лет с синдромом MERRF с вариантом m.8344A>G в МТ-ТК (тРНК (Lys)), с уровнем гетероплазмии в крови 50 % у сестры и гомоплазмией у брата. Митохондриальные нарушения оценивали с помощью определения уровня лактата в крови и цитохимического исследования активности митохондриальных ферментов в лимфоцитах периферической крови. Уровень лактата в крови до еды был повышен у обоих пациентов. После нагрузки углеводами у сестры он увеличивался, а у брата снижался. У сестры была снижена активность ферментов лимфоцитов периферической крови на фоне приема леветирацетама, 100 мг коэнзима Q₁₀ и 100 мг L-карнитина. Доза энерготропных препаратов была увеличена, что привело к повышению активности митохондриальных ферментов. У брата было компенсаторное повышение уровня сукцинатдегидрогеназы и снижение активности остальных ферментов.

Применяемые нами методики можно использовать в клинической практике для диагностики митохондриальных нарушений и коррекции дозировки энерготропных препаратов, остающихся актуальными ввиду отсутствия эффективной генотерапии.

Ключевые слова: MERRF, цитохимическая активность митохондриальных ферментов, лактат

Для цитирования: Латыпов А.Ш., Проскурина Е.В., Котов С.В. и др. Митохондриальные нарушения у пациентов с семейной формой синдрома MERRF. Русский журнал детской неврологии 2023;18(4):53–7. DOI: <https://doi.org/10.17650/2073-8803-2023-18-4-53-57>

Mitochondrial disorders in patients with familial form of MERRF syndrome

A.S. Latypov, E.V. Proskurina, S.V. Kotov, O.P. Sidorova, I.A. Vasilenko, D.V. Kassina, A.S. Kotov

M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute; Build. 1, 61/2 Shchepkina St., Moscow 129110, Russia

Contacts: Olga Petrovna Sidorova sidorovaop2019@mail.ru

MERRF syndrome (myoclonic epilepsy ragged red fibres) belongs to the group of primary mitochondrial diseases and is characterized by a combination of myoclonic epilepsy and the phenomenon of ragged red fibres on muscle biopsy.

The aim of this work is to study mitochondrial disorders in patients from a family with MERRF syndrome by determining the cytochemical activity of mitochondrial enzymes in peripheral blood lymphocytes and the level of lactate in the blood. Clinical cases of a 25-year-old sister and a 19-year-old brother with MERRF syndrome with the m.8344A>G variant in MT-TK (tRNA (Lys)) with a blood heteroplasmy level of 50 % in the sister and homoplasmy in the brother are presented. Mitochondrial disorders were assessed by blood lactate levels and cytochemical studies of mitochondrial enzyme activity in peripheral blood lymphocytes. Pre-prandial blood lactate levels were elevated in both patients. After a carbohydrate load, it increased in the sister, and decreased in the brother. The sister had decreased activity of peripheral blood lymphocyte enzymes while taking levetiracetam, 100 mg of coenzyme Q₁₀ and 100 mg of L-carnitine. The dose

of energotropic drugs was increased, which led to an increase in the activity of mitochondrial enzymes. The brother had a compensatory increase in the level of succinate dehydrogenase and a decrease in the activity of other enzymes. The methods we used can be used in clinical practice to diagnose mitochondrial disorders and to adjust the dosage of energotropic drugs, which remain relevant due to the lack of effective gene therapy.

Keywords: MERRF, cytochemical activity of mitochondrial enzymes, lactate

For citation: Latypov A.Sh., Proskurina E.V., Kotov S.V. et al. Mitochondrial disorders in patients with familial form of MERRF syndrome. *Russkiy zhurnal detskoy nevrologii = Russian Journal of Child Neurology* 2023;18(4):53–7. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/2073-8803-2023-18-4-53-57>

Синдром MERRF (myoclonic epilepsy with ragged red fibers) относится к группе первичных митохондриальных заболеваний, характеризуется сочетанием миоклонической эпилепсии и феномена рваных красных волокон при биопсии мышц. Часто первым симптомом являются миоклонии, за которыми следуют генерализованные приступы, атаксия, слабость, непереносимость физических нагрузок и деменция [1]. В основе заболевания – мутация митохондриальной ДНК. Описано 26 мутаций в 15 различных митохондриальных генах. Наиболее частой из этих мутаций является вариант *m.8344A>G* в *MT-TK* (тРНК (Lys)) [2]. Вариативность клинического фенотипа обусловлена феноменом гетероплазмии (различного содержания нормальной и мутантной ДНК в митохондриях). Помимо головного мозга и мышц при синдроме MERRF могут поражаться и другие органы [2–4]. Для оценки митохондриальных нарушений определяют рваные красные мышечные волокна при биопсии мышц (характерный вид вызван субсарколеммным накоплением продуктов метаболизма), измеряют кислород в тканях с помощью полярографического метода с использованием электрода Кларка [5], проводят респирометрию с применением оксиграфа, исследуют митохондриальный мембранный потенциал [6]. Но в клинической практике перспективным является определение энергопродукции в лимфоцитах периферической крови, которые относят к «энзиматическому зеркалу» тканей, – цитохимический метод исследования активности митохондриальных ферментов в лимфоцитах периферической крови [7].

Цель работы – изучить митохондриальные нарушения у пациентов из семьи с синдромом MERRF с помощью определения цитохимической активности митохондриальных ферментов лимфоцитов периферической крови и уровня лактата в крови.

Митохондриальные нарушения оценивали с помощью цитохимического исследования активности митохондриальных ферментов в лимфоцитах периферической крови; использовали метод, предложенный A.G. Pearse в модификации Р.П. Нарцисова [7]. Оценивали активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глутаматдегидрогеназы (ГДГ), α -глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ),

сукцинатдегидрогеназы (СДГ). Активность ферментов оценивали в гранулах на лимфоцит (гр/лф).

С помощью анализатора газов крови ABL800 FLEX определяли уровень лактата в цельной гепаринизированной крови амперометрическим методом с применением субстратспецифического электрода натошак и после нагрузки углеводами в дозе 1 г сухой глюкозы на 1 кг массы тела.

Клинический случай

*Митохондриальные нарушения исследовали у 2 больных (сестра и брат) из семьи с синдромом MERRF. Сестра ранее была описана I. Finsterer [4–6] с анализом эпилептических приступов, расцененных как фоточувствительная эпилепсия. Пациентка (рис. 1, IV-1) в возрасте 25 лет обратилась с жалобами на светобоязнь, неприятные ощущения при рассматривании паттерна, состоящего из множества однородных предметов (например, листьев). Постоянно пользовалась очками с затемнением. Отмечала боль в глазах, головную боль, снижение памяти, изменение почерка. Больна с 17 лет, когда появились миоклонии в конечностях. Первый генерализованный тонико-клонический приступ произошел в возрасте 19 лет. В этом же возрасте был диагностирован синдром MERRF. При молекулярно-генетическом исследовании выявлен патогенный вариант *m.8344A>G* в *MT-TK* (тРНК (Lys)) с уровнем гетероплазмии в крови 50 %. По данным магнитно-резонансной томографии головного мозга определялась атрофия мозжечка. На электроэнцефалограмме были выявлены эпилептиформные разряды во фронтальных областях при гипервентиляции. Был назначен препарат вальпроевой кислоты. Однако в дальнейшем приступы повторялись с частотой 1–2 раза в месяц. Они провоцировались мерцающим светом или взглядом на мелкие камни, листья или грязный снег на земле. При электронейромиографии выявлена смешанная аксонально-демиелинизирующая полиневропатия. В связи с неэффективностью вальпроевой кислоты в возрасте 20 лет она была заменена на левитирацетам 3000 мг/сут. Кроме этого пациентка принимала клоназепам 1,5 мг/сут, коэнзим Q₁₀ 100 мг/сут, L-карнитин 100 мг/сут, витамин E 400 мг/сут.*

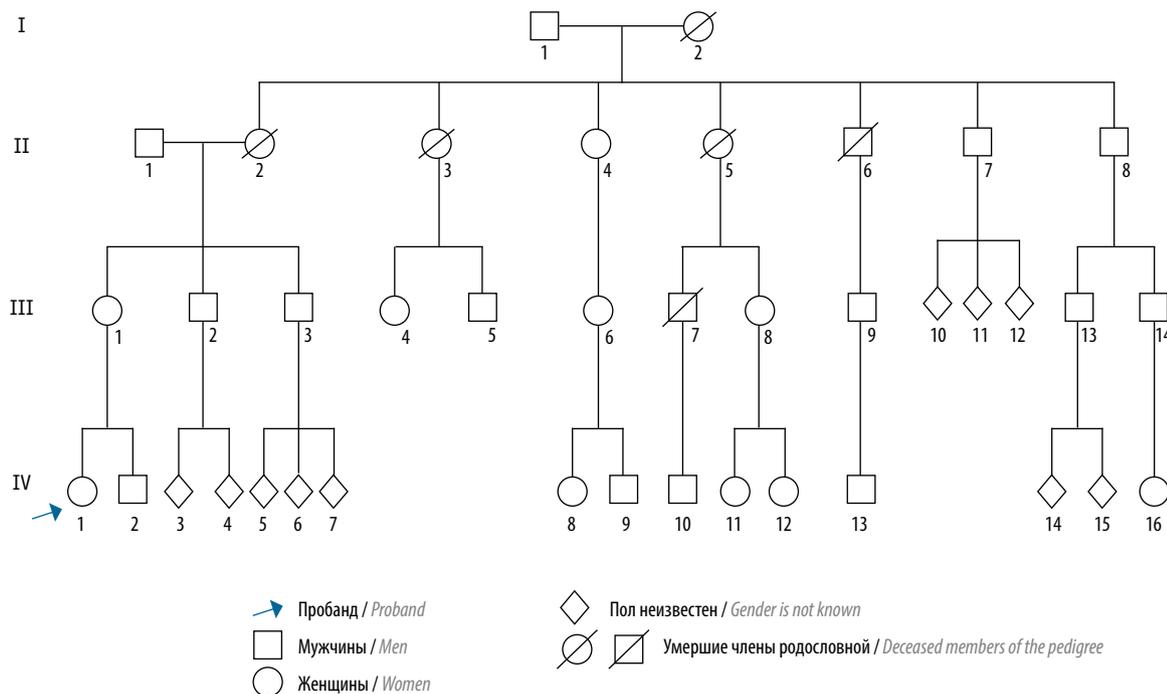


Рис. 1. Родословная семьи с синдромом MERRF

Fig. 1. Pedigree of a family with MERRF

В семье также выявлены повторные случаи заболевания. У матери (рис. 1, III-1) – светочувствительность, неприятные ощущения при мерцающем свете и при взгляде на множество камней, листьев или грязный снег на земле, легкая утомляемость, атаксия, возникшая после 50 лет. У нее был выявлен патогенный вариант *m.8344A>G* с уровнем гетероплазмии 40%. Заболевание было диагностировано также у брата пациентки. У него тоже определен патогенный вариант *m.8344A>G* в гомоплазмическом состоянии. У бабушки по материнской линии (рис. 1, II-2) отмечались миоклонии и фотосенсибилизация. У брата матери (рис. 1, III-2) – замедленность речи, отмеченная после 48 лет. У сестры бабушки по материнской линии (рис. 1, II-3) – атаксия, слабость, эпилептические приступы, фотосенсибилизация. У другой сестры бабушки по материнской линии (рис. 1, II-4) – атаксия, падения, фотосенсибилизация, замедленная речь. У ее дочери (рис. 1, III-6) – миоклонии, фотосенсибилизация. Еще у одной сестры бабушки по материнской линии (рис. 1, II-5) был диагностирован «паркинсонизм», у ее сына (рис. 1, III-8) – миоклонии, падения, фотосенсибилизация. У ее дочери (рис. 1, IV-9) – миоклонии, падения, фотосенсибилизация. У ее обеих дочерей (рис. 1, IV-12,13) – миоклонии, падения, фотосенсибилизация. У 2 братьев бабушки по материнской линии (рис. 1, II-7,8) – замедленная речь. Прабабушка по материнской линии (рис. 1, I-2) умерла в возрасте 84 лет без клинических симптомов заболевания.

При осмотре пациентки: рост 166 см, масса тела 49 кг. Черепные нервы без патологии. Генерализованный мелкоамплитудный миоклонус. Сухожильные рефлексы с рук средней живости, коленные рефлексы снижены, ахилловы – живые. Вибрационная чувствительность снижена в пальцах стоп до 5 баллов. В позе Ромберга – падение при закрывании глаз. Пальценосовую пробу выполняла с интенцией, пяточно-коленную – с интенционным тремором, больше слева. Оценка по шкале MMSE – 21 балл (норма – 30 баллов).

Активность митохондриальных ферментов лимфоцитов периферической крови на фоне приема 100 мг коэнзима Q_{10} и 100 мг L-карнитина: СДГ – 15,2 гр/лф (в норме 18,5–19,0 гр/лф), α -ГФДГ – 6,8 гр/лф (в норме 9,0–12,0 гр/лф), ГДГ – 4,9 гр/лф (в норме 9,0–12,0 гр/лф), ЛДГ – 7,8 гр/лф (в норме 10,0–17,0 гр/лф). Уровень лактата в крови до еды составил 2,6 ммоль/л, после нагрузки углеводами – 3,9 ммоль/л. Уровень фолиевой кислоты в крови составил 2,5 нг/мл при нормальном значении от 3,1 нг/мл. С учетом снижения показателя активности II комплекса дыхательной цепи митохондрий (активность фермента СДГ) была увеличена доза коэнзима Q_{10} до 200 мг, также назначен идебенон 90 мг/сут. Так как у пациентки был снижен показатель активности α -ГФДГ, отражающий жировой обмен митохондрий, была увеличена доза L-карнитина до 200 мг. Также была назначена фолиевая кислота 4 мг/сут. При приеме идебенона было отмечено снижение систолического арте-

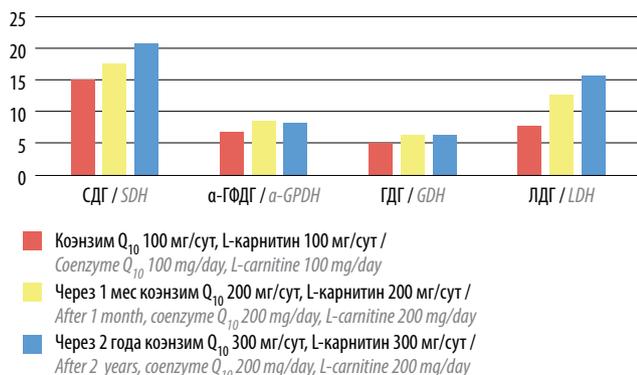


Рис. 2. Активность митохондриальных ферментов лимфоцитов периферической крови у пациентки с синдромом MERRF. СДГ – сукцинатдегидрогеназа; α-ГФДГ – α-глицерофосфатдегидрогеназа; ГДГ – глутаматдегидрогеназа; ЛДГ – лактатдегидрогеназа

Fig. 2. Activity of mitochondrial enzymes in peripheral blood lymphocytes in a patient with MERRF syndrome. SDH – succinate dehydrogenase; α-GPDH – α-glycerophosphate dehydrogenase; GDH – glutamate dehydrogenase; LDH – lactate dehydrogenase

риального давления до 80 мм рт. ст., поэтому пациентка принимала только коэнзим Q₁₀. Через 3 мес уровень активности СДГ составил 17,5 гр/лф, α-ГФДГ – 8,6 гр/лф, ГДГ – 6,1 гр/лф, ЛДГ – 12,7 гр/лф. С учетом того, что уровни активности СДГ и α-ГФДГ повысились, но не достигли нормальных значений, была увеличена доза Q₁₀ до 300 мг и L-карнитина до 300 мг. При осмотре через 2 года отмечалась положительная динамика показателей активности митохондриальных ферментов лимфоцитов периферической крови на фоне энерготропной терапии: СДГ – 20,6 гр/лф, α-ГФДГ – 8,2 гр/лф, ГДГ – 6,1 гр/лф, ЛДГ – 15,5 гр/лф (рис. 2). Отсутствие дальнейшего повышения активности α-ГФДГ, вероятно, ставит вопрос о дополнительном увеличении дозы L-карнитина.

Брат вышеописанной пациентки (рис. 1, IV-2) обратился в возрасте 19 лет с жалобами на подергивания мышц рук, дрожание рук, повышенную утомляемость. Заболел в возрасте 18 лет. В неврологическом статусе черепные нервы без патологии. Легкий тремор век и пальцев рук. Сухожильные рефлексы торпидные. Чувствительность не нарушена. В позе Ромберга при закрытии глаз пошатывался. Уровень лактата в крови до еды составлял 2,3 ммоль/л, после нагрузки углеводами – 1,6 ммоль/л. Цитохимическая активность митохондриальных ферментов лимфоцитов периферической крови: СДГ – 19,8 гр/лф, α-ГФДГ – 5,6 гр/лф, ГДГ – 6,0 гр/лф, ЛДГ – 15,7 гр/лф. Отмечено компенсаторное повышение активности СДГ и снижение остальных исследуемых показателей активности митохондриальных ферментов. При ДНК-диагностике был выявлен вариант т.8344А>G в гомоплазмическом состоянии.

Через 8 лет отмечал снижение памяти, внимания, повышенную утомляемость, подергивания рук, падения, нарушение координации движений. Во время прогулки по лесу появились неприятные ощущения перед глазами, упал на колени. После этого в течение месяца были сильная слабость, подергивания мышц, неприятные ощущения перед глазами. После приема клоназепама состояние улучшилось. На электроэнцефалограмме выявлена эпилептиформная активность, при электронейромиографии – признаки сенсорной полиневропатии. В неврологическом статусе – нарушение конвергенции глазных яблок с отведением левого глазного яблока влево, постоянные нерезко выраженные миоклонии, преимущественно в руках, элементы статикомоторной и динамической атаксии.

В представленном наблюдении вызывает интерес оценка функции митохондрий у пациентов с синдромом MERRF с количественной оценкой активности митохондриальных ферментов лимфоцитов периферической крови, а также уровня лактата до и после нагрузки углеводами. Представлена информативность этой методики для подбора дозы энерготропных препаратов. Уровень лактата в крови у обоих обследованных пациентов был снижен. После нагрузки углеводами у сестры он повысился, у брата – снизился, что, вероятно, связано с длительностью заболевания. У пациентки на фоне приема леветирацетама, клоназепама, коэнзима Q₁₀ в дозе 100 мг/сут, L-карнитина 100 мг/сут, витамина E 400 мг/сут отмечалось снижение всех исследуемых показателей, что отражает недостаточную дозу применяемых энерготропных препаратов. При повышении в 2 раза доз коэнзима Q₁₀ и L-карнитина отмечено увеличение показателей активности митохондриальных ферментов, без достижения целевых значений. При последующем увеличении дозы коэнзима Q₁₀ показатель СДГ, отражающий активность II комплекса дыхательной цепи митохондрий, увеличился более значительно. Для длительного парентерального назначения препарата комплекса дыхательной цепи митохондрий, по нашему мнению, предпочтителен коэнзим Q₁₀ или его синтетический аналог идебенон (III комплекс дыхательной цепи). Идебенон имеет более короткую боковую цепь и значительно легче проникает в головной мозг через гематоэнцефалический барьер. Однако у обследуемой пациентки идебенон вызвал снижение систолического артериального давления ниже 100 мм рт. ст., поэтому был назначен коэнзим Q₁₀. Суточная потребность в нем составляет 500 мг, поэтому возможно повышение дозы при необходимости. У брата пациентки в дебюте заболевания отмечены компенсаторное повышение активности II комплекса дыхательной цепи митохондрий и снижение активности других митохондриальных ферментов.

Таким образом, у обследуемых пациентов с семейной формой синдрома MERRF были выявлены повышение уровня лактата в крови, изменение активности митохондриальных ферментов в лимфоцитах периферической крови, которые относят к «энзиматическому зеркалу» тканей. Методику цитохимического исследования активности митохондриальных ферментов

в лимфоцитах периферической крови можно использовать в клинической практике для диагностики митохондриальных нарушений и коррекции доз энерготропных препаратов. Эти препараты остаются актуальными для лечения заболеваний с митохондриальными нарушениями ввиду отсутствия эффективной генотерапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Курбатова О.В., Измайлова Т.Д., Сурков А.Н. и др. Митохондриальная дисфункция у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. Вестник Российской академии медицинских наук 2014;69(7–8):78–84. DOI: 10.15690/vramn.v69i7-8.1112
Kurbatova O.V., Izmaylova T.D., Surkov A.N. et al. Mitochondrial dysfunction in children with hepatic forms of glycogen storage disease. Vestnik Rossiyskoy akademii medicinskikh nauk = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences 2014;69(7–8):78–84. (In Russ.). DOI: 10.15690/vramn.v69i7-8.1112
2. Фрелих Г.А., Полонеева Н.Ю., Васильев А.С., Удут В.В. Современные методы оценки функционального состояния митохондрий. Сибирский медицинский журнал 2013;28(3):7–13.
Frelikh G.A., Polomeeva N.Yu., Vasilyev A.S., Udut V.V. Modern methods for assessing the functional state of mitochondria. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal 2013;28(3):7–13. (In Russ.)
3. DiMauro S., Hirano M. MERRF. In: GeneReviews®. Seattle: University of Washington, 2003. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1520>.
4. Finsterer J. Photosensitive epilepsy and polycystic ovary syndrome as manifestations of MERRF. Case Rep Neurol Med 2020;2020:8876272. DOI: 10.1155/2020/8876272
5. Finsterer J. Pharmacotherapeutic management of epilepsy in MERRF syndrome. Expert Opin Pharmacother 2019;20(10):1289–97. DOI: 10.1080/14656566.2019.1609941
6. Finsterer J., Zarrouk-Mahjoub S., Shoffner J.M. MERRF Classification: Implications for diagnosis and clinical trials. Pediatr Neurol 2018;80:8–23. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2017.12.005
7. Gao M., Liu W., Chen Y., Zhang W. Cytochrome oxidase and succinate dehydrogenase double staining method in mitochondrial myopathy. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi 2015;44(3):208–9.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.П. Сидорова / O.P. Sidorova: <https://orcid.org/0000-0003-4113-5799>
 А.Ш. Латыпов / A.S. Latypov: <https://orcid.org/0009-0006-0064-0448>
 Е.В. Проскурина / E.V. Proskurina: <https://orcid.org/0009-0002-4865-433X>
 С.В. Котов / S.V. Kotov: <https://orcid.org/0000-0002-8706-7317>
 И.А. Василенко / I.A. Vasilenko: <https://orcid.org/0000-0002-6374-9786>
 Д.В. Кассина / D.V. Kassina: <https://orcid.org/0000-0002-6759-9121>
 А.С. Котов / A.S. Kotov: <https://orcid.org/0000-0003-2988-5706>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Funding. The work was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Пациенты подписали информированное согласие на исследование и публикацию своих данных.
Compliance with patient rights and principles of bioethics. The patients signed informed consent for the study and publication of their data.

Статья поступила: 03.11.2023. **Принята к публикации:** 23.11.2023.
Article submitted: 03.11.2023. **Accepted for publication:** 23.11.2023.