

НЕРВНО-МЫШЕЧНАЯ ПАТОЛОГИЯ ПРИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЯХ

Л.А.Сайкова, В.Г.Пустозеров

Санкт Петербургская медицинская академия последипломного образования Росздрава

NEURO-MUSCULAR PATHOLOGY IN MITOCHONDRIAL DISORDERS

V.G.Pustozarov, L.A.Saikova

Medical Academy of Postgraduate Studies, Saint-Petersburg, Russia

© Л.А.Сайкова, В.Г.Пустозеров, 2009 г.

Резюме. В работе представлены результаты обследования и лечения 17 больных с различными видами митохондриальной патологии (энцефалокардиомиопатия Kearns-Sayre, синдром MELAS, синдром NAPR; синдром MERRF). У 6 больных выполнено молекулярно-генетическое исследование и обнаружены мутации в митохондриальной ДНК. У трех больных клинический диагноз подтвержден молекулярно-генетическим исследованием. Предложен метод комплексного лечения больных с митохондриальной энцефаломиопатией.

Ключевые слова: митохондриальные болезни, энцефаломиопатии, ДНК митохондрий, энергетический метаболизм, олигонуклеотидные праймеры.

Resume. This paper presents the clinical data including diagnostic and treatment approaches of 17 patients suffering from the mitochondrial disorders (encephalocardiomyopathy, syndrome Kearns-Sayre, syndrome MELAS, syndrome MERRF, syndrome NAPR). Genetic examinations of six patients showed that they have mtDNA mutations. Molecular-genetic examinations of three patients have confirmed that they have this clinical diagnosis. The method of the complex treatment patients with the mitochondrial encephalomyopathies has offered.

Key words: mitochondrial disorders, mitochondrial encephalomyopathy, mtDNA, power metabolism, oligonucleotid primers.

Введение. С тех пор как более 50 лет назад было описано первое заболевание, связанное с разобщением окисления и фосфорилирования в митохондриях, пристальный интерес исследователей и клиницистов вызывали различные митохондриальные болезни, отличающиеся тяжелой симптоматикой, зачастую с неблагоприятным исходом. В настоящее время известно около 120 нозологических единиц и синдромов, наследуемых по материнской линии (при слиянии отцовской и материнской зародышевых клеток человеческого организм получает почти все свои митохондрии из яйцеклетки), все они вызваны структурными нарушениями в ДНК митохондрий (мтДНК). В последние 15 лет молекулярная генетика митохондриальных болезней стремительно развивалась. Наиболее весомый вклад внесли ряд американских, французских, немецких, итальянских и японских исследовательских центров. В России систематических исследований в этой области проводится мало [1, 2].

Особенностью наследственных митохондриальных болезней зачастую является полное отсутствие каких-либо патологических признаков в начале жизни больного. Это вызвано присутствием в клетках растущего организма сотен митохондрий как с мутантной, так и с нормальной («дикий тип») ДНК, что получило название гетероплазмии. Оба типа мтДНК в процессе деления клетки распределяются случайным образом между дочерними клетками. Поэтому в последующих поколениях часть клеток может обладать только нормальной мтДНК, другая часть только мутантной, а третья часть — и тем и другим типом мтДНК. Содержание митохондрий с мутантной

мтДНК нарастает постепенно. Благодаря этому «лаг-периоду», будущие пациенты нередко достигают половозрелого возраста и дают потомство, почти всегда несущее те же мутации в мтДНК. Когда количество мутантных копий мтДНК достигает в клетке определенного порога концентрации, энергетический метаболизм в клетках оказывается значительно нарушенным и проявляется в виде заболевания.

Частоту дисфункции дыхательной цепи оценивают от 1 на 5–10 тысяч до 4–5 на 100 тысяч новорожденных [3, 4]. Клинически эти нарушения могут реализовываться в любом органе и ткани, в любом возрасте, а вследствие двойного кодирования компонентов мультиферментных комплексов дыхательной цепи ядерной ДНК (ядДНК) и мтДНК, могут иметь любой тип наследования [5, 6].

Гетерогенность симптоматики затрудняет клиническую диагностику этих заболеваний [7, 8]. Необходимость их исключения возникает при наличии мультисистемных проявлений, которые не укладываются в обычный патологический процесс. Наиболее энергетически зависимыми, а потому уязвимыми являются мозг, сердце, скелетные мышцы, сенсорные органы, почечные канальцы, эндокринная система, печень, костный мозг и желудочно-кишечный тракт [9, 10], поэтому митохондриальные болезни рассматривали как нервно-мышечную патологию или как митохондриальные энцефаломиелопатии. Нервно-мышечная патология при митохондриальных болезнях обычно бывает представлена деменцией, судорогами, атаксией, оптической нейропатией, ретинопатией, нейросенсорной глухотой, периферической нейропатией, миопатией.

Однако около 33% пациентов с митохондриальными болезнями имеют нормальный интеллект, а нервно-мышечные проявления у них отсутствуют [11].

К митохондриальным болезням относят, в частности, энцефалокардиомиопатию Kearns – Sayre (пигментный ретинит, наружная офтальмоплегия, полная блокада сердца), синдром MERRF (миоклонус-эпилепсия, «рваные» красные волокна), синдром MELAS (митохондриальная энцефаломиопатия, лактат-ацидоз, инсультоподобные эпизоды), синдром Pearson (энцефаломиопатия, атаксия, деменция, прогрессирующая наружная офтальмоплегия), синдром NAPR (невропатия, атаксия, пигментный ретинит) и некоторые формы офтальмопатической миопатии. Все эти формы объединены выраженным в той или иной степени миопатическим синдромом.

Ключевую роль в диагностике и дифференциальной диагностике митохондриальных болезней играют биохимические методы, а также методы исследования различных нарушений в мтДНК [8]. Программа биохимической диагностики митохондриальных болезней основана на оценке патологических метаболитов, характерных для расстройств окислительного фосфорилирования, в биологических жидкостях больных, а также активности ферментов I–V комплекса дыхательной цепи митохондрий, составляющих метаболическую цепь окислительного фосфорилирования. Перечень диагностических тестов, применяемых в случае необходимости исключения митохондриальных болезней, включает следующее: значение соотношения лактат/пируват в плазме, значение соотношения кетоновых тел в плазме, количественный анализ аминокислот плазмы, количественный анализ органических кислот мочи, биопсия скелетных мышц. Наиболее информативным является исследование активности ферментов. Каждый из вышеперечисленных тестов не является абсолютным. Необходима их комплексная оценка со многими повторами в сочетании с клиническими данными. Нормальный уровень лактата в плазме и в спинномозговой жидкости не исключают митохондриальные болезни. При биопсии скелетных мышц находят «рваные красные волокна».

В настоящее время наиболее точным и достоверным методом диагностики является молекулярно-генетический анализ ДНК митохондрий, в которой и образуются мутации, способствующие формированию отдельных нозологических вариантов заболеваний.

Материалы и методы исследования. За период с 1988 г. по настоящее время в клинике нервных болезней Санкт-Петербургской МАПО лечились 42 больных с различными вариантами митохондриальной патологии. Для получения новых данных о патогенезе, улучшения диагностики и разработки новых методов лечения с 1998 по 2008 г. мы обследовали несколько больных с различными нервно-мышечными синдромами, энцефалопатией, кардиомиопатией, лактат-ацидозом и другими нарушениями, обусловленными, предположительно, структурными, биохимическими дефектами митохондрий и нарушением тканевого дыхания. Среди них было 6 мужчин и 11 жен-

щин в возрасте от 28 до 58 лет. Для уточнения диагноза и обнаружения возможных мутаций в ДНК митохондрий у части больных совместно с сотрудниками отдела молекулярной генетики НИИ экспериментальной медицины РАМН В.Б.Васильевым и В.А.Сokolовой выполнено молекулярно-генетическое исследование мт-ДНК. Обследованная группа больных включала следующие формы (табл. 1):

Таблица 1
Распределение обследованных больных по нозологической форме, полу и возрасту

Синдром	Число больных	Пол (м/ж)	Средний возраст (лет)
Kearns-Sayre	8	4/4	42±8
MELAS	4	1/3	29±6
MERRF	2	0/2	22±3
NAPR	3	1/2	28±7

Результаты и их обсуждение. У 8 больных предполагалась энцефалокардиомиопатия Kearns – Sayre (синдром, впервые описанный в 1958 г. под названием «пигментный ретинит, наружная офтальмоплегия, полная блокада сердца»). Наши больные этой группы характеризовались: дебютом заболевания в возрасте от 6 до 19 лет; прогрессирующей наружной офтальмопегией (100%); пигментным ретинитом (75%), дегенерацией сетчатки (62,5%); атаксией, интенционным тремором (50%), кардиомиопатией, атриовентрикулярной блокадой сердца (87,5%), «рванными» красными волокнами в биоптатах мышечной ткани (75%), которые, как правило, располагались в пределах всего биоптата и идентифицировались по активности миофибриллярной АТФ-синтетазы, как волокна I типа. У 4 больных наблюдались экстрасистолы, суправентрикулярная тахикардия, синдром Вольфа – Паркинсона – Уайта. Также для этих больных были характерны низкорослость (87,5%) и скелетные аномалии. (50%).

Предпринято молекулярно-генетическое исследование мт-ДНК у 5 больных с предполагаемой митохондриальной патологией — синдромом Kearns – Sayre. (Впервые молекулярно-генетическое подтверждение делеции при синдроме Kearns – Sayre получено Moraes C.T. et al., 1989). Биоптаты брали из дельтовидной мышцы больных. Из биоптатов мышечной ткани была выделена «тотальная» ДНК (ядерная и мт-ДНК). С помощью специфических олигонуклеотидных праймеров у трех пациентов были обнаружены нарушения в структуре мт-ДНК.

Так, у больного С. обнаружена гигантская делеция, составлявшая около 5400 нуклеотидных пар (8278–13 770) приведшая к полному отсутствию гена т-РНК Лиз и обширному дефекту гена пятой субъединицы НАДН-дегидрогеназы (NADH-V), утратившему около 75% своей последовательности. Клинически у больного были выявлены типичные признаки энцефалокардиомиопатии: низкий рост, отставание в физическом развитии и нарушение полового созревания, множественные диспластические черты, офтальмопа-

тия, миопатический синдром, сформировавшийся в детстве, осложнился кардиомиопатией с нарушением сердечного ритма (в связи с чем больному имплантирован кардиостимулятор), энцефалопатия проявлялась мозжечково-пирамидными нарушениями.

У больной К. делеция составляла около 7400 нуклеотидных пар (8637–16084), вследствие чего в мутантных копиях митохондриального генома отсутствовали гены тРНКПро, тРНКГлу, тРНКТре, также полностью выпали гены пятой и шестой субъединиц NADH-дегидрогеназы (NADH-V и NADH-VI) цитохрома b, присутствовал обширный дефект в гене шестой субъединицы АТФазы (ATPase-VI).

У обоих больных наблюдалась выраженная гетероплазмия, проявлявшаяся в наличии как делетированных, так и полноразмерных копий мтДНК. Доля мутантных мтДНК в мышечной ткани варьировала от 45% до 75%. В фибробластах больных доля мутантных митохондрий была значительно ниже. По данным литературы [5, 7] около 80% больных с синдромом Kearns – Sayre имеют делеции митохондриальной ДНК в гетероплазме, возникшие спонтанно в ооцитах матери или в соматических клетках в течение эмбриогенеза. При этом тканевое распределение мутантных митохондриальных ДНК характеризуется значительной вариабельностью, обуславливая клинический полиморфизм фенотипов.

Таким образом, размер делеций, их локализация в геноме митохондрий и распределение мутантной мт-ДНК в разных тканях имели критическое значение для клинического проявления последствий этих мутаций.

Больная М. также отличалась малым ростом, наличием диспластических черт, задержкой физического и психического развития (рисунок).

У больной имелись наружная офтальмоплегия и поражение скелетных мышц (см. рисунок). Миопатический синдром сочетался с кардиопатией, энцефалопатией и поражением слуховых нервов, мигренеподобными головными болями. Клинически был установлен диагноз энцефалокардиомиопатии Kearns-Sayre. Однако в результате молекулярно-генетического обследования у больной была обнаружена другая точечная мутация мт-ДНК — замена А-Г в 3243 позиции. Эта замена нарушает структуру гена т-РНК лейцина. В данном случае имелось расхождение диагноза, предварительно установленного по фенотипу синдрома Kearns-Sayre и результатов молекулярно-генетического исследования. Отличительной особенностью этой больной от других больных этой группы являлись пароксизмы головных болей с тошнотой и рвотой, объясняемые как мигренеподобные головные боли. Вероятнее вторичное происхождение этих цефалгий вследствие лактат-ацидоза. Именно на эти признаки следовало обратить внимание при установлении клинического диагноза у нашей больной.

У трех больных диагностирован синдром NAPR (невропатия, атаксия, пигментный ретинит). Основанием для диагноза служило сочетание невропатии, атаксии, пигментного ретинита; задержка психомо-

торного развития, деменция; наличие «рваных» красных волокон в биоптатах мышечной ткани. Причиной заболевания являлась точечная мутация мт-ДНК в позиции 8993. Такая мутация ведет к замещению лейцина на аргинин в субъединице 6-й митохондриальной АТФ-синтетазы. Дифференциальный диагноз у этих больных проводили с другими наследственными заболеваниями, сочетающимися с атаксическим синдромом и пигментным ретинитом (оливопонтocerebellарная дегенерация, абетапопротеинемия, болезнь Рефсума).

В двух случаях клинически установленного синдрома MERRF (впервые описан N.Fukuhara, 1980) у больных отмечались дебют заболевания в возрасте до 15 лет; прогрессирующее течение, миоклонус-атаксия, деменция, нейросенсорная глухота, атрофия зрительных нервов, периферическая полиневропатия, лактат-ацидоз; изменения ЭЭГ «генерализованные комплексы», «полиспайк-волна», «рваные» красные волокна в биоптатах скелетных мышц. Диагноз синдрома MERRF, имевшимся набором олигонуклеотидных праймеров, у наших больных не был подтвержден.

Для лечения больных использовали комплексный метод, включающий препараты, действующие на различные звенья патогенеза митохондриальной патологии: антиоксиданты, призванные повысить эффек-

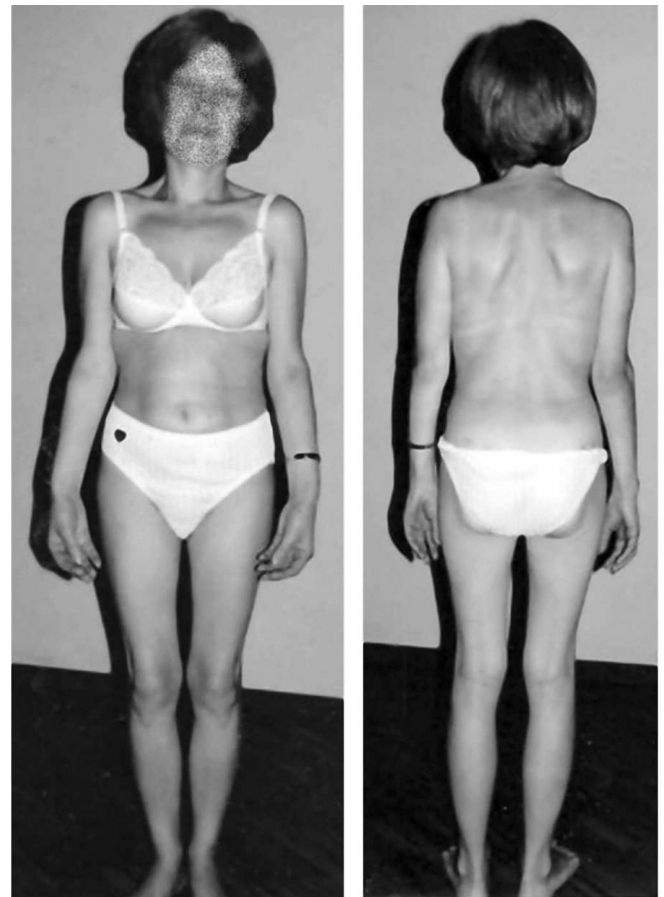


Рисунок. Больная М.

тивность нарушенной электронно-транспортной цепи (доноры и акцепторы электронов); корректоры нарушений энергетического обмена; препараты, умень-

шающие лактат-ацидоз, препараты, предупреждающие повреждение мембран митохондрий свободными радикалами.

Препараты перечисленных групп назначали курсами 2–3 раза в год в следующих дозах: мексидол (до 4 г/сут) в/в и в/м № 10, и внутрь по 0,125 3 раза в день, до 60 дней, коэнзим Q10 (200 мг/сут), витамин С (500 мг/сут) в/в № 10, витамин Е (300–500 мг/сут) в/м № 10. Затем L-карнитин до 100 мг/кг/сут 30 дней, идебенон (180 мг/сут), предшественники коэнзимов НАД (рибофлавин 100 мг/сут 30 дней, и ФАД (никотинамид до 1 г/сут 30 дней).

Оценка эффективности лечения проводилась самими пациентами субъективно, по 4-ступенчатой шкале («хорошо», «удовлетворительно», «отсутствие эффекта», «ухудшение»). Анализ этой оценки выявил увеличение к концу 3-й недели лечения числа больных с положительной оценкой самочувствия, которое коррелировало с оценкой качества жизни больного, проведенного по пяти шкалам опросника «качество жизни SF-36» (способность к физическим нагрузкам; общее состояние здоровья; социальное функционирование; психическое здоровье и оценка своего состояния в динамике за 6 месяцев). Эти данные представлены в табл. 2.

Анализ результатов исследования ферментов крови лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК) показал снижение ферментемии у больных, получавших лечение предложенным способом (табл. 3).

Снижение выраженности лактат-ацидоза отмечалось у 80% больных. В конце контрольного срока (3 и 6 мес.) у больных с митохондриальными энцефалопатиями вновь отмечалось повышение уровня КФК и ЛДГ, что указывает на временное уменьшение метаболических нарушений и определяет необходимость повторных курсов и поиска новых подходов к лечению этих больных.

Исследование показателей антиоксидантной системы (АОС) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитах больных с митохондриальными миопатиями показало снижение содержания восстановленного глутатиона (ВГ) и сульфгидрильных групп (СГ), увеличение среднего содержания глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-Ф-ДГ) и глутатион-редуктазы (ГР), что свидетельствует о значимой нагрузке на антиоксидантную систему.

Анализ показателей АОС и ПОЛ после лечения комплексным методом у больных митохондриальной патологией (энцефалопатии) показал положительный эффект, что объяснялось антиоксидантным

Таблица 2

Оценка качества жизни больных энцефалопатиями до и после лечения комплексным методом n=17 (M±m)

Показатели шкалы SF-36	Исходный опрос (до лечения)	Оценка качества жизни		
		Через 1 месяц	Через 3 месяца	Через 6 месяцев
PF	46,0±3,6	60,2±3,2*	54,5±3,7	47,5±3,8
GH	42,0±2,8	49,6±2,1	44,2±3,7	42,5±2,7
SF	50,3±3,9	67,7±6,4*	62,5±3,8*	51,9±3,7
MH	54,6±3,2	59,6±4,2*	54,1±2,8	52,4±3,1
HT	2,8±0,2	3,9±0,4*	3,6±0,2	2,9±0,2

Примечание. PF — способность к физическим нагрузкам; GH — общее состояние здоровья; SF — социальное функционирование; MH — психическое здоровье; HT — оценка своего состояния в динамике за 6 мес. *) — p<0,05 по сравнению с исходным показателем.

Таблица 3

Динамика ЛДГ и КФК у больных с митохондриальными энцефалопатиями до и после лечения комплексным методом (M±m)

Синдромы	Число больных	ЛДГ (N 24–460 ЕД)				КФК (N 30–140 ЕД)			
		До лечения	После лечения через			До лечения	После лечения		
			1 мес	3 мес	6 мес		1 мес	3 мес	6 мес
Kearns-Sayre	8	356±67	299±35	344±42	387±32	147±61	62±22	78±28	129±44
MELAS	4	494±45	259±57	353±43	445±42	132±41	60±27	83±52	114±44
MERRF	2	419±65	282±35	389±63	462±42	147±31	82±22	88±34	128±52
NAPR	3	491±35	289±37	357±53	422±42	138±61	78±29	83±32	138±25

Под влиянием проведенной комплексной терапии отмечено временное улучшение показателей оценки качества жизни по опроснику SF-36. В основном это проявлялось увеличением мышечной силы, улучшением способности к физическим нагрузкам, уменьшением атаксических и нейропатических нарушений.

действием и стабилизацией биологических мембран от терапии комплексным методом не только нейронов и мышечных клеток, но и клеток крови, что способствовало устранению церебральной гипоксии, а также ингибированию свободнорадикальных процессов и ПОЛ в мышечной ткани.

Динамика показателей АОС и ПОЛ после лечения комплексным методом больных с митохондриальными энцефаломиопатиями (n=17)

Показатели АОС и ПОЛ	До лечения (М±m)	После лечения (М±m)
Восстановленный глутатион (мкмоль/г гемоглобина)	5,13±0,24	7,63±0,44
Сульфгидрильные группы (мкмоль/г гемоглобина)	4,54±0,51	5,11±0,48
Малоновый диальдегид (нмоль/г гемоглобина)	9,72±1,23	6,77±0,45*
Г-6-Ф-дегидрогеназа (мкмоль/мин. г гемоглобина)	7,57±0,43	4,45±0,64*
Глутатион-редуктаза (мкмоль/мин. г гемоглобина)	372,3±41,5*	246,3±35,2*
Глутатион-пероксидаза (мкмоль/мин. г гемоглобина)	0,264±0,027	0,382±0,023
Каталаза (мкмоль/мин.г. гемоглобина)	17,24±1,49	14,50±1,23*

В комплексное лечение больных рекомендуется включать:

— препараты-переносчики электронов в дыхательной цепи: коэнзим Q10, янтарная кислота, цитохром С;

— кофакторы энзимных реакций энергетического обмена: никотинамид, карбонат, рибофлавин, тиамин, цитофлавин, липоевая кислота, актовегин, биотин, карнитин хлорид;

— препараты, предупреждающие окислительное повреждение митохондриальных мембран (аскорбиновая кислота, витамин Е, мильгамма, бенфотиамин).

При кардиомиопатии показаны милдронат, тиотриазолин, предуктал.

При наличии когнитивных расстройств следует проводить курсовое лечение нейропротекторами (семакс, церебрум композитум, тиоцетам).

Уменьшают степень лактат-ацидоза карнитина хлорид, актовегин, мексидол (10% 10,0 на 100,0 мл 10% раствора глюкозы), цитофлавин (5,0–10,0 мл в/в), элькар или АТФ-лонг (10–20 капель 2 раза в сутки, месяц), церебрум композитум (2 мл в/в № 20), бенфотиамин 2,0 в/м.

Выводы

1. Сопоставление клинических и молекулярно-генетических данных позволило уточнить диагноз различных форм митохондриальных болезней.

2. Лечение митохондриальных заболеваний должно быть патогенетическим и проводиться 3–4 курсами в год длительностью в 1–2 мес.

3. Дальнейшее установление связи отдельных мутаций в структуре ДНК митохондрий с клиническими и биохимическими проявлениями заболевания поможет раскрытию новых аспектов патогенеза и предложению новых способов лечения.

Литература:

1. *Наследственные болезни нервной системы: Руководство для врачей* / ред. Ю.Е.Вельтищев, П.А.Темин / М. Медицина, 1998. — 496 с.
2. *Баранов В.С., Баранова Е.В. и др.* Геном человека и гены «предрасположенности» // Введение в предиктивную медицину. — СПб., 2000. — С. 17–27.
3. *Леонтьева И.Б., Лебедева С.Е.* Митохондриальная кардиомиопатия // Миокардиодистрофии у детей и подростков. — М.: Медицина, 2005. — С. 73–83.
4. *Евтушенко С.К., Перепеченко Ю.М.* Рецидивирующий метаболический инсульт у детей, обусловленный MELAS-синдромом / I / Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Неординарные (раритетные) синдромы и заболевания нервной системы у взрослых и детей». — Донецк — Святогорск, 2003. — С. 97–100.
5. *Яхно Я.Я., Помыткин Н.П. и др.* Случай синдрома MELAS // Неврологический журнал. — 1998. — № 5. — С. 54–59.
6. *Ершова М.В., Иллариошкин С.П., Сухоруков В.С.* Опыт применения нобена для коррекции митохондриальных нарушений // Журнал неврологии и психиатрии. — 2007. — № 9. — С. 32–37.
7. *Николаева Е.А., Темин П.А. и др.* Лечение ребенка с митохондриальным синдромом MELAS // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 1997. — № 2. — С. 30–34.
8. *Краснополская К.Д., Захарова Е.Ю.* Современные достижения в диагностике и профилактике митохондриальных болезней // Журнал неврологии и психиатрии. — 1998. — №8. — С. 49–56.
9. *Темин П.А., Никанорова М.Ю.* Митохондриальная энцефалопатия, миопатия, лактат-ацидоз, инсультподобные эпизоды (Обзор литературы) // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. — 1995. — № 6. — С. 24–29.
10. *Goto K., Horai S., Matsuoka T. et al.* Mitochondrial angiopathy in cerebral myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS): a correlative study of the clinical features and mitochondrial DNA mutation // Neurology. — 1992. — Vol. 42. — P. 545–550.
11. *Suzuki T., Koizumi J. et al.* Mitochondrial encephalomyopathy (MELAS) with mental disorder: CT, MRJ, and SPECT findings. — Neuroradiology. — 1990. — 32. — 74–76.