

## FENOTIP MELAS. ENCEFALOPATIE MITOCONDRIALĂ NECONFIRMATĂ MELAS PHENOTYPE. UNCONFIRM MITOCHONDRIAL MYOPATHY CASE

Anamaria Todoran-Butilă<sup>1</sup>, Voica Foişoreanu,<sup>2</sup> Micheu C.<sup>2</sup>

1 - medic rezident neurologie pediatrică, Prep Univ Genetică, UMF Tg. Mureş

2 - Clinica de Neurologie şi Psihiatrie Pediatrică, Tg. Mureş

### Rezumat

Encefalo-miopatiile sunt tulburări multisistemice caracterizate prin defecte mitocondriale biochimice şi genetice având o transmitere ereditară variabilă. Una dintre cele mai frecvente afecţiuni din acest grup de boală este sindromul de miopatie mitocondrială, encefalopatie şi acidoză lactică însoţită de episoade stroke-like (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis with stroke-like episodes – MELAS), care este moştenit strict pe linie maternă. Conform denumirii, episoadele de tip atac vascular cerebral sunt fenomene caracteristice acestui sindrom. Alte manifestări clinice, cum ar fi crizele epileptice, diabetul zaharat, pierderea părului, statura mică, deficitul motor, fac parte din tabloul clinic. Sindromul este asociat cu un număr de mutaţii punctiforme în materialul genetic mitocondrial, mai mult de 80% a mutaţiilor fiind prezent la nivelul buclei dihidro-uridinice a genei de ARNt mitocondrial [ARNt (Leu)(UUR), A→G]. În această lucrare vom încerca să realizăm un algoritm de diagnostic pornind de la un caz la care am ridicat suspiciunea unui sindrom MELAS. La pacienţii tineri cu multiple episoade de accident vascular cerebral, în teritorii vasculare diferite, precum şi modificări radioimagingistice caracteristice, crize convulsive, deficit motor, hipostatura, afecţiuni gastrointestinale, cardiace, oftalmologice, trebuie iniţiate testele de laborator în vederea unui sindrom MELAS. Prezenţa fibrelor roşii în muşchiul scheletic şi determinările biochimice caracteristice defectelor mitocondriale susţin diagnosticul. Testele genetice moleculare privind modificările ADN-ului mitocondrial vor confirma diagnosticul. Trebuie acordat sfatul genetic atunci când există certitudinea unor mutaţii în ADN-ul mitocondrial.

**Cuvinte cheie:** sindrom MELAS, encefalomiopatie mitocondrială, acidoză lactică, fosforilare oxidativă, ictusuri cerebrale

### Abstract

Encephalo-myopathys are an multisystemic disorders which are characterize by mitochondrial biochemical and genetic disfunction with variable heredity. One of the most frequent diseases from this group of disorders is mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke (MELAS) which is an maternal hereditary. The strokelike episodes characterize this sindrom. Other features, such as seizures, diabetes mellitus, hearing loss, short stature, and exercise intolerance are clearly part of the disorder. Approximately 80% of patients with the clinical characteristics of MELAS have a heteroplasmic A-to-G point mutation in the dihydrouridine loop of the transfer RNA (*tRNA*)*Leu* (*UUR*) gene. In this study, we will try to realize an algoritm of diagnostic starting from an patient with susceptibility of MELAS. In the young patient with multiple stroke-like episodes in different vascular territories and neuroradiologic features of transient abnormalities in varying regions, seizures, neuromuscular deficit, short stature, gastrointestinal, ophthalmologycal affectation, laboratory testing for MELAS must be performed. The presence of ragged red fibers in skeletal muscle and biochemical demonstration of defects in mitochondrial respiratory enzymes strongly support the diagnosis. Molecular genetic testing for abnormalities in mitochondrial DNA will confirm the diagnosis. Genetic counseling should be provided to patients with MELAS associated with mitochondrial DNA point mutations.

**Keywords:** MELAS syndrome, mito-chondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, oxidative phosphorylation, strokelike episode

## Date teoretice

Encefalomiopatiile sunt tulburări multisistemice caracterizate prin defecte mitocondriale biochimice și genetice având o transmitere ereditară datorate tulburării funcției lanțului respirator oxido-reductor de la nivelul membranei mitocondriale interne. (2,6,8)

Genomul mitocondrial. Patologia mitocondrială

Mitocondriile reprezintă singurele organele extracelulare care conțin ADN.

Fiecare mitocondrie conține între 2-10 molecule circulare de ADN dublu catenar alcătuit din 16569 pb. Celulele somatice conțin sute de mitocondrii. Datorită ratei înalte de mutații produse în ADNmt, celulele somatice conțin mixturi de mitocondrii (unele cu genom normal, altele cu genom modificat prin mutații) = heteroplasmie. (2,4,5,6,8)

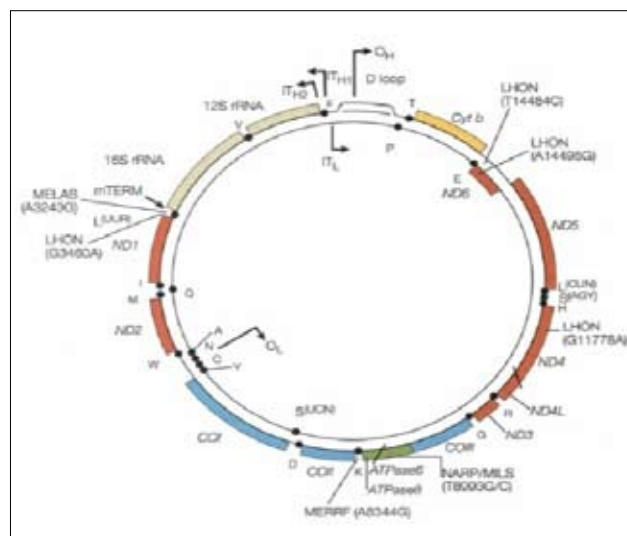
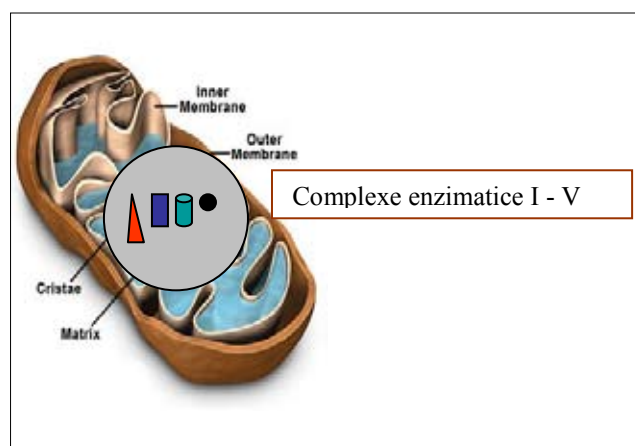
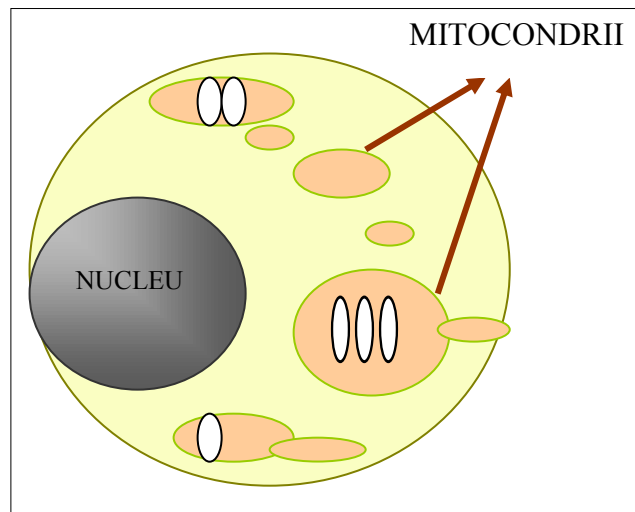


Fig.1 Diagrama genomului mitocondrial uman și cele mai frecvente mutații asociate unor entități clinice (2)

Genomul mitocondrial cuprinde 37 gene care codifică:

- 22 de tipuri de ARN transfer și 2 tipuri de ARN ribozomal care intră în componența aparatului proteinosintetizator propriu
- 13 polipeptide care constituie subunități din componența a 4 din cele 5 complexe enzimatice ale lanțului respirator (localizat la nivelul membranei mitocondriale interne)

Genomul mitocondrial al zigotului provine exclusiv de la ovul, așa încât mama transmite genele mitocondriale tuturor descendenților săi. Tipuri de mutații în genomul mitocondrial: deleții, substituții, duplicații, inserții ale unei singure perechi de nucleotide precum și mutații ce interesează secvențe cu lungimi de sute, mii de nucleotide. Pot apărea și depleții (reducerea drastică a cantității de ADNmt, care se produce de obicei într-un singur organ cu consecințe grave și debut precoce). (2,4,5,8)

Trăsătura unificatoare a celor peste 120 fenotipuri patologice atribuite alterării genetice a funcției mitocondriale o constituie deficitul balanței energetice. Scăderea sub un prag critic a producției de energie la nivel mitocondrial antrenează perturbări majore ale activității celulare, traduse prin declinul capacității unor țesuturi și organe de a-și îndeplini funcțiile specifice.

În majoritatea cazurilor, defectele genetice ale mitocondriilor se manifestă prin deteriorarea funcțiilor sistemului nervos și al celui muscular, acestea având o activitate dependentă de energia rezultată din procesul fosforilării oxidative. (8)

#### Manifestările clinice ale afecțiunilor mitocondriale: (2,4,8)

1. caracterul necoerent al asocierii semnelor și simptomelor clinice
2. debutul cel mai adesea precoce și evoluția rapidă, progresivă
3. afectarea concomitentă a cel puțin trei organe care nu au în comun nici originea embriologică nici funcțiile biologice
4. modificările recurente survenite în tabloul clinic cu ocazia unor infecții
5. prezența în tabloul clinic a unor combinații de trăsături atipice, inexplicabile

Bolile mitocondriale pot debuta însă prin tulburări ale funcției altor organe; după un scurt interval de timp acestor tulburări li se adaugă, inevitabil, semnele afectării neuromusculare. (8)

Cel mai adesea manifestările clinice inițiale ale citopatiilor mitocondriale exprimă suferința unui singur organ. Nici una dintre manifestările de debut nu este de natură să orienteze asupra implicării în patogenia bolii a unui defect mitocondrial. Asocierea ulterioară a semnelor afectării altor aparate și sisteme impune efectuarea unor examene paraclinice ale căror rezultate pot documenta posibila disfuncție mitocondrială. Testul decisiv de diagnostic îl constituie însă analiza moleculară a ADNmt. (5,6,8)

#### Cele mai frecvente boli mitocondriale:

1. Oftalmoplegia externă cronică progresivă
2. Sindromul Kearns-Sayre
3. MELAS
4. Epilepsia mioclonică cu fibre musculare roșii în lambouri (MERRF)
5. Neuropatia optică ereditară Leber (LHON)
6. Neuropatie, ataxie și retinită pigmentară (NARP)

7. Sindromul Leigh

8. Miopatia infantilă și acidoza lactică

9. Sindromul Pearson

**MELAS** – este o boală multisistemică, în care, pe lângă semnele cardinale desemnate prin acronimul MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis with stroke-like episodes) există o amplă varietate de anomalii clinice dintre care cele mai frecvente sunt: surditatea, convulsiile generalizate, episoadele de vomă. Consecutiv ictusurilor cerebrale se instalează hemiplegii, hemianopsii, amauroză centrală. La peste 80% dintre pacienți se detectează mutații punctiforme în gena ARNt Leu (UUR) în pozițiile nucleotidice 3243 (A3243G) și 3271 (substituția A cu G) (3,4,7,8)

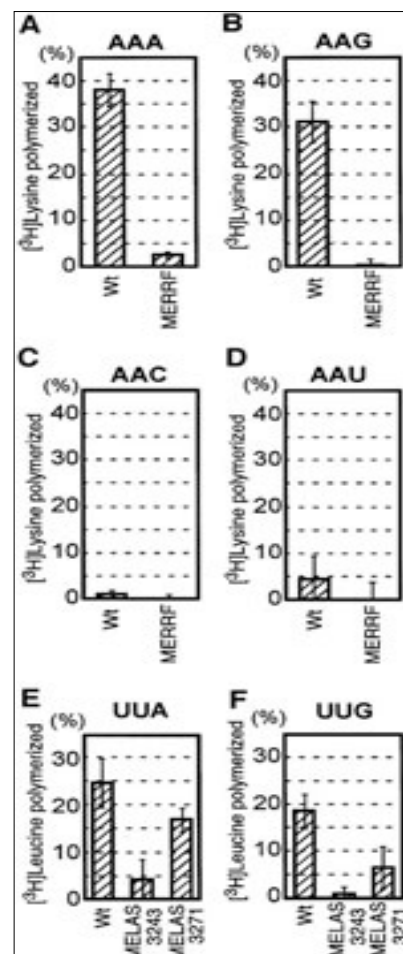


Fig. 2 ADNmt - genotipuri

**Table 1.** Diversitatea simptomelor bolilor mitocondriale. Modalități de debut în funcție de vârstă (1,2,3,4,7,8,9)

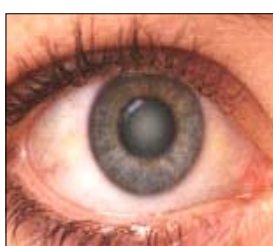
organ	perioada neonatală	copilărie	adolescență, vârstă adultă
SNC	hipotonie, acidoză lactică, comă acidocetozică	retard psihomotor, ataxie cerebeloasă, mioclonii, hemipareză, AVC-uri, cefalee de tip migrenos, encefalomiopatie	mioclonii, ataxie cerebeloasă, spasticitate, retard psihomotor, leucodistrofie, atrofie corticală, neuropatie periferică, hemipareză
Musculatura	miopatie, atrofie musculară	miopatie, atrofie musculară, deficit muscular al membrelor, slăbiciune musculară, hipotonie, mialgii intoleranță la efort	miopatie progresivă, slăbiciune musculară, milagii, intoleranță la efort, mioglobinurii recurente
Inimă	cardiomiopatie hipertrofică	cardiomiopatie hipertrofică	bloc cardiac, cardiomiopatie dilatativă sau hipertrofică
Aparat digestiv		vărsături recurente, diaree, dureri abdominale recurente, ocluzie intestinală, insuficiență pancreatică exocrină, pancreatită	
Ficat	insuficiență hepatică	hepatomegalie, disfuncție hepatocelulară	
Rinichi	tubulopatie proximală	sindrom nefrotic (oligurie)	insuficiență renală
Analizatorul vizual		atrofie optică, oftalmoplegie ptoză palpebrală, retinită pigmentară, ambliopie	atrofie optică Leber, oftalmoplegie ptoză palpebrală, retinită pigmentară, ambliopie, cataractă
Analizatorul auditiv		surditate neurosenzorială	surditate neurosenzorială
Sistem endocrin		hipostatură, hiperglicemie	diabet zaharat, hipoparatiroidism, hiperaldosteronism
piele		pigmentație anormală hirsutism, dermatită seboreică, căderea părului	
Sistem hematopoetic		anemie sideroblastică, trombocitopenie, neutropenie	

## Criteria de definire a bolii mitocondriale

- I. Afectare musculară - maxim 2 puncte
- II. Afectarea SNC - maxim 2 puncte
- III. Afectare multisistemică - maxim 4 puncte
- IV. Tulburări metabolice - maxim 4 puncte

## Evaluare

- 1 punct: afectarea lanțului respirator puțin probabil
- 2-4 puncte: afectarea lanțului respirator posibil
- 5-7 puncte: afectarea lanțului respirator probabil
- 8-12 puncte: afectarea lanțului respirator sigur



(E Morava, JAM Smeitin, Neurology, 2006)

Vârsta de debut : 5-15 ani (frecvență mai mare la vârsta adolescenței); mai rar debutul poate fi în mica copilărie ; a fost însă descris un caz de sindrom MELAS la vârsta de 4 luni. (1)

## Tratamentul bolilor mitocondriale

### Tratamentele convenționale

- agenți antioxidanți (ascorbit, alfa tocoferol, glutation, menadiona, acid lipoic, seleniu)

- cofactori ai enzimelor lanțului respirator – riboflavinavitaminele complexului B (tiamina, B6, B12, biotina, niacina, acidul pantotenic)
- L-carnitina, ▪ Coenzima Q10 (generarea de energie – acționează ca antioxidant cu rol de protecție a celulelor împotriva injuriei produse de speciile reactive de oxigen)

Aceste tratamente nu stabilizează boala, nu o vindecă; totuși, progresia bolii poate fi întârziată iar severitatea simptomatologiei poate scădea.

### Terapia genică

- înlocuirea genelor mitocondriale mutante cu gene normale inserate în genomul nuclear
- introducerea în mitocondrii a unei proteine cuplate cu secvența de ADNmt care codifică lanțuri polipeptidice sau molecule de ARNt și ARNr
- eliminarea moleculelor de ARNmt mutante prin blocarea specifică a replicării prin utilizarea oligonucleotidelor antisens (7,8)

### G.L. 3,6 ani

Un băiat sănatos, activ, jucăuș până la vârsta de **3 ani și 6 luni**, când, în stare de sănătate aparentă, brusc, prezintă **tulburări de mers și de vorbire**.

**Ex CT cranian:** o plajă hipodensă neiodofilă localizată frontal drept de aproximativ 3,5 mm ce produce efect de masă pe cornul frontal adiacent și edem cerebral cu ștergerea girației, localizat supratentorial. Se ridică suspiciunea unui proces expansiv intracranian.

**RMN cranian:** leziune în hipersemnal T2 și hiposemnal T1 în substanța albă periventricular bilateral dar și în porțiunea anterioară a corpului calos, fără caracter gadofil după administrare de contrast. Fără proces expansiv intracranian decelabil.

**APP:** a III-a sarcină a mamei (primele 2 avorturi spontane), sarcină patologică, menținută medicamentos, N: la termen, G: 2500gr, Apgar?, cu o dezvoltare corespunzătoare pe etape de vârstă.



**Examenul obiectiv somatic:** hipotrofie staturo-ponderală (G: 13Kg, Î: 95cm), tegumente palide, echilibrat cardio respirator, ficat, splină în limite normale

**Examenul neurologic:** pareză facială stângă de tip central, hemipareză stângă predominant brahială, hipertonie musculară ușoară, semne piramidale în stânga.

**Examen psihic:** tulburări de vorbire, iritabilitate.

**EEG:** dublu focar temporal lezional care iradiază pe celelalte derivații sincron și asincron.

**Analizele de laborator** sunt în limite normale.

Diagnosticul inițial a fost de: • encefalită acută de etiologie neprecizată, • hemipareză stângă recent instalată, • pareză facială stângă de tip central,

• edem cerebral, • crize de afect frecvente.

Sub tratament depletiv, cortizonic și antibiotic evoluția a fost lent favorabilă, cu ameliorarea deficitului motor.

La scurt timp după externare acuză dureri abdominale intense, cu localizare în flancul drept care ridică diagnosticul de apendicită, practicându-se apendicectomie.

Menționăm că în această perioadă pacientul se afla sub tratament cu Prednison.

După 3 luni revine de urgență cu: hemipareză stângă, pareză facială stângă, tulburări de vorbire ușoare, dureri abdominale intense, vărsături recurente.

Ex RMN cranian: o ușoară dilatare a sistemului ventricular ce prezintă hipersemnal periventricular T2 digitiform, simetric, median, respectiv frontal stâng o arie rotund - ovalară în hipersemnal T2 de 16 / 18 mm în profunzimea girusului mediu.

EEG: focare lezionale multiple pe derivațiile parietale și temporale bilateral.

• analize de laborator – anemie feriprivă, VSH 20mm/1oră, glicemia 133mg/dl, trigliceride 200,07mg/dl, colesterol 215,23mg/dl, uree 51,3mg/dl, reactanții de fază acută,

transaminazele, imunologia, proteinele totale, enzimele musculare – valori normale.

Pe durata internării a prezentat dureri abdominale intense și vărsături recurente.

La scurt timp se prezintă din nou de urgență în serviciul nostru pentru tulburări de echilibru, mers cu baza ușor lărgită, imposibilitatea urcării și coborârii treptelor fără sprijin, iritabil, anxios, intolerant la frustrări, revendicativ. Intelectul este normal dezvoltat pentru vârstă.

Menționăm că în această perioadă a prezentat o înțepătură de căpușă pentru care s-a inițiat imediat tratament profilactic, iar rezultatul determinării Ig M pentru Borelia Burdorferi a fost negativ

#### **Diagnostic în acest moment**

Coroborând datele clinice: ▪ hemipareză spastică stângă recidivantă predominant brahială, ▪ pareza facială stângă de tip central, cu datele paraclinice ▪ modificarea aspectului imagistic efectuat seriat, cu punerea în evidență a unor leziuni ale substanței albe cu localizare frontal drept, porțiunea anterioară a corpului calos periventricular, frontal stâng, (arii de ischemie cerebrală recidivante?) care nu respectă teritoriul vascular, la care s-au asociat

▪ vărsături recurente, ▪ dureri abdominale, ▪ sindrom anemic, ▪ valori crescute ale glicemiei, la un pacient cu deficit statural se ridică suspiciunea unei encefalopatii mitocondriale de tip MELAS.

În acest sens au fost inițiate o serie de investigații specifice:

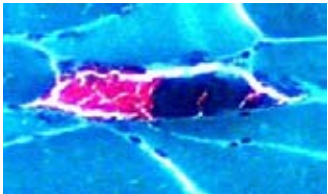
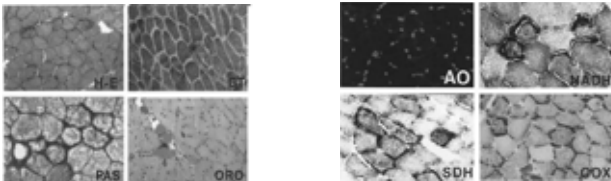
▪ determinarea valorii acidului lactic din sânge – valoare normală (determinarea s-a efectuat în stare de sănătate aparentă)

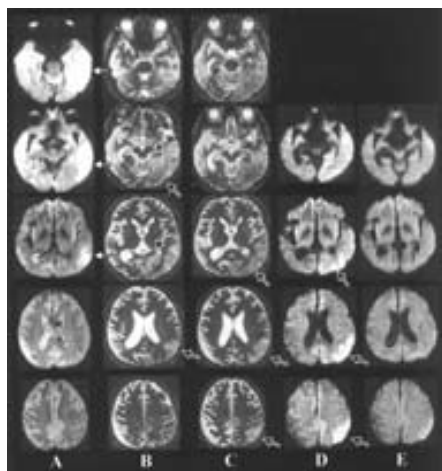
▪ ecografie abdominală – fără modificări;  
▪ examen cardiologic, EKG, ex oftalmologic - relații normale

▪ EMG: fără modificări  
▪ Biopsia musculară – nu s-a putut realiza din cauza lipsei reactivului COX

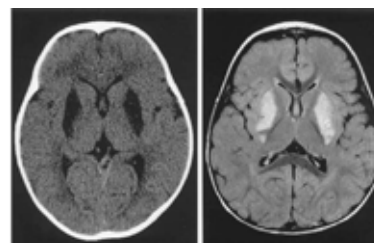
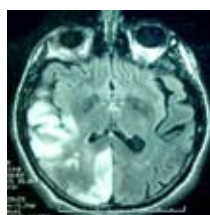
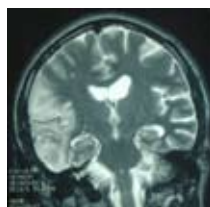
▪ Examen genetic – nu s-a efectuat până în momentul actual din motive tehnice.

**Tabel 2.** Rezultate posibile ale explorărilor paraclinice în citopatiile mitocondriale(2,3,5,8,9)

	<p>Fibre musculare roșii în lambouri (RRF) Cele mai multe fibre musculare - COX pozitive (particularitate în MELAS) (9)</p> 
Histochimie	Proliferarea excesivă a mitocondriilor și deficiențele citocrom c oxidazei
Microscopie electronică	Anomalii morfologice ale mitocondriilor
Electromiografie	Potențiale miopaticе
Audiogramă	Surditate senzorială
Electrocardiogramă	Defecte de conducere
Biochimie	Raport molar lactat / piruvat crescut (>20) în ser și în LCR, hiperlactatemie >3mmol/l , acidoză metabolică; polarografia permite stabilirea consumului de oxigen; hiperglicemia – prezența unui diabet asociat
Analiza ADNn și ADNmt	Mutații, deleții, duplicații în celulele sangvine sau în fibrele mușchilor scheletici; pot fi evidențiate mutații în genomul nuclear sau în cel mitocondrial

**Neuroimagistică  
(CT, RMN)**

- Calcificări în ganglionii bazali,
- atrofie difuză și / sau focală a cortexului și cerebelului
- edem cerebral vasogenic
- arii de ischemie cerebrală care nu respectă teritoriile vasculare (9)



**Referințe:**

1. Borner GV, Zeviani M, Tiranti V, et al. Decreased aminoacylation of mutant tRNAs in MELAS but not in MERRF patients. *Hum Mol Genet.* Mar 1- 2000;9(4):467-475
2. Ștefănescu D, Bolile mitocondriale, în Covic M., Ștefănescu D., Sandovici I, *Genetică medicală*, Ed Polirom, București, 2004, pg 387-396
3. Hirano M, Pavlakis SG. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS): current concepts. *J Child Neurol.* Jan 1994;9(1):4-13
4. Iliescu C., Măgureanu S. Miopatii mitocondriale, în Măgureanu S. (sub red), *Afecțiuni neuromusculare la sugar, copil și adolescent*, Ed Medicală Amaltea, București, 2004, pg 881-914
5. Pașcanu I., *Genomul mitocondrial, în Elemente de genetică medicală*, Ed University Press, Târgu-Mureș, 2007, pg 64-69
6. Muntean D., Ștefănescu D, Bolile mitocondriale, în Puiu M. și colab, *Esențialul în 101 boli genetice rare*, Ed Orizonturi Universitare, Timișoara, 2007, 293-297
7. Scaglia F, Northrop JL. The mitochondrial myopathy encephalopathy, lactic acidosis with stroke-like episodes (MELAS) syndrome: a review of treatment options. *CNS Drugs.* 2006;20(6):443-464.
8. Ștefănescu D.T. Patologia mitocondrială, în Ștefănescu D.T, Călin A.G., *Genetică medicală – progrese recente*, , Ed. Tehnică București, 1998, pg. 151-167
9. Menkes J, Sarnat H, *Mitochondrial Encephalomyopathies*, in Menkes, *Child Neurology*, 2005
10. E Morava, JAM Smeitin , *Neurology*, 2006