

Bir Kearns-Sayre Sendromu Olgusu (Çocukluk Çağında Gelişen Mitokondriyal Hastalıkların Tanısında Enzim Boyalarının Önemi)

A Case of Kearns-Sayre Syndrome (The Importance of Enzyme Staining for the Diagnosis of Childhood Mitochondrial Diseases)

A. Gülden DİNİZ¹, Türkay SARITAŞ², Safiye AKTAŞ⁴, Vedide TAVLI², Nedret URAN³, Ragıp ORTAÇ¹,
Aycan UNALP³, Ali Fuat OKUDUCU⁵, Berna SAYLAN², Timur MEŞE²

S.B. Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi, ¹Patoloji, ²Pediyatrik Kardiyoloji, ³Pediyatrik Nöroloji Bölümleri, İZMİR, TÜRKİYE, ⁴Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İZMİR, TÜRKİYE, ⁵Virchow Nöropatoloji Enstitüsü, BERLİN, ALMANYA

ÖZ

Kearns Sayre Sendromu; kronik progresif eksternal oftalmopleji ve pigmenter retina dejenerasyonu ile karakterize, 20 yaşından önce bulgu veren mitokondriyal bir hastalıktır. Birçok organı etkiler ve buna bağlı olarak çok geniş bir komplikasyon spektrumuna sahiptir. Kalp iletim defektleri de hastalığın sık görülen ve önlenebilen lethal komplikasyonlarıdır.

Burada 13 yaşında Kearns Sayre sendromu tanısı konulan bir erkek çocuk sunuldu. Gelişme geriliği, ptosis ve güçsüzlük yakınmalarıyla başvuran hastanın klinik bakışında; solunum güçlüğü, eksternal oftalmopleji, bilateral ptosis, ılımlı hipotoni, retinitis pigmentosa ve komplet kalp bloğu saptandı. Beyin omurilik sıvısı protein ve laktat düzeyleri yüksekti. Kraniyal magnetik rezonans görüntülemeye bilateral simetrik hiper intensiteler vardı. Kas biyopsisinin modifiye Gomori trikrom boyamasında “ragged red” lifler izlenmedi; enzim boyamalarda sitokrom oksidaz negatif liflerin süksinat dehidrogenaz pozitif oldukları görüldü. Elektron mikroskopik incelemede artmış mitokondriyal birikim vardı. Periferik kanda mitokondriyal DNA delesyonu saptanmadı.

Kearns Sayre sendromlu olguların çoğunda mitokondriyal DNA delesyonu saptanır. Ancak bu mutasyonlar organ spesifik olup; periferik kanda gösterilemez. Kas biyopsisinin elektron mikroskopik incelemesi de her zaman yararlı olmayabilir. Çünkü mitokondriyal depozitler normalde de gözlenir ve bunların oranındaki artış önemlidir. Defektif mitokondriyal otonom olarak bölünüp çoğalır. Ancak bu birikim zamanla yoğunlaşır. Ve çocuklarda gelişen mitokondriyal miyopatilerde, çizgili kas dokusunda “ragged red” lif görünümünü oluşturacak denli abartılı mitokondriyal depozitler oluşmayabilir. Bu nedenle özellikle erken çocuklukta gelişen mitokondriyal hastalıkların tanısı için yapılan kas biyopsilerinde solunum zincirinin aktivitesini gösteren enzim boyamalar çok önemlidir.

Anahtar Sözcükler: Kearns Sayre sendromu, Mitokondriyal hastalıklar, Enzim boyamalar, “Ragged red” lif, Çocukluk çağı.

ABSTRACT

Kearns-Sayre syndrome is a mitochondrial disease characterized by a triad of features including onset in persons younger than 20 years, chronic progressive external ophthalmoplegia and pigmentary degeneration of retina. It may affect many organ systems and a wide range of complications may develop. Cardiac conduction defects are significant and preventable cause of mortality.

We present a 13-year-old boy with Kearns-Sayre syndrome. His complaints were short stature, ptosis and weakness. Clinical findings consisted of failure to thrive, external ophthalmoplegia, bilateral ptosis, mild hypotonia, retinitis pigmentosa and complete heart block. Cerebrospinal fluid protein and lactate levels were increased. Cranial magnetic resonance imaging showed bilateral symmetric hyper intensities. The ragged red fibers were not shown by modified Gomori's trichrome staining but succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase combined enzyme staining demonstrated the correlation of COX negative fibers with succinate dehydrogenase-positive ones. In addition, an increased number of mitochondria on electron microscopic examination of the skeletal muscle was determined. No mutations were found in the DNA from blood samples.

Most patients with Kearns-Sayre syndrome have deleted mitochondrial DNA. However, mutations are organ specific and could not be demonstrated in blood samples. Electron microscopy is also of limited use in the diagnosis of mitochondrial disease as there are abnormal fibers in normal muscle and it is the percentage of these fibers that is important. The ragged red fibers can be noticed with modified Gomori's trichrome staining in mitochondrial diseases of long duration but ragged red fibers may not be shown with histochemical stains in muscle biopsies of children with mitochondrial myopathies. Enzyme activity revealed on muscle biopsy is therefore important for the diagnosis of mitochondrial diseases, especially in early childhood.

Key Words: Kearns-Sayre syndrome, Mitochondrial diseases, Enzyme staining, Ragged red fiber, Childhood.

Geliş Tarihi : 07.11.2008

Kabul Tarihi : 20.11.2008

Yazışma Adresi: Gülden DİNİZ

S.B. Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Patoloji Bölümü, İZMİR, TÜRKİYE

E-posta: agdiniz@gmail.com

GİRİŞ

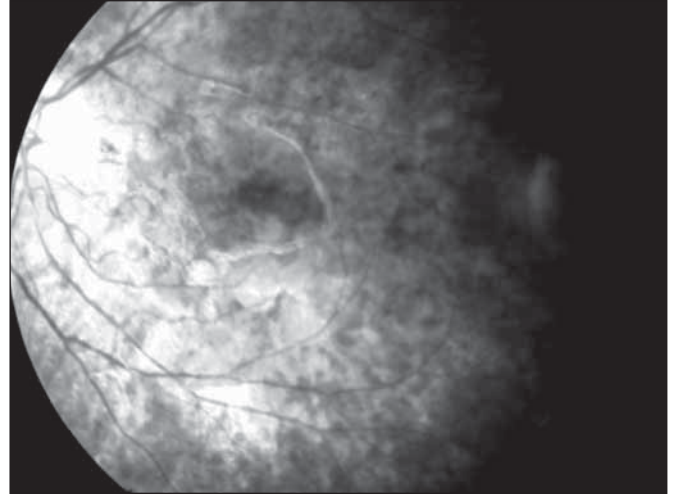
Kearns-Sayre sendromu (KSS), mitokondriyal DNA delesyonuna bağlı oluşan bir mitokondriyal hastalıktır (1,2). Delesyonlar sporadik olarak gelişir. Mendel yasalarına göre kalıtım söz konusu değildir. Dağılımında cins ve ırksal farklılık görülmez. Hastalığı ilk tanımlayan Kearns ve Sayre'nin betimlediği özgün triad; eksternal oftalmopleji, retinitis pigmentosa ve kalp ileti kusurudur (3). Ancak daha sonra bu özellikler modifiye edilmiş ve hastalığın tipik özellikleri içerisinde 20 yaşından önce bulguların ortaya çıkması da eklenmiştir (1-3). Hastalığın patogenezinde mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif fosforilasyonun yapılamaması sonucu dokuların enerji gereksinimlerinin karşılanamaması rol oynar. Temelde bu yoksunluk tüm dokularda olmasına karşın, enerji gereksinimi yüksek olan santral sinir sistemi, retina, kalp kası ve çizgili kas benzeri dokular daha çok etkilenir. Bu farklı düzeyde etkilenme sonucu klinik bulgular çok değişiktir (4). Kalp iletim defektleri, serebellar ataksi, miyopati, değişik endokrin patolojiler, nörosensoriyal tipte işitme kaybı, katarakt ve renal tubuler asidoz da sık görülen bulgulardandır. Özellikle kalp iletim defektleri hastalığın, ani ölüme yol açabilen komplikasyonlarından (5,6).

Çalışmamızda, 13 yaşında Kearns-Sayre hastalığı tanısı konulan bir erkek çocuk, klinik ve laboratuvar bulgularıyla sunuldu. Özellikle çocuklarda gözlenen mitokondriyal hastalıklarda tanı koyma bağlamında izlenecek yollar ve açmazlar irdelenmeye çalışıldı.

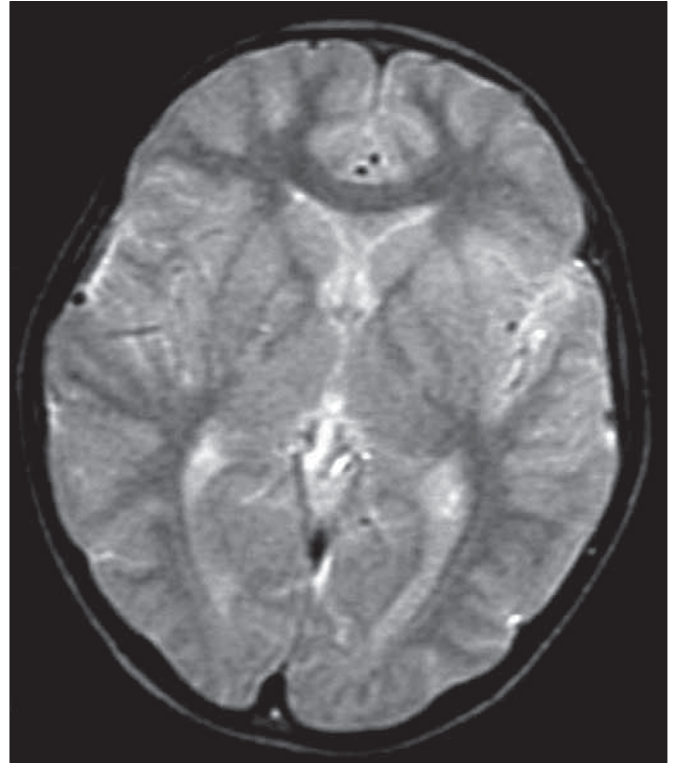
OLGU SUNUMU

Hastanemiz pediatrik kardiyoloji polikliniğine solunum sıkıntısı, güçsüzlük, gelişme geriliği, dışa bakış kısıtlılığı, göz kapaklarını açamama yakınmalarıyla başvuran 13 yaşındaki erkek çocuğunun fizik bakışında; boy kısalığı, eksternal oftalmopleji, iki taraflı ptozis, hafif hipotoni, pigmenter retinopati (Şekil 1), bradikardi ve tam kalp bloğu saptandı. Serebrospinal sıvı protein ve laktat düzeyleri artmıştı. Kranial manyetik rezonans incelemede bazal ganglionlarda, orta beyinde ve beyin sapında iki taraflı simetrik dansite artımları vardı (Şekil 2). Elektrokardiyografide ve Holter elektrokardiyografi incelemesinde tam kalp bloğu, bradikardi ve nadir unifokal ventriküler erken vurular gözlemlendi (Şekil 3). Ekokardiyografik incelemede eser mitral yetersizliği vardı. Periferik kandan yapılan mitokondriyal DNA analizinde mutasyon saptanmadı. Kas biyopsisinde defektif mitokondriilerin abartılı birikimine bağlı oluşan ve modifiye Gomori trikrom boyasıyla gösterilen “ragged

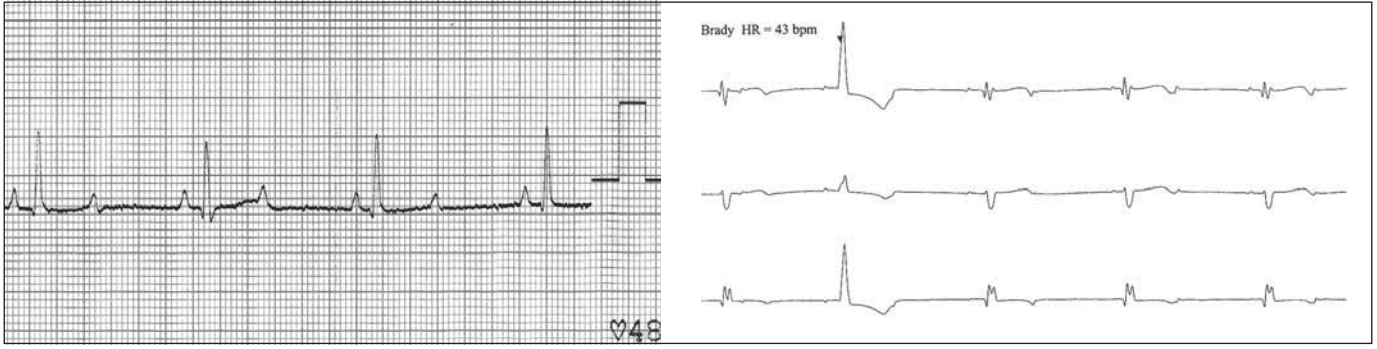
red” lif görünümü izlenirse de; enzim boyamalarla oksidatif fosforilasyon yapamayan sitokrom oksidaz negatif liflerde (Şekil 4) süksinat dehidrogenazla boyanan nonfonksiyonel mitokondri varlığı gösterildi (Şekil 5). Aynı defektif mitokondri birikimi elektron mikroskopik olarak da gözleniyordu (Şekil 6). Kalp bloğu tedavisi amacıyla transvenöz yolla kalıcı kalp pili yerleştirilen olgu takibe alındı.



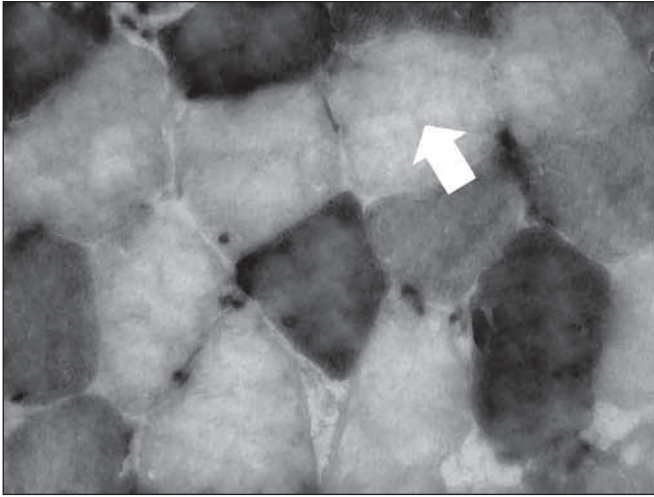
Şekil 1: Göz dibinde pigmenter retina dejenerasyonu.



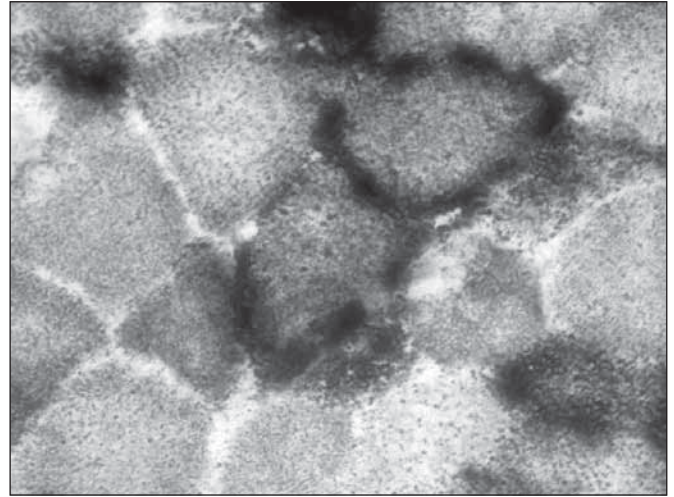
Şekil 2: Bazal ganglia, orta beyin ve beyin sapında bilateral simetrik hiperintensiteler (manyetik rezonans görüntüleme).



Şekil 3: Elektrokardiyografi (solda) ve Holter moniterizasyonda bradikardi ve kalp bloğu.



Şekil 4: Sitokrom oksidaz enzim boyamada, tip 1 ve tip 2 liflerde değişen yoğunlukta boyanma ve yanı sıra enzim negatif lifler (beyaz ok) (x100).

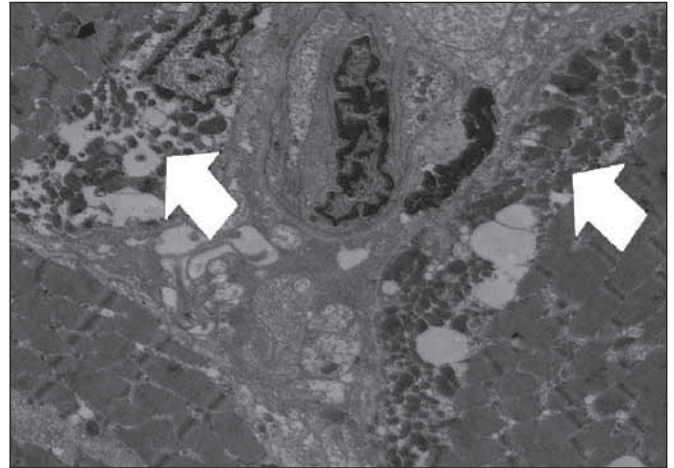


Şekil 5: Süksinat dehidrogenaz enzim boyamada ortadaki 2 fiberde subsarkolemmal nonfonksiyone mitokondri birikimi sonucu oluşmuş "ragged blue" lif görünümü (x100).

TARTIŞMA

KSS, sporadik mitokondriyal DNA delesyonuna bağlı oluşan bir hastalıktır (1, 2). Mutasyonlar, oogenez veya blastokist evresinden önceki erken embriyogenez sırasında oluşur. Mutant mitokondriler zigotta otonom olarak bölünerek çoğalır ve embriyoda her 3 germ yaprağına dağılarak sistemik bulguları oluşturur. Kas dokusundan yapılan analizlerde olguların %80 kadarında mitokondriyal DNA delesyonları gösterilmiştir. Ancak sunulan olgudaki gibi periferik kandan ekstrakte edilen mitokondriyal DNA'larda mutasyon gösterilemeyebilmektedir. Bu olgulardaki negatif sonuç; mutant DNA dağılımındaki heterojeniteye ve mutasyonun organ spesifik oluşuna bağlanmaktadır. Ayrıca mitokondriyal DNA delesyonu gösterilememiş olgular da vardır (1, 2, 7-9).

Mitokondriler hücrenin enerji santralleri olup, atasal bir ökaryotik hücreye entegre olan bir prokaryottan köken aldığı düşünülmektedir. Bu düşüncenin en önemli kanıtı



Resim 6: Elektron mikroskopik incelemede subsarkolemmal mitokondri birikimi (x12000).

da bakterilerinkine benzer halkasal DNA taşımaları ve otonom çoğalma kapasitesine sahip olmalarıdır (8). Özellikle mutasyona bağlı defektif mitokondrilerin

varlığında, hücrenin enerji ihtiyacını karşılamak üzere mitokondriler sürekli olarak bölünerek çoğalmaktadır. Ancak bu çoğalma yeni defektif mitokondrilerin oluşması dışında yarar sağlamamaktadır. Sonuç olarak da hücrenin enerji gereksiniminin karşılanamamasına bağlı klinik bulgular gelişirken, defektif mitokondriler kümeler halinde birikmektedir. Bu birikim özellikle subsarkolemmal alanda daha yoğun olup elektron mikroskopik incelemede kolaylıkla izlenir. Ancak yine de mitokondriyal hastalıklarda elektron mikroskopik incelemenin yararı sınırlıdır; çünkü yaşlanmaya ve oksidan streslere bağlı da nonfonksiyone defektif mitokondriler birikebilmektedir. İleri yaşta mitokondriyal birikimlerin bulunduğu kas lifi oranının %5 dolayında olabildiği bildirilmektedir. Bu nedenle, bu liflerin oranındaki yükselmenin daha geniş alanlarda incelenmesi gerekir. Öte yandan çocuklarda da subsarkolemmal mitokondriyal birikim erişkinden daha abartılı olabilir ve elektron mikroskopik incelemede bunların nonfonksiyone defektif mitokondri olup olmadığına karar vermek son derece zordur (7).

Mitokondriler tıpkı enerji ihtiyacı fazla olan dokularda yoğunlaştığı gibi, hücrenin enerji gereksinimi fazla alanlarında da yoğunlaşır. Çizgili kasta tip 1 liflerde daha yoğundur ve myofibriller arasında, Z diskinin komşuluğunda, sarkolemma altında nükleus kenarında ve motor son plakta çok sayıda bulunurlar (7-9). Biriken defektif mitokondriler belli bir yoğunluğa ulaştıca hematoksisilen eozin kesitlerde bile seçilebilen hematoksisiflik birikimler oluştururlar. Aynı birikim "frozen" kesitlere uygulanan modifiye Gomori trikrom boyasıyla kırmızı tortular şeklinde görülmekte ve böyle kas lifleri "ragged red" lif olarak adlandırılmaktadır. Ancak histokimyasal olarak görünür kırmızı topakların oluşması çok daha fazla mitokondri birikimini gerektirir ve özellikle erken çocukluk çağındaki mitokondriyal miyopatilerde görülmeyebilir (4,7-9).

Kas biyopsilerine uygulanan enzim boyama panelinde test edilen sitokrom oksidaz enzimi solunum zincirinin 4. aşamasında rol oynar ve mitokondrilerde oksidatif fosforilasyon yapıldığının en somut göstergesidir. Hem nükleer, hem de mitokondriyal DNA tarafından kodlanır. Süksinat dehidrogenaz (SDH) enzimi ise salt nükleer DNA tarafından kodlanan; hem solunum zincirinin 2. aşamasında, hem de sitrik asit siklusunda rol oynayan bir enzimdir. Bu nedenle mitokondrilerde SDH aktivitesi hemen daima gözlenir. Yani SDH enzim aktivitesi mitokondrilerin sadece varlığını gösterir. Ancak COX

enzim aktivitesi yoksa bu mitokondriler defektif, başka bir deyişle nonfonksiyoneldir. Histokimyasal boyamalara göre çok daha hassas olan SDH enzim boyasıyla daha sınırlı mitokondriyal birikimler bile gösterilebilir. SDH ile gösterilebilen mitokondriyal birikim "ragged blue" liflerin oluşmasına yol açar (7-9). Kombine enzim boyama ile SDH boyamada "ragged blue" görünümündeki liflerde COX aktivitesinin bulunmaması; o hücredeki mitokondrilerin oksidatif fosforilasyon yapamadığını gösterir ve mitokondriyal miyopatilerin kesin tanısını sağlar.

Sonuç olarak özellikle defektif mitokondri birikiminin abartılı olmadığı hastalıklarda ve erken çocukluk çağında; enzim boyalarıyla kas liflerindeki COX ve SDH enzim aktivitesinin ortaya konması mitokondriyal hastalıklarda kesin tanının tek yoludur. Özellikle son yıllarda tanımlanan farklı kliniklerle ortaya çıkan çocukluk çağı mitokondriyal hastalıklarında organ spesifik olması ve defektif mitokondrilerin dokulara heterojen dağılımı nedeniyle genetik tanının bile yetersiz olabileceği bildirilmektedir (8,9).

KAYNAKLAR

- 1- *Carod-Artal FJ, Lopez Gallardo E, Solano A, Dahmani Y, Herrero MD, Montoya J*: Mitochondrial DNA deletions in Kearns-Sayre syndrome. *Neurologia* 2006, 21:357-364
- 2- *Moraes CT, DiMauro S, Zeviani M, Lombes A, Shanske S, Miranda AF, Nakase H, Bonilla E, Werneck LC, Servidei S*: Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. *N Engl J Med* 1989, 320:1293-1299
- 3- *Kearns TP, Sayre GP*: Retinitis pigmentosa, external ophthalmologia and complete heart block. *AMA Arch Ophthalmol* 1958, 60:280-289
- 4- *Sundaram C, Kanikannan MA, Jagarlapudi MM, Bhoompally VR, Surath M*: Diagnosis of mitochondrial disease. Clinical and histological study of sixty patients with ragged red fibers. *Neurol India* 2004, 52:353-358
- 5- *Barrera-Ramirez CF, Barragan-Campos HM, Ilarraza H, Iturralde P, Avila-Casado MC, Oseguera J*: Cardiac involvement in Kearns-Sayre Syndrome. *Rev Esp Cardiol* 2005, 58:443-446
- 6- *Chawla S, Coku J, Forbes T, Kannan S*: Kearns-Sayre Syndrome Presenting as Complete Heart Block. *Pediatr Cardiol* 2008, 29:659-662
- 7- *Carpenter S, Karpati G*: Pathology of Skeletal muscle. 2nd ed., New York, Oxford University Press, 2001, 159-179
- 8- *Debray FG, Lambert M, Mitchell GA*: Disorders of mitochondrial function. *Curr Opin Pediatr* 2008, 20:471-482
- 9- *Zeviani M, Carelli V*: Mitochondrial disorders. *Curr Opin Neurol* 2007, 20:564-571