

## Возможность применения биопсии кожи в диагностике болезни Лафора: клинический случай

Краева Л.С.<sup>1</sup>, Вторушин С.В.<sup>1,2</sup>, Кузьмина А.В.<sup>1</sup>, Козырицкая Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

### РЕЗЮМЕ

Болезнь Лафора – наследственное заболевание из группы прогрессирующих миоклонических эпилепсий с аутосомно-рецессивным типом наследования, вызванное мутацией в генах *ЕРМ2А* (лафорин) и *ЕРМ2В* (малин) без фенотипической разницы между ними. Клинические проявления заболевания обусловлены накоплением специфических цитоплазматических «амилоидных включений», состоящих из полиглюкозанов (аномально разветвленная молекула гликогена). Полиглюкозаны, или тельца Лафора, обнаруживают в головном мозге, гепатоцитах печени, скелетных и сердечной мышцах, в протоках потовых желез, коже. Диагноз устанавливается на основании наличия сенсорных зрительных, генерализованных тонико-клонических и миоклонических эпилептических приступов, прогрессирующей деменции и атаксии, обнаружения специфических телец Лафора при биопсии потовых желез, данных генетического тестирования.

В статье описан клинический случай болезни Лафора, вызванный мутацией в гене *ЕРМ2А* (лафорин) с дебютом в возрасте 11 лет с фокальных сенсорных зрительных приступов с дальнейшим присоединением генерализованных тонико-клонических и миоклонических приступов, прогрессированием двигательных нарушений в виде атаксии и нарушения походки, поведенческих и когнитивных нарушений. Представленный клинический случай демонстрирует необходимость проведения дополнительных исследований, таких как биопсия, генетическое тестирование для диагностики заболеваний, протекающих с резистентными эпилептическими приступами, прогрессирующими двигательными и когнитивными нарушениями.

**Ключевые слова:** прогрессирующая миоклоническая эпилепсия, мутация в генах *ЕРМ2А* и *ЕРМ2В*, тельца Лафора.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

**Для цитирования:** Краева Л.С., Вторушин С.В., Кузьмина А.В., Козырицкая Д.В. Возможность применения биопсии кожи в диагностике болезни Лафора: клинический случай. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (4): 239–243. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-4-239-243>.

УДК 616.853.3:616.851.2]-056.7-07:616.5-076  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-4->

## The possibility of using skin biopsy in the diagnosis of Lafora disease

Kraeva L.S.<sup>1</sup>, Vtorushin S.V.<sup>1,2</sup>, Kuzmina A.V.<sup>1</sup>, Kozyritskaya D.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University (SSMU)  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634055, Russian Federation

<sup>2</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences  
5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

### ABSTRACT

Lafora disease is a hereditary, autosomal recessive progressive myoclonus epilepsy caused by mutations in the *EPM2A* (laforin) and *EPM2B* (malin) genes, with no substantial genotype-phenotype differences between the two. Clinical manifestations of the disease are determined by the accumulation of specific cytoplasmic “amyloid inclusions” consisting of polyglycosans (an abnormally branched glycogen molecule). Polyglycosans, or Lafora bodies, are typically found in the brain, hepatocytes of the liver, skeletal and cardiac muscles, in the ducts of sweat glands, and in the skin. The diagnosis is made following visual, generalized tonic-clonic and myoclonic seizures, progressing dementia, cerebellar ataxia, detection of specific Lafora bodies during sweat gland biopsy and data of genetic testing.

The article describes a clinical case of Lafora disease in a patient with disease onset at 11 years old caused by the mutation in the *EPM2A* (laforin) gene with focal sensory visual seizures with subsequent generalized tonic-clonic seizures, progressive motor impairments in the form of ataxia and gait abnormality as well as behavioral and cognitive disorders. The presented clinical case demonstrates the need for additional research, such as biopsy and genetic testing, for diagnosing diseases proceeding with resistant epileptic seizures and progressive motor and cognitive impairments.

**Key words:** progressive myoclonus epilepsy, *EPM2A* and *EPM2B* genes mutations, Lafora bodies.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that there is no funding for the study.

**For citation:** Kraeva L.S., Vtorushin S.V., Kuzmina A.V., Kozyritskaya D.V. The possibility of using skin biopsy in the diagnosis of Lafora disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (4): 239–243. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-4-239-243>.

### ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Лафора (БЛ) – наследственное заболевание с аутомно-рецессивным типом наследования, вызванное мутацией генов *EPM2A* или *EPM2B* (*NHLRC1*), кодирующих лафорин-специфическую фосфатазу и малин убиквитин Е3-лигазу, соответственно, оба участвуют в сложном пути, регулирующем метаболизм гликогена [1–3].

Клинические симптомы заболевания вызваны накоплением специфических цитоплазматических «амилоидных включений» [4], состоящих из неправильно сформированных и нерастворимых молекул гликогена, известных как полигликозаны [5, 6]. Эти скопления полигликозана назы-

ваются тельцами Лафора и обнаруживаются во всех областях мозга (мозжечок, подкорковые ядра, кора больших полушарий, особенно в их клеточных телах и дендритах), гепатоцитах печени, скелетных и сердечной мышцах, протоках потовых желез, коже [5, 6]. Они представляют собой базофильные PAS-позитивные включения в клеточной цитоплазме диаметром 3–30 нм [7].

Первые симптомы заболевания появляются в возрасте 8–19 лет (пиком 14–16 лет). Ранним проявлением являются фокальные сенсорные зрительные приступы или простые, или сложные зрительные галлюцинации, которые отмечаются примерно у половины больных уже в дебюте заболевания [8], а также генерализованные тони-

ко-клонические приступы, затем присоединяются абсансы, дроп-атаки, миоклонус. Миоклонус усиливается при эмоциях, действиях или фотостимуляции. По мере прогрессирования заболевания миоклонус становится почти постоянным, лишает больного возможности самостоятельно передвигаться и часто затрудняет выявление атаксии и координаторных нарушений [5, 6, 9, 10]. Уже в начальной стадии заболевания заметны когнитивные расстройства: нарушение памяти, затруднения при ответах на вопросы, значительные трудности в учебе, возможны депрессивные реакции [11, 12]. По мере прогрессирования процесса, интеллектуально-мнестические нарушения нарастают с исходом в тяжелую органическую деменцию. Наблюдаются выраженные нарушения праксиса, гнозиса, корковой слепоты и глухоты [1, 2, 7, 12]. Нарастает инвалидизация. Болезнь Лафора является быстро прогрессирующим заболеванием и приводит к летальному исходу через 5–10 лет после клинического начала.

Магнитно-резонансная томография (МРТ) обычно неинформативна в начале заболевания, в ряде случаев можно выявить легкую мозжечковую или кортикальную атрофию. Кроме того, магнитно-резонансная спектроскопия мозга показывает метаболические изменения мозжечка, базальных ганглиев и лобной коры головного мозга [13, 14]. Изменения на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) часто соответствуют клиническим событиям и отражают фокальную или генерализованную эпилептическую активность без ухудшения во сне [8]. Биопсия кожи показывает наличие характерных периодических PAS-позитивных гликогенподобных внутриклеточных включений в миоэпителиальных клетках апокринных потовых желез, а также в клетках потовых протоков [15, 16]. Электронная микроскопия подтверждает наличие фибриллярных скоплений, типичных для полиглюкозанов. Данный диагностический подход предлагает ограниченную инвазивность и высокую чувствительность. Генетическое тестирование имеет решающее значение для подтверждения диагноза, поскольку оно выявляет мутации в гене *EPM2A* или *EPM2B* более чем у 95% пациентов [5, 6, 17].

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больная К., 14 лет, поступила в детскую клинику СибГМУ 07.05.2018 г. с жалобами на генерализованные тонико-клонические приступы с потерей сознания длительностью 2–5 мин, распространенные мышечные подергивания (миоклонии), мелькание цветных шариков перед глазами, снижение памяти, трудности в учебе, нарушение

походки и координации. Считает себя больной с 2016 г., когда впервые случился приступ судорог с потерей сознания на прогулке, также отмечались зрительные приступы в виде цветных кругов перед глазами. В экстренном порядке госпитализирована. При проведении ЭЭГ была выявлена региональная эпилептиформная активность в затылочных отведениях. На МРТ головного мозга патологии не выявлено. Был выставлен диагноз: «фотосенситивная затылочная эпилепсия», назначена противосудорожная терапия вальпроатами в дозе 500 мг/сут, сохранялись зрительные приступы, с весны 2017 г. возобновились генерализованные тонико-клонические приступы с частотой 1–2 в месяц, была увеличена доза вальпроатов до 1 250 мг/сут, добавлен леветирацетам в дозе 1 000 мг/сут. Приступы сохранялись.

*Анамнез жизни.* Пациентка родилась в срок с массой тела 3 500 г, оценка по шкале Апгар 8–9 баллов, от второй беременности, протекавшей без осложнений. Раннее психомоторное и речевое развитие соответственно возрасту. Наследственность по неврологической патологии не отягощена. Брат, 25 лет, здоров.

При исследовании соматического статуса патологии не обнаружено.

*Неврологический статус.* Походка атактическая. В позе Ромберга неустойчивость. Миоклонус в руках, туловище, негативный миоклонус в ногах (приседания). Пальценосовую пробу выполняет, но сохраняются миоклонии в руках. Миоклонии мешают приему пищи. Глазные щели, D = S. Движения глазных яблок в полном объеме. Нистагма нет. Носогубные складки симметричны. Речь заторможена, дизартрия. На вопросы отвечает. Отмечается инфантильное поведение. Тонус в конечностях снижен. Рефлексы с рук живые, D = S, с ног – живые, D = S. Патологических знаков нет.

*Данные лабораторных исследований.* В общем, биохимическом анализе крови, при исследовании крови на инфекции, анализах мочи патологии не выявлено.

На ЭЭГ от 08.05.2018 г. выявлена эпилептиформная «пик-, полипик-волна» диффузно. Отмечается фотосенситивность.

Учитывая прогрессирование заболевания (появление распространенных миоклоний, сохранение генерализованных и сенсорных зрительных приступов, прогрессирование когнитивных нарушений и экстрапирамидных расстройств), был предположен диагноз болезни Лафора.

Пациентке была выполнена биопсия кожного лоскута 06.06.2018 г. Биоптат был направлен на

патогистологическое исследование. Патоморфологическое исследование проводилось по стандартной методике, для окрашивания микропрепаратов применяли растворы красителей гематоксилина и эозина, приготовленные по общепринятым прописям, а также готовый набор красителей для проведения ШИК-реакции (производитель «ЭргоПродакшн», Россия). Морфологическое исследование проводилось с помощью светового микроскопа AxioScope A1 (Carl Zeiss, Германия). Фотографирование гистологических и гистохимически окра-

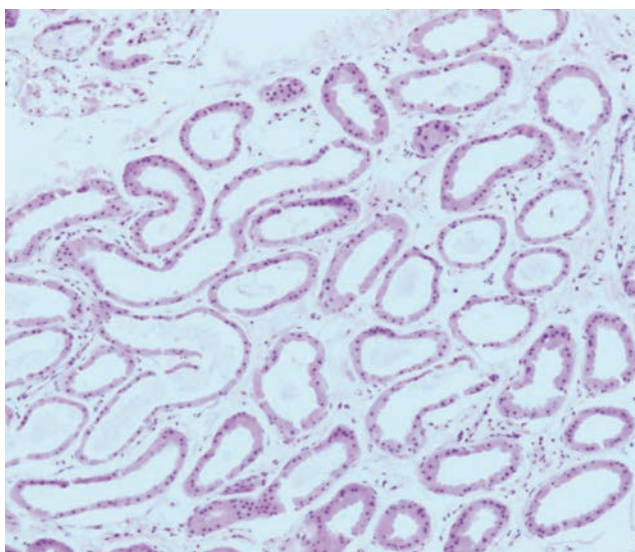


Рис. 1. Потовые железы в биоптате кожного лоскута. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

Fig. 1. Sweat glands in the biopsy sample of a skin flap. Staining with hematoxylin and eosin  $\times 100$

Был выставлен диагноз «болезнь Лафора», который подтвержден проведением секвенирования ДНК по панели наследственных эпилепсий в лаборатории молекулярной патологии «Геномед». Была выявлена ранее описанная гомозиготная мутация во 2-м экзоне гена *EPM2A* – лафорин (chr6:146007412G>A, rs137852915), приводящая к замене аминокислоты в 108-й позиции белка (p.Arg108Cys, NM\_005670.3). Мутация описана в гомозиготной форме у пациентов с прогрессирующей миоклонической эпилепсией, тип 2А (OMIM: 607566#0003).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный клинический случай прогрессирующей миоклонической формы эпилепсии с дебютом в подростковом возрасте (13 лет), прогрессирующими двигательными, интеллектуально-мнестическими, речевыми нарушениями демонстрирует трудность дифференциальной диагностики

шленных микропрепаратов осуществляли с использованием цифровой камеры AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Германия) с программой компьютерной обработки изображений AxioVision 4.6.3. При обзорной окраске биоптата гематоксилином и эозином изменений в потовых железах не обнаружено (рис. 1). Однако дополнительное гистохимическое окрашивание (PAS-реакция) позволило выявить наличие множество розовых телец Лафора в виде округлых ШИК-позитивных внутрицитоплазматических включений (рис. 2).

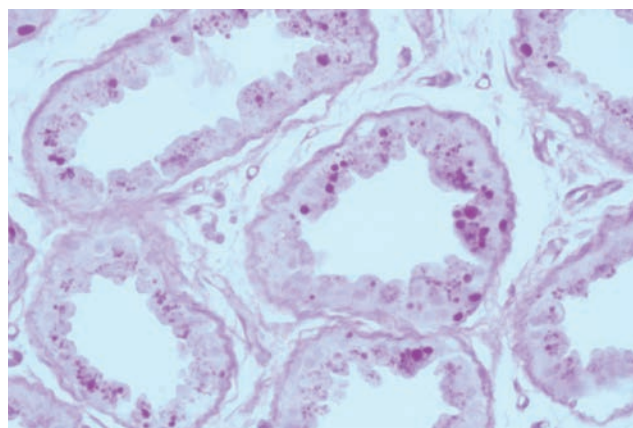


Рис. 2. Потовые железы в биоптате кожного лоскута. Окраска реактивом Шиффа (PAS-реакция). В цитоплазме эпителиальных клеток потовых желез определяются множественные тельца Лафора.  $\times 400$

Fig. 2. Sweat glands in the biopsy sample of a skin flap. Staining with Schiff's reagent (PAS reaction). In the cytoplasm of the sweat gland epithelial cells, multiple Lafora bodies are detected.  $\times 400$

на начальном этапе в связи с наличием полиморфных приступов, отсутствием специфических изменений на ЭЭГ и МРТ головного мозга. При проведении морфологического исследования биоптата кожного лоскута с использованием дополнительного гистохимического окрашивания (PAS-реакция) были выявлены ШИК-позитивные внутрицитоплазматические включения, что позволило поставить диагноз болезни Лафора, который был в дальнейшем подтвержден проведением генетического исследования – секвенирования ДНК. Была выявлена мутация в гене *EPM2A* – лафорин. Таким образом, при подозрении на болезнь Лафора возможна постановка диагноза при проведении кожной биопсии с дополнительным гистохимическим окрашиванием для выявления телец Лафора в протоках потовых желез до проведения генетического исследования, учитывая, что данный метод является малоинвазивным и высокочувствительным.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Minassian B.A., Lee J.R., Herbrick J.A. et al. Mutations in a gene encoding a novel protein tyrosine phosphatase cause progressive myoclonus epilepsy. *Nat. Genet.* 1998; 20 (2): 171–174. DOI: 10.1038/2470.
2. Chan E.M., Bulman D.E., Paterson A.D. et al. Genetic mapping of a new Lafora progressive myoclonus epilepsy locus (*EPM2B*) on 6p22. *J. Med. Genet.* 2003; 40 (9): 671–675. DOI: 10.1136/jmg.40.9.671.
3. Chan E.M., Young E.J., Ianzano L. et al. Mutations in *NHLRC1* cause progressive myoclonus epilepsy. *Nat. Genet.* 2003; 35 (2): 125–127. DOI: 10.1038/ng1238.
4. Van Heycop Ten Ham M.W., De Jager H. Progressive myoclonus epilepsy with Lafora bodies. Clinical-pathological features. *Epilepsia.* 1963; 4: 95–119. PMID: 14092647.
5. Minassian B.A. Lafora's disease: towards a clinical, pathologic, and molecular synthesis. *Pediatr. Neurol.* 2001; 25 (1): 21–29. DOI: 10.1016/s0887-8994(00)00276-9.
6. Striano P., Zara F., Turnbull J. et al. Typical progression of myoclonic epilepsy of the Lafora type, a case report. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* 2008; 4 (2): 106–111. DOI: 10.1038/ncpneuro0706.
7. Lyon G., Kolodny E.H., Pastores G.M. Neurology of hereditary metabolic disease of children. 3th ed. N.Y.: McGraw-Hill Publ., 2006: 281–284.
8. Tinuper P., Aguglia U., Pellissier J.F., Gastaut H. Visual ictal phenomena in a case of Lafora disease proven by skin biopsy. *Epilepsia.* 1983; 24: 214–248.
9. Franceschetti S., Gambardella A., Canafoglia L. et al. Clinical and genetic findings in 26 Italian patients with Lafora disease. *Epilepsia.* 2006; 47 (3): 640–643. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2006.00479.x.
10. Карлов В.А. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин. М.: Бином, 2019: 30–322. [Karlov V.A. Epilepsy in children and adult women and men. Moscow: Binom Publ., 2019: 30–322 (in Russ.)].
11. Genton P. Progressive myoclonus epilepsies: diagnosis and treatment options. In: Brain and retinal degenerative diseases of childhood. B. Schmitt, A. Kohlschutter, B.A. Neubauer, B. Plecko-Starting (ed.). 2007: 88–102.
12. Мухин К.Ю., Петрухин А.С., Холин А.А. Эпилептические энцефалопатии и схожие синдромы у детей. М.: АртСервис Лтд, 2011: 679. [Mukhin K.Ju., Petrukhin A.S., Holin A.A. Epileptic encephalopathy and similar syndromes in children. M.: ArtServis Ltd. Publ., 2011: 679 (in Russ.)].
13. Villanueva V., Alvarez-Linera J., Gómez-Garre P., Gutiérrez J., Serratosa J.M. MRI volumetry and proton MR spectroscopy of the brain in Lafora disease. *Epilepsia.* 2006; 47 (4): 788–792. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2006.00526.x.
14. Pichiecchio A., Veggiotti P., Cardinali S., Longaretti F., Poloni G.U., Uggetti C. Lafora disease: spectroscopy study correlated with neuropsychological findings. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2008; 12 (4): 342–347. DOI: 10.1016/j.ejpn.2007.09.008.
15. Andrade D.M., Ackerley C.A., Minett T.S. et al. Skin biopsy in Lafora disease: genotype-phenotype correlations and diagnostic pitfalls. *Neurology.* 2003; 61 (11): 611–614. DOI: 10.1212/01.wnl.0000096017.19978.cb.
16. Lohi H., Turnbull J., Zhao X.C. et al. Genetic diagnosis in Lafora disease: genotype-phenotype correlations and diagnostic pitfalls. *Neurology.* 2007; 68 (13): 996–1001. DOI: 10.1212/01.wnl.0000258561.02248.2f.
17. Ganesh S., Puri R., Singh S., Mittal S., Dubey D. Recent advances in the molecular basis of Lafora's progressive myoclonus epilepsy. *J. Hum. Genet.* 2006; 51 (1): 1–8. DOI: 10.1007/s10038-005-0321-1.

## Сведения об авторах

Краева Людмила Сергеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-1614-3749.

Вторушин Сергей Владимирович, д-р мед. наук, доцент, кафедра патологической анатомии, СибГМУ; вед. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-1195-4008.

Кузьмина Анастасия Викторовна, аспирант, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7231-6213.

Козырицкая Дарья Владимировна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, лечебный факультет, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-1370-0148.

✉ Краева Людмила Сергеевна, e-mail: lskraeva@yandex.ru.

Поступила в редакцию 14.01.2019  
Подписана в печать 05.09.2019

## Authors information

Kraeva Liudmila S., PhD, Associate Professor, Department of Neurology and Neurosurgery, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1614-3749.

Vtorushin Sergey V., DM, Associate Professor, Pathological Anatomy Department, SSMU; Leading Researcher, General and Molecular Pathology Department, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1195-4008.

Kuzmina Anastasia V., Post-Graduate Student, Department of Neurology and Neurosurgery, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7231-6213.

Kozyritskaya Daria V., PhD, Assistant, Department of Intermediate-Level Pediatrics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1370-0148.

✉ Kraeva Liudmila S., e-mail: lskraeva@yandex.ru.

Received 14.01.2019  
Accepted 05.09.2019