

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ: ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

В. О. Карпов¹, С. П. Казаков^{1,2}

¹ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко»

Министерства обороны Российской Федерации, г. Москва, Россия

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий федерального медико-биологического агентства» России, г. Москва, Россия.

Резюме

В статье приведены данные наблюдения редкого случая злокачественной гипертермии (ЗГ), возникшего на операционном столе у пациента М. при плановом лечении в многопрофильном учреждении. Представлены результаты гематологических, биохимических, иммунологических лабораторных анализов, которые проводились пациенту М. во время начала анестезии, позволившие оперативно предотвратить осложнения и своевременной терапией купировать симптомы развивающего шока. Проведенные в дальнейшем молекулярно-генетические исследования позволили выявить мутацию в гене RYR1 с вариантом замены нуклеотидных оснований G>C, что дало основание для подтверждения данного заболевания. В алгоритме диагностики ЗГ обращают на себя внимание ключевые лабораторные показатели: значительное повышение активности креатинкиназы до 1493 МЕ/л в день операции и до 4376 МЕ/л в последующие дни, миоглобина более 700 нг/мл, что превышает верхние границы референсных интервалов в несколько десятков раз, а также одновременное повышение уровня лактата до 3,1 ммоль/л, нарушение кислотно-основного состояния крови, проявляющееся метаболическим ацидозом до 7,18 ед, гиперкапнией и дефицитом буферных оснований. Настоящая публикация может представлять интерес для врачей-анестезиологов, врачей клинической лабораторной диагностики и других специалистов в клинике хирургических заболеваний и неотложных состояний, как пример применения лабораторных диагностических алгоритмов подтверждения предварительного диагноза и интерпретации наблюдаемых неординарных изменений лабораторных показателей. Эти лабораторные данные позволяют подтвердить предварительный диагноз ЗГ и начать комплекс лечебных мероприятий по купированию клинических проявлений заболевания и его осложнений.

Ключевые слова: злокачественная гипертермия, мышечная ригидность, рабдомиолиз, креатинкиназа, миоглобин, лактат, RYR1, SACNA1S.

DOI: 10.58953/15621790_2024_15_1-2_65

A CLINICAL CASE OF LABORATORY DIAGNOSIS OF MALIGNANT HYPERTHERMIA

V. O. Karpov¹, S.P Kazakov^{1,2}

¹Main Military Clinical Hospital named after N. N. Burdenko, Ministry of Defense, Moscow, Russia

²Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

Summary

The article presents data on a rare case of malignant hyperthermia (MH) that occurred on the operating table in patient M. during routine treatment in a multifunctional hospital. Hematological, biochemical, and immunological laboratory analysis are presented, which were carried out to patient M. under suspicion of anesthesiologists at the beginning of the operation and allowed timely prevention of complications causing multiple organ failure and timely therapy to stop the symptoms of developing shock. Further molecular genetic studies revealed a mutation in the RYR1 gene, with the replacement of nucleotide bases G>C, which provided the basis for confirming this disease. The diagnostic algorithm draws attention to key laboratory indicators – a significant increase in creatinekinase to 1493 IU/l on the day of surgery and to 4376 IU/l in subsequent days, myoglobin more than 700 ng/ml, which exceeds the upper reference intervals by several dozen times, as well as a simultaneous increase in lactate levels to 3.1 mmol/l, a disorders of the acid-base state of the blood, manifested by acidosis up to 7.18 units, hypercapnia and an increase in

buffer excess. This publication may be of interest to anesthesiologists, pathology and laboratory medicine doctors and other specialists in the clinic of surgical diseases and emergency medicine, as an example of identifying the cause and algorithms for confirming a preliminary diagnosis of MH or observed unusual changes in laboratory parameters during surgery. This laboratory data allow us to confirm the preliminary diagnosis of MH and begin a set of therapeutic measures to stop the complication

Keywords: malignant hyperthermia, muscle rigidity, rhabdomyolysis, creatine kinase, myoglobin, lactate, RYR1, CACNA1S.

Введение

Злокачественная гипертермия (ЗГ) — редкое наследственное заболевание мышечной ткани, характеризующееся чрезмерной парадоксальной реакцией на введение триггерных веществ и опасное грозными осложнениями, развитие которых приводит часто к смерти пациента на операционном столе.

По современным представлениям считается, что ЗГ (предрасположенность к злокачественной гипертермии, МКБ-10, T88.3) является аутосомно-доминантным заболеванием, характеризующимся специфической метаболической реакцией скелетной мускулатуры на введение некоторых лекарственных веществ (определенных типов медикаментов — ингаляционных анестетиков (галотан, изофлуран, севофлуран, десфлуран) и деполяризующих миорелаксантов (сукцинилхолин)) [1] в момент применения общего наркоза.

Из истории заболевания известно, что в 1962 году M. Denborough с соавторами опубликовали первую статью о семейных случаях тяжелой и даже смертельной гипертермии при общей анестезии [2]. Исследователями было обнаружено, что злокачественная гипертермия связана с гипертонусом скелетных мышц и повышением активности креатинкиназы и уровня лактата в крови после введения некоторых лекарственных препаратов, применяемых в основном при общем наркозе.

С учетом предполагаемой наследственности данного заболевания в 1990-х годах была установлена его связь с мутациями в генах RYR1 и CACNA1S, в результате чего образуются дефектные рецепторы кальциевых каналов [3–5].

Ген RYR1 кодирует рианодиновый рецептор 1-го типа, представляющий собой комплекс из четырех субъединиц. Рецептор является кальциевым каналом саркоплазматического ретикулума и регулирует поступление кальция в саркоплазму мышечных клеток [6].

Ген CACNA1S кодирует альфа-субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала L-типа (дигидропиридиновый рецептор, VDCC), расположенного в волокнах скелетной мускулатуры. Была выяснена взаимосвязь между генами RYR1 и VDCC, поэтому мутации в гене CACNA1S способны приво-

дить к развитию ЗГ [4].

В ответ на воздействие триггерных агентов происходит чрезмерное высвобождение кальция в саркоплазму мышечных волокон, что приводит к резкому сокращению мускулатуры, мышечной ригидности и повреждению миоцитов, приводящему к массивному рабдомиолизу. Во время приступа заболевания манифестируют клинические симптомы в виде выраженной гипертермии, учащения дыхания и сердцебиения, судорог и метаболических нарушений. В крови больных повышается уровень углекислого газа, наблюдается метаболический ацидоз, резко возрастает концентрация миоглобина и общая активность креатинкиназы за счет мышечной фракции (КК-ММ), а также изменяется электролитный состав крови, нарушается свертываемость. Высвободившийся из мышц миоглобин нарушает функцию почечных канальцев, развивается почечная, а в тяжелых случаях и полиорганная недостаточность. Изменения носят неспецифический характер, но типичны для заболевания.

Цель исследования — ретроспективное рассмотрение клинического случая для выявления необходимого перечня и диагностической ценности лабораторных исследований, разработки правильного алгоритма диагностики и оценки состояния больного с проявлениями ЗГ в целях оказания ему неотложной медицинской помощи и лечения.

Материалы и методы исследования

Случай заболевания ЗГ наблюдался у больного М., 2000 г.р., во время операции микродискэктомии по поводу m51 остеохондроза, секвестрированных грыж дисков 3–4–5 поясничных позвонков, во время нахождения на стационарном лечении в травматологическом отделении ГВКГ им. Н. Н. Бурденко МО РФ (далее — госпиталя) в период с 28 апреля по 23 мая 2023 года, оперированного 10 мая 2023 года.

Все проведенные лабораторные исследования, кроме молекулярно-генетических, были выполнены в центре клинической лабораторной диагностики госпиталя, с использованием оборудования и методов диагностики, применяемых в повседневной практике отделений экспресс-диагностики, клинической

биохимии, клинических и инфекционно иммунологических исследований с соблюдением преаналитических процедур сбора биоматериала [7]. Молекулярно-генетические тесты выполняли методом клинического секвенирования экзона в Диагностическом центре лабораторных исследований Департамента здравоохранения города Москвы.

Гематологические исследования были выполнены на автоматическом гематологическом анализаторе XP-300 («Sysmex», Япония). Анализ кислотно-щелочного состояния, газов и электролитов крови производился на анализаторе Rapidlab 348Ex («Siemens», США). Биохимические показатели крови исследовали на автоматическом биохимическом анализаторе Ellipse («АМС», Италия), реактивы фирмы «Biolabo», (Франция). Коагулограмма выполнена на автоматическом коагулометре СА-1500 («Sysmex», Япония) клоттинговыми методами с оптической детекцией, реактивы Siemens, (США), определение Д-димеров выполняли иммунотурбидиметрическим методом (набор реагентов INNOVANCE D-Dimer, «Siemens», Германия). Осмолярность крови измеряли на аппарате Osmomat 030-D («Gonotec», США) криометрическим методом. Концентрацию миоглобина в крови определяли на анализаторе Cobas h232 («Roche Diagnostic», Швейцария) иммунофотометрическим методом. Уровень лактата в крови определяли на анализаторе Biosen C-line («ЕКФ», Германия) потенциометрическим методом на глюкозооксидазном чип-сенсоре. Для исследования мочи применялся 10-параметровый фотоотражательный анализатор UriLit-150 («URIT», Китай).

Результаты исследования и обсуждение

В период проведения планового оперативного вмешательства у пациента развилась клиническая картина ЗГ с типичными симптомами этого заболевания, которые были описаны выше, что потребовало лабораторного экстренного подтверждения предварительного диагноза.

В таблице 1 представлены результаты клинических лабораторных исследований, выполненных для больного М. в отделениях центра клинической лабораторной диагностики, в период его нахождения в многопрофильном лечебном учреждении и развития злокачественной гипертермии во время операции.

При анализе лабораторных данных пациента можно отметить изменения, характерные для выше описанного патогенеза заболевания. Со дня острого проявления клинической симптоматики заболевания (10.05.2023) наблюдаются изменения

кислотно-щелочного состояния крови (ацидоз, гиперкапния, дефицит буферных оснований), повышение активности креатинкиназы в 9–23 раза, рост концентрации креатинина, мочевины, лактата. Обращает на себя и резкое повышение содержания миоглобина более чем в 10 раз, появление белка и крови в моче.

Эти изменения лабораторных показателей отражают обширную активацию анаэробных метаболических процессов в мышечной ткани вследствие генерализованного спастического сокращения мышечных волокон: активируются сократительные элементы, используются молекулы АТФ, повышается потребление кислорода и генерируется избыточное тепло. Усиление метаболизма в мышечной ткани обуславливает повышение уровня CO_2 в крови, развитие метаболического ацидоза, что приводит к ишемии и повреждению ткани, характерному для рабдомиолиза. Об этом свидетельствует и значительное повышение активности мышечной фракции креатинкиназы и уровня миоглобина. Наблюдаются признаки почечной недостаточности, как следствие высокого уровня миоглобинемии.

В результате анализа объективных клинических и лабораторных данных, возникло предположение в наличии у больного М. злокачественной гипертермии и применена соответствующая лечебная тактика. В результате лечения наблюдалась постепенная регрессия патологии лабораторных показателей одновременно с положительной динамикой состояния больного. После нормализации состояния больной был выписан с улучшением.

Для подтверждения предварительного диагноза злокачественной гипертермии, с учетом эффективной лечебной тактики по купированию возникающих клинических синдромов, было выполнено молекулярно-генетическое исследование. Известно, что злокачественная гипертермия развивается при мутациях в генах RYR1 и CACNA1S и их обнаружение подтверждает данный диагноз, даже при получении одного патологического аллеля [8]. Результаты исследования от 22.07.2023 года подтвердило наличие мутации гена RYR1 вариант G>C, которая с большой вероятностью доказывает нарушение в работе кальциевого канала саркоплазматического ретикулума мышечных клеток и ассоциируется со ЗГ. Так же у пациента М. были выявлены мутации в других генах — PNPT1, AUN, PYGL, PMM2, однако они не носили ассоциативного характера со ЗГ по данным литературы и во внимание не принимались (табл. 2).

Таблица 1.

Результаты лабораторных исследований, выполненных пациенту М.

Вид исследования	Параметры, единицы измерения	Референсные пределы	02.05. 2023	10.05. 2023 День операции	10.05. 2023	11.05. 2023	12.05. 2023	17.05. 2023
Клинический анализ крови	Лейкоциты, 10*3/мкл	4-9	8,61			11,78	9,87	
	Гемоглобин, г/л	130-160	146	144	135	134	122	
	Гематокрит, %	40-48	40,2	42	39	36,6	34,5	
	Эритроциты, 10*6/мкл	4,5-5,9	4,89				4,09	
	Тромбоциты 10*3/мкл	150-450	206			242	171	
	Пал.нейтр. %	0-6				10	4	
	Сегм.нейтр., %	40-72	69,8			74	68	
	Лимфоциты,%	19-37	21,1			10	18	
	Моноциты,%	3-11	8,8			6	9	
	НЛИ, ед.	1,7-3,5	3,3				4,18	
КЩС (вена)	рН, Ед.	7,26-7,36		7,18	7,41	7,46		
	рСО ₂ мм рт ст	46-58		76	44,5	42,4		
	НСО ₃ , ммоль/л	24-28		27,3	27,8	29,9		
	ВЕ, ммоль/л	-2,4 +2,3		-2,83	2,9	55,7		
	рО ₂ , мм рт ст	37-42		76	31,1	44,2		
	О ₂ sat, %	70-76		90,6	62,7	83,6		
Электролиты крови	Калий, ммоль/л	3,5-5,5	4,5	4,3	3,8	3,15	3,81	
	Натрий, ммоль/л	135-145	140	136	130	131	141	
	Кальций, ммоль/л	1,1-1,3				0,96	2,3	
	Магний, ммоль/л	0,7-1,05					0,95	
	Хлор, ммоль/л	96-108					102,8	
Биохимия крови	Глюкоза, ммоль/л	3,3-5,5	4,8	5,3	9	6,2	4,8	
	АСТ, МЕ/л	5-34	10	36	108	144	138,7	
	Амилаза, МЕ/л	20-80		96	163	160		
	Белок общий, г/л	65-85	63,1	52,3	58	55	54	
	Билирубин общий, мкмоль/л	8,5-20,5	4,5	9	13	14,4	8,4	
	Билирубин прямой, мкмоль/л	0-3,5		3	4	4,2		
	Креатинин, мкмоль/л	80-115	61	117	111	165	66	
	Креатинкиназа, МЕ/л	38-174		1493	4078	4376		
	Креатинкиназа МВ, % от КК	<25					47,1	
	ЛДГ, МЕ/л	240-480		136		215	292	
	Мочевина, ммоль/л	1,7-8,3	3,8	6,8	6,5	11,8	6,4	
	Мочевая кислота, мг/дл	2,4-7	2,5				2,4	
	Щелочная фосфатаза, МЕ/л	35-129	44					
	Миоглобин (Abbot), нг/мл	<154,9					556,4	76,35
Миоглобин (Roche), нг/мл	< 76		>700	>700	>700			
Лактат, ммоль/л	0,5-2		3,1					
Коагулограмма	ПВ, с	12-15,5	13,2				13,9	
	МНО, ед.	0,85-1,15	0,99				1,06	
	ПВ%, %	70-130	101			94,4	91	
	Д-димер, мкг/мл	0-0,5	0,27				0,82	
	АЧТВ, с	26-40	34,9			22,8	34,9	
	Фибриноген, г/л	2-4				1,79		
Осмолярность крови	Осмолярность, мосм/л	290-310				290		
Общий анализ мочи	рН, ед.	5-7	6	6			6	6
	отн.плотность	1012-1025	1020	1020			1020	1020
	Белок, г/л	0	0	0,3			0	0
	Кровь, мг/л	0	0	50			0	0

Таблица 2.

Исследование экзона методом секвенирования, выполненное пациенту М. (22.07.2023)

Ген RYR1	Мутация	G>C
Ген CACNA1S	Мутация	Отсутс.
Ген PNPT1	Мутация	G>A
Ген AUN	Мутация	T>C
Ген PYGL	Мутация	C>T
Ген PMM2	Мутация	G>A
Гены прочие	Мутация	Отсутс.

Таким образом, нами выполнена комплексная диагностика, позволяющая окончательно установить наличие наследственного заболевания ЗГ у пациента М. Анализируя описанный случай, хотелось бы обратить внимание на алгоритм лабораторных исследований при выявлении данного заболевания для врачей клинической лабораторной диагностики.

После получения клинических данных о развитии ЗГ у пациентов находящихся на операционном столе в первую очередь необходимо определить активность креатинкиназы и уровень миоглобина, значения которых могут быть повышены в 5–20 раз выше верхней границы референсного интервала. Возможные сложности могут быть связаны, в том числе и с «Hook» эффектом при тестировании миоглобина в отделении экспресс-диагностики. Аппаратура, которой оснащены большинство отделений экспресс-диагностики, имеет невысокие верхние предельные значения определения уровня миоглобина, в основном от 700 до 1500 нг/мл [9], что не позволяет точно определять существенное повышение уровня миоглобина (в 10–20 раз выше верхней границы референсного интервала) и поэтому требует повторного исследования этого образца с использованием наборов реагентов и анализаторов, способных определить высокие уровни значений этого анализа.

Дополнительным маркером ЗГ может выступать уровень лактата, который резко возрастает и сопровождается изменением кислотно-щелочного баланса в сторону ацидоза и нарастанием буферных оснований и гиперкапнии [10]. Изменения кислотно-основного баланса носят временный характер и являются следствием перехода организма на анаэробный тип обмена. Изменения остальных лабораторных показателей носят симптоматический характер и развиваются вследствие патологических процессов в органах и системах, запущенных основным заболеванием.

Необходимо отметить, что ЗГ является наследственным заболеванием, поэтому в семьях, где та-

кие случая заболевания зафиксированы, имеется возможность проводить галотан-кофеиновый контрактурный тест (ГККТ). Тест представляет собой оценку сокращения мышечной ткани, полученной с помощью биопсии, в ответ на воздействие галотана или кофеина [1]. В то же время окончательный диагноз ЗГ должен быть подтвержден молекулярно-генетическим исследованием при выявлении мутаций в генах RYR1 и/или CACNA1S.

Заключение

Нами был рассмотрен случай ЗГ, обусловленный генетической мутацией и спровоцированный воздействием ингаляционных анестетиков. Неожиданная манифестация характерного симптомокомплекса (судорожное состояние, гипертермия, нарушение дыхания, сердечного ритма) с выявленными характерными изменениями лабораторных показателей (повышение активности креатинкиназы, уровня миоглобина и лактата в крови, развитие ацидоза и гиперкапнии) позволили предположить данное заболевание, оказать необходимое анестезиологическое пособие и избежать неблагоприятных осложнений или летального исхода вследствие полиорганной недостаточности. Молекулярно-генетическое исследование характерных генов позволило подтвердить диагноз ЗГ у пациента М.

Список литературы

1. Масленников Д.Н. Злокачественная гипертермия: [Электронный ресурс] // ГЕНОКАРТА Генетическая энциклопедия. 2021. https://www.genokarta.ru/disease/Zlokacheŭstvennaya_gipertermiya. (дата обращения 3.09.2024)
2. Denborough M., Forster J., Lovell R. et al. Anaesthetic deaths in a family// *British journal of anaesthesia*. – 1962. – Vol. 34. – P. 395–396.
3. Fujii J., Otsu K., Zorzato F. et al. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia // *Science (N.Y.)*. – 1991. – Vol. 253. – P.448–451.
4. Monnier N., Procaccio V., Stieglitz P. & Lunardi J. Malignant-hyperthermia susceptibility is associated with a mutation of the alpha 1-subunit of the human dihydropyridine-sensitive L-type voltage-dependent calcium-channel receptor in skeletal muscle// *American journal of human genetics*. – 1997. – Vol.60. – P.1316–1325.
5. Robinson R., Monnier N., Wolz W. et al. A genome wide search for susceptibility loci in three European malignant hyperthermia pedigrees//

Human molecular genetics. - 1997. - Vol.6. - P.953-961.

6. Zalk R., Clarke O., des Georges A. et al. *Structure of a mammalian ryanodine receptor*// *Nature.* - 2015.- Vol. 517. - P. 44-49.

7. Кудряшов С.К., Канищев Ю.Н., Путков С. Б. и др. Инструкция по проведению преаналитического этапа (порядок взятия, хранения и транспортировки) с биоматериалом для лабораторных исследований в центре клинической лабораторной диагностики ГВКГ им. Н.Н. Бурденко /под общей редакцией Казакова С.П. - Том 51. - Москва : Издательство "Эко-Пресс", 2016. - 220 с.

8. Biesecker L., Dirksen R., Girard T. *Genomic Screening for Malignant Hyperthermia Susceptibility.* // *Anesthesiology.*- 2020. - Vol.133. - P.1277-1282.

9. Казаков С. П., Карпов В. О., Суслова Л. А. и др. Сравнительная характеристика результатов лабораторных тестов и возможности аппарата *imptif6* для иммунохимических исследований // *Лабораторная медицина.* - 2023. - Т. 14, № 1-2. - С. 9-18.

10. Бугров А. В., Долгов В. В., Казаков С. П. *Клиническая лабораторная диагностика: Учебник в двух томах / Том 1.* - Москва: ООО «Лабдиаг», 2017. - 464 с.