

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРАВЕРТЕБРАЛЬНЫХ МЫШЦ ПАЦИЕНТОВ С ПАТОЛОГИЕЙ ПОЗВОНОЧНИКА, ОБУСЛОВЛЕННОЙ НЕЙРОМЫШЕЧНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Филимонова Г.Н., Мигалкин Н.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения России, Курган, e-mail: galnik.kurgan@yandex.ru

На базе травматолого-ортопедического отделения патологии осевого скелета проведено исследование пациентов с миодистрофиями: 1) X-сцепленная миодистрофия тяжёлой формы тип Дюшена; 2) аутосомно-рецессивная мышечная дистрофия Эрба-Рота; 3) лице-лопаточно-плечевая форма Ландузи-Дежерина. В клинической картине больных преобладал вялый умеренный парализ и прогрессирующий нейрогенный груднопоясничный сколиоз IV степени. Для патогистологического анализа паравертебральных мышц осуществляли интраоперационную биопсию в области вершины угла деформации, фиксировали в нейтральном 10% формалине. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, трихромным методом по Массону. Препараты исследовали с помощью стереомикроскопа AxioScope.A1 и цифровой камеры AxioCam (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). Установлено: в биоптатах мышц профили мышечных волокон с утраченной полигональностью, повышенной вариативностью диаметров, центрально локализованными либо многочисленными внутренними ядрами (миофагия). Характерны контрактуры волокон, поля жировой дегенерации, фиброз интерстиция, признаки аксонопатии внутримышечных нервных проводников. Сосуды артериального звена спастичны, с массивной t.media и фиброзированной t.adventicia, венулярные – расширенные, тонкостенные, что обуславливает обширные геморрагии. Миодистрофия Дюшена является наиболее тяжёлой патологией, для которой максимально выражена жировая дегенерация и склеротизация мышц и сосудов перимизия. Для решения данной проблемы необходима интеграция генетиков, биохимиков, молекулярных биологов, фармакологов, гистологов.

Ключевые слова: первичные миодистрофии, деформации позвоночника, гистология.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PARVERTEBRAL MUSCLES IN PATIENTS WITH SPINAL PATHOLOGY DUE TO NEUROMUSCULAR DISEASES

Filimonova G.N., Migalkin N.S.

Federal State Budgetary Institution Russian Ilizarov Scientific Center “Restorative Traumatology and Orthopaedics” of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: galnik.kurgan@yandex.ru

A study of patients with myodystrophy was conducted at the department of axial skeleton pathology: 1) X-linked myodystrophy of the Duchenne type; 2) Erb’s autosomal recessive muscular dystrophy; 3) Landouzy-Dejerine facioscapulohumeral form. Slight moderate paraparesis and progressive neurogenic thoracolumbar scoliosis of grade IV prevailed by clinical examination of patients. For pathohistological analysis of paravertebral muscles, an intraoperative biopsy was performed at the apex of the deformity angle and fixed in neutral 10% formalin. Paraffin sections were stained with hematoxylin and eosin, according to Van Gieson, and Masson Trichrome method. The preparations were examined with a stereomicroscope AxioScope.A1 and a digital camera AxioCam (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Germany). The muscle biopsies revealed that muscle fiber profiles were with lost polygonality, increased variability of diameters, centrally localized or numerous internal nuclei (myophagia). Fiber contractures, fatty degeneration fields, fibrosis interstitium, signs of axonopathy of intramuscular neural conductors were characteristic. Arteriolar vessels were spastic, with massive t. media and fibrotic t. adventicia; venular - dilated, thin-walled, which determines hemorrhage. Duchenne’s myodystrophy is the most severe pathology, for which the most expressed fatty degeneration and sclerotization of muscle tissue, perimial vessels. To solve this problem, it is necessary to integrate geneticists, biochemists, molecular biologists, pharmacologists, histologists.

Keywords: primary myodystrophy, spinal deformities, histology.

Нейромышечные заболевания - это гетерогенная в клинико-генетическом аспекте группа наследственных заболеваний, характеризующихся прогрессированием

патологического процесса и приводящих к инвалидизации. Причиной являются генетически обусловленные дефекты метаболизма или структуры мышечной ткани, приводящие к атрофии мышц, разрастанию соединительной ткани и увеличению доли жировой ткани (псевдогипертрофии) [1]. Достигнуты успехи в выявлении причинных генов, дифференциации различных форм и в расширении понимания патогенеза, при этом мышечная патология играет важную роль [2]. Наиболее распространенной является тяжёлая форма миодистрофии Дюшена – 9,7 до 32,6 случая на 100.000 населения мужского пола [3]. Популяционная частота прогрессирующей мышечной дистрофии Эрба-Рота составляет 1,2-2,5 случая на 100.000 населения [4]. Частота встречаемости плече-лопаточно-лицевой миодистрофии Ландузи-Дежерина составляет 2,9 случая на 100.000 населения [5]. Паравертебральным мышцам отводится важнейшая роль в поддержании физиологической формы позвоночника и в развитии его патологических состояний [6]. Проводятся многочисленные электромиографические исследования [7], работы, уточняющие морфологические и функциональные изменения паравертебральных мышц у данной группы больных [8; 9]. Несмотря на почти вековую историю изучения миодистрофий, вопросы их патогенеза, достоверной диагностики и лечения остаются актуальными.

Цель работы – патогистологическая характеристика паравертебральных мышц пациентов со сколиозом, обусловленным первичными прогрессирующими миодистрофиями.

Материалы и методы исследования. Исследованы интраоперационные биоптаты мышц спины пациентов с первичными мышечными дистрофиями: 1) X-сцепленная миодистрофия тяжёлой формы тип Дюшена (n=7); 2) аутосомно-рецессивная мышечная дистрофия, лопаточно-бедренный тип Эрба-Рота (n=2); 3) лице-лопаточно-плечевая форма Ландузи-Дежерина (n=2). С целью проведения гистологического анализа мышц пациентов, оперированных по поводу сколиотической деформации, осуществляли эксцизионную биопсию паравертебральных мышц, прилежащих к области основной дуги искривления позвоночника. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, после гистологической проводки заливали в парафин. Изготавливали срезы, используя микротом Broma-2218 (LKB, Швеция), окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, трихромным методом по Массону. Препараты исследовали посредством стереомикроскопа AxioScope.A1 и цифровой камеры AxioCam (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия).

Результаты исследования и их обсуждение. В клинической картине пациентов преобладал вялый умеренный парапарез и прогрессирующий грудопоясничный сколиоз IV степени. В биопсийном материале мышц пациентов с болезнью Дюшена были выявлены гистологические признаки патологического процесса различной степени выраженности: от начальных стадий дегенерации мышечных волокон со светлым ореолом до фактического

отсутствия волокон с замещением их на жировые и соединительнотканые конгломераты (рис. 1). Мышечные волокна не идентифицировались по метаболическим типам, утрачивалась полигональность профилей, широко варьировали диаметры волокон, ядра зачастую локализовались в центре, наблюдалось исчезновение поперечной исчерченности. В относительно сохранных фрагментах мышц наблюдались мышечные волокна со скоплениями ядер в центре цитоплазмы, что могло отражать в том числе вторжение макрофагов (миофагия) (рис. 1 а). В других фрагментах мышечная ткань состояла на 50% из адипоцитов, в сохранившихся пучках мышечных волокон отмечался усиленный фиброз эндомизия, что характерно для врождённых мышечных дистрофий (рис. 1 б). В третьих – преобладали поля жировой дистрофии с фрагментами соединительной ткани и остаточными мышечными волокнами (рис. 1 в). Наблюдались волокна в состоянии ишемии, которые при окраске по Массону приобретали синий цвет (рис. 1 г), внутримышечные нервные стволы с признаками аксонопатии (рис. 1 д). Артериолярные сосуды были нередко с утолщенной средней оболочкой, фиброзом адвентициального слоя. Сосуды венозного звена расширенные, тонкостенные, что обуславливало геморрагии, отмечались фрагменты иммунного воспаления в мышечной ткани (рис. 1 е).

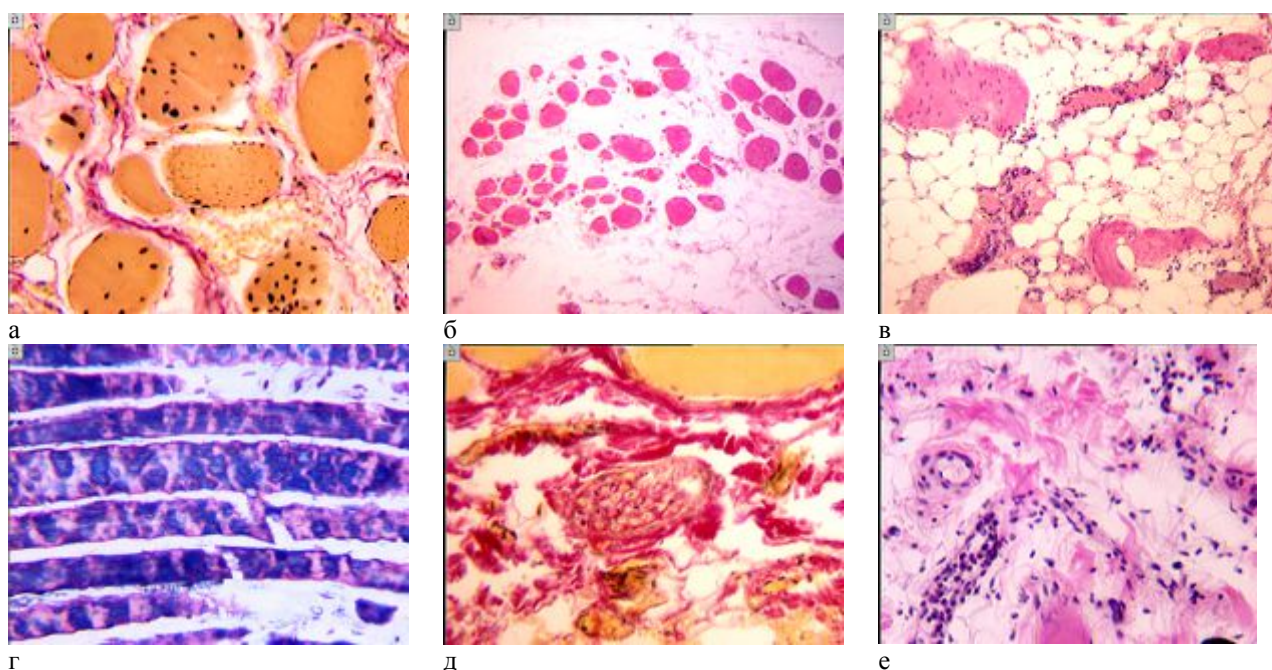


Рис. 1. Болезнь Дюшенна. Фрагменты паравертебральных мышц: а – множественные внутренние ядра, выраженный фиброз эндомизия; б – мелкие атрофичные мышцы, липоматоз скелетной мышцы; в – остаточные мышечные волокна, поля жировой дистрофии и соединительнотканые конгломераты; г – контрактурно изменённые волокна, фрагменты в состоянии ишемии окрашены в синий по Массону; д – нервный ствол с признаками аксонопатии; е – иммунное воспаление скелетной мышцы. Окраска: а, д – пикрофуксином по Ван Гизону; б, в, е – гематоксилином и эозином; г – трехцветная окраска по Массону. Увеличение: x200; б, в – x78,8.

Миодистрофия Эрба-Рота также имеет злокачественное течение, с дебютом в 3-6 лет. Основные ранние клинические признаки - это поражение мышц тазового или плечевого пояса, межлопаточной области с появлением крыловидных лопаток, осиной талии. При гистологическом исследовании мышц спины наблюдались преимущественно округлые профили миоцитов, отмечались волокна в состоянии необратимых контрактур III-IV степени (рис. 2 а), различные стадии дегенерации волокон с преобразованием в липоциты, поля жировой дистрофии (рис. 2 б, в).

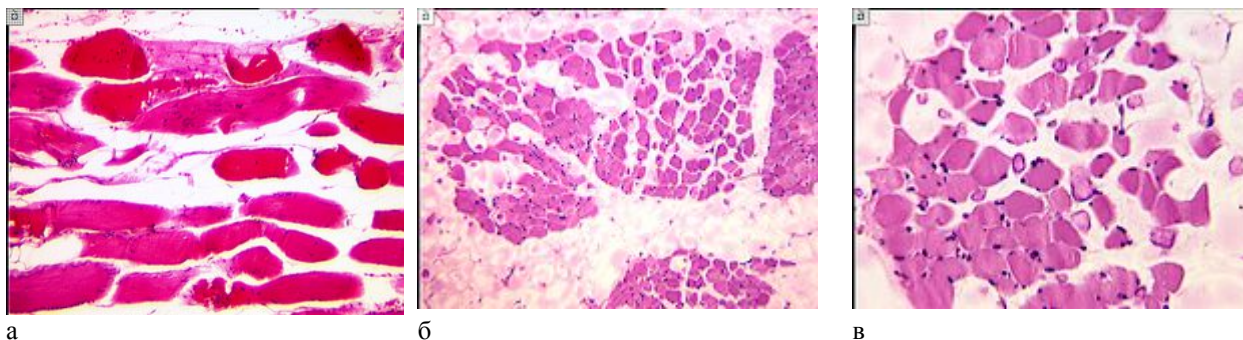


Рис. 2. Миодистрофия Эрба-Рота. Фрагменты парафиновых срезов паравerteбральных мышц: а – контрактурно изменённые мышечные волокна; б, в – липоматоз скелетной мышцы, поля адипоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а, в – х200; б – х78,8

В клинической картине пациентов с болезнью Ландузи-Дежерина атрофии локализуются в области мимической мускулатуры лица, лопаток, плеч. Гистологические картины паравerteбральных мышц отличались разнообразием: волокна в начальной стадии жировой дегенерации с ореолом и минимальными эндомизиальными прослойками, фиброз интерстициального пространства, поля жировой дистрофии (рис. 3 а). Сосуды артериального типа с массивной средней оболочкой и фиброзом адвентициального слоя со спазмированными просветами и тонкостенные расширенные сосуды венозного звена обуславливали повсеместные геморрагии (рис. 3 а, б). Наблюдались картины иммунного воспаления, нервные стволы с признаками частичной аксонопатии, нервно-мышечные веретёна без видимых изменений структуры (рис. 3 в).

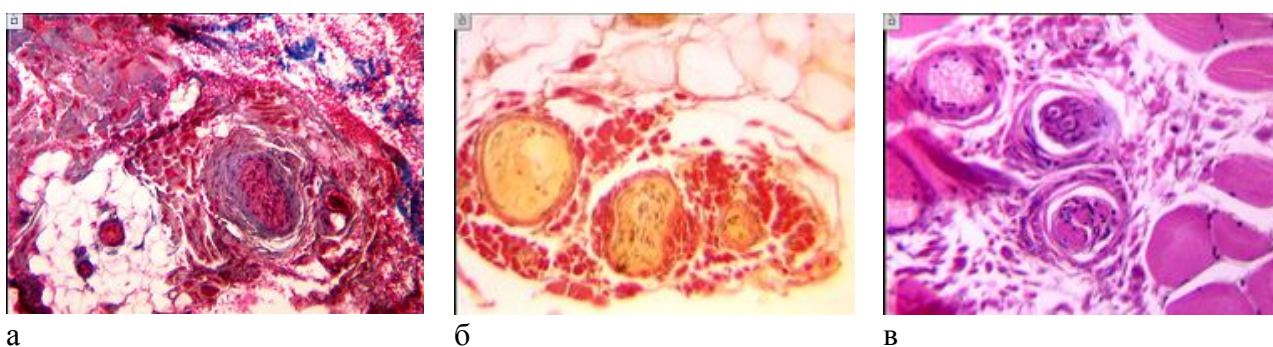


Рис. 3. Болезнь Ландузи-Дежерина. Фрагменты парафиновых срезов паравертебральных мышц: а – поле жировой дистрофии волокон (слева), фиброзированный сосуд артериального звена (в центре), повсеместно геморрагии; б – артериальный сосуд с утолщенной t. media, тонкостенный венозный сосуд; в – нервный ствол с признаками частичной аксонопатии (в центре), сохранное нервно-мышечное веретено (внизу). Окраска: а – трёхцветный метод по Массону, б – пикрофуксином по Ван Гизону; в – гематоксилином и эозином. Увеличение: а – $\times 78,8$; б, в – $\times 200$

Известно, что на ранних стадиях заболевания миодистрофии характеризуются неспецифическими дистрофическими изменениями, включая увеличение вариабельности диаметров мышечных волокон, очаги некроза и регенерации, гиалинизацию, увеличение числа внутренних ядер, расщепление волокон, воспалительные изменения и при тяжелом течении болезни обнаруживаются лишь единичные атрофичные мышечные волокна среди обширных разрастаний жировой и соединительной ткани [10; 11]. Что имело место в нашем исследовании, как обширные поля жировой дегенерации, внутренние ядра, картины миофагии. Цитата: «Выраженная атрофия и гипертрофия, может быть некроз и воспалительная реакция (в начале болезни). Обширные поля склероза, сохранение регенеративных процессов мышечной ткани. Липоматоз (форма Мерби). Выраженный фиброз (Роттауфа-Мортъе-Бейера). Многочисленные вакуолизированные мышечные волокна (дистальная форма)» [12]. Иммуногистохимия используется для дифференциальной диагностики, особенно в рецессивных формах, где может быть обнаружено отсутствие или уменьшение экспрессии белка. Некоторые мышечные дистрофии вызваны дефектами генов, кодирующих сарколеммальные белки, другие вызваны дефектами белков ядерной мембраны или ферментов [1]. В центре по изучению нейромышечных болезней (Washington University) изучены ультраструктурные изменения мышц при болезни Дюшена: в начале расширяется саркоплазматический ретикулум, межфибрилярные пространства, в которых увеличивается количество гликогена, появляются очаги деструкции миофибрилл, перемещаются ядра в центр волокна [9]. В поздней стадии болезни миофибриллы подвергаются фрагментации и дезорганизации, митохондрии набухшие, Т-система расширена. В финале мышечные волокна уплотняются, окружаются гиалиноподобным веществом, появляются макрофаги вокруг некротизированных волокон, множество липоцитов.

В проведенном исследовании наблюдались описанные выше финальные гистологические картины: макрофаги вокруг некротизированных волокон (миофагия), многочисленные липоциты, существенные площади жировой дистрофии, а также различные этапы преобразования мышечных волокон в жировые клетки. Наблюдавшиеся сосуды

артериального звена с утолщенной средней оболочкой, вероятно, можно объяснить склеротизацией сосудистой стенки коллагеном типа I, III, IV, коллагеном р-N типа I, III и фибронектином. Так, по данным Foidart M. et al., распределение коллагена типов I-IV и фибронектина в скелетных мышцах человека изучали с помощью иммунофлуоресценции с использованием очищенных антител к этим белкам [13]. В нормальной мышце коллаген I и III типов, р-N коллаген I и III, фибронектин локализовались в эндомизии и перимизии. Коллаген типа IV был локализован в базальной мембране, коллагена II типа не было. При миодистрофии Дюшена и дерматомиозите/полимиозите утолщение стенок артериальных сосудов в перимизии было связано с накоплением коллагена I и III типов, р-N коллагена I, III типов, фибронектина, а также коллагена типа IV. Не было выявлено никакого специфического при заболеваниях накопления коллагена, а заметно увеличенный фиброз эндо- и перимизия состоял из коллагена типов I и III, коллагена р-N типов I, III и фибронектина [13].

Нормальное функционирование поперечно-полосатой мышцы определяется в первую очередь взаимодействием трансмембранных ионных потоков и состоянием ионных каналов. Установлены молекулярные механизмы повреждений, лежащие в основе наследственных нейромышечных дистрофий, обусловленных мутациями генов ионных каналов (канала хлорида, натриевого канала, кальциевых и несколько калиевых каналов) – каналопатии [14]. Современные исследования дают информацию о связи мутант-ионных каналов с функциональными дефектами, их влияние на мышечную возбудимость, а также стратегические подходы к терапии мышечных дистрофий.

Для болезни Дюшенна характерна прогрессирующая дистрофия мышц, течение быстро прогрессирующее, контрактуры суставов, когнитивные нарушения в 70%, кардиопатии [3]. Причиной болезни Дюшенна является мутация в гене белка дисторфина, ранняя диагностика и лечение позволяют улучшить качество жизни пациентов. Назначается иммуноглобулин человека, в результате нарастает сила мышц, увеличивается переносимость физических нагрузок [15; 16]. При сравнении эффективности преднизолона и дефлазакорта у детей с мышечной дистрофией показано, что функция мышц при терапии преднизолоном была лучше, но вес этих детей возрастал в 3 раза [17].

Миодистрофия Эрба-Рота – конечностно-поясная мышечная дистрофия, начальными симптомами являются мышечная слабость, патологическая мышечная утомляемость при физической нагрузке, контрактуры суставов, нередко развиваются быстро прогрессирующие пневмонии [8]. Лечение симптоматическое и направлено на уменьшение скорости прогрессирования. Используют витамины группы В, витамин Е, АТФ, экстракт алоэ, АТФ, тиоктовую кислоту, рибоксин, актовегин, важен массаж, ЛФК.

Болезнь Ландузи-Дежерина сопровождается повышением уровня креатинина и аминокислот в моче, недостаточностью фермента креатинфосфокиназы. В некоторых случаях осуществляется генетический анализ биопсийного материала в местах атрофии мышечных волокон, гистологическое исследование выявляет центральное расположение ядер и вакуолей, обрамленных патологической каймой, может наблюдаться повышение активности лактатдегидрогеназы, альдолазы и креатинкиназы [18]. Исследованиями на генетическом уровне выявлено, что патология обусловлена невозможностью слияния миобластов с предсуществующими мышечными волокнами на завершающих этапах регенерации [19]. Успех лечения болезни значительно зависит от человека: его образа жизни, характера питания, режима сна и отдыха. Этиологического лечения миодистрофии Ландузи-Дежерина не существует, остается рассчитывать на будущие генетические технологии и разработки в области молекулярной генетики.

Современные методы лечения врождённых мышечных дистрофий направлены в основном на поддерживающую терапию, тем не менее выявлены молекулярные механизмы патогенеза нескольких типов врождённых миодистрофий и показано, как эти механизмы могут быть использованы в терапии [20].

Заключение. В результате исследования биопсийного материала пациентов с прогрессирующими мышечными дистрофиями выявлены патогистологические характеристики паравертебральных мышц. Профили мышечных волокон с утраченной полигональностью, повышенной вариативностью диаметров, центрально локализованными ядрами. Нередки волокна с признаками необратимых контрактур, миофагий, картины постепенного перерождения волокон в адипоциты, обширные поля жировой дистрофии, существенный фиброз интерстициального пространства, аксонопатия внутримышечных нервных проводников. Сосуды артериального русла нередко с суженным просветом, фиброзированными *t.media* и *t.adventicia*. И, напротив, сосуды венозного звена полнокровные, тонкостенные, что предполагает высокую их проницаемость и, вероятно, может обуславливать множественные гемorragии в межклеточном пространстве. Выявленные признаки весьма однотипны в представленных миодистрофиях. Но миодистрофия Дюшена является наиболее тяжёлой патологией, при которой максимально выражена жировая дегенерация и склеротизация мышц, сосудов перимизия. Для решения данной проблемы необходима интеграция генетиков, биохимиков, молекулярных биологов, фармакологов, гистологов.

Список литературы

1. Гусев Е.И., Никифоров А.С. Общая неврология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 720 с.
2. Sewry C.A. Muscular dystrophies: an update on pathology and diagnosis. *Acta Neuropathol.* 2010. vol. 120, no 3. P. 343-358.
3. Жданова Е.Б., Харламов Д.А., Белоусов Е.Д. Соматические нарушения при прогрессирующей дистрофии Дюшенна // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2011. № 5. С. 46-50.
4. Гехт Б.М., Ильина Н.А. Нервно-мышечные болезни. М.: Медицина, 1998. 352 с.
5. Petrov A., Laoudj D., Vasetskiĭ E. Genetics and epigenetics of facio-scapulothoracic progressive (Landouzy-Dejerine) muscular dystrophy. *Genetika.* 2003. vol. 39, no. 2. P. 202-206.
6. Еликбаев Г.Б., Хачатрян В.А., Осипов И.Б. Эпидемиология и ранняя диагностика врожденных пороков развития позвоночника и спинного мозга // *Вопросы современной педиатрии.* 2008. №4. С. 58-62.
7. Гребенникова И.Н., Рыжков И.И., Репалова Н.В., Еськова Е.В., Тамбовцева И.В. Метод интегральной оценки биоэлектрической активности паравертебральных мышц в ранней диагностике нарушений осанки в дифференциальной диагностике сколиозов // *Вестник гильдии протезистов-ортопедов.* 2006. №2. С. 45-50.
8. Шаркова И.В., Дадали Е.Л., Миловидова Т.Б. Алгоритм дифференциальной диагностики врожденных мышечных дистрофий // *Нервные болезни.* 2013. №2. С. 10-17.
9. Neuromuscular disease center. Washington University, St. Louis, MO USA. September 2016. URL: <http://neuromuscular.wustl.edu/index.html> (дата обращения: 02.11.2018)
10. Рациональная фармакотерапия в неврологии. Руководство для практикующих врачей. Авакян Г.Н., Никифоров А.С., Гехт А.Б., под ред. Гусева Е.И. Изд-во: LitTerra, 2018. 752 с.
11. Фельдман Е.Л., Гризольд В., Расселл Д.В. Атлас нервно-мышечных болезней. Практическое руководство / Пер. с англ. А.Н. Беловой и В.Н. Григорьевой, научн. ред. А.Б. Гехт и А.Г. Санадзе. Практическая медицина, 2016. 392 с.
12. Антелава О.А., Касаткина Л.Ф., Гуркина Г.Т., Раденска-Лоповок С.Г., Пикуля Н.В., Хитров А.Н., Штутман В.З., Насонов Е.Л. Дифференциальная диагностика мышечной слабости (обзор литературы) // *РМЖ.* 2004. №14. С. 854-862.
13. Foidart M, Foidart JM, Engel WK. Collagen localization in normal and fibrotic human skeletal muscle. *Arch Neurol.* 1981. vol. 38, no 3. P. 152-157.
14. Stephen CC. Channelopathies of skeletal muscle excitability. *Compr Physiol.* 2015. vol. 5, no 2. P. 761-790. DOI:10.1002/cphy.c140062.

15. Евтушенко С.К., Шаймурзин М.Р., Евтушенко И.С. Новые современные технологии в терапии нейромышечных заболеваний, направленные на замедление их прогрессирования // Международный неврологический журнал. 2009. №4. С. 9-19.
16. Matthews E., Brassington R., Kuntzer T., Jichi F., Manzur A.Y. Corticosteroids for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. Cochrane Database Syst. Rev. 2016. vol. 5, no. 5. P. CD003725. DOI: 10.1002/14651858.CD003725.pub4.
17. Petnikota H, Madhuri V, Gangadharan S, Agarwal I, Antonisamy B. Retrospective cohort study comparing the efficacy of prednisolone and deflazacort in children with muscular dystrophy: A 6 years' experience in a South Indian teaching hospital. Indian J. Orthop. 2016. vol. 50, no. 5. P. 551-557. DOI: 10.4103/0019-5413.189609.
18. Jacqueline M. The identification of Landouzy-Dejerine disease: an investigative history. Neuromuscul Disord. 2011. vol. 21, no. 4. P. 291-297. DOI: 10.1016/j.nmd.2011.01.003.
19. Belayew A. Cascade of gene activation in Landouzy Dejerine muscular dystrophy. Bull Mem. Acad. R. Med. Belg. 2010. vol. 165, no. 1-2. P. 87-95; discussion pp. 95-97.
20. Collins J., Bönnemann C.G. Congenital muscular dystrophies: toward molecular therapeutic interventions. Curr. Neurol. Neurosci. Rep. 2010. vol. 10, no. 2. P. 83-91.