

Электронно-микроскопическое исследование скелетных мышц при миастеническом синдроме Ламберта–Итона

Л.Л. Бабакова, О.М. Поздняков

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва

Контакты: Олег Михайлович Поздняков orozdnyakov@rambler.ru

Исследованы биопсии скелетных мышц 7 больных с синдромом Ламберта–Итона. Выявлено, что специфические изменения в нервно-мышечных синапсах заключаются в усложнении организации постсинаптической области. Наряду с этим наблюдается деструктивный процесс в терминалях аксонов, который может заканчиваться денервацией мышечных волокон. Наблюдаются нарушения структуры мышечных волокон. Предложена новая гипотеза патогенеза синдрома Ламберта–Итона.

Ключевые слова: миастенический синдром Ламберта–Итона, ультраструктура, нервно-мышечный синапс, скелетные мышцы, патогенез

Electron microscopic study of skeletal muscle in the Lambert–Eaton myasthenic syndrome

L.L. Babakova, O.M. Pozdnyakov

The Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Skeletal muscle biopsies of 7 patients with Lambert–Eaton syndrome were studied. Revealed that specific changes in the neuromuscular junctions are the complication of the postsynaptic region organization. Along with this, there is a destructive process in axon terminals, which may be terminated by the denervation of muscle fibers. Violations of the structure of muscle fibers were observed. A new hypothesis of the Lambert–Eaton syndrome pathogenesis was proposed.

Key words: Lambert–Eaton myasthenic syndrome, ultrastructure, neuro-muscular junction, skeletal muscle, pathogenesis

Не следует умножать сущности сверх необходимого. У. Оккам
(Non sunt entia multiplicanda praeter necessitate. W. Okkam)

Введение

Миастенический синдром Ламберта–Итона (МСЛИ) – аутоиммунное заболевание, приводящее к нарушению функции синаптического аппарата скелетных мышц и характеризующееся мышечной слабостью, гипорефлексией или арефлексией и нарушениями со стороны автономной нервной системы [1–3]. При этом синдроме повреждающим агентом являются аутоантитела к потенциалзависимым Ca^{2+} -каналам на пресинаптической мембране нервно-мышечных соединений. В результате затрудняется процесс выделения синаптического передатчика (ацетилхолина) из терминалей аксонов и нарушается функция нервно-мышечных синапсов (НМС) с соответствующими клиническими проявлениями.

В работах последних лет выяснен механизм действия аутоантител к кальциевым каналам при МСЛИ, но, как правило, описываются единичные случаи МСЛИ в комбинации с другими заболеваниями, например миастенией [4], в обзорных же статьях приводятся данные, детализирующие уже известные сведения об эпидемиологии, патогенезе и лечении заболевания [5–8]. В научной литературе за последние

20 лет мы не встретили сообщений о морфологических, в частности электронно-микроскопических, исследованиях НМС при МСЛИ. Между тем данные об обнаруженных ранее изменениях в синаптическом аппарате мышц при этом синдроме противоречивы и не являются исчерпывающими [9–13].

Материалы и методы

Исследовали кусочки мышц из синаптической зоны длинной ладонной мышцы, взятой в ходе диагностической биопсии у 7 больных с МСЛИ. Материал последовательно фиксировали в формол-сахарозе и четырехокиси осмия, заливали в аралдит. Срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе JEM-100S.

Результаты и обсуждение

При электромиографическом исследовании у всех больных обнаружен синаптический дефект, характерный для данного заболевания.

Электронно-микроскопическое исследование выявило многообразие структурных изменений в мышеч-

ных волокнах и НМС. Последние можно было разделить на 3 группы: синапсы с практически нормальной структурой, синапсы с изменениями, характерными для данного заболевания и синапсы с признаками деструктивного процесса.

Специфичность изменений для МСЛИ обнаружена как в пресинаптических, так и в постсинаптических структурах (рис. 1). Двигательная концевая пластинка (ДКП) — небольшая и включает 1–2 синаптических контакта (терминаль аксона с прилежащей постсинаптической областью). В терминалях аксонов отмечается значительное увеличение числа синаптических везикул, иногда их так много, что они занимают весь свободный объем терминалей. Кроме типичных синаптических везикул, на фоне электронно-плотной, зернистой аксоплазмы определяются комплексные

и большие гранулярные везикулы, а также в небольшом количестве нейрофиламенты. Митохондрии обычно группируются в центре. Их количество, форма, размеры и плотность варьируют от терминали к терминали как в разных синапсах, так и в пределах одной ДКП. Пресинаптическая мембрана — извилистая, неравномерно окрашена, что иногда создает впечатление ее прерывности. В постсинаптической области имеет место гипертрофия синаптических складок. Число и глубина последних значительно увеличены. Многократно ветвясь и анастомозируя между собой, они образуют густую сеть. На вершинах складок постоянно выявляются электронно-плотные участки, представляющие собой холинорецептивные зоны. Они глубоко заходят в синаптические складки. Синаптическая щель, а также заполняющее ее основное вещество имеют нормальную структуру. Подошва ДКП богата различными органеллами. Цитоплазма шванновских клеток электронно-плотная, чаще, чем в норме, удается выйти на ядродержащие участки.

НМС с деструктивными изменениями включают 3 и более синаптических контактов, находящихся на разной стадии изменений — от локального просветления аксоплазмы терминалей до фрагментации и полного исчезновения последних (рис. 2, 3). При этом деструктивный процесс, как правило, не распространяется на постсинаптическую область; лишь изредка можно наблюдать сокращение протяженности ДКП. В таких синапсах отмечаются неравномерное изменение ширины щели и складок, а также конденсация заполняющего их вещества в виде электронно-плотных глыбок. После гибели терминалей аксонов синаптические складки продолжают сохранять специфическую организацию, и по их присутствию определяется область бывшего синаптического контакта, в непосредственной близости от которой можно обнаружить растущие аксоны.

Повторная биопсия одной и той же больной с интервалом 10 лет показала, что по мере увеличения продолжительности заболевания выраженность деструктивных изменений нарастает.

Изменения в мышечных волокнах проявляются в виде истончения миофибрилл и расширения промежутков между ними, миграции ядер, дезорганизации Z-линий, а также образования трубчатых структур (рис. 4). Трубчатые структуры были обнаружены и при других заболеваниях нервно-мышечной системы (миастения, миотония, митохондриальная миопатия), однако постоянство их присутствия позволяет считать эти структуры характерными для МСЛИ.

Таким образом, проведенное электронно-микроскопическое исследование выявило специфическую перестройку синаптических структур, которая выражается в накоплении синаптических везикул в терминалях аксонов и образовании избыточной складчатости постсинаптической мембраны.

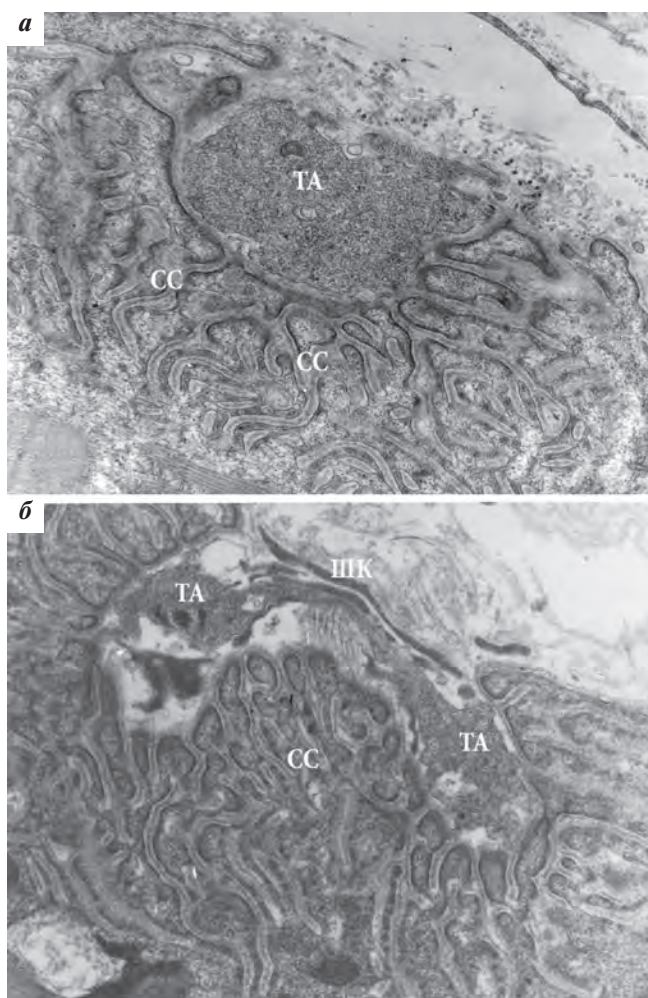


Рис. 1. НМС при МСЛИ (оригинальное увеличение, $\times 20\,000$): а — в ТА определяется повышенное содержание синаптических везикул, СС гипертрофированы, анастомозируют, холинорецептивные зоны ярко выражены, глубоко проникают в складки; б — частичная деструкция ТА. Здесь и в рис. 2–4: КК — кровеносный капилляр; КС — кровеносный сосуд; КФ — коллагеновые фибриллы; М — митохондрия; МВ — мышечное волокно; МФ — миофибриллы; МЯ — мышечное ядро; П — плазматочит; РТА — растущая точка аксона; СС — синаптические складки; ТА — терминаль аксона; ТС — трубчатые структуры; ШК — шванновская клетка; ЯШК — ядро шванновской клетки.

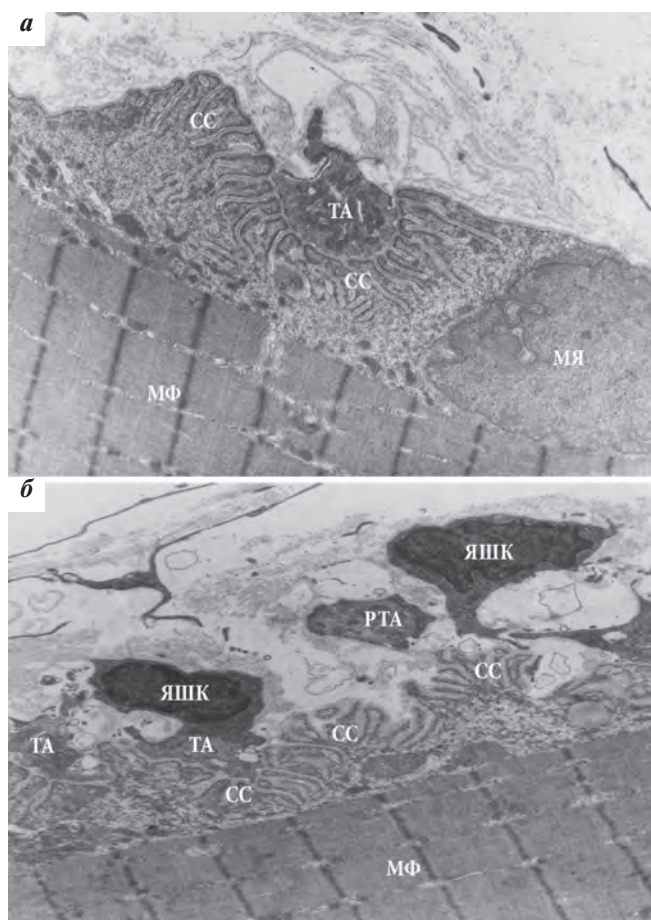


Рис. 2. Деструкция пресинаптических структур (ТА), приводящая к сокращению площади синаптического контакта; активация ШК (оригинальное увеличение, $\times 10\,000$): а — начальная стадия; б — завершающаяся стадия

Увеличение складчатости постсинаптической мембраны — характерная черта НМС при данной форме патологии. Эта особенность в свое время была подтверждена морфометрическими исследованиями. Увеличение площади постсинаптической мембраны является компенсаторной реакцией в ответ на длительное нарушение выделения передатчика из пресинаптических структур.

Заслуживает также внимания обнаружение в мышечных волокнах трубчатых структур, которые являются своеобразной модификацией саркотубулярной системы. Трубчатые структуры чаще всего встречаются при нарушении нервно-мышечной передачи. Возможно, что такая форма организации саркотубулярной системы также представляет собой компенсаторную реакцию мышечных волокон в ответ на выявленное частичное блокирование синаптической активности [14].

Из 7 больных с МСЛИ 1 был оперирован по поводу центральной карциномы левого легкого. В НМС и мышечных волокнах особенностей изменений по сравнению с другими больными не выявлено.

Эпидемиологические исследования подтвердили наличие 2 четких групп больных с МСЛИ: МСЛИ в

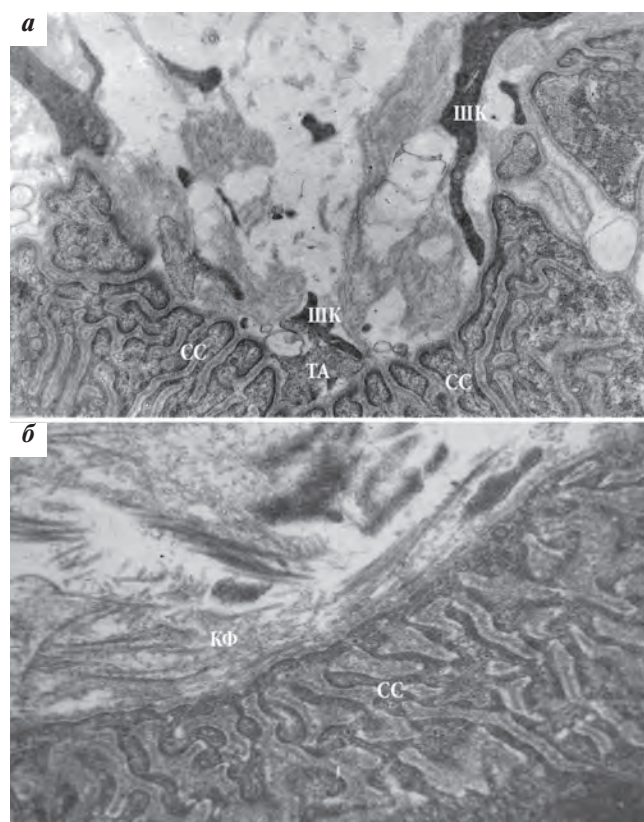


Рис. 3. Разрушение синаптического контакта: а — при разрушении НМС сохранился лишь небольшой фрагмент ТА, прикрытый отростком ШК (оригинальное увеличение, $\times 10\,000$); б — полная денервация МВ. Сохранившаяся область нервно-мышечного контакта с СС блокируется КФ (оригинальное увеличение, $\times 20\,000$)

сочетании с мелкоочечной карциномой (МКК) легких и МСЛИ без опухоли. Однако электрофизиологические и клинические характеристики в этих группах не различаются. В обоих случаях повреждающим агентом являются аутоантитела к Р/Q-кальциевым каналам пресинаптической мембраны НМС. В первом случае МСЛИ, как правило, предшествует появлению (распознаванию) карциномы. Пациенты с этой формой МСЛИ, по данным разных авторов, составляют от 50 до 60 % всех больных с МСЛИ [15].

Выделение синаптического передатчика из терминали аксона в НМС зависит от входа кальция через потенциалзависимые кальциевые каналы пресинаптической мембраны. Обнаружены различные подтипы кальциевых каналов, которые классифицируются как L, N, P/Q, R и T в зависимости от их электрофизиологических и фармакологических свойств [16, 17].

Выделение ацетилхолина из терминалей аксонов млекопитающих зависит от Р/Q-кальциевых каналов [18, 19].

Было обнаружено, что опухолевые клетки МКК легких экспрессируют кальциевые каналы подтипов L, N, и P/Q. При МКК легких, связанной с МСЛИ, появление их приводит к антигенной стимуляции и

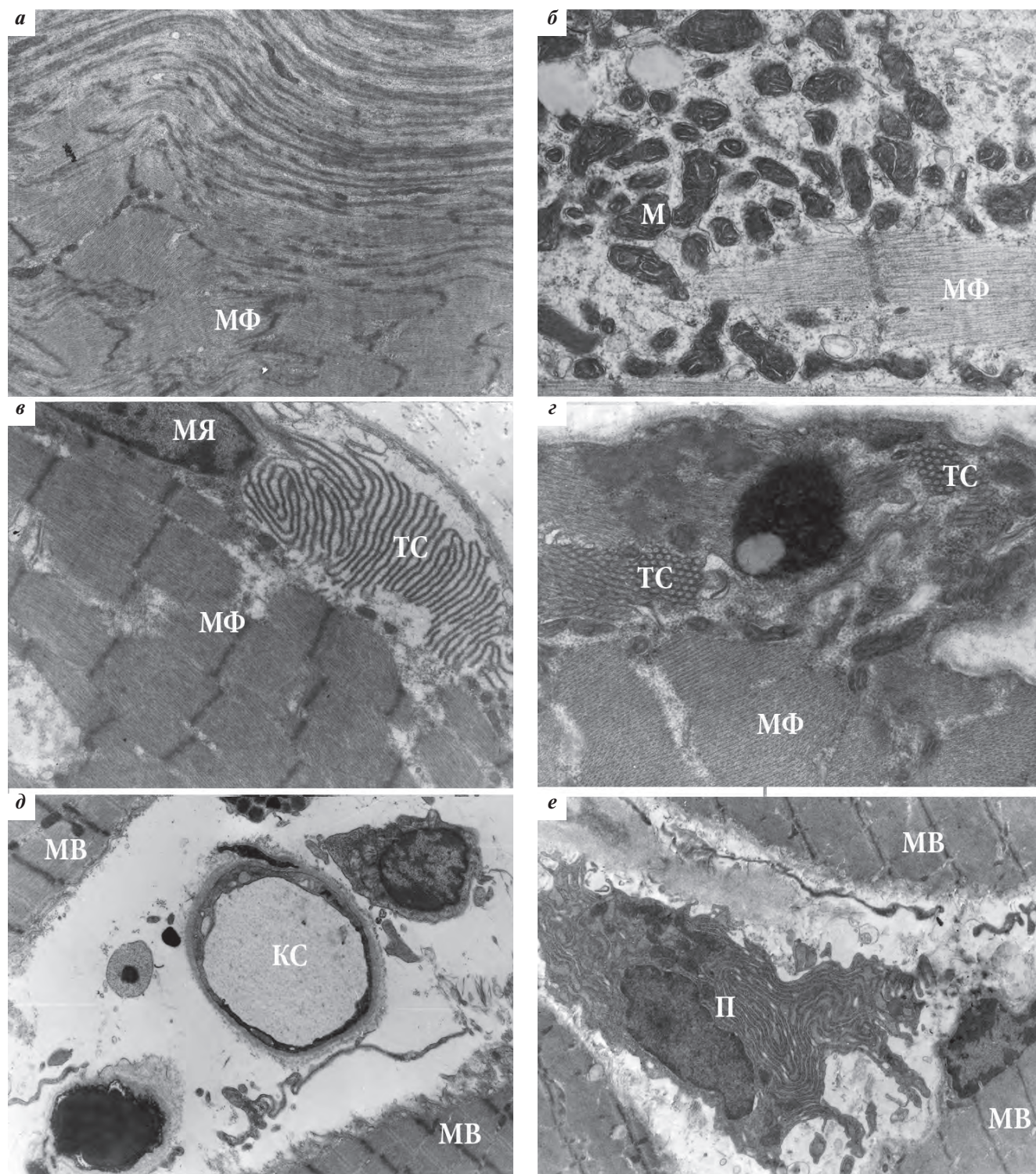


Рис. 4. Изменения ультраструктуры мышц при синдроме Ламберта–Итона: а – нарушение структуры саркомеров МВ: стриминг Z-линий (оригинальное увеличение, $\times 20\,000$); б – разрушение МФ в МВ (оригинальное увеличение, $\times 20\,000$); в, г – модификация саркоплазматического ретикулума МВ: образование ТС (оригинальное увеличение, $\times 20\,000$); д – КС с расширенным базальным слоем (оригинальное увеличение, $\times 10\,000$); е – П в межмочной ткани МВ (оригинальное увеличение, $\times 10\,000$)

появлению аутоантител против Р/Q-кальциевых каналов пресинаптической мембраны в НМС [20–22].

Здесь обнаруживается определенное противоречие: если МСЛИ является результатом антигенной стимуляции в результате экспрессии кальциевых ка-

налов Р/Q-подтипа опухолевыми клетками, то появление их должно предшествовать МСЛИ, а не наоборот. Вместе с тем эпидемиологические данные свидетельствуют, что по прошествии 2 лет после появления симптомов МСЛИ вероятность обнаружения

МКК легких резко снижается и практически исчезает через 4–5 лет. К тому же неизвестен генез аутоантител к P/Q-каналам при МСЛИ без опухоли.

В связи с этим можно высказать следующую гипотезу в отношении патогенеза синдрома Ламберта–Итона: во всех случаях аутоантитела к P/Q-кальциевым каналам появляются после возникновения клеток МКК легких. Однако приблизительно в половине случаев карцинома не развивается. Эта гипотеза является самой простой и объясняет развитие МСЛИ в сочетании с МКК легких и МСЛИ без опухоли. Как известно, атипичные клетки, не подчиняющиеся общим законам, т. е. раковые, постоянно появляются в нашем организме, но чтобы развился рак этого недостаточно. Атипичные клетки на своем пути сталкиваются с множеством

барьеров, главным из которых является иммунная система.

Ультраструктурный анализ периферического нейромышечного аппарата при МСЛИ позволил выявить специфические изменения в НМС, обусловленные особенностями их патогенеза, а также продемонстрировал значительные компенсаторные возможности синаптического аппарата скелетных мышц.

В отличие от миастении при МСЛИ не удалось выявить в синаптическом аппарате признаков реиннервационного процесса, хотя денервационные изменения были очевидны.

В заключение нужно добавить, что периферический нейромоторный аппарат представляет собой единое целое и нарушение в любом звене влечет за собой повреждение всех его звеньев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lambert E.H., Eaton L.M., Rooke E.D. Defect of neuromuscular conduction associated with malignant neoplasms. *Am J Physiol* 1956;187:612–3.
2. Eaton L.M., Lambert E.H. Electromyography and electrical stimulation of nerves in diseases of the motor unit: observations on a myasthenic syndrome associated with malignant tumours. *JAMA* 1957;163:1117–24.
3. Seneviratne U., de Silva R. Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *Postgrad Med J* 1999;75:516–20.
4. Kim J.-A., Lim Y.-M., Jang E.-H., Kim K.-K. A patient with coexisting myasthenia gravis and Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *J Clin Neurol (Seoul, Korea)*, 2012; 8 (3):235–7.
5. Newsom-Davis J. Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *Rev Neurol (Paris)*. 2004;160(2):177–80;
6. Donald B. Sanders, Vern C. Juel. Chapter 9 The Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *Handbook of Clinical Neurology* 2008;91:273–83.
7. van Sonderen A., Wirtz P.W., Verschuuren J.J., Titulaer M.J. Paraneoplastic syndromes of the neuromuscular junction: therapeutic options in myasthenia gravis, lambert-eaton myasthenic syndrome, and neuromyotonia. *Curr Treat Options Neurology* 2013;15 (2):224–39.
8. Wu X., Wang J., Liu Y., Liu K. Clinical presentation and differential diagnosis of Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)* 2013;18(2):169–72.
9. Engel A.G., Santa T. Histometric analysis of the ultrastructure of the neuromuscular junction in myasthenia gravis and in the myasthenic syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1971;183:46–63.
10. Santa T., Engel A.G., Lambert E.G. Histometric study of neuromuscular junction ultrastructure. II. Myasthenic syndrome. *Neurology* 1972;22(4):370–6.
11. Бабакова Л.Л., Коломенская Е.А., Островская Н.В., Поздняков О.М. Исследование ультраструктуры нервно-мышечных синапсов при миастеническом синдроме Ламберта–Итона. *Бюлл эксп биол и мед* 1976;1:79–80.
12. Tsujihata M., Kinoshita I., Mori M. et al. Ultrastructural study of the motor end-plate in botulism and Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *J Neurol Sci* 1987;81(2–3):197–213.
13. Hesselmann L.F., Jennekens F.G., Kartman J. et al. Secondary changes of the motor endplate in Lambert–Eaton myasthenic syndrome: a quantitative study. *Acta Neuropathol* 1992;83(2):202–6.
14. Бабакова Л.Л., Коломенская Е.А., Кузьмин Н.В., Поздняков О.М. Ультратраструктурная характеристика трубчатых агрегатов в скелетных мышцах человека. *Арх патол* 1974;36(4):50–6.
15. O'Neill J.H., Murray N.M., Newsom-Davis J. The Lambert–Eaton myasthenic syndrome. A review of 50 cases. *Brain* 1988;111:577–96.
16. Snutch T.P., Reiner P.B. Ca²⁺ channels: diversity of form and function. *Curr Opin Neurobiol* 1992;2:247–53.
17. Varadi G., Mori Y., Mikala G., Schwartz A. Molecular determinants of Ca²⁺ channel function and drug action. *Trends Pharmacol Sci* 1995;16:43–9.
18. Hong S.J., Chang C.C. Inhibition of acetylcholine release from mouse motor nerve by a P-type calcium channel blocker omega-agatoxin IVA. *J Physiol (Lond)* 1995;482: 283–90.
19. Bowersox S.S., Miljanich G.P., Sugiura Y. et al. Differential blockade of voltage-sensitive calcium channels at the mouse neuromuscular junction by novel omega-cono peptides and Aga IVA. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;273:248–56.
20. Lennon V.A., Kryzer T.J., Griesmann G.E. et al. Calcium-channel antibodies in the Lambert–Eaton syndrome and other paraneoplastic syndromes. *N Engl J Med* 1995;332:1467–74.
21. Oguro-Okano M., Griesmann G.E., Wieben E.D. et al. Molecular diversity of neuronal-type calcium channels identified in small cell lung carcinoma. *Mayo Clin Proc* 1992;67:1150–9.
22. Meriney S.D., Hulsizer S.C., Lennon V.A., Grinnel A.D. Lambert–Eaton myasthenic syndrome immunoglobulins react with multiple types of calcium channels in small-cell lung carcinoma. *Ann Neurol* 1996;40:739–49.