

Granularkörpermyopathie (sog. Reducing Body Myopathy)

Beitrag zur Feinstruktur und Klassifizierung

G. Hübner und D. Pongratz

Pathologisches Institut (Dir. Prof. Dr. M. Eder) und Medizinische Klinik Innenstadt
(Dir. Prof. Dr. E. Buchborn) der Universität München, Bundesrepublik Deutschland

Reducing Body Myopathy – Ultrastructure and Classification

Summary. Reducing body myopathy is a very rare progressive muscular disease. Apart from a non-specific circumscribed muscle fiber degeneration it displays muscle fiber inclusions which have reducing properties as a typical morphological feature. The nosological classification of the disease is not settled.

A case in a 15 years old girl is reported. She suffered from a progressive muscular weakness and atrophy and in a muscle biopsy regressive changes were obvious. Furthermore, multiple eosinophilic muscle fiber inclusions were also observed, which exhibited reducing properties. They consist of electron dense granules with a diameter of 12–16 nm. Since a sister of the patient has suffered for many years from a clinically and morphologically similar muscle disease, reducing body myopathy apparently belongs to the group of congenital myopathies with structural abnormalities. Muscle fiber inclusions with reducing properties also occur in another myopathy, in which they structural and histochemical differ widely from those found in reducing body myopathy. The reducing body myopathy is better named after its typical morphological property, the granular inclusions. It is proposed to name it “granular body myopathy”.

Key words: Reducing body myopathy – Classification – Ultrastructure

Zusammenfassung. Die sog. reducing body myopathy, eine sehr seltene progressive muskuläre Krankheit, zeigt neben einer unspezifischen herdförmigen Muskelfaserdegeneration als typisches morphologisches Merkmal Muskelfasersereinschlüsse, die reduzierende Eigenschaften aufweisen. Die nosologische Einordnung des Krankheitsbildes blieb bisher ungeklärt.

Es wird über ein 15 Jahre altes Mädchen mit einer zunehmenden allgemeinen Muskelschwäche und Muskelatrophie berichtet, bei dem in der Muskel-

biopsie neben unterschiedlichen regressiven Veränderungen zahlreiche Fasereinschlüsse beobachtet wurden, die u.a. in der Lage sind, ohne Substrat Tetrazoliumsalze in Gegenwart von Menadione zu reduzieren. Feinstrukturell sind diese Einschlüsse aus Granula von 12–16 nm Durchmesser zusammengesetzt. Eine Schwester der Erkrankten leidet seit vielen Jahren an einer klinisch und morphologisch gleichartigen Krankheit. Die sog. reducing body myopathy muß daher in die Gruppe der congenitalen Myopathien mit strukturellen Besonderheiten eingeordnet werden. Nachdem darüber hinaus bei anderen Muskelkrankheiten ebenfalls Fasereinschlüsse mit reduzierenden Eigenschaften vorkommen können, die jedoch in ihren übrigen strukturellen und histochemischen Eigenschaften keine Übereinstimmung mit den bei der sog. reducing body myopathy nachweisbaren Inklusionen besitzen, sollte das Krankheitsbild nach seinem führenden morphologischen Merkmal, den offenbar nur hier vorkommenden granulären Fasereinschlüssen, benannt werden. Es wird vorgeschlagen, die sog. reducing body myopathy als Granularkörpermyopathie zu bezeichnen.

Einleitung

Als sog. reducing body myopathy wurde von Brooke und Neville 1972 eine sehr seltene progressiv fortschreitende muskuläre Erkrankung bei zwei nicht verwandten Mädchen beschrieben, die im Alter von 9 Monaten bzw. 2 1/2 Jahren verstarben. Als typische morphologische Besonderheit waren in den Muskelfasern Einschlüsse aufgefallen, die u.a. reduzierende Eigenschaften besaßen. Später berichtete dann Dubowitz (Dubowitz und Brooke 1973; Dubowitz 1978) über einen ähnlichen Fall, der im 8. Lebensjahr verstarb. Klinisch handelt es sich offenbar um eine Krankheit, die in unterschiedlichen Gangarten verläuft, beobachteten doch Tomé und Fardeau (1975) einen abortiven Fall von sog. reducing body myopathy. Die für die Krankheit typischen eosinophilen feingranulären Fasereinschlüsse, sog. reducing bodies, weisen weitere histologische und feinstrukturelle Besonderheiten auf, die bei anderen Muskelfaserinklusionen bisher nicht beobachtet wurden. Das Vorkommen von Muskelfasereinschlüssen mit reduzierenden Eigenschaften ist allerdings nicht auf die Inklusionen bei sog. reducing body myopathy beschränkt: Sahgal und Sahgal berichteten nämlich 1977 über eine Myopathie bei einer 50 Jahre alten Frau, bei der ebenfalls Muskelfasereinschlüsse mit reduzierenden Eigenschaften auffielen: eine weitere Übereinstimmung in bezug auf färberische, enzymatische oder feinstrukturelle Merkmale mit den Einschlüssen der sog. reducing body myopathy war jedoch in diesem Falle nicht feststellbar.

Eine sichere nosologische Einordnung der sog. reducing body myopathy war bisher nicht möglich. Anhand der wenigen bekannt gewordenen Fälle konnte nicht geklärt werden, ob es sich dabei um eine atypische Form einer möglicherweise virusbedingten nekrotisierenden Polymyositis (Dubowitz 1978) oder um eine congenitale Myopathie mit strukturellen Besonderheiten handelt.

Am Beispiel eines eigenen Falles sollen die feinstrukturellen Merkmale der Krankheit dargestellt und zur Nosologie und Klassifizierung des Krankheitsbildes Stellung genommen werden.

Anamnese und klinischer Befund

Eine ausführliche Darstellung der Klinik des Falles ist andernorts vorgesehen.

Kurz zusammengefaßt besteht kein Hinweis auf das Vorliegen der Erkrankung in früheren Generationen. Die ältere Schwester unserer Patientin erkrankte etwa im Alter von 12 Jahren an einer rasch progredienten ausgeprägten asymmetrischen, proximal und distal lokalisierten Muskelschwäche und Atrophie mit Betonung im Bereich der oberen Extremitäten. Es wurde zunächst eine atypische Polymyositis angenommen, wenngleich die Muskelbiopsie keine sicheren Infiltrationen ergeben hatte. Retrospektiv stellte sich nach nochmaliger Durchsicht der Präparate heraus, daß der Befund dem der von uns später diagnostizierten und im folgenden näher beschriebenen Schwester analog war. Wegen einer zunehmenden Ateminsuffizienz ist die Patientin seit Jahren tracheotomiert und aufgrund ihrer schweren Paresen weitgehend bettlägerig.

Bei der jüngeren Schwester fiel erstmals im Alter von 13 Jahren eine Verschmächtingung des rechten Armes mit Kraftminderung auf. In der Folgezeit griff der Muskelschwund auch in geringerem Umfang auf die linke obere Extremität, die distalen Beinmuskeln sowie die Atemhilfsmuskulatur über. Die Patientin ist jedoch derzeit im Alter von 15 Jahren noch gut gehfähig. Das nach klinischen und elektromyographischen Kriterien ebenfalls primär myogene und nunmehr wohl hereditäre Krankheitsbild ergab Veranlassung, die Diagnose einer atypischen Polymyositis zu überprüfen.

Muskelbiopsie

Methodik. Das nach vorheriger elektromyographischer Untersuchung aus dem linken M. tib. ant. entnommene Gewebe wurde zur histologischen Aufarbeitung in Heidenhain-Susa fixiert und anschließend in Methacrylat eingebettet. An den angefertigten Schnitten wurden folgende Färbungen durchgeführt: HE, Elastica, modifizierte Trichrom, Azan, van Gieson, PAS-Reaktion. Ergänzend wurden Kryostatschnitte mit folgenden Färbungen gefärbt bzw. histochemisch untersucht: Fettfärbung, alkoholisches Kongorot, Lugol, Methylgrünpyronin, NADH-Reduktase Reaktion nach Nachlas u. Mitarb., myofibrilläre ATP-ase-Reaktion bei pH 9,4 nach Padykula and Herman, Menadione-gebundene α -Glycerophosphatdehydrogenase.

Für die feinstrukturelle Analyse wurde das Material in üblicher Weise in 6,25%iger gepufferter Glutaraldehydlösung (pH 7,2) für 2 h fixiert, in 0,2 M Rohruckerlösung mehrfach gewaschen und anschließend in Epon eingebettet. Semidünnschnitte wurden mit Azur-II-Methylenblau (Richardson u. Mitarb. 1960) gefärbt und einer PAS-Reaktion unterzogen; Ultradünnschnitte wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert und in einem Philips EM 300 Elektronenmikroskop untersucht.

Ergebnisse

Lichtmikroskopisch fallen neben weitgehend normalen Parenchymbezirken Areale auf, die eine stärkere interstitielle Fibrose und Vakutfettwucherung sowie eine Atrophie der Fasern aufweisen. Hier finden sich eigentümliche schollige Zusammenballungen der Myofibrillen, zwischen denen teils optisch leer erscheinende kleine vacuoläre Degenerationen, teils in der Trichrom- bzw. Azanfärbung rötlich tingierte Körperchen eingelagert erscheinen (Abb. 1 a u. 2). Sie sind eosinophil und PAS-positiv und färben sich mit Lugolscher Lösung, mit Kongorot und mit Methylgrünpyronin an. Sie imponieren in der myofibrillären ATP-ase-Reaktion sowie der NADH-Reduktase-Reaktion als Aussparungen, während sie in der Menadione-gebundenen α -Glycerphosphatdehydrogenase-Reaktion eine erhöhte Aktivität erkennen lassen (Abb. 1 b).

Am Semidünnschnitt fallen in den Muskelfasern blau gefärbte, meist längliche oder ovale Zelleinschlüsse auf; sie sind PAS-positiv. Darüber hinaus sind zahlreiche Muskelfasern herdförmig feinvacuolär umgewandelt oder zeigen eine weitgehende Desorganisation der Myofibrillen. Viele Fasern sind atrophisch.

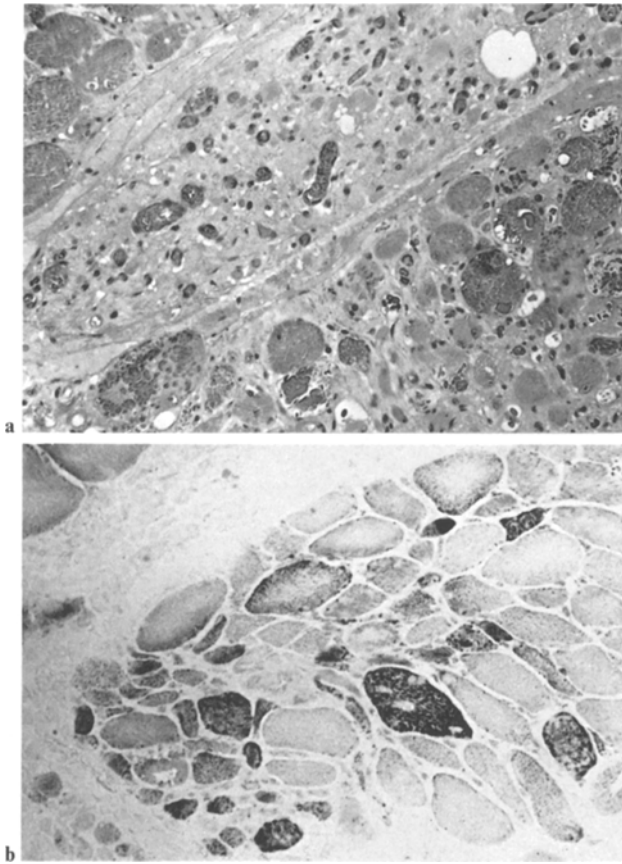


Abb. 1a, b. Granularkörpermyopathie (sog. reducing body myopathy). 15 Jahre altes Mädchen. Muskelbiopsie aus dem linken M. tib. ant. **a** In der Übersicht zeigen die pathologisch veränderten Muskelareale neben atrophischen Bezirken andere Bereiche, in denen die Fasern multiple Degenerationserscheinungen der Myofibrillen sowie teils optisch leere kleine Vacuolen, teils in dieser Färbung rot tingierte Einschlüsse aufweisen. HE 130 \times . **b** In der Menadione-gebundenen α -Glycerophosphatdehydrogenase-Reaktion lassen die oben beschriebenen abnormen Fasern eine erhöhte Enzymaktivität erkennen. 130 \times

Elektronenmikroskopische Untersuchung

Die lichtmikroskopisch erkennbare feinvacuoläre Faserdegeneration besteht elektronenmikroskopisch aus einer Ansammlung zahlreicher rundlicher optisch leerer Vacuolen, die mit strahlendichthem randständigem Material ausgekleidet sind. Andere Muskelfasern zeigen die bereits lichtmikroskopisch auffallende Desorganisation der Myofibrillen: Sie enthalten vorwiegend ungeordnete Myofilamente, verwaschene Z-Streifen und gelegentlich sog. rod. bodies. Darüber hinaus erkennt man zahlreiche kleine optisch leere Vacuolen sowie herdförmig Ansammlungen kleiner Mitochondrien. Auffälligster Befund sind jedoch disse-

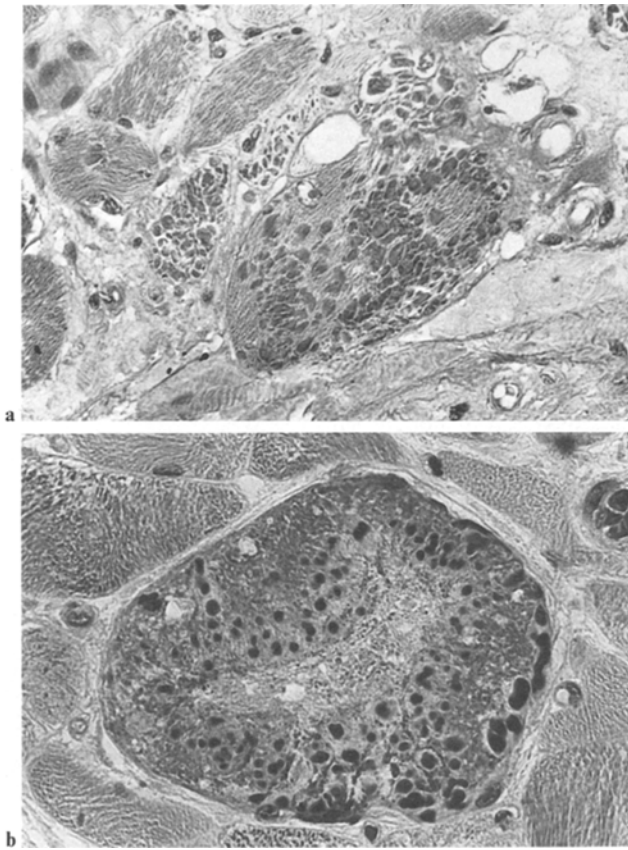


Abb. 2a, b. Unregelmäßig geformte Muskelfasereinschlüsse (sog. reducing bodies) in den Muskelfasern. **a** HE 330 \times ; **b** Trichrom 330 \times

minierte oder herdförmig angeordnete bis zu mehreren μm große strahlendichte Fasereinschlüsse, die aus einem granulären Material bestehen (Abb. 3, 4b). Der Durchmesser der Granula liegt zwischen 12 und 16 nm. Diese Einschlüsse sind nicht von einer Membran umgeben; sie enthalten häufig Hohlräume, in denen sich meist Glykogenpartikel, seltener auch andere Cytoplasmabestandteile, wie Myofilamente, nachweisen lassen. Die granulären Einschlüsse besitzen eine eigentümliche Affinität zu den Zellkernen: Sowohl offensichtlich intakte als auch regressiv veränderte Zellkerne zeigen an ihrer Außenmembran anliegend granuläres Einschlußkörpermaterial, das kappen- oder bandförmig dem Kern anliegt (Abb. 4). Vereinzelt sind vergrößerte und aufgelockerte Kerne nur an ihrer äußeren Kernmembran von kleinen Aggregaten derartiger Granula besetzt; ganz selten sieht man gleichartige granuläre Ansammlungen an der Innenseite des Sarkolemms. Selten findet man in den granulären Muskelfasereinschlüssen auch grobfilamentäre Strukturen; sie kommen ganz vereinzelt auch im benachbarten Myoplasma vor. Typische Viruspartikel können nirgends nachgewiesen werden.

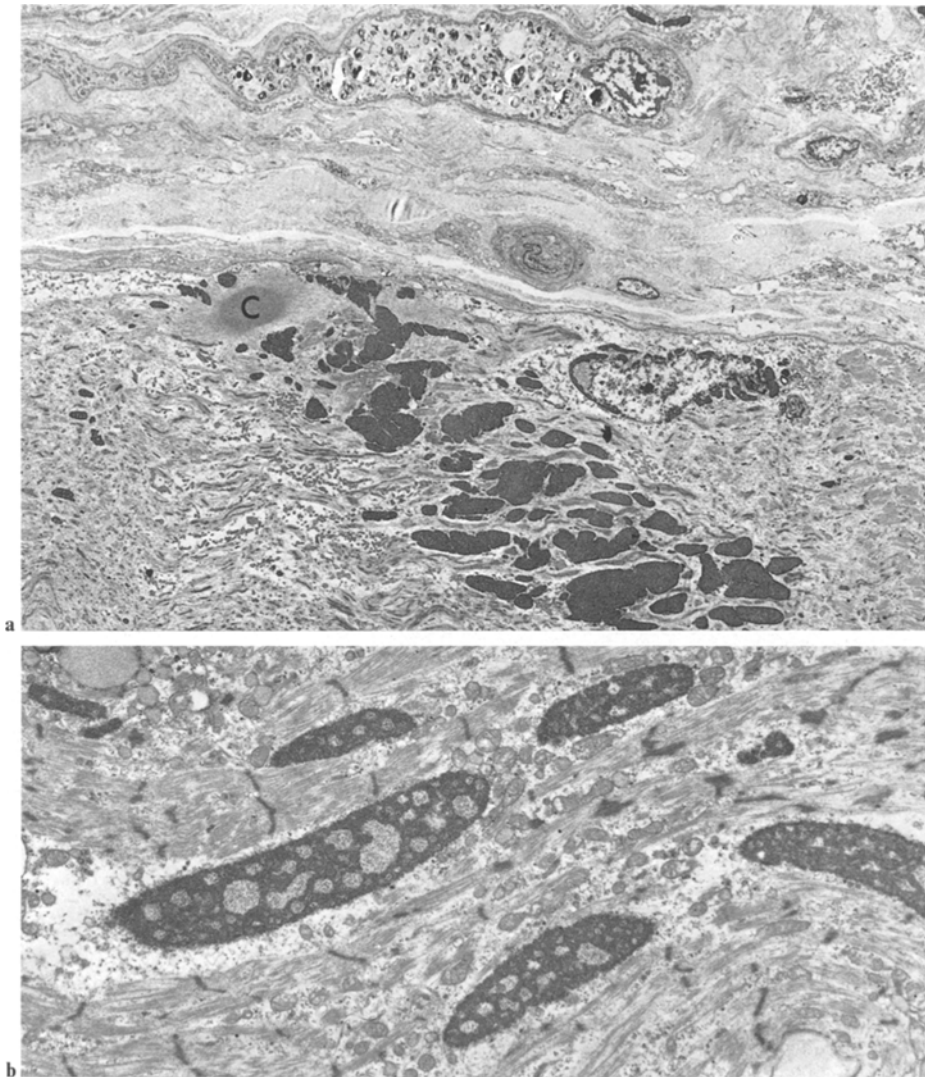


Abb. 3a, b. Feinstruktur der Granularkörpermyopathie (sog. reducing body myopathy). **a** In der Übersicht neben einer interstitiellen Fibrose feinvacuoläre Degeneration mit Atrophie einer Muskelfaser (oben); eine darunter gelegene hochgradig regressiv veränderte Muskelfaser enthält außer einem cytoplasmatischen Körperchen (cytoplasmic body) C zahlreiche strahlendichte Einschlüsse (Granularkörper, sog. reducing bodies) mit zentralen Hohlräumen. 2300 \times . **b** Granularkörper (sog. reducing bodies) mit zentralen Hohlräumen, die Glykogenpartikel enthalten. 10000 \times

Schließlich sind in wenigen degenerativ veränderten Muskelfasern auch einige cytoplasmatische Körperchen (sog. cytoplasmic bodies) erkennbar (Abb. 3a).

Diskussion

Bei der sog. reducing body myopathy handelt es sich um ein Krankheitsbild, das morphologisch gekennzeichnet ist durch eine herdförmige Muskelfaserdege-

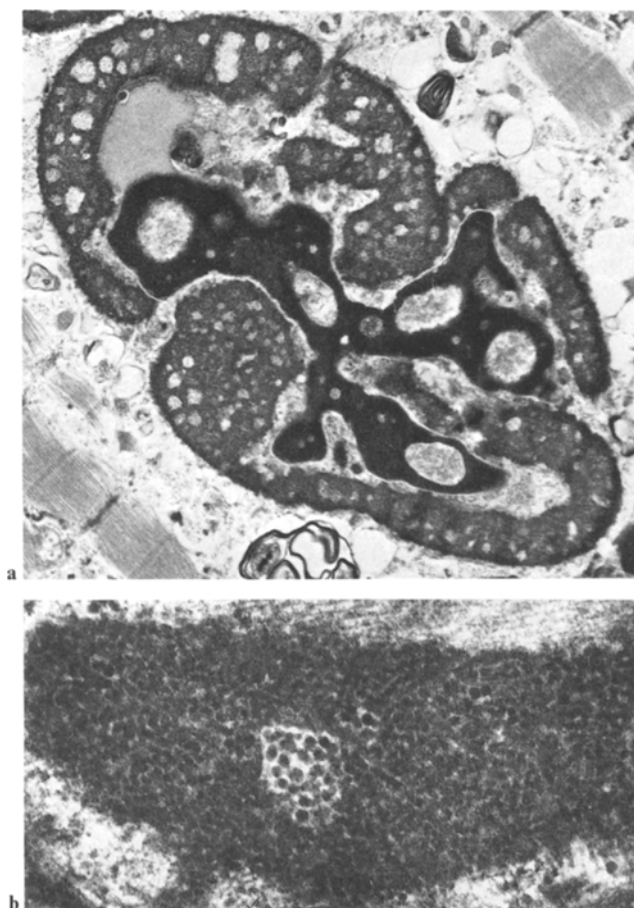


Abb. 4a, b. **a** Pyknotischer Zellkern umgeben von bandförmig angeordnetem granulärem Material. 10000 \times . **b** Stärker vergrößerter Ausschnitt zeigt granulären Aufbau der Granularkörper (sog. reducing bodies). 64000 \times

neration und zahlreiche granuläre Fasereinschlüsse. Diese sind eosinophil, PAS-positiv und lassen sich darüber hinaus mit Lugolscher Lösung, Kongorot und Methylgrün-Pyronin anfärben. Sie besitzen reduzierende Eigenschaften, d.h. sie sind in der Lage, ohne Substrat in Gegenwart von Menadione Tetrazoliumsalze zu reduzieren. Diskutiert wird, ob es sich bei den granulären Einschlüssen um virale Substanzen oder um ribosomales Material handelt (Brooke und Neville 1972). Die Affinität der Einschlüsse zu den Zellkernen ist auffällig; wir haben aber ebenso wie frühere Untersucher eine Ausschleusung des granulären Materials aus den Zellkernen nirgends beobachten können.

Für bemerkenswert halten wir die Tatsache, daß in unserem Falle eine Schwester der Erkrankten seit vielen Jahren an einer offensichtlich gleichartigen muskulären Krankheit leidet: Eine bei ihr vor 14 Jahren vorgenommene Muskelbiopsie wies zahlreiche eosinophile Muskelfasereinschlüsse auf, die denen bei unserer Patientin völlig entsprachen. Bei dieser Sachlage halten wir eine entzündliche

Ursache der sog. reducing body myopathy, etwa eine Virusinfektion, für ganz unwahrscheinlich. Die Krankheit muß vielmehr aufgrund unserer Befunde in die Gruppe der *congenitalen Myopathien mit strukturellen Besonderheiten* eingeordnet werden.

Wie schon einleitend bemerkt, kommen Muskelfasereinschlüsse mit reduzierenden Eigenschaften noch bei mindestens einer weiteren völlig andersartigen Myopathie vor (Sahgal und Sahgal 1977). Die dabei beschriebenen Fasereinschlüsse unterscheiden sich jedoch im übrigen histologisch, histochemisch und feinstrukturell weitgehend von den granulären Fasereinschlüssen bei der sog. reducing body myopathy.

Sie waren zwar eosinophil, dagegen aber PAS-negativ, färben sich mit Trichromfärbung nicht rot, sondern grün an und besaßen eine Aktivität an Adenosintriphosphatase. Feinstrukturell bestanden sie aus feinfibrillärem Material.

Andererseits ist das typische histologische und feinstrukturelle Bild der granulären Einschlüsse bei sog. reducing body myopathy bei andersartigen Muskelkrankheiten bisher nicht beobachtet worden. Nachdem also reduzierende Muskelfasereinschlüsse bei verschiedenartigen Muskelkrankheiten vorkommen und morphologisch durchaus different sein können, sollte man die sog. reducing body myopathy nach morphologischen Merkmalen klassifizieren. Wir schlagen vor, die sog. reducing body myopathy nach ihren führenden typischen Strukturen, den granulären Einschlüssen, als *Granularkörpermyopathie* zu bezeichnen.

Für hervorragende technische Assistenz danken wir Frl. D. Münsterer, Frau A. Scheiber und Frau K. Wagner.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Friedrich-Baur-Stiftung München und der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Literatur

- Brooke MH, Neville E (1972) Reducing body myopathy. *Neurology* 22:829–840
- Dubowitz V (1978) *Muscle disorders in childhood*. WB Saunders, London, Philadelphia, Toronto
- Dubowitz V, Brooke H (1973) *Muscle biopsy. A modern approach*. Saunders, London, Philadelphia, Toronto
- Nachlas MM, Walker DG, Seligman AM (1958) Histochemical method for the demonstration of DPN-diaphorase. *J Biophys Biochem Cytol* 4:29, 169
- Padykula HA, Herman E (1955) The specificity of the histochemical method for adenosintriphosphatase. *J Histochem Cytochem* 3:170–195
- Richardson KC, Janett L, Finke E (1960) Embedding epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. *Stain Technol.* 35:313–323
- Sahgal V, Sahgal S (1977) A new congenital myopathy. A morphological, cytochemical and histochemical study. *Acta Neuropathol (Berl)* 37:225–230
- Tomé FMS, Fardeau M (1975) Congenital myopathy with "reducing bodies" in muscle fibers. *Acta Neuropathol (Berl)* 31:207–217