

## Muscle pathology in UMN paraplegia

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24

### Patologia muscolare da lesione del primo motoneurone

Roberto Scelsi (1), Paola Poggi (2)

(1) Dipartimento di patologia umana ed ereditaria, (2) Dipartimento di medicina sperimentale, Università di Pavia, Italia

#### Abstract

##### Muscle pathology in upper motor neuron paraplegia

During the last 30 years acceptance of the muscle biopsy by paraplegic patients have accumulated a large body of knowledge on effects of spinal cord injury (SCI) on the skeletal muscle microstructure. Light and electron microscopy analyses combined with computerized methods provided a large body of knowledge on the progression of muscle atrophy and on the effects of rehabilitation strategies. Beside a summary of normal human muscle results, we will here discuss the time-course of muscle events related to SCI affecting the upper motor neuron. Furthermore the concomitant events on the microcirculation of skeletal muscle will be described in relation to the frequent complications of deep venous thrombosis, decubitus ulcers and paraosteoarthritis.

**Key Words:** skeletal muscle, morphometry, paraplegia, upper motor neuron, microcirculation

*European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24*

#### Riassunto

Solo negli ultimi trenta anni i paraplegici hanno superato i preconcetti che ostacolavano l'utilizzazione della biopsia muscolare a fini diagnostici e di ricerca sperimentale. In tal modo lo studio del muscolo del paziente paraplegico ha potuto usufruire di un importante approfondimento specialistico quale quello dell'anatomia patologica. Con l'introduzione della biopsia muscolare si sono potuti analizzare i muscoli scheletrici sottolesionali, utilizzando metodiche di microscopia ottica ed elettronica e di morfometria computerizzata, ottenendo importanti risultati non solo teorici ma anche pratici, in particolare sulla evoluzione temporale della atrofia muscolare, sul controllo delle sue modificazioni in seguito a trattamenti riabilitativi e di stimolazione elettrica, e sul comportamento della circolazione sanguigna degli arti plegici. In questa rassegna saranno riassunti i principi metodologici e l'aspetto morfologico del muscolo scheletrico normale e i risultati ottenuti nell'analisi di biopsie muscolari in pazienti paraplegici a tempi diversi dopo la lesione vertebro-midollare. Saranno inoltre descritte le modificazioni del microcircolo muscolare e cutaneo del paraplegico, con particolare riguardo alle alterazioni microvascolari tessutali in corso di importanti complicazioni, che insorgono frequentemente in questi pazienti, quali la trombosi venosa profonda, le ulcere da decubito e le paraosteoartropatie.

**P**er paraplegia si intende la paralisi di entrambi gli arti inferiori con eventuale interessamento del tronco. Per convenzione, il termine è riferito alle conseguenze motorie delle sole lesioni che intervengono a livello del midollo spinale. Conseguenza di una lesione midollare, la tetraplegia, caratterizzata da paralisi dei due arti inferiori, del tronco e degli arti superiori, è spesso trattata per estensione assieme alla paraplegia.

L'eziologia della paraplegia è prevalentemente di natura traumatica. Le lesioni vertebro-midollari post-traumatiche coinvolgono una popolazione prevalentemente rappresentata da soggetti maschi di giovane età. La sua incidenza è in continuo aumento: si calcola che si attesti su circa 30 nuovi casi per anno e per milione di abitanti, avendo come causa principale i traumi da incidente stradale o lavorativo. A fronte di questo aumento, assumono un rilevante significato le condotte riabilitative, oggi prevalentemente effettuate in centri ad alta specializzazione e volte a garantire una qualità di vita accettabile anche da persone di giovane età. Nello studio della paraplegia devono essere ben presenti alcuni capitoli riguardanti la semeiologia delle lesioni midollari, con particolare riguardo alla localizzazione delle lesioni, alle complicanze cliniche e al trattamento.

La lesione midollare nel paraplegico: dove?

Il sistema nervoso è costituito da diversi componenti rappresentati dall'encefalo, dal midollo spinale, dai

## Muscle pathology in UMN paraplegia

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24

nervi periferici e dalle strutture gangliari, strettamente connesse tra loro dal punto di vista anatomico e funzionale. Le funzioni del sistema nervoso che riguardano la sfera motoria, sensitiva, conoscitiva, mnemonica ed autonoma hanno componenti anatomiche distinte, ma le alterazioni di una zona hanno sempre effetti significativi sulla funzionalità di altri distretti. Per la comprensione delle alterazioni fisiopatologiche indotte dal danno midollare nella paraplegia, in cui la conseguenza maggiormente evidente è la paralisi e l'atrofia muscolare scheletrica, è possibile semplificare la descrizione dell'anatomia del sistema nervoso utilizzando criteri anatomo-funzionali, limitandoci alla funzione motoria del sistema stesso.

### L'unità motoria

Il sub-sistema costituito dal secondo motoneurone, placca neuromuscolare e popolazione di fibre muscolari contattate compone un'entità funzionale detta unità motoria. L'interruzione della continuità dell'unità motoria provoca paralisi flaccida e atrofia del muscolo scheletrico. L'atrofia coinvolge interi muscoli se la lesione interviene a livello delle corna anteriori spinali, come nella poliomielite acuta e nelle atrofie spinali ereditarie, mentre sono coinvolti interi fascicoli muscolari o gruppi più o meno estesi di miofibre nell'ambito dello stesso fascicolo, quando la lesione avviene a livello del nervo periferico, come nelle neuropatie periferiche traumatiche, ereditarie, tossiche e metaboliche.

### Livelli di lesione

Immediatamente dopo la sezione completa del midollo spinale, la porzione di sistema nervoso sottolesionale risulta priva di attività nervosa sensitiva e motoria volontaria. Tutti i movimenti volontari cessano e le attività riflesse viscerali e somatiche sono abolite. La sensibilità delle aree sottolesionali è assente. Riguardo alla suddivisione anatomica del midollo spinale una lesione midollare può interessare diversi segmenti del midollo provocando quadri clinici differenti.

Su questa base, le lesioni traumatiche complete del midollo che esitano in paraplegia si classificano in: a) lesioni cervicali, che interessano il segmento di midollo tra la prima e la settima vertebra cervicale. La lesione completa del tratto tra la prima e la quarta vertebra cervicale è difficilmente compatibile con la vita, mentre le lesioni delle vertebre cervicali sottostanti comportano tetraplegia spastica; b) lesioni toraciche e lombari, che interessano il tratto toracico e lombare. Esse comportano paraplegia spastica, perdita della sensibilità, vescica neurologica, neuro-intestino, alterazioni della sfera genito-sessuale e disturbi neurovegetativi; c) lesioni lombo-sacrali sottostanti alla seconda vertebra lombare, che interessano anche il secondo motoneurone e provocano alterazioni del sistema nervoso periferico e dei muscoli di tipo da denervazione.

Va infine segnalato che nel paraplegico con lesione centrale possono coesistere segni di lesione del secondo motoneurone accanto a quella del primo motoneurone. In questo caso i muscoli paretici presentano aree di denervazione causate prevalentemente da danno diretto delle cellule delle corna anteriori o delle radici spinali. Oltre che dalla biopsia muscolare, questa condizione può essere accertata attraverso l'osservazione del trofismo muscolare e di segni elettromiografici di denervazione, oltre che dalla stimolazione elettrica funzionale dei nervi principali o di ciascun muscolo dell'arto paretico. Nel paraplegico, accanto ai fenomeni di perdita della sensibilità, ai disturbi nel controllo delle attività automatiche degli apparati urinario, genitale e ano-rettale e di iperreflessività, trovano un posto preminente e la paralisi e l'atrofia del muscolo scheletrico degli arti inferiori.

Soltanto negli ultimi decenni, anche in concomitanza con lo sviluppo delle ricerche biologiche, anatomo-patologiche e neurofisiologiche sul muscolo scheletrico normale e patologico, si sono ottenuti importanti risultati sulla patogenesi e l'evoluzione dell'atrofia muscolare nel paraplegico, risultati che hanno permesso di modificare le condotte riabilitative e di svilupparne di nuove.

### La biopsia muscolare

La diagnostica delle malattie neuromuscolari si avvale di un ventaglio complesso di valutazioni clinico-laboratoristiche, neurofisiologiche, radiologiche e genetiche. A queste si aggiunge, su scelta del clinico, l'utilizzazione della biopsia muscolare per un approfondimento diagnostico di tipo morfologico e biochimico/molecolare della situazione patologica. Con questa metodica è possibile valutare direttamente numerosi parametri morfologici relativi all'architettura muscolare, alle singole fibre, ai tessuti interstiziali ed ai vasi sanguigni. La scelta del muscolo da utilizzare per la biopsia è effettuata sulla base dei rilievi clinici ed elettrofisiologici, scegliendo un muscolo "mediamente" alterato dal processo patologico. In genere sono scelti muscoli rappresentativi (il deltoide e il bicipite brachiale per l'arto superiore, e il quadricipite femorale e il muscolo gemello per l'arto inferiore). Di questi muscoli si conoscono alcuni parametri valutativi normali fondamentali, quali il diametro medio delle fibre, la percentuale dei tipi di fibre ed il numero medio di capillari per fibra. La biopsia è eseguita in anestesia locale con metodo chirurgico "a cielo aperto" o con il metodo della agobiopsia, utilizzando dopo il prelievo vari metodi per la fissazione del tessuto muscolare. Il congelamento rapido in azoto liquido si utilizza per le analisi genetiche / molecolari / biochimiche e per lo studio istochimico, enzimo-istochimico e immuno-istochimico delle fibre, mentre la fissazione in formalina e in altri fissativi liquidi (ad esempio, il

## Muscle pathology in UMN paraplegia

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24

liquido di Karnovsky) serve rispettivamente per lo studio istologico in microscopia ottica ed elettronica (morfologia ottica su sezioni semifini e ultrastrutturale su sezioni ultrafini).

Lo studio morfologico del tessuto muscolare scheletrico si esegue in microscopia ottica su sezioni istologiche trasversali rispetto all'asse della fibra, ottenendo così un'immagine rotondeggiante o poligonale della fibra stessa. La sezione trasversale permette inoltre una valutazione comparativa del diametro delle fibre, tra loro o rispetto a fibre normali di controllo. Il muscolo scheletrico è composto di fascicoli costituiti da elementi cellulari specializzati allungati, con numerosi nuclei disposti alla periferia, detti fibre muscolari o miofibre. Le miofibre sono molto grandi rispetto agli altri elementi cellulari dell'organismo ed hanno un diametro medio di 14 nell'infanzia e di 60 micron nel giovane adulto. Nell'anziano esse subiscono una progressiva atrofia, legata alla sedentarietà ed al naturale invecchiamento dei tessuti.

Nel loro insieme i fascicoli muscolari sono circondati da setti fibro-connettivali che costituiscono il perimisio. A sua volta ciascuna fibra muscolare è circondata da un esile strato di tessuto fibroso detto endomisio, nel quale si riconoscono capillari sanguigni. Ciascuna fibra muscolare è rivestita da una membrana cellulare detta sarcolemma e presenta in posizione periferica subsarcolemmale numerosi nuclei costituiti da cromatina densa. All'interno del sarcolemma è contenuto il citoplasma cellulare detto sarcoplasma, nel quale sono presenti le strutture contrattili del muscolo rappresentate dalle miofibrille con le caratteristiche striature trasversali, e da altri organuli non visibili in microscopia luce, quali i mitocondri. Nel muscolo sono inoltre osservabili in microscopia elettronica o marcandole con anticorpi specifici piccole cellule mononucleate specializzate disposte in aree subsarcolemmali, dette cellule satelliti. Esse si attivano e diventano più numerose nei processi di ipertrofia e di rigenerazione muscolare, mentre diminuiscono in caso di inattività. Nell'interstizio muscolare sono infine presenti fascicoli nervosi periferici e particolari strutture dette fusi neuromuscolari che contengono fibre muscolari specializzate nel mantenimento del tono e della coordinazione dell'attività muscolare.

Il dettaglio morfologico delle strutture funzionali della fibra muscolare, che non sono ben visibili in microscopia luce, è evidenziato all'esame in microscopia elettronica, che nel nostro caso ingrandisce un particolare fino a 50.000 volte. La sezione longitudinale delle miofibre evidenzia una caratteristica struttura striata delle miofibrille, dovuta alla regolare alternanza dei filamenti delle proteine contrattili: l'actina e la miosina.

L'unità funzionale della miofibrilla è il sarcomero. Esso si estende tra due linee Z consecutive, formate da materiale elettrone-denso agganciato ai filamenti di actina. I miofilamenti sono costituiti dalle proteine contrattili actina e miosina, che rappresentano il motore della contrazione muscolare. Questa è realizzata dallo scorrimento dei filamenti di actina lungo quelli di miosina, che si avvicinano alla banda A, composta da spessi filamenti di miosina, riducendo la lunghezza del sarcomero con conseguente accorciamento dell'unità di contrazione. Il sistema che permette il trasporto del segnale elettrico nervoso dalla membrana cellulare alle unità di contrazione (sarcomeri) è costituito dal reticolo sarcoplasmatico e dal sistema dei Tubuli Trasversali (perciò detti tubuli T), che derivano da invaginazioni e dilatazioni del sarcolemma stesso. In queste strutture il segnale elettrico che si diffonde lungo il sarcolemma è trasformato in segnale chimico attraverso la mediazione di ioni calcio che sono rilasciati dal Reticolo Sarcoplasmatico in prossimità dei filamenti contrattili.

Altre strutture submicroscopiche fondamentali sono i mitocondri, organelli membranosi dotati di un sistema di creste e ricchi di enzimi del ciclo di Krebs, deputati alla respirazione cellulare e allo sviluppo di energia. Il microscopio elettronico evidenzia inoltre le sostanze che forniscono energia alle fibre, il glicogeno e i lipidi, rispettivamente sotto forma di granuli e di materiale accumulato in vacuoli sarcoplasmatici. Sono questi i combustibili cellulari bruciati dall'ossigeno, che diffonde dai capillari sanguigni.

Le reazioni istochimiche permettono di riconoscere nel sarcoplasma della fibra muscolare due sostanze biochimiche che costituiscono la sorgente energetica utilizzata dal muscolo per il proprio funzionamento: il glicogeno e i lipidi. La colorazione all'acido periodico di Schiff (PAS) mostra una positività diffusa nel sarcoplasma delle fibre, legata alla presenza di glicogeno, una sostanza finemente granulosa distribuita lungo le miofibrille. La colorazione con Oil red-orceina e altre colorazioni specifiche evidenziano i lipidi neutri, sotto forma di materiale generalmente raccolto in vacuoli sarcoplasmatici. Entrambe le colorazioni appaiono più intense in alcune fibre rispetto ad altre, suggerendo proprietà biochimiche differenti nell'utilizzazione delle sorgenti energetiche tra le fibre di uno stesso fascicolo muscolare. Le reazioni istochimiche enzimatiche ed in particolare la reazione alcalina per la evidenziazione dell'attività adenosintrifosfatasi (ATPasi, pH 9.6) permettono una differenziazione più netta tra i due principali tipi di fibre: le fibre di tipo I (miofibre a contrazione lenta e resistenti alla fatica), che si colorano in modo tenue, e le fibre di tipo II (miofibre a contrazione rapida e poco o pochissimo resistenti alla fatica), che si colorano intensamente di nero. Al contrario le reazioni per le

## Muscle pathology in UMN paraplegia

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24

attività enzimatiche legate alla funzione dei mitocondri quali la NADH-tetrazolio reduttasi e la succinico deidrogenasi (SDH) colorano di scuro le fibre di tipo I, che contengono un elevato numero di mitocondri, e colorano in modo tenue le fibre di tipo II, che ne contengono un numero ridotto o assai ridotto.

I tipi di fibre dipendono in modo stretto dal sistema nervoso e più precisamente dall'attività delle cellule delle corna anteriori, che ne determinano le caratteristiche istologiche, biochimiche e fisiologiche, ed in particolare il tipo di contrattilità e di resistenza alla fatica. Durante lo sviluppo embrionale dei mammiferi e degli uccelli le fibre muscolari immature cominciano ad esprimere proteine contrattili (di tipo embrionale e poi neonatale) prima dell'innervazione muscolare. L'innervazione del muscolo condiziona e mantiene poi per tutta la vita i tipi, e cioè le caratteristiche fisiologiche e biochimiche, delle fibre muscolari.

Il motoneurone inferiore influenza pertanto il tipo di fibra muscolare dell'unità motoria, tanto che si classificano motoneuroni di tipo I e II e relative fibre muscolari di tipo I e II. In realtà le isoforme di tipi di proteine contrattili sono più numerose e la loro co-espressione in singole miofibre isolate, ha dimostrato una notevole eterogeneità delle miofibre, in particolare nelle fasi di transizione della plasticità muscolare. Nei muscoli degli arti, un singolo motoneurone può innervare centinaia di miofibre, mentre a livello dei muscoli oculari innerva solo una ventina di miofibre, regolando più finemente la forza e la velocità di contrazione muscolare. Un esempio della influenza del II motoneurone sulla fibra muscolare è il fenomeno della reinnervazione incrociata, che interviene dopo un danno da denervazione. In questo caso la reinnervazione di un muscolo a contrazione lenta da parte di assoni nervosi originariamente diretti a un muscolo a contrazione rapida, converte le fibre di tipo I alle caratteristiche fisiologiche e tintoriali di quelle di tipo II. Dato che un assone tende a reinnervare più fibre vicine è caratteristico della reinnervazione il fenomeno del type-grouping.

I tipi di fibre che compongono i muscoli scheletrici nell'uomo sono mescolati in modo abbastanza uniforme, formando un mosaico di fibre chiare di tipo I e scure di tipo II dopo colorazione con ATPasi a pH alcalino. Tuttavia i due tipi di fibre si presentano in proporzione diversa da muscolo a muscolo in relazione al tipo ed intensità della contrazione del muscolo stesso, ma sempre con differenze variabili da persona a persona, introducendo l'ipotesi di una variabilità genetica nell'ambito della specie. Ad esempio il muscolo soleo è composto prevalentemente da fibre di tipo I (80%), mentre il muscolo quadricipite femorale presenta una predominanza netta delle fibre di tipo II. Le ricerche biochimiche di base e gli studi di

elettrofisiologia del muscolo, unitamente ai risultati enzimo-istochimici hanno permesso di individuare una serie di parametri tra loro correlati, che permettono di comprendere la funzione specializzata dei due tipi di fibre muscolari.

### Patologia muscolare nella paraplegia

La paraplegia è una condizione gravemente invalidante e generalmente irreversibile, conseguenza di una lesione completa del midollo spinale a livello toracico-lombare. Se la lesione interviene a livello cervicale si parla di tetraplegia. Lungo il midollo spinale, nella sostanza bianca, decorrono ventitre fasci di fibre nervose discendenti provenienti dal cervello, dal cervelletto e dal bulbo; di fibre nervose ascendenti dirette al bulbo, al cervelletto e al talamo ottico, e di fibre provenienti dai gangli spinali; e di fibre nervose che compongono i sistemi di associazione. Al centro del midollo spinale, la sostanza grigia è composta da neuroni organizzati in nuclei situati nelle corna anteriori, che inviano i propri neuriti alla periferia attraverso le radici nervose spinali anteriori e che provvedono all'innervazione della muscolatura scheletrica. Nelle corna posteriori sono situati numerosi nuclei di neuroni collegati ai fasci spinali dei cordoni laterali o che ricevono i prolungamenti centrali delle cellule dei gangli spinali attraverso le radici posteriori. Un trauma trasversale del midollo spinale con interruzione completa di questa struttura anatomica determina la complessa e grave sintomatologia che sta alla base della paraplegia, in cui il tessuto muscolare è principalmente coinvolto, ma secondariamente anche fenomeni di distrofia cutanea da compressione determinano la grave complicanza delle ulcere da decubito. Una lesione del midollo spinale interessa nella stragrande maggioranza dei casi il primo motoneurone, provocando paraparesi spastica ed atrofia muscolare da disuso. Il grado di atrofia delle miofibre è progressivo nel tempo e presenta caratteristiche alterazioni post-lesionali precoci, intermedie e tardive.

Nei primi stadi della lesione (1-4 mesi dopo il danno midollare), il numero di fibre muscolari e il rapporto numerico tra le fibre di tipo I e II si mantengono normali, mentre si instaura una atrofia preferenziale delle fibre di tipo II, che traggono la loro energia dalla scissione glicolitica del creatinfosfato e dalla glicolisi anaerobica. E' verosimile che le più precoci alterazioni delle miofibre in seguito a lesione midollare, intervengano proprio a livello delle attività enzimatiche glicolitiche, che si dimostrano generalmente più sensibili al danno muscolare da lesione del primo motoneurone. In questa fase, numerosi pazienti presentano accanto alle tipiche alterazioni muscolari di tipo centrale, un danno da denervazione periferica, limitato ad alcuni gruppi muscolari od unità motorie e legato a lesioni contemporanee del secondo

## Muscle pathology in UMN paraplegia

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24

motoneurone. Tale danno è caratterizzato dalla presenza di fibre muscolari molto più atrofiche, con aspetto angolato, talora con alterazioni nella distribuzione sarcoplasmatica delle attività enzimatiche ossidative (fibre a bersaglio). A livello ultrastrutturale le alterazioni più evidenti e frequenti riguardano l'apparato contrattile miofibrillare, con quadri di disorganizzazione delle miofibrille, frammentazione e perdita di miofilamenti ed alterazioni della linea Z che appare frequentemente disorganizzata. In questa fase, numero e dimensione dei mitocondri si riducono significativamente, senza mostrare alterazioni caratteristiche. Il contenuto sarcoplasmatico di lipidi, sotto forma di vacuoli contenenti materiale osmiofilo, aumenta nel tempo dopo la lesione spinale.

Successivamente, tra 4 e 9 mesi dalla lesione spinale, quando la spasticità dei pazienti appare evidente, le alterazioni delle miofibre appaiono più diffuse e gravi. Il numero di fibre muscolari si riduce progressivamente ed il rapporto tra fibre di tipo I e II subisce profondi mutamenti, con quadri di predominanza numerica delle fibre di tipo II, che appare del tutto evidente nei tempi più lunghi da noi studiati (10-17 mesi). In questa fase le fibre muscolari si riducono ulteriormente di dimensioni, con alterazioni degenerative di tipo miopatico e con accumulo di lipidi. La scomparsa delle fibre muscolari induce fenomeni compensatori di proliferazione connettivale con quadri di fibrosi interstiziale, e di infiltrazione adiposa. In conclusione, le modificazioni delle fibre muscolari appaiono precocemente e si aggravano progressivamente durante i primi due anni dopo la lesione midollare.

La lesione elementare del muscolo scheletrico è l'atrofia delle miofibre, che presentano alterazioni ultrastrutturali soprattutto a carico della componente contrattile, che presenta fenomeni di disorganizzazione e di frammentazione dei miofilamenti, con accumulo progressivo di vacuoli lipidici nel sarcoplasma. Le dimensioni dei fascicoli muscolari si riducono nel tempo e si instaurano alterazioni interstiziali in genere tardive caratterizzate da fibrosi e talora da infiltrazione adiposa sostitutiva del muscolo. A questi fenomeni patologici prevalenti di tipo centrale, si associano in alcuni pazienti alterazione muscolari da denervazione. Legate alla immobilizzazione (disuso) verosimilmente dovuta alla perdita delle connessioni superiori del secondo motoneurone, talora si associano a scomparsa di neuroni delle corna anteriori e a fenomeni di degenerazione transinaptica, con le conseguenti ricadute sulle fibre muscolari, che risulteranno in tal caso anche con quadri di denervazione periferica.

La componente tipologica delle fibre si modifica anch'essa nel tempo attraverso una iniziale atrofia preferenziale delle fibre di tipo II, per raggiungere nelle fasi tardive una prevalenza numerica delle stesse. Un aspetto interessante appare quello legato alle modificazioni temporali dell'assetto tipologico delle

miofibre nella fase tardiva della paraplegia che appare multifattoriale, legato cioè al disuso, ma anche al fenomeno della spasticità che si instaura in modo permanente dopo un primo periodo di paralisi flaccida. Nelle fasi più tardive i fenomeni di predominanza delle fibre di tipo II, che in alcuni pazienti appaiono molto evidenti, potrebbero essere legati a fenomeni di conversione tipologica delle fibre di tipo I in fibre di tipo II. La spasticità, infatti, è determinata da una contrazione prolungata di entrambi i tipi di miofibre. Tale condizione sarebbe il presupposto di una trasformazione delle fibre di tipo I a contrazione lenta e resistenti alla fatica, in fibre di tipo II a contrazione veloce e facilmente esauribili. Questa teoria è suffragata dalla presenza di numerose fibre di tipo IIB, che sono considerate fibre di transizione nella trasformazione plastica delle fibre muscolari. Tale fenomeno, basilare nella teoria della plasticità muscolare secondo la quale fibre di un tipo acquisirebbero le caratteristiche biochimiche e contrattili delle fibre di tipo opposto, appare evidente anche nel soggetto anziano sedentario ed in pazienti sottoposti a trattamenti di stimolazione elettrica, nei quali la trasformazione tipologica in fibre di tipo II è evidente.

Le fibre muscolari sono vascolarizzate dal circolo sanguigno arterioso regionale che sfocia nel circolo intramuscolare. La circolazione arteriosa intramuscolare è composta da arterie di piccolo calibro e dal circolo capillare che si dispone attorno alle singole fibre muscolari in numero medio di 4 capillari per fibra e con una densità di 280 capillari per mm<sup>2</sup>, tenendo comunque presente che le fibre di tipo I sono normalmente irrorate da un numero di capillari superiore a quelle di tipo II. Il numero dei capillari viene in genere calcolato utilizzando sistemi automatici computerizzati di tipo quantitativo in microscopia luce su sezioni istologiche o su sezioni semifini di materiale fissato per lo studio in microscopia elettronica. Istologicamente, i capillari sono costituiti da un endotelio adeso ad una sottile membrana basale, da una tonaca muscolare di fibre muscolari lisce, e da una tonaca avventizia composta di fibre reticolari e connettivali che si confonde nel connettivo endomisiale. I vasi sono evidenziati con le comuni colorazioni istologiche e con metodi immunoistochimici che utilizzano anticorpi monoclonali di topo contro antigeni presenti sull'endotelio e sulle giunzioni endoteliali umane, quali il CD31 e CD34. La maggior parte delle ricerche sui vasi sanguigni del muscolo scheletrico umano riguarda adulti sani ed atleti sottoposti ad allenamento.

Questi studi hanno evidenziato una stretta correlazione tra tipologia delle miofibre e numero dei capillari. Il maggior numero di capillari sono presenti, infatti, attorno alle fibre di tipo I che possiedono numerosi mitocondri, che consumano molto ossigeno nella

## Muscle pathology in UMN paraplegia

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24

propria funzione. Le fibre di tipo II al contrario sono circondate da un minor numero di capillari giacché funzionano discontinuamente, in condizioni di prevalente anaerobiosi, ma con ampie pause per il riaccumulo del glicogeno.

### Alterazioni del circolo capillare muscolare nella paraplegia

Soltanto in questi ultimi anni la ricerca nel campo delle lesioni spinali e della denervazione cronica umana e sperimentale si è interessata della morfologia del microcircolo muscolare. Nel muscolo umano e dell'animale da esperimento denervato da lungo tempo, l'atrofia muscolare e la fibrosi interstiziale sono associate ad evidenti alterazioni dei vasi di resistenza e della microcircolazione. Nel ratto, durante i primi 7 mesi dalla denervazione il numero dei capillari per fibra diminuisce drasticamente e tende a stabilizzarsi nei successivi 11 mesi. Dopo denervazione i capillari intramuscolari degenerano molto più velocemente delle miofibre. Si instaura di conseguenza una fibrosi perivasale che allontana i capillari stessi dalla superficie delle miofibre, con conseguente sviluppo di focolai di ipossia regionale che inibiscono la capacità di recupero del muscolo denervato. L'atrofia muscolare nel paraplegico è condizionata dalla immobilità e dal disuso muscolare. Nel disuso, le fibre e il microcircolo muscolare dimostrano importanti fenomeni di adattamento in risposta ad una ridotta domanda funzionale. Il letto microvascolare subisce infatti importanti modificazioni strutturali e funzionali di tipo regressivo, con degenerazione della parete vascolare e perdita di vasi capillari. La perfusione a riposo è ridotta così come la risposta arteriolare a stimoli vasocontrittivi e vasodilatatori. Queste premesse, unitamente alla evidenza di importanti alterazioni circolatorie negli arti plegici, quali i disturbi vasomotori e la diminuzione della capacità e della distensione venosa, ci hanno indotto a studiare con metodiche morfologiche ed immunoistochimiche la microcircolazione del muscolo nel paraplegico. Nelle fasi precoci della paraplegia, quando i fenomeni di flaccidità ipotonica sono evidenti, i vasi capillari appaiono dilatati, al pari dei vasi venosi, concorrendo alla formazione di un edema interstiziale talora importante.

Nelle fasi più tardive della paraplegia, quando i fenomeni di spasticità si sono consolidati, i vasi sanguigni appaiono più rari e presentano frequentemente alterazioni della parete, riassumibili in ispessimento associato ad alterazioni della membrana basale che appare spesso reduplicata. Queste alterazioni microvascolari non sono presenti solo a livello muscolare, ma si osservano anche a livello della cute degli arti paralizzati.

Da quanto osservato, risulta che negli arti paralizzati il paraplegico sviluppa precocemente una diffusa

compromissione della circolazione capillare e venulare, muscolare e cutanea, che potrebbe definirsi come una vera e propria microangiopatia estesa, oltre che al circolo sanguigno anche a quello linfatico. Alterazioni simili sono state dimostrate anche in pazienti con malattie dismetaboliche, quali i diabetici, ed in altre malattie microvascolari. Inoltre le stesse alterazioni morfologiche sono riscontrabili in ogni situazione di inattività ed immobilità muscolare che causa riduzione del letto microvascolare, al pari di situazioni di denervazione cronica che causano alterazioni dei mitocondri e dei vasi capillari. La nostra opinione è che la patogenesi della microangiopatia nel paraplegico sia multifattoriale, legata cioè al disuso, alla conseguente riduzione del volume muscolare, e, non ultimo, alla predominanza delle fibre di tipo II, che notoriamente richiedono una minore vascolarizzazione oltre che a fenomeni variabili di accidentale denervazione periferica.

### Basi morfologiche delle principali complicazioni in paraplegia

Le principali complicanze della paraplegia sono la trombosi venosa profonda, la più temuta tra tutte per l'elevata mortalità dei pazienti, le ulcere da decubito, le distrofie e le infezioni cutanee, e le paraosteopatie, di cui le ossificazioni ectopiche sono la più frequente manifestazione. La patogenesi di queste complicazioni è varia, ma l'approfondimento clinico ed anatomo-patologico effettuato in questi ultimi anni ha evidenziato una costante di natura vascolare. La microcircolazione arteriosa muscolare degli arti plegici appare compromessa in numerosi pazienti, con riscontri clinici e strumentali orientativi in questo senso. Anche i vasi venosi e linfatici degli arti inferiori nei paraplegici presentano alterazioni funzionali importanti, quali una significativa insufficienza venosa cronica con una netta riduzione della pressione di ossigeno (PO<sub>2</sub>) dermica valutata in misurazioni transcutanee, ed alterazioni della funzione del microcircolo sanguigno e linfatico terminale del derma cutaneo valutate con metodiche di microlinfografia a fluorescenza.

### Trombosi venosa profonda

La trombosi venosa profonda (TVP) è una grave complicanza trombo-embolica del paraplegico caratterizzata da trombosi del circolo venoso profondo a livello iliaco-femorale, con possibile interessamento embolico del cuore destro e del circolo polmonare definita col termine di cuore polmonare acuto. L'eziologia della malattia include un insieme di fattori quali la stasi venosa, l'immobilizzazione a letto e la perdita della contrazione muscolare, con un quadro clinico caratterizzato da sudorazione, dilatazione e congestione del circolo venoso superficiale, edema e distrofie cutanee degli arti inferiori. Lo studio

## Muscle pathology in UMN paraplegia

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24

istologico e ultrastrutturale del microcircolo linfatico terminale e sanguigno su biopsie cutanee degli arti inferiori nel paraplegico con TVP, paragonato al quadro morfologico di vasi normali, ha evidenziato come la circolazione linfatica sia diffusamente compromessa, con dilatazione e distensione della parete dei vasi linfatici a livello della cute dell'arto interessato. Lo strato endoteliale di questi vasi appare assottigliato e presenta abnorme allargamento delle giunzioni intercellulari, mentre i tessuti connettivali perivascolari che appaiono edematosi in conseguenza alla linfostasi e al travaso transcapillare di liquidi linfatici, presentano una matrice avventiziale rarefatta con distruzione e dissociazione delle fibre elastiche e collagene che la compongono.

### Ulcere da decubito

Le ulcere da decubito o lesioni da pressione sono definite come lesioni causate da una pressione non variata che provoca danno ai tessuti sottostanti. Solitamente le ulcere si instaurano a livello delle prominente ossee e sono classificate in stadi in relazione all'entità del danno tissutale. Esse costituiscono una delle complicazioni maggiori nel paraplegico ed insorgono nel 30% dei pazienti. Ipossia e fenomeni meccanici locali contribuiscono all'insorgenza delle ulcere, che in genere si aggravano in forma cronica nonostante il trattamento medico. Nella patogenesi delle ulcere si elencano fattori quali la pressione, la frizione e altri eventi microtraumatici, ma certamente il fattore patogenetico più importante sembra essere l'ipossiemia correlata alle condizioni della microcircolazione nell'area di insorgenza della lesione. Altre concause all'insorgenza delle ulcere sono l'eccessiva umidità cutanea, la sudorazione locale e l'incontinenza che inducono fenomeni di macerazione della cute con complicazioni infettive ed ulcerazione dell'epidermide e dei piani sottostanti. Anche lo scarso apporto nutrizionale contribuisce attraverso l'ipoproteinemica alla necrosi dei tessuti, se sottoposti a pressione prolungata. I processi riparativi di queste lesioni sono lenti e in molti casi l'ulcera tende a non guarire. La riparazione delle ferite, e nel nostro caso delle ulcere, avviene attraverso processi di tipo infiammatorio e cicatriziale in cui la formazione di tessuto di granulazione appare preminente. La componente neoangiogenetica del tessuto di granulazione, fondamentale nella riparazione della lesione, è costituita da sottili capillari neoformati che si generano dalla parete dei vasi capillari presenti nei tessuti perilesionali indenni. Questi processi riparativi sono attivati da numerosi fattori umorali, citochine e fattori di crescita, quali il fattore di accrescimento delle piastrine (PDGF), dell'epidermide (EGF), dei fibroblasti (bFGF) e degli endoteli vasali (VEGF). In questi ultimi anni, studi funzionali e morfologici sul muscolo scheletrico degli arti plegici hanno dimostrato

accanto all'atrofia delle miofibre importanti alterazioni della microcircolazione sanguigna e linfatica che determinano ipossia tissutale, aumento della resistenza venosa e edema da alterazioni del drenaggio linfatico negli arti plegici. Inoltre nel paraplegico, la migrazione chemiotattica delle cellule infiammatorie e la liberazione dei fattori di crescita descritti appaiono limitate. Sulla base di queste premesse, abbiamo eseguito uno studio anatomico-patologico sulle ulcere da decubito nel paraplegico utilizzando come unico criterio la presenza di una lesione da pressione di grado severo tale da richiedere un intervento di chirurgia plastica ricostruttiva. Come controlli sono stati utilizzati campioni di ulcera da decubito della stessa gravità, insorta in pazienti non paraplegici, allettati e immobilizzati a lungo per cause ortopediche e traumatologiche. Dal confronto emerge come la componente neoangiogenetica dei tessuti riparativi del paraplegico sia significativamente depressa, con diminuzione del numero di vasi neoformati presenti nel tessuto di granulazione sul fondo e margini dell'ulcera, e con riduzione del numero di mitosi delle cellule endoteliali che sono espressione delle capacità rigenerative dei vasi. I vasi sanguigni dei tessuti perilesionali mostrano alterazioni morfologiche simili a quelle che si riscontrano usualmente nel letto capillare intra ed extramuscolare del paraplegico, caratterizzate da ispessimento e reduplicazione della membrana basale con conseguente limitazione degli scambi. Sembra quindi che la microangiopatia del paraplegico possa essere un fattore importante nell'eziologia delle ulcere da decubito, influenzandone la velocità di insorgenza e la possibilità di guarigione.

### Ossificazioni ectopiche nelle paraosteoartropatie

Le ossificazioni ectopiche consistono in aree spesso multiple di metaplasia ossea a livello dei tessuti molli delle articolazioni degli arti inferiori dei paraplegici in fase avanzata. Esse rappresentano una frequente complicazione nel soggetto mieloleso, con una incidenza compresa tra il 15% ed il 53%. Nel 15% dei pazienti comportano limitazioni importanti della funzione articolare tali da ostacolare la posizione seduta e le manovre di riabilitazione. Aumentano inoltre il rischio di formazione di ulcere da decubito e condizionano il grado della spasticità. La patogenesi delle ossificazioni consiste nella trasformazione di cellule primitive di origine mesenchimale presenti nei tessuti connettivali para-articolari, in cellule osteogenetiche. Tale trasformazione sarebbe condizionata da sostanze diverse liberate dal tessuto osseo, quali proteine idrofobe e/o prostaglandine in grado di provocare fenomeni di metaplasia ossea, in risposta a stimoli o condizioni diverse, quali la demineralizzazione osteoporotica della matrice ossea, la flogosi, alterazioni della microcircolazione, stasi venosa e patologie infiammatorie o degenerative dei

## Muscle pathology in UMN paraplegia

European Journal Translational Myology - Basic Applied Myology 2010; 1 (1&2): 17-24

connettivi para-articolari e del periostio, condizioni che spesso accompagnano l'immobilizzazione o l'evento traumatico. A parziale conferma di questa ipotesi patogenetica, un aumento dell'escrezione urinaria delle prostaglandine E2 (PGE2) nelle 24 ore appare come un buon indicatore biologico nella valutazione dell'insorgenza delle ossificazioni ectopiche. Tali sostanze sono note per la loro azione nella regolazione del tono dei vasi sanguigni, per il loro ruolo nell'infiammazione e per il loro effetto nella formazione di osso lamellare. Il nostro contributo sulla patogenesi delle ossificazioni ectopiche nel paraplegico riguarda lo studio morfologico di biopsie cutanee eseguite nelle aree paraarticolari del ginocchio sede di insorgenza delle ossificazioni. I vasi sanguigni dermici hanno evidenziato riduzione del lume, che talora si presenta occluso, alterazioni delle cellule e delle giunzioni endoteliali, e rarefazione dei connettivi perivascolari. In particolare i tessuti avventiziali e perivascolari presentano dissociazione e frammentazione delle fibre collagene ed elastiche, con presenza di frequenti microcalcificazioni nel tessuto adiposo sottocutaneo. La nostra opinione è che le alterazioni dei microvasi cutanei e sottocutanei nelle aree prossime alle ossificazioni eterotopiche del paraplegico, possano indurre attraverso l'ipossia locale, alterazioni degli scambi transcapillari, con modificazioni dei tessuti connettivali perivascolari e successiva creazione di alterazioni metaboliche tissutali locali con deposito di sali di calcio e induzione delle ossificazioni. Queste osservazioni indicano l'importanza della protezione clinica della circolazione sanguigna di questi pazienti, limitando il più possibile la stasi ematica e linfatica ed i microtraumi vascolari talora indotti dalle stesse manovre riabilitative.

### Corresponding Author

Roberto Scelsi, Istituto di Anatomia e Istologia Patologica. Via Forlanini 14, 27100 Pavia, Italy.  
phone +39 382 528474/5/6; fax +39 382 525866. E-mail: giovanna.vassallo@unipv.it – Attention\_Scelsi

### References

- [1] Scelsi R, Lotta S, Sverzellati S, Poggi P. Morphological alterations of microvasculature and neoangiogenesis in the pressure ulcers repair in paraplegics. *Basic Appl Myol* 2005; 15: 203-208.
- [2] Scelsi R. Skeletal muscle pathology after spinal cord injury: our 20-year experience and results on skeletal muscle changes in paraplegics, related to functional rehabilitation. *Basic Appl Myol* 2001; 11: 75-85.
- [3] Scelsi R, Scelsi L, Bocchi R, Lotta S. Morphological changes in the skin microlymphatics in recent injured paraplegic patients with ilio-femoral thrombosis. *Paraplegia* 1995; 33: 472-475.
- [4] Scelsi R, Marchetti C, Poggi P, Lotta S, Lommi G. Muscle fiber type morphology and distribution in paraplegic patients with traumatic spinal cord lesion. *Acta Neuropath (Berl)* 1980; 51: 99-105.
- [5] Lotta S, Scelsi L, Scelsi R. Microvascular changes in lower extremities of paraplegics with heterotopic ossifications. *Spinal Cord* 2001; 39: 395-398.
- [6] Carmeliet P, Collen D. Role of vascular endothelial growth factor and its receptors in vascular development. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999; 158: 133-158.
- [7] Klitzman B, Kalinowski C, Glasofer SL, Rugani L. Pressure ulcers and pressure relief surfaces. In: *Wound Healing: state of art*. Granick M ed. *Clin Plast Surg* 1998; 25: 443-450.
- [8] Noback CR, Demarset RJ. Il sistema nervoso: un'introduzione. Zanichelli 1985; 1-221.
- [9] Hughes JT. The new neuro-anatomy of the spinal cord. *Paraplegia* 1989; 27: 90-98.
- [10] Yelnik A, Dizien O. Paraplegie. *Encycl Med Chir (Elsevier, Paris)*. *Neurologia* 2001; 17-005-B-10:1-12.
- [11] Shehab D, Elgazzar A, Collier D. Heterotopic ossification. *J Nucl Med* 2002; 43: 346-353.