

Patofiziologija skeletne mišice pri cerebralni paralizi

Pathophysiology of skeletal muscle in cerebral palsy

Urška Matkovič^{1*}, Vid Jan^{1*}, Klemen Dolinar^{1,2}, Nives Škorja^{1,2}, Katarina Miš¹, Tomaž Marš¹,
Matej Podbregar^{1,3}, Sergej Pirkmajer¹

IZVLEČEK

Cerebralna paraliza je klinični sindrom, ki se kaže predvsem z motnjami gibanja in drže, ki nastanejo kot posledica trajne okvare razvijajočih se možganov. Ta okvara neposredno in posredno vodi v nastanek mišičnih skrajšav, ki omejujejo gibljivost sklepov. Pri spastični obliki cerebralne paralize je ta omejena zaradi funkcijskih in strukturnih sprememb refleksa na razteg in skeletne mišice. V začetnem obdobju gibljivost sklepov omejuje predvsem zvišan mišični tonus, ki je posledica čezmerno vzdraženega refleksa na razteg. Pozneje se razvijejo strukturne spremembe v mišici, ki povzročijo nastanek pravih mišičnih skrajšav. Zanje sta značilna skrajšanje mišičnih vlaken in hipertrofija vezivnega tkiva. Kako okvara možganov povzroči strukturne spremembe v mišici, ni jasno. Izsledki zadnjih raziskav pa kažejo, da je pri cerebralni paralizi število mišičnih satelitskih celic zelo znižano, kar bi lahko neposredno prispevalo k nastanku skrajšav. Če bodo nadaljnje raziskave potrdile ta mehanizem, bi to lahko vodilo k novim oblikam zdravljenja skrajšav pri cerebralni paralizi.

Ključne besede: cerebralna paraliza, skeletna mišica, spastičnost, skrajšava, satelitske celice.

ABSTRACT

Cerebral palsy is a clinical syndrome characterized primarily, but not exclusively, by movement and posture disorders, which arise due to injury to the developing brain. This injury directly and indirectly leads to contractures, which limit range of joint motion. Contractures develop due to functional and structural alterations affecting the stretch reflex and skeletal muscle. In the early stages of spastic cerebral palsy joint motion is limited mainly due to increased muscle tone, which is caused by overactivity of the stretch reflex. Later on, structural alterations in skeletal muscle lead to fixed contractures, which are characterized by shorter muscle fibers and hypertrophy of the extracellular matrix. Mechanisms by which injury to the developing brain leads to structural alterations in skeletal muscle are obscure. Interestingly, recent findings suggest that the number of muscle satellite cells is reduced in cerebral palsy, which may directly contribute to development of contractures. This mechanism, if confirmed, might lead to novel therapeutic approaches for contractures in cerebral palsy.

Key words: cerebral palsy, skeletal muscle, spasticity, contracture, satellite cells.

¹ Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo, Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko, Ljubljana

³ Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana.

* Avtorja sta enakovredno prispevala k pisanju tega prispevka.

Korespondenca/Correspondence: doc. dr. Sergej Pirkmajer, dr. med.; e-pošta: sergej.pirkmajer@mf.uni-lj.si

Prispelo: 27.11.2016

Sprejeto: 7.12.2016

UVOD

Cerebralna paraliza je klinični sindrom oziroma skupek simptomov in znakov, predvsem motenj gibanja in drže, ki je posledica trajne okvare razvijajočih se možganov (1). Okvara možganov neposredno, simptomi in znaki, ki se lahko spreminjajo, pa posredno zavirajo razvoj otroka. Glavna neposredna vzroka za okvaro možganov sta hipoksija in ishemija možganov, do katerih pride zaradi prezgodnjega ali težkega poroda, možganskega infarkta ali možganske krvavitve. Drugi vzroki so okužbe, izpostavljenost strupom v času nosečnosti in mehanske poškodbe možganov (2). Glede na prevladujočo motnjo motorike lahko cerebralno paralizo razdelimo na spastično, ataktično in diskinetično (1). Najpogostejša je spastična oblika, ki se kaže tako s pozitivno simptomatiko, kot so zvišanje mišičnega tonusa in živahni kitni refleksi, kot tudi z negativno simptomatiko, kot sta mišična šibkost in izguba sposobnosti finega gibanja (3). Poleg motoričnih motenj so pogoste tudi okvare govora, vida in sluha, umska manjrazvitost in epilepsija (1, 4).

Okvara razvijajočih se možganov neposredno in posredno povzroči motnjo v delovanju skeletne mišice, ki se kaže z omejeno gibljivostjo sklepov. Patofiziološke spremembe, ki zmanjšajo gibljivost sklepov, so funkcijske in strukturne. V začetnem obdobju cerebralne paralize so spremembe v skeletni mišici pretežno funkcijske in reverzibilne; to se pokaže na primer med anestezijo, ko je dolžina sproščenih mišic, ki so brez vplivov anestezije že v pokrčenem stanju, lahko še povsem normalna (4). Pri spastični obliki cerebralne paralize so funkcijske spremembe odraz čezmerno vzdraženega refleksa na razteg in se kažejo kot spastičnost. Poleg funkcijskih sprememb, ki so neposredna posledica okvare osrednjega živčevja, se v spastičnih skeletnih mišicah postopno razvijejo sekundarne strukturne spremembe. Te se pokažejo predvsem kot zaostanek v rasti skeletnih mišic (3). Z napredovanjem strukturnih sprememb tudi popolnoma sproščena mišica nima več normalne dolžine (4); razvijejo se rigidne mišične skrajšave. Ker rast skeletnih mišic ne sledi sorazmerno vzdolžni rasti kosti, ostanejo mišice prekratke, kar postopno vedno bolj omejuje gibljivost sklepov (5).

FUNKCIJSKE SPREMEMBE V SKELETNI MIŠICI

Spastičnost je motorična motnja, za katero so značilni od hitrosti raztegnitve mišice odvisno zvišanje mišičnega tonusa in živahni kitni refleksi (6). Razvije se kot posledica čezmerne vzdražnosti refleksa na razteg zaradi okvare zgornjega motoričnega nevrona (7).

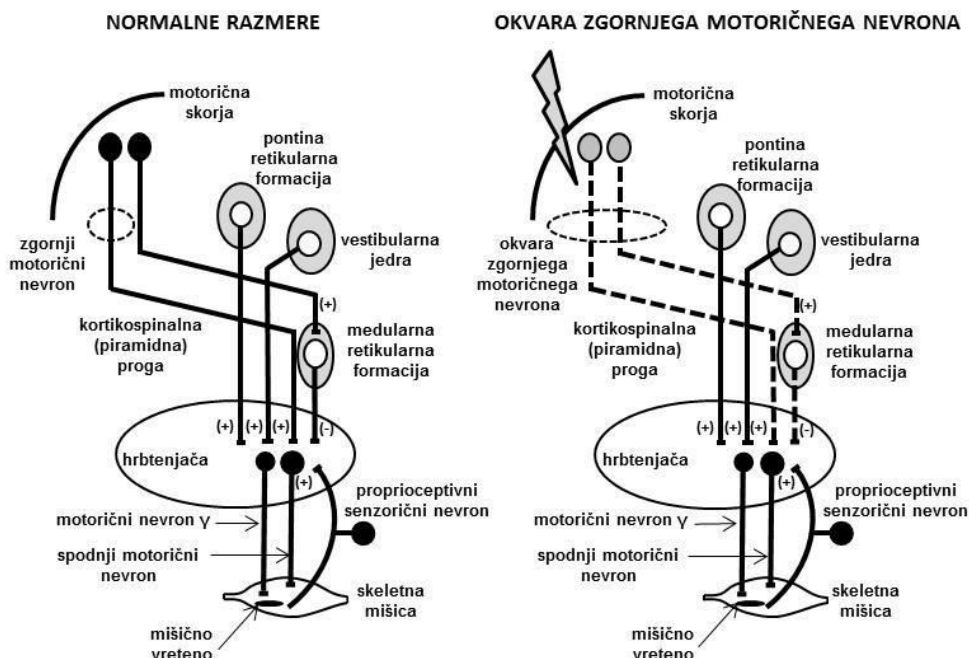
Refleks na razteg

V refleks na razteg so vključeni mišično vreteno, senzorični nevroni, ki oživčujejo mišična vretena, spodnji motorični nevron (motorični nevron α) in pripadajoča mišična vlakna (slika 1) (8). Raztegnitev mišice vzdraži mišično vreteno, iz katerega se signal prenese v hrbtenjačo po proprioceptivnih senzoričnih nevronih (9). V hrbtenjači ti nevroni tvorijo ekscitatorne sinapse s spodnjimi motoričnimi nevroni, ki oživčujejo mišico, ki se je raztegnila. Raztegnitev mišice zato privede do vzdraženja spodnjih motoričnih nevronov, ki s sproščanjem acetilholina v predelu živčno-mišičnega stika sprožijo depolarizacijo in nastanek akcijskega potenciala v postsinaptičnem mišičnem vlaknu (slika 2) (8). Akcijski potencial se nato iz predela živčno-mišičnega stika razširi vzdolž celotnega mišičnega vlakna in povzroči povečanje znotrajcelične koncentracije kalcija, kar sproži nastajanje mostičkov med miozinskimi in aktinskimi filamenty (gl. spodaj) ter s tem povečanje aktivne napetosti v mišičnem vlaknu. Za delovanje refleksa na razteg je pomemben tudi motorični nevron γ , ki oživčuje mišično vreteno in uravnava njegovo občutljivost (slika 1). Kadar se motorični nevron γ vzdraži, je mišično vreteno bolj napeto in zato bolj občutljivo na raztegnitev mišice.

Pri pasivnem gibanju sklepov zaznamo povečanje aktivne napetosti skeletne mišice kot upor proti raztegovanju mišice oziroma kot zvišan tonus mišice (10). Pri večji hitrosti raztegovanja se mišično vreteno bolj vzdraži, zato je zvišanje tonusa odvisno od hitrosti raztegovanja mišice. Podobno kot pri preizkušanju tonusa se pri preizkušanju kitnih refleksov ob udarcu kladivca na kito mišica hipoma nekoliko raztegne, kar prek vzdraženja mišičnega vretena in aktivacije refleksnega loka privede do depolarizacije mišičnih vlaken in povečanja njihove aktivne napetosti ter s tem do krčenja mišice. Refleks na

razteg je fiziološki obrambni mehanizem, ki preprečuje neustrezno ali pretirano raztezanje in s tem raztrganje mišice, in regulacijski mehanizem,

ki optimizira aktivno napetost mišice, s čimer prispeva k vzdrževanju za trenutno stanje primerne tonusa in k organizaciji gibanja.



Slika 1: Refleks na razteg in patofiziološki mehanizmi nastanka spastičnosti. V normalnih razmerah (leva slika) so ekscitatorni (+) in inhibitorni (-) prilivi prog iz možganske skorje in možganskega debla (npr. iz pontine in medularne retikularne formacije in vestibularnih jeder) na spodnji motorični nevron (motorični nevron α) in motorični nevron γ v ravnovesju ter vzdržujejo normalno vzdražnost refleksa na razteg. Zgornji motorični nevron, ki potuje od motorične skorje do hrbtenjače po kortikospinalni (piramidni) progi, tvori ekscitatorno sinapso s spodnjim motoričnim nevronom. Po okvari zgornjega motoričnega nevrona (desna slika) bi zato lahko pričakovali zmanjšano vzdražnost refleksa na razteg. Če so ob tem, neposredno zaradi poškodbe ali posredno zaradi spremljajoče reorganizacije živčevja, okvarjene tudi proge, ki zavirajo vzdražnost refleksa na razteg (npr. prek medularne retikularne formacije), se ravnovesje med ekscitacijo in inhibicijo poruši v korist ekscitacije spodnjega motoričnega nevrona in motoričnega nevrona γ . Refleks na razteg zato postane čezmerno vzdražen, kar se kaže z zvišanim mišičnim tonusom in živahnimi kitnimi refleksi. Prirejeno po: (7).

Spastičnost in omejena gibljivost sklepov pri cerebralni paralizi

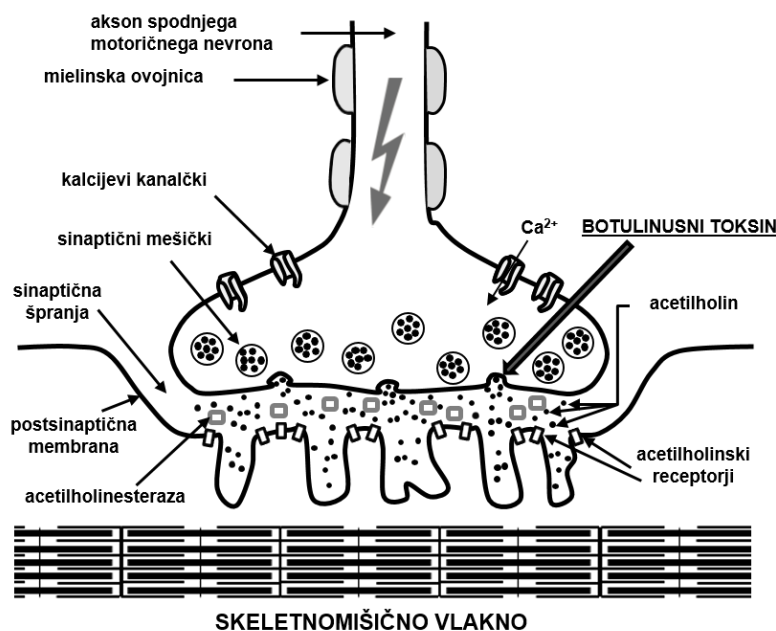
Pri okvarah zgornjega motoričnega nevrona je refleks na razteg čezmerno vzdražen, zato se skeletna mišica upira raztegovanju še bolj aktivno kot v normalnih razmerah (7). To se pri pregledu pokaže kot zvišan tonus in živahni kitni refleksi. Čeprav so patofiziološke spremembe v živčevju kompleksne (slika 1), si na podlagi živalskih poskusov večjo vzdražnost refleksa na razteg pri okvarah zgornjega motoričnega nevrona lahko vsaj delno pojasnimo z večjo aktivnostjo motoričnega nevrona γ (11). Če je ta nevron bolj aktiven, je

mišično vreteno tudi pri normalni raztegnitvi mišice bolj napeto, zaradi česar pošilja več akcijskih potencialov po aferentnih proprioceptivnih vlaknih, ki tvorijo ekscitatorne sinapse s spodnjimi motoričnimi nevroni. Posledično so tudi spodnji motorični nevroni bolj aktivni, kar zviša mišični tonus.

Patološko zvišan tonus spastične mišice prispeva tako k omejeni gibljivosti sklepov kot tudi k njihovemu nenormalnemu položaju. To je pomembno v začetnem obdobju cerebralne paralize, ko se strukturne spremembe v mišici šele

razvijajo. V tem obdobju ima namreč mišica ob popolni farmakološki relaksaciji, med katero aktivna napetost v mišičnih vlaknih povsem popusti, lahko še normalno dolžino (4). Gibljivost sklepov je torej na začetku omejena, ker se spastična mišica preveč aktivno upira raztegovanju. Nekateri avtorji v tem primeru govorijo o dinamičnih skrajšavah (4), s čimer želijo poudariti, da je patofiziološki mehanizem skrajšanja mišice predvsem povečana aktivna napetost mišice in ne povečana pasivna napetost, ki bi bila posledica strukturnih sprememb v mišici. Dinamične skrajšave po patofiziološki opredelitvi verjetno vsaj delno odgovarjajo skrajšavam, ki so klinično opredeljene kot elastične.

Ker je spastičnost posledica čezmerne refleksne aktivnosti, je spastično skrajšavo mogoče zmanjšati ali odpraviti s kirurško ali farmakološko prekinitvijo različnih delov refleksnega loka (3). Refleks na razteg namreč deluje le, če so ohranjene prav vse strukture, ki ga sestavljajo. Za zmanjšanje spastičnosti pri cerebralni paralizi se na primer uporablja kirurška prekinitve zadajšnjih korenin spinalnih živcev (dorzalna rizotomija) (12), prek katerih v hrbtenjačo vstopajo aferentna proprioceptivna vlakna (slika 1). S tem posegom se prepreči čezmeren priliv akcijskih potencialov iz mišičnih vreten in s tem aktivacija refleksa na razteg, kar zmanjša spastičnost in izboljša gibljivost sklepov. Farmakološko lahko spastičnost zmanjšamo z injiciranjem botulinusnega toksina v mišico (13, 14). Botulinusni toksin v predelu



Slika 2: Živčno-mišični stik in mesto delovanja botulinusnega toksina. Ko akcijski potencial po aksonu spodnjega motoričnega nevrona pripotuje do njegovega končiča, ki predstavlja presinaptični del živčno-mišičnega stika, se zaradi depolarizacije odprejo napetostni Ca^{2+} kanalčki. Ob odprtju teh kanalčkov Ca^{2+} ioni vdrejo v presinaptični končič, kar povzroči zlivanje sinaptičnih mešičkov, ki vsebujejo acetilholin, s presinaptično membrano. Po zlitju mešičkov z membrano se acetilholin sprosti v sinaptično špranjo in difundira do acetilholinskih receptorjev na postsinaptični membrani mišičnega vlakna. Vezava acetilholina na acetilholinske receptorje povzroči depolarizacijo mišičnega vlakna in nastanek akcijskega potenciala, ki se iz predela živčno-mišičnega stika razširi vzdolž celotne dolžine mišičnega vlakna in povzroči dvig koncentracije Ca^{2+} in krčenje mišičnega vlakna (ni prikazano). Živčno-mišični prenos se prekine, ko acetilholinesteraza razgradi sproščeni acetilholin in tako ustavi vzdraženje skeletnomišičnega vlakna. Botulinusni toksin vstopi v presinaptični končič spodnjega motoričnega nevrona, kjer prepreči zlivanje sinaptičnih mešičkov z membrano in s tem sproščanje acetilholina, kar prepreči vzdraženje in krčenje mišičnih vlaken.

živčno-mišičnega stika vstopi v presinaptični končič aksona spodnjega motoričnega nevrona in prepreči sproščanje acetilholina v sinaptično špranjo (slika 2). Ker je sproščanje acetilholina ključni dogodek, ki sproži krčenje mišičnih vlaken, je spodnji motorični nevron po injiciranju botulinusnega toksina kljub čezmerni vzdražnosti refleksa na razteg manj učinkovit pri proženju krčenja mišic, kar zmanjša spastičnost in vsaj prehodno izboljša gibljivost sklepov (13, 14). Slaba stran uporabe botulinusnega toksina je, da zaradi zaviranja živčno-mišičnega prenosa povzroča mišično šibkost in atrofijo mišičnih vlaken (15). Botulinusni toksin torej spremeni klinično sliko ohromelosti po tipu zgornjega motoričnega nevrona (mišična šibkost, zvišan tonus in živahni kitni refleksi) v ohromelost po tipu spodnjega motoričnega nevrona (mišična šibkost, znižan tonus in oslabei kitni refleksi) (3).

Ali je spastičnost vzrok nastanka rigidnih mišičnih skrajšav?

V začetnem obdobju spastične cerebralne paralize prevladujejo spastične skrajšave, pozneje pa se razvijejo rigidne mišične skrajšave skeletnih mišic (4). Te skrajšave niso posledica povečane aktivne napetosti mišičnih vlaken, temveč sprememb v strukturi in viskoelastičnih lastnostih skeletne mišice. Povezava med spastičnostjo in poznejšim nastankom ireverzibilnih strukturnih sprememb v skeletni mišici je nejasna.

Klasična hipoteza o nastanku skrajšav je, da čezmerno aktiven refleks na razteg vzdržuje skeletnomišična vlakna v pokrčenem stanju, kar preprečuje, da bi mišična vlakna rastla enako hitro kot kost. Iz te predpostavke izhaja, da je spastičnost neposreden vzrok za nastanek strukturnih sprememb in ireverzibilnih mišičnih skrajšav. Če je spastičnost res osrednji patofiziološki mehanizem, bi s kirurškimi in/ali farmakološkimi pristopi za zmanjšanje spastičnosti lahko preprečili nastanek skrajšav. Tega klinične raziskave za zdaj ne podpirajo (4,16). Prvič, kirurška prekinitev zadajšnjih korenin, ki uspešno zmanjša spastično zvišan mišični tonus, dolgoročno ne prepreči nastanka mišičnih skrajšav (12). Drugič, zmanjšanje spastičnosti z uporabo botulinusnega toksina (slika 2) upočasni, vendar ne prepreči nastanka skrajšav (13). Čeprav prispevka spastičnosti k nastanku skrajšav ne moremo

povsem izključiti, pa ti podatki vendarle kažejo, da povečana vzdražnost refleksa na razteg sama po sebi ni ključna za razvoj skrajšav pri cerebralni paralizi.

STRUKTURNE SPREMEMBE V SKELETNI MIŠICI

Mišične skrajšave pri cerebralni paralizi so posledica strukturnih sprememb v skeletnomišičnih vlaknih in vezivnem tkivu, ki jih obdaja. Natančnejši patofiziološki mehanizmi, prek katerih okvara osrednjega živčevja pri cerebralni paralizi povzroči nastanek strukturnih sprememb v skeletni mišici, za zdaj niso znani.

Spremembe na ravni mišičnih vlaken

Mišična vlakna so krajša, tanjša in imajo manj sarkomer

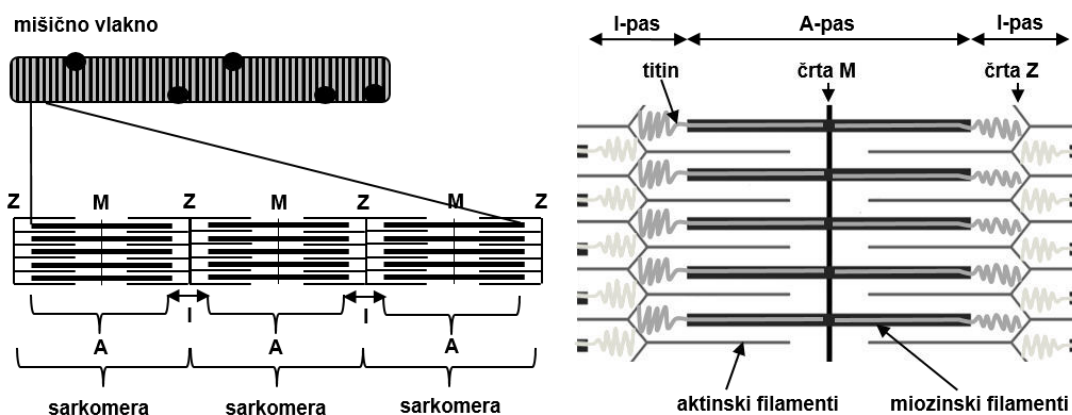
Pri cerebralni paralizi so mišična vlakna krajša, tanjša in imajo manj sarkomer (sliki 3 in 4) (4, 20). Skrajšanje in stanjšanje mišičnih vlaken lahko delno pojasni nastanek skrajšav in mišične šibkosti. Osrednja strukturna sprememba v mišičnih vlaknih je zmanjšano število sarkomer v miofibrilah (slika 3 in razpredelnica 1). Kljub zmanjšanemu številu sarkomer pa lahko mišična vlakna včasih dosežejo normalno dolžino, če se sarkomere raztegnejo (slika 4). Raztegnitev sarkomer pojasnjuje, zakaj ultrazvočni pregled mišic pri preiskovancih s cerebralno paralizo ni vedno pokazal krajših mišičnih snopov, čeprav sta bila volumen in obseg mišic zmanjšana (20, 27–29). Z ultrazvokom namreč ni mogoče določiti ultrastrukturnih značilnosti mišičnega vlakna, kot sta na primer dolžina in struktura posameznih sarkomer. Bolj podrobne strukturne raziskave pa so nedvoumno pokazale, da imajo mišična vlakna pri cerebralni paralizi manjše število (daljših) sarkomer (4, 17–19).

Funkcijske posledice podaljšanja sarkomer

Za mišična vlakna pri cerebralni paralizi je poleg zmanjšane števila sarkomer značilno tudi njihovo podaljšanje (razpredelnica 1), kar ima dve pomembni posledici za delovanje mišice. Prva posledica je povečanje pasivne napetosti v mišičnih vlaknih, ki je odvisna od dolžine sarkomere (slika 4). Nastanek pasivne napetosti v mišičnem vlaknu ni posledica aktivacije spodnjega motoričnega nevrona, ki povzroči depolarizacijo

Razpredelnica 1: Strukturne spremembe v skeletni mišici pri cerebralni paralizi

Mesto spremembe	Značilnost	Mehanizem nastanka spremembe	Pomen za nastanek skrajšav	Posledice	Vir
Mišična vlakna	Skrajšanje mišičnih vlaken	Zmanjšano število sarkomer.	+++	Podaljšanje sarkomer poveča pasivno napetost mišice. Mišica je krajša in bolj toga, kar zmanjša gibljivost sklepa. Podaljšanje sarkomer zmanjša največjo aktivno napetost mišice, kar prispeva k mišični šibkosti.	(4, 17–20)
	Intrinzično povečanje togosti mišičnih vlaken	Spremembe v molekularni zgradbi mišičnega vlakna, mehanizem nejasen.	Morda v nekaterih mišicah	Povečanje togosti skeletne mišice	(4, 19, 21, 22)
Vezivno tkivo	Hipertrofija vezivnega tkiva	Ponavljajoče se poškodbe mišice. Izločanje miostatina, ki je inhibitor miogeneze in aktivator proliferacije fibroblastov. Zmanjšano število satelitskih celic.	+++	Hipertrofija veziva in njegova spremenjena sestava povečata togost mišice.	(4, 19, 23)
Satelitske celice	Število satelitskih celic je zmanjšano.	Mehanizem nejasen. Fibroza ovira delovanje satelitskih celic. Morda se satelitske celice preusmerijo v nastajanje fibroblastov.	Verjetno pomembno, potrebne so nadaljnje raziskave.	Motena rast skeletne mišice pri otroku. Slabša regeneracija skeletne mišice. Spremembe v sestavi vezivnega tkiva.	(4, 24–26)

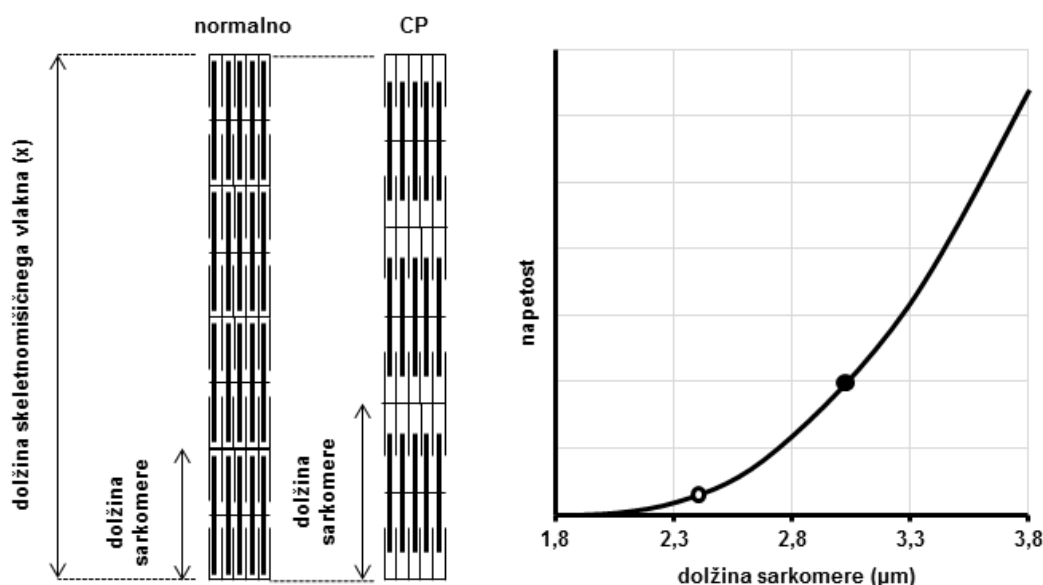


Slika 3: Shematski prikaz mišičnega vlakna in sarkomer. Mišično vlakno je prečnoprogasta večjedrna celica, v kateri so miofibrile. Videz prečne progavosti ji daje visoko urejena struktura miofibril, ki so sestavljene iz niza sarkomer. Sarkomera je osnovna funkcijska enota skeletnomišičnega vlakna. Sestavljena je iz osrednjega temnega anizotropnega (A) pasu, v katerem so pretežno miozinski (debeli) filamenti, ter svetlejših izotropnih (I) pasov, v katerih so pretežno aktinski (tanki) filamenti (30, 31). Ob aktinskih filamentih sta tudi troponin in tropomiozin, ki sodelujeta pri uravnavanju interakcije med aktinskimi in miozinskimi filamenti. Titin se razteza od črte Z (vezavno mesto aktinskih filamentov) do črte M (vezavno mesto miozinskih filamentov). Titin je nekakšna molekularna vzmet, ki omejuje razpon raztezanja sarkomere in v veliki meri določa pasivne viskoelastične lastnosti mišice (32).

mišičnega vlakna, povečanje znotrajcelične koncentracije kalcija in krčenje mišičnega vlakna zaradi nastajanja mostičkov med miozinskimi in aktinskimi filamenti, kot je to značilno za spastičnost, temveč je odraz viskoelastičnih lastnosti mišičnega tkiva in drugih struktur v mišici, kot so vezivno tkivo in žile. Eden glavnih določevalcev viskoelastičnih lastnosti mišičnih vlaken je titin (32), velik sarkomerni protein, ki se razteza od črte Z do črte M (slika 3).

Pasivna napetost, s katero se mišica upira raztegovanju, se z dolžino sarkomere postopno povečuje. Ker so sarkomere pri cerebralni paralizi

daljše, je pasivna napetost teh mišic večja kot v mišicah z normalno dolžino sarkomer (4). Povedano drugače, ker imajo manj sarkomer, lahko mišična vlakna pri cerebralni paralizi dosežejo enako dolžino kot normalna vlakna le, če so sarkomere bolj raztegnjene. Pri cerebralni paralizi so zato mišice pri vsaki dolžini mišičnega vlakna bolj toge kot zdrave mišice. K večji togosti mišic lahko poleg zmanjšane števila sarkomer prispevata tudi večja intrinzična togost mišičnih vlaken in predvsem spremembe v vezivnem tkivu, ki jih opisujemo v nadaljevanju (razpredelnica 1) (4, 20).

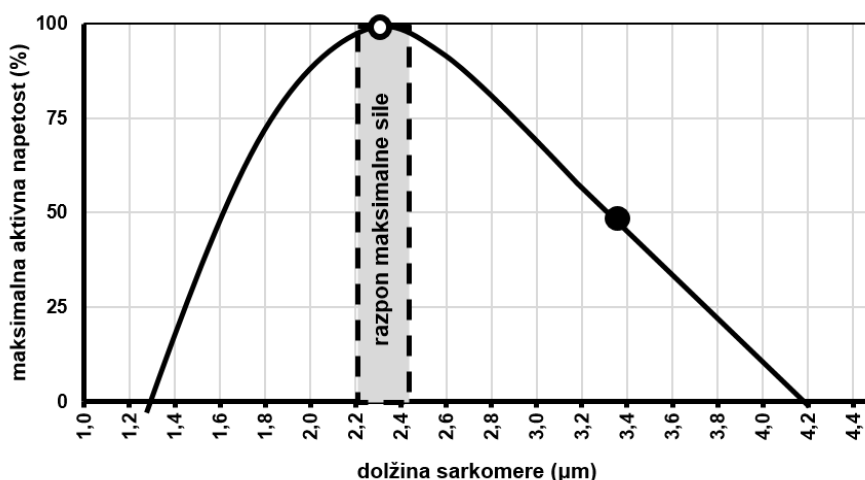


Slika 4: Zaradi podaljšanja sarkomer imajo mišice pri cerebralni paralizi večjo pasivno napetost. Da lahko mišično vlakno z zmanjšanim številom sarkomer doseže dolžino x , se morajo sarkomere bolj raztegniti kot v normalnem mišičnem vlaknu (levo). Pasivna napetost, s katero se mišica upira raztegovanju, je odvisna od dolžine sarkomere (desno). Zaradi daljših sarkomer je pasivna napetost mišice pri cerebralni paralizi (●) večja kot v normalnih razmerah (○). Prikazana je teoretična krivulja pasivne napetosti. Podatki o dolžini sarkomer so iz: (19).

Druga posledica zmanjšane števila sarkomer in njihovega podaljšanja je, da mišična vlakna težje dosežejo največjo možno aktivno napetost (4). V primerjavi s pasivno napetostjo, ki je odraz viskoelastičnih lastnosti tkiva, je aktivna napetost mišičnih vlaken posledica nastajanja mostičkov med miozinskimi in aktinskimi filamenti. Aktivno napetost, ki jo mišično vlakno doseže, določa število prečnih mostičkov, ki so nastali med miozinskimi in aktinskimi filamenti v sarkomerah.

To število je po eni strani odvisno od koncentracije kalcija v citoplazmi mišičnega vlakna, po drugi strani pa od dolžine sarkomere (slika 5). Največja napetost, ki jo lahko razvije mišično vlakno, z dolžino sarkomere sprva narašča, nato pa začne padati (33). Ko je dolžina sarkomere večja od optimalne, je namreč prekrivanje aktinskih in miozinskih filamentov slabše, kar zmanjša možnost za tvorbo prečnih mostičkov. V tem primeru mišično vlakno ne more doseči normalne

aktivne napetosti. Daljše sarkomere, ki so značilne za cerebralno paralizo, zato lahko prispevajo k nastanku mišične šibkosti (4).



Slika 5: Odvisnost maksimalne aktivne napetosti mišice od dolžine sarkomere. V normalnih razmerah (○) se dolžina sarkomere spreminja v tistem območju krivulje, v katerem lahko razvije največjo mogočo aktivno napetost. Pri cerebralni paralizi pa so sarkomere bistveno daljše in delujejo v descendentnem delu krivulje (●). Ob dodatni raztegnitvi sarkomere se zato največja aktivna napetost, ki jo lahko razvije mišično vlakno, le še dodatno zmanjša. Prirejeno po: (20, 33).

Intrinzična togost mišičnih vlaken

V nekaterih mišicah, kot so na primer fleksorji zapestja in mečne mišice, se verjetno poveča tudi intrinzična togost mišičnih vlaken in sicer na račun sprememb v njihovi molekularni strukturi (4, 17, 22). Povečana intrinzična togost pomeni, da imajo mišična vlakna večjo pasivno napetost tudi, kadar sarkomere niso raztegnjene. Mišična vlakna, ki se bolj upirajo pasivnemu raztezanju že pri normalni dolžini sarkomer, bi teoretično lahko prispevala k mišični togosti in nastanku skrajšav. Skoraj gotovo pa povečanje intrinzične togosti mišičnih vlaken ni glavni vzrok za njihov nastanek. Glavni dokaz, da povečanje intrinzične togosti mišičnih vlaken ni nujen pogoj za nastanek skrajšav pri cerebralni paralizi, so spremembe v fleksorjih kolena. V teh mišicah ni nobenih sprememb v intrinzični togosti posameznih mišičnih vlaken, skrajšave pa se kljub temu lahko razvijejo (19).

Patofiziološki mehanizem domnevnega povečanja intrinzične togosti mišičnih vlaken ni znan. V preteklosti je bila ena glavnih hipotez, da se pri cerebralni paralizi spremeni izražanje titina (slika 3), ki sicer pomembno določa viskoelastične lastnosti miofibril. Titin obstaja v več oblikah, ki imajo različne mehanske lastnosti (32).

Spremembe v njegovem izražanju bi zato lahko povečale togost mišičnih vlaken pri cerebralni paralizi, vendar zaenkrat ni trdnih dokazov, ki bi podpirali to hipotezo (4, 19, 22).

Spremembe v lastnostih in strukturi vezivnega tkiva

Za cerebralno paralizo je značilna hipertrofija vezivnega tkiva, kar poveča togost mišic in tako zmanjša gibljivost sklepov (razpredelnica 1) (4, 19, 20). Na funkcijski pomen sprememb v vezivu kažejo raziskave, ki so preučevale togost posameznih mišičnih vlaken v primerjavi s snopi mišičnih vlaken (slika 6). Posamezna vlakna fleksorjev kolena pri cerebralni paralizi niso bolj toga, snopi mišičnih vlaken, ki vključujejo tudi vezivno tkivo, pa so izrazito bolj togi kot v normalnih razmerah (19).

Vezivno tkivo v skeletni mišici, tako kot v drugih organih, sestavljajo fibroblasti in medceličnina (zunajcelični matriks), ki jo gradijo proteinska vlakna, kot je kolagen, in osnovna snov, ki jo gradijo proteoglikani, glukozaminoglikani in glikoproteini, kot je na primer laminin (34). Vsako mišično vlakno ima bazalno lamino, bogato s kolagenom, heparan sulfatnimi proteoglikani in

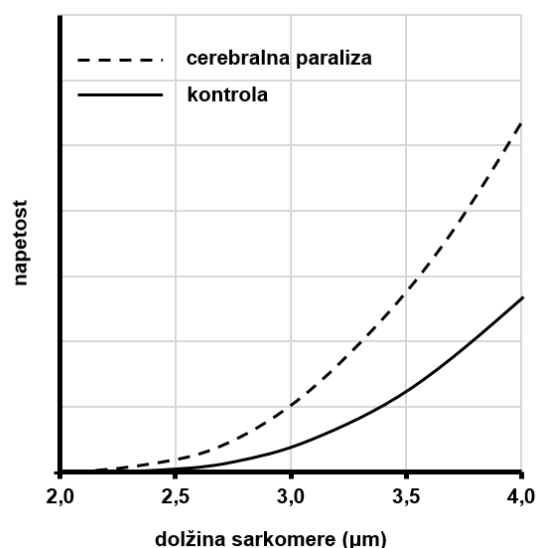
lamininom (35). Bazalna lamina je del endomizija, vezivne ovojnice, ki obdaja vsako posamezno mišično vlakno. Snope mišičnih vlaken obdaja perimizij, celotno mišico pa epimizij (34). Vezivne ovojnice so pomembne za prenos sil, pa tudi za prehrano in oživčenje, ker po njih potujejo žile, mezigovnice in živci. Te ovojnice so večinoma sestavljene iz različnih tipov kolagena, ki jih izločajo fibroblasti. V zdravih skeletnih mišicah predstavljajo fibroblasti, ki tvorijo zunajcelični matriks, od 5 do 15 % jeder v tkivu (36, 37). Pri cerebralni paralizi je glavna sprememba v vezivnem tkivu povečanje količine kolagena (4). Poleg kvantitativnih sprememb v izražanju kolagena, bi k spremenjenim lastnostim veziva lahko prispevala tudi spremenjena strukturna organizacija kolagenskih vlaken. Ni pa izključeno, da so pomembne tudi spremembe v drugih proteinih, ki sestavljajo medceličnico.

Eden izmed dejavnikov, ki bi pri cerebralni paralizi lahko povzročil hipertrofijo vezivnega tkiva, je miostatin. Miostatin je peptid, ki se izloča iz mišičnih vlaken, in zavira miogenezo in hipertrofijo mišičnih vlaken (38–40). Njegovo izločanje se zmanjša pri telesni dejavnosti, kar vsaj delno prispeva k hipertrofiji mišičnih vlaken (41, 42). Miostatin ne uravnava le mišične mase, temveč je tudi aktivator proliferacije mišičnih fibroblastov in sproščanja proteinov zunajceličnega matriksa (43–45). Kronične poškodbe mišičnih vlaken, do katerih pride zaradi prevelikih napetosti v nenormalno dolgih sarkomerah (46), bi zato prek zmanjšane mišične aktivnosti lahko povzročile povečano sproščanje miostatina in zato razraščanje kolagena.

Zmanjšano število satelitskih celic

Satelitske celice so mišične matične celice, ki so pod bazalno lamino zrelih skeletnomišičnih vlaken (47). Pomembne so, ker prispevajo k normalni rasti skeletnih mišic po rojstvu in omogočajo regeneracijo skeletnih mišic po poškodbi. Poleg tega so pomembne za hipertrofijo mišice ob povečani obremenitvi (48, 49).

Kot kažejo najnovejši podatki je pri cerebralni paralizi število satelitskih celic v skeletni mišici zelo zmanjšano (razpredelnica 1). V dveh raziskavah so na primer pokazali, da se število

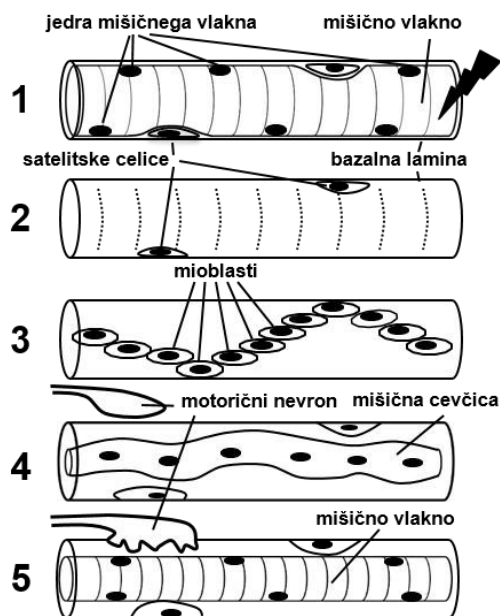


Slika 6: Pasivna napetost snopov mišičnih vlaken v odvisnosti od dolžine sarkomer. Pri cerebralni paralizi so snopi mišičnih vlaken bolj togi, kar se kaže z večjo pasivno napetostjo pri enaki dolžini sarkomer. Glavni vzrok za povečanje pasivne napetosti so po vsej verjetnosti spremembe v sestavi vezivnega tkiva, ki obdaja tako posamezna mišična vlakna, kot tudi snope mišičnih vlaken. Prirejeno po: (19).

satelitskih celic v mišicah zmanjša za 60 do 70 % (24, 25). Za zdaj vzroki za zmanjšano število satelitskih celic niso povsem jasni, vendar bi motnje v njihovem delovanju lahko pojasnile nekatere patofiziološke spremembe v skeletni mišici pri cerebralni paralizi.

Ker so satelitske celice pomembne za rast mišic po rojstvu, bi motnje v njihovem delovanju na primer lahko razložile, zakaj so pri otrocih s cerebralno paralizo mišična vlakna krajša in tanjša. Ena izmed osrednjih hipotez je, da bi zmanjšano število satelitskih celic lahko onemogočalo dodajanje sarkomer k rastočim miofibrilam (25, 49). Dodatna posledica zmanjšane števila satelitskih celic bi lahko bilo razraščanje vezivnega tkiva v skeletni mišici. Mogoče je tudi obratno: spremembe v vezivnem tkivu bi lahko prispevale k zmanjšanju števila satelitskih celic. Diferenciacija matičnih celic je namreč občutljiva na elastičnost zunajceličnega matriksa (54), zato bi spremembe v zunajceličnem matriksu lahko zavirale aktivacijo in proliferacijo satelitskih celic ali jih celo preusmerile v fibroblastno razvojno pot (19).

Preusmeritev satelitskih celic v nastanek fibroblastov ponuja hipotetično razlago, zakaj je populacija satelitskih celic pri cerebralni paralizi zmanjšana.



Slika 7: Regeneracija skeletne mišice. Za uspešno regeneracijo mišice so najpomembnejše satelitske celice (50). Te so kot primarne mišične matične celice sposobne samoobnavljanja in diferenciacije (51–53). Ob mehanski, toksični ali hipoksični poškodbi mišice mišična vlakna propadejo (1), številne satelitske celice pa preživijo. Po stresnem dogodku v poškodovano mišico vdrejo makrofagi in fagocitirajo odmrla mišična vlakna, cevke bazalnih lamin pa so ogrodje za obnovo mišičnih vlaken (2). V ustreznih razmerah se mirujoče satelitske celice aktivirajo in spremenijo v mioblaste, ki po intenzivnem deljenju ponovno napolnijo cevke ohranjenih bazalnih lamin (3). Mioblaste se nato zlijejo (fuzirajo) v večjedrne mišične cevčice (4), ki dozoriš v mišična vlakna (4), če jih ponovno oživčijo končiči spodnjih motoričnih nevronov (5).

Za zdaj so vse to bolj ali manj nepreverjene hipoteze. Povsem nova raziskava pri miših na primer kaže, da je zmanjšanje števila satelitskih celic v skeletni mišici, ki je raztegnjena, povezano s hipertrofijo vezivnega tkiva in stanjšanjem mišičnih vlaken, ne pa tudi z okrnjenim dodajanjem sarkomer k obstoječim miofibrilam (26). Ta rezultat postavlja pod vprašaj dosedanje

hipotezo, da je pri cerebralni paralizi prav zmanjšano število satelitskih celic krivo za manjše število sarkomer v mišičnih vlaknih. Ali ima zmanjšanje števila satelitskih celic enake posledice tudi pri človeku, bo treba seveda še preveriti. Čeprav pomen satelitskih celic za nastanek patofizioloških sprememb v skeletni mišici torej ni trdno dokazan, lahko povzamemo, da bi po do zdaj dostopnih podatkih motnja v delovanju satelitskih celic lahko pomembno prispevala k nastanku vsaj dveh patofizioloških sprememb v skeletni mišici pri cerebralni paralizi: k stanjšanju mišičnih vlaken in k razraščanju veziva.

ZAKLJUČKI

Pri cerebralni paralizi je gibljivost sklepov omejena kot posledica funkcijskih in strukturnih sprememb refleksa na razteg in mišice. Glavna funkcijska sprememba je spastičnost, ki omejuje gibljivost sklepov zlasti v začetnem obdobju razvoja cerebralne paralize. Pozneje prevladajo strukturne spremembe, ki povzročijo nastanek rigidnih mišičnih skrajšav. Strukturne spremembe se izrazijo tako na ravni mišičnih vlaken kot na ravni vezivnega tkiva. Za mišična vlakna je značilno, da so krajša in imajo manj sarkomer, kar neposredno prispeva k nastanku mišičnih skrajšav in mišične šibkosti. K skrajšavam pa pomembno prispevajo tudi spremembe v sestavi vezivnega tkiva, ki zaradi hipertrofije veziva povečajo togost mišice. Mehanizmi, ki povezujejo okvaro osrednjega živčevja in strukturne spremembe v skeletni mišici, niso jasni. Zanimivo, izsledki zadnjih raziskav kažejo, da je pri cerebralni paralizi število satelitskih celic v mišičnih vlaknih zelo znižano. Če bodo nadaljnje raziskave potrdile, da so satelitske celice pomembne za nastanek teh sprememb, bi to lahko vodilo k izboljšanju razumevanja temeljnih patofizioloških mehanizmov in k novim oblikam zdravljenja cerebralne paralize.

ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujejo prof. dr. Zoranu Grubiču, prof. dr. Fajku Bajroviču in dr. Vidu Zgoncu za natančen pregled in nasvete pri pisanju prispevka. Delo Laboratorija za molekularno nevrobiologijo finančno podpira ARRS z raziskovalnim programom P3-0043 in projektoma J3-6794 in J7-7138.

LITERATURA

- Rosenbaum P, Paneth N, Leviton A, Goldstein M, Bax M, Damiano D, Dan B in Jacobsson B (2007). A report: the definition and classification of cerebral palsy April 2006. *Dev Med Child Neurol Suppl* 109, 8–14.
- Reddihough DS in Collins KJ (2003). The epidemiology and causes of cerebral palsy. *Aust J Physiother* 49, 7–12.
- Kerr Graham H in Selber P (2003). Musculoskeletal aspects of cerebral palsy. *J Bone Joint Surg Br* 85, 157–66.
- Graham HK, Rosenbaum P, Paneth N, Dan B, Lin JP, Damiano DL, Becher JG, Gaebler-Spira D, Colver A, Reddihough DS, Crompton KE in Lieber RL (2016). Cerebral palsy. *Nat Rev Dis Primers* 2, 15082.
- Nordmark E, Hagglund G, Lauge-Pedersen H, Wagner P in Westbom L (2009). Development of lower limb range of motion from early childhood to adolescence in cerebral palsy: a population-based study. *BMC Med* 7, 65.
- Lance JW. Pathophysiology of spasticity and clinical experience with Baclofen. In Lance JW, Feldman RG, Young RR and Koella WP, editors. *Spasticity: Disordered motorcontrol*. Chicago: Year Book; 1980, 185–204.
- Li S in Francisco GE (2015). New insights into the pathophysiology of post-stroke spasticity. *Front Hum Neurosci* 9, 192.
- Shemmell J, Krutky MA in Perreault EJ (2010). Stretch sensitive reflexes as an adaptive mechanism for maintaining limb stability. *Clin Neurophysiol* 121, 1680–9.
- Hunt CC (1990). Mammalian muscle spindle: peripheral mechanisms. *Physiol Rev* 70, 643–63.
- Hammond PH (1955). Involuntary activity in biceps following the sudden application of velocity to the abducted forearm. *J Physiol* 127, 23–5P.
- Gracies JM (2005). Pathophysiology of spastic paresis. II: Emergence of muscle overactivity. *Muscle Nerve* 31, 552–71.
- Tedroff K, Lowing K, Jacobson DN in Astrom E (2011). Does loss of spasticity matter? A 10-year follow-up after selective dorsal rhizotomy in cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 53, 724–9.
- Tedroff K, Lowing K, Haglund-Akerlind Y, Gutierrez-Farewik E in Forssberg H (2010). Botulinum toxin A treatment in toddlers with cerebral palsy. *Acta Paediatr* 99, 1156–62.
- Corry IS, Cosgrove AP, Walsh EG, McClean D in Graham HK (1997). Botulinum toxin A in the hemiplegic upper limb: a double-blind trial. *Dev Med Child Neurol* 39, 185–93.
- Fortuna R, Vaz MA, Youssef AR, Longino D in Herzog W (2011). Changes in contractile properties of muscles receiving repeat injections of botulinum toxin (Botox). *J Biomech* 44, 39–44.
- de Bruin M, Smeulders MJ in Kreulen M (2013). Why is joint range of motion limited in patients with cerebral palsy? *J Hand Surg Eur Vol* 38, 8–13.
- Lieber RL in Friden J (2002). Spasticity causes a fundamental rearrangement of muscle-joint interaction. *Muscle Nerve* 25, 265–70.
- Ponten E, Gantelius S in Lieber RL (2007). Intraoperative muscle measurements reveal a relationship between contracture formation and muscle remodeling. *Muscle Nerve* 36, 47–54.
- Smith LR, Lee KS, Ward SR, Chambers HG in Lieber RL (2011). Hamstring contractures in children with spastic cerebral palsy result from a stiffer extracellular matrix and increased in vivo sarcomere length. *J Physiol* 589, 2625–39.
- Mathewson MA in Lieber RL (2015). Pathophysiology of muscle contractures in cerebral palsy. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 26, 57–67.
- Friden J in Lieber RL (2003). Spastic muscle cells are shorter and stiffer than normal cells. *Muscle Nerve* 27, 157–64.
- Mathewson MA, Chambers HG, Girard PJ, Tenenhaus M, Schwartz AK in Lieber RL (2014). Stiff muscle fibers in calf muscles of patients with cerebral palsy lead to high passive muscle stiffness. *J Orthop Res* 32, 1667–74.
- Booth CM, Cortina-Borja MJ in Theologis TN (2001). Collagen accumulation in muscles of children with cerebral palsy and correlation with severity of spasticity. *Dev Med Child Neurol* 43, 314–20.
- Smith LR, Chambers HG in Lieber RL (2013). Reduced satellite cell population may lead to contractures in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 55, 264–70.
- Dayanidhi S, Dykstra PB, Lyubasyuk V, McKay BR, Chambers HG in Lieber RL (2015). Reduced satellite cell number in situ in muscular contractures from children with cerebral palsy. *J Orthop Res* 33, 1039–45.
- Kinney MC, Dayanidhi S, Dykstra PB, McCarthy JJ, Peterson CA in Lieber RL (2016). Reduced skeletal muscle satellite cell number alters muscle morphology after chronic stretch but allows limited serial sarcomere addition. *Muscle Nerve*.
- Legerlotz K, Smith HK in Hing WA (2010). Variation and reliability of ultrasonographic quantification of the architecture of the medial gastrocnemius muscle in young children. *Clin Physiol Funct Imaging* 30, 198–205.
- Shortland AP, Harris CA, Gough M in Robinson RO (2002). Architecture of the medial gastrocnemius in children with spastic diplegia. *Dev Med Child Neurol* 44, 158–63.

29. Malaiya R, McNee AE, Fry NR, Eve LC, Gough M in Shortland AP (2007). The morphology of the medial gastrocnemius in typically developing children and children with spastic hemiplegic cerebral palsy. *J Electromyogr Kinesiol* 17, 657–63.
30. Hanson J in Huxley HE (1953). Structural basis of the cross-striations in muscle. *Nature* 172, 530–2.
31. Huxley HE (1953). Electron microscope studies of the organisation of the filaments in striated muscle. *Biochim Biophys Acta* 12, 387–94.
32. Wang K, McCarter R, Wright J, Beverly J in Ramirez-Mitchell R (1991). Regulation of skeletal muscle stiffness and elasticity by titin isoforms: a test of the segmental extension model of resting tension. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88, 7101–5.
33. Gordon AM, Huxley AF in Julian FJ (1966). The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *J Physiol* 184, 170–92.
34. Engel A in Franzini-Armstrong C (2004). *Myology: basic and clinical*, 3rd ed., McGraw-Hill, Medical Pub. Division, New York.
35. Sanes JR (2003). The basement membrane/basal lamina of skeletal muscle. *J Biol Chem* 278, 12601–4.
36. Venable JH (1966). Constant cell populations in normal, testosterone-deprived and testosterone-stimulated levator ani muscles. *Am J Anat* 119, 263–70.
37. Enesco M in Puddy D (1964). Increase in the Number of Nuclei and Weight in Skeletal Muscle of Rats of Various Ages. *Am J Anat* 114, 235–44.
38. Joulia D, Bernardi H, Garandel V, Rabenoelina F, Vernus B in Cabello G (2003). Mechanisms involved in the inhibition of myoblast proliferation and differentiation by myostatin. *Exp Cell Res* 286, 263–75.
39. Thomas M, Langley B, Berry C, Sharma M, Kirk S, Bass J in Kambadur R (2000). Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. *J Biol Chem* 275, 40235–43.
40. McPherron AC, Lawler AM in Lee SJ (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 387, 83–90.
41. Roth SM, Martel GF, Ferrell RE, Metter EJ, Hurley BF in Rogers MA (2003). Myostatin gene expression is reduced in humans with heavy-resistance strength training: a brief communication. *Exp Biol Med (Maywood)* 228, 706–9.
42. Pedersen BK in Febbraio MA (2012). Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* 8, 457–65.
43. Li ZB, Kollias HD in Wagner KR (2008). Myostatin directly regulates skeletal muscle fibrosis. *J Biol Chem* 283, 19371–8.
44. McCroskery S, Thomas M, Platt L, Hennebry A, Nishimura T, McLeay L, Sharma M in Kambadur R (2005). Improved muscle healing through enhanced regeneration and reduced fibrosis in myostatin-null mice. *J Cell Sci* 118, 3531–41.
45. Serrano AL in Munoz-Canoves P (2010). Regulation and dysregulation of fibrosis in skeletal muscle. *Exp Cell Res* 316, 3050–8.
46. Patel TJ, Das R, Friden J, Lutz GJ in Lieber RL (2004). Sarcomere strain and heterogeneity correlate with injury to frog skeletal muscle fiber bundles. *J App Physiol* 97, 1803–13.
47. Mauro A (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 9, 493–5.
48. Yin H, Price F in Rudnicki MA (2013). Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev* 93, 23–67.
49. Dayanidhi S in Lieber RL (2014). Skeletal muscle satellite cells: mediators of muscle growth during development and implications for developmental disorders. *Muscle Nerve* 50, 723–32.
50. Lepper C, Partridge TA in Fan CM (2011). An absolute requirement for Pax7-positive satellite cells in acute injury-induced skeletal muscle regeneration. *Development* 138, 3639–46.
51. Collins CA, Olsen I, Zammit PS, Heslop L, Petrie A, Partridge TA in Morgan JE (2005). Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell* 122, 289–301.
52. Halevy O, Piestun Y, Allouh MZ, Rosser BW, Rinkevich Y, Reshef R, Rozenboim I, Wleklinski-Lee M in Yablonka-Reuveni Z (2004). Pattern of Pax7 expression during myogenesis in the posthatch chicken establishes a model for satellite cell differentiation and renewal. *Dev Dyn* 231, 489–502.
53. Zammit PS, Golding JP, Nagata Y, Hudon V, Partridge TA in Beauchamp JR (2004). Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal? *J Cell Biol* 166, 347–57.
54. Engler AJ, Sen S, Sweeney HL in Discher DE (2006). Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell* 126, 677–89.