

УДК 616.74-007.17-091

<https://doi.org/10.23888/HMJ202193481-491>

## Морфологические и лабораторно-генетические исследования мышечных дистрофий

Т. М. Черданцева, О. В. Баковецкая, А. А. Никифоров, М. С. Некрасова✉

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Рязань, Российская Федерация

*Автор, ответственный за переписку:* Марина Сергеевна Некрасова, [marinanekrasova555@gmail.com](mailto:marinanekrasova555@gmail.com)

### АННОТАЦИЯ

Мышечные дистрофии являются одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. В электронной библиотечной системе e-Library по теме «Мышечные дистрофии» опубликовано 13 263 работ, за последние 5 лет — 4221, а в PubMed по запросу «Muscular dystrophy» найдено более 37 тыс. публикаций, за последние 5 лет насчитывается около 6 851. Интерес к данной проблеме понятен, так как распространенность прогрессирующих мышечных дистрофий составляет 200 случаев на 1 000 000 населения, что позволяет относить их к наиболее часто встречающимся формам наследственной патологии. В статье представлен обзор информации по морфологической и лабораторно-генетической диагностике наиболее часто встречаемых форм мышечных дистрофий.

**Заключение.** Обзор литературы показал, что, несмотря на преобладание на сегодняшний день молекулярно-генетических методов исследования, морфологическая и иммуногистохимическая оценка пораженных мышц не потеряла свою актуальность. Это объясняется тем, что не всегда представляется возможным провести генетический анализ у пациента из-за технической сложности методики, дорогостоящего оборудования, множества генетических мутаций. Поэтому при некоторых формах мышечных дистрофий (например, при дисферлинопатии) морфологический и иммуногистохимический анализ биоптатов выходит на первый план. Тем не менее, данный метод не стоит рассматривать как наиболее точный, вследствие схожести морфологической картины различных видов мышечных дистрофий. Следовательно, постановка правильного диагноза всегда требует системного подхода, включающего комплексное обследование пациента с использованием максимально доступных методов исследования. Это необходимо для генетического консультирования пациентов, определения возможностей терапии и включения пациентов в клинические испытания.

**Ключевые слова:** мышечная дистрофия, биопсия мышц, морфологическая диагностика, иммуногистохимия, генетический анализ

### Для цитирования:

Черданцева Т. М., Баковецкая О. В., Никифоров А. А., Некрасова М. С. Морфологические и лабораторно-генетические исследования мышечных дистрофий // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2021. Т. 9, № 3. С. 481–491. <https://doi.org/10.23888/HMJ202193481-491>.

<https://doi.org/10.23888/HMJ202193481-491>

## Morphological and laboratory genetic studies of muscular dystrophies

Tat'yana M. Cherdantseva, Ol'ga V. Bakovetskaya, Aleksandr A. Nikiforov,  
Marina S. Nekrasova✉

---

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

---

*Corresponding author:* Marina S. Nekrasova, [marinanekrasova555@gmail.com](mailto:marinanekrasova555@gmail.com)

### ABSTRACT

Muscular dystrophies are one of the most pressing problems of modern medicine. In the electronic library system e-Library on the topic “Muscular Dystrophies” 13,263 papers have been published, over the past 5 years — 4,221, and in PubMed, at the request of “Muscular Dystrophy”, more than 37 thousand publications have been found, over the past 5 years there are about 6,851. The interest in this problem is understandable, since the prevalence of progressive muscular dystrophies is 200 cases per 1 000,000 population, which permits to classify them as the most common forms of hereditary pathology. The article provides an overview of information on morphological and laboratory genetic.

**CONCLUSION:** The literature review showed that despite predomination of molecular-genetic methods of examinations nowadays, morphological and immunohistological evaluation of the damaged muscles did not lose its actuality. This is because it is not always possible to perform genetic analysis in the patient due to technical complexity of the procedure, use of costly equipment, many genetic mutations. Therefore, in some forms of muscular dystrophies (for example, in dysferlinopathies) of primary importance is morphological and immunohistological analysis of biopsy material. Nevertheless, this method should not be considered as most precise due to similarity of the morphology of different kinds of muscular dystrophies. Thus, correct diagnosis always requires systemic approach including comprehensive examination of the patient with use of maximally available methods. This is necessary for genetic consultations of patient, determination of peculiarities of therapy and for inclusion of patients in clinical trials.

**Keywords:** *muscular dystrophies, muscle biopsy, morphological diagnosis, immunohistochemistry, genetic analysis*

### For citation:

Cherdantseva T. M., Bakovetskaya O. V., Nikiforov A. A., Nekrasova M. S. Morphological and laboratory genetic studies of muscular dystrophies. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2021;9(3):481–491. <https://doi.org/10.23888/HMJ202193481-491>.

Мышечные дистрофии (МД) являются гетерогенной группой наследственных мышечных расстройств, вызванных мутациями в ряде генов. Эти генетические мутации вызывают либо дисфункцию, либо дефицит белков, необходимых для стабильности мышечных волокон, что приводит к прогрессирующему разрушению и слабости мышц [1].

Данная группа заболеваний характеризуется прогрессирующим течением, нарушающим с раннего возраста качество жизни и приводящим к тяжелой инвалидности. Все это делает актуальным изучение различных методов диагностики и лечения данных расстройств.

Встречаемость мышечных дистрофий по данным литературы составляет 200 случаев на 1 000 000 населения [2], что позволяет отнести их к самым встречающимся формам наследственной патологии. При этом лидирующую позицию в структуре заболеваемости занимает мышечная дистрофия Дюшенна 1:3500 до 1:6300 живорождённых мальчиков [3].

Большое разнообразие различных видов миодистрофий и сходство их клинических проявлений вызывает трудности при установлении точного диагноза у пациентов.

**Цель** — провести обзор научных публикаций, связанных с морфологическими и лабораторно-генетическими исследованиями наиболее часто встречаемых форм мышечных дистрофий.

Анализ литературы показал, что в настоящее время выявлено более 50 различных типов мышечных дистрофий [4]. По типу наследования они подразделяются на аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные и X-сцепленные. В зависимости от возраста начала заболевания они делятся на врожденные и развивающиеся после рождения (детские, юношеские и взрослые).

Ряд авторов считает, что мутированный белок в мышечном волокне может иметь разную локализацию [5]: в базальной мембране и сарколемме (интегрины  $\alpha 7$ ,  $-\alpha 9$ ), экстрацеллюлярном матриксе (коллаген VI типа, мерозин и др.), эндоплазматической сети (селенопротеин N1),

ядерной оболочке (ламина А/С, эмерин и др.), сарколемме (дистрофин, дисферлин и др.) что тоже является критерием для классификации мышечных дистрофий.

В нашей работе мы решили заострить внимание на наиболее часто встречающихся мышечных дистрофиях и системных подходах к их диагностике.

Современный системный подход к диагностике включает в себя комплексную оценку клинической картины, данных лабораторных (биохимического анализа крови) и инструментальных (ЭМГ, УЗИ, МРТ) методов исследования, генетического тестирования, а также морфологическое и гистохимическое исследование мышц. Классическим звеном малоинвазивной диагностики остаются изменения в биохимических показателях крови. Ряд авторов (Jackson M.J., и др. (1987), Rosalki S.B. (1989), Brüss M., и др. (2004), Zhu Y., и др. (2015), Aasen T., и др. (2016) [6–8] отмечали в биохимическом анализе крови при мышечных дистрофиях высокий уровень внутриклеточных ферментов — креатинфосфокиназы (КФК) и сывороточных трансаминаз (АЛТ, АСТ). Так, Сибли и др. еще в 1949 году измерили уровень АЛТ и АСТ в сыворотке крови при мышечной дистрофии и установили, что повышение уровня данных ферментов связано с их поступлением в кровь из поврежденных мышечных клеток [9]. Но не стоит забывать, что не все случаи МД демонстрируют высокий уровень КФК, например, при врожденной мышечной дистрофии Ульриха регистрируются нормальные значения этого фермента.

Применяемый для диагностики метод игольчатой электронейромиографии (ЭМГ) позволяет выявить миопатический уровень поражения при мышечных дистрофиях. Во многих работах установлена взаимосвязь между параметрами ЭМГ и строением мышечного волокна. Итак, в работах Shields R.W. Jr.; Bertorini T., и др. [10, 11] показано снижение средней длительности и амплитуды потенциала двигательной единицы (ПДЕ), что связано с уменьшением числа мышечных волокон, а увеличение фазности потенциалов на ранних стадиях, объясняет-

ся вариабельностью диаметра мышечного волокна и атрофией. Польские же исследователи отметили появление отдельных ПДЕ увеличенной амплитуды у пациентов с мышечной дистрофией, что было обусловлено гипертрофированными и атрофированными мышечными волокнами, а также повышенной их плотностью [12].

К визуализирующим методам диагностики мышечных дистрофий относится ультразвуковое исследование мышц. Данная методика позволяет оценить структуру мышцы визуально или полуколичественно с помощью шкалы Хекматта [13]. В работах следующих авторов (Aizawa H., Kozima S., и др. (1989), Craig M. Zaidman, и др. (2010)[14], Jansen M., Alfen N., и др. [15]) у пациентов с МД были отмечены изменения размеров мышц и значительное увеличение их эхогенности, что было обусловлено дистрофическими и атрофическими процессами в них.

Более информативным не инвазивным методом исследования является магниторезонансная томография мышц (МРТ). Она позволяет выявить симметричность или асимметричность поражения, выраженность морфологических изменений в различных группах мышц, наличие мышечного отека, замену мышц жировой тканью и помогает отобрать участки мышц для биопсии [16]. Для различных видов мышечных дистрофий характерен определенный паттерн мышечного поражения. Например, Tascia G., Iannaccone E., и др. [17] в своем исследовании оценили МРТ мышц таза и нижних конечностей у 46 пациентов с мышечной дистрофией Беккера. Ими было обнаружено, что мышцы таза и бедра были более поражены, при относительном сохранении *gracilis*, *sartorius* и *biceps femoris short head*. А при болезни Ульриха вообще отмечаются специфические изменения МРТ в виде множественных полосатых аномалий сигнала («тигровый паттерн») [18].

Несмотря на разнообразие не инвазивных методов диагностики, биопсия мышц является одним из основных способов, позволяющим более точно определить патологический процесс в мышцах,

причину заболевания и дифференцировать разные виды мышечных дистрофий. Местом для биопсии преимущественно служит латеральное брюшко четырехглавой мышцы бедра, двуглавая и дельтовидная мышцы. Полученные биоптаты замораживают и транспортируют в лабораторию, где их окрашивают различным видам гистологических окрасок (чаще гематоксилином и эозином). Покрашенные срезы подвергаются морфометрическому анализу, где в качестве контроля используется аутопсийный материал [19].

При разных видах мышечных дистрофий в биоптате мышечной ткани определяются общие признаки, такие как вариабельность размера и формы мышечного волокна. Атрофированные волокна часто округлой формы. Гипертрофированные волокна, по мере их увеличения, могут разделиться на два волокна и называются расщепленными волокнами. Увеличивается пролиферация соединительной ткани в эндо- и перимизии. В конечных фазах заболевания мышечные волокна заменяются жировой тканью. Все эти изменения в различных проявлениях встречаются при кальпаинопатии (Peric S., и др. [20]), дисферлинопатии (Park H.J., и др. [21]), болезни Ульриха (Bönnemann C.G. [22]) и других.

Однако, некоторые особенности специфичны для каждого типа мышечной дистрофии. Например, дольчатые волокна характерны для LGMD 2A [23]; высокая вариабельность размера волокон специфична для LGMD 1C, а увеличенные внутренние ядра для миотонической дистрофии [24]. К тому же, при некоторых миодистрофиях определяется клеточная инфильтрация, отличить которую возможно с помощью АТ к различным воспалительным клеткам (CD3, CD4, CD20, CD68), что отмечено авторами при конечностно-поясной мышечной дистрофии типа 2A, где клеточный инфильтрат состоял из лимфоцитов и эозинофилов (Peric S., Stevanovic J., и др., 2019), а при дисферлинопатии из скоплений макрофагов [25].

Расширить информативность мышечной биопсии позволили методы иммуногистохимии. Открытие гена дистро-

фина в 1986 г., ответственного за мышечные дистрофии Дюшенна и Беккера, и последующая идентификация белка дистрофина привели к тому, что в конце 20 века стали выявляться различные гены и белки, приводящие к ряду мышечных заболеваний. С этого момента стало возможным различать ранее неопределенные мышечные дистрофии, например, типы конечностно-поясных мышечных дистрофий, классифицировать аллельные заболевания, такие как мышечная дистрофия Беккера, и т.д. В настоящий момент разработано множество специфических флуоресцентных антител к мышечным белкам, таким как дистрофин, саркогликаны, миозин, актин, дисферлин, мерозин, коллагены, кальпаин, кавеолин, главного комплекса гистосовместимости-I и некоторых других. Окрашивание ими мышечных срезов позволяет получить информацию о локализации флуоресцентно-меченого белка, уровню его экспрессии (нормальный, повышенный или пониженный), вторичном его уменьшении, а также в целом о целостности мышечных комплексов [26]. Хотя и этот метод не всегда помогает в диагностике всех форм МД. Например, при кальпаинопатии некоторые доступные антитела не имеют иммунореакций на срезах.

Дополнением к иммуногистохимическому окрашиванию мышечного биоптата является метод вестерн-блоттинга (ВБ), который обладает более высокой чувствительностью и специфичностью. Начиная с 1999 года, использовалась мультиплексная система вестерн-блоттинга, в которой большинство существующих белков мышечной дистрофии анализировались одновременно на одной паре блотов [27]. Этим методом можно обнаружить не только наличие или отсутствие белка, но и определить его количество. Мышечный белок выявляют из образцов клеточного лизата или тканевых гомогенатов с использованием специфических антител [26]. Результат представляется в виде сравнения интенсивности и толщины окрашенной полосы конкретного белка с контролем. В настоящее время происходит оптимизация этого метода,

что показано в исследованиях ученых из Нидерландов [28], что имеет большое значение не только для диагностики, но и для сравнения образцов в клинических исследованиях до и после лечения.

В настоящее время молекулярно-генетические методы исследования вышли на первый план, так как позволяют определить конкретный генетический дефект, что необходимо для точной диагностики, выбора метода лечения и определения прогноза мышечных дистрофий. Различные формы дистрофий вызваны множеством типов мутаций в виде делеций, дупликаций и точечных мутаций в различных генах (LAMA2, DMD, CAPN3, DYSF и т.д.). Во многих исследованиях наиболее часто встречающимися молекулярными методами является мультиплексная амплификация зонда, зависящая от лигирования (MLPA), определяющая делеции и дубликации генов, а также секвенирование по Сэнгеру, выявляющая точечные мутации и небольшие вставки [26]. В работах исследователей из Сингапура [29], Китая [30] было отмечено, что при дистрофинопатиях наиболее частыми мутациями являются делеции одного или нескольких экзонов, а потом уже дубликации и точечные мутации. В последние годы широко используется методика секвенирования следующего поколения (NGS), позволяющая одновременно проанализировать известные гены, например, в Турции ученые проанализировали у пациентов с конечностно-поясной мышечной дистрофией одновременно 31 ген [31]. Вместе с тем, эта технология весьма дорога и доступна не во всех лабораториях.

Как мы отметили выше, современный научный тренд основан на системном походе к диагностике миодистрофий. Рассмотрим наиболее часто встречающиеся формы и современные методы их диагностики.

*Болезнь Ульриха* — это мышечная дистрофия, связанная с дефицитом коллагена VI типа, который кодируется генами COL6A1, COL6A2, COL6A3. Коллаген VI типа широко распространен в экстрацеллюлярном матриксе и образует микрофибриллярную сеть, которая закрепляет

крупные интерстициальные структуры, и через которые он способен взаимодействовать с другими компонентами экстрацеллюлярного матрикса и рецепторами клеточной мембраны. Присутствуя практически во всех соединительных тканях, он обеспечивает структурную связь между различными компонентами базальных мембран (например, коллагенами I и IV типов, бигликаном и декораном) и клетками, поддерживает адгезию, распространение и миграцию клеток, а также их выживание [32]. Заболевание может быть как с аутосомно-рецессивным типом наследования, так и с аутосомно-доминантным. Обращает внимание частое отсутствие повышения уровня КФК в крови, в сравнении с другими видами мышечных дистрофий. МРТ мышц выявляет типичный паттерн мышечного поражения, что было продемонстрировано Mercuri E., Lampe A., Allsop J., и др. на 19 обследованных пациентах с генетически подтвержденными нарушениями, связанными с коллагеном VI. У пациентов выявлялась диффузная концентрическая гиподенсность мышц бедра с относительным сохранением портняжной мышцы, тонкой и длинной приводящей мышцы [33]. Кроме того, описывались специфические изменения в виде множественных полосатых аномалий сигнала [18]. Гистологическая картина мышечного биоптата при болезни Ульриха отличается крайней вариабельностью. Так, исследователями из США были проанализированы биопсии от пациентов с молекулярно подтвержденной болезнью Ульриха. Ранние гистологические признаки были представлены в виде наличия атрофичных мышечных волокон, преобладания волокон I типа и диспропорционального соотношения разных типов волокон [34]. Более выраженная миопатическая картина с выраженной атрофией, разнокалиберностью волокон была описана в работах Bönnemann CG [22]. При иммуногистохимическом окрашивании биоптата мышцы моноклональными антителами против коллагена VI типа в рецессивных случаях болезни Ульриха окрашивание либо отсутствует, либо силь-

но уменьшено, что связано со снижением его концентрации в базальной мембране мышечного волокна. В аутосомно-доминантных случаях, коллаген VI будет выявляться, но с нарушенной функцией. Следовательно, чтобы посмотреть его локализацию по отношению к базальной мембране волокон нужно провести одновременное окрашивание на ламинин- $\gamma 1$ . При нормальной биопсии коллаген VI (красный) перекрывается с базальной мембраной (зеленый), в результате чего образуется желтый цвет. При биопсии пациента в матриксе присутствует значительное количество иммунореактивности коллагена VI, однако локализация с базальной мембраной теряется, в результате чего базальная мембрана приобретает зеленый цвет [22]. Подтвердить диагноз помогает определение мутаций в генах с помощью молекулярно-генетических методов. Но многообразие мутаций, большой размер генов делает этот этап дорогостоящим и трудоемким.

Еще одной из врожденных мышечных дистрофий является *дистрогликанопатия*. Ее возникновение связано с нарушением гликозилирования  $\alpha$ -дистрогликана, который расположен как в базальной мембране, так и сарколемме мышечных волокон. На сегодняшний день известно 19 генов, ответственных за развитие этого состояния [35]. Основным типом наследования мутаций является аутосомно-рецессивный. Специфические изменения в сравнении с другими видами миодистрофий в биохимическом анализе крови, МРТ мышц не выявляются. При стандартной окраске в мышечном срезе регистрируются разные по выраженности дистрофические изменения мышечных волокон (разные размеры волокон с преобладанием мелких, наличие атрофии или гипертрофии волокон, некроз, пери- и эндомиоциальный фиброз). Эти изменения были описаны Brun B.N., Willer T., и др. в 2018 г. при описании клинического случая пациентки с дистрогликанопатией [36], а также в работах Bönnemann C.G., и др. [37]. Иммуногистохимическое исследование биоптатов при окрашивании антителами к гликозилиро-

ванному  $\alpha$ -дистрогликану выявляет снижение его концентрации, а при тяжелых случаях еще и вторичное снижение мерозина и ламина. Выявление мутаций одного из 19 генов является основным способом установления точного диагноза.

Самой распространенной формой аутосомно-рецессивных конечностно-поясных мышечных дистрофий является *кальпаинопатия*. Заболевание связано с мутацией гена *CAPN3*, кодирующего кальпаин-3. Этот белок присутствует в структуре саркомеров, играет роль в регенерации мышц, репарации сарколеммы, мышечной сборке и ремоделировании, а также регуляции цитоскелета и кальциевого гомеостаза [38]. Многими авторами отмечаются при МРТ сильное поражение мышц плечевого пояса (двуглавых мышц плеча), заднебоковых мышц бедра и промежуточной широкой мышцы, с относительным сохранением латеральной широкой, портняжной и тонкой мышцы бедра [33]. Материал для биопсии чаще всего получают из двуглавой мышцы плеча, четырехглавой мышцы бедра. При окраске гематоксилином и эозином кроме неспецифического дистрофического процесса выявляются и специфические признаки такие, как преобладание разволокненных мышечных волокон, гипертрофия волокон I типа наряду с атрофией волокон II типа, наличие зон изолированного некроза в начале заболевания [39]. К тому же, Renjini R., и др. (2012), Peric S., Stevanovic J., и др. (2019) отмечали у пациентов воспалительные инфильтраты в интерстиции и периваскулярной области, включающие лимфоциты и эозинофилы [35]. Иммуногистохимические методы выявляют снижение уровня кальпаина-3, однако это не является высокочувствительным признаком, так как, например, при дисферлинопатии тоже может регистрироваться снижение этого белка [39]. Выявление мутаций в гене *CAPN3* по-прежнему является методом, позволяющим достоверно поставить диагноз. Но из-за большого количества зарегистрированных мутаций (более 350), возникают трудности в их идентификации. Поэтому поиск мутаций в

гене необходимо начинать с наиболее распространенных вариантов, характерных для данной территории.

В литературе много внимания уделено *дисферлинопатии*, вызванной мутацией в гене *DYSF*, кодирующем белок дисферлин. Данный белок локализуется на плазмолемме и мембране эндоплазматической сети. Известно, что он участвует в физиологической репарации сарколеммы с другими белками (кальпаином-3, тубулином, кавеолином-3 и т.д.), необходим для клеточной адгезии [40]. Основной тип наследования — аутосомно-рецессивный. МРТ позволяет выявить дистрофию в мышцах тазового пояса (ягодичные мышцы, широкая фасция, полусухожильная, полуперепончатая, двуглавая мышца бедра, трехглавая мышца голени). Мышечная биопсия является ключевым исследованием для постановки диагноза. Биоптат берут из икроножных мышц, в случае их умеренного поражения, либо из четырехглавой мышцы бедра или дельтовидной мышцы. Анализируя работы корейских и индийских ученых [21, 25], можно выделить основные патогистологические признаки при дисферлинопатии такие, как дистрофия с множеством некрозов мышечных волокон при отсутствии очерченных вакуолей, наличие волокон с центральными ядрами, эндомиозиальный фиброз. Не редко регистрируются воспалительные инфильтраты, состоящие в основном из скоплений макрофагов вокруг сосудов и в эндомиозии. Иммунофлуоресцентное окрашивание моноклональными антителами к дисферлину в срезах почти всегда выявляет полное отсутствие дисферлина, что вдобавок подтверждает иммуноблоттинг. Для данной формы мышечной дистрофии генетический анализ не всегда позволяет выявить мутации в гене *DYSF*, т.к. его оценка сложна из-за большого размера гена (150 тысяч пар нуклеотидов), включающего 55 экзонов [41].

### Заключение

Мышечные дистрофии являются одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. Обзор литературы

показал, что, несмотря на преобладание на сегодняшний день молекулярно-генетических методов исследования, морфологическая и иммуногистохимическая оценка пораженных мышц не потеряла свою актуальность. Это объясняется тем, что не всегда представляется возможным провести генетический анализ у пациента из-за технической сложности методики, дорогостоящего оборудования, множества генетических мутаций. Поэтому при некоторых формах мышечных дистрофий (например, при дисферлинопатии) морфологический и иммуногистохимический анализ биоптатов выходит на первый

план. Тем не менее, данный метод не стоит рассматривать как наиболее точный, вследствие схожести морфологической картины различных видов мышечных дистрофий. Следовательно, постановка правильного диагноза всегда требует системного подхода, включающего комплексное обследование пациента с использованием максимально доступных методов исследования. Это необходимо для генетического консультирования пациентов, определения возможностей терапии и включения пациентов в клинические испытания.

### Список источников

- Mercuri E., Muntoni F. Muscular dystrophies // *The Lancet*. 2013. Vol. 381, № 9869. P. 845–860. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61897-2
- Евтушенко С.К., Шаймурзин М.Р., Евтушенко О.С. Нейромышечные заболевания у детей: проблемы ранней диагностики и современной медицинской и социальной реабилитации (научный обзор и собственное наблюдение) // *Международный неврологический журнал*. 2013. № 5 (59). С. 13–31.
- Гайнетдинова Д.Д., Новоселова А.А. Современные возможности диагностики и лечения мышечной дистрофии Дюшенна // *Казанский медицинский журнал*. 2020. Т. 101, № 4. С. 530–537. doi: 10.17816/KMJ2020-530
- Koutsoulidou A., Phylactou L.A. Circulating Biomarkers in Muscular Dystrophies: Disease and Therapy Monitoring // *Molecular Therapy. Methods & Clinical Development*. 2020. Vol. 18. P. 230–239. doi: 10.1016/j.omtm.2020.05.017
- Rivier F., Meyer P., Walther-Louvie U., и др. Врожденные мышечные дистрофии: классификация и диагностика // *Нервно-мышечные болезни*. 2014. № 1. С. 6–20. doi: 10.17650/2222-8721-2014-0-1-6-14
- Zhu Y., Zhang H., Sun Y., et al. Serum Enzyme Profiles Differentiate Five Types of Muscular Dystrophy // *Disease Markers*. 2015. Vol. 2015. P. 543282. doi: 10.1155/2015/543282
- Brüss M., Homann J., Molderings G.J. Dysferlinopathie als extrahepatische Ursache von Transaminasenerhöhungen // *Medizinische Klinik*. 2004. Vol. 99, № 6. P. 326–329. doi: 10.1007/s00063-004-1046-1
- Aasen T., Achdjian H., Usta Y., et al. Dysferlin-Deficient Muscular Dystrophy Identified Through Laboratory Testing for Elevated Aminotransferases // *ACG Case Reports Journal*. 2016. Vol. 3, № 2. P. 127–129. doi: 10.14309/crj.2016.22
- Kohli R., Harris D.C., Whittington P.F. Relative elevations of serum alanine and aspartate aminotransferase in muscular dystrophy // *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2005. Vol. 41, № 1. P. 121–124. doi: 10.1097/01.wno.0000161657.98895.97
- Shields R.W. Jr. Single fiber electromyography in the differential diagnosis of myopathic limb girdle syndromes and chronic spinal muscular atrophy // *Muscle & Nerve*. 1984. Vol. 7, № 4. P. 265–272. doi: 10.1002/mus.880070402
- Bertorini T.E., Stalberg E., Yuson C.P., et al. Single-fiber electromyography in neuromuscular disorders: correlation of muscle histochemistry, single-fiber electromyography, and clinical findings // *Muscle & Nerve*. 1994. Vol. 17, № 3. P. 345–353. doi: 10.1002/mus.880170314
- Rowińska-Marcińska K., Szmids-Salkowska E., Fidziańska A., et al. Atypical motor unit potentials in Emery–Dreifuss muscular dystrophy (EDMD) // *Clinical Neurophysiology*. 2005. Vol. 116, № 11. P. 2520–2527. doi: 10.1016/j.clinph.2005.01.017
- Wijntjes J., van Alfen N. Muscle ultrasound: Present state and future opportunities // *Muscle & Nerve*. 2021. Vol. 63, № 4. P. 455–466. doi: 10.1002/mus.27081
- Zaidman C.M., Connolly A.M., Malkus E.C., et al. Quantitative ultrasound using backscatter analysis in Duchenne and Becker muscular dystrophy // *Neuromuscular Disorders*. 2010. Vol. 20, № 12. P. 805–809. doi: 10.1016/j.nmd.2010.06.019
- Jansen M., van Alfen N., Nijhuis van der Sanden M.W.G., et al. Quantitative muscle ultrasound is a promising longitudinal follow-up tool in Duchenne muscular dystrophy // *Neuromuscular Disorders*. 2012. Vol. 22, № 4. P. 306–317. doi: 10.1016/j.nmd.2011.10.020
- Urban D., Mohamed M., Ludolph A.C., et al. The value of qualitative muscle MRI in the diagnostic procedures of myopathies: a biopsy-controlled study in 191 patients // *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2021. Vol. 14. P. 1756286420985256. doi: 10.1177/1756286420985256
- Tasca G., Iannaccone E., Monforte M., et al. Muscle MRI in Becker muscular dystrophy // *Neuromuscular Disorders*. 2012. Vol. 22, Suppl. 2. P. S100–S106. doi: 10.1016/j.nmd.2012.05.015
- Quijano-Roy S., Avila-Smirnow D., Carlier R.Y., et al. Whole body muscle MRI protocol: pattern recognition in early onset NM disorders // *Neuromuscular Disorders*. 2012. Vol. 22, Suppl. 2. P. S68–S84. doi: 10.1016/j.nmd.2012.08.003
- Joyce N.C., Oskarsson B., Jin L.W. Muscle biopsy evaluation in neuromuscular disorders // *Physical Medicine*

- and Rehabilitation Clinics of North America. 2012. Vol. 23, № 3. P. 609–631. doi: 10.1016/j.pmr.2012.06.006
20. Peric S., Stevanovic J., Johnson K., et al. Phenotypic and genetic spectrum of patients with limb-girdle muscular dystrophy type 2A from Serbia // *Acta Myologica*. 2019. Vol. 38, № 3. P. 163–171.
  21. Park H.J., Hong J.-M., Suh G.I., et al. Heterogeneous characteristics of Korean patients with dysferlinopathy // *Journal of Korean Medical Science*. 2012. Vol. 27, № 4. P. 423–429. doi: 10.3346/jkms.2012.27.4.423
  22. Bönnemann C.G. The collagen VI-related myopathies Ullrich congenital muscular dystrophy and Bethlem myopathy // *Handbook of Clinical Neurology*. 2011. Vol. 101. P. 81–96. doi: 10.1016/B978-0-08-045031-5.00005-0
  23. Pathak P., Sharma M.C., Sarkar C., et al. Limb girdle muscular dystrophy type 2A in India: a study based on semi-quantitative protein analysis, with clinical and histopathological correlation // *Neurology India*. 2010. Vol. 58, № 4. P. 549–554. doi: 10.4103/0028-3886.68675
  24. Сычева А.М., Назаров В.Д., Лапин С.В., и др. Оптимизация преаналитического этапа обработки материала для проведения гистохимического исследования биоптатов скелетной мышцы в диагностике нервно-мышечных заболеваний // *Нервно-мышечные болезни*. 2019. Т. 9, № 2. С. 21–29. doi: 10.17650/2222-8721-2019-9-2-21-29
  25. Gayathri N., Alefia R., Nalini A., et al. Dysferlinopathy: spectrum of pathological changes in skeletal muscle tissue // *Indian Journal of Pathology & Microbiology*. 2011. Vol. 54, № 2. P. 350–354. doi: 10.4103/0377-4929.81636
  26. Gaina G., Ionica E., Manole E., et al. Clinical and Molecular Diagnosis in Muscular Dystrophies. In: Sakuma K., editor. *Muscular Dystrophies*. IntechOpen; 2019. doi: 10.5772/intechopen.85339
  27. Anderson L.V., Davison K. Multiplex Western blotting system for the analysis of muscular dystrophy proteins // *The American Journal of Pathology*. 1999. Vol. 154, № 4. P. 1017–1022. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65354-0
  28. Beekman C., Janson A.A., Baghat A., et al. Use of capillary Western immunoassay (Wes) for quantification of dystrophin levels in skeletal muscle of healthy controls and individuals with Becker and Duchenne muscular dystrophy // *PLoS One*. 2018. Vol. 13, № 4. P. e0195850. doi: 10.1371/journal.pone.0195850
  29. Tomar S., Moorthy V., Sethi R., et al. Mutational spectrum of dystrophinopathies in Singapore: Insights for genetic diagnosis and precision therapy // *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*. 2019. Vol. 181, № 2. P. 230–244. doi: 10.1002/ajmg.c.31704
  30. Niu H.-H., Tao D.-Y., Cheng S.-Q. [A predictive analysis of the association between clinical phenotypes and genotypes in children with Becker muscular dystrophy/Duchenne muscular dystrophy] // *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. 2020. Vol. 22, № 6. P. 602–607. doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.1912133
  31. Özyilmaz B., Kirbiyik Ö., Özdemir T.R., et al. Impact of next-generation sequencing panels in the evaluation of limb-girdle muscular dystrophies // *Annals of Human Genetics*. 2019. Vol. 83, № 5. P. 331–347. doi: 10.1111/ahg.12319
  32. Allamand V., Briñas L., Richard P., et al. ColVI myopathies: where do we stand, where do we go? // *Skeletal Muscle*. 2011. Vol. 1. P. 30. doi: 10.1186/2044-5040-1-30
  33. Mercuri E., Bushby K., Ricci E., et al. Muscle MRI findings in patients with limb girdle muscular dystrophy with calpain 3 deficiency (LGMD2A) and early contractures // *Neuromuscular Disorders*. 2005. Vol. 15, № 2. P. 164–171. doi: 10.1016/j.nmd.2004.10.008
  34. Schessel J., Goemans N.M., Magold A.I., et al. Predominant fiber atrophy and fiber type disproportion in early ullrich disease // *Muscle & Nerve*. 2008. Vol. 38, № 3. P. 1184–1191. doi: 10.1002/mus.21088
  35. Fu X.-N., Xiong H. Genetic and Clinical Advances of Congenital Muscular Dystrophy // *Chinese Medical Journal*. 2017. Vol. 130, № 21. P. 2624–2631. doi: 10.4103/0366-6999.217091
  36. Brun B.N., Willer T., Darbro B.W., et al. Uniparental disomy unveils a novel recessive mutation in POMT2 // *Neuromuscular Disorders*. 2018. Vol. 28, № 7. P. 592–596. doi: 10.1016/j.nmd.2018.04.003
  37. Bönnemann C.G., Wang C.H., Quijano-Roy S., et al. Diagnostic approach to the congenital muscular dystrophies // *Neuromuscular Disorders*. 2014. Vol. 24, № 4. P. 289–311. doi: 10.1016/j.nmd.2013.12.011
  38. Zhang C., Zheng X., Lu D., et al. Compound heterozygous CAPN3 variants identified in a family with limb-girdle muscular dystrophy recessive 1 // *Molecular Medicine Reports*. 2021. Vol. 23, № 6. P. 480. doi: 10.3892/mmr.2021.12119
  39. Гришина Д.А., Супонева Н.А., Шведков В.В., и др. Наследственная прогрессирующая конечностно-поясная мышечная дистрофия 2А типа (кальпаинопатия): обзор литературы // *Нервно-мышечные болезни*. 2015. Т. 5, № 1. С. 25–36. doi: 10.17650/2222-8721-2015-1-25-36
  40. Angelini C. LGMD. Identification, description and classification // *Acta Myologica*. 2020. Vol. 39, № 4. P. 207–217. doi: 10.36185/2532-1900-024
  41. Старостина И.Г., Соловьева В.В., Юрьева К.С., и др. Дисферлинопатии: возможности диагностики, моделирования и гено-клеточной терапии // *Гены & клетки*. 2013. Т. 8, № 3. С. 61–71.

## References

1. Mercuri E, Muntoni F. Muscular dystrophies. *The Lancet*. 2013;381(9869):845–60. doi: 10.1016/s0140-6736(12)61897-2
2. Yevtushenko SK, Shaymurzin MR, Yevtushenko OS. Neuromuscular diseases in children: the problem of early diagnosis and current medical and social rehabilitation (literature review and our own observations). *International Neurological Journal*. 2013;(5):13–31. (In Russ).
3. Gaynetdinova DD, Novoselova AA. Current diagnosis and treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Kazan Medical Journal*. 2020;101(4):530–7. (In Russ). doi: 10.17816/KMJ2020-530
4. Koutsoulidou A, Phylactou LA. Circulating Biomarkers in Muscular Dystrophies: Disease and Therapy Monitoring. *Molecular Therapy. Methods & Clinical Development*. 2020;18:230–9. doi: 10.1016/j.omtm.2020.05.017
5. Rivier F, Meyer P, Walther-Louvie U, et al. Congenital muscular dystrophies: classification and diagnostic strategy. *Neuromuscular Diseases*. 2014;(1):6–20. (In Russ). doi: 10.17650/2222-8721-2014-0-1-6-14
6. Zhu Y, Zhang H, Sun Y, et al. Serum Enzyme Profiles Differentiate Five Types of Muscular Dystrophy. *Disease Markers*. 2015;2015:543282. doi: 10.1155/2015/543282

7. Brüss M, Homann J, Molderings GJ. Dysferlinopathie als extrahepatische Ursache von Transaminasenerhöhungen. *Medizinische Klinik*. 2004;99(6):326–9. doi: 10.1007/s00063-004-1046-1
8. Aasen T, Achdjian H, Usta Y, et al. Dysferlin–Deficient Muscular Dystrophy Identified Through Laboratory Testing for Elevated Aminotransferases. *ACG Case Reports Journal*. 2016;3(2):127–9. doi: 10.14309/crj.2016.22
9. Kohli R, Harris DC, Whittington PF. Relative elevations of serum alanine and aspartate aminotransferase in muscular dystrophy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2005;41(1):121–4. doi: 10.1097/01.wno.0000161657.98895.97
10. Shields RW Jr. Single fiber electromyography in the differential diagnosis of myopathic limb girdle syndromes and chronic spinal muscular atrophy. *Muscle & Nerve*. 1984;7(4):265–72. doi: 10.1002/mus.880070402
11. Bertorini TE, Stalberg E, Yuson CP, et al. Single–fiber electromyography in neuromuscular disorders: correlation of muscle histochemistry, single–fiber electromyography, and clinical findings. *Muscle & Nerve*. 1994; 17(3):345–53. doi: 10.1002/mus.880170314
12. Rowińska–Marcinińska K, Szmidt–Salkowska E, Fidziańska A, et al. Atypical motor unit potentials in Emery–Dreifuss muscular dystrophy (EDMD). *Clinical Neurophysiology*. 2005;116(11):2520–7. doi: 10.1016/j.clinph.2005.01.017
13. Wijntjes J, van Alfen N. Muscle ultrasound: Present state and future opportunities. *Muscle & Nerve*. 2021; 63(4):455–66. doi: 10.1002/mus.27081
14. Zaidman CM, Connolly AM, Malkus EC, et al. Quantitative ultrasound using backscatter analysis in Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*. 2010;20(12):805–9. doi: 10.1016/j.nmd.2010.06.019
15. Jansen M, van Alfen N, Nijhuis van der Sanden MWG, et al. Quantitative muscle ultrasound is a promising longitudinal follow-up tool in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*. 2012;22(4):306–17. doi: 10.1016/j.nmd.2011.10.020
16. Urban D, Mohamed M, Ludolph AC, et al. The value of qualitative muscle MRI in the diagnostic procedures of myopathies: a biopsy-controlled study in 191 patients. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2021; 14:1756286420985256. doi: 10.1177/1756286420985256
17. Tasca G, Iannaccone E, Monforte M, et al. Muscle MRI in Becker muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*. 2012;22(Suppl 2):S100–6. doi: 10.1016/j.nmd.2012.05.015
18. Quijano–Roy S, Avila–Smirnow D, Carlier RY, et al. Whole body muscle MRI protocol: pattern recognition in early onset NM disorders. *Neuromuscular Disorders*. 2012;22(Suppl 2):S68–84. doi: 10.1016/j.nmd.2012.08.003
19. Joyce NC, Oskarsson B, Jin LW. Muscle biopsy evaluation in neuromuscular disorders. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*. 2012;23(3): 609–31. doi: 10.1016/j.pmr.2012.06.006
20. Peric S, Stevanovic J, Johnson K, et al. Phenotypic and genetic spectrum of patients with limb–girdle muscular dystrophy type 2A from Serbia. *Acta Myologica*. 2019;38(3):163–71.
21. Park HJ, Hong J–M, Suh GI, et al. Heterogeneous characteristics of Korean patients with dysferlinopathy. *Journal of Korean Medical Science*. 2012;27(4):423–9. doi: 10.1007/s12272-012-0423-9
22. Bönnemann CG. The collagen VI-related myopathies Ullrich congenital muscular dystrophy and Bethlem myopathy. *Handbook of Clinical Neurology*. 2011;101: 81–96. doi: 10.1016/B978-0-08-045031-5.00005-0
23. Pathak P, Sharma MC, Sarkar C, et al. Limb girdle muscular dystrophy type 2A in India: a study based on semi-quantitative protein analysis, with clinical and histopathological correlation. *Neurology India*. 2010; 58(4):549–54. doi: 10.4103/0028-3886.68675
24. Sycheva AM, Nazarov VD, Lapin SV, et al. Optimization of the pre-analytical stage of material processing for histochemical examination of skeletal muscle biopsies in the diagnosis of neuromuscular diseases. *Neuromuscular Diseases*. 2019;9(2):21–9. (In Russ). doi: 10.17650/2222-8721-2019-9-2-21-29
25. Gayathri N, Alefia R, Nalini A, et al. Dysferlinopathy: spectrum of pathological changes in skeletal muscle tissue. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*. 2011;54(2):350–4. doi: 10.4103/0377-4929.81636
26. Gaina G, Ionica E, Manole E, et al. Clinical and Molecular Diagnosis in Muscular Dystrophies. In: *Sakuma K, editor. Muscular Dystrophies*. IntechOpen; 2019. doi: 10.5772/intechopen.85339
27. Anderson LV, Davison K. Multiplex Western blotting system for the analysis of muscular dystrophy proteins. *The American Journal of Pathology*. 1999;154(4):1017–22. doi: 10.1016/S0002-9440(10)6354-0
28. Beekman C, Janson AA, Baghat A, et al. Use of capillary Western immunoassay (Wes) for quantification of dystrophin levels in skeletal muscle of healthy controls and individuals with Becker and Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One*. 2018;13(4):e0195850. doi: 10.1371/journal.pone.0195850
29. Tomar S, Moorthy V, Sethi R, et al. Mutational spectrum of dystrophinopathies in Singapore: Insights for genetic diagnosis and precision therapy. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*. 2019;181(2):230–44. doi: 10.1002/ajmg.c.31704
30. Niu H–H, Tao D–Y, Cheng S–Q. A predictive analysis of the association between clinical phenotypes and genotypes in children with Becker muscular dystrophy/ Duchenne muscular dystrophy. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. 2020;22(6):602–7. doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.1912133
31. Özyilmaz B, Kirbiyik Ö, Özdemir TR, et al. Impact of next–generation sequencing panels in the evaluation of limb–girdle muscular dystrophies. *Annals of Human Genetics*. 2019;83(5):331–47. doi: 10.1111/ahg.12319
32. Allamand V, Briñas L, Richard P, et al. ColVI myopathies: where do we stand, where do we go? *Skeletal Muscle*. 2011;1:30. doi: 10.1186/2044-5040-1-30
33. Mercuri E, Bushby K, Ricci E, et al. Muscle MRI findings in patients with limb girdle muscular dystrophy with calpain 3 deficiency (LGMD2A) and early contractures. *Neuromuscular Disorders*. 2005;15(2):164–71. doi: 10.1016/j.nmd.2004.10.008
34. Schessl J, Goemans NM, Magold AI, et al. Predominant fiber atrophy and fiber type disproportion in early ullrich disease. *Muscle & Nerve*. 2008;38(3):1184–91. doi: 10.1002/mus.21088
35. Fu X–N, Xiong H. Genetic and Clinical Advances of Congenital Muscular Dystrophy. *Chinese Medical Journal*. 2017;130(21):2624–31. doi: 10.4103/0366-6999.217091
36. Brun BN, Willer T, Darbro BW, et al. Uniparental disomy unveils a novel recessive mutation in POMT2. *Neuromuscular Disorders*. 2018;28(7):592–6. doi: 10.1016/j.nmd.2018.04.003
37. Bönnemann CG, Wang CH, Quijano–Roy S, et al. Diagnostic approach to congenital muscular dystrophies.

- Neuromuscular Diseases*. 2014;24(4):289–311. doi: 10.1016/j.nmd.2013.12.011
38. Zhang C, Zheng X, Lu D, et al. Compound heterozygous CAPN3 variants identified in a family with limb–girdle muscular dystrophy recessive 1. *Molecular Medicine Reports*. 2021;23(6):480. doi: 10.3892/mmr.2021.12119
39. Grishina DA, Suponeva NA, Shvedkov VV, et al. Inherited progressive limb–girdle muscular dystrophy type 2A (calpainopathy): a review of literature. *Neuromuscular Diseases*. 2015;5(1):25–36. (In Russ). doi: 10.17650/2222-8721-2015-1-25-36
40. Angelini C. LGMD. Identification, description and classification. *Acta Myologica*. 2020;39(4):207–17. doi: 10.36185/2532-1900-024
41. Starostina IG, Solovyeva VV, Yuryeva KS, et al. Modeling and gene therapy of dysferlinopathy. *Genes & Cells*. 2013;8(3):61–71.

### Дополнительная информация

#### Информация об авторах:

Татьяна Михайловна Черданцева — д-р мед. наук, доц., заведующий кафедрой гистологии, патологической анатомии и медицинской генетики, SPIN: 3773-8785, <https://orcid.org/0000-0002-7292-4996>.

Ольга Викторовна Баковецкая — д-р биол. наук, проф., заведующий кафедрой биологии, SPIN: 1780-5469.

Александр Алексеевич Никифоров — канд. мед. наук, доц., доцент кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО, SPIN: 8366-5282, <https://orcid.org/0000-0001-9742-4528>.

✉ Марина Сергеевна Некрасова — ассистент кафедры гистологии, патологической анатомии и медицинской генетики, [marinanekrasova555@gmail.com](mailto:marinanekrasova555@gmail.com), SPIN: 2035-8060, <https://orcid.org/0000-0001-8178-6014>.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Information about the authors:

Tat'yana M. Cherdantseva — MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Histology, Pathological Anatomy and Medical Genetics, SPIN: 3773-8785, <https://orcid.org/0000-0002-7292-4996>.

Ol'ga V. Bakovetskaya — Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Department of Biology, SPIN: 1780-5469.

Aleksandr A. Nikiforov — MD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Pharmacology with Course of Pharmacy of the Faculty of Additional Professional Education, SPIN: 8366-5282, <https://orcid.org/0000-0001-9742-4528>.

✉ Marina S. Nekrasova — Assistant of the Department of Histology, Pathological Anatomy and Medical Genetics, [marinanekrasova555@gmail.com](mailto:marinanekrasova555@gmail.com), SPIN: 2035-8060, <https://orcid.org/0000-0001-8178-6014>.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Рукопись получена:** 21.02.2021  
**Received:** 21.02.2021

**Рукопись одобрена:** 01.09.2021  
**Accepted:** 01.09.2021

**Опубликована:** 30.09.2021  
**Published:** 30.09.2021