

Étude d'une nouvelle observation de «Nemaline Myopathy»

II. Données ultrastructurales *

MICHEL FARDEAU **

Service de Microscopie Electronique. Directeur: Professeur RAYMOND GARCIN
Hôpital de la Salpêtrière — Paris

Reçu le 23. Septembre 1968

Study of a New Observation of "Nemaline Myopathy". II. Ultrastructural Findings

Summary. Ultrastructural study of an observation of "Nemaline Myopathy" has been focused on structural relationships between rods and normal Z-bands in different conditions of fixation. The Z-band structure studied in transversal section, varies with the fixation: network of "oblique" (relative to the regular quadratic pattern of the thin filament endings) bridges after osmic fixation; network of "transversal" bridges, alone or associated to the first network, after aldehydic fixation. The rod structure, in transversal section, is also varying with the fixation: a quadratic disposal of the filamentary content is visible after both fixations, but a regular quadratic network, 75—85 Å side, is clearly apparent only after aldehydic fixation. This last network differs from the "oblique" network of the normal Z-band; it can be compared to the "transversal" one obtained in the Z-band after aldehydic fixation. The hypothesis that bridges in the rods are formed only by one of the two normal morphological components of the Z-band, is raised. Topography of the rods in muscle fibers has been studied: either in peripheral sarcoplasmic masses, or in small central-located foci of myofibrillar disintegration. The end-plates structure was normal. Specificity of the elementary lesion, and autonomy of that type of myopathy is discussed.

Résumé. L'étude ultrastructurale d'une observation de «Nemaline-Myopathy» a été centrée sur les rapports structurels entre bâtonnets et stries Z normales dans différentes conditions de fixation. L'aspect des stries Z, en section transversale, varie en effet avec la fixation: réseau de ponts «obliques» (par rapport à l'alignement quadratique régulier des terminaisons des filaments fins) après fixation osmiée, réseau de ponts «transversaux», isolé ou superposé au premier réseau, après fixation aldéhydrique initiale. L'aspect des bâtonnets en section transversale varie également avec la fixation; la disposition quadratique des filaments constitutifs des bâtonnets est visible après l'une et l'autre fixation, mais un réseau quadratique régulier, de 75 Å de côté, n'est clairement apparent qu'après fixation aldéhydrique. Le point important est que ce dernier aspect diffère complètement du réseau «oblique» des stries Z normales, et peut être rapproché au contraire du réseau «transversal» de la strie Z obtenu après fixation aldéhydrique; l'hypothèse est ainsi soulevée de la constitution des ponts dans les bâtonnets aux dépens d'un seul des deux constituants morphologiques de la strie Z.

La topographie des bâtonnets a été également étudiée: tantôt périphérique, au sein de masses sarcoplasmiques latérales, tantôt centrale, au sein de petits foyers de désintégration myofibrillaire. La structure des plaques motrices visibles dans les préparations était normale. La spécificité de la lésion élémentaire et l'autonomie de ce type de myopathie sont ensuite discutées.

Key-Words: Electron Microscopy — Congenital Myopathy — Nemaline Myopathy — Z-band Structure — Sarcoplasmic Masses.

* La première partie, histo-chimique, de cette étude a été publiée antérieurement par L. MARTIN et J. RENIERS.

** Chargé de Recherches au Centre National de la Recherche Scientifique.

L'intérêt de la microscopie électronique dans le diagnostic de la « Nemaline Myopathy », depuis la description par SHY, ENGEL, SOMERS et WANKO de ce type de myopathie congénitale, explique que la plupart des observations publiées sous ce titre comportent une étude ultrastructurale des lésions musculaires; plus particulièrement PRICE et al. (1965), GONATAS (1966), A. G. ENGEL et GOMEZ (1967) ont étudié la structure fine des bâtonnets qui caractérisent cette affection, et démontré les rapports de celle-ci avec celle de la strie Z. Ayant observé antérieurement les variations de structure de la strie Z du muscle squelettique normal dans différentes conditions de fixation, nous avons entrepris l'analyse ultrastructurale de cette nouvelle observation, étudiée sur le plan clinique par MYLE, RADEMACKEK et J. J. MARTIN et sur le plan histochimique par L. MARTIN et J. RENIERS, en orientant nos travaux sur les rapports de structure entre stries Z et bâtonnets. La spécificité de la lésion élémentaire et l'autonomie du tableau morphologique de cette dystrophie seront ensuite discutées.

Matériel et méthodes

La biopsie musculaire a été pratiquée sur le muscle Court Péronier latéral, avec repérage per-opératoire de la zone d'innervation. Deux fragments ont été prélevés pour étude au microscope électronique, le premier après fixation par le tétr oxyde d'osmium, le second après fixation par le glutaraldéhyde: le premier fragment a été fixé *in situ* par le tétr oxyde d'osmium à 2% pendant 2 min, et la fixation poursuivie après prélèvement 1 h. 30 à 0°. le second fragment a été prélevé et fixé par immersion dans le glutaraldéhyde 5% tamponné à pH 7,4, et post-fixé par le tétr oxyde d'osmium 30' à 0°. Confection des blocs dans le premier bain de déshydratation, après repérage des filets nerveux intra-musculaires, permettant d'isoler des blocs dans la zone d'innervation. Inclusions dans l'Araldite; coupes effectuées à l'ultramicrotome Reichert OM U2, contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, et observées au microscope électronique RCA EMU 3 G et Hitachi HU 11.

Résultats

Des formations anormales, en bâtonnet, sont rencontrées avec une grande fréquence dans les fibres musculaires. Sur les coupes semi-fines, ces bâtonnets sont bien visibles, soit en contraste de phase, soit après coloration par le bleu de toluidine ou la paraphénylène-diamine. Ils sont disposés tantôt en amas à la périphérie des fibres, sous le sarcolemme, dans des zones latérales dépourvues de myofibrilles, tantôt disséminés à l'intérieur des champs myofibrillaires; dans ce cas, ils forment souvent de courtes chaînes parallèles à l'axe de la fibre musculaire.

Sur les coupes fines, examinées au microscope électronique, ils se reconnaissent aisément (Fig. 1 a, b) à leur densité élevée aux électrons, comparable à celle des stries Z des myofibrilles voisines, et à leur forme grossièrement cylindrique. Leur taille varie de 1 à 3 microns de long sur 0,2 à 0,8 micron de large; leurs limites sont nettes, sans membrane limitante; leur contour est parfois arrondi de façon régulière, plus souvent il est festonné, indenté, et des enclaves cytoplasmiques forment des plages claires à l'intérieur même des bâtonnets. A leurs pôles, on note de façon constante des trousseaux de filaments parallèles, analogues par leur dimension et leur mode de groupement aux myofilaments fins des myofibrilles voisines.

La structure interne des bâtonnets apparaît clairement sur les sections intéressant longitudinalement ou transversalement ces formations; elle est semblable

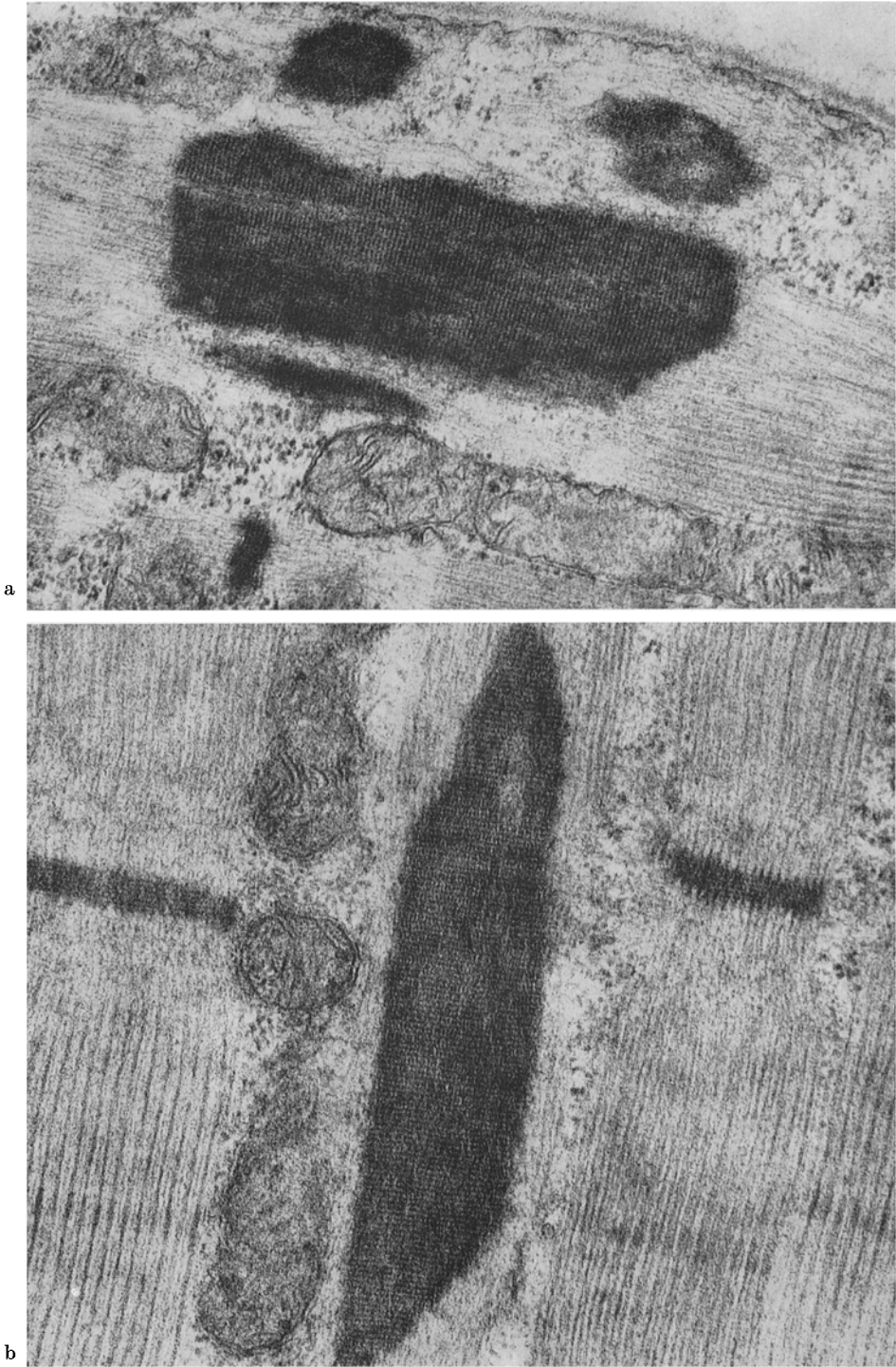


Fig.1

pour tous les bâtonnets. Sur les sections intéressant les bâtonnets suivant leur plus grand axe, deux striations sont visibles: une striation transversale (Fig. 1 a) régulière, très marquée, avec périodicité variant de 140 Å à 180 Å suivant les bâtonnets; une seconde striation, moins marquée que la première, est visible sur les coupes les plus fines: longitudinale, elle prolonge la direction des filaments fins visibles aux pôles des bâtonnets; sous certaines incidences (Fig. 1 b), cette structure fibrillaire longitudinale des bâtonnets paraît composée d'une série d'éléments discontinus, reliés entre eux par de petits ponts transversaux.

Sur les sections intéressant les bâtonnets perpendiculairement à leur grand axe la constitution filamentaire des bâtonnets apparaît clairement, mais l'aspect réalisé est différent suivant la fixation utilisée, glutaraldéhyde ou tétroxyde d'osmium. Après fixation par le tétroxyde d'osmium (Fig. 2), les sections de filaments se disposent de façon plutôt quadratique selon un réseau de 100 Å environ de côté, mais les ponts unitifs entre ces filaments ne sont jamais bien visibles ni régulièrement répartis.

Après fixation initiale par le glutaraldéhyde (et post-fixation par le tétroxyde d'osmium) la disposition quadratique régulière des sections de filaments apparaît plus clairement (Fig. 3 a, b) et diffère de la précédente par deux points: d'une part les ponts unitifs entre les filaments sont très nettement visibles, et leur disposition cruciforme forme un réseau de petites mailles carrées; d'autre part la longueur des côtés de ces mailles est de 75 Å—85 Å, donc inférieure à celle mesurée après fixation par le tétroxyde d'osmium seul; l'examen de coupes passant tangentielle-ment aux pôles des bâtonnets (Fig. 3 a) permet de considérer ce quadrillage comme dû à l'interpénétration de deux systèmes quadratiques de maille double (environ 150 Å de côté): les filaments fins que s'insèrent sur les pôles des bâtonnets se disposent en effet suivant un type quadratique de 150 Å de côté, et le centre des carrés est marqué par la section de filaments formant entre eux un second système quadratique équivalent.

La comparaison de ces aspects, longitudinaux et transversaux, des bâtonnets avec la structure des stries Z des myofibrilles adjacentes fait apparaître les points suivants: 1) sur les coupes longitudinales, les stries Z ont une épaisseur de 400—600 Å, due à l'interpénétration des segments terminaux des filaments fins de chaque sarcomère; dans cette épaisseur une périodicité transversale analogue à celle des bâtonnets est quelquefois visible (Fig. 1 a).

2) Sur les coupes transversales, après fixation par le tétroxyde d'osmium seul, les stries Z normales présentent une structure en réseau très caractéristique («cannage»), due à la disposition des ponts unitifs, obliques à 45° par rapport à l'alignement quadratique des filaments fins de chaque sarcomère, et à leur orientation rotatoire par rapport à la terminaison de ceux-ci (Fig. 4 a). Cette disposition n'est jamais retrouvée au niveau des bâtonnets (Fig. 2).

Fig. 1 a et b. Bâtonnets, section longitudinale, fixation par le tétroxyde d'osmium. a bâtonnets situés à la périphérie d'une fibre musculaire; striation transversale (périodicité: 140 Å) bien visible, et retrouvée dans la strie Z de la myofibrille sous-jacente. $\times 50000$. b bâtonnet situé en profondeur d'une fibre musculaire; striation transversale de périodicité 160 Å; striation longitudinale apparaissant, sous cette incidence, formée d'éléments discontinus réunis entre eux par des ponts transversaux. $\times 47000$

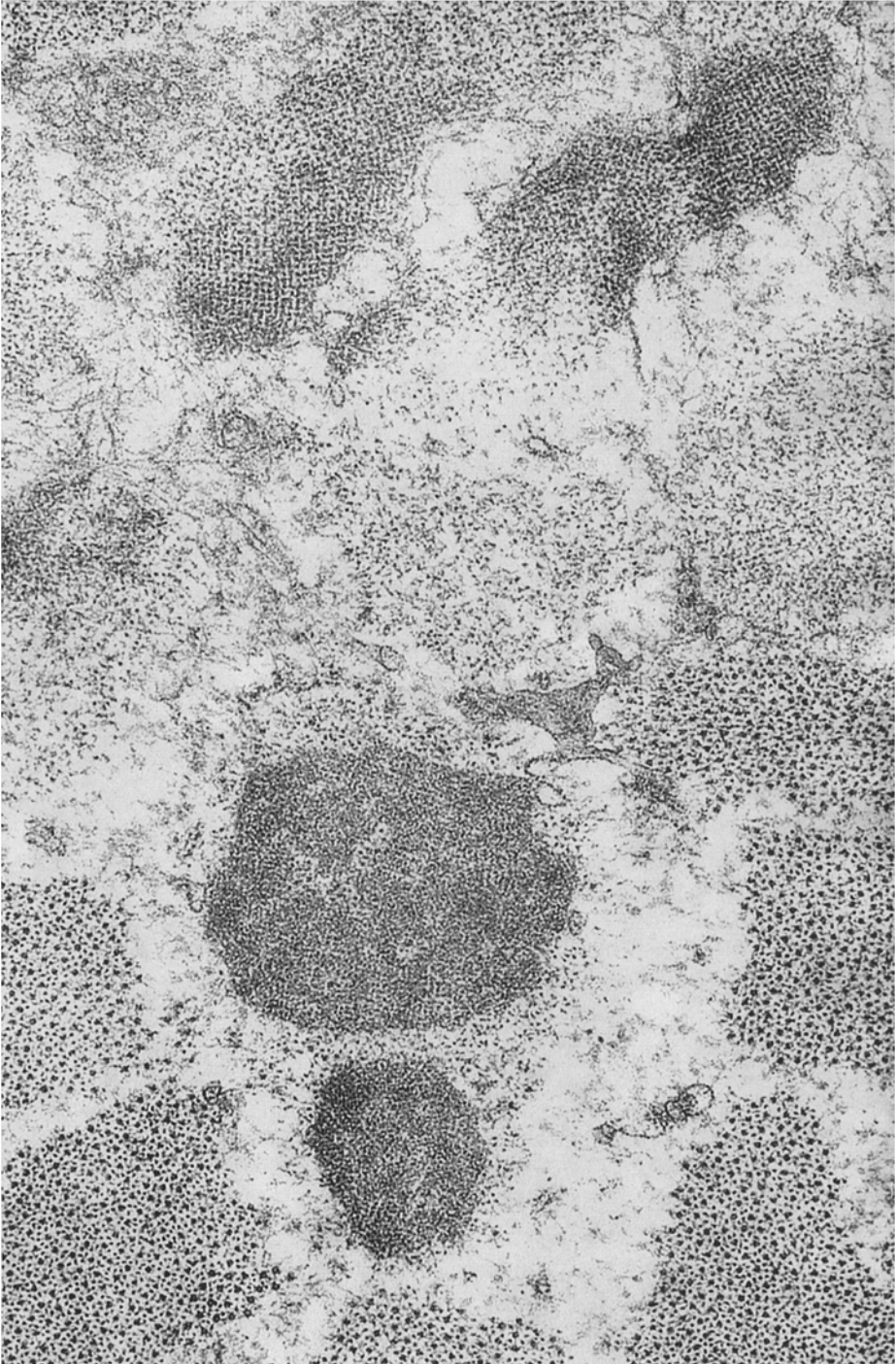


Fig. 2

Après fixation initiale par le glutaraldéhyde, les stries Z normales présentent un double réseau de ponts unitifs: au réseau « oblique » décrit ci-dessus se superpose un réseau « transversal » fait de ponts unissant les terminaisons des filaments fins issus d'un même sarcomère (Fig. 4 b). La structure quadratique des bâtonnets obtenue après fixation par le glutaraldéhyde, peut être rapprochée de cette seconde structure quadratique normale de la strie Z; elle s'oppose toujours, en taille et en disposition, au « cannage » formé par les ponts obliques de la strie Z (Fig. 3 b).

Les plages claires incluses dans les bâtonnets contiennent quelques filaments fins ou épais, orientés suivant l'axe du bâtonnet; à côté de ces filaments, on note fréquemment une structure tubulaire de diamètre supérieur à celui des myofilaments, 250—300 Å environ, à paroi épaisse et dense, très osmiophile (Fig. 3 a); parfois un filament coaxial est visible au centre de ces tubes; longitudinalement, ces tubes apparaissent rectilignes au centre des enclaves cytoplasmiques.

La topographie des bâtonnets à l'intérieur de la fibre musculaire répond à deux possibilités, ainsi qu'on a pu le voir dès les coupes semi-fines: tantôt ils sont groupés à la périphérie de la fibre musculaire, tantôt ils sont disséminés à l'intérieur des myofibrilles. Lorsqu'ils sont groupés sous le sarcolemme, ils forment parfois de petits foyers limités de 3 à 10 bâtonnets, ou plus souvent, ils sont en nombre bien plus important et situés au sein de véritables « masses sarcoplasmiques latérales » (Fig. 5); ils y sont disposés suivant tous les plans de l'espace; leur continuité avec les très nombreux filaments fins présents dans ces masses latérales est bien apparente. Lorsque les bâtonnets sont situés à l'intérieur de la fibre musculaire, ils sont souvent disposés en courtes chaînes entre deux champs myofibrillaires (Fig. 6). Le point important est que les bâtonnets sont alors toujours situés dans un foyer plus ou moins étendu de désorganisation myofibrillaire, et les stries Z des myofibrilles situées au contact de ce foyer présentent très souvent des altérations de structure: distorsion, « bavures », étalement du matériel Z sur les sarcomères contigus (Fig. 6 a). On ne distingue pas, le plus souvent, de structure périodique dans ces altérations, mais en certains endroits, la même périodicité qu'au niveau des bâtonnets apparaît: ainsi un bâtonnet peut être isolé dans la fibre musculaire et remplacer un sarcomère entier, la myofibrille se poursuivant tout à fait normalement de part et d'autre de celui-ci (Fig. 6 b).

Les bâtonnets coexistent donc avec des altérations de la strie Z beaucoup plus banales, situées à leur contact ou à distance; ces altérations des stries Z sans périodicité transversale visible, se présentent de façon finement fibrillaire en section transversale, mais sans qu'aucune structure orientée ne soit réalisée. Il faut enfin remarquer que ces altérations — bâtonnets ou « bavures » de la strie Z, n'occupent jamais que des zones très limitées de la fibre musculaire, à la périphérie ou à l'intérieur de celles-ci.

Fig. 2. Section transversale; fixation par le tétr oxyde d'osmium. Sections de deux bâtonnets visibles au-dessous de deux stries Z; leur différence de structure est clairement apparente: le réseau, ou « cannage », caractéristique de la strie Z après fixation osmiée n'est pas retrouvé au niveau des bâtonnets; les filaments qui forment le bâtonnet ont une disposition quadratique de 100—125 Å de côté; des ponts unitifs ne sont visibles qu'en de rares endroits.
× 52 000. (La Fig. 2 a été prise au microscope électronique AEI EM6B)

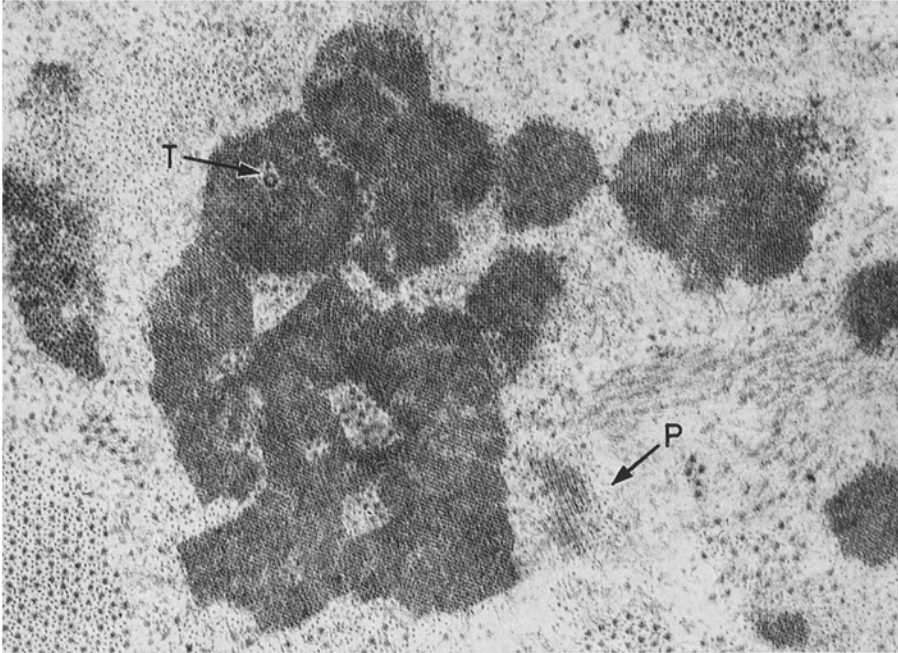


Fig. 3
a

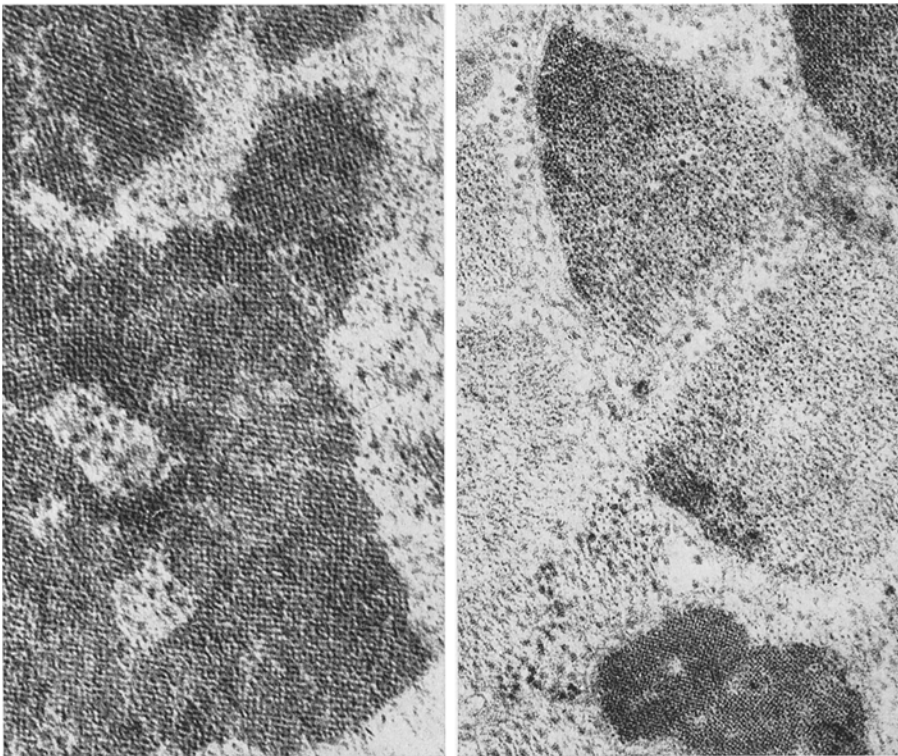


Fig. 3
b

Fig. 3
c

Fig. 3 a—c. Bâtonnets, section transversale, fixation initiale par le glutaraldéhyde. a Structure quadratique régulière, formée de mailles de 75–80 Å de côté, dessinée par des ponts à disposition cruciforme unissant les filaments entre eux. Une section tangentielle, au pôle d'un bâtonnet (*P*), montre une disposition quadratique de maille double (150 Å) des filaments fins s'insérant sur le bâtonnet. Dans les plages sarcoplasmiques incluses dans les bâtonnets, on

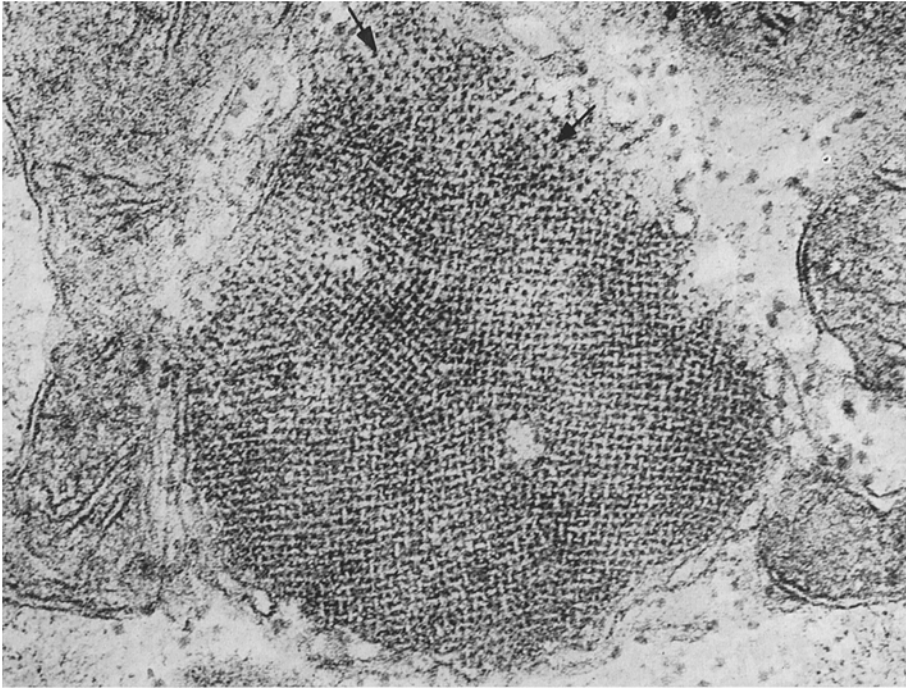


Fig. 4
a

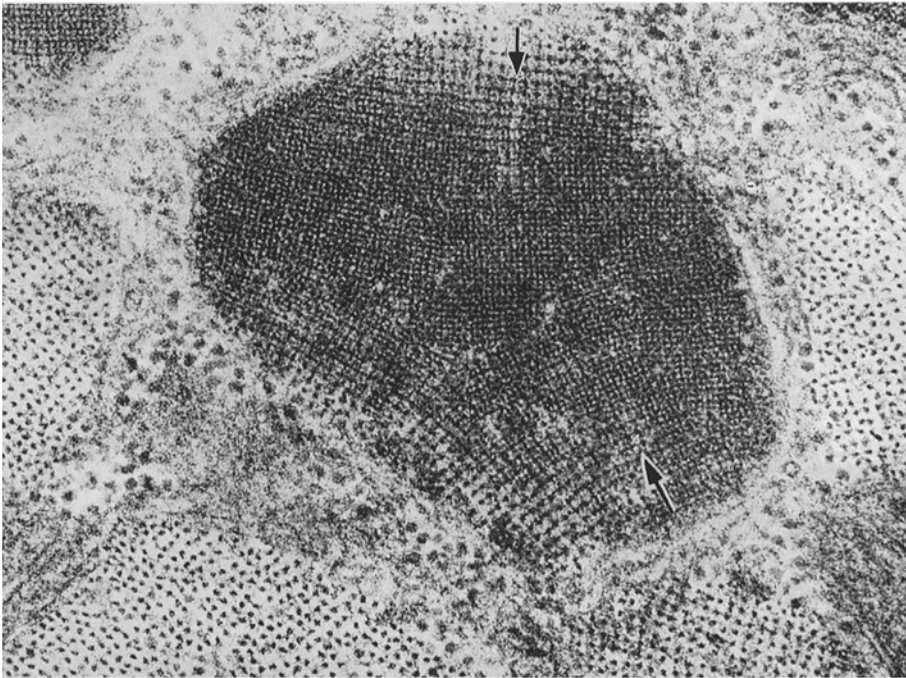


Fig. 4
b

retrouve des filaments fins et épais ainsi qu'une structure tubulaire (*T*) de 300 Å de diamètre. $\times 58000$. b Grandissement d'une plage de l'image précédente; comparer avec l'aspect de la strie Z (Fig. 4b) après fixation aldéhydique. $\times 100000$. c Côte à côte sont visibles sur une même coupe la section transversale d'un bâtonnet (en bas de la figure) et celle d'une strie Z (en haut); noter la présence simultanée dans cette strie Z de ponts obliques et transversaux. $\times 50000$

Fig. 4 a et b. Stries Z en section transversale; muscle humain normal. a Fixation par le tétroxyde

En dehors des altérations myofibrillaires, les autres organites intracellulaires ne présentent que des altérations discrètes; quelques noyaux musculaires sont en position centralisée et ont un contour indenté, avec des nucléoles volumineux, en particulier pour les noyaux situés en profondeur des zones latérales; au voisinage des pôles nucléaires on rencontre souvent des amas de lipopigments et quelques figures myéliniques; quelques pelotes ovoïdes de très fins filaments ont été notés à la périphérie de la fibre sous le sarcolemme; ni le réticulum sarcoplasmique ni

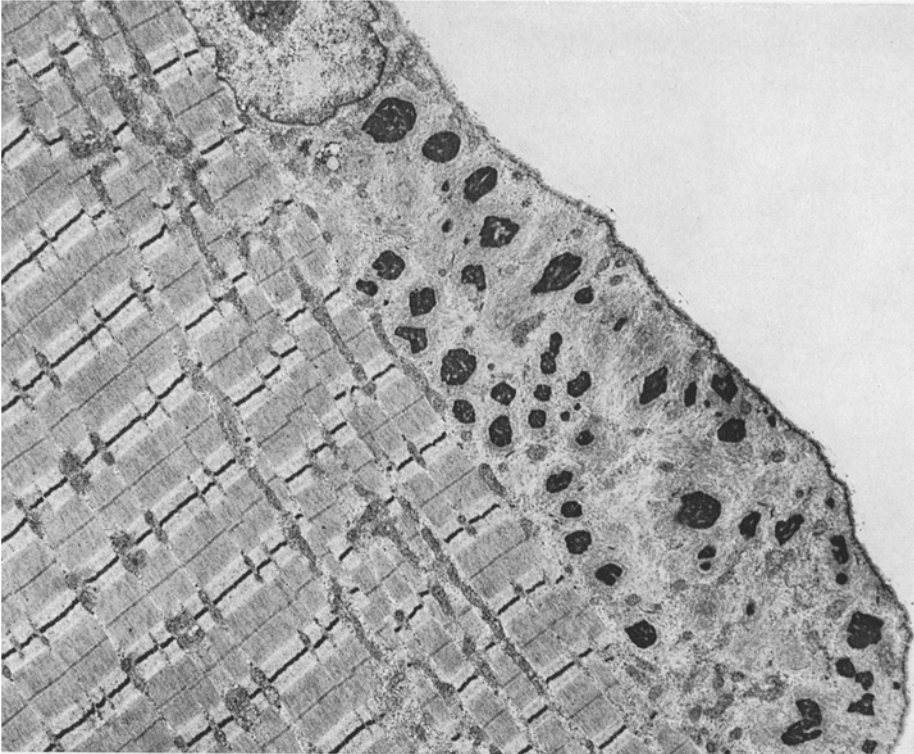


Fig. 5. Amas de bâtonnets sous-sarcolemmiques; section longitudinale; fixation par le glutaraldéhyde. Disposition d'ensemble des bâtonnets dans une masse sarcoplasmique latérale; intégrité complète des myofibrilles sous-jacentes. $\times 6000$

les mitochondries ne présentent d'altérations particulières. On rencontre d'assez nombreuses cellules satellites à la périphérie des fibres musculaires. Quelques rares fibres atrophiques ont été relevées dans notre matériel; elles contenaient plusieurs noyaux en amas, quelques myofibrilles de volume réduit et des bâtonnets disséminés entre celles-ci.

Il a été possible d'étudier plusieurs plaques motrices dans ce prélèvement (Fig. 7); les digitations nerveuses et les expansions schwanniennes avaient une

d'osmium; entrelac (« cannage ») caractéristique formé par les ponts unissant l'extrémité des filaments fins des deux sarcomères contigus; les ponts sont obliques, dirigés à 45° par rapport aux axes de la disposition quadratique des filaments fins de chaque sarcomère (flèches). $\times 90000$. b Fixation initiale par le glutaraldéhyde. Réseau doublement quadratique dessiné par les ponts transversaux unissant les extrémités des filaments fins de chaque sarcomère. $\times 100000$

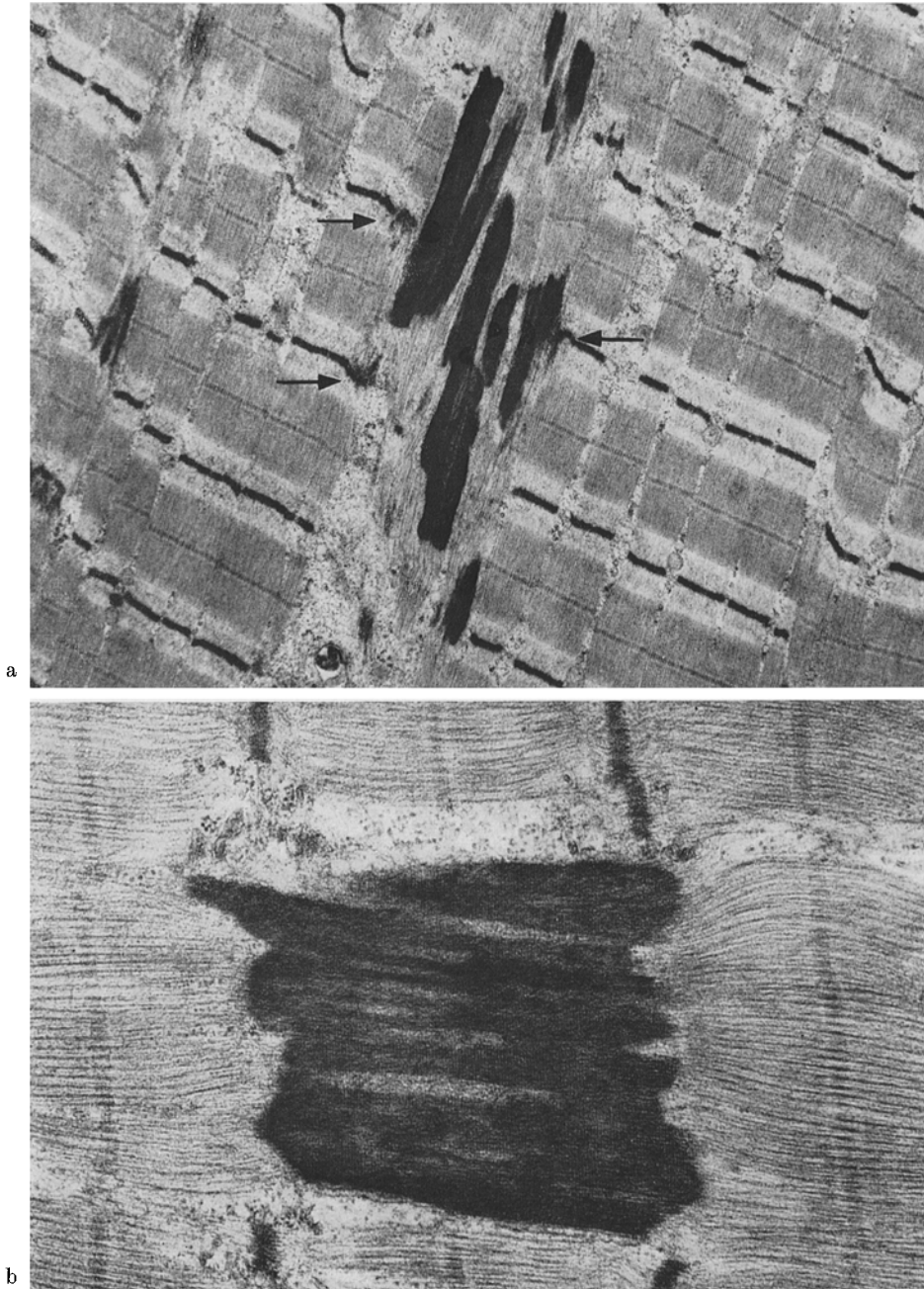


Fig. 6a et b. Bâtonnets situés à l'intérieur de la fibre musculaire; section longitudinale; fixation par le glutaraldéhyde. a Accumulation de bâtonnets au sein d'un petit foyer de désintégration myofibrillaire; altérations des stries Z des myofibrilles situées au contact des foyers (flèches); à gauche, « bavures » de matériel Z sur plusieurs sarcomères consécutifs. $\times 15000$. b Bâtonnet remplaçant la totalité d'un sarcomère, d'une strie Z à l'autre. $\times 35000$



Fig. 7. Plaque motrice; fixation par le tétr oxyde d'osmium. Quatre digitations nerveuses sont visibles; disposition normale des plis de l'appareil sous-neural autour de ces digitations; amas de mitochondries en profondeur de la sole sarcoplamique. $\times 7000$

disposition normale, le gonflement de certaines mitochondries dans l'extrémité nerveuse ne peut être tenu pour significatif; la densité et la répartition des vésicules synaptiques est habituelle; l'appareil sous-neural est normalement développé; la sole sarcoplasmique est souvent large et contient de nombreux

petits trousseaux filamentaires. Dans leur ensemble, la structure des plaques motrices apparaît normale, alors même que les fibres musculaires correspondantes renforcent des altérations myofibrillaires et des bâtonnets.

Enfin dans les cellules endothéliales des capillaires intramusculaires, on notait la présence de quelques vacuoles contenant une structure hexagonale, à rapprocher des aspects observés par A. G. ENGEL (1966a) dans des vacuoles situées dans des fibres musculaires altérées.

Commentaires

Le tableau ultrastructural de cette observation présente de nombreux points avec celui de la plupart des observations jusqu'ici rapportées sous le titre de «Nemaline Myopathy» par SHY et al., CONEN et al., W. K. ENGEL et al. (1964), PRICE et al., GONATAS (1966a), HUDGSON et al., SHAFIQ et al., A. G. ENGEL et GOMEZ (1967), en particulier la prévalence des bâtonnets sur tout autre type d'altération de la fibre musculaire, et leur diffusion à la quasi-totalité des fibres dans le prélèvement biopsique examiné.

L'étroite relation entre la structure des bâtonnets et celle de la strie Z, déjà évoquée par AFIFI et al., a été démontrée par les travaux de PRICE et al., de GONATAS (1966b), de A. G. ENGEL et GOMEZ (1967). Cette relation apparaît clairement dans notre observation : densité aux électrons et périodicité axiale identique pour les bâtonnets et les stries Z voisines ; localisation initiale des bâtonnets au niveau de la strie Z ; images de contiguité entre bâtonnets et stries Z altérées des myofibrilles adjacentes ; insertion de filaments fins aux deux pôles des bâtonnets selon un arrangement quadratique régulier analogue à celui observé au voisinage immédiat des stries Z.

Les variations dans l'estimation de la périodicité axiale des bâtonnets doivent être discutées ; en effet, les chiffres fournis varient selon les observations, de 120 à 200 Å. Pour une même observation la mesure de cette périodicité varie également selon les plages et selon les coupes ; nos estimations (140—180 Å) recourent celles de GONATAS (140—170 Å). Ces variations importantes pour une même observation impliquent que la périodicité mesurée varie avec le plan de section par rapport à l'axe longitudinal du bâtonnet et avec le degré de compression inégal des tissus au cours de la confection des coupes. Pour les écarts enregistrés d'une observation à l'autre, il faut en outre tenir compte des différences de rétraction du tissu avec la fixation et le milieu d'inclusion utilisé. Aussi ces discordances entre les chiffres relevés pour la périodicité axiale des bâtonnets ne nous semble pas suffisantes pour en déduire une hétérogénéité de structure de ces formations d'une observation à l'autre.

Les différences de structure entre bâtonnets et stries Z étudiés en section transversale, et leurs variations en fonction de la fixation utilisée, constituent un point beaucoup plus intéressant.

Il a été démontré que la strie Z du muscle squelettique normal présente en section transversale un aspect différent selon qu'il s'agit d'une fixation osmiée ou aldéhydrique, ainsi que M. K. REEDY l'a constaté sur le muscle de certains mammifères et nous-même (1966) sur le muscle humain (Fig. 4a, b). Dans les deux cas, l'interpénétration des extrémités des filaments fins des sarcomères contigus forme un réseau doublement quadratique, mais la disposition des ponts unitifs

varie avec la fixation: la fixation osmiée révèle un système de ponts obliques à 45° par rapport à l'alignement régulier des filaments fins, et orientés de façon rotatoire par rapport à la terminaison de ceux-ci, si bien que ces ponts dessinent un réseau ou «cannage» tout à fait caractéristique (Fig. 4a); après fixation initiale par le glutaraldéhyde, on peut observer à côté de ce premier système de ponts obliques, ou indépendamment de lui, un système de ponts transversaux par rapport à l'alignement régulier des filaments fins d'un même sarcomère, dessinant donc les côtés du réseau doublement quadratique formé par l'interpénétration des filaments fins des sarcomères contigus (Fig. 4b). L'interprétation de ces aspects peut suggérer une modification de la courbure des ponts avec la fixation utilisée (REEDY); elle peut également être interprétée comme un double système de ponts mis en évidence préférentiellement par l'une ou l'autre technique de fixation; en effet, il est possible de noter leur juxtaposition au niveau d'une même strie Z (Fig. 3b). Les variations dans l'aspect transversal des stries Z après fixation aldéhydique initiale pourraient être liées aux conditions de la post-fixation osmiée; on doit, en tout cas, retenir les variations d'aspect observées d'un cas à l'autre: réseau de ponts transversaux (GONATAS), réseau de ponts obliques (A. G. ENGEL et GOMEZ), juxtaposition des deux réseaux (dans cette observation).

Les bâtonnets ont également une structure transversale variable avec la fixation; après fixation osmiée, la disposition quadratique des filaments constitutifs est visible, mais sans que l'on mette en évidence un système de ponts unitifs analogue à celui visible au niveau des stries Z dans les mêmes conditions de fixation («cannage» réalisé par les ponts «obliques»); après fixation aldéhydique initiale, au contraire, apparaît une structure finement quadratique, régulière, très nettement dessinée de 75 \AA environ de côté. Cette structure apparaît identique dans les travaux de GONATAS (1966), de A. G. ENGEL et GOMEZ (1967) et dans la présente étude, alors même que l'aspect des stries Z varie dans ces différents travaux. Ce réseau quadratique régulier est clairement différent, par son aspect et ses dimensions, du réseau («cannage») réalisé par le système des ponts obliques dans la strie Z. Cette différence où a été notée par A. G. ENGEL (1966, 1967), et elle apparaît bien sur les sections où figurent côte à côte bâtonnets et stries Z dans ce travail. Par contre, ce réseau quadratique régulier peut être rapproché du réseau de ponts «transversaux» observés après fixation aldéhydique; il convient de noter, comme GONATAS (1966), que les dimensions des mailles ne sont pas identiques, mais la disposition cruciforme des ponts est semblable dans les deux formations. Pour interpréter ces deux faits, on est amené à formuler l'hypothèse suivante: les filaments des bâtonnets seraient unis par un matériel correspondant à un seul des deux types de ponts unitifs rencontrés dans la strie Z normale.

Ainsi, la composition qualitative du bâtonnet serait apparentée mais non identique à celle de la strie Z normale; elle n'en comporterait que l'un des éléments morphologiques. Les premiers travaux publiés sur la Némaline-Myopathie insistaient sur les analogies relevées entre la structure de la strie Z ou des bâtonnets, et celle des cristaux de Tropomyosine B; cependant différentes constatations récentes vont à l'encontre de cette hypothèse: SHAFIQ et al. notent que les bâtonnets sont, histochimiquement, tyrosine +, alors que cet acide aminé est absent dans la tropomyosine B; A. G. ENGEL et GOMEZ ont montré que les bâtonnets étaient extraits dans les mêmes conditions de solubilité que les filaments fins, alors qu'un matériel amorphe ou finement granulaire persistait au niveau des stries Z; C. M. PEARSON, par ailleurs, fait état des résultats d'Ebashi, selon lequel il n'y aurait pas excès de tropomyosine B dans la Némaline-Myopathie, mais possible constitution des bâtonnets en α actinine.

De nouvelles observations sont nécessaires, mais les divergences enregistrées sur le plan biochimique rejoignent les dissemblances notées sur le plan morphologique entre stries Z et bâtonnets.

Les bâtonnets comportent souvent des plages sarcoplasmiques incluses, à l'intérieur desquelles on retrouve des myofilaments fins et épais. De place en place quelle que soit la fixation utilisée s'observent des sections des structures probablement tubulaires, car leur diamètre est constant (250—300 Å), mais dont l'interprétation est malaisée; elles ne peuvent être assimilées aux tubules visibles dans le muscle en croissance (AUBER), ou au cours de remaniements pathologiques (FARDEAU, 1965), lesquels sont d'un diamètre inférieur (180—250 Å), ont une paroi moins épaisse et enfin s'observent uniquement après fixation initiale par le glutaraldéhyde.

A côté de la structure intrinsèque des bâtonnets, deux points importants méritent d'être dégagés de l'analyse ultrastructurale de cette observation, car ils soulignent morphologiquement le caractère primitivement musculaire du processus; ce sont d'une part la disposition topographique des bâtonnets dans la fibre musculaire et, d'autre part, l'intégrité du dispositif d'innervation et des plaques motrices.

La concentration des bâtonnets à la périphérie des fibres musculaires est un élément immédiatement remarquable dans notre cas. Les zones où les bâtonnets sont accumulés sont analogues par leur distribution le long de la fibre, par leur richesse en filaments, par la situation des noyaux en profondeur, aux zones fréquemment rencontrées dans les autres processus musculaires dystrophiques et correspondant aux masses sarcoplasmiques latérales de la microscopie optique; on note d'ailleurs, dans notre observation, quelques zones latérales sans bâtonnets, contenant de simples ébauches de stries Z au niveau des trousseaux filamentaires, comme dans les masses latérales de tout processus dystrophique. La seule différence avec ces formations est l'absence de fibre annulaire en profondeur, comme c'est souvent le cas ailleurs, en particulier dans la dystrophie myotonique (FARDEAU et al., 1965); mais dans l'observation récemment publiée par HEFFERNAN et al., ou la même disposition latérale des bâtonnets était fréquemment constatée, de nombreuses fibres annulaires étaient également notées. La désorganisation spatiale des structures dans ces zones latérales, la présence de quelques figures myéliniques ou « lysosomal-like », l'absence de ribosomes comme de microtubules (pour les fragments fixés par le glutaraldéhyde) évoquent un processus dégénératif particulier de la fibre musculaire, dont la systématisation topographique n'a pas encore reçu d'interprétation satisfaisante; cette systématisation n'est certainement pas en soi spécifique du groupe des dystrophies, mais elle se rencontre avec une plus grande fréquence dans ce groupe d'affections.

Il est également important de noter que les bâtonnets disséminés à l'intérieur de la fibre musculaire sont en général groupés au sein de petits foyers de désintégration myofibrillaire, les myofibrilles situées au voisinage immédiat de ces foyers présentant également des altérations de leurs stries Z: distorsions, « bavures » du matériel Z sur les sarcomères contigus; ces altérations des stries Z ne présentent pas de périodicité axiale, leur densité aux électrons est un peu inférieure à celle des bâtonnets; elles constituent un fait d'observation très banal en histopathologie musculaire. Cependant l'analyse fine de ces « bavures » de matériel Z en section

transversale démontre qu'elles ont également, comme les bâtonnets, une structure finement filamentaire, mais ces filaments ne présentent aucune orientation privilégiée par rapport à l'axe de la myofibrille. Cette absence d'orientation explique le caractère en apparence amorphe des bavures. Il apparaît donc qu'il y a une parenté étroite, de structure fine et de topographie, entre ces deux types d'altérations de la strie Z, l'une d'observation banale — les bavures — l'autre d'observation plus rare — les bâtonnets —. Dans l'observation d'AFIFI et al., la topographie de ces deux types d'altérations était différente dans la fibre musculaire, les bavures occupant le centre (« core ») de la fibre, et les bâtonnets la périphérie. Plus que cette systématisation topographique particulière, il faut retenir de ce fait l'intrication de deux types d'altérations d'une même formation, la strie Z.

La disposition normale des plaques motrices, leur structure lamellaire, étaient bien visibles sur les préparations traitées par la méthode de Koëlle. Le repérage des filets nerveux terminaux rendus visibles par la fixation osmiée permettant de confectionner les blocs destinés à l'étude en microscopie électronique dans la zone d'innervation, il a été possible d'étudier la structure fine de plusieurs digitations de plaques motrices. Toutes étaient normales, tant par leur densité en vésicules dans le neurite que par la profondeur de l'appareil sous-neural. Nous n'avons pas retrouvé la dilatation focale des plis synaptiques signalée dans leur cas par HEFFERNAN et al; le gonflement de certaines mitochondries dans l'extrémité nerveuse, observé ici, est très probablement un artéfact de fixation. Ces différentes constatations optiques et ultrastructurales, plaident donc en faveur d'une affection musculaire primitive; ainsi les données morphologiques concordent avec les données cliniques et électrologiques pour classer cette affection dans le groupe actuel des dystrophies musculaires.

Ces précisions sont importantes pour situer la valeur diagnostique des bâtonnets et discuter leur spécificité. Il faut en effet insister en premier lieu sur l'extrême banalité des altérations de la strie Z en pathologie musculaire, tant dans les atrophies par dénervation que dans les affections dystrophiques, inflammatoires ou toxiques du muscle squelettique (LAPRESLE et FARDEAU, 1965). D'autre part, il est possible de rencontrer épisodiquement des étalements de la strie Z comportant une striation périodique, dans les atrophies neurogènes (DE RECONDO et al.), les dystrophies myotoniques, les neuro-myopathies de la chloroquine (REWCATTLE et HUMPHREY); des élargissements de la strie Z comportant une périodicité axiale identique à celle des bâtonnets ont été rencontrés dans les fibres myocardiques normales (FAWCETT), dans un rhabdomyome (CORNOG et GONATAS), ou ont été reproduits expérimentalement par ténotomie (W. K. ENGEL, 1967). Dans ces conditions, il n'est pas possible de considérer en soi la présence de bâtonnets comme spécifique d'un type myopathique quelconque.

Le problème est devenu plus complexe encore avec la description par W. K. ENGEL et J. RESNICK (1966), par A. G. ENGEL (1966) HEFFERNAN et al., de myopathies caractérisées histologiquement par la présence de très nombreux bâtonnets, mais de survenue tardive chez l'adulte. Le cas de HEFFERNAN et al. est interprété par ces auteurs comme un type tardif de Nemaline-Myopathy; les cas de W. K. ENGEL et RESNICK, l'observation 2 de HOPKINS et al. pourraient être rattachés à ce groupe; mais l'interprétation des deux observations rapportées par A. ENGEL est plus difficile, les deux sujets ayant présenté au cours de leur maladie des signes cliniques (éléments cutanés) ou histologiques (infiltrats inflammatoires) ayant fait discuter une maladie du collagène, bien que la corticothérapie fut inefficace.

Dans ces conditions, étant donné la non-spécificité de la lésion élémentaire, et l'existence de formes de survenue non congénitale, faut-il conserver son autonomie à la Nemaline-Myopathy ? Pour nous, la réponse est positive; en effet, si le bâtonnet ne constitue pas un élément spécifique, sa diffusion à l'ensemble des fibres musculaires striées, la présence d'anomalies voisines du système musculaire lisse (SHAFTQ et al.) sa topographie, sa prévalence sur toute autre altération de la fibre confère au tableau morphologique de la « Nemaline-Myopathy » une autonomie remarquable par rapport aux autres dystrophies; le caractère cliniquement peu atrophique et peu déficitaire du muscle biopsié, la rareté des fibres atrophiques dans notre biopsie, la discrétion des altérations cytoplasmiques dans la majorité des fibres musculaires plaident en faveur du caractère précoce, sinon initial, de cette anomalie dans le tableau pathologique; ces bâtonnets apparaissent donc bien comme la lésion dominante dans le « pattern » lésionnel de cette dystrophie. Enfin, la nature familiale de l'affection, avec reproduction du même tableau morphologique sur plusieurs éléments d'une même fratrie ou plusieurs générations, a été démontrée par les observations de SPIRO et KENNEDY, de GONATAS (1966), de HOPKINS et al.

Étant donné la parenté de structure des bâtonnets avec celle de la strie Z, cette constatation oriente vers la recherche d'une anomalie de synthèse des éléments constitutants de la strie Z; mieux, étant donné les différences de structure détaillées plus haut entre bâtonnet et strie Z dans certaines conditions de fixation, cette recherche doit retenir la possibilité d'une dissociation entre les constituants normaux de la strie Z. Un tel trouble est susceptible de s'observer dans bien des processus musculaires à un certain stade de leur évolution et avec une ampleur variable; son observation de façon prévalente et pratiquement isolée caractérise un type de dystrophie, la « Nemaline-Myopathy », donnant aux études biochimiques qui portent sur cette affection un intérêt tout particulier.

Remerciements. Nous sommes particulièrement reconnaissant à Mrs les Docteurs L. VAN BOGAERT et J. J. MARTIN d'avoir bien voulu nous confier l'étude ultrastructurale de cette observation. Nos remerciements vont également au Dr. W. KING ENGEL, pour son aide et ses critiques pertinentes, et à Mr. B. LESBATS pour sa précieuse collaboration.

Bibliographie

- AFIFI, A. K., J. W. SMITH, and H. ZELLWEGER: Congenital non-progressive myopathy. Central core disease and nemaline myopathy in one family. *Neurology (Minneapolis)* **15**, 371—381 (1965).
- AUBER, J.: Les premiers stades de la myofibrillogénèse dans les muscles du vol de *Calliphora erythrocephala*. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **258**, 708—710 (1964).
- CONEN, P. E., E. G. MURPHY, and W. L. DONOHUE: Light and electron microscopic studies of "Myogranules" in a child with hypotonia and muscle weakness. *Canad. med. Ass. J.* **89**, 983—986 (1963).
- CORNOG, J. L., JR., and N. K. GONATAS: Ultrastructure of Rhabdomyoma. *J. Ultrastruct. Res.* **20**, 433—450 (1967).
- ENGEL, A. G.: Late-onset rod myopathy (a new syndrome?): light and electron microscopic observations in two cases. *Proc. Mayo Clin.* **41**, 713—741 (1966).
- , and M. R. GOMEZ: Nemaline (Z disk) myopathy: observations on the origin, structure, and solubility properties of the nemaline structures. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **26**, 601—619 (1967).
- ENGEL, W. K.: Discussion of the presentation by LINDSEY, J. R., I. J. HOPKINS and D. B. CLARK at the 42nd. Annual meeting of Am. Ass. of Neuropathologists. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **26**, 129—130 (1967).

- ENGEL, W. K., and J. S. RESNICK: Late-onset Rod Myopathy: a newly recognized, acquired and progressive disease (Abstr.). *Neurology (Minneap.)* **16**, 308—309 (1966).
- , TH. WANKO, and G. M. FÉNICHEL: Nemaline Myopathy. A second case. *Arch. Neurol. (Chic.)* **11**, 22—39 (1964).
- FARDEAU, M.: Présence de nombreux microtubules dans les fibres musculaires squelettiques au cours de l'atrophie neurogène par atteinte périphérique. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **159**, 302—303 (1965 b).
- Ultrastructure of the stria Z du muscle squelettique humain. *J. Micr.* **5**, 46 a—47 a (1966).
- J. LAPRESLE et M. MILHAUD: Contribution à l'étude des lésions élémentaires du muscle squelettique: ultrastructure des Masses Sarcoplasmiques latérales. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **159**, 15—17 (1965 a).
- FAWCETT, D. W.: The sporadic occurrence in cardiac muscle of abnormal Z bands exhibiting a periodic structure suggestive of tropomyosine. *J. Cell Biol.* **36**, 266—270 (1968).
- GONATAS, N. K.: The fine structure of the rod-like bodies in nemaline myopathy and their relation to the Z-discs. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **25**, 409—421 (1966 b).
- G. M. SHY, and G. H. GODFREY: The origin of nemalin structures. *New Engl. J. Med.* **274**, 535—539 (1966 a).
- HEFFERNAN, L. P., N. B. REWCASTLE, and J. G. HUMPHREY: The spectrum of Rod Myopathies. *Arch. Neurol. (Chic.)* **18**, 529—542 (1968).
- HOPKINS, I. J., J. R. LINDSEY, and F. R. FORD: Nemaline Myopathy. A long-term clinicopathologic study of affected mother and daughter. *Brain* **89**, 299—310 (1966).
- HUDGSON, P., D. GARDNER-MEDWIN, J. J. FULTHORPE, and J. N. WALTON: Nemaline Myopathy. *Neurology (Minneap.)* **17**, 1125—1142 (1967).
- LAPRESLE, J., et M. FARDEAU: Diagnostic histologique des atrophies et hypertrophies musculaires. Rapport au VIII^e Congrès International de Neurologie, Vienne 1965. *Rapports II*, pp. 47—66.
- MARTIN, L., and J. RENIERS: Nemaline Myopathy. I. Histochemical study. *Acta neuropath. (Berl.)* **11**, 282—293 (1968).
- MYLE, G., J. RADERMECKER et J. J. MARTIN: Sur la némaline-myopathie. *Psychiat. et Neurol. (Basel)* **154**, 37—49 (1967).
- PEARSON, C. M.: Skeletal Muscle. Basic and clinical aspects and illustrative new diseases. UCLA Interdepartmental Conference. *Ann. intern. Med.* **67**, 614—650 (1967).
- PRICE, H. M., G. B. GORDON, C. M. PEARSON, T. L. MUNSAT, and J. M. BLUMBERG: New evidence for excessive accumulation of Z-band material in Nemaline Myopathy. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **54**, 1398—1406 (1965).
- RECONDO, J. DE, M. FARDEAU et J. LAPRESLE: Etude au microscope électronique des lésions musculaires d'atrophie neurogène par atteinte de la corne antérieure (observées dans huit cas de sclérose latérale amyotrophique). *Rev. neurol.* **114**, 169—192 (1966).
- REEDY, M. K.: Discussion of the communication by J. HANSON and J. LOWY. *Proc. roy. Soc. B* **160**, 458—460 (1964).
- REWCASTLE, N. B., and J. G. HUMPHREY: Vacuolar Myopathy: clinical, histochemical, and microscopic study. *Arch. Neurol. (Chic.)* **12**, 570—582 (1965).
- SHAFIQ, S. A., V. DUBOWITZ, H. DE C. PETERSON, and A. T. MILHORAT: Nemaline myopathy: report of a fatal case, with histochemical and electron microscopic studies. *Brain* **90**, 817—828 (1967).
- SHY, G. M., W. K. ENGEL, J. E. SOMERS, and TH. WANKO: Nemaline Myopathy: a new congenital myopathy. *Brain* **86**, 793—810 (1963).
- SPIRO, A. J., and C. KENNEDY: Hereditary occurrence of Nemaline Myopathy. *Arch. Neurol. (Chic.)* **13**, 155—159 (1965).

M. FARDEAU
 Service de Microscopie Electronique
 (Directeur: PR. RAYMOND GARCIN)
 Division Risler
 Hôpital de la Salpêtrière
 Paris (France)