

Основные разновидности воспалительных миопатий: морфологическая дифференциальная диагностика

С.Г. Раденска-Лоповок

ФГБУ НИИ ревматологии РАМН, Москва

Контакты: Стефка Господиновна Раденска-Лоповок radenska@mail.ru

В обзоре представлены морфологические подходы диагностики основных нозологических форм воспалительных миопатий. Отражены принципы взятия биоптатов скелетных мышц и методы их гистологической обработки. Дана характеристика гистохимических и иммуногистохимических тканевых маркеров этих заболеваний. Представлены некоторые спорные вопросы морфологической диагностики, а также возможные диагностические ошибки.

Ключевые слова: идиопатические воспалительные миопатии, морфологическая диагностика, иммуногистохимические маркеры

Morphological differential diagnosis of the main types of inflammatory myopathies

S.G. Radenska-Lopovok

Research Institute of Rheumatology Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The review provides an update on the diagnosis of the main subtypes of inflammatory myopathies. Proper choice of biopsied muscle and histological methods of investigation are presented. Histochemical and immunohistochemical characteristic of tissue markers in inflammatory myopathies are given. Some dilemmas, as well as the most common errors of histological diagnostics are discussed.

Key words: idiopathic inflammatory myopathies, histological diagnostics, immunohistochemical markers

К воспалительным миопатиям относят подострые, хронические, а иногда и острые мышечные болезни, объединенные умеренной или тяжелой мышечной слабостью и воспалением мышечной ткани, выявляемым в биоптатах [1, 2]. Клиническая значимость этих заболеваний обусловлена большой распространенностью среди детей и взрослых, а также хорошим ответом на терапию [1–7].

Основные проявления мышечной патологии, уникальные патогенетические механизмы ее развития, иммунопатологические, гистологические и прогностические критерии дают возможность проводить морфологическую диагностику и выделить 4 подгруппы: полимиозит, дерматомиозит, некротизирующий аутоиммунный миозит и спорадический миозит с включениями [6, 7]. Аутоиммунные нарушения первичны и вызваны либо цитотоксическим действием Т-лимфоцитов (как при полимиозите и спорадическом миозите с включениями), комплементиндуцированной микроангиопатией (как при дерматомиозите), либо макрофагами и, вероятно, антителами (как при некротизирующем аутоиммунном миозите) [1–7]. Спорадический миозит с включениями является уникальным сочетанием аутоиммунного воспаления с дегенеративными изменениями. Выявляются вакуолизация и депозиты амилоида в мышечных волокнах, а также молекулы амилоида аналогичные тем, которые встречаются при болезни Альцгеймера [8]. Во всех случаях воспалительных миопатий

в мышечной ткани выявлена выраженная экспрессия провоспалительных цитокинов: факторы некроза опухоли (ФНО) — ФНО- β 1, ФНО- β 2, ФНО- β 3. ФНО- β 1 локализуется преимущественно в моноцитарных клеточных инфильтратах, ФНО- β 2 выявляется в эндотелии капилляров и сосудов среднего калибра, а также в мононуклеарах. Локализация экспрессии ФНО- β 3 аналогична таковой ФНО- β 1, но экспрессируется в экстрацеллюлярном матриксе. Следует подчеркнуть, что экспрессия интерлейкинов (ИЛ) ИЛ-1 α , ИЛ-1 β отличается при дерматомиозите, полимиозите и спорадическом миозите с включениями [9].

Биопсийная диагностика считается важным методом диагностики воспалительных миопатий, так как в мышечных образцах можно отметить четкие специфические гистологические признаки каждой из воспалительных миопатий. В связи с этим особенно важны принципы получения и исследования материала.

Выбор места взятия биоптата мышцы определяется клинически умеренно выраженной слабостью мышцы и предполагает достаточную информативность гистологического исследования. Магнитно-резонансное исследование может помочь в выборе места взятия биоптата. Предпочтительна открытая биопсия, так как она позволяет получить достаточно большой образец, подходящий для обнаружения разнообразных по выраженности и характеру воспалительных очагов.

Обработка материала. Криостатные срезы из замороженных биоптатов дают возможность применить гистохимическое исследование ферментов и иммуногистохимическое определение главного комплекса гистосовместимости-1 (ГКГ-1) или комплемента, а также выявить субклассы Т-лимфоцитов. Современные наборы реактивов позволяют выявлять маркеры и на парафиновых срезах материала, фиксированного в забуференном 10% формалине. Электронно-микроскопический метод не относится к рутинным, но достаточно полезен в определенных условиях для научных исследований и может быть рекомендован к применению.

Интерпретация морфологических данных. При наличии характерных морфологических признаков полимиозита, дерматомиозита, некротизирующего аутоиммунного миозита или спорадического миозита с включениями гистологические трудности диагностики не возникают. Однако при отсутствии патогномичных изменений необходимы клинико-патологические корреляции, консультация эксперта или даже повторная биопсия.

Дерматомиозит является комплементзависимой микроангиопатией, ведущей к разрушению капилляров, повышенной инфильтрации плазмой и воспалительными клетками в перифасцикулярных пространствах. В эндотелиальных клетках выявляется выраженная экспрессия ИЛ-1 α . Этот цитокин обнаруживается и в мононуклеарах, входящих в состав крупных периваскулярных инфильтратов перимизия [9]. Воспаление — преимущественно периваскулярное, но может выявляться перифасцикулярно, сочетается с перифасцикулярной атрофией мышечных волокон [1–6]. Наличие перифасцикулярной атрофии даже при отсутствии воспаления повышает вероятность наличия дерматомиозита.

Некротизирующий аутоиммунный миозит характеризуется подострой миопатией с некрозом мышечных волокон, вызванным статинокротирующим аутоиммунным миозитом, вирусной инфекцией, опухолями или аутоиммунными нарушениями. Выявляются инфильтраты из макрофагов при отсутствии Т-клеток; ГКГ-1 экспрессируется нерегулярно, сверхэкспрессия описана при некротизирующем аутоиммунном миозите, вызванном статинами [10]. В некоторых случаях в утолщенных сосудистых стенках обнаруживаются депозиты комплемента.

При **полимиозите и спорадическом миозите с включениями** в эндомизии наблюдаются множественные очаги воспаления. В этих очагах выявляются CD8⁺-Т-клетки, которые проникают в неизменные мышечные волокна, экспрессирующие антиген ГКГ-1, который располагается на поверхности большинства волокон. ГКГ-1/CD8⁺-комплекс характерен для полимиозита и спорадического миозита с включениями [2, 4–8]. В мононуклеарах также экспрессируется

ИЛ-1 α . Наряду с этим ИЛ-1 β экспрессируется в инфильтратах перимизия и вокруг некоторых неизменных мышечных волокон, в то же время ИЛ-1 β отсутствует в эндотелиальных клетках [9]. Эти клетки преимущественно локализуются вокруг некротизированных мышечных волокон, но могут выявляться и вокруг неизменных волокон. Кроме того, спорадический миозит с включениями отличается наличием вакуолей с ободком и нежными депозитами амилоида, обычно расположенными внутри или рядом с вакуолями. Амилоид легко выявляется окраской конго красным или кристаллическим фиолетовым [3, 8]. Вакуоли волокнистых масс размером 12–16 нм идентичны фибриллам, обнаруженным в мозге при болезни Альцгеймера [11–14]. Голубоватые гранулы, выстилающие вакуоли, соответствуют миелиноподобным цитоплазматическим структурам, выявляемым при электронной микроскопии [12]. Часто выявляются рыхлые красные фибриллярные структуры с большим количеством митохондрий и отсутствием ДНК, наряду с фибриллами, лишенными цитохромоксидазы [8, 13]. При спорадическом миозите с включениями в мышечных волокнах накапливаются молекулы β -амилоида и его предшественника α -цитотрипсина, аполипопротеина Е и др. [11–14]. Эти вещества наряду с ядерными молекулами, такими как TDP-43 и VCP, не являются специфичными для спорадического миозита с включениями, так как встречаются и при других миопатиях с вакуолями, например при наследственном спорадическом миозите с включениями, и даже при некоторых хронических нейрогенных состояниях [13, 15–24]. Следует отметить, что нет ни одной молекулы, которую можно рассматривать как биомаркер спорадического миозита с включениями. Отмеченная иммунореактивность TDP-43 и SMI-31 [23, 24] неспецифична для спорадического миозита с включениями. Недавно выявленная иммунореактивность маркера p62 [12] более интересна и может быть более специфична, нежели SMI-31, но пока не изучена при других миопатиях с вакуолями. Диагностический маркер не так нужен при спорадическом миозите с включениями, когда имеются типичные гистологические изменения, но необходим при вероятных формах заболевания, когда отсутствуют вакуоли и конго-положительные депозиты, а также для дифференциации спорадического миозита с включениями и невоспалительных миопатий с вакуолями [25].

Спорные вопросы гистологической диагностики полимиозита и спорадического миозита с включениями. Сочетание воспаления эндомизия с вакуолями с ободком, с распространенной экспрессией ГКГ-1 с CD8⁺-Т-клетки, с бедными циклооксигеназой волокнами и конго-положительными депозитами является диагностическим признаком спорадического миозита с включениями [26, 27]. Диагноз затруднителен у 15% пациентов, даже когда имеются четкие клинические

симптомы спорадического миозита с включениями, однако биопсия не выявляет вакуолизацию, а лишь воспаление с экспрессией ГКГ-1 и CD8⁺-Т-клеток. В таких случаях говорят о «полимиозите/спорадическом миозите с включениями» или о «вероятном спорадическом миозите с включениями». Во избежание неправильного диагноза полимиозита необходимо подробное клинико-патологическое обсуждение. Более внимательный пересмотр таких биопсий выявляет большое количество мышечных волокон, не содержащих циклооксигеназу, в сочетании с признаками хронизации процесса, а именно гипертрофированные волокна, фрагментированные волокна, а также некроз соединительной ткани. Эти изменения указывают на наличие вероятного спорадического миозита с включениями. Повторная биопсия с другого участка тела часто помогает в постановке диагноза, так как могут быть обнаружены вакуоли и конго-положительные депозиты. Перечисленные ранее молекулярные маркеры в таких случаях пока не были исследованы.

Если сравнить провоспалительный цитокиновый профиль при воспалительных миопатиях можно выявить небольшие отличия при дерматомиозите, полимиозите и спорадическом миозите с включениями. Во-первых, экспрессия ИЛ-1 α и ИЛ-1 β выявляется в клетках воспаления сильнее и чаще при полимиозите и спорадическом миозите с включениями, чем при дерматомиозите. Во-вторых, экспрессия ФНО- β 1 выражена в большинстве клеток воспаления при дерматомиозите и полимиозите, но лишь в единичных клетках при спорадическом миозите с включениями. В-третьих, ИЛ-6 может выявляться при дерматомиозите и полимиозите, но всегда отсутствует при спорадическом миозите с включениями [9].

Ошибки трактовки гистологических данных могут привести к неверному гистологическому заключению, а следовательно, и неправильному диагнозу. Наиболее частые случаи ошибок в диагностике воспалительных миопатий связаны с неточной интерпретацией биопсии при дифференциальной диагностике: а) полимиозита и спорадического миозита с включениями, б) полимиозита и некротизирующего аутоиммунного миозита и в) полимиозита или некротизирующего аутоиммунного миозита и «воспалительной дистрофии» (мышечная дистрофия с выраженным воспалением в биоптате) [3, 6–8, 27].

Самая частая ошибка при трактовке гистологических признаков связана со следующими трудностями.

1. Неспособность различить некроз мышечных волокон, обусловленный внедрением цитотоксических лимфоцитов (при полимиозите и спорадическом миозите с включениями), от инвазии макрофагов в мышечное волокно при воспалительной дистрофии и некротизирующем аутоиммунном миозите. При некоторых дистрофиях (дистрофия Дюшенна и др.) также может наблюдаться лимфоцитарная инфильтрация эндомизия,

но при этом отсутствует экспрессия ГКГ-1/CD8⁺, что характерно для полимиозита и спорадического миозита с включениями.

2. Затруднения в оценке степени распространенности экспрессии ГКГ-1 на поверхности большинства мышечных волокон как особенности полимиозита и спорадического миозита с включениями. Этот феномен выявляется при дерматомиозите только в перифасцикулярных участках [28, 29]. Распространенная экспрессия ГКГ-1 не выявляется при дегенеративных заболеваниях, дистрофиях или метаболических миопатиях. Исключение составляют регенерирующие или инфильтрированные макрофагами и лимфоцитами волокна. Таким образом, ГКГ-1 является полезным диагностическим признаком.

3. Невозможность оценить минимальные патологические признаки как проявления полиморфности очаговых изменений. В таких случаях необходима повторная биопсия, которая повышает возможность верификации диагноза [3, 29].

4. Невозможность определить перифасцикулярные изменения как проявление дерматомиозита, даже если воспалительные инфильтраты отсутствуют. Отсутствие воспалительно-клеточных инфильтратов может привести к ошибочному заключению о «неспецифических изменениях».

5. В биоптатах 15% больных с типичными клиническими симптомами спорадического миозита с включениями имеются воспалительные проявления в мышцах, указывающие на вероятный полимиозит, без вакуолизации мышечных волокон и без депозитов амилоида. Таким пациентам необходимо ставить диагноз «вероятный спорадический миозит с включениями», «полимиозит/спорадический миозит с включениями», «клинический спорадический миозит с включениями» [26].

6. Невозможность комплексно оценить патологию сосудов в биоптатах. В таких случаях целесообразно искать отложения комплемента, что нередко помогает в диагностике дерматомиозита или некротизирующего аутоиммунного миозита.

7. Невозможность оценить наличие других воспалительных клеток, приводящая к диагностическим ошибкам. Например, возникают сложности при обнаружении гигантских многоядерных клеток среди эпителиоидных клеток, а также макрофагов или лимфоцитов, характерных для гранулематозной миопатии. Преобладание эозинофильных гранулоцитов в мышце или фасции может наблюдаться при эозинофильном фасциите, системном эозинофильном синдроме, обусловленном паразитарной инфекцией, при васкулите или эозинофильном миозите [4]. Часть пациентов с врожденной мутацией кальпаин-гена имеют эозинофильную инфильтрацию мышцы [29].

В заключение следует подчеркнуть, что успех диагностики воспалительных миопатий заложен в правильном выборе места взятия тканевых образцов и их

обработке с последующим комплексом гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методик. Правильный методологический подход, включающий валидизацию иммуногистохимической техники моноклональными антителами, будет способствовать дальнейшему изучению не только патоген-

нетических и морфогенетических механизмов полимиозита, дерматомиозита, спорадического миозита с включениями и некротизирующего аутоиммунного миозита, но и проведению дифференциальной диагностики, а следовательно, успешному лечению больных воспалительными миопатиями.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Dalakas M.C. Polymyositis, dermatomyositis, and inclusion-body myositis. *N Engl J Med* 1991;325:1487–98.
- Dalakas M.C., Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* 2003; 362:971–82.
- Dalakas M.C., Karpati G. The inflammatory myopathies. In: *Disorders of Voluntary Muscle* 8th edn. Eds G. Karpati, D. Hilton-Jones, K. Bushby, R.C. Griggs. Cambridge: Cambridge University Press, 2010;427–52.
- Dalakas M.C. Polymyositis, dermatomyositis and inclusion body myositis. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 17th edn. Eds A.S. Fauci, E. Braunwald, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson, J. Loscalzo. New York, NY: McGraw-Hill, 2008; 2696–703.
- Mastaglia F.L., Phillips B.A. Idiopathic inflammatory myopathies: epidemiology, classification and diagnostic criteria. *Rheum Dis Clin North Am* 2002;28:723–41.
- Dalakas M.C. Inflammatory muscle diseases: a critical review on pathogenesis and therapies. *Curr Opin Pharmacol* 2010;10:346–52.
- Schmidt J., Dalakas M.C. Pathomechanisms of inflammatory myopathies: recent advances and implications for diagnosis and therapies. *Expert Opin Med Diagn* 2010;4:241–50.
- Dalakas M.C. Sporadic inclusion body myositis — diagnosis, pathogenesis and therapeutic strategies. *Nat Clin Pract Neurol* 2006;2:437–47.
- Lunberg I., Ulfgrén A.-K., Nyberg P. et al. Cytokine production in muscle tissue of patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum* 1997; 40:865–74.
- Needham M., Fabian V., Knezevic W. et al. Progressive myopathy with upregulation of MHC-I associated with statin therapy. *Neuromuscul Disord* 2007;17:194–200.
- Askanas V., Engel W.K., Alvarez R.B., Glenner G.G. b-Amyloid protein immunoreactivity in muscle of patients with inclusion-body myositis. *Lancet* 1992;339:560–1.
- Askanas V., Engel W.K., Nogalska A. Inclusion body myositis: a degenerative muscle disease associated with intra-muscle fiber multi-protein aggregates, proteasome inhibition, endoplasmic reticulum stress and decreased lysosomal degradation. *Brain Pathol* 2009;19:493–506.
- Nogalska A., Terracciano C., D'Agostino C. et al. p62/SQSTM1 is overexpressed and prominently accumulated in inclusions of sporadic inclusion-body myositis muscle fibers, and can help differentiating it from polymyositis and dermatomyositis. *Acta Neuropathol* 2009;118:407–13.
- Askanas V., Engel W.K., Alvarez R.B. Enhanced detection of Congo-red-positive amyloid deposits in muscle fibers of inclusion body myositis and brain of Alzheimer disease using fluorescence technique. *Neurology* 1993;43:1265–7.
- Karpati G., Carpenter S. Pathology of the inflammatory myopathies. *Baillieres Clin Neurol* 1993;2:527–56.
- Griggs R.C., Askanas V., DiMauro S. et al. Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol* 1995;38:705–13.
- De Bleecker J.L., Ertl B.B., Engel A.G. Patterns of abnormal protein expression in target formations and unstructured cores. *Neuromuscul Disord* 1996;6:339–49.
- Fidzianska A., Rowinska-Marcinska K., Hausmanowa-Petrusewicz I. Coexistence of X-linked recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy with inclusion body myositis-like morphology. *Acta Neuropathol* 2004;104:197–203.
- Selcen D., Ohno K., Engel A.G. Myofibrillar myopathy: clinical, morphological and genetic studies in 63 patients. *Brain* 2004;127:439–51.
- Ferrer I., Martin B., Castano J.G. et al. Proteasomal expression, induction of immunoproteasome subunits, and local MHC class I presentation in myofibrillar myopathy and inclusion body myositis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63:484–98.
- Ferrer I., Carmona M., Blanco R. Involvement of clusterin and the aggresome in abnormal protein deposits in myofibrillar myopathies and Inclusion Body Myositis. *Brain Pathol* 2005;15:101–8.
- Semino-Mora C., Dalakas M.C. Rimmed vacuoles with b-amyloid and ubiquitinated filamentous deposits in the muscles of patients with long-standing denervation [post-poliomyelitis muscular atrophy]: similarities with inclusion body myositis. *Hum Pathol* 1998;29:1128–33.
- Weihl C.C., Temiz., Miller S.E. et al. TDP-43 accumulation in inclusion body myopathy muscle suggests a common pathogenic mechanism with frontotemporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79:1186–9.
- Salajegheh M., Pinkus J.L., Nazareno R. et al. Nature of 'Tau' immunoreactivity in normal myonuclei and inclusion body myositis. *Muscle Nerve* 2009;40:520–8.
- Chahin N., Engel A.G. Correlation of muscle biopsy, clinical course, and outcome in PM and sporadic IBM. *Neurology* 2008;70:418–24.
- Karpati G., Pouliot Y., Carpenter S. Expression of immunoreactive major histocompatibility complex products in human skeletal muscles. *Ann Neurol* 1988; 23:64–72.
- Emslie-Smith A.M., Arahata K., Engel A.G. Major histocompatibility complex class I antigen expression, immunologicalization of interferon subtypes, and T cell-mediated cytotoxicity in myopathies. *Hum Pathol* 1989; 20:224–31.
- Dalakas M.C. Mechanisms of disease: signaling pathways and immunobiology of inflammatory myopathies. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006;2:219–27.
- Dalakas M.C. Review: An update on inflammatory and autoimmune myopathy. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2011;37:226–42.