

Klinički zavod za patologiju "Ljudevit Jurak"  
Klinički bolnički centar "Sestre milosrdnice" ♦ Vinogradska 29 ♦ 10000 Zagreb

## PATOLOGIJSKA DIJAGNOZA IDIOPATSKIH UPALNIH MIOPATIJA PATHOLOGY DIAGNOSIS OF IDIOPATHIC INFLAMMATORY MYOPATHIES

Leo Pažanin

### Sažetak

Idiopatske upalne miopatije predstavljaju skupinu imunološki posredovanih bolesti uzrokovanih upalnim promjenama skeletnog mišića koje mogu dovesti do njezova ireverzibilnog oštećenja. Na temelju kliničkih, histoloških i imunoloških obilježja razlikujemo tri zasebna entiteta, a to su dermatomiozitis, polimiozitis i miozitis inkluzijskih tjelešaca. Za definitivnu potvrdu dijagnoze idiopatskih upalnih miopatija treba napraviti histološku,

histokemijsku, imunohistokemijsku i elektronsko-mikroskopsku analizu odgovarajućeg biopsijskog uzorka skeletnog mišića. Međutim, unatoč iscrpnoj morfološkoj analizi razlikovanje ovih bolesti nije uvijek očito te je za postizanje konačne dijagnoze često ključna kliničko-patološka korelacija. U ovom su članku detaljno opisana morfološka obilježja idiopatskih upalnih miopatija i njihova povezanost s patogenezom patoloških zbivanja.

### Ključne riječi

miozitis, upalna miopatija, patologijska dijagnoza

### Summary

The idiopathic inflammatory myopathies represent a group of immunologically mediated diseases characterized by inflammation of skeletal muscle potentially leading to irreversible damage. On the basis of clinical, histological and immunological features dermatomyositis, polymyositis and sporadic inclusion-body myositis are recognized as separate entities. A definitive diagnosis of idiopathic inflammatory myopathies requires detailed his-

tological, histochemical, immunohistochemical and electron-microscopic analysis of adequate muscle biopsy sample. However, in spite of thorough morphological analysis distinction of these disorders is not always straightforward and a close clinicopathological correlation is often essential to reach a correct diagnosis. Detailed morphological features of idiopathic inflammatory myopathies and their relationship to pathogenesis is outlined.

### Keywords

myositis, inflammatory myopathy, pathology diagnosis

### Uvod

Idiopatske upalne miopatije su rijetke, stečene, imunološki posredovane bolesti mišića kod kojih upalni proces dovodi do razaranja mišićnih vlakana što, ukoliko se proces ne zaustavi, u konačnici dovodi do njihove zamjene vezivnim tkivom. Na temelju kliničkih, patohistoloških i imunopatogenetskih obilježja razlikujemo po-

limiozitis, dermatomiozitis i sporadični miozitis inkluzijskih tjelešaca (s-IBM, od eng. *sporadic inclusion body myositis*) (1). Patohistološki su idiopatske upalne miopatije obilježene upalnim infiltratima limfocita, nekrozom i regeneracijom mišićnih vlakana, a u dugotrajnim slučajevima endomizijskom i perimizijskom fibrozom (2).

### Biopsija mišića

Za potvrdu dijagnoze idiopatske upalne miopatije potrebno je napraviti biopsiju mišića pri čemu je prijeko potrebno paziti na izbor mišića te na kvalitetu biopsijskog uzorka. Samo kvalitetan biopsijski uzorak omogućuje potvrdu dijagnoze. U protivnom se bolesnik nepotrebno podvrgava invazivnom dijagnostičkom postupku.

Biopsiju bi, ako je to moguće, trebalo napraviti prije početka liječenja. Za nju se bira mišić koji je zahvaćen patološkim procesom i koji je lako dostupan, a to je kod proksimalne raspodjele mišićne slabosti deltodini mišić ili četveroglavi bedreni mišić (m. vastus lateralis). Za biopsiju nisu pogodni izrazito atrofični mišići ni oni na kojima je unazad mjesec dana napravljena elektromi-

ografija. Odgovarajući bioptički uzorak predstavlja valjkasti isječak mišića dužine 1,5-2 cm i promjera 0,5-0,7 cm. Uzorak mora biti dovoljno velik jer se iz njega moraju napraviti brojni rezovi za histološku, histokemijsku (Gomori tri krom, SDH, NADH, COX, kisela fosfataza, kongo crvenilo, ATP-aza), imunohistokemijsku (MHC tip I, MAC, CD3, CD4, CD8, CD20, CD68, amiloid  $\beta$ , tau, ubikvitin) i kada je to potrebno elektronskomikro-

### **Etiopatogeneza**

Molekularna je osnova idiopatskih upalnih mio-patija, kao i drugih autoimunih reumatskih bolesti, složena što doprinosi razlikama u kliničkoj slici, težini bolesti te histopatološkom fenotipu (3). Sudeći prema sadašnjim spoznajama, idiopatske upalne mio-patije posredovane su različitim imunološkim mehanizmima što upućuje na to da se radi o različitim bolestima.

Pretpostavlja se da je polimiozitis posredovan staničnim imunološkim odgovorom usmjerenim na antigene samih mišićnih vlakana. Bitan preduvjet imunološkog međudjelovanja antigenih peptida mišićnih vlakana i citotoksičnih T-limfocita ekspresija je antigena tkivne histokompatibilnosti tipa I (MHC, od eng. *major histocompatibility antigens*) koji antigene peptide donose na površinu stanice i tu ih predočuju citotoksičnim (CD8+) T limfocitima (3). Pretpostavljeni citotoksični učinak T stanica još uvijek je prijedoran jer do sada nisu otkriveni za mišićne stanice specifični antigeni (4).

### **Patohistološka slika**

Razlika u gore opisanim imunološkim mehanizmima odražava se u raspodjeli i sastavu upalnog infiltrata u skeletnom mišiću. Zbog toga histokemijski i imunohistokemijski obrađena biopsija mišića ima ključnu ulogu u dijagnozi upalnih mio-patija jer omogućuju imunofenotipizaciju upalnog infiltrata te često, ali ne i uvijek, prepoznavanje tih razlika (10).

Histološkom slikom kod polimiozitisa i s-IBM-a prevladavaju endomizijski infiltrati CD8 pozitivnih, citotoksičnih T-limfocita i makrofaga koji okružuju, invadiraju i razaraju mišićna vlakna od kojih su pojedina nekrotična te pokazuju ekspresiju antigena tkivne histokompatibilnosti tipa I (MHC, od eng. *major histocompatibility antigens*) (3,11). U normalnom mišiću MHC tip I antigeni nalaze se samo na krvnim žilama dok se kod idiopatskih upalnih mio-patija nalazi njihova sarkolemalna ekspresija na nenekrotičnim i nekrotičnim mišićnim vlaknima (5). Ovo je vrlo karakterističan nalaz za miozitis, osobito polimiozitis i s-IBM, a može biti prisutan čak i kada nema upalnog infiltrata te se može smatrati gotovo dijagnostičkim obilježjem bolesti (4). B limfociti su malobrojni i smješteni oko perimizijskih krvnih žila ili ih nema (5,11). Prisutnost staničnog upalnog infiltrata s invazijom nenekrotičnih vlakana smatra se preduvje-

skopsku analizu. Veličina je uzroka osobito važna kod idiopatskih upalnih mio-patija kod kojih su patološke promjene žarišne te je vjerojatnije da malim uzorkom neće biti obuhvaćene. Bioptički se uzorak tijekom izrezivanja iz mišićne mase ni na koji način ne smije traumatizirati gnječenjem, istezanjem i sličnim postupcima što dovede do nastanka artefakata koji otežavaju ili onemogućuju patohistološku analizu.

Za razliku od polimiozitisa, dermatomiozitis je mikrovaskulopatija uzrokovana humoralnim imunološkim odgovorom usmjerenim na antigene endotela endomizijskih kapilara. Aktivacija komplemента dovodi do stvaranja i odlaganja C5b-9 (MAC, od eng. *membrane attack complex*) u stijenci kapilara što uzrokuje nekrozu kapilara i posljedične ishemijske promjene mišića (5).

Pretpostavlja se da je s-IBM degenerativna mio-patija sa sekundarnom upalom (6-7). Otpornost na liječenje steroidima i imunomodulatorima govori protiv autoimune prirode ove bolesti i upućuje na značaj neimunih patogenetskih mehanizama (8). Pretpostavka je da nakupljanje APP-a (APP, od eng. *amyloid precursor protein*) i  $\beta$ -amiloidnog proteina, zajedno sa starenjem unutarstaničnog okoliša, ima ključnu patogenetsku ulogu (9). Upitno je može li  $\beta$ -amiloidni protein služiti i kao antigen te dovesti do aktivacije citotoksičnih limfocita.

tom za postavljanje dijagnoze polimiozitisa iako nema dovoljno istraživačkih dokaza koji bi potvrdili dijagnostički značaj ovog histopatološkog obilježja (7).

Kod dermatomiozitisa se histološki nalaze perivaskularni/perimizijski mononuklearni stanični infiltrati kojim prevladavaju pomoćnički CD4+ T limfociti, ponekad s B limfocitima i makrofagima (3). Aktivacija komplemента dovodi do stvaranja i odlaganja C5b-9 (MAC, od eng. *membrane attack complex*) u stijenci kapilara s posljedičnom nekrozom kapilara (5). Ovi depoziti u stijenci kapilara mogu se prikazati imunofluorescencijom. Zbog nekroze njihova gustoća kod dermatomiozitisa, ali ne i polimiozitisa/IBM-a, može biti smanjena. Kvantitativne morfološke studije pokazuju da je žarišno smanjenje gustoće kapilara jedna od ranijih morfoloških promjena kod dermatomiozitisa (12). Osim toga, zbog oštećenja endotela i posljedičnih intravaskularnih tromboza nastaje ishemijsko oštećenje ili mali infarkti mišićnog tkiva (11). Za dermatomiozitis, osobito dječji oblik, patognomonična je tzv. perifascikularna atrofija koja je karakterizirana prisutnošću atrofičnih mišićnih vlakna na periferiji mišićnih snopova. Perifascikularna atrofija nije selektivna i zahvaća oba tipa mišićnih vlakana. Uzrok perifascikularne atrofije najvjerojatnije je

oštećenje mikrocirkulacije na periferiji snopova mišićnih vlakana (6). Ova se promjena ne nalazi ni kod polimiozitisa ni kod s-IBM-a (11). Perifascikularna atrofija je kasno morfološko obilježje dermatomiozitisa i nalazi se samo u 50% oboljelih odraslih osoba kojima je biopsija mišića napravljena u ranijoj fazi bolesti (12). Kod dermatomiozitisa se elektronskomikroskopski u endotelu gotovo uvijek nađu tubuloretikularne inkluzije kojih nema ni kod polimiozitisa ni kod s-IBM-a (11).

Kod s-IBM-a se uz ranije opisani upalni infiltrat nalaze i male skupina atrofičnih vlakana koje oponašaju neurogenu mišićnu atrofiju. Važno dijagnostičko obilježje s-IBM-a jesu autofagolizosomske vakuole u sarkoplazmi koje su obrubljene bazofilnim zrcima (eng. *rimmed vacuoles*). Njihova je učestalost iznimno raznolika te se nalaze u 2-70% mišićnih vlakana, a mogu biti smještene subsarkolemalno ili u središnjem dijelu mišićnog vlakna (1). Njihov nalaz međutim nije patognomoničan za s-IBM jer se nalaze i kod drugih miopatija kao što su, primjerice, okulofaringealna mišićna distrofija, ali u tim slučajevima nedostaje kronični upalni infiltrat. Bazofilna zrnca koja okružuju vakuole ultrastrukturno odgovaraju membranskim vrtlozima koji su povezani s 12-18 nm tubulofilamentima. Ovi se filamenti mogu naći i u jezgrama. Uz obrubljene vakuole kod s-IBM-a se nalaze i citoplazmatske i intranuklearne inkluzije. Citoplazmatske su inkluzije kongofilne i pokazuje imunoreaktivnost na  $\beta$ -amiloidni protein, ubikvitin, fosforilirani tau protein, presenilin-1, apolipoprotein E itd. (5). Intranuklearne filamentne inkluzije lakše se otkrivaju elektronskim mikroskopom. U pojedinim se slučajevima nalaze uzvojiti tubulofilamenti promjera 12-18 nm (11).

U skladu s Griggsovom odrednicama (13) dijagnoza s-IBM-a može se postaviti na temelju samih histopatoloških

obilježja, a to su: upalna miopatija s upalnom invazijom nenekrotičnih mišićnih vlakana, obrubljene vakuole i unutarstanične nakupine amiloida ili elektronskomikroskopski dokazano prisustvo tubulofilamenata. No postoje i bolesnici koji klinički imaju s-IBM, ali im od potrebnih histoloških obilježja nedostaju unutarstanične nakupine amiloida i tubulofilamenata. Jedno od mogućih pojašnjenja ovog nalaza jest i pretpostavka da se radi o patohistološkim obilježjima koja se javljaju u kasnijim fazama bolesti.

Kod svih triju upalnih miopatija upala dovodi do nekroze mišićnih vlakana. U ranoj je fazi sarkoplazma nekrotičnih mišićnih vlakana hipereozinofilna i zrnata, a jezgra je piknotična i karioreklična. Kasnije nekrotična mišićna vlakna postaju blijeda i vakuolirana te bivaju fagocitirana (miofagija). Kao i u drugim destruktivnim miopatijama, regeneracijska su vlakna karakterizirana velikim vezikularnim jezgrama s uočljivim jezgricama te bazofilnom sarkoplazmom. Nekrotična i regeneracijska mišićna vlakna bez ikakva su reda razbacana unutar snopova mišićnih vlakana (11). Nekrotična vlakna mogu biti pojedinačna ili u manjim skupinama (1). Kod polimiozitisa se češće nalaze pojedinačna nekrotična (*“single-fiber”* nekroze) ili regeneracijska vlakna dok se kod dermatomiozitisa češće nalaze male skupine nekrotičnih (mikroinfarkti) ili regeneracijskih vlakana (1).

#### Diferencijalna dijagnoza

Upalne promjene skeletnog mišića mogu se naći i kod mišićnih distrofija uključujući distrofinopatije, facioskapulohumeralnu mišićnu distrofiju i kongenitalnu mišićnu distrofiju uzrokovanu nedostatkom merozina. Dio ovih distrofija može se isključiti imunohistokemijskom analizom ekspresije odgovarajućih etiopatogenetski značajnih sarkolemalnih proteina. Upala isto tako može pratiti i toksične, nekrotizirajuće i metaboličke miopatije.

#### Zaključak

Iako se na prvi pogled čini da su patohistološke razlike između idiopatskih upalnih miopatija više nego jasne, to nije uvijek tako. Njihova se histopatološka obilježja često preklapaju, ponekad su oskudna ili nespecifična, ponekad lokalizacija infiltrata nije jasna ili je infiltrat i endomizijski i perimizijski (4). Intenzitet upalnog infiltrata također ne korelira s kliničkom slikom odnosno intenzitetom mišićne slabosti (3), a broj T limfocita u biopsijama bolesnika s miozitisom izrazito je varijabilan (4). Osim toga, zbog žarišne priro-

de upalnih promjena moguće je da se u klasičnim slučajevima polimiozitisa i dermatomiozitisa u biopsiji ne pronađu ni upalni infiltrati ni oštećena mišićna vlakna što predstavlja dijagnostički problem (3). Do 20% bolesnika s idiopatskim upalnim miopatijama nema upalnog infiltrata u prvoj biopsiji mišića što se pojašnjava žarišnom prirodom patoloških promjena (10). Zbog toga je za postavljanje dijagnoze često ključna tijesna kliničko-patološka korelacija i dobra suradnja liječnika kliničara i neuropatologa.

#### Literatura

1. Graham D, Lantos P, eds. *Greenfield's Neuro-pathology*. 7th ed. London, New York, New Delhi: Arnold. 2002.
2. Chinoy H, Lamb JA, Ollier WE, Cooper RG. Recent advances in the immunogenetics of idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Res Ther* 2011;13:216-25.

3. Grundtman C, Malmstrom V, Lundberg IE. Immune mechanisms in the pathogenesis of idiopathic inflammatory myopathies. Review. *Arthritis Res Ther* 2007;9:208-20.
4. Lundberg IE, Grundtman C. Developments in the scientific and clinical understanding of inflamma-

tory myopathies. Review. *Arthritis Res Ther* 2008;10:220-30.

5. Phadke R, Holton J. Pathology and Biology of Inflammatory Myopathies. *Adv Clin Neurosci Rehabil* 2007;7(2):20-2.

6. Karpati G, ed. *Structural and Molecular Basis of Skeletal Muscle Diseases*. Basel: ISN Neuroapth Press. 2002.

7. Hengstman GJ, van Engelen BG. Poymyositis, invasion of non-necrotic muscle fibers, and the art of repetition. *Br Med J* 2004;329:1464-7.

8. Lundberg Ingrid E, Grundtman C. Developments in the scientific and clinical understanding of inflammatory myopathies. Review. *Arthritis Research & Therapy* 2008;10:220-30.

9. Askanas V, Engel WK. Inclusion-body myositis: muscle-fiber molecular pathology and possible pathogenic significance of its similarity to Alzheimer and Parkinson disease brains. *Acta Neuropathol* 2008;116(6):583-95.

10. Paciello O, Papparella S. Histochemical and immunohistological approach to comparative neuromuscular disorders. *Folia Histochem Cytobiol* 2009;47(2):143-52.

11. Rosai J, ed. *Kirurška patologija*. 9. izdanje. Zagreb: Školska knjiga. 2010.

12. Hak A, de Paepe B, de Bleecker J, Tak P, de Visser M. Dermatomyositis and polymyositis: new treatment targets on the horizon. *Neth J Med* 2011;69(10):410-21.

13. Griggs CR, Askanas V, Di Mauro S, Engel A, Karpati G, Mendell RJ. i surad. Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol* 1995;38:705-13.