

Received: 17.11.2005

Accepted: 08.12.2005

Published: 31.12.2005

Morfologiczne, immunohistochemiczne i ultrastrukturalne wykładniki wtrętowego zapalenia mięśni

Morphologic, immunohistochemical and ultrastructural markers of inclusion-body myositis

Correspondence to: Zespół Nerwowo-Mięśniowy, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa, tel./faks 022 658 45 01, e-mail: neurmyol@cmdik.pan.pl
W pracy tej wykorzystano opracowanie materiału w ramach grantu KBN nr 3P05D 017 25

Streszczenie

Wtrętowe zapalenie mięśni (WZM) jest przewlekłym schorzeniem o niejasnej etiologii, występującym u ludzi w szóstej dekadzie życia. Jego wykładnikami są zmiany morfologiczne cechujące się obecnością w mięśniach włókien zanikłych, nacieków limfocytarnych, charakterystycznych wakuoli (RV) i kwasochłonnych wtrętów. Badania ultrastrukturalne wykazują tubulofilamentarne struktury tworzące jądrowe i cytoplazmatyczne wtręty. Analiza immunohistochemiczna uszkodzonych włókien wykazała gromadzenie nieprawidłowych struktur białkowych o właściwościach immunologicznych beta-amyloidu i białka tau. Obecność białek amyloidopodobnych w mięśniu, analogicznych do białek pojawiających się w chorobie Alzheimera, przyczyniła się do wysunięcia teorii przedwczesnego, nieprawidłowego starzenia się włókien mięśniowych, co cechuje właściwą WZM. Jednakże stale pojawiające się w literaturze doniesienia ukazujące współistnienie swoistych dla WZM cech morfologicznych, ze zmianami typowymi dla miopatii zapalnych, genetycznie uwarunkowanych, a także uszkodzeń neurogennych, nie potwierdzają teorii specyficzności zmian morfologicznych, obserwowanych w WZM. Pojawienie się opisów morfologicznych wykładników WZM u dzieci z miopatiami wrodzonymi podważa teorię starzenia się włókien mięśniowych. Powyższe dane wydają się wskazywać, iż morfologiczny wykładnik WZM jest nieswoistym procesem zwyrodnieniowym, który prowadzi do rozpadu białek miofibrilarnych, z towarzyszącym odczynem zapalnym występującym w różnych chorobach nerwowo-mięśniowych.

SŁOWA KLUCZOWE: morfologiczny wykładnik WZM, wodniczki, tubulofilamentarne struktury, białko tau

Summary

Inclusion body myositis (IBM) is a chronic acquired inflammatory myopathy of unknown aetiology beginning usually in the 6th decade of life. Diagnosis of IBM depends on characteristic pathological features, such as inflammatory infiltrates, atrophic fibres eosinophilic inclusions and rimmed vacuoles with the appearance nuclear and cytoplasmic tubulofilamentous inclusions seen in electron microscopy. Immunohistochemical studies performed in muscle biopsies from patients with IBM have demonstrated that vacuolated muscle fibres express numerous amyloid-associated proteins, such as beta-amyloid, tau protein and others. Because the same proteins that accumulate in the IBM muscles also accumulate in the brain in Alzheimer disease pathogenic analogies have been postulated. It was proposed that the accumulation of so-called Alzheimer's characteristic proteins provoked by an aging intracellular milieu lead to vacuolar degeneration and atrophy of muscle fibres that are specific of IBM. Nevertheless, recently accumulating evidences indicate that morphological hallmarks of IBM appear in different genetically documented neuromuscular disorders. In addition recent studies have shown that morphological alterations of IBM type as well as amyloid and tau protein have been presented in children with various types of congenital myopathy. These findings seem to indicate that pathological feature of IBM is non specific and may appear as a phenomenon in various degenerative muscle disease.

KEY WORDS: morphological hallmarks of IBM, vacuoles, tubulofilamentous inclusions, tau protein

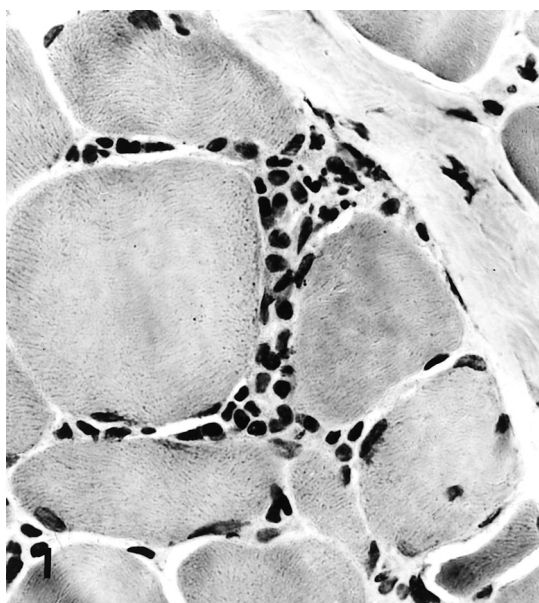
SPORADYCZNA POSTAĆ WTRĘTOWEGO ZAPALENIA MIĘŚNI (sWZM)

Obraz morfologiczny sporadycznego wtrętowego zapalenia mięśni (sWZM) cechuje współistnienie zmian pierwotnie mięśniowych z naciekami zapalnymi, specyficznymi dla schorzenia wodniczkami i kwasochłonnymi wtrętami^(1,2). Obok zanikłych, wielokątnych włókien mięśniowych obecne są włókna o właściwej średnicy oraz włókna przerosłe. Przy prawidłowo zachowanym różnicowaniu włókien na typy metaboliczne obserwowano jednak niewielką przewagę włókien typu 1. Nacieki zapalne złożone z komórek jednojądrzastych widoczne są w nieuszkodzonych włóknach mięśniowych, wokół naczyń, czasem są to drobne skupiska w *endomysium* (rys. 1). W obrębie nacieków a także komórek mięśniowych ulegających inwazji przeważają limfocyty T8 i makrofagi (rys. 2). Nierzadko obserwowano włókna szmatowate cechujące się obecnością nieprawidłowych, nadmiernie gromadzących się mitochondriów. Wodniczki różnego kształtu, czasem szczelinowate, o różnej średnicy (2-25 μm), zawierające ziarnistości zasadochłonne, widoczne są zarówno we włóknach o prawidłowej średnicy, jak i we włóknach zanikłych (rys. 3). Homogenne, kwasochłonne wtręty (rys. 4) o różnym kształcie i wielkości oraz wodniczki umiejscowione w cytoplazmie włókien mięśniowych stanowią podstawowy wyznacznik WZM^(1,2). W mikroskopie elektronowym włókna zawierające wodniczki wykazują rozległe, nieoblonione ubytki mikrofibryli wypełnione błoniastymi i mielinopodobnymi strukturami, które zawierają amyloidopodobne, cienkie włókienka o średnicy 6-10 μm . W sąsiedztwie mielinowych struktur widoczne są gęste skupiska filamentów o zmiennym układzie wykazujące w dużych powiększeniach budowę tubularną o zewnętrz-

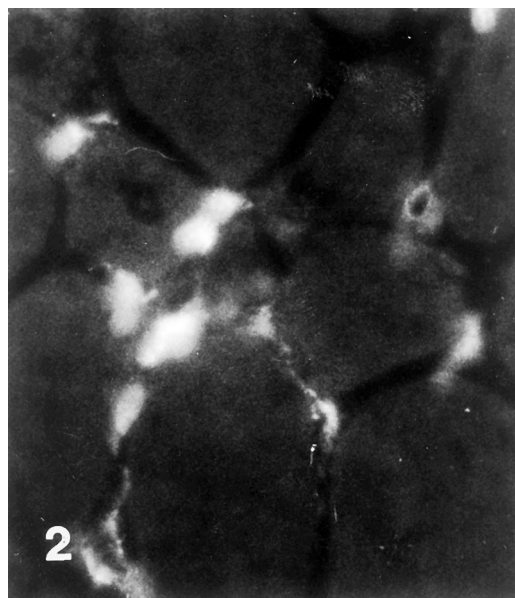
nej średnicy 15-21 μm i wewnętrznej 3-6 μm (rys. 5). Ten sam rodzaj tubulofilamentarnych struktur obserwuje się w jądrach o niezmienionej strukturze i w jądrach ulegających rozpadowi (rys. 6). W większości przypadków tubulofilamenty tworzące wtręty jądrowe i cytoplazmatyczne mają jednakowe średnice, niekiedy jednak wtręty cytoplazmatyczne są utworzone z filamentów o nieco większej średnicy (22-23 μm). Tubulofilamentarne struktury odpowiadają parzystym skręconym włóknienkom (*paired helical filaments*) obserwowanym w szeregu chorób zwyrodnieniowych ośrodkowego układu nerwowego. Badania immunohistochemiczne wykazują w mięśniach chorych z sWZM gromadzenie struktur białkowych o właściwościach kongofilnego amyloidu⁽³⁾, beta-amyloidu⁽⁴⁾, apolipoproteiny E⁽⁵⁾, fosforylowanego białka tau⁽⁶⁾ i innych białek charakterystycznych dla choroby Alzheimera⁽⁷⁾. Obecność wtrętów beta-amyloidoaktywnych i tau-pozytywnych (rys. 7, 8) o różnej wielkości i lokalizacji w obrębie włókien mięśniowych jest dodatkowym swoistym markerem sWZM. Późny początek schorzenia, po 50. r.ż., gromadzenie w mięśniu białek analogicznych do znajdujących w komórkach nerwowych w chorobie Alzheimera skłoniły Askanas i wsp. do wysunięcia hipotezy przedwczesnego, nieprawidłowego starzenia się komórki mięśniowej u pacjentów z sWZM⁽⁷⁾.

OBRAZ MORFOLOGICZNY MIĘŚNIA W RODZINNEJ MIOPATII WTRĘTOWEJ (hWZM)

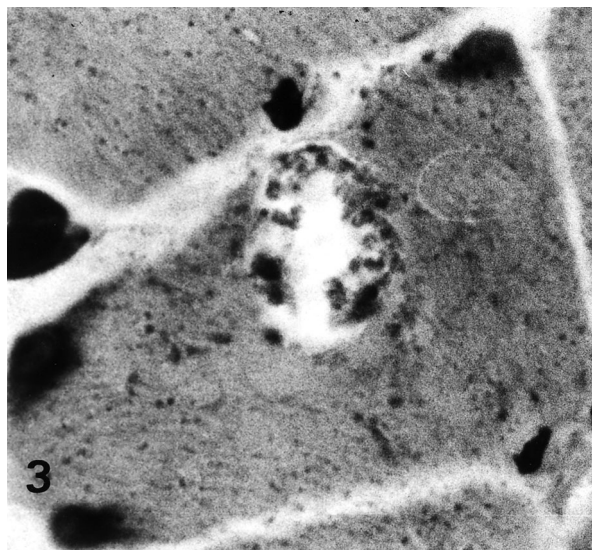
Wrodzona postać schorzenia, tak jak i postać sporadyczna, wykazuje cechy uszkodzenia pierwotnie mięśniowego z zanikiem i przerostem włókien mięśniowych, obecnością kwasochłonnych wtrętów i wodniczek różnego kształtu i wielkości. Obraz histopatologiczny hWZM róż-



Rys. 1. sWZM Nacieki komórek jednojądrzastych H-E x 448



Rys. 2. Włókno mięśniowe otoczone limfocytami T8 x 448

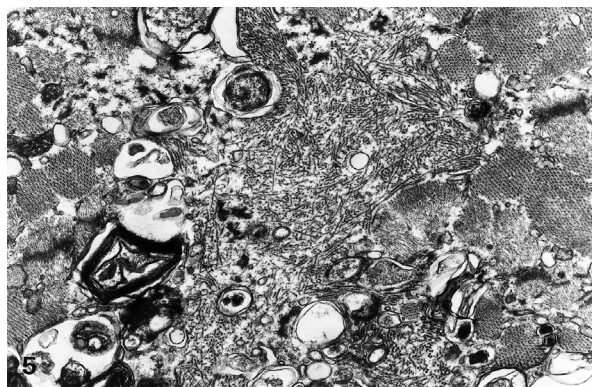


Rys. 3. Wodniczka zawierająca ziarnistości H-E x 560

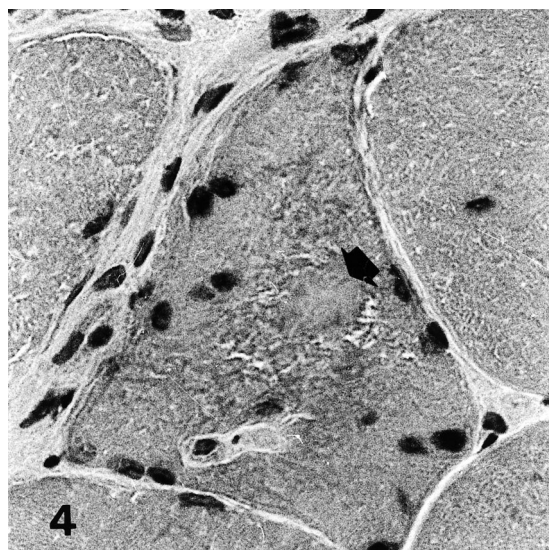
ni się od postaci sporadycznej brakiem nacieków zapalnych. Wodniczkom autofagalnym towarzyszą mielinowe struktury, tubulofilamentarne wtręty o budowie podobnej do wtrętów widocznych w sWZM. Także „helikalne” struktury obserwowane w jądrach są takie same jak struktury w sWZM. Badania immunohistochemiczne mięśni w hWZM wykazują obecność beta-amyloidu, białka tau i wzmożoną aktywność ubikwityny. Rodzinna forma WZM związana jest z mutacją w genie *GNE* zlokalizowanym na chromosomie 9p13. Wszystkie trzy formy kliniczne: wtrętowa miopatia o dziedziczeniu autosomalnym dominującym^(8,9), autosomalna recesywna^(8,9) oraz postać miopatii odsiebnej typu *Nonaka disease*⁽¹⁰⁾ wykazują identyczne zmiany morfologiczne.

CECHY MORFOLOGICZNE WZM TOWARZYSZĄCE INNYM SCHORZENIOM NERWOWO-MIĘŚNIOWYM GENETYCZNIE UWARUNKOWANYM

Badania ostatnich lat wykazują, iż morfologiczne wykładniki WZM pojawiają się w schorzeniach mięśni nie-

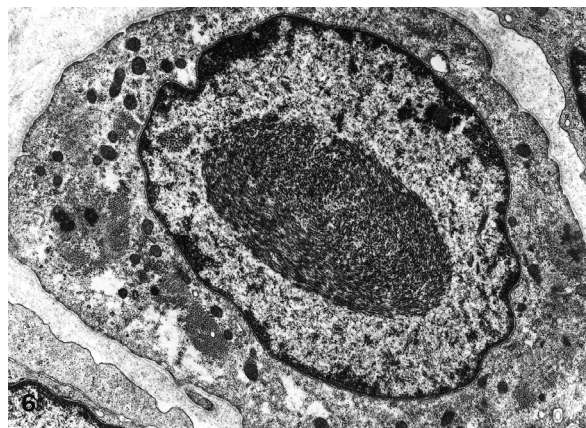


Rys. 5. sWZM Tubularne filamenty otoczone mielinowymi strukturami x 22 000

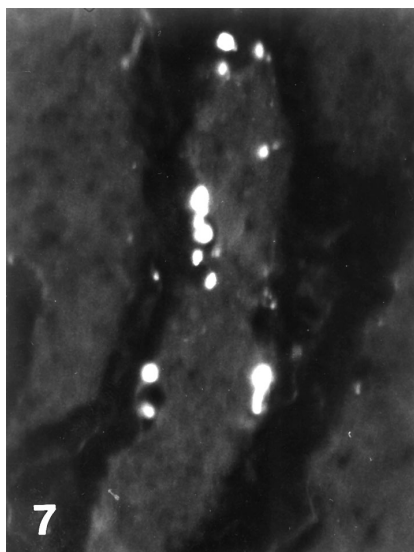


Rys. 4. Kwasochłonny wtręt wewnątrz włókna mięśniowego (strzałka) H-E x 560

związanych z mutacją w genie *GNE*. W omawianej grupie chorób, obok cech charakterystycznych dla danej miopatii, odnotowano obecność wodniczek, wtrętów tubulofilamentarnych o średnicy 15-21 μm w cytoplazmie i jądrach komórek mięśniowych. Przykładem jest pacjent z dystrofią wrodzoną (mutacja w genie *LAMA2* i deficyt merozyny), u którego obserwowano wodniczki z wtrętami tubulofilamentarnymi⁽¹¹⁾. Morfologiczne cechy sWZM z naciekami zapalnymi, wodniczkami i strukturami „helikalnymi” w cytoplazmie i jądrach komórek mięśniowych widoczne były u pacjentów z dystrofią Emery-Dreifussa i mutacją w genie emeryny zlokalizowanym na chromosomie Xp28⁽¹²⁾. U chorego z delecją w chromosomie 4q35 i z klinicznymi cechami dystrofii twarzowo-łopatkowo-ramieniowej obecne były wodniczki i wtręty tubulofilamentarne⁽¹³⁾. W miastonii wrodzonej z mutacją w podjednostce epsilon receptora ACH⁽¹⁴⁾, obok właściwych dla schorzenia zmian w polu postsynaptycznym, stwierdzono wodniczki autofagalne, struk-



Rys. 6. sWZM Wewnątrzjądrowe tubulofilamentarne wtręty x 21 000

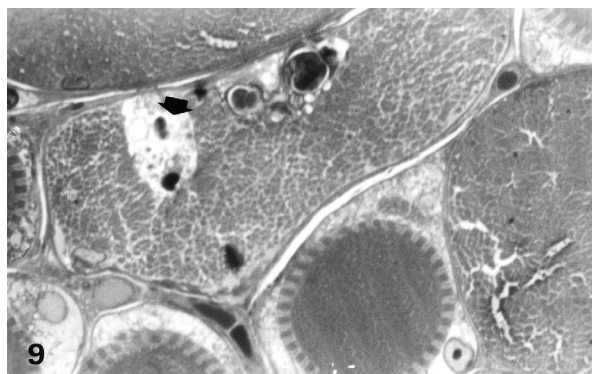


Rys. 7. sWZM Beta-amyloidopoztywne wtręty we włóknie mięśniowym x 1050

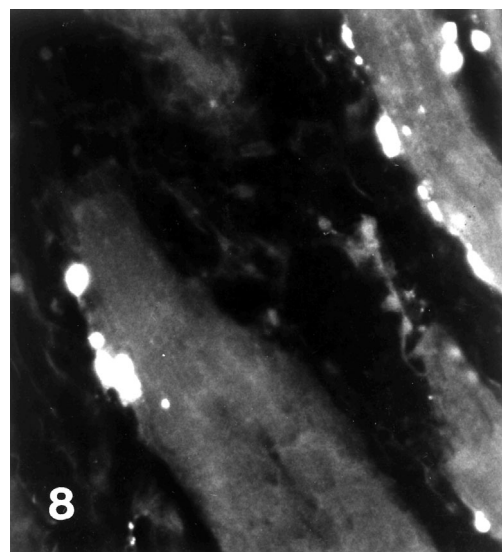
tury tubulofilamentarne w cytoplazmie i jądrach komórek mięśniowych. Stale rosnąca liczba doniesień wskazuje, że morfologiczne wyznaczniki WZM nie są swoiste i pojawiają się w różnych schorzeniach nerwowo-mięśniowych. Na uwagę zasługuje fakt, iż obserwowane były także w rodzinnej desminopatii⁽¹⁵⁾, w przewlekłym procesie odnerwienia w zespole postpolio⁽¹⁶⁾, a także we wrodzonej neuropatii⁽¹⁷⁾.

MORFOLOGICZNE WYKŁADNIKI WZM U DZIECI

Nasze badania wykazały, że morfologiczne wykładniki WZM pojawiają się również u dzieci i młodzieży. We wrodzonej miopatii z tubularnymi agregatami⁽¹⁸⁾, w miopatii z defektem budowy włókien mięśniowych, pojawieniem się włókien okrężnych⁽¹⁹⁾, w miopatii typu *central core* oraz u dziewięcioletniej dziewczynki z mutacją w genie *LMNA* i brakiem lamin AC w jądrze komórek

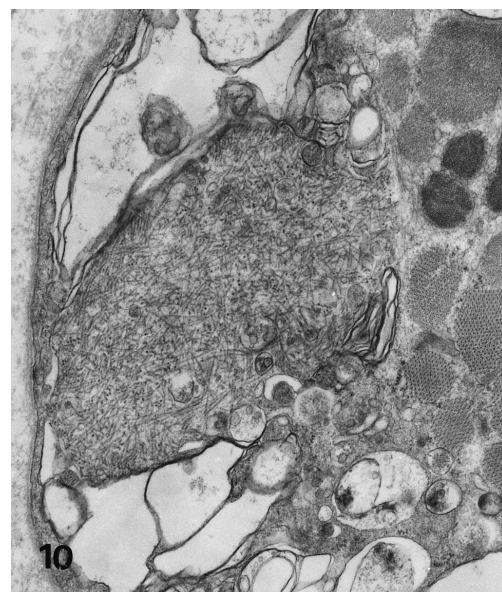


Rys. 9. Miopatia wrodzona z włóknami okrężnymi. Typowa wodniczka autofagalna (strzałka) w włóknie mięśniowym. Epon x 1050

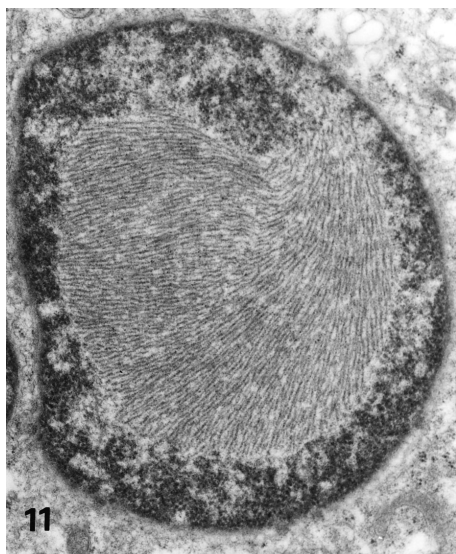


Rys. 8. sWZM Wtręty barwiące się białkiem tau x 1050

mięśniowej. We wszystkich tych przypadkach obecne były wodniczki (rys. 9) i tubulofilamentarne struktury (rys. 10) w zmienionych mięśniach i ich jądrach (rys. 11). Obserwowano także gromadzenie beta-amyloidu (rys. 12) i białka tau (rys. 13), jak również wzmożoną aktywność ubikwityny. Obecność białka tau u dzieci budziłaby zdziwienie, gdyby nie ostatnie prace Maurage'a i wsp.⁽²⁰⁾. Badania immunoelektroforetyczne przeprowadzone przez tych autorów wykazały, iż białko to gromadzone w mięśniach chorych z sWZM jest fosforylowanym N-końcowym epitopem genu białka tau o ciężarze molekularnym 60-62 kDa, różnym od białka tau o ciężarze 68 kDa obecnym w komórkach nerwowych w chorobie Alzheimera.



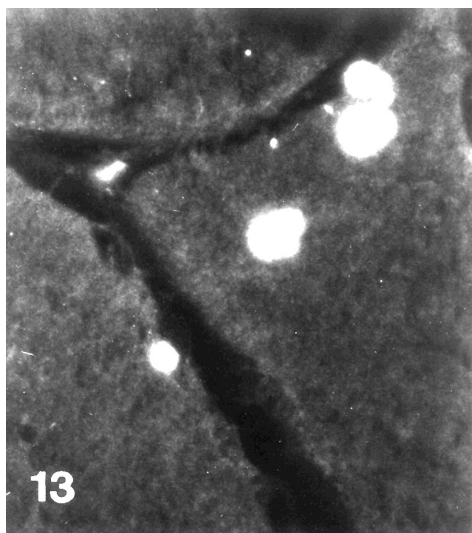
Rys. 10. Miopatia wrodzona. Wtręt cytoplazmatyczny tubulofilamentarny x 21 000



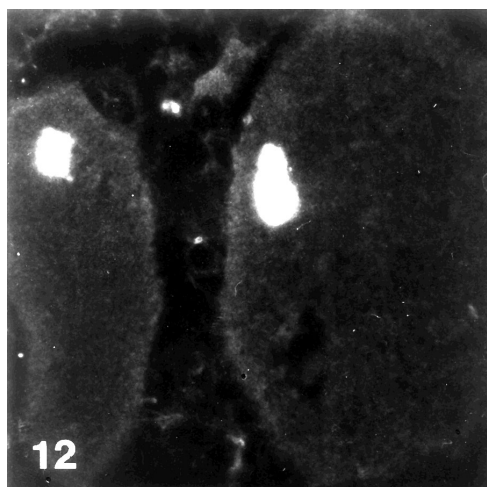
Rys. 11. Miopatia wrodzona. Wtręty wewnątrzjądrowe x 21 000

UWAGI KOŃCOWE

Przedstawione powyżej dane wydają się kwestionować swoistość zmian morfologicznych spotykanych w WZM. Występują one w wielu chorobach nerwowo-mięśniowych, zarówno sporadycznych, jak i genetycznie uwarunkowanych, pierwotnie mięśniowych i neurogennych, u pacjentów starych, młodych oraz u dzieci. Struktura gromadzonego białka tau różni się od białka w komórkach nerwowych pacjentów z chorobą Alzheimera. Można więc zadać pytanie, czy obecność nacieków, wodniczek, wtrętów tubulofilamentarnych i gromadzenie struktur immunologicznych o właściwościach białek amyloido- i tau-podobnych stanowi przejaw swoistego dla WZM procesu chorobowego, czy są to tylko wtórne



Rys. 13. Miopatia wrodzona. Wtręty barwiące się białkiem tau x 1050



Rys. 12. Miopatia wrodzona. Wtręty beta-amyloidowe x 1050

zmiany nieswoiste, które występują w przebiegu procesu degradacji nieprawidłowego lub „niechcianego” białka.

PIŚMIENICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Oldfors A., Lindberg C.: Inclusion body myositis. *Curr. Opin. Neurol.* 1999; 12: 527-533.
2. Fidziańska A., Kamińska A.M.: Wtrętowe zapalenie mięśni. *Psych. Neurol.* 1998; 2: 11-13.
3. Mendell J.R., Sahenk Z., Gales T., Paul L.: Amyloid filaments in inclusion body myositis. Novel findings provide insight into nature of filaments. *Arch. Neurol.* 1991; 48: 1229-1234.
4. Askanas V., Mirabella M., Engel W.K. i wsp.: Apolipoprotein E immunoreactive deposits in inclusion-body muscle diseases. *Lancet* 1994; 343: 364-365.
5. Askanas V., Engel W.K., Alvarez R.M.: Light and electron microscopic localization of beta-amyloid protein in muscle biopsies of patients with inclusion body myositis. *Am. J. Pathol.* 1992; 141: 31-36.
6. Askanas V., Engel W.K., Bilak M. i wsp.: Twisted tubulofilaments of inclusion body myositis muscle resembled paired helical filaments of Alzheimer brain and contain hyperphosphorylated tau. *Am. J. Pathol.* 1994; 144: 177-187.
7. Askanas V., Engel W.K.: Inclusion body myositis. Newest concepts of pathogenesis and relation to aging and Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001; 60: 1-14.
8. Argov Z., Tiram E., Eisenberg I. i wsp.: Various types of hereditary inclusion body myopathies map to chromosome 9p1-q1. *Ann. Neurol.* 1997; 41: 548-551.
9. Tome F.M., Fardeau M.: Hereditary inclusion body myopathies. *Curr. Opin. Neurol.* 1998; 11: 453-459.
10. Hinderlich S., Salama I., Eisenberg I., Mitrani-Rosenbaum S.: Distal myopathy with rimmed vacuoles is allelic to hereditary inclusion body myopathy. *Neurology* 2003; 61: 145.
11. Di Blasi C., Mora M., Pareyson D. i wsp.: Partial laminin alpha 2 chain deficiency in a patient with myopathy resembling inclusion body myositis. *Ann. Neurol.* 2000; 47: 811-816.

12. Fidziańska A., Rowińska-Marcińska K., Hausmanowa-Petrusewicz I.: Coexistence of X-linked recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy with inclusion body myositis-like morphology. *Acta Neuropathol.* 2004; 107: 197-203.
13. Neudecker S., Krasnianski M., Bahn E. i wsp.: Rimmed vacuoles in scapulohumeral muscular dystrophy. *Acta Neuropathol.* 2004; 108: 257-259.
14. Fidziańska A., Ryniewicz B., Shen X.M., Engel A.G.: IBM type inclusions in a patient with slow channel syndrome caused by mutation in AChR epsilon subunit. *Neuromuscular Dis.* 2005; 15: 753-759.
15. Fidziańska A., Drac H., Kamińska A.M.: Familial inclusion body myopathy with desmin storage. *Acta Neuropathol.* 1999; 97: 509-514.
16. Semino-Mora C., Dalakas M.C.: Rimmed vacuoles with beta-amyloid and ubiquitinated filaments deposits in the muscle of patients with longstanding denervation (Post-polio myelitis muscular atrophy): similarities with inclusion body myositis. *Hum. Pathol.* 1998; 29: 1128-1133.
17. Hermanns B., Molnar M., Schroder J.M.: Peripheral neuropathy associated with hereditary and sporadic inclusion body myositis: confirmation by electron microscopy and morphometry. *J. Neurol. Sci.* 2000; 179: 92-102.
18. Fidziańska A., Kamińska A.M., Ryniewicz B.: Congenital myopathy with tubular aggregates and tubulofilamentous IBM-type inclusions. *Neuropediatrics* 2005; 36: 35-39.
19. Fidziańska A., Kamińska A.M.: Congenital myopathy with abundant ring fibres rimmed vacuoles and inclusion body myositis type inclusions. *Neuropediatrics* 2003; 34: 40-44.
20. Maurage C.A., Bussiere T., Sergeant H. i wsp.: Tau aggregates are abnormally phosphorylated in inclusion body myositis and have an immunoelectrophoretic profil distinct from other taupathies. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2004; 30: 624-634.

Szanowni Autorzy!

Uprzejmie przypominamy, że zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dn. 2 października 2004 roku w sprawie sposobów dopełnienia obowiązku doskonalenia zawodowego lekarzy i lekarzy dentystów publikacja artykułu w czasopiśmie „AKTUALNOŚCI NEUROLOGICZNE” – indeksowanym w Index Copernicus – umożliwia doliczenie 20 punktów edukacyjnych za każdy artykuł do ewidencji doskonalenia zawodowego.

Podstawą weryfikacji jest notka bibliograficzna z artykułu.