



Alteraciones histológicas y moleculares en miopatías inflamatorias

Mónica Vázquez del Mercado Espinosa^{a,*}, Víctor Arana Argaez^b, Marcelo Heron Petri^a y Jorge Aguilar Arreola^c

^a Instituto de Investigación en Reumatología y del Sistema Músculo Esquelético, CUCS, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México

^b Universidad Autónoma de Mérida, Mérida Yucatán, México

^c OPD Hospital Civil Dr. Juan I. Menchaca, Guadalajara, Jalisco, México

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 8 de junio de 2009

Aceptado el 1 de julio de 2009

On-line el 30 de octubre de 2009

Palabras clave:

Miopatías Inflamatorias

Hallazgos Histológicos

Anticuerpos anti-SRP

RESUMEN

Los hallazgos de las biopsias musculares en las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) son divididos en: a) infiltrados inflamatorios endomisiales compuestos por células T CD8+, CD4+ y macrófagos (MΦ), y b) infiltrados perivasculares compuestos por células T CD4+, MΦ y células B. El infiltrado endomisial sugiere una reacción inmune directa hacia las fibras musculares y fue sugerido como típico para la polimiositis (PM) y la miositis de cuerpos de inclusión, mientras que el infiltrado perivascular indica una reacción inmunitaria contra los vasos sanguíneos típicos en dermatomiositis. Se ha demostrado que autoantígenos relacionados con MII (Mi-2, Jo-1, OJ, PL12, Ku, PM/Scl) son específicamente segmentados por la granzima B durante la apoptosis inducida por linfocitos T citotóxicos. En este capítulo abordamos las alteraciones histológicas y moleculares así como un grupo de anticuerpos no estudiados en la población mexicana, como son los anticuerpos anti-SRP (*signal recognition particle* 'partícula de reconocimiento de señal'), en especial autoanticuerpos anti-SRP54 y anti-SRP72 que presentan clínicamente una enfermedad aguda e involucramiento cardíaco severo, de pronóstico severo y pobres respuestas a las terapias convencionales.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Histological and molecular alterations in inflammatory myopathies

ABSTRACT

The histological findings in muscle biopsies of inflammatory myopathies have been divided into 2 groups: A) Endomysial infiltrates mainly by T CD8+, CD4+ and macrophages and B) Perivascular infiltrates by CD4+, B cells and macrophages. The first kind of infiltrate suggests an immune reaction against muscle fibers very common in PM and inclusion body myositis. On the other hand the perivascular infiltrate is a hallmark of DM. It has been shown that autoantigens related with myopathies such as Mi-2, Jo-1, OJ, PL12, Ku, PM/Scl are able to suffer proteolytic cleavage by granzyme B and other stimulus induced by cytotoxic T cells. In this chapter we will review the histological and molecular findings of inflammatory myopathies but we will also discuss a special group of myopathies related to the presence of antibodies against the SRP complex, in particular the SRP72 and SRP54 antibodies, which are associated with a poor prognosis and clinical outcome and present an inadequate response to conventional treatment.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Inflammatory myopathies

Histological findings

Anti-SRP antibodies

Introducción

El origen de las miopatías inflamatorias (MI) es incierto, ya que se ha involucrado la participación de virus (coxsackie, ecovirus e influenza), bacterias (mycobacterias y rickettsias), mecanismos de mimetismo molecular, procesos autoinmunitarios, medicamentos tóxicos, radiación UV, factores ambientales y susceptibilidad genética con la activación y desarrollo de la enfermedad¹.

Alteraciones inmunohistológicas

El principal blanco antigénico en la MI se localiza en el endotelio de los capilares endomisiales. Se ha propuesto que el daño inflamatorio observado en la MI es de origen autoinmunitario, debido a la presencia de autoanticuerpos e infiltrados celulares en los tejidos musculares principalmente compuestos por linfocitos T (LT) y macrófagos (MΦ) productores de citocinas en dermatomiositis (DM), pero además linfocitos B (LB) productores de anticuerpos en polimiositis (PM). Este daño se produce a nivel de inmunidad tanto humoral como celular; por una parte, el daño a nivel humoral se activa cuando anticuerpos putativos producidos por LB atacan directamente a las células de la pared

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: dravme@hotmail.com (M. Vázquez del Mercado Espinosa).

endotelial y la activación de la vía clásica del sistema del complemento, la cual da inicio a la fragmentación de la fracción C3 en las subunidades C3b, C3bNEO, así como fragmentos de C4b y en consecuencia, se dispara lo que se conoce como complejo de ataque a la membrana (CAM) y sus componentes C5-C9, que son proteínas líticas de la vía clásica del complemento^{1,2}.

CAM, C3b y C4b son detectados tempranamente en el suero de pacientes con DM, antes de que aparezcan los cambios inflamatorios y estructurales de origen autoinmunitario en el tejido muscular. Los depósitos de componentes del complemento en las capilares endomiales, principalmente CAM, facilitan la migración de LB, LT y MΦ al espacio intersticial. El daño humoral conlleva al depósito secuencial del complemento, que induce el crecimiento de células endoteliales, vacuolización, necrosis en los capilares, inflamación perivascular, isquemia y destrucción de fibras musculares^{1,3-5}.

Por otra parte, los mecanismos de inmunidad celular tienen una importante implicación en el desarrollo de las MI. El mecanismo de daño es incierto, pero se cree que este daño es iniciado en el tejido muscular por virus (miopatías por cuerpos de inclusión) o bacterias, los cuales tienen secuencias de aminoácidos conservados que son reconocidos por células dendríticas (CD) en el espacio intersticial, ya que se ha descrito su presencia en infiltrados musculares empleando marcadores para CD maduras e inmaduras (CD1a y DC-LAMP/CD83)^{6,7}.

Las CD, al reconocer secuencias conservadas de estos virus o bacterias, son activadas, las fagocitan y las procesan. Una vez activadas, las CD migran hacia los nódulos linfoides, en donde presentan los antígenos a los LT y LB. En DM se ha reportado la principal proliferación de LT CD4 (+), los cuales liberan citocinas al torrente sanguíneo. Por otro lado, la sobre-regulación de moléculas de adhesión de células vasculares (VCAM-1) y moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1) facilita la entrada de LB y LT activados a los espacios perimiales y endomiales^{2,8}. Los LT y los MΦ, a través de sus integrinas VLA-4 (*very late activation antigen 4*) y LFA-1 (*leukocyte function associated antigen*), se unen a estas moléculas de adhesión, facilitando su migración a través de la pared de las células endoteliales. Se conoce que en el espacio intersticial los LT a través de CTLA-4 interactúan con antígenos musculares como BB-1, el cual es ligando para CD40 también conocida como CD40 ligando (CD40L), con CD28 o ligando ICOS (ICOSL) y CD40, con subsecuente liberación de perforinas, granzimas y granulosinas que causan necrosis al tejido muscular^{1,3,9,10}.

Estudios sobre autoantígenos modificados durante la apoptosis, muestran que algunos autoantígenos relacionados con MI como Mi-2, Jo-1, OJ, PL12, Ku y PM/Scl son segmentados por granzima B, anisomicina, estaurosporina y radiación UV, exponiendo epítopes crípticos al sistema inmune, y originan auto-inmunidad en contra de Mi-2, Jo-1, OJ, PL12, Ku y PM/Scl¹¹⁻¹³.

Hallazgos histológicos en miopatías inflamatorias

Los análisis de inmunohistoquímica en las biopsias musculares humanas en MI son divididos en dos grandes tipos de infiltrados celulares definidos por su localización y fenotipo celular: A) infiltrados inflamatorios endomiales compuestos de células mononucleares con un apreciable número de células T, típicamente rodeando las fibras musculares sin hallazgos que indiquen degeneración o necrosis y con una alta prevalencia de células T CD8+, pero también de células T CD4+, y la presencia de MΦ, y B) infiltrados perivascuales compuestos de las células T, principalmente del fenotipo CD4+, MΦ y alguna extensión de células LB^{14,15}. Más recientemente, fue demostrado que algunas células CD4+ en los infiltrados perivascuales son CD plasmacitoides. El

infiltrado endomiasial sugiere una reacción inmunitaria directa hacia las fibras musculares y fue sugerido como típico para la PM y la miositis de cuerpos de inclusión (MCI), mientras que el infiltrado perivascular indica una reacción inmunitaria contra los vasos sanguíneos y fue típico para DM. Sin embargo, los hallazgos histopatológicos algunas veces pueden superponerse, ser escasos, inespecíficos o indistinguibles entre PM y DM. Las vacuolas y los cuerpos de inclusión en las fibras musculares constituyen un tercer hallazgo histopatológico que son característicos de la MCI, esto sugiere un importante mecanismo no inmunitario. Además, la baja correlación entre la severidad de los síntomas musculares, la inflamación y los cambios estructurales en las fibras indica que otros mecanismos con efectos citotóxicos directos sobre los músculos pueden empeorar su función. Estos mecanismos sugeridos que pueden jugar un rol en la debilidad muscular son la expresión sobre el músculo del complejo mayor de histocompatibilidad clase I, involucro de la microvasculatura produciendo hipoxia tisular y los disturbios metabólicos. Estos mecanismos pueden ser inducidos por varias vías y no son solamente dependientes de las vías mediadas por inmunidad¹⁶⁻¹⁸.

Involucro microvascular: un posible mecanismo de la producción del daño en la función muscular puede ser la pérdida de los capilares, el cual ha sido reportado en DM, aun en los casos tempranos sin infiltrados inflamatorios detectables^{19,20}. Otra observación que soporta una alteración en la microcirculación en el tejido muscular son los cambios morfológicos en las células endoteliales con vénulas de endotelio alto²¹. Este fenotipo indica que las células endoteliales fueron activadas. La microvasculatura fenotípicamente alterada puede afectar la circulación local del músculo y con esto desarrollar hipoxia tisular y alteraciones metabólicas reportadas en pacientes con niveles reducidos de adenosín trifosfato y fosfocreatina. Los pacientes con miositis tienen una expresión endotelial incrementada de las moléculas de adhesión, tanto intercelulares como vasculares (ICAM-1 y VCAM-1)²². En ambas, ICAM-1 y VCAM-1, se conoce que son reguladas por hipoxia. Recientemente se encontró que los pacientes con PM y DM de corta duración en los síntomas sin inflamación muscular tienen un bajo número de capilares, independientemente de la subclase de la enfermedad, indicando que la pérdida de los capilares es un evento temprano en ambos subtipos de miositis. El bajo número de capilares fue asociado a un incremento de la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular con incremento en los niveles séricos. Esto puede indicar un estado de hipoxia en el músculo de manera temprana en la enfermedad, antes de que la inflamación en el tejido muscular sea detectable, tanto en PM como en DM²³.

Hallazgos histológicos en dermatomiositis

Necrosis y regeneración de fibras musculares, microinfartos, atrofia perifascicular, infiltrado de células mononucleares (perimiasial y perivascular), especialmente LB y LT CD4+, depósito vascular de inmunoglobulina y complejo de ataque a la membrana. En algunas ocasiones por el infiltrado perivascular el daño por isquemia puede estar presente tanto en la DM como en la PM, el diagnóstico es hecho por la presencia de necrosis segmentaria de fibras musculares esqueléticas¹⁴⁻¹⁸.

Hallazgos histológicos en polimiositis

Las principales características son la mionecrosis (patrón de fibra única) y regeneración polifásica y multifocal, infiltrado perimiasial y perivascular en regiones endomiales caracterizado por la infiltración de LT CD8+ a fibras no necróticas expresando

antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) clase I. También se ha demostrado la presencia de vacuolas en anillo y depósitos de proteína amiloide. A largo plazo tiende a desarrollar tejido adiposo reemplazando tejido muscular. La presencia de fibras tipo II es la única anomalía presente en los casos con cambios mínimos. La presencia de necrosis puede ser mínima o nula^{3–5,16–18}.

Miositis por cuerpos de inclusión

Histológicamente, la MCI es prácticamente igual a la PM (con necrosis, regeneración polifásica y multifocal, infiltrado endomysial de mononucleares caracterizado por la infiltración de LT CD8+ a fibras no necróticas expresando antígenos de moléculas HLA clase I). La presencia de vacuolas en anillo y la presencia de depósitos amiloides. Una de las pocas diferencias está en la presencia de inclusiones tubulofilamentosas nucleares o citoplasmáticas de 15–18 nm y la presencia de vacuolas lineares (comparado con las vacuolas en anillo presentes en la PM)^{3–5,16–18}.

Miopatías asociadas a mal pronóstico clínico, miopatías anti-SRP positivas

Autoanticuerpos no reportados en población mexicana. Autoanticuerpos en contra del complejo SRP (*signal recognition particle* 'partícula de reconocimiento de señal').

Autoanticuerpos anti-SRP

Los anticuerpos anti-SRP se encuentran dirigidos en contra de un complejo de ribonucleoproteínas llamado SRP, que se encuentra formado por un ARN 7SL de 300 nucleótidos en asociación con 6 diferentes polipéptidos, los cuales se nombran de acuerdo con su peso molecular en kD (SRP9, SRP14, SRP19, SRP54, SRP68 y SRP72). El SRP es un complejo citosólico que tiene un papel importante en la translocación de proteínas de secreción desde el citoplasma hasta el interior del retículo endoplásmico (RE). Este complejo se asocia transitoriamente a la secuencia señal aminoterminal (NH₃) localizada en polipéptidos nacientes, formando un complejo denominado SRP-ribosoma-polipéptido naciente, el cual es dirigido por SRP al receptor de SRP localizado en la membrana del RE. Una vez unido el complejo SRP a su receptor, se une transitoriamente a un canal de translocación llamado translocón, a través del cual se interiorizan las proteínas en formación, y en el interior del RE es donde sufren los diferentes cambios postraduccionales que le dan la estructura y conformación final a la proteína. Los pacientes con autoanticuerpos anti-SRP72 presentan una enfermedad aguda e involucramiento cardíaco severo, de pronóstico severo y pobres respuestas a las terapias convencionales^{23–27}.

Bibliografía

1. Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet*. 2003;362:971–82.

- Grundtman C, Malmstrom V, Lundberg IE. Immune mechanisms in the pathogenesis of idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Res Ther*. 2007;9:208.
- Callen JP. Dermatomyositis. *Lancet*. 2000;355:53–7.
- Utz PJ, Hottelet M, Le TM, Kim SJ, Geiger ME, Van Venrooij WJ, et al. The 72-kDa component of signal recognition particle is cleaved during apoptosis. *J Biol Chem*. 1998;273:35362–70.
- Perl M, Chung CS, Ayala A. Apoptosis. *Crit Care Med*. 2005;33:S526–9.
- Callen JP. Immunomodulatory treatment for dermatomyositis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2008;8:348–53.
- Blanco P, Palucka AK, Pascual V, Banchereau J. Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2008;19:41–52.
- Ishii W, Matsuda M, Shimojima Y, Itoh S, Sumida T, Ikeda S. Flow cytometric analysis of lymphocyte subpopulations and TH1/TH2 balance in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Intern Med*. 2008;47:1593–1599.
- Nagaraju K, Casciola-Rosen L, Rosen A, Thompson C, Loeffler L, Parker T, et al. The inhibition of apoptosis in myositis and in normal muscle cells. *J Immunol*. 2000;164:5459–65.
- Targoff IN. Immune manifestations of inflammatory muscle disease. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994;20:857–80.
- Klein Gunnewiek J, Van de Putte LB, Van Venrooij WJ. The U1 snRNP complex: An autoantigen in connective tissue diseases. An update. *Clin Exp Rheumatol*. 1997;15:549–60.
- Prujin GJM, Simons FHM, Van Venrooij WJ. Intracellular localization and nucleocytoplasmic transport of Ro RNP components. *Eur J Cell Biol*. 1997;74:123–32.
- Brouwer R, Hengstman GJD, Vree Egberts W, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A, et al. Autoantibodies profile in the sera of European patients with myositis. 2007. *Ann Rheum Dis*. 2001;60:116–23.
- Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. I: Quantitation of subsets according to diagnosis and sites of accumulation and demonstration and counts of muscle fibers invaded by T cells. *Ann Neurol*. 1984;16:193–208.
- Lindberg C, Oldfors A, Tarkowski A. Local T-cell proliferation and differentiation in inflammatory myopathies. *Scand J Immunol*. 1995;41:421–6.
- Gelpi C, Kanterewicz E, Gratacos J, Targoff IN, Rodríguez-Sánchez JL. Coexistence of two antisynthetases in a patient with the antisynthetase syndrome. *Arthritis Rheum*. 1996;39:692–7.
- Greenberg SA, Bradshaw EM, Pinkus JL, Pinkus GS, Burleson T, Due B, et al. Plasma cells in muscle in inclusion body myositis and polymyositis. *Neurology*. 2005;65:1782–7.
- Nagaraju K, Casciola-Rosen L, Lundberg I, Rawat R, Cutting S, Thapliyal R, et al. Activation of the endoplasmic reticulum stress response in autoimmune myositis: Potential role in muscle fiber damage and dysfunction. *Arthritis Rheum*. 2005;52:1824–35.
- Kissel JT, Mendell JR, Rammohan KW. Microvascular deposition of complement membrane attack complex in dermatomyositis. *N Engl J Med*. 1986;314:329–334.
- Emslie-Smith AM, Engel AG. Microvascular changes in early and advanced dermatomyositis: A quantitative study. *Ann Neurol*. 1990;27:343–356.
- Girard JP, Springer TA. High endothelial venules (HEVs): Specialized endothelium for lymphocyte migration. *Immunol Today*. 1995;16:449–57.
- Lundberg I, Kratz AK, Alexanderson H, Patarroyo M. Decreased expression of interleukin-1alpha, interleukin-1beta, and cell adhesion molecules in muscle tissue following corticosteroid treatment in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Rheum*. 2000;43:336–48.
- Egea PF, Napetschnig J, Walter P, Stroud RM. Structures of SRP54 and SRP19, the two proteins that organize the ribonucleic core of the signal recognition particle from *Pyrococcus furiosus*. *PLoS ONE*. 2008;3:e3528.
- Van Nues RW, Leung E, McDonald JC, Dantuluru I, Brown JD. Roles for SRP72p in assembly, nuclear export and function of the signal recognition particle. *RNA Biol*. 2008;5:73–83.
- Iakhiaeva E, Bhuiyan SH, Yin J, Zwieb C. Protein SRP68 of human signal recognition particle: Identification of the RNA and SRP72 binding domains. *Protein Sci*. 2006;15:1290–302.
- Utz PJ, Hottelet M, Le TM, Kim SJ, Geiger ME, Van Venrooij WJ, et al. The 72-kDa component of signal recognition particle is cleaved during apoptosis. *J Biol Chem*. 1998;273:35362–70.
- Holden DJ, Brownell AK, Fritzier MJ. Clinical and serologic features of patients with polymyositis or dermatomyositis. *Can Med Assoc J*. 1985;132:649–653.