

На правах рукописи

Лищук Сергей Владимирович

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ
IgG4-СВЯЗАННОЙ БОЛЕЗНИ**

Специальность 14.03.02 – Патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт морфологии человека» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Казанцева Ирина Александровна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры патологической анатомии имени академика А.И. Струкова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет),

Раденска-Лоповок Стефка Господинова

доктор биологических наук, профессор, заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Ковригина Алла Михайловна

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится2018 г. вчасов на заседании диссертационного совета (Д 001.004.01) Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» по адресу: 117418, Москва, ул. Цюрупы, д.3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» и на сайте

www.morfolhum.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2018 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук

Михайлова Лилия Петровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

IgG4-связанная болезнь (IgG4-СБ) – относительно недавно выделенное системное аутоиммунное воспалительно-склерозирующее заболевание, которое характеризуется формированием объемных поражений различной локализации, клинически симулирующих злокачественные новообразования, выраженной лимфоплазмоцитарной инфильтрацией с обилием IgG4+ плазматических клеток (ПК), массивным склерозом, повышением уровня IgG4 в сыворотке крови и высокой терапевтической эффективностью кортикостероидов [Deshpande V. et al., 2012; Della-Torre E. et al., 2015; Khosroshahi A. et al., 2011]. Ведущая роль в патогенезе заболевания, по мнению большинства исследователей, принадлежит Т-хелперным реакциям 2-ого типа с гиперпродукцией интерлейкинов 4, 5, 10 и 13, а также регуляторных факторов роста. IgG4-связанная болезнь – это новая нозология, которая находится на стадии изучения клинико-морфологических проявлений, уточнения диагностических критериев и выработки общепринятой терминологии. Впервые заболевание было описано в 1995 году как аутоиммунный панкреатит (АИП) [Yoshida K., 1995] и даже после установления в 2001 году его связи с высоким уровнем IgG4 в сыворотке крови [Hamano H. et al., 2001], вплоть до 2008 года, термин «аутоиммунный панкреатит» предлагалось сохранить, а вовлечение в патологический процесс других органов относить к важным, но недостаточным для системного заболевания, проявлениям [Zen Y. et al., 2004; Deshpande V. et al., 2006; Kamisawa T. et al., 2006]. Международный симпозиум, объединивший более 30 специалистов, обладающих наибольшим опытом в диагностике и лечении пациентов с данной патологией, состоялся в октябре 2011 года в Бостоне, а принятый на нем консенсус был опубликован в 2012 году [Deshpande V. et al., 2012]. Заболевание получило название «IgG4-связанная болезнь» вместо ранее предлагаемых терминов «IgG4-связанная системная болезнь», «IgG4-связанная склерозирующая болезнь» и «IgG4-связанный мультиорганный лимфопролиферативный синдром» [Deshpande V. et al., 2012; Stone J.H., 2012; Stone J.H. et al., 2012]. Вместе с тем, широкая медицинская общественность все еще недостаточно знакома с клинико-морфологическими проявлениями IgG4-связанной болезни, что нередко приводит к диагностическим ошибкам и обрекает пациентов на излишние радикальные хирургические вмешательства.

Степень разработанности темы исследования

При IgG4-связанной болезни наиболее часто наблюдается поражение поджелудочной железы – аутоиммунный панкреатит 1-ого типа. Однако системный характер заболевания обуславливает поражение других органов и

тканей, таких как слезные и слюнные железы, лимфатические узлы, легкие, желчные протоки, забрюшинное пространство, почки [Cheuk W. et al., 2008; Fujimori N. et al., 2013; Furukawa S. et al., 2015]. К редким проявлениям болезни относят склерозирующий холецистит [Ильченко А.А. и др., 2009; Takahashi K. et al., 2015], аутоиммунный склерозирующий гепатит, IgG4-связанный простатит [Nishimori I. et al., 2007], фиброз щитовидной железы, (т.н. зоб Риделя), IgG4-связанный склерозирующий мастит [Schiffenbauer A.I. et al., 2012], IgG4-связанный склерозирующий пахименингит [Wallace Z.S. et al., 2013]; некоторые т.н. псевдолимфомы кожи (В-клеточную лимфоидную гиперплазию) и лимфоматоидный гранулематоз [Sato Y. et al., 2010], IgG4-связанную воспалительную аневризму брюшной аорты [Raparia K. et al., 2013].

Согласно рекомендациям Консенсуса (Бостон, 2012 г) для унификации оценки патоморфологических изменений в пораженных органах и выработки единых подходов к диагностике IgG4-связанной болезни с целью повышения воспроизводимости этого диагноза были обозначены «предположительные» гистологические признаки [Deshpande V. et al., 2012] и предложены три «больших» гистологических критерия IgG4-связанной болезни [Geyer J.T. et al., 2010; Zen Y. et al., 2010; Deshpande V. et al., 2011]:

- выраженная лимфо-плазмоцитарная инфильтрация;
- фиброз, который хотя бы частично имеет вихреобразный, (муаровый, «сториформный») рисунок;
- облитерирующий флебит.

Постановка диагноза IgG4-связанной болезни возможна при обнаружении как минимум двух «больших» гистологических критериев.

Высокое содержание IgG4+ плазматических клеток в пораженной ткани также является важным диагностическим критерием, который должен рассматриваться в комплексе с другими изменениями и не является специфичным, поскольку сам по себе встречается и при других аутоиммунных заболеваниях, например, при ревматоидном артрите и болезни Кастлемана [Sato Y. et al., 2010]. Установлено, что диагностическое значение имеет содержание в воспалительном инфильтрате более 50 IgG4+ ПК в одном поле зрения при большом увеличении (ПЗБУ) микроскопа x400 [Zhang L. et al., 2007; Dhall D. et al., 2010]. Однако выраженность лимфоплазмоцитарной инфильтрации в различных органах может значительно варьировать. Поэтому другие исследователи предлагают определять соотношение IgG4+ ПК/IgG+ ПК, которое, по их мнению, является более объективным критерием [Sato Y. et al., 2009; Cheuk W. et al., 2010; Sato Y. et al., 2010; Zen Y. et al., 2010]. Согласно этой концепции, доля IgG4+ ПК при IgG4-связанной болезни должна составлять

более 40%, при этом в большинстве наблюдений она существенно выше [Sato Y. et al., 2009; Cheuk W. et al., 2010].

Обоснование проведения исследования

Имеющиеся многочисленные публикации позволяют полагать, что IgG4-связанная болезнь – это системная патология, распознавание органных проявлений которой имеет решающее значение для выбора тактики лечения больного, и в ряде случаев помогает избежать хирургического вмешательства, назначив патогенетически обоснованную и высокоэффективную стероидную терапию. Отсутствие точных знаний об этиологических, патогенетических и клеточно-молекулярных механизмах IgG4-связанной болезни диктует необходимость разработки алгоритма ее дифференциальной диагностики с другими аутоиммунными системными патологическими процессами и онкологическими заболеваниями с использованием современных методов патоморфологического исследования.

Цель исследования - усовершенствовать патоморфологические критерии диагностики различных клинических вариантов IgG4-связанной болезни.

Задачи исследования

1. Провести комплексное изучение диагностических биопсий и операционного материала опухолеподобных поражений различных органов и тканей с предположительным диагнозом IgG4-связанной болезни по результатам патоморфологического исследования.

2. Изучить морфологические особенности этих поражений в зависимости от локализации и клинических проявлений заболевания.

3. Оценить диапазон колебаний количества IgG4+ ПК в воспалительном инфильтрате различных органов и тканей при IgG4-связанной болезни.

4. Провести на собственном материале апробацию рекомендаций международного консенсуса по критериям диагностики IgG4-связанной болезни (Бостон, 2012 г).

5. Разработать алгоритм патоморфологической диагностики IgG4-связанной болезни.

Теоретической и методологической базой диссертационного исследования являются научные работы и методические разработки отечественных и зарубежных авторов, посвященные патоморфологической характеристике, патогенезу и диагностике IgG4-связанной болезни.

Информационной базой исследования являются научные статьи в рецензируемых журналах, монографии, материалы конференций соответствующей научной тематики.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.03.02 «Патологическая анатомия» согласно пунктам 2, 3, 4.

Научная новизна

Дана подробная клинико-морфологическая характеристика IgG4-связанной болезни в соответствии с рекомендациями международного Консенсуса по критериям её диагностики (Бостон, 2012 г).

Определен диапазон диагностических значений количества IgG4+ ПК в воспалительном инфильтрате различных органов и тканей при IgG4-связанной болезни.

Впервые описаны наблюдения IgG4-связанной болезни с поражением глаза и тимуса, а также развитие рака желудка при IgG4-связанной болезни.

Практическая и теоретическая значимость

Дана подробная клинико-морфологическая характеристика IgG4-связанной болезни, описаны особенности морфологических изменений в различных органах и тканях.

Разработан и внедрен в рутинную практику оптимальный набор морфологических и иммуногистохимических методов диагностики этого заболевания с использованием рекомендаций Консенсуса по критериям диагностики IgG4-связанной болезни (Бостон, 2012 г).

Разработан и внедрен в практику алгоритм морфологической диагностики IgG4-связанной болезни.

Создан цифровой архив сканированных микропрепаратов от пациентов с IgG4-связанной болезнью, который может быть использован в качестве учебного пособия в системе дополнительного профессионального образования врачей патологоанатомов.

Полученные в результате работы теоретические данные расширяют и систематизируют существующие представления об органных поражениях при IgG4-связанной болезни и могут служить основой для проведения исследований аутоиммунных поражений различных локализаций.

Методология и методы исследования

Методологически работа построена на принципах системного анализа комплекса данных. В работе использованы морфологический, иммуногистохимический, морфометрический, статистический методы.

Положения, выносимые на защиту

1. IgG4-связанная болезнь характеризуется не только полиорганностью развивающихся патологических изменений, но и метакронностью их клинической манифестации, что требует мультидисциплинарного подхода к обследованию пациентов. Самыми распространенными формами манифестации

IgG4-связанной болезни являются поражения поджелудочной железы, слезных и слюнных желез, желчных протоков.

2. Морфологический диагноз IgG4-связанной болезни основывается не только на наличии в воспалительном инфильтрате IgG4+ ПК, но и таких важных диагностических признаках как лимфоплазмочитарная инфильтрация, «вихреобразный» фиброз и облитерирующий флебит, выраженность которых зависит как от локализации, так и от стадии патологического процесса.

3. Диагностические значимые уровни IgG4+ ПК, принятые Консенсусом для IgG4-связанной болезни, слишком высоки для некоторых локализаций, что приводит к низкой чувствительности этого признака при диагностике IgG4-связанных поражений слюнных желез и кожи, в связи с чем необходимо установление более низких пороговых значений количества IgG4+ ПК. Соотношение IgG4+/CD138+ или IgG4+/IgG+ клеток с пороговым значением >40% обеспечивает достаточную чувствительность этого показателя для диагностики IgG4-связанных поражений всех локализаций.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов обоснована достаточным количеством пациентов, от которых был получен биопсийный и операционный материал, использованием современных адекватных методов исследования, корректным применением статистических методов анализа, критическим анализом результатов исследования в сопоставлении с актуальными литературными данными.

Личное участие автора заключалось в планировании и осуществлении патоморфологического исследования, статистической обработке, обобщении и анализе полученных результатов, подготовке публикаций.

Внедрение полученных результатов в практику

Результаты исследования внедрены в работу патологоанатомического отделения ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, патологоанатомических отделений ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, НМХЦ им. Н.И. Пирогова для комплексной морфологической диагностики IgG4-СБ.

Апробация диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на заседании Московского отделения Российского общества патологоанатомов 21 декабря 2010 года; 23-м Европейском конгрессе патологов (Хельсинки, 2011); IV съезде Российского общества патологоанатомов (Белгород, 2013); заседании Московского отделения Российского общества патологоанатомов 27 мая 2014 года; 27-м Европейском конгрессе патологов (Белград, 2015); XXXII Международном конгрессе Международной академии патологии и 28-м

конгрессе Европейского общества патологов (Кёльн, 2016); заседании Московского отделения Российского общества патологоанатомов, 11 апреля, 2017 года; V Съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, 2017); межлабораторной конференции ФГБНУ «НИИ морфологии человека» 07 июня 2018 года; 30-м конгрессе Европейского общества патологов (Бильбао, 2018).

Публикации

Результаты научного исследования отражены в 10 печатных работах, 6 из которых опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикаций основных результатов диссертационных исследований.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 155 страницах и состоит из введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка, включающего 11 отечественных и 172 зарубежных источника. Диссертация содержит 5 таблиц и 56 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы

Работа выполнена в центральной патологоанатомической лаборатории Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» и основана на комплексном морфологическом изучении диагностических биопсий и операционного материала, полученном от 89 пациентов с опухолеподобными поражениями различных локализаций, находившихся на лечении в Московском областном научно-исследовательском клиническом институте им. М.Ф. Владимирского, а также направленных на консультацию из других лечебных учреждений в 2009-2017 гг. Среди пациентов было 53 мужчины и 36 женщин. Возраст пациентов колебался от 30 до 84 лет, средний возраст составил $53,4 \pm 11,4$ лет.

В результате проведенного комплексного патоморфологического исследования нами установлено, что в 55 наблюдениях (62%) имела место IgG4-связанная болезнь различных локализаций, а в 34 – воспалительные процессы, не связанные с IgG4. Среди пациентов с IgG4-связанной болезнью было 33 мужчины и 22 женщины в возрасте от 35 до 84 лет, средний возраст составил $55,2 \pm 11,4$ лет. В группе сравнения было 20 мужчин и 14 женщин в возрасте от 30 до 74 лет, средний возраст составил $50,6 \pm 10,8$ лет. Распределение пациентов по локализации поражений представлено в таблице 1.

Таблица 1. Распределение наблюдений в зависимости от локализации поражения.

Локализация	Кол-во наблюдений	IgG4-связанная болезнь	Группа сравнения
Поджелудочная железа	32	22	10
Печень, желчный пузырь, желчные протоки	9	5	4
Забрюшинное пространство	1	1	-
Слюнные железы	9	5	4
Слезные железы	9	6	3
Мягкие ткани глазницы	5	2	3
Щитовидная железа	7	4	3
Гортань	1	1	-
Кожа	7	3	4
Лимфатические узлы	6	3	3
Уретра	1	1	-
Мультиорганное поражение	2	2	-
Всего	89	55	34

Гистологические методы. Для морфологического исследования материал был фиксирован в 10% нейтральном забуференном формалине непосредственно после изъятия. Гистологическая проводка осуществлена в вакуумном аппарате стандартным методом с использованием изопропила и этанола. Материал заливали в блоки гомогенизированного парафина толщиной 5 мм. Гистологические срезы толщиной 4-5 мкм изготавливали непосредственно перед окрашиванием гематоксилином и эозином и постановкой иммуногистохимических реакций. Монтирование гистологических срезов проводили на положительно заряженные стекла с высушиванием в соответствии с рекомендациями производителя. Полученные срезы депарафинировали и окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Окрашивание срезов по ван Гизону проводили с использованием готовых наборов (Bio-Optica, Италия) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Имуногистохимический метод. Иммуногистохимическое окрашивание проводилось автоматизированным способом с помощью иммуногистостейнера Ventana BenchMark Ultra с использованием антител, представленных в таблице 2.

Морфометрические методы. Выраженность воспалительной инфильтрации и фиброза оценивали полуколичественным методом в баллах от 0 до 3. Некоторые морфологически значимые для дифференциальной диагностики IgG4-СБ признаки, а именно: «вихреобразный» фиброз, облитерирующий и необлитерирующий флебит, эозинофильную или нейтрофильную инфильтрацию, эпителиоидноклеточные гранулемы оценивали по их наличию в гистологических срезах.

Абсолютное значение количества всех CD138+ ПК, IgG+ ПК и IgG4+ ПК определяли в участках их наибольшего скопления в 3 полях зрения при увеличении объектива 40 микроскопа Axio Imager A1 (Carl Zeiss) с площадью светового поля 0,5 мм² («поле зрения при большом увеличении» – ПЗБУ). Кроме предлагаемой в рекомендациях оценки соотношения IgG4+ ПК/IgG+ ПК, нами также определялось соотношение IgG4+ ПК/CD138+ ПК, доля лимфоцитов, экспрессирующих CD20 и CD3, а также соотношение лямбда и каппа цепей иммуноглобулинов, что позволило сделать заключение о клональности синтезируемых антител.

Таблица 2. Перечень использованных для иммуногистохимического окрашивания антител и параметров протоколов

	Антитело	Клон	Производитель	Разведение	Демаскировка (буфер, время)	Инкубация (время, t°)
	IgG	Поликлон	CellMarque	RTU*	CC1**, 36 мин	16 мин, 37°
	IgG4	MRQ-44	Monosan	1:100	CC1, 64мин	32 мин, 37°
	CD138	B-A38	CellMarque	1:200	CC1, 36 мин	32 мин, 37° С
	Actin	HUC1-1	Ventana	RTU	CC1, 36 мин	16 мин, 37° С
	CD34	QVEnd/10	Ventana	RTU	CC1, 36 мин	16 мин, 37° С
	CD3	2GV6	Ventana	RTU	CC1, 36 мин	16 мин, 37° С
	CD20	L26	Ventana	RTU	CC1, 64мин	32 мин, 37° С
	Карра легкие цепи Ig	SP148	Spring Bioscience	RTU	CC1, 36 мин	32 мин, 37° С
	Lambda Легкие цепи Ig	SP147	Spring Bioscience	RTU	CC1, 36 мин	32 мин, 37° С

* RTU (Ready To Use) – разведенные реактивы, готовые к применению

** CC1 буфер для демаскировки – трис-буфер, pH=8,0

Статистический метод. Статистический анализ количественных данных проводили с использованием программного пакета «Statistica 10.0». Оценку количественных данных с нормальным распределением проводили с использованием t-критерия Стьюдента для независимых групп. Оценку количественных данных с ненормальным распределением проводили согласно критериям Манна-Уитни, а также методом Краскилла-Уоллеса. Результаты исследования представлены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). За критический уровень значимости (p) при проверке гипотез было принято значение 0,01.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Органопатология IgG4 –связанной болезни

Нами было изучено 89 клинических наблюдений опухолеподобных поражений различных органов. В 55 из них по результатам проведенного нами комплексного морфологического исследования диагностических биопсий и операционного материала был установлен диагноз IgG4-СБ. Средний возраст пациентов $55,2 \pm 11,4$ лет и доля среди них мужчин (60%) в нашей работе соответствуют данным как зарубежных [Khosroshahi A. et al., 2011 Takahashi H. et al., 2012], так и отечественных исследований [Сокол Е.В., 2016]. Все изученные нами наблюдения были сгруппированы в зависимости от локализации основного очага поражения. Такое деление обусловлено тем, что в повседневной клинической практике первым с IgG4-СБ сталкивается узкий специалист (хирург, окулист, эндокринолог, гастроэнтеролог), а также тем, что анатомический принцип группировки используется большинством исследователей, изучающих проблему IgG4-СБ. При этом мы учитывали, что IgG4-СБ является системным заболеванием и первичное поражение того или иного органа не исключает возможности вовлечения других органов и систем. В группу сравнения, которую составили 34 наблюдения, были включены заболевания аналогичных органов и тканей, не связанные с IgG4: аутоиммунный панкреатит (АИП) 2-ого типа, хронический панкреатит, первичный склерозирующий холангит, неспецифические воспалительные поражения слезных и слюнных желез, хронические дерматиты и некоторые другие.

Самой распространенной формой манифестации IgG4-СБ в серии наших наблюдений было поражение поджелудочной железы в виде АИП 1 типа (40% наблюдений), вторым по частоте оказалось поражение слезных и слюнных желез, а также желчных протоков, на долю которых пришлось по 9%. Сходные результаты были получены и другими исследователями, также отметившими значительное преобладание вовлечения поджелудочной железы при IgG4-СБ [Zen Y. et al., 2010; Matsubayashi H. et al., 2014, Mulholland G.V. et al., 2015]. Следует отметить, что в работе Е.В. Сокол [2016] распределение пациентов по локализации поражений значительно отличалось как от полученных нами результатов, так и от данных зарубежных исследований, а именно: в 17% наблюдений был выявлен забрюшинный фиброз, остальные 83% относились к поражениям органов головы и шеи, из них 60% - поражения глаз и слезных желез. Это объясняется тем, что пациентов с АИП 1 типа направляют либо в хирургические отделения многопрофильных больниц, либо в лечебные учреждения онкологического профиля с подозрением на рак поджелудочной железы. В то же время вовлечение в патологический процесс слезных и

слюнных желез обеспечивает «терапевтический маршрут» пациента и высокую вероятность его поступления в ревматологическое отделение для проведения дифференциального диагноза с болезнью Шегрена. Это подтверждается и материалами нашего исследования, который был получен преимущественно из хирургических отделений стационаров.

Морфологические особенности IgG4- связанной болезни.

Морфологические проявления IgG4-СБ сходны при всех локализациях патологического процесса и включают выраженную лимфоплазмоцитарную инфильтрацию с наличием в воспалительном инфильтрате IgG4+ ПК, «вихреобразный» фиброз и облитерирующий флебит (Рис. 1), однако имеют и свои особенности в разных органах и тканях.

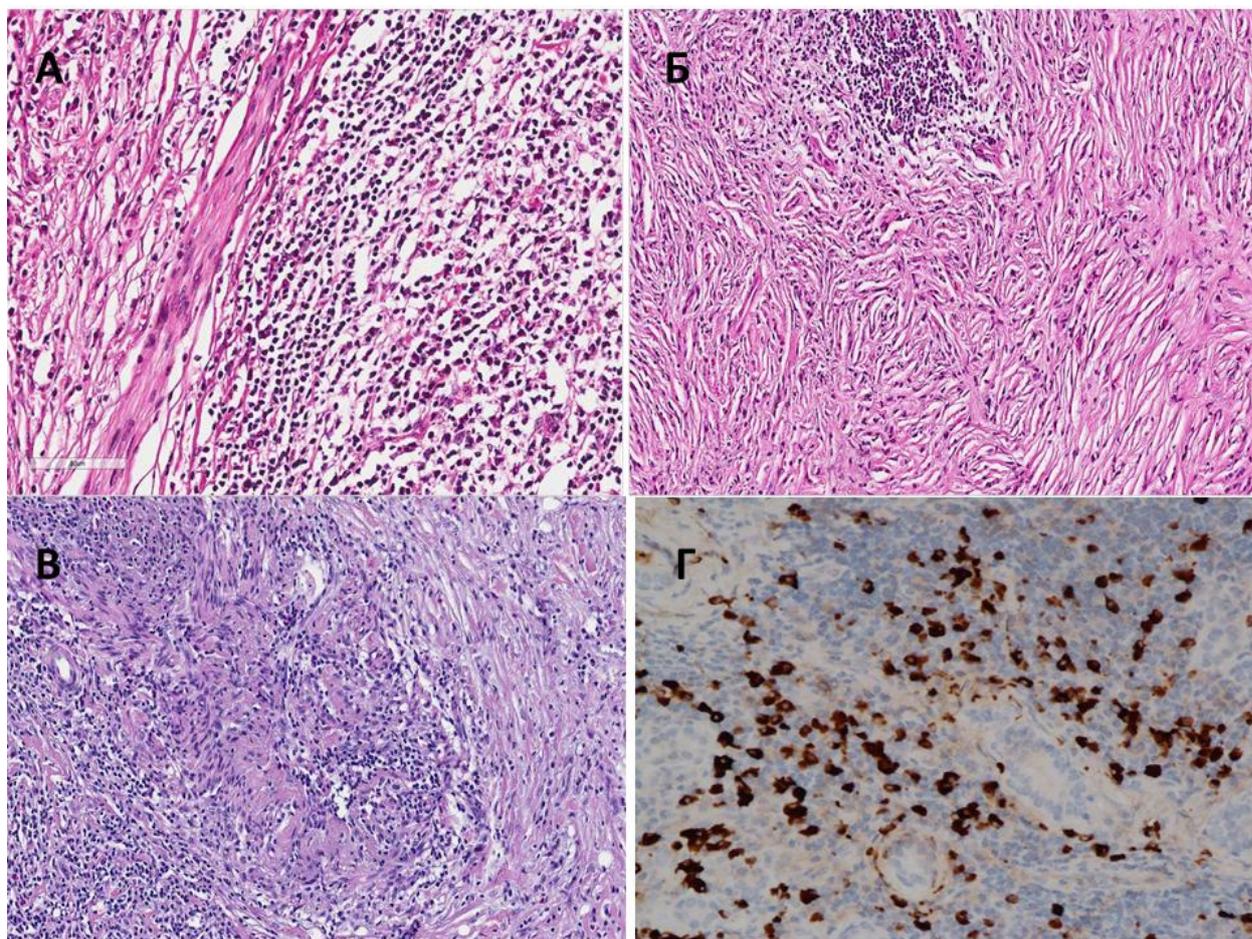


Рисунок 1. Морфологические проявления IgG4-связанной болезни. А – выраженная лимфо-плазмоцитарная воспалительная инфильтрация, Б – вихреобразный фиброз, В – облитерирующий флебит, Г – многочисленные IgG4+ ПК в воспалительном инфильтрате.

Так, АИП 1-ого типа характеризуется наличием «дольковоцентрического» фиброза, распространением фиброза на парапанкреатическую жировую клетчатку, атрофией ацинусов и

пролиферацией мелких панкреатических протоков. Для IgG4-связанного поражения печени характерен «вихреобразный» фиброз и лимфо-плазмоцитарная инфильтрация портальных трактов с распространением воспалительного инфильтрата на стенку желчных протоков, а при IgG4-связанном поражении внепеченочных желчных протоков отмечается перипротоковый «луковичный» фиброз с исчезновением мелких протоков. IgG4-связанное поражение слезных и слюнных желез характеризовалось сочетанием атрофии ткани железы в сочетании с «вихреобразным» фиброзом и выраженной диффузной лимфо-плазмоцитарной воспалительной инфильтрацией. Для IgG4-связанного поражения щитовидной железы характерны диффузная лимфо-плазмоцитарная воспалительная инфильтрация с формированием лимфоидных псевдофолликулов, а также тотальная атрофия фолликулов в сочетании с диффузным фиброзом, распространяющимся на мягкие ткани шеи. Поражение кожи при IgG4-связанной болезни характеризовалось крупноочаговой лимфо-плазмоцитарной периваскулярной воспалительной инфильтрацией дермы с формированием лимфоидных псевдофолликулов, пролиферацией миофибробластов и выраженным фиброзом дермы.

Патоморфологические критерии IgG4-СБ

К основным критериям (т.н. «большие» гистологические критерии), которые позволяют заподозрить IgG4-СБ в соответствии с Бостонскими рекомендациями [Deshpande V. et al., 2012], относятся выраженная лимфо-плазмоцитарная инфильтрация, фиброз с формированием "вихреобразных" структур, облитерирующий флебит и наличие в воспалительном инфильтрате IgG4-клеток.

Лимфо-плазмоцитарная воспалительная инфильтрация, являясь проявлением хронического иммунного воспаления, имела место во всех наблюдениях и была выраженной (60%) или умеренной (34,5%). Следует отметить, что выраженный лимфо-плазмоцитарный инфильтрат чаще обнаруживался при поражении тканей глаза (в 2 из 2 наблюдений), слюнной железы (в 5 из 5 наблюдений), щитовидной железы (в 4 из 4 наблюдений), кожи (в 3 из 3 наблюдений) и поджелудочной железы (9 из 22 наблюдений). Данный критерий не является специфичным, но поскольку он встречается в большинстве наблюдений и является чувствительным, то может быть использован для дифференциальной диагностики с опухолями.

Вторым значимым диагностическим критерием является продуктивный фиброз с формированием «вихреобразных» структур. Формирование фиброзной ткани в исходе воспаления является универсальным патологическим процессом, однако далеко не всегда при этом происходит избыточное

образование коллагена с «вихреобразным» расположением волокон. По нашим данным, фиброз обнаруживался во всех наблюдениях, при этом в 58% наблюдений IgG4-СБ он был выраженным, а в 42% - умеренным. Формирование «вихреобразных» структур было отмечено нами в 84% случаев, при этом оно было особенно характерно для поражений поджелудочной железы, желчных протоков, слезных и слюнных желез, что совпадает с результатами других исследований [Сокол Е.А., 2016, Mizushima I. et al., 2017].

Облитерирующий флебит – третий «большой» диагностический критерий. Несмотря на то, что этот признак присутствует не во всех наблюдениях, он может быть использован при дифференциальной диагностике IgG4-СБ с другими воспалительными заболеваниями. В нашем исследовании облитерирующий флебит был выявлен в 45% всех наблюдений и был обнаружен в 12 из 22 наблюдений (55%) IgG4-связанных поражений поджелудочной железы, а также в 3 из 5 наблюдений поражений слезных и слюнных желез. Наши данные подтверждаются результатами других исследований, согласно которым облитерирующий флебит выявляется не во всех наблюдениях IgG4-СБ, а также может быть обнаружен при других аутоиммунных заболеваниях [Сокол Е.А., 2016, Geyer JT, et al., 2010]. Вместе с тем, полученные результаты позволяют утверждать, что поиск данного признака должен быть прицельным, поскольку в повседневной практике при рутинном исследовании текущего материала он может быть пропущен. Необходимо отметить, что избыточное внимание патолога именно к этому критерию в ущерб другим признакам может также привести к диагностическим ошибкам.

Другие морфологические критерии (вспомогательные), к которым относятся эозинофильно-клеточная инфильтрация и формирование лимфоидных псевдофолликулов неспецифичны и наблюдаются при других воспалительных процессах. Роль этих признаков в диагностике IgG4-СБ до конца не установлена.

Количественная оценка содержания IgG4-плазматических клеток в инфильтрате

Как следует из названия заболевания, его патогенез связан с конкретным классом иммуноглобулинов. В настоящее время у морфолога имеется возможность идентификации IgG4+ ПК с довольно высоким уровнем достоверности и низкой себестоимостью – иммуногистохимическое исследование с антителами к IgG4. Именно этот молекулярно-морфологический критерий является самым значимым при морфологической верификации. Так, во всех представленных в нашей работе наблюдениях IgG4-СБ количество IgG4+ ПК в репрезентативном поле зрения исчислялось несколькими десятками и составляло от 46% до 100% от всех плазматических клеток воспалительного

инфильтрата (таблица 2). При воспалительных процессах не связанных с IgG4, количество IgG4+ ПК в инфильтрате было значительно ниже и варьировало от 0 до 10 клеток в поле зрения. Так, при АИП 2 типа, а также при хроническом панкреатите количество IgG4+ ПК в воспалительном инфильтрате было на 95,5% меньше, чем при АИП 1 типа ($p < 0,01$) (рис. 2). Несмотря на «фоновое» окрашивание, наблюдаемое при иммуногистохимическом выявлении любых иммуноглобулинов, идентификация IgG4+ ПК не представляет затруднений. Необходимо отметить, что в большинстве наблюдений при выявлении IgG+ ПК имело место выраженное «фоновое» окрашивание препаратов. В связи с этим нами дополнительно было проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к CD138 для более точного определения общего количества плазматических клеток в инфильтрате и соотношения IgG4+/CD138+ ПК.

В 72,7% (40 из 55) наших наблюдений среднее количество IgG4+ ПК, подсчитанное в трех полях зрения при увеличении микроскопа x400 (ПЗБУ) во всех препаратах достигало уровня, установленного международным консенсусом. По нашим данным, частота достижения необходимого уровня IgG4+ ПК в каждом органе согласно международным критериям была высокой при поражениях поджелудочной железы (100%), желчных протоков (100%), лимфатических узлов (100%) и низкой при поражении слюнных желез (16,7%), слезных желез (0%) и кожи (0%).

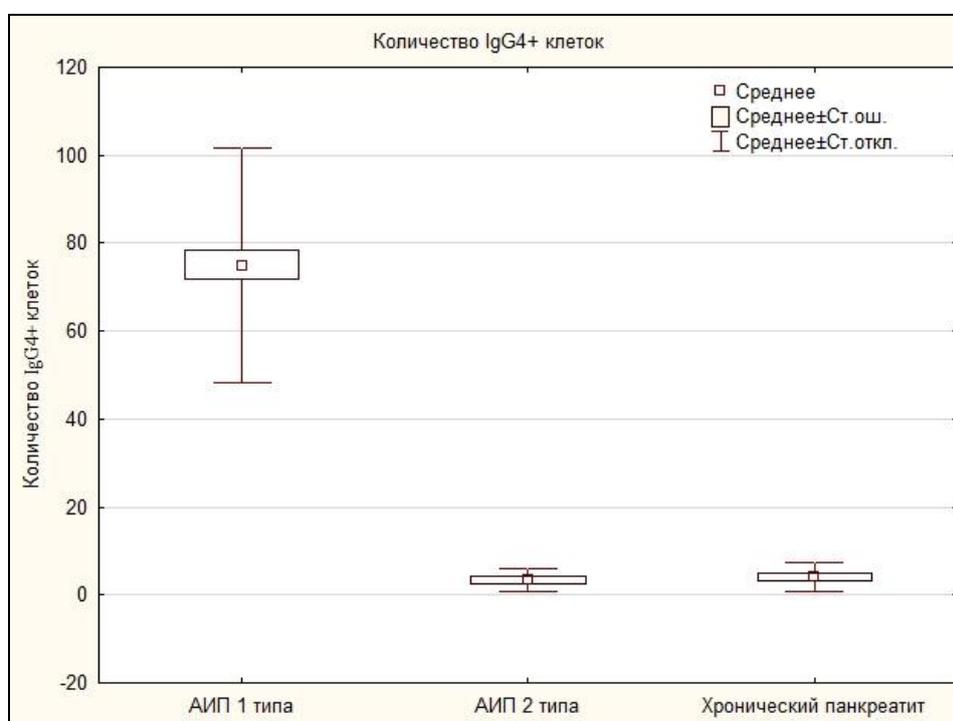


Рис. 2. Количество IgG4+ в воспалительном инфильтрате при различных типах панкреатита.

Наши данные совпадают с результатами ряда зарубежных исследований. Так, J.D. Strehl с соавт. [2011], проанализировав материал от 7 пациентов с IgG4-связанным склерозирующим сиалоаденитом/опухолью Кюттнера, показали, что абсолютное число IgG4+ ПК варьировало в широких пределах (от 4 до 104) и в среднем составило 40 клеток в ПЗБУ. При этом авторы показали, что при хроническом неиммунном сиалоадените, обусловленном сиалолитиазом, абсолютное число IgG4+ клеток в слюнных железах было очень низким и варьировало от 0 до 27 в ПЗБУ.

В серии наших наблюдений IgG4-связанных поражений кожи необходимый согласно консенсусу уровень IgG4+ ПК не был выявлен ни в одном наблюдении, что совпадает с результатами других исследований [Mizushima I. et al., 2017, Hamaguchi Y. et al., 2013, Ikeda T. et al., 2013, Jalilian S. et al., 2014]. В целом, данные как зарубежных, так и нашего исследований указывают на то, что уровни IgG4+ ПК, принятые Консенсусом для IgG4-СБ слишком высоки для некоторых локализаций, что приводит к низкой чувствительности этого признака при диагностике IgG4-связанных поражений слюнных желез и кожи. Снижение порогового диагностического значения количества IgG4+ ПК до уровня > 30 при поражении слюнных и слезных желез и >100 при поражениях кожи не окажет большого влияния на специфичность этого признака, поскольку при неиммунных заболеваниях в воспалительных инфильтратах определяется незначительное количество IgG4+ ПК, при этом его чувствительность значительно повысится.

Соотношение IgG4+/IgG+ ПК в серии наших наблюдений варьировало от 48,2 до 100%, достигая необходимого, согласно Консенсусу, уровня. Важно отметить, что в части наблюдений нам не удалось оценить соотношение IgG4+/IgG+ ПК вследствие выраженного фона при окрашивании препаратов на IgG. В связи с этим во всех наблюдениях нами было дополнительно определено соотношение IgG4+/CD138+ клеток, которое варьировало от 46,2% до 98,5% и в целом было сопоставимо с соотношением IgG4+/IgG+ ПК.

Несмотря на предположительно общий патогенез IgG4-СБ количество IgG4+ ПК и соотношение IgG4+/IgG+ ПК или IgG4+/CD138+ ПК широко варьировало в различных органах и тканях. Эти различия могут быть объяснены различной выраженностью и распространенностью фиброза к моменту постановки диагноза. Так, Y. Masaki с соавт. показали, что при IgG4-СБ зоны фиброза содержали меньше IgG4+ ПК и характеризовались более низким соотношением IgG4+/IgG+ ПК по сравнению с участками без фиброзных изменений [Masaki Y. et al., 2012].

Таблица 2. Средние показатели абсолютного количества плазматических клеток и доля CD138+, IgG+ и IgG4+ клеток в воспалительных инфильтратах при IgG4-связанной болезни (M±m (разброс))

Локализация	ПК*	CD138+	IgG+	IgG4+	IgG4+/IgG+	IgG4+/CD138+
Поджелудочная железа	110,4±27,5 (60-175)	101,2±27,9 (52-167)	99,6±25,7 (50-140)	74,5±27,2 (29-132)	75±12,6 (53,7-100)	72,4±12,3 (50,9-99,2)
Печень и желчные протоки	93,3±36,1 (51-162)	91,3±34,9 (53-158)	87,6±40 (53-154)	65,9±40 (39-154)	72,1±16 (43,9-100)	69,4±16,7 (44,8-97,5)
Забрюшинное пространство	74,3±9 (75-83)	69±8,2 (60-76)	66,7±10,1 (56-76)	50,3±10,8 (38-58)	75±6,6 (67,9-80,9)	72,3±7,9 (63,3-77,5)
Слюнные железы	101±21,1 (73-132)	91,7±20,6 (65-123)	89,2±20,8 (63 - 100)	68,7±19 (50-95)	77,5±12,9 (51-92,1)	75,4±13,4 (50-91,8)
Слезные железы	101,7±25,8 (65-132)	91,9±26,2 (53-124)	90,3±26,2 (51-125)	68,2±24 (29-98)	74,2±12,5 (52,7-95)	73±12,4 (52,7-94,1)
Мягкие ткани глазницы	113,5±7,8 (101-123)	92,5±11,8 (89-101)	91,7±12,4 (68-100)	82±15,9 (59-96)	89,2±9 (74-96)	88,3±9,3 (74-97)
Щитовидная железа	150,3±15,2 (128-174)	122,7±19,3 (99-151)	111,2±11,9 (95-127)	71,3±12,1 (51-88)	64,1±8,2 (52,5-73,9)	58,7±10,1 (47-71,6)
Гортань	113±2,6 (110-115)	90±2 (88-92)	87,3±2,5 (85-90)	59,7±3,5 (56-63)	68,3±2,1 (65,9-70)	66,2±2,4 (63,6-68,4)
Кожа	168,8±22,3 (139-206)	162,4±23 (132-200)	156,1±21,2 (128-190)	118,7±36,1 (68-169)	76,4±21,3 (45,6-93)	73,5±20,6 (43,6-90,8)
Лимфатические узлы	140,2±4,2 (131-155)	123,4±6,2 (115-136)	119,4±6,8 (110-135)	111,1±5,6 (103-120)	93,1±4,1 (88,8-99,1)	90±3,2 (86,5-95,8)
Уретра	68,7±3,2 (65-71)	57±1 (56-58)	55±1 (54-56)	34,7±2,5 (32-37)	63,1±5,7 (57,1-68,5)	60,9±5,1 (55,2-64,9)

* - плазматические клетки

Кроме того, на эти различия могут влиять разные способы получения образцов тканей. Так, трепанобиоптаты могут содержать меньше информативных участков по сравнению с крупными образцами, полученными в ходе оперативного вмешательства. Необходимо отметить, что сама по себе воспалительная инфильтрация IgG4+ ПК наблюдается при различных патологических процессах, не связанных с IgG4-СБ. J.D. Strehl с соавт. показали, что в тканевых образцах из патологических образований ротовой полости, нижних отделов ЖКТ, синовиальных оболочек, кожи и карцином при не связанных с IgG4 заболеваниях в воспалительных инфильтратах определяется более 10 IgG4+ ПК в ПЗБУ [Strehl J.D. et al., 2011].

На основании проведенного исследования нами был выработан алгоритм морфологической диагностики IgG4-СБ, представленный на рис. 3

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, IgG4-СБ характеризуется мультиорганностью развивающихся патологических изменений, а в ряде случаев и метастазностью их клинической манифестации, требующих мультидисциплинарного подхода к обследованию пациентов. Морфологический диагноз IgG4-СБ не основывается только на наличии в воспалительном инфильтрате IgG4+ клеток, а учитывает такие важные диагностические признаки как лимфоплазмочитарную инфильтрацию, «вихреобразный» фиброз и облитерирующий флебит. В результате проведенного исследования нами установлено, что соотношение IgG4+/CD138+ или IgG4+/IgG+ клеток с пороговым значением >40% обладает достаточной чувствительностью для диагностики IgG4-СБ. Рекомендуется использовать окраску на CD138+, поскольку окрашивание на IgG в ряде наблюдений дает выраженный фон, не позволяющий провести подсчет положительных клеток.

Мы полагаем, что результаты проведенного исследования будут способствовать улучшению диагностики IgG4-связанной болезни в нашей стране и, следовательно, адекватному лечению данной категории пациентов.

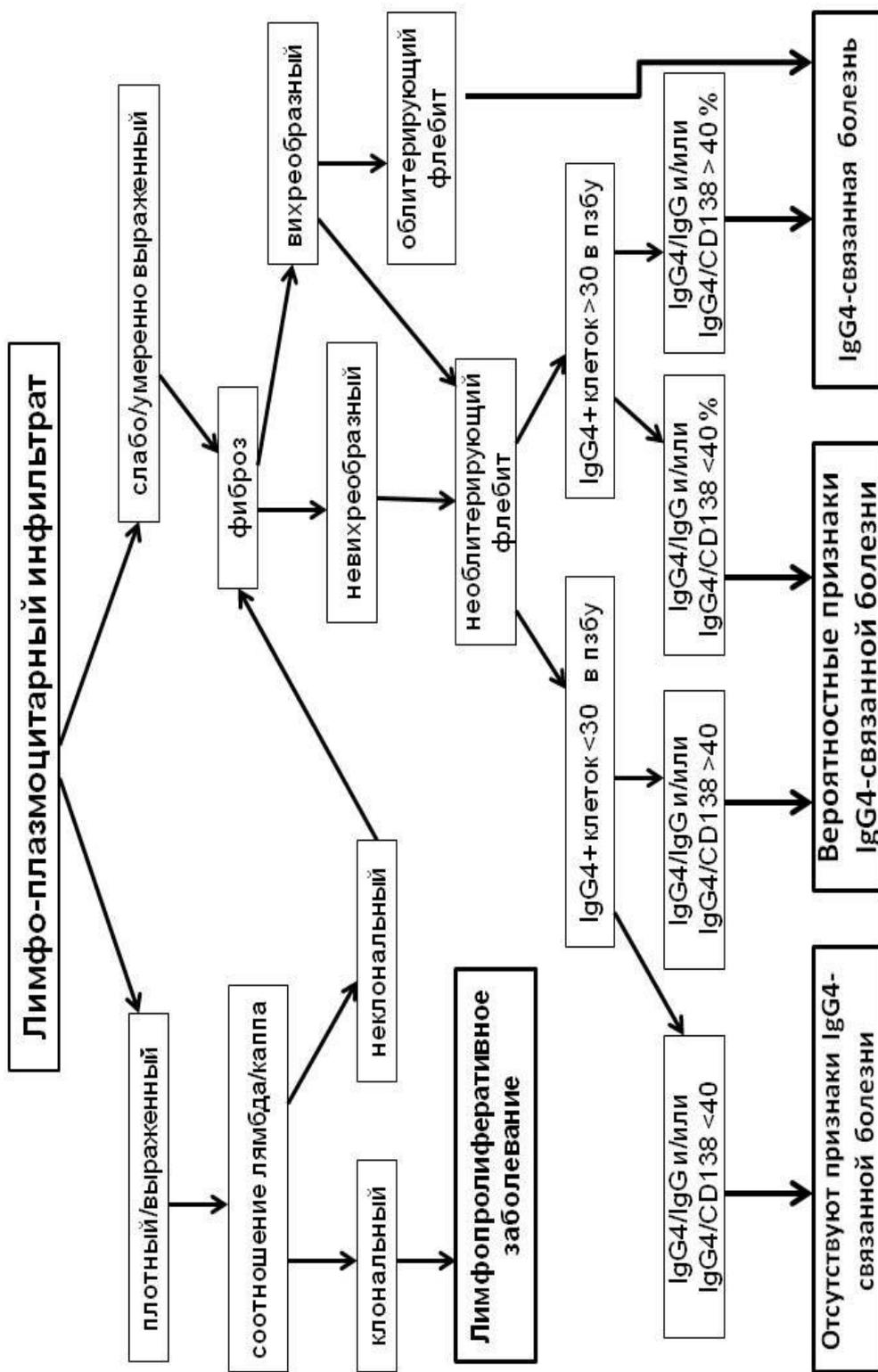


Рис. 3. Алгоритм диагностики IgG4-связанной болезни.

ВЫВОДЫ

1. IgG4-связанная болезнь характеризуется поражением различных органов и тканей, клинически имитирует опухолевый рост, а ее диагностика требует патоморфологического и иммуногистохимического подтверждения.

2. Преобладающими локализациями при манифестации IgG4-связанной болезни является поражение поджелудочной железы (40%), желчных протоков (9%), тканей глаза (9%), слюнных желез (9%).

3. Выраженный лимфо-плазмоцитарный инфильтрат характерен для поражения тканей глаза, слюнной железы, щитовидной железы, поджелудочной железы и кожи. Формирование фиброза в виде муаровых структур особенно характерно для поражений поджелудочной железы (82% наблюдений), печени и желчных протоков, тканей глаза. Облитерирующий флебит наиболее часто наблюдается при поражении поджелудочной железы (55%) и слюнных желез (60 %).

4. Диагностически значимое количество IgG4+ плазматических клеток в инфильтрате колеблется в значительных пределах и зависит от локализации поражения и стадии процесса. Диагностический порог количества IgG4+ плазматических клеток, принятый международным Консенсусом для IgG4-связанных поражений слюнных, слезных желез и кожи слишком высок, в связи с этим, необходимо снижение границ пороговых значений до уровня > 30 для поражения слюнных и слезных желез и >100 – для поражений кожи.

5. Соотношение IgG4+/IgG+ или IgG4+/CD138+ плазматических клеток с пороговым значением $>40\%$ оптимально подходит для диагностики IgG4-связанной болезни. Предпочтительнее использовать иммуногистохимическую окраску на CD138+, поскольку реакция с IgG в ряде наблюдений дает выраженный фон, не позволяющий провести подсчет положительных клеток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для диагностики IgG4-связанной болезни необходимо использовать следующие критерии: лимфо-плазмоцитарный инфильтрат (отсутствие, слабо выраженный, умеренно выраженный, выраженный), фиброз с формированием муаровых структур (наличие, отсутствие, фиброз без муаровых структур), облитерирующий флебит (наличие, отсутствие), количество плазматических клеток в поле зрения с точностью до десятков, соотношение IgG4+/IgG+ и IgG4+/CD138+ плазматических клеток с точностью до десятков.

2. Рекомендуется использовать иммуногистохимическую реакцию с антителами к CD138+, поскольку реакция с IgG в ряде наблюдений дает выраженный фон, не позволяющий провести подсчет положительных клеток.

3. При отсутствии морфологических признаков гранулематозного воспаления и опухолевого роста наличие с умеренно выраженного лимфо-плазмоцитарного инфильтрата с многочисленными плазматитами, вихреобразного фиброза и/или облитерирующего флебита диктует необходимость использования иммуногистохимического исследования с определением количества IgG4+ клеток и оценкой соотношения IgG4+/IgG+ ПК, что позволит верифицировать IgG4-связанную болезнь.

4. Патоморфологическое заключение при IgG4-связанной болезни следует формулировать, используя 3 стандартные категории:

а) **«отсутствуют морфологические и иммуногистохимические признаки IgG4-связанной болезни»:** фиброз с формированием муаровых структур отсутствует, лимфо-плазмноклеточный инфильтрат отсутствует или выражен слабо, доля IgG4+ ПК менее 30 в поле зрения x400, соотношение IgG4+/IgG+ и/или IgG4+/CD138+ ПК менее 40%, имеется лейкоцитарный инфильтрат или гранулематозное воспаление;

б) **«имеются вероятностные морфологические и иммуногистохимические признаки IgG4-связанной болезни - требуется сопоставление клинико-морфологических данных»:** фиброз с формированием муаровых структур, лимфо-плазмноклеточный инфильтрат отсутствует или выражен слабо, необлитерирующий флебит, в инфильтрате отсутствуют нейтрофилы, нет гранул, доля IgG4+ ПК менее 30 в поле зрения x400, а соотношение IgG4+/IgG+ и/или IgG4+/CD138+ плазматических клеток более 40%, доля IgG4+ ПК более 30 в поле зрения x400, а соотношение IgG4+/IgG+ и/или IgG4+/CD138+ ПК менее 40%;

в) **«морфологические и иммуногистохимические изменения соответствует IgG4-связанной болезни»:** массивный фиброз с формированием муаровых структур, лимфо-плазмноклеточный инфильтрат с

преобладанием плазматических клеток, формирование лимфоидных псевдофолликулов, примесь эозинофилов, облитерирующий флебит; в инфильтрате отсутствуют нейтрофилы, нет гранулем, доля IgG4+ ПК более 30 в поле зрения x400, соотношение IgG4+/IgG+ и/или IgG4+/CD138+ ПК более 40%.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лищук С.В. IgG4-связанная склерозирующая болезнь / Казанцева И.А., Лищук С.В. // Архив патологии. 2011. Т. 73. № 3. С. 40-43.
2. Лищук С.В. Наблюдение IgG4-связанной склерозирующей болезни с лимфаденопатией и поражением вилочковой железы / Казанцева И.А., Лищук С.В., Гуревич Л.Е., Бобров М.А., Терпигорев С.А. // Архив патологии. 2012. Т. 74. № 4. С. 43-45.
3. Лищук С.В. Новая системная патология – IgG4-связанная болезнь / Казанцева И.А., Лищук С.В. // Клиническая и экспериментальная морфология. 2013. № 2 (6). С. 12-17.
4. Лищук С.В. IgG4-связанный хронический периаортит с ретроперитонеальным фиброзом / Пальцева Е.М., Должанский О.В., Морозова М.М., Лищук С.В., Степаненко А.Б., Чарчян Э.Р., Федоров Д.Н. // Архив патологии. 2014. Т. 76. № 2. С. 32-35.
5. Лищук С.В. IgG4-связанный хориоретинит (клиническое наблюдение) / Гришина Е.Е., Казанцева И.А., Лищук С.В., Рябцева А.А. // Офтальмохирургия. 2015. № 3. С. 65-68.
6. Лищук С.В. Сочетание рака желудка с IgG4-связанной болезнью (клиническое наблюдение и обзор литературы) / Казанцева И.А., Лищук С.В., Грибунов Ю.П., Шестакова И.Н., Павлов К.А. // Архив патологии. 2016. Т. 78. № 4. С. 43-47.
7. Lishchuk S. IgG4-related sclerosing disease with lymphadenopathy and thymus enlargement: a case report / Bobrov M., Kazantseva I., Lishchuk S., Gurevich L., Terpigorev S.A. // Virchows Arch. 2011. V. 459 (Suppl 1). P. S207.
8. Lishchuk S. IgG4-related disease with primary cutaneous manifestation: the report of 3 cases / Lishchuk S., Kazantseva I., Bobrov M., Pavlov K // Virchows Arch. 2015. V. 467 (Suppl 1). P. S167-S168.
9. Lishchuk S. IgG4-related chorioretinitis: a case report / Pavlov K., Kazantseva I., Lishchuk S., Grishina E., Ryabtseva A. // Virchows Arch. 2016. V. 469 (Suppl 1). P.S206.
10. Lishchuk S. Morphologic patterns of IgG4-related lesions of different localization // Lishchuk S., Pavlov K., Dubova E., Kazantseva I. Virchows Arch. 2018. V. 473 (Suppl 1). P.S14-017.