

*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 состоится .....2018 г. в .....часов 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](http://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	-
<b>Всего</b>	<b>89</b>	<b>55</b>	<b>34</b>

**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 мм<sup>2</sup> («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.

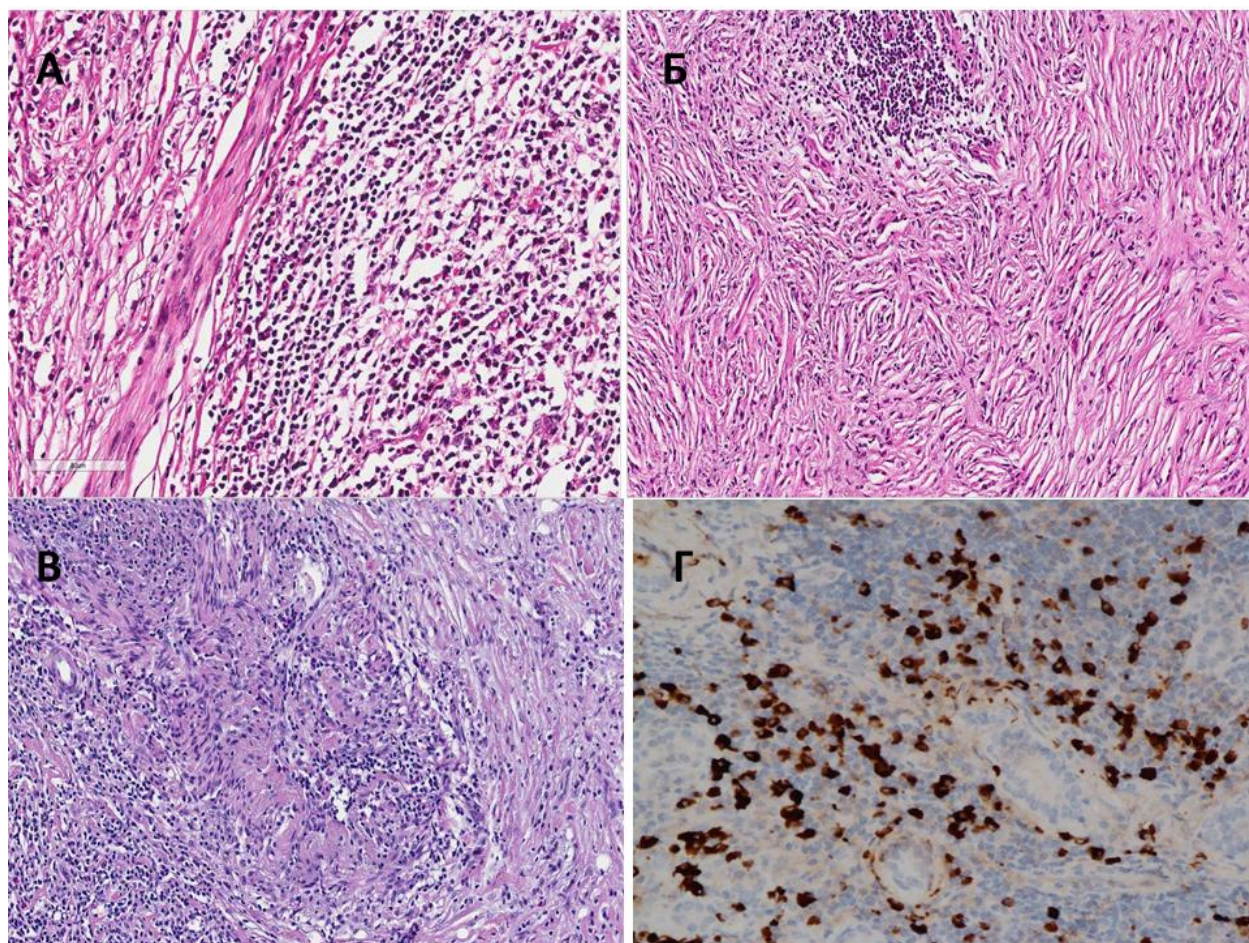


Рисунок 1. Морфологические проявления IgG4-связанной болезни. А – выраженная лимфо-плазмоцитарная воспалительная инфильтрация, Б – вихреобразный фиброз, В – облитерирующий флебит, Г – многочисленные IgG4+ ПК в воспалительном инфильтрате.

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%).

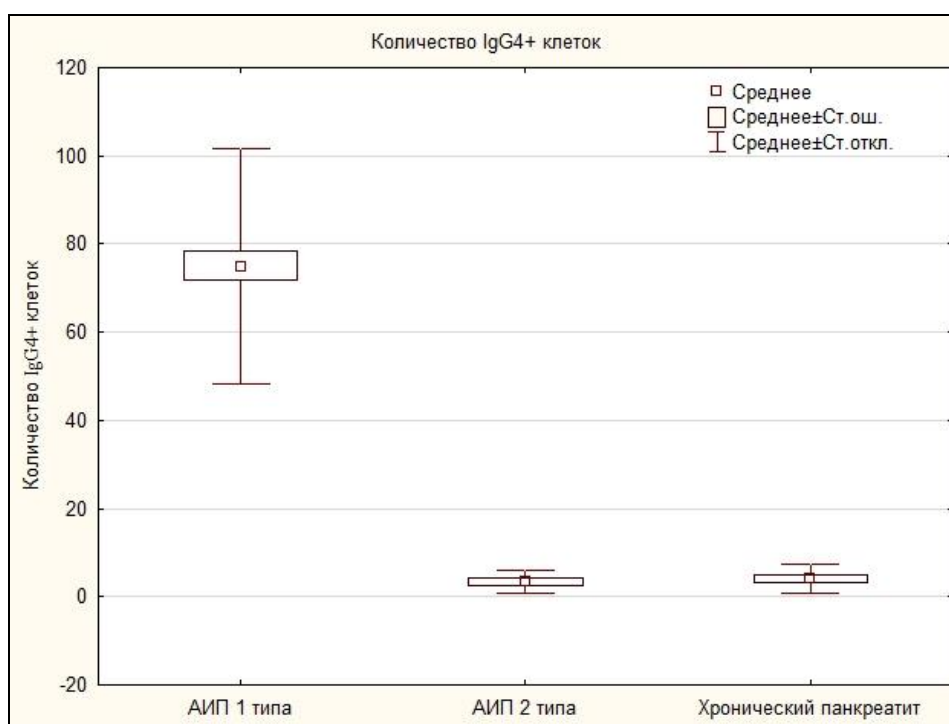


Рис. 2. Количество IgG4+ в воспалительном инфильтрате при различных типах панкреатита.



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.

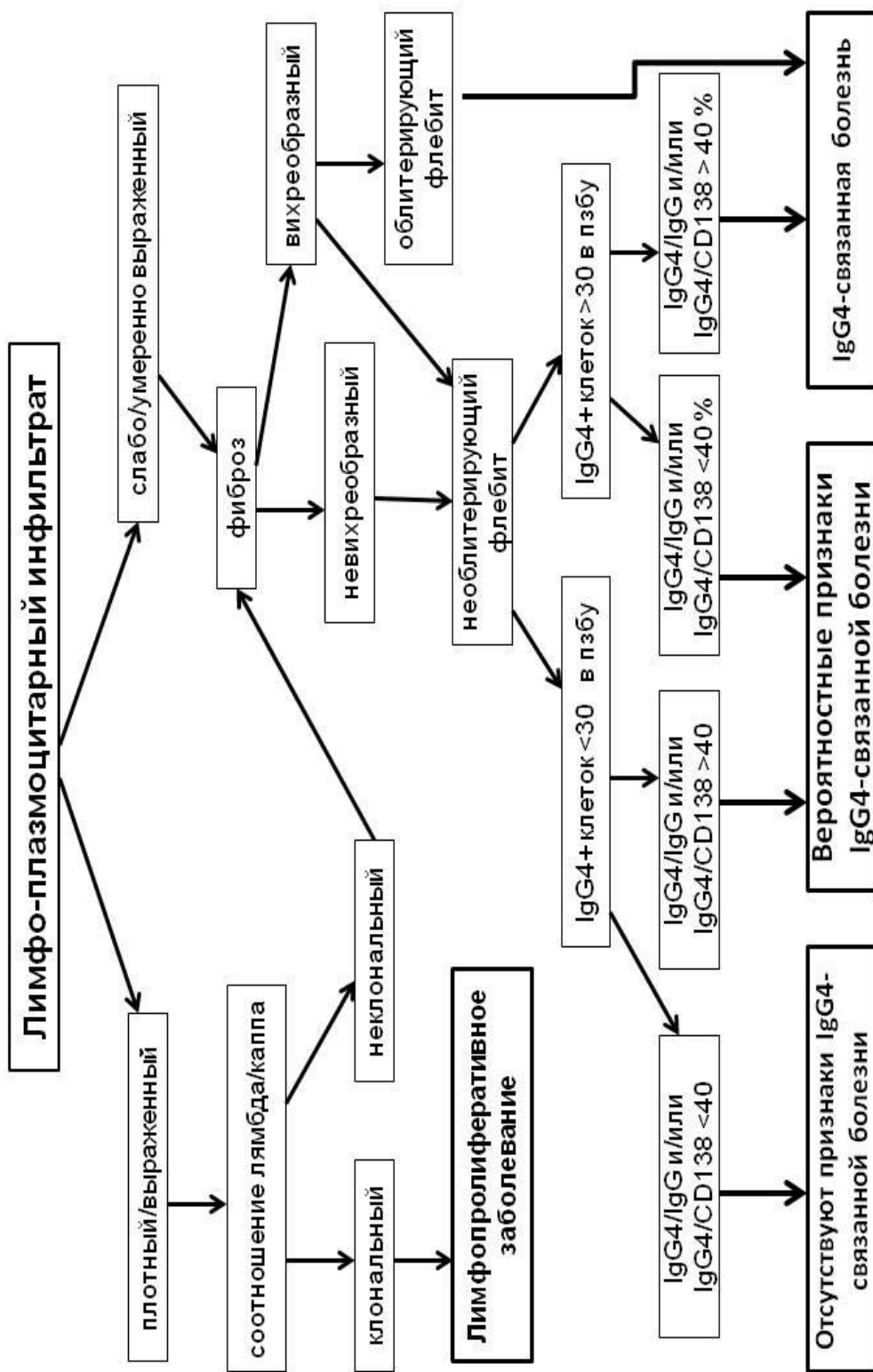


Рис. 3. Алгоритм диагностики IgG4-связанной болезни.

## 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 х400, 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.