

# Immunolocalization of protein-bound 3-nitrotyrosine in inflammatory myopathies

Zámečník J.<sup>1</sup>, Vytášek R.<sup>2</sup>, Vencovský J.<sup>2</sup>, Vilím V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pathology and Molecular Medicine, Charles University, 2nd Medical Faculty and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup> Institute of Rheumatology, Prague, Czech Republic

## SUMMARY

3-nitrotyrosine (3NT) is regarded as a "footprint" of nitric oxide generation. The study aimed at documenting the presence and distribution of 3-nitrotyrosine (3NT) in muscle tissue samples from patients with idiopathic inflammatory myopathies (IIM) as well as from those with non-inflammatory myopathies to consider whether polymyositis (PM) and dermatomyositis (DM) could be distinguished based on 3NT immunohistochemistry in muscle biopsy. Cryosections prepared from muscle biopsies of 54 patients with either IIM, i.e. PM and DM, or various non-inflammatory myopathies were immunostained using monoclonal antibody against 3NT.

The 3NT immunostaining was localized to endothelial cells and their close surroundings in muscle biopsies of DM and PM patients but only in those areas of tissue sections where inflammatory cell infiltrates were present. No 3NT positivity was found in tissue sections of IIM patients without inflammatory infiltrates in the studied sample as well as in muscle tissue sections of patients with non-inflammatory myopathies. However, the endothelial cells were also positive in cases of confirmed non-inflammatory myopathies with secondary lymphocytic infiltration (myodystrophies, myasthenia gravis).

Despite the pathogenetic significance, the 3NT immunohistochemistry is of low diagnostic value for the differential diagnosis of IIM in muscle biopsy.

**Keywords:** nitric oxide – 3-nitrotyrosine – polymyositis – dermatomyositis – idiopathic inflammatory myopathy – myodystrophy – myasthenia gravis

## Imunohistochemická detekce 3-nitrotyrosinu vázaného na proteiny u zánětlivých myopatií

### SOUHRN

3-nitrotyrosin (3NT) je považován za jeden z indikátorů tvorby oxidu dusnatého (NO). Cílem studie bylo zdokumentovat přítomnost a distribuci 3NT ve svalových biopsiích pacientů s idiopatickými zánětlivými myopatiemi (IIM) i nezánnětlivými myopatiemi a posoudit, zda polymyozitida (PM) a dermatomyozitida (DM) mohou být odlišeny na základě imunohistochemického průkazu 3NT ve svalové biopsii. Imunohistochemická analýza pomocí monoklonální protilátky proti 3NT byla provedena na zmražených řezech připravených ze svalových biopsií 54 pacientů s IIM (tj. PM a DM) a s různými nezánnětlivými myopatiemi.

3NT imunopozitivita byla přítomna v endoteliálních buňkách a jejich blízkém okolí v biopsiích pacientů s DM a PM, ale pouze v těch oblastech tkáňových řezů, kde byly současně přítomny zánětlivé infiltráty. Reakce na průkaz 3NT byly zcela negativní ve tkáňových řezech pacientů s IIM v oblastech vzorků bez zánětlivých infiltrátů a také ve vzorcích svalové tkáně pacientů s nezánnětlivými myopatiemi. Endoteliální buňky byly ale překvapivě pozitivní i u případů prokázaných nezánnětlivých myopatií se sekundární lymfocytární infiltrací (myodystrofie, myasthenia gravis).

I přes patogenetický význam tohoto pozorování lze konstatovat, že imunohistochemický průkaz 3NT nemá využitelný diagnostický potenciál v diferenciální diagnostice IIM ve svalové biopsii.

**Klíčová slova:** oxid dusnatý – 3-nitrotyrosin – polymyozitida – dermatomyozitida – idiopatické zánětlivé myopatie – myodystrofie – myasthenia gravis

*Cesk Patol 2011; 47(2): 62–65*

Polymyositis (PM) and dermatomyositis (DM) represent the subtypes of the idiopathic inflammatory myopathies (IIM). The main attack appears to be directed against the microvasculature in DM, where activation and deposition of complement targets the endothelium of capillaries of muscle tissue, and the proper muscle dam-

age is supposed to be a consequence of the resulting ischemia. On the other hand, the muscle fiber damage seems to be caused directly by cytotoxic CD8+ T cells and macrophages in PM (1). Although immunohistochemistry is a helpful aid to diagnosis of IIM by enabling the immunophenotypic analysis of the inflammatory infiltrate as well as by revealing some of the underlying immune mechanisms (2), the discrimination between the subtypes of IIM by muscle biopsy remains difficult in a proportion of cases. But, it is of utmost importance for the therapeutical decisions.

The "reactive oxygen and nitrogen species" seem to be involved in the pathogenesis of autoimmune inflammatory myopathies; however, their importance has not been well understood (3–5). Formation of nitric oxide (NO), a gaseous free radical, is catalyzed by

### ✉ Correspondence address:

Josef Zámečník, M.D., Ph.D.

Department of Pathology and Molecular Medicine, Charles University, 2nd Medical Faculty and University Hospital Motol, V Uvalu 84, 15006 Prague, Czech Republic

tel.: +420 224 435 635

e-mail: josef.zamecnik@lfmotol.cuni.cz