

Клинико–морфологическая характеристика AA–амилоидоза

А. Н. Сибирякова, Н. Н. Корякова, И. Е. Валамина

ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1», г. Екатеринбург

Clinical and morphological features of AA–amyloidosis

A. N. Sibiryakova, N. N. Koryakova, I. E. Valamina

Sverdlovsk Regional Clinical Hospital №1, Yekaterinburg

Резюме

Был проведен ретроспективный анализ историй заболеваний 62 пациентов с AA–амилоидозом. У 56,5% пациентов причиной развития амилоидоза явился ревматоидный артрит. У 63% пациентов диагноз был установлен на стадии нефротического синдрома, который усугубляет прогноз заболевания. По данным результатов обследований у большинства пациентов имелись микрогематурия (53% пациентов), артериальная гипертензия (67% пациентов), что потребовало проведения дифференциальной диагностики с другими заболеваниями почек. Для морфологического подтверждения диагноза AA–амилоидоза использовалась окраска Конго красным нефробиоптата и аспирата подкожно–жировой клетчатки передней брюшной стенки, целью типирования амилоида А применялось иммуногистохимическое исследование.

Ключевые слова: AA–амилоидоз, аспирация подкожно–жировой клетчатки, иммуногистохимия.

Summary

The retrospective analysis of diseases histories of 62 patients with confirmed amyloidosis has been made. Rheumatoid arthritis was the reason of development amyloidosis in 56,5% of patients. The diagnosis has been established in 63% of patients on the stage of nephrotic syndrome, which aggravates the forecast of disease. The majority of patients have had microscopic hematuria (53% of patients), arterial hypertension (67% of patients), according to the results of inspections which demands carrying out differential diagnostics with other diseases of kidneys. The painting of Congo red of specimens of kidney biopsy and abdominal subcutaneous fat tissue was used, with the purpose of revealing of amyloid A immunohistochemical research was carried out, for morphological confirmation of amyloidosis diagnosis.

Key words: AA–amyloidosis, abdominal subcutaneous fat tissue, immunohistochemistry.

Введение

AA–амилоидоз — постепенно прогрессирующее и часто смертельное системное заболевание, встречающееся у некоторых пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями [1]. Из-за длительного латентного периода болезнь нередко остается неустановленной до случаев, когда уже происходит значительное повреждение органа. Средняя выживаемость после установки диагноза составляет от 2 до 10 лет [2–4]. Поражение почек, характеризующееся протеинурией и почечной недостаточностью, — наиболее частая и характерная черта AA–амилоидоза. Отложения амилоида обнаруживают при биопсии почечной ткани с дальнейшим гистологическим исследованием, при аспирации подкожно–жировой клетчатки с дальнейшим полуколичественным и количе-

ственным определением амилоида А. Аспирация подкожно–жировой клетчатки является новым методом, его место в клинической нефрологической практике до сих пор не определено.

Цель нашего исследования описать клинико–морфологическую картину современного амилоидоза почек.

Материалы и методы исследования

Исследованы результаты гистологии нефробиоптатов пациентов с заболеваниями почек, наблюдавшихся в нефрологическом отделении ГУЗ Свердловской областной клинической больницы №1 с 1999 по 2008 гг. У больных с подтвержденным амилоидозом почек (всего 62 человека), проанализированы причины развития вторичного амилоидоза.

Объем обследований: анализы крови (общий анализ, биохимический анализ, электролиты), анализы мочи (общий анализ, проба Нечипоренко, проба Зимницкого, проба Реберга, суточная протеинурия).

А. Н. Сибирякова — врач нефрологического отделения ГУЗ СОКБ №1;

Н. Н. Корякова — к. м. н., зав. нефрологическим отделением ГУЗ СОКБ №1;

И. Е. Валамина — к. м. н., патоморфолог ГУЗ СОКБ №1.

Диагностика амилоида была основана на доказательстве его наличия в ткани. Для выявления амилоида проводилась аспирация подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки, которая является наименее травматичным методом для данной цели. Техника забора аспирата следующая: кожа и подкожно-жировая клетчатка обезболивается лидокаином, и далее проводится аспирация жировой ткани иглой, соединенной со шприцом. Необходимо около 20–30 мг жировой ткани, чтобы сделать жировые отпечатки. Отпечатки сушатся на воздухе при комнатной температуре, фиксируются в ацетоне и окрашиваются щелочным раствором Конго красный. Стекла, окрашенные Конго красным далее оцениваются полуколичественно. Сродство ткани к Конго красному оценивали при световой микроскопии. Расположение по степеням: 0 (отрицательная), 1+ (незначительная, <1% площади поверхности), 2+ (маленькая, между 1% и 10%), 3+ (средняя, между 10% и 60%), и 4+ (обильная, >60%) [5]. Примеры продемонстрированы на рис. 1 (см. вкл. вкладку).

Кроме того, для подтверждения диагноза «амилоидоз» использовалась окраска нефробиоптата Конго красным, с целью типирования амилоида А применялось иммуногистохимическое исследование с использованием стандартного пероксидазного метода и специфической анти-сыворотки «моноклональное антитело к амилоиду А» фирмы DАСО.

Результаты исследования

По данным регистра биопсий почек, выполненных в нефрологическом отделении ГУЗ СОКБ №1 с 1999 по 2008 г., у 62 чел. (из них 37 женщин, 25 мужчин) был подтвержден амилоидоз почек. Возраст данной группы пациентов от 25 до 76 лет (в среднем 50,5 лет).

Частота диагностики амилоидоза среди всех выполненных за последние 10 лет нефробиопсий, варьировала от 2,7% (1999 г.) до 17% (2007 г.) и составила в среднем 9,85% (табл. 1).

Имуногистохимическое исследование с использованием специфической анти-сыворотки «моноклональное антитело к амилоиду А» с системой визуализации РАР проведено в 29 случаях, при этом АА-амилоидоз подтвержден в 27 случаях (93%).

При анализе структуры заболеваний, приводящих к развитию амилоидоза, ревматоидный артрит составил 56,5%, хронические воспалительные заболевания легких (ХОБЛ, бронхоэктатическая болезнь) — 14,5% и другие заболевания — 29% (табл. 2).

По нашим данным амилоидоз почек в большинстве случаев манифестировал протеинурией, сроки появления которой варьировали от 1

года до 30 лет от начала фонового заболевания. Мочевой синдром появлялся в течение от 1 до 5 лет у 41% больных. Чаще (у 53% пациентов) мочевой синдром развивался через 10 лет и более от начала фонового заболевания. Таким образом, предположить сроки развития вторичного амилоидоза не представляется возможным.

Так же варьировали сроки развития нефротического синдрома. Хотя следует обратить внимание на преимущественное появление нефротического синдрома (у 58% пациентов) в сроки от 10 лет и более от начала фонового заболевания. То есть для вторичного амилоидоза характерно длительное наличие умеренной протеинурии и постепенное развитие нефротического синдрома. К сожалению, заболевание довольно часто диагностировалось только на стадии нефротического синдрома, в имеющейся группе пациентов в 63% случаев.

Среди других проявлений амилоидоза наблюдалась также почечная недостаточность. По данным нашего исследования хроническая почечная недостаточность чаще развивалась в сроки от 10 лет и более (69%), что продемонстрировано в табл. 3.

Для амилоидоза почек характерен «пустой» мочевой осадок, однако, в представленной группе пациентов в 53% случаев имела микрогематурия. Артериальная гипертония наблюдалась у 67% пациентов.

Однако, наличие мочевого синдрома, нефротического синдрома, хронической почечной недостаточности характерно не только для вторичного амилоидоза. Необходимо морфологическое подтверждение диагноза, основанное на обнаружении в тканевых структурах аморфного внеклеточного материала, дающего положительную реакцию с красителем Конго красный. Для выявления амилоида с 2005 г. в нефрологическом отделении ГУЗ СОКБ №1 использовалась аспирация подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки. Наличие амилоида оценивалось полуколичественно при световой микроскопии, и в большей или меньшей степени определялось у всех пациентов с подтвержденным в дальнейшем при гистологическом исследовании нефробиоптата амилоидозом почек.

Кроме того, для подтверждения диагноза АА-амилоидоза использовалась не только окраска Конго красным нефробиоптата, но и применялось иммуногистохимическое исследование с использованием стандартного пероксидазного метода и специфической анти-сыворотки «моноклональное антитело к амилоиду А» фирмы DАСО. В нашем исследовании амилоидные отложения определялись во всех имеющихся в нефробиоптате клубочках и в стен-

ках некоторых мелких интерстициальных артерий и артериол, иногда даже перитубулярно.

В четырех наблюдениях амилоид замещал большинство клубочков тотально и субтотально, в этих же случаях отмечались и тяжелые тубулоинтерстициальные вторичные изменения. И только в трех случаях поражение ограничивалось сегментарными небольшими амилоидными депозитами в гломерулярных капиллярах части клубочков (<50% клубочков).

По результатам нашего исследования можно сделать вывод о несоответствии выраженности морфологических изменений клинической картине заболевания.

На снимке (рис. 2) продемонстрировано субтотальное отложение амилоида А в клубочках, в стенке мелкой артерии. У данной пациентки фоновым заболеванием является ревматоидный артрит, диагностированный в 1977 году. Мочевой синдром выявлен в 2000 году и в динамике уровень протеинурии не превышал 0,75 г/сут. На момент проведения нефробиопсии впервые зафиксировано повышение уровня креатинина до 0,11 ммоль/л.

У другой пациентки, также с ревматоидным артритом (заболевание диагностировано в 1995 г.), впервые мочевой синдром выявлен в 1996 году. Нефротический синдром развился в 1999 г., в связи с чем выполнена нефробиопсия

и морфологически подтвержден амилоидоз почек. Причем при окраске Конго-рот в нефробиопате были выявлены отложения амилоида в стенках мелких интерстициальных артерий. При иммуногистохимическом методе исследования (представлен на снимке) выявлены единичные мелкие депозиты амилоида А в гломерулярных капиллярах (рис. 3).

Обсуждение

Вторичный амилоидоз (АА-амилоидоз) — наиболее часто встречаемая в клинической практике форма амилоидоза, составляющая по патологоанатомическим данным 91,9% всех форм заболевания [6]. При диагностике системного амилоидоза опираются на выявление возможной связи клинических проявлений, включая поражение почек, с предшествующим заболеванием и клинические особенности, обусловленные тропностью каждого типа амилоида к определенным органам и системам. Среди заболеваний, осложняющихся вторичным амилоидозом, чаще других встречаются: ревматоидный артрит, хронические гнойно-деструктивные процессы (остеомиелит, бронхоэктатическая болезнь и др.), туберкулез, опухоли. Имеющиеся в литературе сведения по структуре причин АА-амилоидоза несколько противоречивы. Так, по данным Б.И. Шулушко среди возможных причин вторичного амилоидоза

Таблица 1. Доля больных с амилоидозом почек (%) среди всех нефробиопсий с 1999 по 2008 гг.

Параметр	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Больных с амилоидозом	8,2	2,7	6,8	14	6,6	3,2	16	11,5	17	13,7

Таблица 2. Структура основного заболевания у больных с АА-амилоидозом

Параметр	Количество больных, (n=62)
Ревматоидный артрит	35 (56,5%)
Хронические воспалительные заболевания легких (ХОБЛ, бронхоэктатическая болезнь)	9 (14,5%)
Туберкулез	5 (8,1%)
Анкилозирующий спондилартрит	3 (4,8%)
Реактивный артрит	1 (1,6%)
Периодическая болезнь	1 (1,6%)
Псориатический артрит	1 (1,6%)
Диагноз не уточнен	5 (8,1%)

Таблица 3. Сроки развития основных клинических синдромов амилоидоза почек от начала фонового заболевания (в%)

Сроки развития от начала фонового заболевания	Мочевой синдром	Нефротический синдром	Почечная недостаточность
1–5 лет	41	12	15
5–10 лет	6	30	16
Более 10 лет	53	58	69

Рисунок 2. Нефробиопатат больной Ш. Субтотальное отложение амилоида А в клубочках, в стенке мелкой артерии. ИГХ-реакция с антителом amyloid A (clon mc1. DAKO).

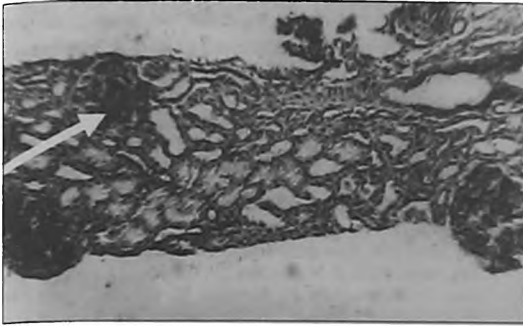
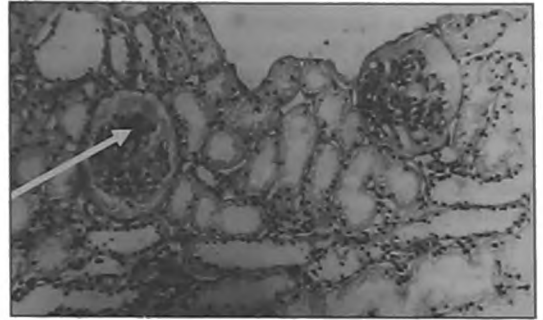


Рисунок 3. Нефробиопатат больной П. Единичные мелкие депозиты амилоида А в гломерулярных капиллярах, ИГХ-реакция с антителом amyloid A (clon mc1. DAKO).



доза преобладают хронические воспалительные поражения легких: в 28% случаев амилоидоз развился на фоне туберкулеза, в 22,9% — на фоне хронического бронхита с бронхоэктазами. Другие предшествующие заболевания встречаются реже: остеомиелит у 13,7% больных, ревматоидный артрит у 10%, большую группу — 20% — составляют больные без какого-либо гнойно-деструктивного заболевания [7]. По данным Н. А. Мухина ревматоидный артрит и ювенильный ревматоидный артрит занимают первое место в ряду предрасполагающих к АА-амилоидозу заболеваний, составляя 43%. В то же время, по материалам клиники Мэйо (США), хронические гнойно-деструктивные процессы отступают на второй план, так же как и туберкулез [8].

По данным Н. А. Мухина в дифференциальной диагностике системного амилоидоза следует принимать во внимание, что АА-тип — более молодой: средний возраст заболевших моложе 40 лет, при данном типе отмечают преобладание мужчин (1,8:1) [9].

Амилоидоз почек манифестирует обычно протеинурией. Протеинурия как наиболее достоверный признак поражения почек выявляется в разные сроки: по данным Н. А. Мухина, одинаково часто как в первые 3 года, так и после 10 лет существования основного заболевания. Значительная потеря белка почками, а также ряд других факторов (усиление катаболизма белка в организме, уменьшение всасывания и усиленное выделение белка через желудочно-кишечный тракт) приводят к развитию гипопроteinемии с гипоальбуминемией и связанного с ними отеочного синдрома. Более характерно развитие нефротического синдрома вслед за стадией умеренной протеинурии, иногда весьма длительной. Протеинурия выявляется в 100% случаев: менее 3,5г/сут — у

24,2%, более 3,5г/сут — 72% больных [10]. Но достаточно часто — у 46 — 50% больных с АА-амилоидозом [Кочубей Л. Н. и др., 1993] — заболевание диагностируется на стадии нефротического синдрома [9].

Однако в части случаев развитие нефротического синдрома возможно и без предшествующей стадии протеинурии [11]. Среди других манифестаций амилоидоза почек наблюдается почечная недостаточность. По данным F.P.Schena и соавт. (1996), ХПН к моменту подтверждения амилоидоза почек выявлялась у 33% больных [9]. По данным В. Р. Hazenberg и М. Н. Rijswijk [12] наличие белка в моче наблюдается в 70% случаев АА-амилоидоза, в то время как снижение функции почек встречается с частотой 18%.

Для амилоидоза почек характерен скудный мочевой осадок, в том числе у больных с массивной протеинурией, однако это классическое представление правомерно не всегда. Может выявляться (по разным данным, в 3,3 — 11,5% случаев) стойкая микрогематурия [9].

У больных АА-амилоидозом артериальная гипертония наблюдается в 23% случаев, чаще в конечной стадии болезни как проявление ХПН, но может быть обнаружена у 15% еще до появления ХПН [9]. По данным В. Р. Hazenberg и М. Н. Rijswijk [12] умеренная гипертония встречается у 20-35% пациентов с амилоидной нефропатией. Обычно артериальная гипертония невысокая, хотя может быть и злокачественной; редки, но возможны, тяжелые гипертонические кризы.

Отложения амилоида обнаруживают при биопсии почечной ткани с дальнейшим гистологическим исследованием. Отложения амилоида окрашиваются Конго красным и показывают зеленое свечение из-за характерного двойного лучепреломления в поляризованном

свете [1]. АА-тип подтверждается при иммуногистохимическом исследовании с использованием специфических антител к белку А [13, 14].

При вовлечении почек не наблюдается полного параллелизма между клиническими проявлениями и массивностью отложения амилоида в клубочках. Уровень потери белка с мочой зависит не столько от величины отложений амилоида, сколько от деструкции ножек и самих клеток подоцитов. Если отложение амилоида в клубочках является причиной протеинурии, то вовлечение интерстиция приводит к ранней почечной недостаточности [15].

Почка — самый очевидный орган для биопсии для определения амилоида у пациентов с симптомами поражения почек, подозрительных на наличие амилоидоза [2, 15]. Тем не менее, биопсия почки является инвазивной процедурой и потенциально опасна таким осложнением, как паранефральное кровотечение, наблюдающееся в 0,7% случаев [16]. Аспирацию подкожно-жировой ткани брюшной стенки легко выполнить, и она имеет минимальный риск осложнений и может быть использована для определения тканевых отложений амилоида [17].

У 52-88% пациентов образцы подкожно-жировой ткани брюшной стенки позитивно реагируют при окраске Конго красным, подтверждая наличие амилоида [18-19]. Специфичность данного метода 100% [20].

Таким образом, данные литературы и анализ гистологических исследований биопсий почек, указывают на достаточно высокую распространенность амилоидоза почек. Более того, частота встречаемости амилоидоза почек в Свердловской области является более высокой, что требует более детального изучения. Ранняя диагностика является одной из проблем в изучении амилоидоза и необходима для правильного выбора тактики ведения пациентов, улучшения прогноза заболевания. На основании проводимого нами исследования удалось выявить, что:

- 1) причиной развития амилоидоза почек чаще является ревматоидный артрит;
- 2) средний возраст заболевших 50 лет;
- 3) имеется вариабельность в сроках развития мочевого, нефротического синдромов и почечной недостаточности;
- 4) в большинстве случаев у пациентов наблюдалась микрогематурия, артериальная гипертензия, что требует проведения дифференциального диагноза с другими заболеваниями почек;
- 5) для выявления амилоидоза на ранних сроках развития заболевания с целью выявления амилоида можно использовать аспирацию

подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки;

6) имеется несоответствие между морфологическими и клиническими проявлениями заболевания.

В связи с вышеизложенными особенностями прогнозирования течения амилоидоза на сегодняшний день затруднительно и требуются дальнейшие исследования в данном направлении.

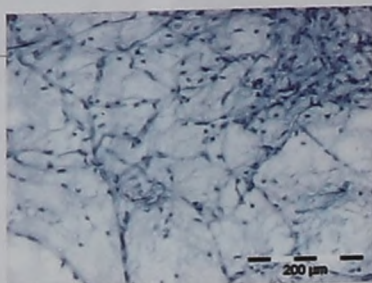
Литература

1. Falk RH, Comenzo RL, Skinner M. The systemic amyloidoses. *N Engl J Med* 1997; 337:898-909.
2. Janssen S, van Rijswijk MH, Meijer S, Ruinen L, van der Hem GK. Systemic amyloidosis: a clinical survey of 144 cases. *Neth J Med* 1986; 29:376-85.
3. Joss N, McLaughlin K, Simpson K, Boulton-Jones JM. Presentation, survival and prognostic markers in AA amyloidosis. *QJM* 2000; 93:535-42.
4. Gillmore JD, Lovat LB, Persey MR, Pepys MB, Hawkins PN. Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. *Lancet* 2001; 358: 24-9.
5. Hazenberg BP, Limburg PC, Bijzet J, van Rijswijk MH. A quantitative method for detecting deposits of amyloid A protein in aspirated fat tissue of patients with arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999; 58: 96-102.
6. Серов В. В., Шапов И. А. Амилоидоз. М.: Медицина; 1977. 128 — 140.
7. Шулутко Б. И. Воспалительные заболевания почек. С.-П.: Ренкор; 1997. 203-207.
8. Козловская Л. В. Амилоидоз. *Терапх.* 1998; 6: 62-70.
9. Тареева И. Е. *Нефрология.* М.: Медицина; 2000. 546-557.
10. Мухин Н. А. Амилоидоз почек: Вопросы клиники и патогенеза: Автореф.дисс. ... докт.мед.наук. М., 1981.
11. Шишкин А. Н., Янченко Д. Е., Козлов В. Я. Прогностические критерии и выживаемость у больных с вторичным амилоидозом почек. *Нефрология* 2000; 4: 15-21.
12. Hazenberg B. P., van Rijswijk M. N. Clinical and therapeutic aspects of AA amyloidosis. *Bailliere's Clinical Rheumatology* 1994; 8: 661-690.
13. Hazenberg B. P., Grond J, van de Top D, Bijzet J, Limburg PC, van Rijswijk MH. Detection of amyloid AA in rectal biopsies with a new monoclonal anti-human SAA antibody (Reu.86.2). *Kidney Int* 1991; 40:976-7.
14. Rocken C, Sletten K. Amyloid in surgical pathology. *Virchows Arch* 2003; 443:3-16.
15. Boble A., Webrmann M., Eissele R. et al. The long-term prognosis of AA and AL renal amyloidosis and the pathogenesis of chronic renal failure in renal amyloidosis. *Pathology, Research and Practice* 1993; 189: 316-331.
16. Ennevaara K, Oka M. Rheumatoid arthritis with amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 1964; 23: 131-8.
17. Westermark P. Diagnosis and characterisation of systemic amyloidosis by biopsy of subcutaneous abdominal fat tissue. *Internal Medicine Specialist* 1984; 5:154-60.
18. Libbey CA, Skinner M, Cohen AS. Use of abdominal fat tissue aspirate in the diagnosis of systemic amyloidosis. *Arch Int Med* 1983; 143: 1549-52.
19. Kuroda T, Tanabe N, Sakatsume M, Nozawa S, Mitsuka T, Ishikawa T, et al. Comparison of gastroduodenal, renal and abdominal fat biopsies for diagnosing amyloidosis in rheumatoid arthritis. *Clin Rheum* 2002; 21: 123-28.
20. Hazenberg BPC, Grond J, van de Top D, Bijzet J, Limburg PC, van Rijswijk MH. Detection of amyloid AA in rectal biopsies with a new monoclonal anti-human SAA antibody (Reu.86.2). *Kidney Int* 1991; 40: 976-7.

Рисунок 1. Классификация степеней отложения амилоида в аспирате подкожно-жировой клетчатки, окрашенном Конго красным, тридцатикратное увеличение [5]

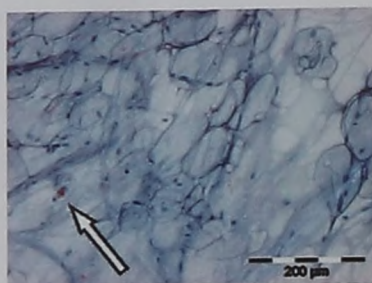
A

0



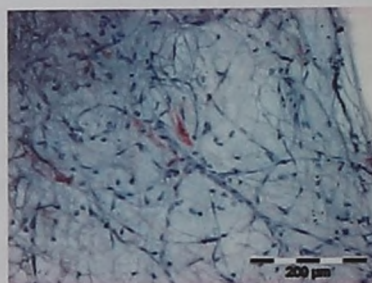
B

1+



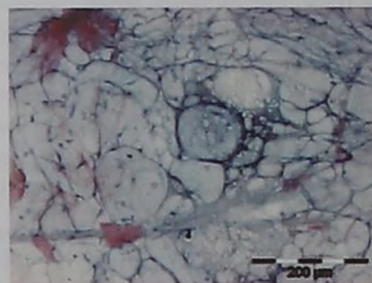
C

2+



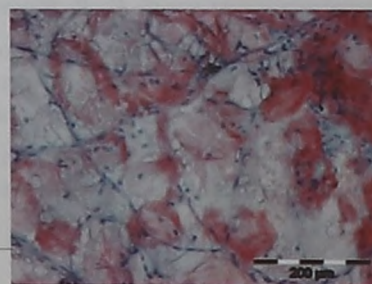
D

3+



E

4+



Световая микроскопия