

УДК 616.1-056.7-091

Современный метод ранней клинической диагностики амилоидоза при периодической болезни

С.В.Амбарцумян, Г.А.Еганян, Н.С.Погосян, Д.М.Казарян

*Кафедра патологической анатомии, кафедра терапии № 2
ЕГМУ им. М.Гераци
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: периодическая болезнь, амилоидогенез, А амилоид, кровь, моноциты, иммуноморфологическая диагностика

В настоящее время актуальна проблема ранней диагностики периодической болезни (ПБ) и амилоидоза, поскольку при лечении заболевания на ранних этапах можно обеспечить регресс амилоидных депозитов и улучшить функцию пораженного органа [2]. В связи с этим так важны разработка и внедрение новых эффективных методов диагностики амилоидоза при ПБ в раннем латентном (допротеинурическом) периоде, а также оценка активности амилоидогенеза, прогноз заболевания и выбор оптимальной дозировки колхицина для лечения амилоидоза [1]. Кроме того, существующие общепринятые морфологические методы диагностики амилоидоза, основанные на биопсии тканей и органов, являясь инвазивными, ограничены в использовании и не удобны для массовых скрининговых обследований в группах больных с риском развития амилоидоза. Обычно больной соглашается на диагностическую биопсию уже при появлении лабораторных или клинических симптомов развернутых стадий амилоидоза: протеинурии, отеков, симптомов почечной недостаточности.

В данной работе представлены полученные нами результаты иммуноцитохимического исследования моноцит/макрофагов крови, на присутствие амилоидного фибриллярного основного белка А (АА) у больных, находящихся в четырех стадиях амилоидоза почек – латентная, протеинурическая, нефротическая, уремическая.

Мы считаем, что инициальное звено амилоидогенеза следует искать в крови, так как именно здесь накапливается сывороточный амилоидный протеин (SAA) – предшественник фибриллярного белка амилоида [3, 4], а в качестве клеток-амилоидобластов могут выступать клетки крови.

Материал и методы

Проведено исследование периферической крови 60 больных ПБ, а 10 практически здоровых лиц составили контрольную группу. Выявление основного белка амилоида в клетках крови у пациентов, страдающих ПБ без амилоидоза и с осложненным амилоидозом, проведено с помощью иммуноцитохимической реакции с использованием моноклональных мышечных антител к АА белку амилоида человека производства фирмы Dako Cytomation (Дания).

Результаты и обсуждение

Нами определено наличие амилоидного фибриллярного белка в цитоплазме моноцитов во всех четырех стадиях амилоидоза почек при ПБ (рис. 1-3).

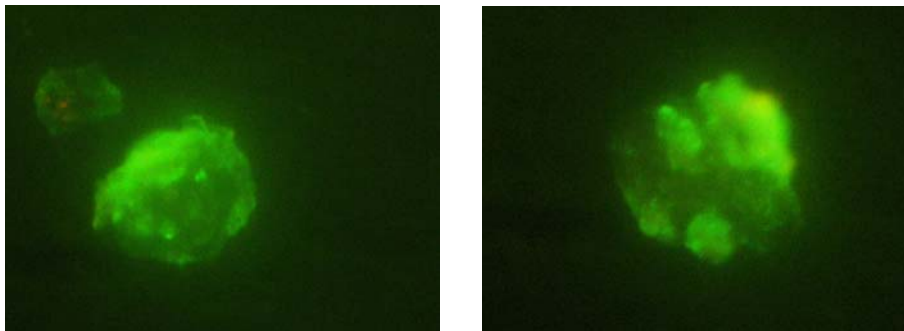


Рис. 1, 2. Свечение моноцитов крови в латентной и протеинурической стадиях амилоидоза при ПБ, непряная реакция иммунофлюоресценции, моноклональный мышечный антиА-амилоидный компонент, ок. 10, об. 90

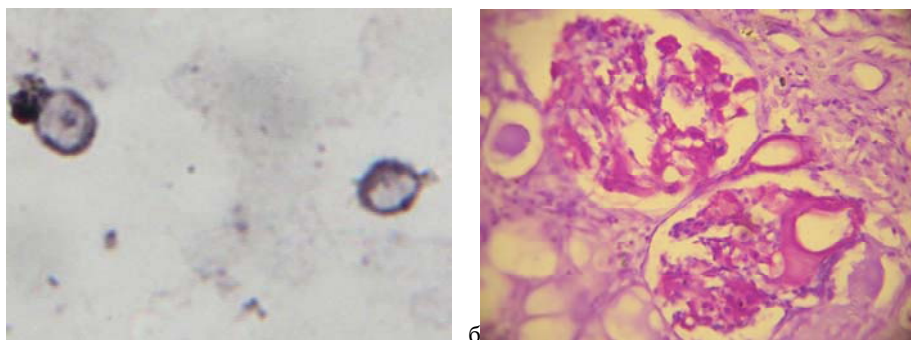


Рис. 3: а–фрагменты амилоидного фибриллярного белка в моноцитах крови в нефротической стадии амилоидоза при ПБ. АВС реакция, моноклональный мышечный антиА-амилоидный компонент, ок. 10, об. 90; б–амилоидные депозиты в почечных клубочках того же больного (нефротическая стадия), нефробиоптат, метил виолет, х400

В результате выявлено наличие окрашенных моноцитов во всех изученных группах, что может свидетельствовать об их участии в процессе неполной деградации прекурсорного протеина амилоидного фибриллярного белка – SAA и амилоидогенеза. Считаем, что иммуноцитологическое исследование моноцитов крови особенно важно на ранних этапах амилоидоза, связанного с ПБ, а именно в латентном, а также в протеинурическом периодах, когда данные пункционно-биопсийных исследований почек у больных отсутствуют. Выявление моноцитов, содержащих амилоидный фибриллярный белок AA, может быть использовано как неинвазивный иммуноцитохимический метод, оценивающий процесс амилоидогенеза. Преимуществом данного метода является то, что он может быть использован для ранней диагностики амилоидоза как чувствительный, легко реализуемый метод исследования крови пациентов, страдающих ПБ, с целью диагностики амилоидоза в латентный период, и позволит добиться его своевременного и эффективного лечения, а также на более поздних этапах амилоидогенеза послужит для оценки наличия патологического процесса и его активности.

Количественный подсчет окрашенных иммуноцитохимическим методом клеток крови проведен в 10 полях зрения микроскопа (x1000) в каждом исследуемом случае. Результаты подсчета подверглись статистической обработке (таблица).

Таблица

Количество моноцитов крови в поле зрения при различных стадиях амилоидоза почек больных ПБ, без развития амилоидоза больных ПБ и в контрольной группе

Показатели	Контрольная группа	Наличие амилоидоза и его стадия в группах больных с ПБ				
		без амилоидоза	латентная	протеинурическая	нефротическая	уремическая (ХПН)
Количество исследований (n)	10	22	6	10	9	13
min-max	-	-	1-11	2-12	2-10	2-18
M±m	-	-	4,93±0,45	5,55±0,42	5,58±0,36	7,0±0,72
σ	-	-	2,46	2,35	1,98	4,03
Me	-	-	4,5	5	5	6
P	-	-	-	-	P<0,05	P<0,05

Выяснилось, что между группами, разделенными по стадиям заболевания, статистически достоверной разницы практически не наблюдается. Однако определялась статистически достоверная разница между латентной и нефротической, а также между латентной и уремической

группами ($P < 0,05$). Из вышеизложенного следует, что амилоидогенез прогрессирует по течению каждой стадии, достигая максимальной степени особенно в поздних стадиях амилоидоза почек.

Мы считаем, что инициальное звено амилоидогенеза – кровь, а именно: в моноцитах накапливаются фрагменты А-амилоидного фибриллярного протеина, и в качестве клеток-амилоидобластов выступают клетки крови. Выявление моноцитов, содержащих предшественник амилоидного фибриллярного белка, может быть использовано в качестве метода иммуноцитохимической диагностики амилоидоза и как информативный тест – для оценки активности, иначе говоря интенсивности процесса амилоидогенеза, тем самым и прогноза заболевания. Преимуществом данного метода, по сравнению с биопсией тканей почки или прямой кишки, является то, что он может служить в качестве метода ранней диагностики амилоидоза, поскольку как чувствительный, легко реализуемый неинвазивный метод, он подходит для массовых и повторных исследований периферической крови пациентов, страдающих периодической болезнью, во время мониторинга за течением болезни, что позволит своевременно обнаружить амилоидоз в ранней допротеинурической стадии и добиться тем самым его эффективного лечения.

Поступила 21.02.14

Պարբերական հիվանդությամբ պայմանավորված ամիլոիդոզի վաղ կլինիկական ախտորոշման ժամանակակից մեթոդ

Ս.Վ. Համբարձումյան, Գ.Ա. Եզանյան, Ն.Ս. Պողոսյան, Դ.Մ. Ղազարյան

Ներկայացված են արյան մոնոցիտ/մակրոֆագերի բջջապլազմայում ամիլոիդային ֆիբրիլյար սպիտակուցի ֆրագմենտի առկայության վերաբերյալ մեր ուսումնասիրություններից ստացված տվյալները պարբերական հիվանդությամբ պայմանավորված երիկամի ամիլոիդոզի բոլոր չորս (լատենտ, պրոտեինուրիայի, նեֆրոզային, ուրեմիայի) շրջաններում: Կարծում ենք, որ ամիլոիդոզենեզի նախնական օղակը պետք է փնտրել արյան մեջ, քանի որ այստեղ է կուտակվում շիճուկային А-ամիլոիդային սպիտակուցը (SAA)՝ ամիլոիդի ֆիբրիլյար բաղադրամասի նախորդիչը, իսկ ամիլոիդոբլաստների դերում կարող են հանդես գալ արյան բջիջները: Պարբերական հիվանդությամբ տառապող հիվանդների խմբերում՝ առանց ամիլոիդոզի և ամիլոիդոզով բարդացած (գաղտնի, պրոտեինուրիայի, նեֆրոզային և ուրեմիայի փուլերում), ամիլոիդային ֆիբրիլյար սպիտակուցի բաղադրամասի հայտնաբերման համար մեր կողմից կիրառվել է իմունահյուսվածաքիմիական ռեակցիա:

Ամիլոիդային ֆիբրիլյար սպիտակուցի նախորդիչի ֆրագմենտների հայտնաբերումը բջիջներում կարող է կիրառվել որպես ամիլոիդոզների գործընթացի առկայության, ակտիվության և ուժգնության գնահատման ժամանակակից և համեմատաբար ոչ ինվազիվ թեստ:

Նշված մեթոդի առավելությունը կայանում է նրանում, որ այն կարող է ներդրվել որպես վաղ ախտորոշիչ և զգայուն, հեշտ իրագործելի հետազոտման մեթոդ պարբերական հիվանդությամբ տառապող հիվանդների ծայրամասային արյան ուսումնասիրության եղանակով ամիլոիդոզի ախտորոշման համար:

The modern method of early clinical diagnostics of amyloidosis at periodic disease

S.V.Hambardzumyan, G.A.Yeganyan, N.S.Poghosyan, D.M.Ghazaryan

The data of our study of the blood monocyte/macrophages, the presence of amyloid fibrillar protein fragments in these cells cytoplasm in four stages of renal amyloidosis (latent, proteinuric, nephrotic and uremic) are presented. We think, that the initial link of amyloidogenesis should be sought in the blood, because serum amyloid protein-A – a precursor of amyloid fibrillar component, is accumulated here and monocytes can act as amyloidoblasts. In groups of patients suffering from periodic disease without amyloidosis and complicated with amyloidosis, for detection of amyloid fibrillar protein components immunohistochemical reaction was used.

Detection of fragments of amyloid fibrillar component precursor protein in cells can be used as a modern and reliable noninvasive test evaluating the presence of amyloidogenesis process, its activity and intensity.

The advantage of the method is that it will serve as an early diagnostic sensitive, easy for implementation research method of peripheral blood of patients suffering from PD for diagnostics of amyloidosis.

Литература

1. *Еганян Г.А.* Новая гипотеза патогенеза приступов и развития амилоидоза при периодической болезни. *Кровь*, 2005, №1 (1), с. 80-85.
2. *Dember, L., Hawkins P., Hazenberg B. et al.* Eprodisate for AA Amyloidosis Trial Group. Eprodisate for the treatment of renal disease in AA amyloidosis. *N. Engl. J. Med.*, 2007; 356:2349–2360.
3. *Rocken C., Menard R., Buhling F., Vockler S. et al.* Proteolysis of serum amyloid A and AA amyloid proteins by cysteine proteases: cathepsin B generates AA amyloid proteins and cathepsin L may prevent their formation. *Ann. Rheum. Dis.*, 2005; 64:808-815.
4. *Westenmark G., Westenmark P.* Serum amyloid A and protein AA: molecular mechanisms of a transmissible amyloidosis. *FEBS Lett.*, 2009; 583(16):2685-90.