

Diagnóza nemoci z ukládání lehkých řetězců imunoglobulinů (LCDD) v bioptické praxi – editorial

E. Honsová

Pracoviště klinické a transplantační patologie, Transplantcentrum IKEM Praha, vedoucí pracoviště prim. MUDr. Eva Honsová, Ph.D.

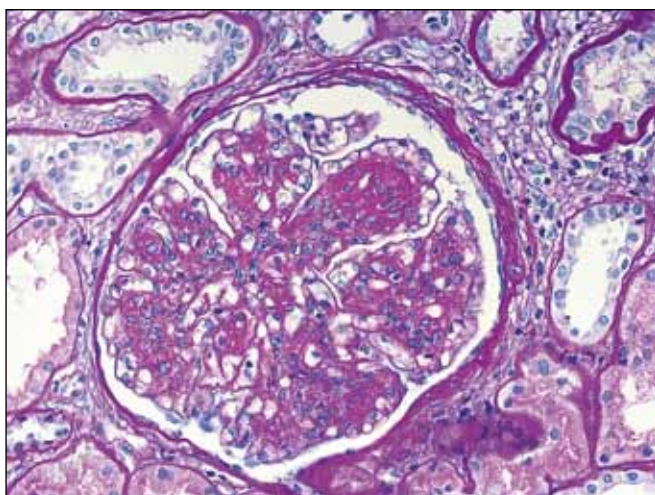
Študla V et al. Nemoc z ukládání lehkých řetězců imunoglobulinu (light chain deposition disease). Vnitř Lék 2012; 58(1): 38–43.

Plasma cell dyscrasie představují klonální expanzi abnormálních plazmocytů, které produkují monoklonální protein, což může být buď celý imunoglobulin, nebo jeho fragment (monoklonální volný lehký nebo těžký řetězec). Protože lehké řetězce jsou „odfiltrovány“ z cirkulace v ledvinách, stává se poškození ledvin běžnou komplikací těchto chorob. Morfologie poškození ledvin při klonálních proliferacích plazmocytů je velmi různorodá a zahrnuje poškození glomerulů, tubulů, intersticia i cév, a to buď samostatně, nebo v různých kombinacích. Projev poškození v ledvinách závisí na

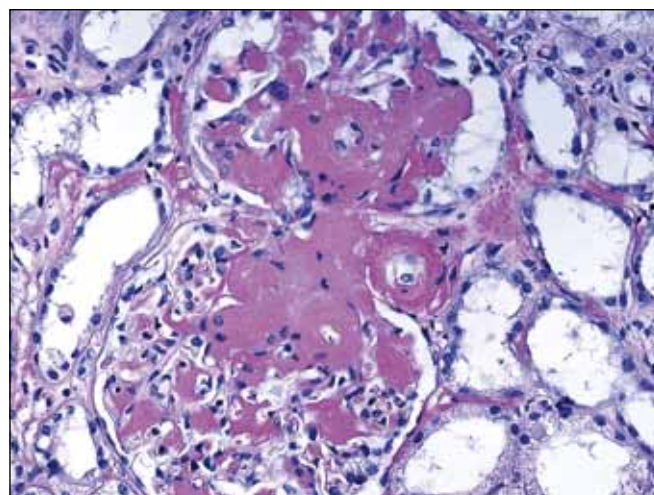
mechanismu poškození, který je ovlivňován interakcí lehkých řetězců (LC) s buňkami sídlícími v ledvinách a také odlišnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi paraproteinu. Průměrně 85 % LC je nefrotoxických; většina z nich poškozuje tubulointersticiu a jsou označovány jako **tubulopatické**. Zbývající část postihuje především glomeruly a ty jsou označovány za **glomerulopatické**. Glomerulopatické řetězce nepostihují pouze ledviny, ale pravidelně způsobují systémová onemocnění s postižením mnoha orgánů. Na základě klinicko-patologických charakteristik rozlišujeme 2 typy glome-

rulopatických řetězců: jedním z nich jsou řetězce způsobující **amyloidózu** (AL-amyloidóza) a druhým jsou řetězce vedoucí k **LCDD**. Obě onemocnění mohou mít vzácně variantu, kdy jsou depozita odvozena od těžkých řetězců, nebo může jít o kombinaci lehkých a těžkých řetězců. AL-amyloidóza obvykle doprovází řetězce λ (hlavně VI), LCDD je nejčastěji součástí onemocnění s κ řetězcem (hlavně I a IV).

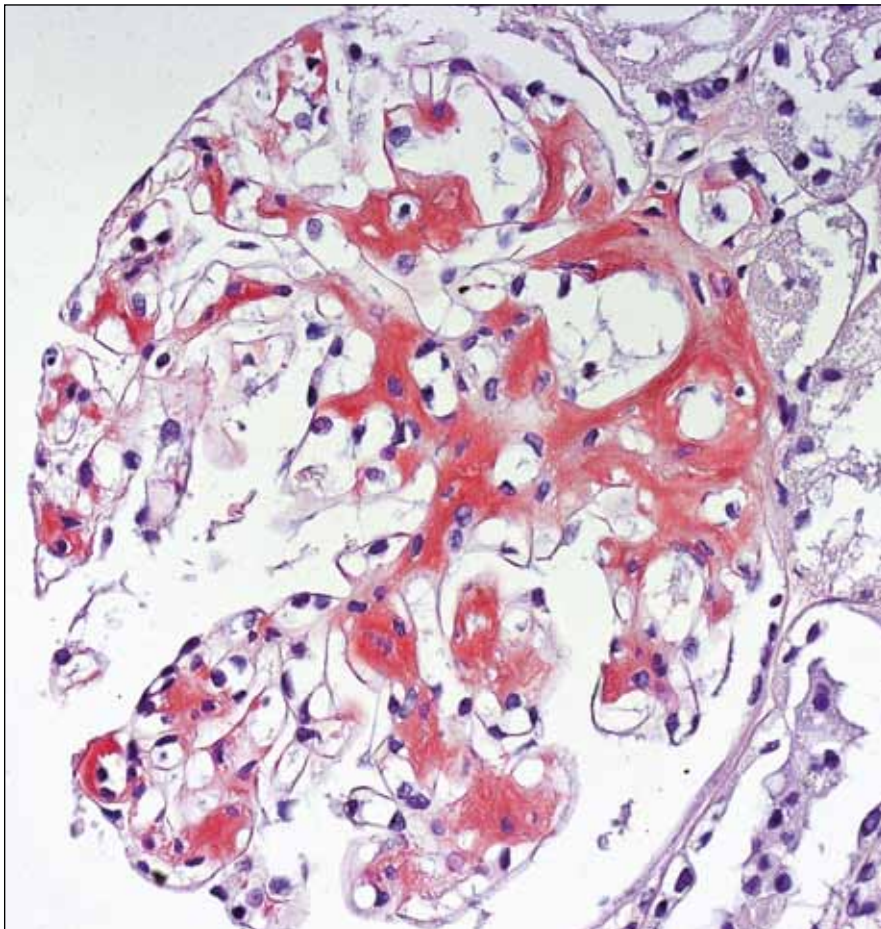
V plně vyvinutých případech jsou morfologické charakteristiky obou chorob odlišné a představují zmnožení mezangia s nodulárními formacemi u LCDD a nahrazení mezangiální



Obr. 1. Glomerulus s mezangiální proliferací, se zmnožením mezangiální matrix a nodulárními formacemi při LCDD. Ztlustělé tubulární bazální membrány. Barvení PAS, objektiv 40krát.



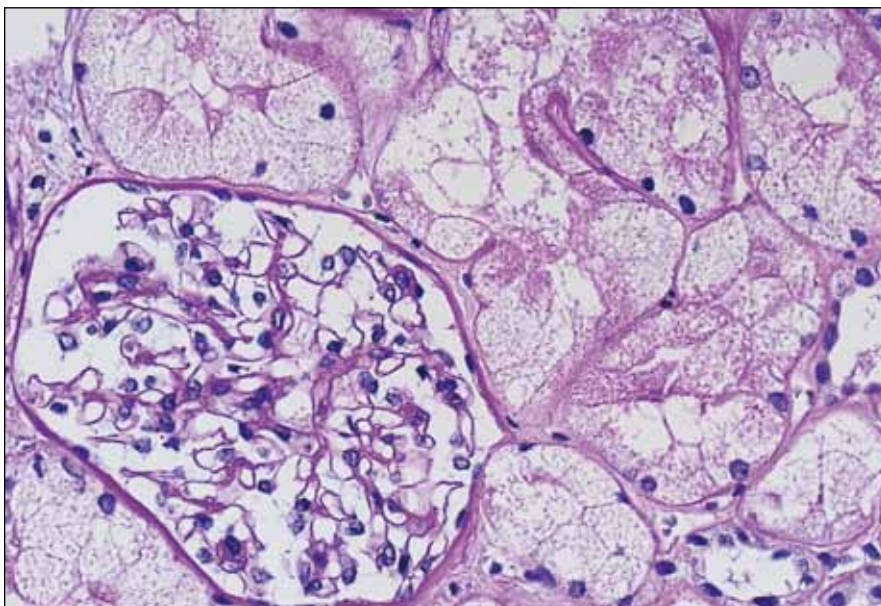
Obr. 2. Rozšíření mezangia s amorfními depozity amyloidu, bez proliferace, bez zánětu. Aby mohla být depozita označena za amyloid, musí být kongo červeně pozitivní. Barvení PAS, objektiv 20krát.



Obr. 3. Kongo červen pozitivní depozita amyloidu v glomerulu. Barvení kongo červen, zvětšení 40krát.

matrix depozity amyloidu v případě AL-amyloidózy (obr. 1, 2). Depozita amyloidu jsou pozitivní v barvení kongo červení a vykazují zelený dvoj-

lom v polarizačním světle (v takto obarvených řezech) (obr. 3). Depozita při LCDD se kongo červení nebarví. Pokročilá stadia obou onemocnění mají



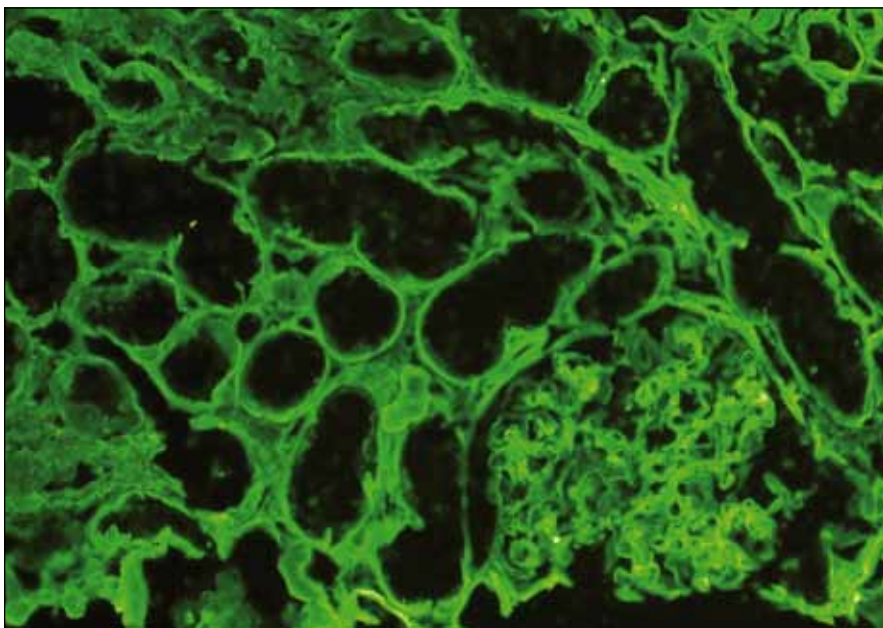
Obr. 4. LCDD s minimálními depozity a glomerulem s prakticky normální morfologií v časně fázi onemocnění. Barvení PAS, zvětšení 20krát.

charakteristickou morfologií, ale v případě časných fází je situace zcela odlišná. Časná stadia onemocnění nelze rozpoznat pouze na základě světelné mikroskopie a pro stanovení diagnózy jsou nezbytné další postupy (především imunofluorescence).

Experimentální práce skupiny prof. Herrery přispěly k pochopení rozdílné patofyziologie a následně morfologie u obou chorob [1,2]. Autoři v experimentu prokázali, že **LC dokážou měnit fenotyp mezangiálních buněk**. V případě AL-amyloidózy se fenotyp mění směrem k makrofágům s vývojem lyzozomů, uvnitř kterých probíhá degradace a přetvoření LC do fibril amyloidu. Současně jsou aktivovány metaloproteinázy, které rozstípují, destrukují mezangium, a tím vytvoří místo pro fibrily amyloidu. Dalším krokem je inhibice TGF- β a apoptóza mezangiálních buněk. Výsledkem jsou depozita amyloidu v mezangiu, bez proliferace a bez zánětlivé reakce.

Na druhé straně v případě LCDD se mezangiální buňky mění směrem k myofibroblastům a pod vlivem platelet-derived growth factor mezangiální buňky proliferují a spolu s aktivací TGF- β je výsledkem tvorba mezangiálních nodulů. Hlavní komponentou rozšířeného mezangia se stane tenascin, který nemůže být odbourán mezangiálními buňkami, a tak je v pokročilých stádiích výsledkem nodulární glomeruloskleróza, která je ve světelné mikroskopii prakticky totožná s diabetickou glomerulosklerózou (Kimmelstiel-Wilson).

Morfologické změny při LCDD jsou velmi různorodé, kromě jiného i v závislosti na pokročilosti onemocnění, a zahrnují stavy s morfologií normálních glomerulů přes morfologii mezangioproliferativních po membranoproliferativní glomerulonefritidy. V některých případech mohou být součástí glomerulární patologie srpků. V časných stádiích LCDD mají glomeruly normální vzhled, nebo jsou změny velmi mírné, diskrétní a jejich diagnóza je velmi komplikovaná (obr. 4). Také

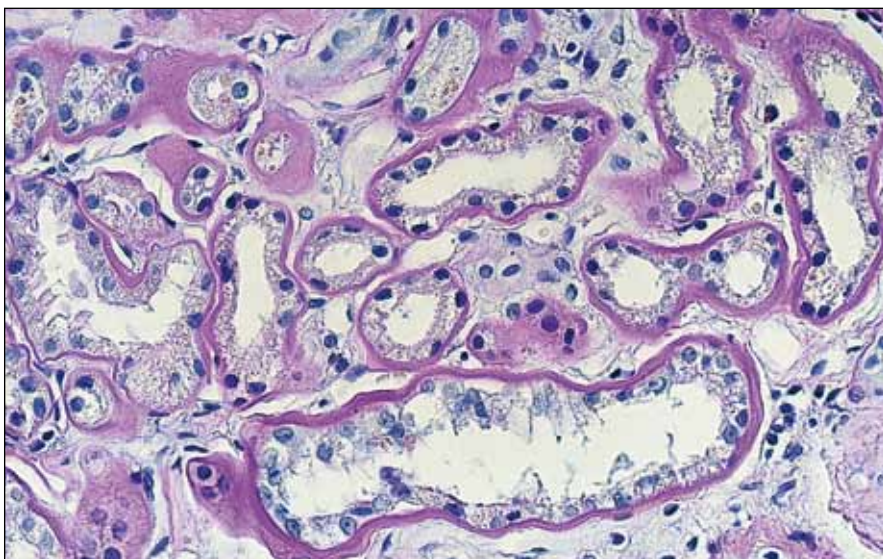


Obr. 5. Imunofluorescence s pozitivním průkazem kappa v tubulárních bazálních membránách při LCDD. Onemocnění je pokročilé, pozitivní průkaz (zelená barva) je lineární. Imunofluorescence, lehký řetězec κ , zvětšení 20krát.

rozpoznání LCDD u pacienta s diabetes mellitus představuje pro patologa opravdovou výzvu (v obou případech jde o noduly, v obou případech jsou PAS pozitivní, obě onemocnění mají jako svoji součást PAS pozitivní ztluštělé bazální membrány glomerulů i tubulů a abnormální LC jsou navíc glykozylovány, což zcela mění jejich imunofluorescenční vlastnosti).

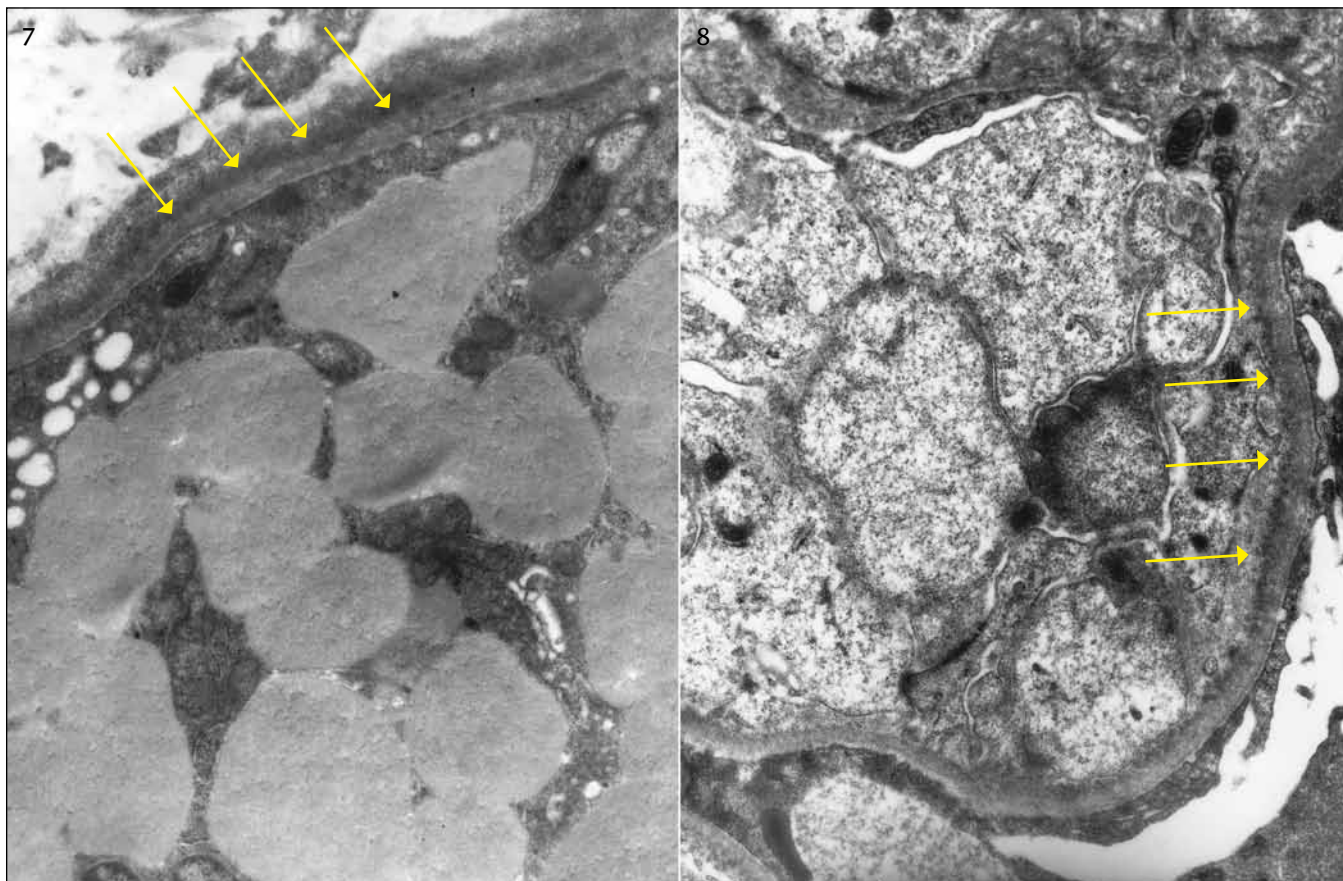
Diagnosticky nejprínosnější je imunofluorescenční vyšetření s charakteristickým lineárním nebo semili-

neárním pozitivním průkazem obvykle IgG κ (obr. 5) podél glomerulárních (GBM) a/nebo podél tubulárních bazálních membrán (TBM). Depozita mohou být izolovaně pouze podél TBM nebo GBM nebo mohou být přítomna v obou lokalitách a výjimečně též v intersticiu nebo v cévách (obr. 6). V elektronovém mikroskopu (ELMI) jsou depozita granulární, s různým stupněm elektron-denzity a lemuji v různě široké vrstvě bazální membrány (obr. 7, 8). Méně často mohou být de-



Obr. 6. Ztluštělé PAS pozitivní bazální membrány tubulů při pokročilém LCDD. Barvení PAS, zvětšení 20krát.

pozita rozpoznatelná i v mezangiu. V běžně prováděném ELMI nejsou depozita u LCDD nijak specifická a ničím se neliší od depozit v rámci imunokomplexových GN. **Intenzita průkazu a lokalizace depozit v imunofluorescenci neodpovídá jejich distribuci v elektronovém mikroskopu.** Obecně je imunofluorescence citlivější a depozita lze lépe rozpoznat v imunofluorescenci než v ELMI. Pouze raritně je situace obrácená, kdy jsou depozita negativní v imunofluorescenci a přitom jsou rozpoznatelná v ELMI. To, že v části případů **komerčně dostupné protilátky nereagují s lehkými řetězci**, je dobře známým faktem, který komplikuje nejenom diagnostiku LCDD, ale také AL-amyloidózy [3]. Až 20 % případů AL-amyloidózy nereaguje s imunofluorescenčními protilátkami a v případech imunohistochemie tato hodnota dosahuje 50 %. Je to dáno velkou variabilitou lehkých řetězců, kdy výroba nepostihne variabilní antigeny. Proto AL-amyloidózu ani LCDD nelze na základě imunohistochemie z parafinových řezů diagnostikovat [4]. Přínosem by bylo imunoELMI, tj. technika, kdy je zlatem značená protilátka detekovaná v ELMI [5]. Vyšetření je metodologicky velmi náročné a má také další limitace; především v imunoELMI jsou daleko hůř patrné struktury tkáně. Navíc jde o odlišnou techniku zpracování, včetně odlišné fixace následované odlišnými typy zalévacích pryskyřic. To je vedle větší náročnosti jedním z důvodů, proč se vyšetření běžně nepoužívá a v ČR není rutinně dostupné. Pokud jde o autorem zmíněné „nutné“ odlišení depozit těžkých řetězců, rozhodně se to lépe řekne, než udělá. Jde o vzácné onemocnění, nejběžnější je γ -heavy chain disease ($\gamma 1$ a $\gamma 3$ subtyp); u těchto pacientů je často hypokomplementemie a aktivace C3, což značně ovlivňuje výsledek imunofluorescence a komplikuje diagnózu. Problematika komerčních protilátek je zde stejná jako v případě LCDD. Teoreticky by speciálně na heavy chain disease měli být vyšetřeni pacienti s ledvinovou lézí



Obr. 7. ELMI: granulární depozita lemují ze zevní strany tubulární bazální membránu. Vrstvu elektron-denzního materiálu (depozit) označují šípky.

Obr. 8. ELMI: granulární depozita ve velmi tenké vrstvě lemují vnitřní stranu glomerulární bazální membrány, označeno šípkami.

a monoklonální gamapatií v klinickém obraze a současně s negativním průkazem κ i λ řetězců v imunofluorescenci. Onemocnění je velmi pravděpodobně poddiagnostikované. Podle mých informací nikdo v ČR dosud takové onemocnění nediagnostikoval.

Do diferenciální diagnostiky patří různá onemocnění, která nedoprovází monoklonální gamapatie, především diabetes mellitus a různé pokročilé GN s membranoproliferativními rysy v morfologii. Zvažujeme-li pouze onemocnění související s monoklonální gamapatií, pak jsou v diferenciální diagnóze proliferativní GN s monoklonálními depozity (IgG1 nebo IgG3) i nepříliš vzácné různé **kombinace onemocnění**, jako kombinace amyloidózy a LCDD, LCDD a cast nephropathy (tzv. myelomová ledvina), amyloidózy a cast nephropathy atd.

V praxi je nejčastější kombinace AL-amyloidózy a cast nephropathy.

Závěrem lze shrnout, že **LCDD je většinou diagnostikováno v biopsiích ledvin**, kde má patolog vedle světelné mikroskopie rutinně k dispozici imunofluorescenci a ELMI. I přesto jde o jednu z nejtěžších diagnóz, protože morfologie může být velmi různorodá a používané komerčně dostupné protilátky s částí řetězců vzhledem k jejich variabilitě nereagují. V současné době nejsou rutinně dostupné další postupy, které by umožnily přesnou identifikaci deponovaných proteinů. Použití sofistikovaných technologií je stále ještě problematické, protože obvykle nedostačuje množství reziduální tkáně v biopsii, zvláště v časných stádiích onemocnění, kdy depozit je málo a jsou distribuována velmi fokálně. Jako nejslibnější se do budoucna zdá využití hmotnostní spektrometrie.

Literatura

1. Keeling J, Teng J, Herrera GA et al. AL-amyloidosis and light-chain deposition disease light chains induce divergent phenotypic transformations of human mesangial cells. *Lab Invest* 2004; 84: 1322–1338.
2. Keeling J, Herrera GA. Matrix metalloproteinases and mesangial remodeling in light chain-related glomerular damage. *Kidney Int* 2005; 68: 1590–1603.
3. Picken MM. Amyloidosis-where are we now and where are we heading? *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 545–551.
4. Picken MM. New insights into systemic amyloidosis: the importance of diagnosis of specific type. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2007; 16: 196–203.
5. Herrera GA. The contributions of electron microscopy to the understanding and diagnosis of plasma cell dyscrasia-related renal lesions. *Med Electron Microsc* 2001; 34: 1–18.

prim. MUDr. Eva Honsová, Ph.D.

www.ikem.cz

e-mail: eva.honsova@ikem.cz

Doručeno do redakce: 7. 7. 2011