

5 DIAGNOSTICKÁ KRITÉRIA A POSTUPY U SYSTÉMOVÉ AL AMYLOIDÓZY

5.1 Diagnostická kritéria

Časná diagnóza systémové AL amyloidózy je obtížná, poněvadž neexistuje žádný samostatný laboratorní

ukazatel, ani zobrazovací technika, které by diagnózu nemoci samy o sobě umožnily (Gertz, 2011). Správná diagnóza systémové AL amyloidózy se proto opírá o splnění souboru diagnostických kritérií, sestavených v roce 2011 IMWG (International Myeloma Working Group) v tabelární formě (tab. 5.1).

Tab. 5.1 Diagnostická kritéria systémové AL amyloidózy dle IMWG (Rajkumar, 2011; 2013)

Musí být splněna všechna 4 kritéria:
<p>1. Průkaz postižení alespoň jednoho orgánu, tj. ledviny, srdce, jater, GIT, nervu aj. depozity amyloidu, nikoliv v důsledku jiné choroby</p> <p>2. Průkaz amyloidu v odebrané tkáni s použitím:</p> <ul style="list-style-type: none"> - aspirační biopsie podkožního tuku a kostní dřevě, případně slinné žlázy nebo přímá biopsie postiženého orgánu - barvení pomocí konžské červeně - průkazu fibril amyloidu pomocí elektronové mikroskopie <p>3. Přímý průkaz AL („light chain“) typu amyloidu:</p> <ul style="list-style-type: none"> - s použitím hmotnostní spektrometrie - s použitím imunohistochemie či imunofluorescence - s použitím imunoelektronové mikroskopie (v ČR prozatím nedostupné) <p>4. Rozpoznání monoklonální proliferace plazmatických buněk na základě:</p> <ul style="list-style-type: none"> - přítomnosti M-proteinu v séru a/nebo v moči - abnormálního poměru VLŘ κ/λ v séru - průkazu populace monoklonálních plazmocytů v kostní dřevě (imunohistochemie nebo M-FC)

IMWG - International Myeloma Working Group, GIT - gastrointestinální trakt, VLŘ - volné lehké řetězce, M-FC - multiparametrická průtoková cytometrie

Od přímého průkazu AL amyloidu v tkáni, např. biopsie ledviny je možno ustoupit v případě typického nálezu pro AL (vysoké hladiny VLŘ v séru včetně patologické hodnoty indexu κ/λ ; průkaz monoklonálního charakteru plazmocytů s pomocí nepřímé biopsie nebo pomocí flowcytometrie; nálezem amyloidu v podkožním tuku s pomocí konžské červeně) a typického poškození orgánové funkce (např. významná proteinurie) bez zřejmé jiné příčinné nemoci.

Z předložených kritérií je zřejmé, že diagnóza systémové AL amyloidózy vyžaduje splnění všech čtyř základních kritérií nemoci:

1. Jednoznačný průkaz, že k postižení některého z orgánů, tj. ledvin, srdce, GIT včetně jater, nervové tkáně a vzácněji svalů, kůže aj. došlo v důsledku amyloidózy, nikoliv v rámci jiného onemocnění (např. diabetes mellitus, ateroskleróza aj).
2. V klinické praxi se k detekci amyloidu používá standardně současná aspirační biopsie podkožního tuku (pozitivita 60-80 %) a kostní dřevě (50-65 %), při jejich negativitě i slinné žlázy (asi 15% pozitivita při negativitě amyloidu v podkožním tuku), případně a to i v souladu s klinickým obrazem (např. makroglosie) jazyka, rekta a gingivy. Při diagnostickém neúspěchu necíleného odběru se přistupuje k cílené biopsii dominantně postiženého orgánu, tj. ledviny, myokardu (endomyokardiální biopsie),

jater, zažívací trubice, ojediněle i n. suralis, kosterního svalstva, uzliny aj., vyznačující se 80-100% výtěžností s následující hierarchií positivity: endomyokardiální biopsie (100 %, v reálné klinické praxi ovšem zaznamenána na rozdíl od pilotní studie občas i negativita), biopsie jater (97 %), ledvin (94 %), kůže (90 %), n. suralis (86 %), tenkého střeva (83 %), tkáně z oblasti karpálního tunelu (82 %), biopsie podkožního tuku s hodnocením 3 vzorků (80 %), biopsie rekta (75 %) a trepanobiopsie kostní dřevě (56 %). Histologický průkaz amyloidu je založen při barvení konžskou červení na patognomické metachromazii v polarizovaném světle (kap. 4.2.1 Histologie, imunohistochemie a imuno-elektronová mikroskopie (Gertz, 1991; 2009).

3. Vzhledem k jisté nespolehlivosti imunohistochemické identifikace AL typu amyloidu, používaného ve standardní klinické praxi (v 50 % ztráta antigenních epitopů v průběhu fibrilogenezy), se v současnosti začíná uplatňovat hmotnostní spektrometrii, na vysoce specializovaných pracovištích navíc i imunoelektronové mikroskopii (Seldin, 2006; Lachmann, 2002; Dispenzieri, 2012) (kap. 4.2.1 Histologie, imunohistochemie a imuno-elektronová mikroskopie; kap. 4.3 Speciální diagnostické techniky u systémové AL amyloidózy).
4. Monoklonální charakter plazmocelulárních elementů u AL amyloidózy lze prokázat detekcí intaktní

molekuly Mlg a/nebo zvýšené produkce VLŘ Mlg s patologickým indexem κ/λ (kap. 4.2.2 Průkaz Mlg a VLŘ v séru a/nebo v moči). Klíčovým znakem systémové AL amyloidózy je nejčastěji zvýšená hladina VLŘ typu λ (Gertz, 2011). Samotný průkaz Mlg ovšem nepotvrdí s jistotou, že jde o AL typ amyloidu. Přímým průkazem monoklonality plazmocytů je stanovení poměru plazmocytů s expresí LŘ κ/λ pomocí imunohistochemického vyšetření trepanobiopického vzorku kostní dřeně nebo analýzou aspirátu KD pomocí M-FC (multiparametrické průtokové cytometrie) (kap. 4.2.1 Histologie, imunohistochemie a imuno-elektronová mikroskopie; kap. 4.3.3 Vyšetření klonality plazmocytů s pomocí multiparametrické průtokové cytometrie). Nutno vzít na vědomí, že zastoupení plazmocytů v KD je v případě AL amyloidózy obvykle nízké (medián 7%), jejich morfologie bývá normální bez větších atypií a vzhledem k jejich nízkému výskytu

tu tak může dojít k „zastření“ jejich monoklonality přítomností normálních polyklonálních plazmocytů (Rajkumar, 2013). Poměrně často lze prokázat chromozomové aberace, žádná z nich však není z hlediska diagnózy AL amyloidózy specifická. Nejčastější je monosomie chromozomu 18 (u 72 % případů) a trisomie různých chromozomů (dle četnosti výskytu - chromozomu 9, 7, 11, 15 a 18). Častým nálezem je t (11;14), del(13q14) a zisk 1q21 (Rajkumar, 2013).

Vzhledem ke složitosti časné diagnostiky tak proměnlivého onemocnění, jakým je systémová AL amyloidóza, byla pro potřeby klinické praxe dohodnuta v rámci „10th International symposium on amyloid and amyloidosis, Tours 2004“ kritéria, přesně definující klinicko-laboratorní známky orgánového postižení (tab. 5.2).

Tab. 5.2 Průkaz postižení orgánů při systémové AL amyloidóze (Gertz, 2005) („Consensus opinion from the 10th International symposium on amyloid and amyloidosis, Tours, 2004“)

Ledviny	proteinurie/24 hod. > 0,5 g/den, převážně albuminurie
Srdce	ECHO: průměrná šířka stěny myokardu > 12 mm s vyloučením jiné kardiální příčiny
Játra	celková šíře jater > 15 cm s vyloučením pasivní kongesce kardiálního původu nebo hodnota jaterní frakce AF > 1,5krát vyšší oproti horní hranici normy
Nervový systém	periferní: klinické projevy symetrické senzomotorické periferní neuropatie DKK, autonomní: porucha evakuace žaludku, známky pseudoobstrukce, porucha vyprazdňování bez známek přímé orgánové infiltrace
GIT	v případě příznaků endoskopické vyšetření s odběrem biopického vzorku
Plíce	bioptická verifikace v případě vyjádřených příznaků a radiografických známek intersticiálního postižení
Měkké tkáně	makroglosie, artropatie, klaudikace při podezření na vaskulární amyloidózu, kožní depozita amyloidu, myopatie a svalová pseudohypertrofie, lymfadenopatie (i lokalizovaná), syndrom karpálního tunelu

ECHO - echokardiografie, AF - alkalická fosfatáza, DKK - dolní končetiny, GIT - gastrointestinální trakt

K histologickému potvrzení diagnózy AL amyloidózy lze použít i odběr z alternativních míst: biopsie podkožního tuku v oblasti břicha tenkou jehlou a/nebo biopsie slinné žlázy, rekta nebo gingivy, při negativitě cílená biopsie postižených orgánů.

5.2 Diagnostická kritéria postižení jednotlivých orgánových systémů u systémové AL amyloidózy

5.2.1 Diagnostika amyloidové kardiomyopatie

Laboratorní vyšetření. Stanovení kardiálních biomarkerů je nedílnou součástí diagnostického algoritmu u nemocných s AL amyloidózou. Obvykle jsou vyšetřovány hladiny troponinu T (TnT) a NT-pro „brain“ natriuretického peptidu (NT-proBNP), ojedinele i troponinu I (TnI) laboratorně standardizovanými metodami (Pika, 2008). Hladina TnT je citlivým ukazatelem myokardiálního postižení a její hodnota stanovená v době diagnózy (> 0,035 $\mu\text{g/l}$) má úzký vztah k prognóze, proto se stala jedním z kritérií stratifikačního systému systémové AL amyloidózy vypracovaného na

Mayo klinice (Kristen, 2010; Dispenzieri, 2003; Dispenzieri, 2004). Přetrvávání zvýšené hladiny TnT signalizuje pokračující ztrátu kardiomyocytů, zato účinná léčba je spojena s různě významným poklesem. Rovněž hladina NT-proBNP má prognostický a stratifikační potenciál (> 332 ng/l) a při jeho normální hladině je amyloidová kardiomyopatie prakticky vyloučena (Dispenzieri, 2004; Palladini, 2003). Vzhledem k tomu, že při účinné léčbě dochází k poklesu hladin obou srdečních biomarkerů, jsou používána jako kritéria pro hodnocení orgánové kardiologické remise (Comenzo, 2012). Limitací stanovení NT-proBNP je přetrvávání zvýšených hladin při léčbě lenalidomidem, a stejně jako v případě TnT jsou i hladiny NT-proBNP ovlivněny případnou renální nedostatečností (Dispenzieri, 2010). Proto v této situaci se jeví jako výhodnější stanovení samotného BNP („brain na-

triuretic peptide“), který není renální nedostatečností ovlivněn. Vzhledem k tomu, že metoda stanovení není standardizovaná, je nutné použít pro monitoraci stavu vždy stejnou laboratoř (Palladini, 2012).

Paraklinická vyšetření. Mezi základní a neopomenutelná vyšetření u AL amyloidózy patří elektrokardiografické vyšetření (EKG). V případě pokročilé amyloidové kardiomyopatie je typickým nálezem snížená voltáž v končetinových svodech < 5 mm a obraz QS ve svodech V1-3 (tzv. obraz pseudoinfarktu), poměrně častým nálezem je záchyt arytmií či A-V blokády (Fikrlé, 2012; Murtagh, 2005). Stěžejním vyšetřením v diagnostice a sledování srdečního postižení při amyloidóze je echokardiografie a MRI (kap. 4.2.3 Zobrazovací techniky u systémové AL amyloidózy). Endomyokardiální biopsie (EMB) je indikována v případě podezření na srdeční amyloidózu při negativitě necílené biopsie. Stejně tak lze zvážit provedení EMB při přítomnosti atypických faktorů, např. arteriální hypertenzi či šíři interventrikulárního septa > 12 mm. O závažnosti postižení vegetativního nervového systému může do jisté míry informovat test variability srdeční frekvence (Ewingův test) (Reyners, 2002).

5.2.2 Diagnostika amyloidové nefropatie

Ledviny jsou v případě systémové AL amyloidózy nejčastěji postiženým orgánem (50-80 %), projevujícím se v úvodu nápadnou proteinurií, případně i vzestupem sérového kreatininu. Neselektivní proteinurie dosahuje většinou intenzity nefrotického syndromu (NS) (2,5 - 30 g/24 hod.), kdy většinu tvoří albumin. Nezbytnou součástí vyšetření je nejen standardní, ale i IFE moče zaměřená na detekci Mlg a VLŘ, tj. Bence-Jonesovu bílkovinu. Laboratorní vyšetření musí obsáhnout i ostatní atributy NS, včetně detekce hyperlipoproteinemie a dalších obvyklých komplikací. Minimální proteinurie se vyskytuje pouze v případech, kdy depozita amyloidu jsou omezena na tubuly, intersticiu a cévní složku ledvinové tkáně.

Glomerulární filtrace (GF). Vyšetření GF je standardním vyšetřením, neboť u amyloidové nefropatie dochází k jejímu rychlému poklesu s častým vývinem ESRD („end-stage renal disease“) (Dember, 2010). I když rychlost poklesu GF je u AL amyloidózy individuálně značně odlišná, u většiny nemocných postupně stále klesá zejména v případě glomerulárních amyloidových depozit, o renální prognóze ovšem rozhoduje zejména tíže depozit v tubulo-intersticiální oblasti. V pozdní fázi nemoci lze zaznamenat v důsledku poškození cévní stěny a zvýšené propustnosti bazální membrány glomerulu mikroskopickou hematurii. I v případě ledvin platí, že porucha orgánové funkce závisí především na

toxicitě fibrilárních prekurzorů, tj. prekurzorových proteinů (amyloidogenních VLŘ) a jejich oligomerů, nežli na rozsahu amyloidových depozit (Snanoudj, 2004; Dember, 2010). Při hodnocení poklesu GF je nutno zohlednit i pokles prokrvení ledvin způsobený snížením srdečního výkonu, poklesem krevního tlaku a intravaskulárního objemu krve, závažností autonomní dysfunkce, či předchozí aplikací kontrastní látky. K akutnímu, obvykle jen přechodnému snížení GF s prohloubením retence dusíkatých katabolitů vyžadujícím dialyzační léčbu dochází asi u 20 % nemocných po vysokodávkové léčbě následované autologní transplantací, ale třeba i po léčbě lenalidomidem. Při hodnocení výsledku vyšetření GF nutno počítat s okolnostmi, že dosažení hematologické remise s potlačením produkce amyloidogenních LŘ vede obvykle pouze ke stabilizaci, nežli ke zlepšení renální funkce. Vyšetření GF v klinické praxi má v případě systémové AL amyloidózy určitá úskalí, neboť hladina kreatininu v séru může v případě ztráty svalové tkáně nadhodnocovat stupeň snížení GF a nemusí korespondovat se skutečnou hodnotou GF. Skutečná GF může být při použití výpočtových metod podhodnocena oproti GF odhadnuté pomocí vyšetření cystatinu či clearance inulinu.

Tubulární funkce, sonografie a biopsie ledviny.

Vyšetření tubulárních funkcí je plně indikováno vzhledem k relativně častému výskytu funkčních tubulárních poruch, avšak úplný obraz Fanconioho syndromu (postižení proximálního tubulu) nebo nefrogenního typu diabetes insipidus (postižení distálního tubulu) je spíše výrazem současné koincidence s MM (Ryšavá, 2013). Součástí základního diagnostického algoritmu je i sonografie ledvin, neboť u většiny nemocných se setkáváme v důsledku renální depozice amyloidu se symetrickým zvětšením a změnou echogenity (Krejčí, 2011). V případě absence průkazu amyloidózy z necílené biopsie je rozhodnutím volby cílená biopsie ledviny, nejčastěji dominantně postiženého parenchymatózního orgánu, vyznačující se 90-95% záchytem amyloidu a umožňující přesné rozpoznání umístění depozit a charakteru poškození architektury ledvinové tkáně (Ryšavá, 2013).

5.2.3 Kritéria postižení ostatních orgánů u AL amyloidózy

V rámci systémové AL amyloidózy lze vedle dominantně postižených ledvin a srdce odhalit i postižení dalších orgánů a orgánových systémů.

Nervový systém. Zde se postižení projevuje přítomností distální symetrické, senzomotorické periferní neuropatie DKK a postižením autonomního nervového systému. Rozpoznání distální smíšené periferní neuropatie DKK je založeno na rozboru klinického obrazu

(kap. 3.2.3 Periferní a autonomní neuropatie) a pečlivém neurologickém vyšetření doplněném o EMG, i když jeho nedostatkem je poměrně nízká citlivost. Individuálně lze použít histologické vyšetření surálního nervu. Rozpoznání autonomní neuropatie je založeno především na rozboru klinického obrazu (kap. 3.2.3 Periferní a autonomní neuropatie), případně doplněném o testy používané ke zhodnocení vegetativní dysfunkce.

Gastrointestinální trakt. Klinické projevy přímé infiltrace stěny zažívací trubice amyloidem vedoucí k poruše motility, erozivní amyloidové enteropatii či malabsorpci jsou indikací k endoskopickému vyšetření GIT s odběrem materiálu na histologické vyšetření. Podezření na postižení jater, vyznačující se vedle hepatomegalie ověřené sonograficky nebo pomocí CT (šíře >15 cm), přítomností portální hypertenze se splenomegalií a více nežli 1,5 násobkem zvýšené jaterní frakce alkalické fosfatázy (ALP) je indikací k provedení biopsie jater.

Postižení plic. Jeho průkaz je založen na provedení konvenčního radiografického vyšetření plic, případně i vysoce citlivého HR-CT („high-resolution CT“) odhalujícím i jinak nerozpoznatelné postižení plic a pleury depozity amyloidu. V případě zmožených retikulonodulárních kresby (difuzní intersticiální amyloidóza), ložiskové léze („coin lesion“ resp. amyloidom), pleurálního výpotku při postižení pleury může správné diagnóze napomoci transbronchiální nebo video-asistovaná thorakoskopická biopsie. V odhalení depozit v bronchiálním stromu (tracheobronchiální amyloidóza) se uplatňuje bronchoskopie s odběrem materiálu na histologii a spirometrické vyšetření včetně vyšetření difuzní plicní kapacity.

Postižení pohybového aparátu. V případě postižení svalstva a kloubního systému (kap. 3.2.5 Postižení ostatních orgánů a tkání) lze využít vedle vyšetření svalových enzymů (kreatinkináza, myoglobin v séru) i MRI a biopsii svalu, v případě amyloidové artropatie biopsii synovie, či histologické vyšetření tkáně získané při operaci karpálního tunelu.

Postižení krevtovorného a koagulačního systému. Vyšetření krevního obrazu může odhalit anémii chronických chorob a zvýšení počtu krevních destiček. Koagulační vyšetření může zaznamenat zvýšení fragility kožních cév, prodlouženou krvácivost a aPTT spolu se sníženou hladinou f. X, ke které dochází v důsledku vazby tohoto koagulačního faktoru na amyloid (Mumford, 2000). Je-li přítomen NS, pak bývá doprovázen nízkou hladinou ATIII a vysokou koncentrací fibrinogenu (Ryšavá, 2013).

Postižení ostatních orgánů a tkání. Pro jeho potvrzení je vedle zhodnocení klinického obrazu (kap. 3.2.5. Postižení ostatních orgánů a tkání) vždy nutný odběr tkáně k histologickému vyšetření, např. excize svaloviny jazyka při makroglosii, biopsie kůže v případě kožních depozit amyloidu, histologie lymfatické uzliny při lymfadenomegalií.

Celotělový rozsah a orgánová distribuce depozit amyloidu. Obojí lze zjistit pomocí radioscintigrafického vyšetření s použitím izotopu technecia, např. ^{99m}Tc-Aprotininu nebo jodu ^{132m}I-SAP, vykazujících vysokou specifickou (93 %) a senzitivitu (90 %). Vyšetření má velký přínos pro monitorování, neboť umožňuje pozorovat ústup depozit amyloidu v různých oblastech organismu. Důvodem celosvětově nízké dostupnosti je její nákladnost a riziko přenosu infekce, neboť nosič SAP se připravuje z krve dárců (Hawkins, 2002; Hazenberg, 2006).

5.3 Diagnostický algoritmus systémové AL amyloidózy

V klinické praxi lze přistupovat k nemocnému s podezřením na systémovou amyloidózu podle „diagnostického algoritmu“, zohledňujícího i další typy amyloidóz nežli je AL amyloidóza (tab. 5.3). Vždy je ale nutné splnit 4 základní diagnostické kroky, tj.: 1) na možnost AL amyloidózy pomyslet; 2) potvrdit přítomnost amyloidózy s pomocí tkáňové biopsie; 3) určit prekurzorový protein; 4) posoudit rozsah orgánového postižení (Dispenzieri, 2012).

Diagnostika a léčba systémové AL amyloidózy

Tab. 5.3 Diagnostický algoritmus systémové amyloidózy

Podezření na amyloidózu	klinické příznaky a laboratorní „varovné“ známky (elevace NT-proBNP, ALP, proteinurie > 0,5 g/den)
↓	
Provedení nezbytných vyšetření	
Biochemické vyšetření	SPE + IFE + UPE + FLC
Biopsie	necílená (podkožní tuk, rektum, jazyk) → <i>při negativě</i> → cílená - dle dominantně postiženého orgánu (ledvina, myokard, játra)
	→ potvrzení přítomnosti amyloidu (metachromazie konžské červeně v polarizovaném světle)
	→ typizace amyloidu – imunohistochemie/hmotnostní spektrometrie
Vyšetření kostní dřeně	průkaz monoklonální plazmocelulární populace – imunohistochemie/průtoková cytometrie
	vyločení asociace s MM, WM či NHL
Orgánové postižení	ALP, CB-U/den, renální funkce
	EKG, 2D ECHO, ev. MR myokardu
	UZ/CT břicha
Vyloučení hereditární amyloidózy	Vyšetření DNA z periferní krve

SPE - elektroforéza sérových proteinů, IFE - imunofixace, UPE - elektroforéza proteinů moči, FLC - stanovení sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu, MM - mnohočetný myelom, MW - Waldenströмова makroglobulinemie, NHL - non-Hodgkinův lymfom, ALP - alkalická fosfatáza, CB-U - proteinurie, EKG - elektrokardiografie, ECHO - echokardiografie, MR - magnetická rezonance, UZ - ultrazvukové vyšetření, CT - vyšetření počítačovou tomografií

Nejvýznamnější klinické a laboratorní „varovné“ příznaky, usnadňující v klinické praxi časně rozpoznání AL amyloidózy jsou shrnuty v tab. 5.4.

Tab. 5.4 Varovné příznaky, nasvědčující možnosti systémové AL amyloidózy (Merlini, 2012)

Postižený orgán	Výskyt (%)	Časné „red flags“	Senzitivita (%)
Srdce	70	NT-proBNP > 332 ng/l BNP > 73 ng/l	100 89
Ledviny	70	Albuminurie > 0,5g/24 hod. eGF < 50 ml/min. na 1,73 m ²	
Játra	22	Zvýšení ALP a/nebo GMT při vyloučení jiných příčin	
Periferní a autonomní neuropatie	14	Neuropatická bolest a ztráta teplotního cití Erektivní dysfunkce	
Měkké tkáně Kožní purpura Makroglosie Svalová pseudohypertrofie	13	Syndrom karpálního tunelu	

NT-proBNP - propeptid mozkového natriuretického peptidu, BNP - mozkový natriuretický peptid, GF - glomerulární filtrace, ALP - alkalická fosfatáza, GMT - glutamyl transpeptidáza

K rozpoznání systémové AL amyloidózy a to včetně jejího odlišení od ložiskové AL amyloidózy a od ostatních typů amyloidóz (ATTR a Aβ₂M amyloidózy) lze rovněž použít diagnostický algoritmus, založený na systému postupných diagnostických kroků (tab. 5.5).

Tab. 5.5 Diagnostický postup při rozpoznání AL amyloidózy (modifikace dle Gertze, 2011)

