

На правах рукописи



Сафиулина Эльвира Ирековна

Поражение периферической нервной системы при системном амилоидозе

3.1.24. Неврология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Зиновьева Ольга Евгеньевна

Официальные оппоненты:

Камчатнов Павел Рудольфович - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета, профессор кафедры

Котов Сергей Викторович - доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», факультет усовершенствования врачей, кафедра неврологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии»

Защита диссертации состоится «15» марта 2023 г. в 10:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.24 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119021, г. Москва, ул. Россолимо, д.11, стр.1 (Клиника нервных болезней имени А.Я. Кожевникова)

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1, и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета ДСУ 208.001.24
доктор медицинских наук, профессор



Зиновьева Ольга Евгеньевна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Системный амилоидоз объединяет группу заболеваний, характеризующуюся внеклеточным диффузным отложением фибриллярного белка (амилоида), что ведет к поражению различных органов и систем. В настоящее время известно более 30 белков-предшественников амилоида, которые обуславливают тип амилоидоза и его клинические особенности. Наиболее часто в практике врача-невролога встречается первичный AL-амилоидоз, а среди наследственных типов – транстиретиновый амилоидоз (TTR-амилоидоз), при которых клинические проявления поражения периферической нервной системы (ПНС) могут развиваться в дебюте, на ранних и поздних стадиях заболевания (Л.В. Лысенко и др., 2020; В.В. Рамеев и др., 2012; А.А. Стрельников и др., 2008).

Эпидемиология системного амилоидоза остается до конца неизученной, в том числе в Российской Федерации. Однако, в последние годы в связи с растущей осведомленностью врачей и доступностью методов диагностики, случаи заболевания стали выявляться чаще, в том числе на ранних стадиях, что особенно актуально для назначения патогенетической терапии (В.В. Рамеев, 2021; А.А. Стрельников и др. 2008).

У большинства пациентов с системным амилоидозом неврологическая симптоматика представлена разнообразными проявлениями периферической соматической и автономной невропатии, обусловленными диффузным отложением амилоида (в эпи-, пери-, эндоневрии, в стенках сосудов, вегетативных ганглиях, приводя к ишемизации и компрессии окружающих тканей), а также непосредственным токсическим воздействием амилоидных фибрилл (О.В. Виноградова, 1980; Н. Fisher et al., 1951; G.G. Glenner et al., 1989; J. Hafner et al., 2015; S. Ikeda et al., 1987).

Полиморфизм клинических проявлений приводит к затруднениям в определении этиологического фактора невропатии. Нередко, в случаях прогрессирующей дистальной полиневропатии в рамках системного амилоидоза, ошибочно диагностируют хроническую воспалительную демиелинизирующую невропатию (ХВДП), идиопатическую аксональную полиневропатию, болезнь двигательного нейрона (БДН) (Л.В. Лысенко и др., 2020; D. Adams et al., 2016).

Характерное для AL- и TTR-амилоидоза прогрессирующее поражение периферических соматических нервов, а также дисфункция автономной нервной системы приводят к быстрой инвалидизации пациентов, что делает особенно актуальной задачу ранней диагностики и своевременного назначения доступной в настоящее время патогенетической терапии. Важным представляется дальнейшее изучение клинической картины поражения ПНС в случаях TTR-

амилоидоза и первичного AL-амилоидоза, а также оценка информативности используемых диагностических методов.

Степень разработанности темы

По данным В.В. Рамеева и Л.В. Козловской, совершенствование и доступность методов диагностики привели к значительному увеличению числа пациентов с AL- и наследственным TTR-амилоидозом в структуре системного амилоидоза в Российской Федерации. В последние десятилетия возросла осведомленность врачей в отношении системного амилоидоза, появилась возможность проведения высокочувствительных иммунохимических методов исследования, а также молекулярно-генетического тестирования в случаях наследственного транстиретинового амилоидоза, изменились подходы к терапии, что существенно отразилось на продолжительности и качестве жизни пациентов. В отечественной литературе с каждым годом увеличивается количество статей, посвященных изучению системного амилоидоза, однако, в настоящее время отсутствуют оригинальные исследования с анализом полиморфизма неврологических проявлений, что делает актуальным дальнейшее изучение и разработку алгоритма диагностики поражений периферической нервной системы в указанной когорте пациентов.

Цель исследования

Цель настоящего исследования — совершенствование диагностики поражения периферической нервной системы при первичном AL- и наследственном TTR-амилоидозе.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности поражения периферической соматической и автономной нервной системы при первичном AL- и наследственном TTR-амилоидозе.
2. Проанализировать характер болевого синдрома у пациентов с первичным AL- и наследственным TTR-амилоидозом.
3. Оценить функциональное состояние нервных волокон в составе периферических нервов с помощью нейрофизиологических методов у пациентов с первичным AL- и наследственным TTR-амилоидозом.
4. Исследовать состояние нервов роговицы у пациентов с первичным AL- и наследственным TTR-амилоидозом с помощью лазерной конфокальной микроскопии роговицы (ЛКМР).

5. Оценить информативность морфологического и иммуногистохимического исследования биоптата кожного лоскута в отношении верификации отложений амилоида и изменения плотности интраэпидермальных нервных волокон у пациентов с первичным AL- и наследственным TTR-амилоидозом.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации проведено сравнительное нейрофизиологическое и визуализационное обследование периферической нервной системы у пациентов с первичным AL- и наследственным TTR-амилоидозом.

Описаны клиничко-инструментальные особенности поражения периферических нервных волокон в зависимости от типа амилоидоза, продолжительности заболевания, мутации гена транстиретина для пациентов с наследственным амилоидозом.

Установлено, что для пациентов с TTR-амилоидозом в сравнении с AL-амилоидозом более характерен невропатический характер боли с признаками центральной сенситизации.

Впервые проведено сопоставление данных нейрофизиологических и морфологических методов исследования, позволившее выявить наличие связи между структурными и функциональными изменениями тонких нервных волокон в случаях AL- и TTR-амилоидоза.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установлено, что выраженность клинических проявлений со стороны периферической нервной системы обусловлена характером отложения амилоида, а для наследственного амилоидоза также и типом мутации гена транстиретина.

Показана информативность электронейромиографии (ЭНМГ) и количественного сенсорного тестирования (КСТ) в объективизации поражения толстых и тонких нервных волокон у пациентов с AL- и TTR-амилоидозом.

Установлено, что лазерная конфокальная микроскопия роговицы (ЛКМР) относится к информативным неинвазивным методам оценки состояния нервов роговицы у пациентов с наследственным TTR-амилоидозом, коррелирующим с состоянием тонких волокон нервов конечностей.

Методика исследования биоптата кожи информативна для оценки состояния интраэпидермальных нервных волокон, несмотря на значительную вариабельность данного показателя, в то же время указанный метод инвазивен и малоинформативен в отношении обнаружения отложений амилоида.

Использованные нейрофизиологические методы чувствительны, но нозологически неспецифичны. Необходимо генетическое обследование при подозрении на TTR-амилоидоз, а также выявление амилоида в тканях.

Методология и методы исследования

Методология диссертационного исследования построена с учетом результатов анализа обзора литературы по теме исследования, полученных клинико-инструментальных данных. Для достижения поставленной цели разработана программа исследования, статистический анализ. Полученные данные систематизированы, изложены в главах собственных исследований. Сформулированы выводы, практические рекомендации.

Основные положения, выносимые на защиту

Наиболее частым проявлением поражения периферической нервной системы в группе TTR-амилоидоза является аксонально-демиелинизирующая сенсорно-моторная полиневропатия в сочетании с туннельной невропатией и автономной дисфункцией, в группе AL-амилоидоза – преимущественно аксональная сенсорно-моторная полиневропатия, выявляемая в нижних конечностях в сочетании с туннельной невропатией верхних конечностей. Поражение автономной невропатии более характерны для наследственного TTR-амилоидоза.

В группе TTR-амилоидоза достоверно чаще встречается невропатический болевой синдром с признаками центральной сенситизации.

Пациентам с системным амилоидозом для объективизации поражения ПНС необходимо проводить ЭНМГ совместно с КСТ, поскольку данные методы позволяют объективизировать поражение толстых и тонких нервных волокон, в том числе на субклинической стадии.

ЛКМР является информативным методом диагностики поражения нервов роговицы у пациентов с первичным AL- и наследственным TTR-амилоидозом, а для группы пациентов с наследственным TTR-амилоидозом показано наличие связи состояния нервов роговицы с поражением тонких волокон нервов конечностей.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается адекватной выборкой пациентов, использованием достаточного клинико-инструментального материала с использованием методик, соответствующих поставленным задачам и применением методов статистического

анализа с последующей обработкой данных и соблюдением принципов доказательной медицины.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на заседании кафедры нервных болезней и нейрохирургии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (2017г, 2018г, 2019г); XXIII Международной научно-практической конференции «Пожилой больной. Качество жизни» (Москва, 2018г); IX междисциплинарном международном конгрессе «Управляй болью» (Москва, 2019); XI Всероссийском съезде неврологов (Санкт-Петербург, 2019г); IV Всероссийской (с международным участием) Научной конференции молодых ученых - «Будущее неврологии» (Казань, 2020г); XVI Междисциплинарной конференции с международным участием «Вейновские чтения» (Москва, 2020г).

Апробация состоялась 17 июня 2022г (протокол № 12) на заседании кафедры нервных болезней и нейрохирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора

Автором разработан дизайн научной работы, выполнен отбор пациентов согласно критериям включения и невключения, определены цель, задачи исследования. Самостоятельно проведено клиническое неврологическое обследование, количественное сенсорное тестирование, обработка результатов лазерной конфокальной микроскопии и морфологического исследования, сформирована база данных и проведен статистический анализ. На основании полученных результатов сформулированы выводы и практические рекомендации. Подготовлены к публикации статьи в научных журналах.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.24. Неврология, а именно пункту 5.

Публикации

По результатам исследования автором опубликовано 6 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы

основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 3 статьи в научных изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus), 1 иная публикация по результатам исследования.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав, содержащих материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, а также заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Диссертационная работа содержит 22 таблицы, иллюстрирована 24 рисунками и 13 графиками. Список литературы содержит 152 источника: 35 источников отечественной литературы и 117 – зарубежной.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика больных

Всего было обследовано 34 пациента с подтвержденным морфологическими и генетическими методами системным первичным AL- и наследственным TTR-амилоидозом, находившихся на стационарном лечении в Клинике нервных болезней им. А.Я. Кожевникова и в Клинике ревматологии, нефрологии и профпатологии им. Е.М. Тареева УКБ №3 (Таблица 1).

Критерии включения пациентов в исследование:

1. пациенты обоего пола в возрасте от 18 до 75 лет;
2. наличие диагноза системного амилоидоза, подтвержденного морфологическими и генетическими методами;
3. отсутствие тяжелых соматических, психических и других неврологических заболеваний;
4. наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии невключения пациентов в исследование:

1. возраст менее 18 и старше 75 лет;
2. неврологические заболевания, которые могут обуславливать имеющуюся неврологическую симптоматику;
3. наличие гематологического заболевания (множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема), декомпенсированного сахарного диабета, гипер-, гипотиреоза;

4. наличие психического заболевания или когнитивного дефекта, достигающего степени деменции или олигофрении, затрудняющего заполнение анкет;
5. наличие беременности.

Таблица - 1 Характеристика пациентов с системным амилоидозом

	Пациенты с AL-амилоидозом	Пациенты с TTR-амилоидозом
Кол-во пациентов в группе	16	18
Возраст, годы (Me; [Q25%; Q75%])	62 [52,5; 71]	62 [56; 65]
Распределение по полу (м; ж)	6:10	7:11
Длительность заболевания, от появления первых симптомов заболевания, годы (Me; [Q25%; Q75%])	3 [1; 5]	4 [3; 8]

2.2 Клинические методы исследования

Клинический неврологический осмотр включал исследование черепных нервов, оценку двигательной, чувствительной и координаторной сфер, а также исследование функции автономной нервной системы. Для оценки силы мышц также проводились пробы с функциональными нагрузками: вставание на носки и пятки, подъем с низкой горизонтальной поверхности, приседание на корточки. Пассивно исследовался мышечный тонус в конечностях. При неврологическом осмотре акцентировалось внимание на наличие гипо- и атрофии различных групп мышц. Исследовались сухожильные и периостальные рефлексы с конечностей, симметричность их вызывания: с рук - рефлексы с сухожилий двуглавых и трехглавых мышц, карпорадиальные рефлексы; с ног - коленные и ахилловы рефлексы. Для выявления клинических признаков туннельной невропатии конечностей использовался симптом Тинеля в области запястных, кубитальных, фибулярных и тарзальных каналов с обеих сторон. Симптом считался положительным при возникновении ощущения покалывания в пальцах, стреляющей боли в зонах, соответствующих иннервации исследуемого нерва. Для определения степени вовлечения автономной нервной системы проводился осмотр кожных покровов на изменение окраски (наличие акроцианоза, побледнения кожных покровов), трофических нарушений, безболевого ожога, оценка волосяного покрова, ногтевых пластин, потоотделения (гипо-, ангидроз). Выявление ортостатической гипотензии осуществлялось с помощью ортостатической пробы: изначально производится замер артериального давления и

пульса в положении лежа на горизонтальной поверхности по истечении 10 минут. В дальнейшем артериальное давление и пульс фиксировался в положении стоя (при невозможности пациента встать – сидя) в конце 1 мин, 3 мин, 5 мин и 10 мин. Проба считалась положительной при падении систолического артериального давления (АД) более 20 мм рт.ст. или диастолического на 10 мм рт.ст. в положении стоя в течение 3 мин.

Тяжесть невропатических нарушений определялось с помощью шкалы NIS (Neuropathy Impairment Score), включающей оценку симптомов поражения черепных нервов, мышечной силы, поверхностной и глубокой чувствительности, сухожильных рефлексов верхних и нижних конечностей. Характер болевого синдрома определялся с помощью опросника DN4 (Douleur Neuropathique 4 questions), основанного на 2 блоках. Первый блок заполняется на основании жалоб пациента, позволяет оценить характер чувствительных нарушений, второй - на основании клинического осмотра (выявление аллодинии и объективизация чувствительных расстройств).

2.3 Инструментальное обследование

Состояние хорошомиелинизированных двигательных и чувствительных волокон нервов конечностей оценивалось с помощью стимуляционной ЭНМГ, которая выполнялась на четырехканальном электромиографе Nicolet (США) врачом отделения функциональной диагностики – к.м.н. Щегловой Н.С. Пациентам исследовались двигательная порция срединного (n. medianus), локтевого нерва с 2 сторон (n. ulnaris), малоберцовый (n. peroneus) и большеберцовый (n. tibialis) нервы. Оценивались следующие параметры: амплитуда моторного ответа (М-ответа), резидуальная латенция (РЛ) и скорость распространения возбуждения по двигательным нервным волокнам на всем протяжении (СРВ). Антидромным методом исследовались сенсорные волокна верхних и нижних конечностей: срединного, локтевого нервов с 2 сторон; поверхностного малоберцового, икроножного нервов слева. Оценивались параметры: амплитуда сенсорного ответа (S-ответа) от пика до пика, скорость распространения возбуждения по сенсорным волокнам (СРВ). Полученные результаты сопоставлялись с аналогичными показателями контрольной группы (N=29).

Исследование тонких нервных волокон (А-дельта и С-волокон) проводилось с помощью количественного сенсорного тестирования на аппарате - нейросенсорный анализатор модель TSA II (Medoc, Израиль). Воздействуя на кожу раздражителями возрастающей и убывающей интенсивности, определялись пороги температурной (тепловой и холодной) чувствительности с контрольной левой стороны в следующих точках: С6 (возвышение большого пальца кисти); L5 и S1 (тыльная поверхность стопы). Анализировались значения порогов тепловой и холодной чувствительности в верхних и нижних конечностях, наличие парестезии и

дизестезии у пациентов в процессе исследования. Результаты сопоставлялись с аналогичными показателями контрольной группы (N=11).

Для оценки состояния нервных волокон роговицы (НВР) пациентам проводилась ЛКМР на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней». Исследование выполнялось врачом, к.м.н. Сурниной З.В., с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа Heidelberg Retina Tomograph 3 (HRT) и последующей обработкой результатов с помощью автоматизированной авторской программы Limer 1.2. Исследование проводилось с контрольной левой стороны. Степень выраженности невropатии характеризовалась коэффициентами анизотропии (K Δ L) и симметричности (K_{sym}) направленности НВР, которые сопоставлялись с результатами исследования группы контроля (N=21).

Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов кожного лоскута проводилось в лаборатории развития нервной системы ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека - заведующий лабораторией доктор биологических наук, профессор С.В. Савельев. Забор биологического материала осуществлялся на базе нейрохирургического отделения УКБ №3 Первого МГМУ им И.М. Сеченова. Для получения образцов кожного лоскута производилась местная анестезией 2% раствором лидокаина с последующей панч-биопсией (Epitheasy, размер 5мм, производство Италия). Биологический материал фиксировался в 10% забуференном формалине «БиоВитрум» (Россия). Тотальные серийные срезы толщиной 6 мкм изготавливали на микротоме «Leica RM2245» (Германия). Срезы окрашивали по стандартной методике Конго красным; ставили реакции с применением антител к PGP 9.5 (Рисунок 1).

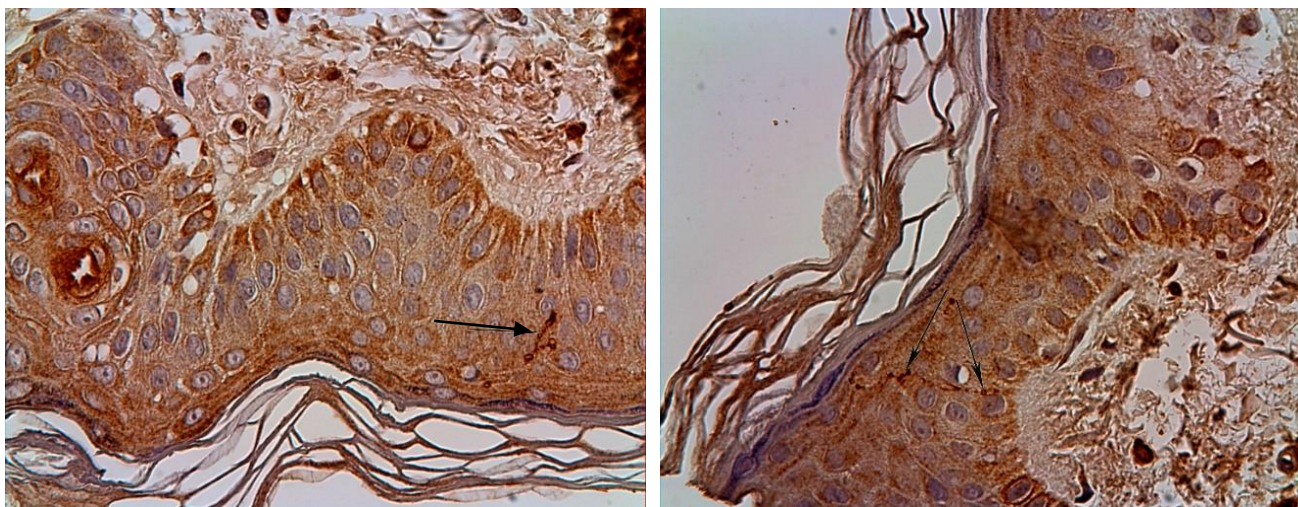


Рисунок 1 - PGP 9.5-позитивные нервные волокна в эпидермисе (увеличение 40, указаны стрелкой), контроль

Полученные с использованием окраски Конго красным препараты исследовались на наличие конго-позитивных структур. В препаратах, направленных на иммуногистохимическое исследование, производился подсчёт PGP 9.5-позитивных нервных волокон в эпидермисе вручную, с последующим вычислением плотности нервных волокон на 1 мм. Результаты расчета плотности интраэпидермальных волокон сравнивали с аналогичным показателем в группе контроля (N=7).

2.4 Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов исследования производилась в программе Statistica 10.0 и Microsoft Excel. Количественные данные были представлены в виде медианы и процентилей [25%; 75%]; минимального (Min) и максимального (Max) значений, учитывая ненормальное распределение переменных. Достоверные различия между двумя независимыми переменными для непараметрических данных оценивались с применением критерия Манна-Уитни (U-тест), критерия Фишера. Для статистического изучения связи между явлениями использовался коэффициент корреляции Спирмена. Уровень значимости во всех вычислениях был принят как $p < 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Общая характеристика пациентов

В исследовании приняли участие 34 пациента, вошедших в основную группу. Группу пациентов с первичным AL-амилоидозом (группа 1) составили 16 человек (6 мужчин и 10 женщин), медиана возраста - 62 года (Min 36; Max 75). Среди лиц женского пола преобладал возраст в диапазоне 71-75 лет, среди лиц мужского пола - 41-50 лет.

В группу пациентов с наследственным TTR-амилоидозом (группа 2) вошли 18 человек (7 мужчин и 11 женщин), медиана возраста составила 62 года (Min 32; Max 71). Среди женщин и мужчин преобладал возраст в диапазоне 61-70 лет.

Всем пациентам с наследственным TTR-амилоидозом было проведено генетическое исследование с целью выявления мутации в гене транстиретина. Наиболее часто встречающейся оказалась мутация Val50Met (n=9, 50% пациентов), у 2 пациентов, которые приходились друг другу родственниками – родные сестры, выявлена мутация Ala45Thr (n=2, 11%); еще у 2 пациентов, приходившиеся друг другу двоюродными братом и сестрой - мутация Glu74Gln (n=2, 11%). Остальные мутации (Phe53Leu, Gly47Ala, Thr40Asn, Glu112Lys, Arg5His) встречались однократно (График 1).

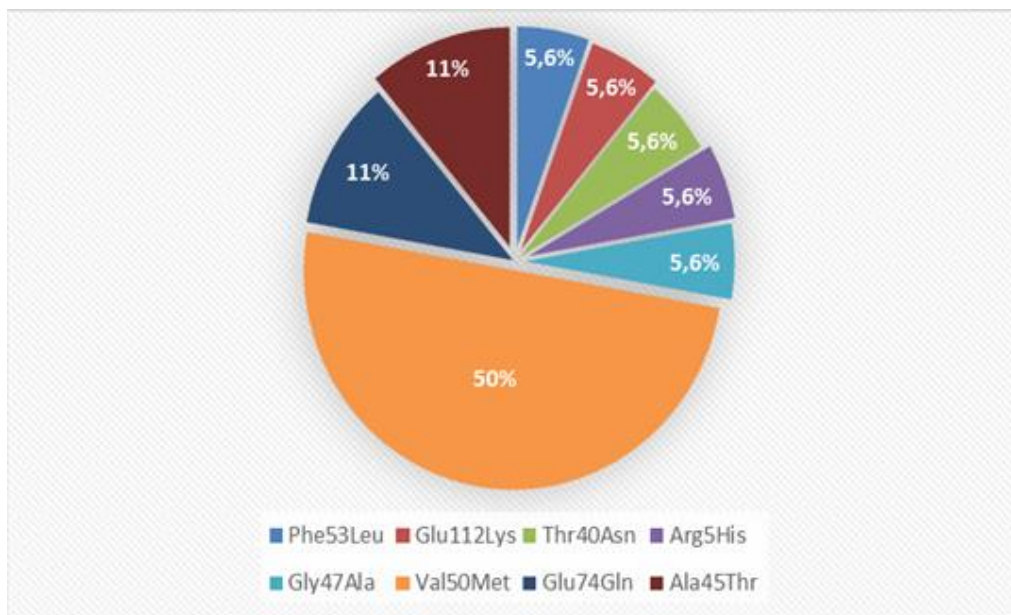


График 1 - Виды мутаций гена транстиретина у пациентов наследственным с TTR-амилоидозом

У одного пациента мутация Val50Met была выявлена в гомозиготном, в остальных случаях мутации - в гетерозиготном состоянии. Национальный состав группы пациентов с ATTR: татары – 5 (27,8%), армянин – 1 (5,5%), русские – 12 (66,7%).

По данным клинического осмотра поражение соматической ПНС в виде полиневропатии, туннельной невропатии и их сочетания встречалось чаще у пациентов с TTR-амилоидозом по сравнению с группой AL-амилоидоза, однако отличия были недостоверными (95% и 69% соответственно при $p > 0,05$).

Нарушения со стороны автономной нервной системы чаще встречались в группе пациентов с TTR-амилоидозом. В группе пациентов с AL-амилоидозом автономные нарушения отмечались у 6 пациентов (37,5%): у 3 пациентов была выявлена положительная ортостатическая проба, еще в 3 случаях – нарушения моторики ЖКТ (диарея, чередующаяся с обстипацией), в 1 случае выявлялись также трофические изменения кожных покровов голеней и стоп. Тазовые нарушения и нарушения потоотделения не были отмечены ни у одного пациента (График 2).

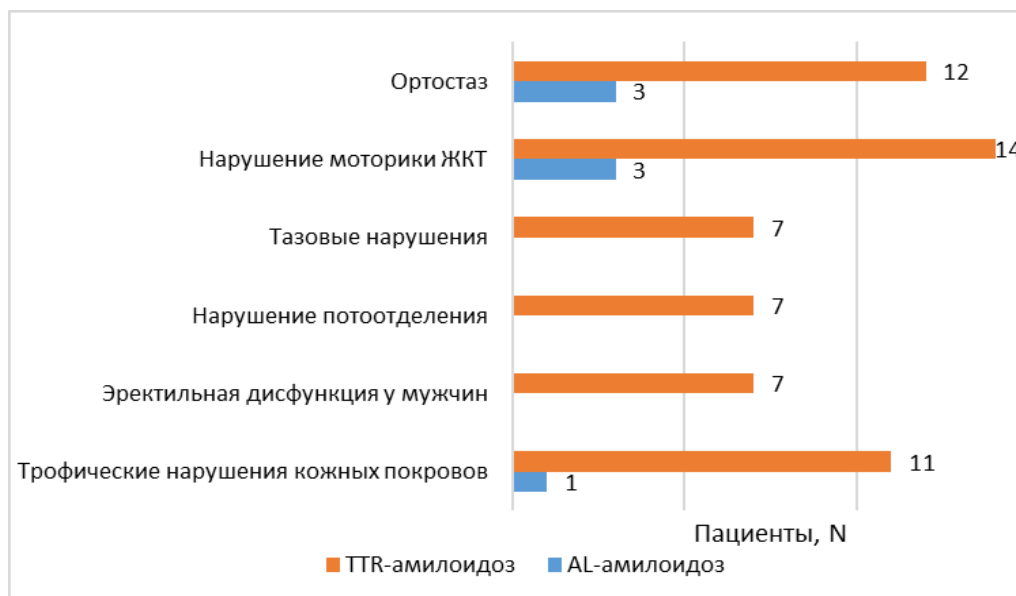


График 2 - Характеристика автономных нарушений у пациентов с первичным AL-амилоидозом и наследственным TTR-амилоидозом

В группе наследственного TTR-амилоидоза у 17 из 18 пациентов (94,4%) были выявлены автономные нарушения: у 7 пациентов – нарушения потоотделения (у 1 пациента – гипергидроз, у 6 – гипогидроз); у 12 пациентов выявлена положительная ортостатическая проба; у 14 пациентов в жалобах фигурировали желудочно-кишечные проявления (тошнота, тяжесть в желудке после приема пищи, обстипация, чередующаяся с диареей); у 7 пациентов – тазовые нарушения (по типу задержки мочи, императивных позывов и периодического недержания мочи). Также у 11 больных (65%) отмечались трофические изменения кожи в основном голеней и стоп в виде гиперкератоза, повышенной ломкости ногтевых пластин и сухостью кожных покровов, плохим заживлением ран и ссадин. У всех мужчин данной группы выявлялась эректильная дисфункция. Таким образом, в группе пациентов с TTR-амилоидозом симптомы автономной дисфункции встречались достоверно чаще (94,4%), чем у пациентов с AL-амилоидозом (37,5%). При анализе жалоб пациентов в дебюте заболевания признаки автономной дисфункции отмечались у 15 пациентов (83%) с TTR-амилоидозом и 3 пациентов (19%) с AL-амилоидозом. В целом, в группе больных с TTR-амилоидозом отмечались более выраженные проявления соматической симметричной сенсорно-моторной и автономной невропатии.

При анализе тяжести невропатии по шкале NIS, обращала внимание значительная вариабельность её значений в пределах основных групп. Медиана в группе пациентов с первичным AL-амилоидозом составила 4 балла (Min 0; Max. 18); в группе с TTR-амилоидозом медиана составила 69 баллов (Min 0; Max. 122) (Рисунок 2).

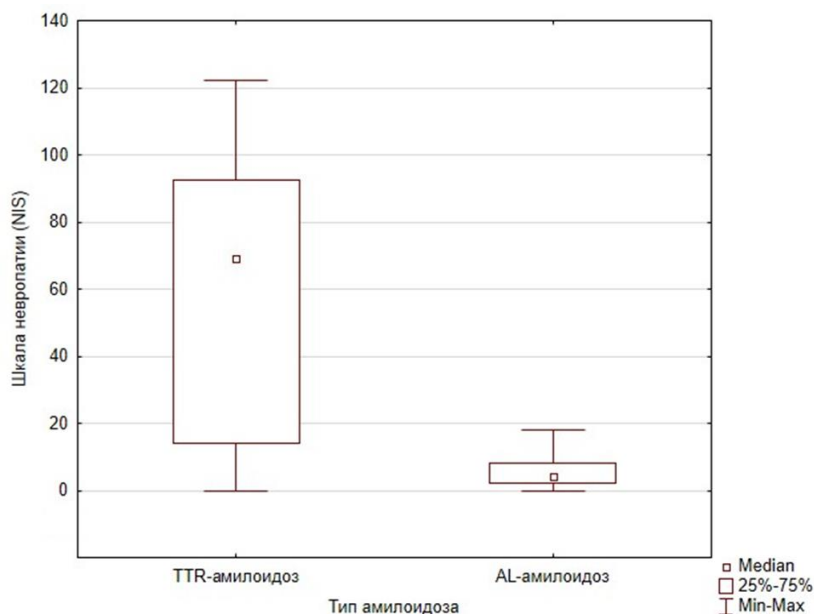


Рисунок 2 - Оценка тяжести невропатии по шкале NIS в группе пациентов с первичным AL-амилоидозом и наследственным TTR-амилоидозом

У пациентов с TTR-амилоидозом показатели по шкале NIS были достоверно выше по сравнению с группой AL-амилоидоза и не зависели от длительности заболевания ни в одной из основных групп. Часть пациентов с TTR-амилоидозом, преимущественно с мутациями Glu54Gln, Val50Met, Phe33Leu, имела нарушения со стороны периферической нервной системы в виде сенсорно-моторной и автономной невропатии уже в первые годы заболевания. У пациентов с мутациями Glu112Lys, Thr40Asn, Ala45Thr на протяжении многих лет признаки поражения периферической нервной системы не были выражены и не инвалидизировали больного.

С помощью опросника DN4 оценивался характер болевого синдрома у пациентов с системным амилоидозом. В группе TTR-амилоидоза в 15 случаях (83%) зафиксирована невропатическая боль, проявляющаяся чувством «горения», «жжения», «бегания мурашек», «кипятка», аллодинией. В остальных 3 случаях (17%) пациенты жаловались на мигренозные головные боли и боль в спине, которая соответствовала неспецифической скелетно-мышечной боли. В группе AL-амилоидоза только у 1 пациента (6%) были зафиксированы жалобы на чувство «горения и жжения» преимущественно в кистях и стопах. В 9 случаях (56%) пациенты не предъявляли жалобы на боль. 6 пациентов (38%) жаловались на боль в суставах и скелетно-мышечные боли в спине. Таким образом, при анализе данных опросника DN4, количество пациентов с невропатической болью было достоверно выше в группе TTR-амилоидоза, по сравнению с группой AL-амилоидоза ($p < 0,05$) (График 3).

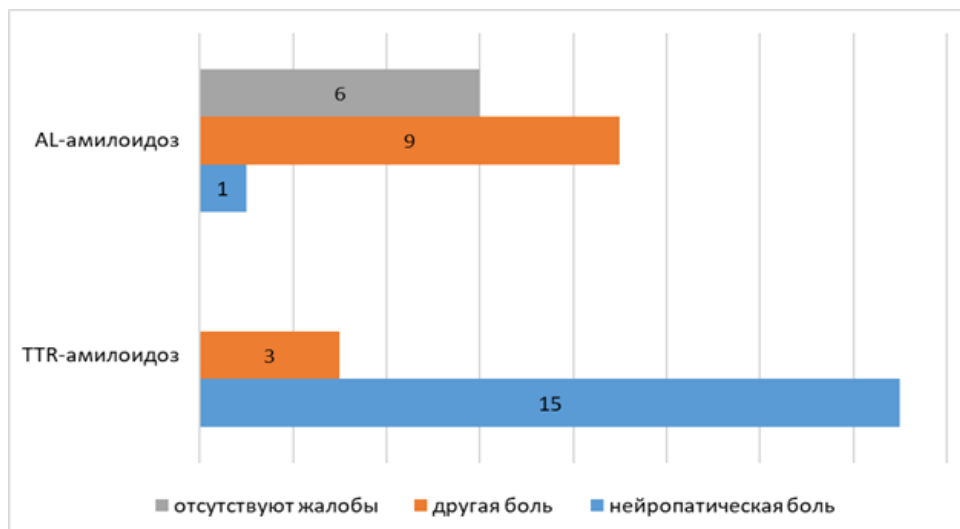


График 3 - Характер болевого синдрома у пациентов с первичным AL-амилоидозом и наследственным TTR-амилоидозом

3.2 Результаты стимуляционной электромиографии

Информативным методом оценки функционального состояния нервов конечностей является стимуляционная ЭНМГ, которая была выполнена 14 пациентам с TTR-амилоидозом и 15 пациентам с AL-амилоидозом. Анализ результатов стимуляционной ЭНМГ показал, что изменения функционального состояния двигательных и чувствительных нервных волокон имеются у всех больных с системным амилоидозом независимо от наличия неврологической симптоматики при клиническом осмотре.

В группе TTR-амилоидоза у 7 пациентов (50%) зафиксировано поражение нервов верхних и нижних конечностей на протяжении в сочетании с туннельной невропатией; у 4 (28,6%) – поражение нервов на протяжении, у 3 (21,4%) – туннельная невропатия. Туннельная невропатия была выявлена всего у 10 пациентов (71%) с TTR-амилоидозом и была одинаково представлена синдромом запястного и кубитального каналов (электрофизиологические признаки запястного канала выявлены в 5 случаях – с 2 сторон, в 2 случаях – с 1 стороны; электрофизиологические признаки кубитального канала были выявлены в 5 случаях – с 2 сторон, в 2 случаях – с 1 стороны). Среди 11 пациентов, у которых была диагностирована полиневропатия, в 10 случаях страдали как моторные, так и сенсорные волокна, в 1 случае – только сенсорные.

В группе AL-амилоидоза характер нарушений ПНС при ЭНМГ-обследовании отличался от таковых при клиническом неврологическом осмотре: ЭНМГ-изменения были выявлены у всех пациентов. При анализе ЭНМГ-показателей в 10 случаях (66,7%) выявлена полиневропатия нижних конечностей в сочетании с туннельной невропатией, в 1 случае (6,7%) – полиневропатия нижних конечностей, в 4 случаях (26,7%) – туннельная невропатия. Среди 11

пациентов с диагностированной полиневропатией, у 8 были вовлечены как сенсорные, так и моторные волокна, в 3 – только сенсорные. При анализе поражения нервов в зоне анатомически узких каналов в 87% случаев были выявлены изменения на уровне кубитального канала, в 53% - на уровне запястного канала (признаки запястного канала были выявлены у 4 пациентов с 2 сторон и еще 4 – с 1 стороны; признаки поражения локтевого нерва в области кубитального канала наблюдались у 7 пациентов с 2 сторон и 6 – с 1 стороны).

Анализ полученных данных показал, что у пациентов с TTR-амилоидозом выявляются более выраженные изменения как амплитудных, так и скоростных показателей по сравнению с группой AL-амилоидоза. Получено достоверное снижение амплитуд моторных и сенсорных ответов при стимуляции срединного нерва у пациентов с TTR-амилоидозом по сравнению с группой AL-амилоидоза и группой контроля (Рисунки 3, 4).

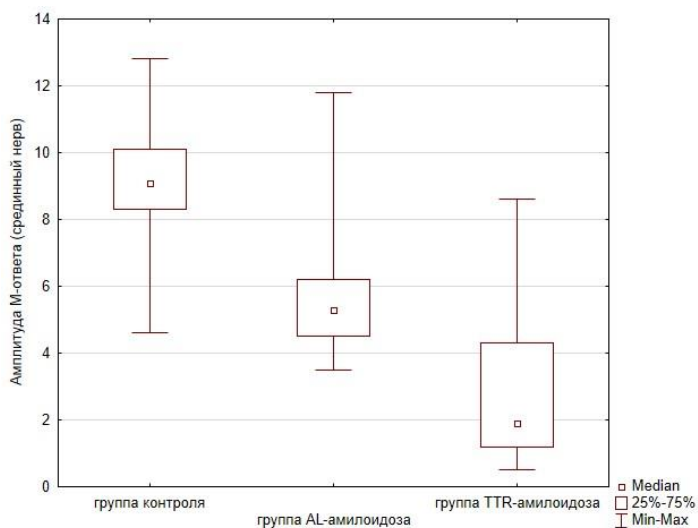


Рисунок 3 - Сопоставление амплитуд М-ответа срединного нерва в группах TTR-амилоидоза, AL-амилоидоза и группе контроля

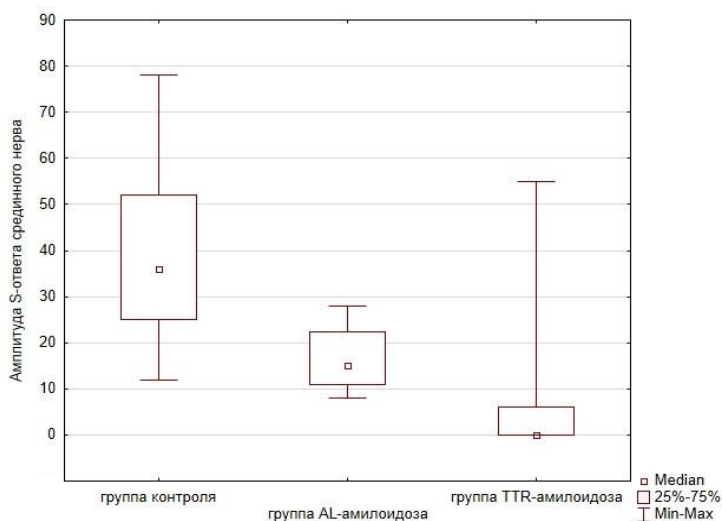


Рисунок 4 - Сопоставление амплитуд S-ответа срединного нерва в группах TTR-, AL-амилоидоза и группе контроля

При исследовании нервов нижних конечностей обращали внимание более выраженные изменения в виде снижения амплитуд М-, S-ответов и показателей проводимости по сравнению с верхними конечностями в основных группах, что соответствовало результатам клинического обследования. При анализе амплитуды М-ответа и РЛ малоберцового нерва пациентов с TTR-амилоидозом выявлены статически значимые отличия как с группой AL-амилоидоза, так и с группой контроля (Рисунки 5,6).

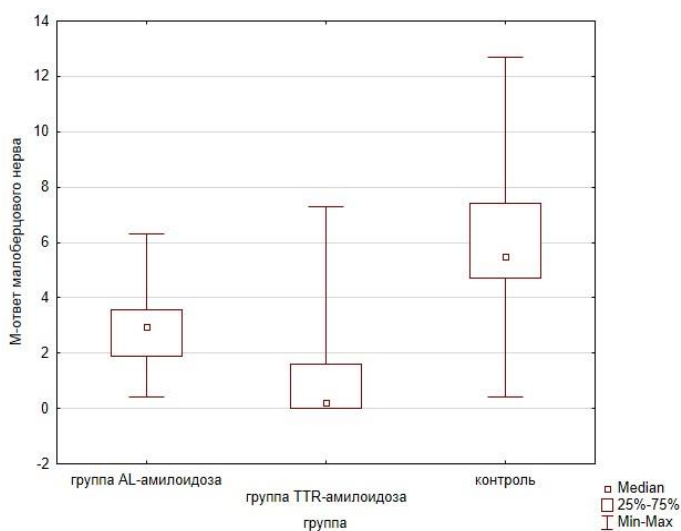


Рисунок 5 - Сопоставление амплитуд М-ответа малоберцового нерва в группах TTR-, AL-амилоидоза и группе контроля

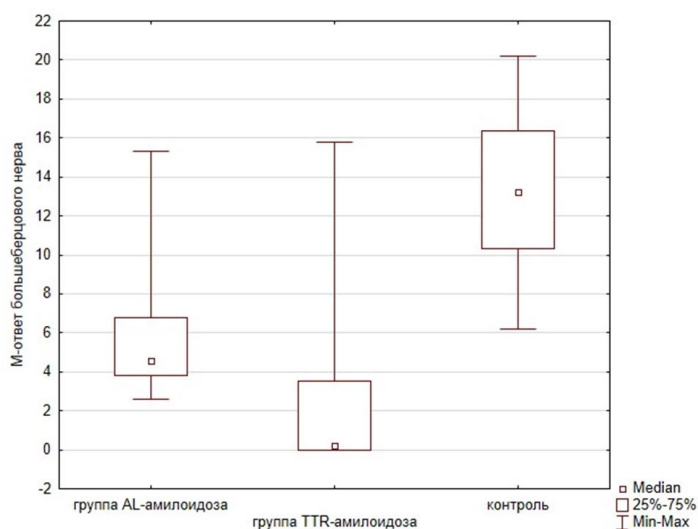


Рисунок 6 - Сопоставление амплитуд М-ответа большеберцового нерва в группах TTR-, AL-амилоидоза и группе контроля

Таким образом, для TTR-амилоидоза характерен первично аксональный тип поражения как сенсорных, так и моторных нервных волокон конечностей с их вторичной демиелинизацией; для группы AL-амилоидоза – первично аксональный тип поражения моторных и сенсорных волокон, причем наиболее выраженные изменения фиксировались при исследовании нижних конечностей, что согласовывалось с данными зарубежных авторов.

3.3 Результаты количественного сенсорного тестирования

Количественное сенсорное тестирование объективизировало поражение тонких нервных волокон в группе пациентов с системным амилоидозом. Были получены статистически значимые отличия в исследуемых группах, причем наиболее выраженные изменения фиксировались у пациентов с TTR-амилоидозом. В группе пациентов с AL-амилоидозом статистически значимые изменения в сравнении с контролем выявлялись только при исследовании температурных порогов нижних конечностей (Таблица 2).

Таблица 2 - Сравнительные показатели в основных группах и группе контроля, полученные при КСТ (контрольная сторона – левая)

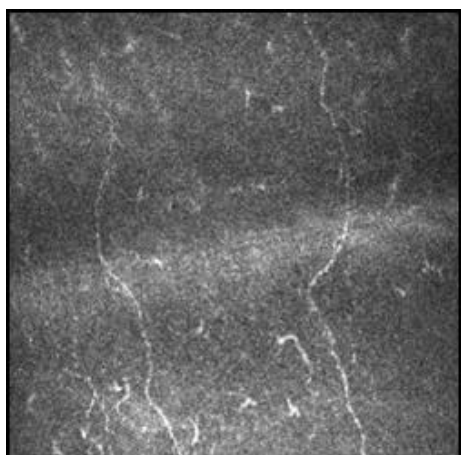
Анализируемый параметр		Группа контроля (N=12)	Группа TTR-амилоидоза (N=16)	Группа AL-амилоидоза (N=14)
С6	CDT	30,4 [29,7; 31]	24,9 [18,5; 26,85]**	30,5 [28,4; 31,2]
	WDT	34,5 [33,7; 34,85]	42,5 [36,05; 48,6]**	33,9 [33,6; 35,4]
L5	CDT	29,9 [28; 30,7]	0,25 [0; 6,7]**	27,1 [23; 29,3]#
	WDT	35,6 [34,9; 37,45]	50,0 [46,4; 50]**	42,3 [38,5; 45,6]#
S1	CDT	29,5 [29,2; 29,75]	0,8 [0; 18,95]**	27,2 [23,8; 29,3]#
	WDT	36,1 [35,6; 37,6]	50,0 [45,5; 50]**	43,6 [40,6; 46,9]#
** p<0,05 (группа TTR-амилоидоза – группа AL-амилоидоза) и (группа TTR-амилоидоза – контроль); #p<0,05 (группа TTR-амилоидоза - контроль)				

Пороговые значения с верхних конечностей были сопоставимы с группой контроля и незначительно выходили за рамки референсных значений, что объясняется поражением нервов верхних конечностей локально, в области анатомически узких каналов, а также исследованием только на одном уровне - С6, который не учитывает поражение локтевого нерва. Как и в случае оценки по шкале NIS, обращала внимание выраженная вариабельность значений температурных порогов на всех уровнях у пациентов с наследственным амилоидозом, а также значений температурных порогов в нижних конечностях в группе AL-амилоидоза.

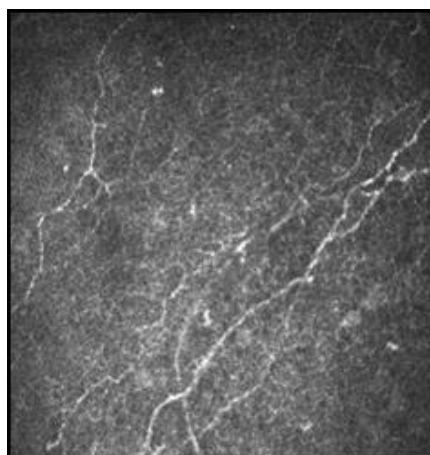
3.4 Результаты лазерной конфокальной микроскопии нервов роговицы

Для оценки состояния тонких нервных волокон проводился новый неинвазивный метод - ЛКМР, позволяющая оценить состояние нервов роговицы. Особенностью исследования является морфометрический анализ с использованием коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР ($K_{\Delta L}$ и K_{sym}), отражающих степень извитости и нарушения хода нервных волокон. По результатам проведенной ЛКМР значение коэффициента анизотропии у пациентов с системным амилоидозом было меньше по сравнению с группой контроля, однако достоверных различий, как и между группами с AL- и TTR-амилоидозом, не было получено, что, возможно, связано с индивидуальными, возрастными особенностями иннервации роговицы.

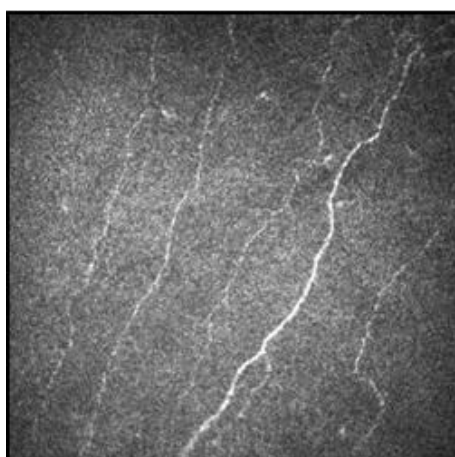
При оценке качественных характеристик, полученных на снимках нервов роговицы, изменения были выявлены у всех пациентов с системным амилоидозом. Как правило, нервы имели «четкообразную» форму, обращала внимание их выраженная извитость, разнонаправленность, ветвистость (Рисунок 7).



А) Пациент К., 43 лет, группа TTR-амилоидоза



Б) Пациентка М., 53 лет, группа AL-амилоидоза



В) Контроль, 58 лет.

Рисунок 7 - Снимок тонких нервов роговицы, полученный с помощью лазерного конфокального микроскоп

При исследовании связи между КΔL и тяжестью невропатических нарушений по шкале NIS в группе TTR-амилоидоза, выявлено, что значение КΔL достоверно коррелировало с тяжестью невропатии: чем выше балл по шкале NIS, тем меньшее значение принимал коэффициент анизотропии ($r=-0,71$; $p=0,009$) (Рисунок 8).

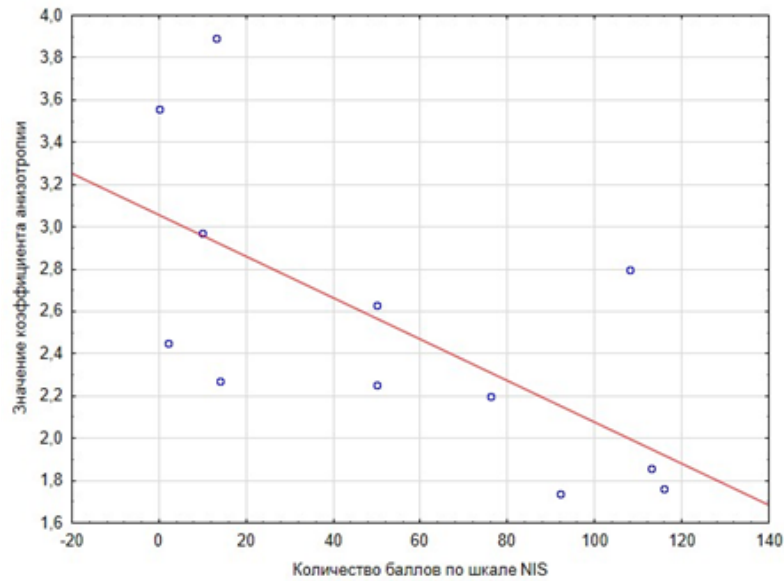


Рисунок 8 - Взаимосвязь между значениями коэффициента анизотропии и тяжестью невропатии по шкале NIS в группе TTR-амилоидоза

3.5 Оценка плотности интраэпидермальных нервных волокон

В качестве дополнительного метода обследования, позволяющего оценить состояние нервов, использовалась биопсия кожного лоскута с тыльной поверхности стопы с последующим окрашиванием на амилоид Конго красным или Сириусом красным, подсчетом PGP 9.5-позитивных нервных волокон и их плотности в эпидермисе (Рисунок 9).

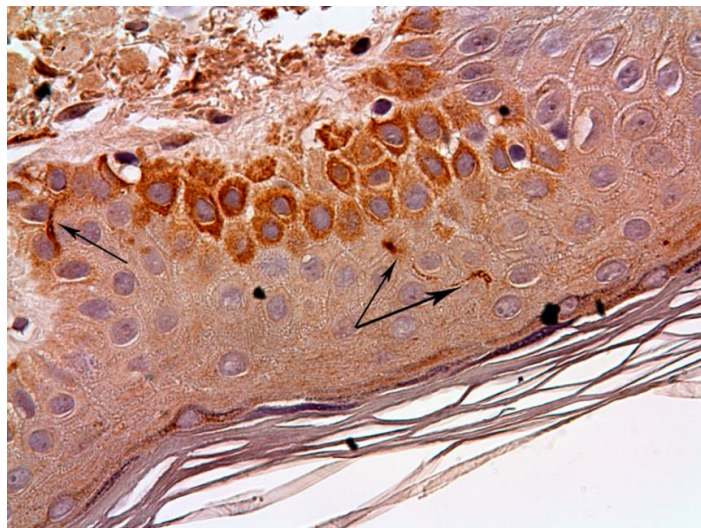


Рисунок 9 - Панч-биопсия кожного лоскута (контроль). Увеличение 400x; иммуногистохимия PGP 9.5. (стрелками обозначены интраэпидермальные нервные волокна)

Учитывая небольшое количество больных, расчет производился для основной группы, включающей пациентов с системным AL- и TTR-амилоидозом (4 пациента с AL-амилоидозом и 5 пациентов с TTR-амилоидозом) и группы контроля (N=7) (Таблица 3).

Таблица 3 - Оценка плотности интраэпидермальных нервных волокон в группе пациентов с системным амилоидозом и группе контроля

группа	показатели	Плотность интраэпидермальных волокон. Me [Q25%; Q75%]
Группа пациентов с системным амилоидозом (N=10)		1,1 [0,93; 1,45]
Группа контроля (N=7)		1,5 [1; 1,93]

Место взятия биоптата было определено нами неслучайно: оно соответствовало уровню обследования при КСТ (тыльная сторона стопы L5), что делало логичным сравнение степени нарушения температурной чувствительности с плотностью интраэпидермальных нервных волокон. Несмотря на отсутствие достоверных отличий с группой контроля ($p=0,087$), медиана плотности интраэпидермальных нервных волокон была ниже в группе пациентов с системным амилоидозом.

При исследовании микропрепаратов на наличие характерных для амилоида конго-позитивных структур с помощью окраски Конго красным или Сириусом красным ни в одном из представленных случаев амилоид не был выявлен, что объясняется диффузным отложением амилоидных масс. Таким образом, биопсия кожного лоскута является инвазивной и при этом неинформативной для морфологической верификации диагноза системного амилоидоза.

Для группы пациентов, которым была проведена панч-биопсия кожного лоскута, анализировалось наличие связи состояния интраэпидермальных волокон с результатами КСТ на уровне L5 слева. Получена достоверная взаимосвязь между плотностью интраэпидермальных волокон и порогами холодной и тепловой чувствительности. Значение плотности нервных волокон было достоверно выше у пациентов с показателями температурной чувствительности, приближенными к референсным значениям (для холодных порогов $r_s=0,8$, $p=0,004$; для тепловых порогов $r_s= - 0,7$, $p=0,007$).

ВЫВОДЫ

1. При первичном AL- и наследственном TTR-амилоидозе отмечаются сходные проявления поражения периферической соматической нервной системы в виде сочетания симметричной преимущественно дистальной полиневропатии и туннельной невропатии. Автономная невропатия встречалась чаще у пациентов с TTR-амилоидозом. В целом, поражение соматической и автономной нервной системы было более выраженным в группе TTR-амилоидоза по сравнению с группой AL-амилоидоза.
2. При TTR-амилоидозе достоверно чаще по сравнению с AL-амилоидозом отмечается невропатический характер боли вследствие выраженной дисфункции периферических отделов соматосенсорной системы с последующей центральной сенситизацией.
3. ЭНМГ позволяет объективизировать поражение соматической ПНС, в том числе на субклинической стадии. В качестве ведущего патогенетического механизма поражения ПНС при системном амилоидозе следует рассматривать аксонопатию. КСТ является информативным методом при определении поражения слабомиелинизированных волокон нервов конечностей, ответственных за тепловую и холодовую температурную чувствительность у пациентов с системным амилоидозом.
4. Метод ЛКМР позволяет визуализировать нарушение хода и структуры НВР у пациентов с системным амилоидозом независимо от его типа. У пациентов с наследственным TTR-амилоидозом установлено наличие связи состояния НВР и тонких волокон нервов конечностей.
5. Исследование плотности интраэпидермальных нервных волокон указывало на их снижение у пациентов с системным амилоидозом. Биопсия кожного лоскута неинформативна в отношении морфологической верификации диагноза системного амилоидоза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В диссертационной работе установлено, что выраженность клинических проявлений со стороны периферической нервной системы обусловлена характером отложения амилоида, а для наследственного амилоидоза также и типом мутации гена транстиретина.

Показана информативность ЭНМГ и количественного сенсорного тестирования КСТ в объективизации поражения толстых и тонких нервных волокон у пациентов с первичным AL- и наследственным транстиретиновым амилоидозом.

Установлено, что ЛКМР является информативным неинвазивным методом оценки состояния нервов роговицы у пациентов с наследственным транстиретиновым амилоидозом, коррелирующим с состоянием тонких волокон нервов конечностей.

Методика исследования биоптата кожи информативна для оценки состояния интраэпидермальных нервных волокон, несмотря на значительную вариабельность данного показателя, в то же время указанный метод инвазивен и малоинформативен в отношении обнаружения отложений амилоида.

Использованные нейрофизиологические методы чувствительны, но нозологически неспецифичны. Необходимо генетическое обследование при подозрении на наследственный транстретиновый амилоидоз, а также выявление амилоида в тканях.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Зиновьева О.Е., **Сафиулина Э.И.** Транстретиновая амилоидная полинейропатия: патогенез, клинические особенности, перспективы лечения // *Manage pain*. – 2017. – Т.4. – С.12-15.
2. **Сафиулина Э.И.**, Зиновьева О.Е., Рамеев В.В., Козловская-Лысенко Л.В. Поражение периферической нервной системы при системном амилоидозе // **Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика**. – 2018. – Т.10. - №3. – С.12–18. [Scopus]
3. Зиновьева О.Е., **Сафиулина Э.И.**, Щеглова Н.С., Рамеев В.В., Сурнина З.В., Степанова Е.А., Гордеева Е.М. Наследственный транстретиновый амилоидоз: новая выявленная амилоидогенная мутация // **Эффективная фармакотерапия**. – 2019. – Т.15. - №14. – С.12–17.
4. Зиновьева О.Е., **Сафиулина Э.И.**, Щеглова Н.С., Носовский А.М. Клинические и нейрофизиологические проявления поражения периферической нервной системы при наследственном транстретиновом амилоидозе // **Нервные болезни**. – 2020. – Т.2. – С. 42-47.
5. Зиновьева О.Е., **Сафиулина Э.И.**, Щеглова Н.С., Сурнина З.В., Носовский А.М. Лазерная конфокальная микроскопия роговицы как метод диагностики невропатии тонких волокон у пациентов с системным амилоидозом // **Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика**. – 2021. – Т.13. - №5. – С. 56–61. [Scopus]
6. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Зиновьева О.Е., **Сафиулина Э.И.**, Щеглова Н.С., Носовский А.М. Состояние нервных волокон роговицы при системном амилоидозе // **Вестник офтальмологии**. – 2021. – Т.137. - №5. – С. 231-237. [Scopus]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

A - амплитуда

БДН – болезнь двигательного нейрона

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КСТ – количественное сенсорное тестирование

КТС – карпальный туннельный синдром

ЛКМР – лазерная конфокальная микроскопия роговицы

НВР – нервные волокна роговицы

ОГ – ортостатическая гипотензия

ПНС – периферическая нервная система

РЛ - резидуальная латенция

СРВ - скорость распространения возбуждения

СРВк - скорость распространения возбуждения в анатомически узком канале

ХВДП – хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия

ЭНМГ – электронейромиография

AL - тип амилоидоза, белком-предшественником которого является легкие цепи иммуноглобулинов

DN4 (Douleur Neuropathique 4 questions) - диагностический опросник нейропатической боли

Ksym - коэффициент симметричности

КΔL - коэффициент анизотропии

M-ответ - моторный ответ

NIS (Neuropathy Impairment Score) - шкала невропатических нарушений

S-ответ – сенсорный ответ

TTR – транстиретиновый амилоидоз