

Renal Amiloidoz Tanısında Tioflavin T'nin Önemi

Importance of Thioflavin T in Diagnosis of Renal Amyloidosis

Banu SARSIK, Nazan ÖZSAN, Sait ŞEN

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İZMİR, TÜRKİYE

ÖZ

Amaç: Amiloidoz, amiloid fibrillerinin birikimi olan bir grup hastalığı gösterir. Böbrek amiloidozunun, klinik ve histopatolojik özellikleri, öncü proteinin tipine göre değişir. Amiloidozun histopatolojik tanısı rutin Kongo kırmızısı (KK) histokimyasına dayanır. Tioflavin T ultraviyole ışık altında değerlendirmeye dayanan alternatif bir metod olabilir, fakat tutarsız ve hatalı sonuçlar verdiğine inanılmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Amiloid birikimlerinin floresan mikroskopta (UV ışık) en iyi nasıl tanınabileceğini bulmak için amiloid tanısında kullanılabilen, Tioflavin T'nin sensitivite ve spesivitesini, Kongo kırmızısı floresansı ile karşılaştırdık.

Bulgular: Yüz yirmi nativ ve transplant böbrek biyopsili olgunun frozen doku kesiti alındı ve Tioflavin T ile boyandı. Prospektif olarak 10 olgu (8'i AA, 2'si nonAA amiloidoz) frozen Tioflavin T kesitlerinde amiloidoz tanısı aldı, tümünde benzer Kongo Kırmızısı floresansı saptandı. Yalancı pozitiflik ve negatiflik belirlenmedi.

Sonuç: Tioflavin T hazırlanması metodu basit, değerlendirilmesi kolaydır. Kongo Kırmızısı floresansı ile gözden kaçabilecek oldukça az amiloid birikimlerini bile saptayabileceğinden Tioflavin T'den yararlanılmalıdır. Sonuç olarak; Tioflavin T'nin, oldukça küçük frozen böbrek doku kesitlerinde bile, amiloid tanısında duyarlı ve spesifik bir metod olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, bu metod floresan mikroskopi sırasında en kolay olarak böbrek amiloidoz tanısına olanak sağlayabilir.

Anahtar Sözcükler: Böbrek, Amiloidoz, Tioflavin T, Kongo kırmızısı floresansı

ABSTRACT

Objective: Amyloidosis represents a group of diseases with deposition of amyloid fibrils. Clinical and histopathological features of renal amyloidosis vary according to the type of precursor protein. Histopathological diagnosis of amyloidosis relies on routine Congo red histochemistry. Thioflavin T may be an alternative method based on examination on ultraviolet light, but is believed to give inconsistent and inaccurate results.

Materials and Method: The sensitivity and specificity of Thioflavin T and Congo red fluorescence that can be applied to the diagnosis of amyloid were compared in order to find how best to diagnose amyloid deposits on fluorescence microscopy.

Results: Frozen tissue sections available from 120 native and transplant renal biopsy patients were stained with Thioflavin T. Prospectively, 10 cases of amyloidosis (8 with AA and 2 with nonAA) were diagnosed on frozen Thioflavin T sections and identical Congo red fluorescence staining was found in all the cases. There were no false positives or negatives.

Conclusion: The Thioflavin T method is simple to perform and easier to evaluate. It can therefore be utilized to track down even minute amyloid deposits, which might be missed by the Congo red fluorescence. In conclusion, Thioflavin T was demonstrated to be a sensitive and specific method for diagnosis of amyloid even in small frozen renal tissue sections. This method can, therefore, allow the easiest diagnosis of renal amyloidosis on fluorescence microscopy.

Key Words: Kidney, Amyloidosis, Thioflavin T, Congo red fluorescence

GİRİŞ

Amiloidoz birçok dokuda, çeşitli amiloid proteinlerin hücre dışında birikimi ile karşımıza çıkan heterojen hastalıklar grubudur (1). Sistemik formlarında böbreğin farklı kompartmanlarında, değişik derecelerde birikimler olabilir. Biriken proteinin özellikleri veya temel birikim yerine göre farklı klinik tablolarla bulgu verebilir (2-4). Böbrek patolojilerinin araştırılmasına yönelik olarak yapılan iğne

biyopsilerinde amiloid birikimleri saptanabilir. Benzer görünüme yol açabilecek diğer fibriler birikimlerden ayırıcı tanısı önemlidir (2).

Böbrek iğne biyopsileri (BİB) ışık, immünfloresan (İF) ve elektron mikroskobiyi (EM) içeren özellikli yöntemlerle değerlendirilmektedir (2-4). Rutin olarak BİB'lerde İF inceleme yapılması ve amiloid proteinlerin floresan veren boyalarla boyanması, bu inceleme sırasında amiloidoz

Geliş Tarihi : 07.02.2009

Kabul Tarihi : 17.03.2009

Yazışma Adresi: Banu SARSIK

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İZMİR, TÜRKİYE

E-posta: banu.sarsik@ege.edu.tr

tanısına olanak sağlayabilir. Kongo kırmızısı (KK; Kongo red) ve tioflavinler flöresan veren boyalar içinde yer almaktadır (5-12). Amiloidoz tanısında KK boyama yöntemi altın standarttır ve tanı için boyanan birikimlerin ışığı çift kırması şarttır (1). Ancak KK boyama yöntemi bazı teknik sorunlar içermektedir. BİB kesitlerinin KK için gereken kesitlerden çok daha ince olması BİB'lerde amiloidoz tanısı için önemli bir dezavantajdır. İF inceleme sırasında KK boyamanın flöresan ışıkta değerlendirilmesi ile yapılan Kongo kırmızısı flöresansının (KKF) amiloidoz tanısındaki yararları belirtilmiştir (8,9). Tioflavin T ve S flöresan yöntemle değerlendirilen diğer amiloid boyalarıdır (5-7, 10-12). Bunlar sensitif olmalarına rağmen, spesifiteleri için farklı görüşler bulunmaktadır. Eskiden beri bilinmelerine rağmen rutin amiloid tanısında, flöresan tekniklerin kullanımları sınırlıdır (2-7). BİB'lerde İF inceleme standart olarak yapıldığı için tioflavin boyalar amiloid birikimlerin saptanmasında değerli olabilir.

Bu çalışmada, tioflavin T'nin (TT) özellikle frozen böbrek dokusunda amiloid birikimlerin saptanmasındaki yeri, tanısıl özellikleri ve KKF ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu prospektif çalışmaya, Haziran-Aralık 2008 ayları arasında fakültemizde BİB yapılmış ve materyalleri anabilim dalımızda incelenmiş tüm olgular alındı.

Rutin değerlendirmeler: Tüm BİB'ler, fosfat tampon solüsyonda, tespitsiz olarak anabilim dalımıza gönderildi. Biyopsiler diseksiyon mikroskobu altında incelendi. İF inceleme endikasyonu olan olgularda, biyopsi boyutuna göre 1-4 mm boyutunda kortikal doku örneği, İF mikroskopik inceleme için donduruldu. Artakalan biyopsi örneği ışık mikroskopik inceleme için %4'lük formalinde fikse edilip, rutin takip ardından parafine gömüldü.

Işık mikroskopik incelemede 2-4 mikron kalınlıkta üç Hematoksilin eosin (H&E) kesit yanı sıra, Putschler'in KK, Masson'un trikrom, Schiff'in periodik asiti (PAS), Jones'un gümüşleme metodu ile boyanmış birer adet kesit incelendi (5).

Flöresan inceleme için dondurulmuş doku örneğinden 4-6 µm kalınlıkta 12 lama kesitler hazırlandı. Bu kesitlerden biri Kongo kırmızısı boyandı ve rutin İF inceleme sırasında değerlendirildi. Bir kesit ise TT ile boyandı, daha sonra değerlendirilmek amacıyla saklandı. Diğer kesitlere rutin olarak kappa, lambda, IgG, IgM, IgA, C3c, C1q ve fibrin için flöresan izotiyosiyanatla (FITC) işaretlenmiş antikorlar (1/20 dilüsyon DAKO, Glostrup, Danimarka) uygulandı. İmmün birikimler flöresan mikroskopta araştırıldı.

Çalışmaya alınan tüm olguların ışık ve İF mikroskopik inceleme bulguları rutin olarak raporlandı. Işık ve İF inceleme sırasında saptanan glomerül sayısı kaydedildi.

Amiloidoz tanısı ve skorlama: Parafin ve frozen kesitlerde KK boyanmış birikimlerin polarize mikroskopta elma yeşili "birefrenjans" göstermesi ile amiloidoz tanısı konuldu. Işık mikroskobunda amiloid birikimlerinin glomerüller yoğunluğu ve paterni ile, renal parankimdeki diğer değişiklikler ve amiloid birikimlerinin dağılımı değerlendirildi ve bulgular skorlandı (13). Toplam skora göre olgular erken, orta ve geç dönem amiloidoz olarak belirlendi.

Amiloid birikimlerin tiplendirilmesi: Parafin kesitlerde de immünohistokimyasal (İHK) yöntemle amiloid A, Lambda, Kappa, lizozim'e karşı monoklonal antikorlar kullanılarak biriken amiloid proteinin tiplendirilmesi yapıldı. Kesitler elektrostatik yüklü lamplara (X-traTM, Surgipath Medical Industries, Richmond, Illinois, USA) alındı ve 60°C'da en az iki saat kurutuldu. Deparafinasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere tüm boyama süreci Ventana, BenchMark XT tam otomatik İHK boyama cihazında gerçekleştirildi. Zıt boyama Hematoksilin ve mavileştirici solüsyon ile cihazda tamamlandı. Kesitlerin dehidratasyonu, ksilen ile şeffaflandırılması ve lamel kapatılması aşamaları elde yapılarak İHK boyama sonlandırıldı.

Sadece amiloid A ile boyanan birikimlerde, olgular AA amiloidoz olarak tiplendirildi. Zayıf boyanma ve birden fazla antikor ile boyanma varlığında, olguların İF inceleme, klinik ve laboratuvar verileri ile birlikte tiplendirme yapıldı. AA ile boyanma olmayan olgular öncelikle AA dışı (nonAA) sistemik amiloidoz olarak tiplendirildi.

Tioflavin T değerlendirilmesi: Tüm TT boyalı frozen kesitler çalışma sonunda ardışık olarak, diğer kesitler ve orijinal tanılardan bağımsız tek araştırmacı tarafından değerlendirildi. Amiloid birikimleri araştırıldı. TT kesitler, fotoğraf ekipmanı olan, HBO 50 lambalı, Zeiss Axioscope mikroskopta, flöresan izotiyosiyanat (FITC, mavi) filtre setleri ile incelendi. Yeşil renkte flöresan veren birikimler amiloid birikimleri olarak değerlendirildi. Amiloid birikimleri olan olgular fotoğraflandı.

Kongo kırmızısı flöresansının değerlendirilmesi: Çalışma sonunda TT ile amiloid birikimi saptanan olgular, KKF ile de araştırıldı. KKF için flöresan izotiyosiyanat (FITC, mavi) ve tetrametil rodamin izotiyosiyanat (TRITC, yeşil) filtre setleri kullanıldı. Her iki filtre seti ile birikimlerin özellikleri karşılaştırıldı. Ayrıca TT ile KKF bulguları karşılaştırıldı.

Son olarak amiloidoz tanısı alan olguların parafin kesitleri ile donmuş dokulardan hazırlanan kesitlerdeki bulguları eşleştirildi ve karşılaştırıldı.

BULGULAR

Yedi aylık çalışma süresince anabilim dalımızda 110 nativ, 245 transplant BİB değerlendirildi ve rapor edildi. Nativ BİB'lerin orijinal tanı raporları tabloda özetlendi (Tablo I). Çalışma periyodu süresince toplam 14 olguda amiloidoz tanısı konuldu. Bu olguların klinik ve patolojik özellikleri tabloda verilmiştir (Tablo II). Amiloidoz tanısı konulan olgulardan 11'i nativ, 3'ü transplant BİB'tir.

Nativ BİB'lerin 2'si konsültasyon materyali olduğundan, biri böbrek içermediğinden, biri böbrekte kitle nedeniyle yapıldığından flöresan inceleme için frozen örnek ayrıldı. Biyopsilerin 6'sında tioflavin T kesitleri çok az doku içerdiğinden değerlendirme için yetersiz bulundu. Nativ biyopsilerin 100'ünde TT kesitler değerlendirildi, 10'unda amiloid birikimi saptandı. Bu olguların tümü rutin incelemede sırasında amiloidoz tanısı alan olgulardı. Birikim saptanmayan 90 olgunun rutin değerlendirilmesi sırasında da amiloid birikimi saptanmamıştı. Renal kitle nedeniyle BİB yapılan bir olguda, berrak hücre morfolojisinde böbrek adenokarsinomu, yanı sıra renal parankimde amiloid birikimleri saptandı. Bu olguda sadece parafin kesit hazırlandığından TT değerlendirme yapılmamıştı.

Transplant BİB'lerden sadece 20'sinde İF inceleme endikasyonu belirtilmiş ve TT boyama yapılmıştı. Bu olguların hiçbirisinde amiloid birikimi saptanmadı. Sadece ışık mikroskobu ile değerlendirme yapılan 225 biyopsinin, 3'ünde amiloid birikimi saptanmıştı. Bunlarda klinik olarak İF inceleme endikasyonu olmadığından frozen kesit hazırlanmamış ve TT ile boyama yapılmamıştı.

TT ile amiloid birikimi saptanan 10 olgudan ikisinde amiloid birikimleri erken, dördünde geç, dördünde ise orta dönem olarak belirlendi.

TT kesitleri ile KKF karşılaştırıldığında bir olguda KKF'de birikimler TT'ye göre daha güç saptandı ve gözden kaçabileceği düşünüldü (Şekil 1). Bu olguda frozen kesitleri daha kalın olduğundan parafin kesitlere göre KK saptamak daha kolaydı. İHK incelemede AA amiloidoz tanısı kondu (Şekil 2). Bu olgu çalışmada, erken amiloidoz olarak değerlendirilen ve amiloid skoru en az olan olguydu.

Frozen kesitlerde ortalama 3,61 glomerül kesiti saptanmışken, bu olguların parafin kesitlerinde ortalama 30,71 glomerül kesiti saptandı. Az sayıda glomerül içermelerine rağmen frozen kesitlerde tanı konmasında sorun yaşanmadı.

Tablo I: Çalışma periyodu boyunca değerlendirilen böbrek biyopsileri ve immünflöresan inceleme için frozen örnek ayrılan olgular ile amiloidoz sayıları.

Nativ böbrek biyopsileri	Sayı	Amiloidoz tanısı
Amiloidoz	10	10
Proliferatif glomerülonefritler *	10	
Fokal segmental glomerüloskleroz**	18	
Membranoproliferatif glomerülonefrit	5	
Membranöz glomerülonefrit	7	
Kronikleşen glomerülonefrit	11	
Kliniko/patolojik korelasyonlar***	30	
Diğer tanılar	5	
Tübülointerstisyel hastalıklar	4	
Tioflavin T boyama olmayanlar	10	1
Toplam sayı	110	11
Nonspesifik değişiklikler	7	
Akut rejeksiyon	4	
İnterstisyel fibrozis tübüler atrofi	4	
Diğerleri	5	
Tioflavin T boyama olmayanlar	225	3
Toplam sayı	245	3
Tüm sayı	355	14

* Primer veya sistemik hastalığa sekonder olgular (sistemik lupus eritematozus, İGA nefropatisi ve post enfeksiyöz formlar, vaskülitler gibi)

** Proliferatif glomerülonefritlere bağlı sekonder segmental sklerotik değişiklikler de dahil

*** Işık ve immünflöresan mikroskopi ile spesifik tanı konulamayan olgular (minimal değişiklik hastalığı, fokal segmental glomerüloskleroz kuşkulu olgular da dahil)

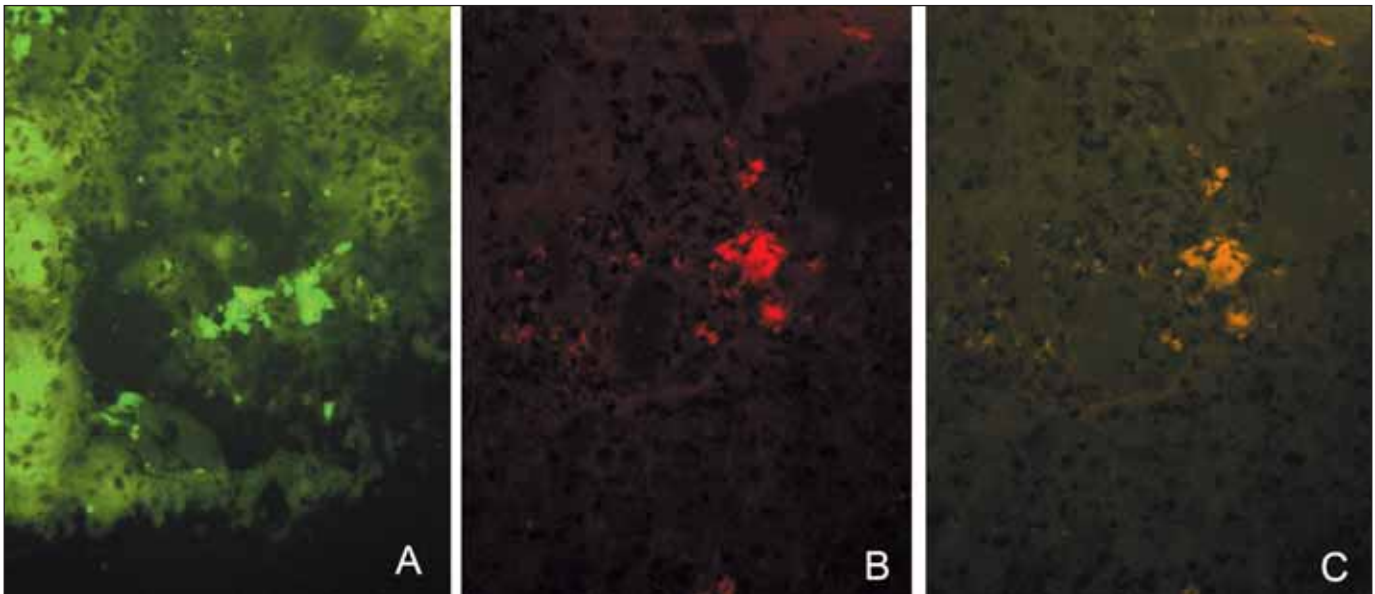
TARTIŞMA

Böbrek iğne biyopsilerinde amiloid birikimlerinin saptanarak, sistemik amiloidozun tanısının konması önemlidir (2-4). Bu olgularda öncü amiloid proteinlerin uygulanan tedavilerin ya da alttaki etiyolojik faktörün kontrolü, birikimin baskılanması ve erken tanı ile son dönem böbrek hastalığına ilerlemesi yavaşlatılabilir (1,13-15). Özellikle AA amiloidozda böbrekler önemli hedeftir (13). Sağkalımın yüksek olması ve hastalığın ilerlemesi ile son dönem böbrek hastalığı sıklıkla ortaya çıkar. Bu olguların renal transplantasyon ile tedavi şansı vardır (16-19). Ancak zamanla nakledilen böbrekte amiloid birikimi

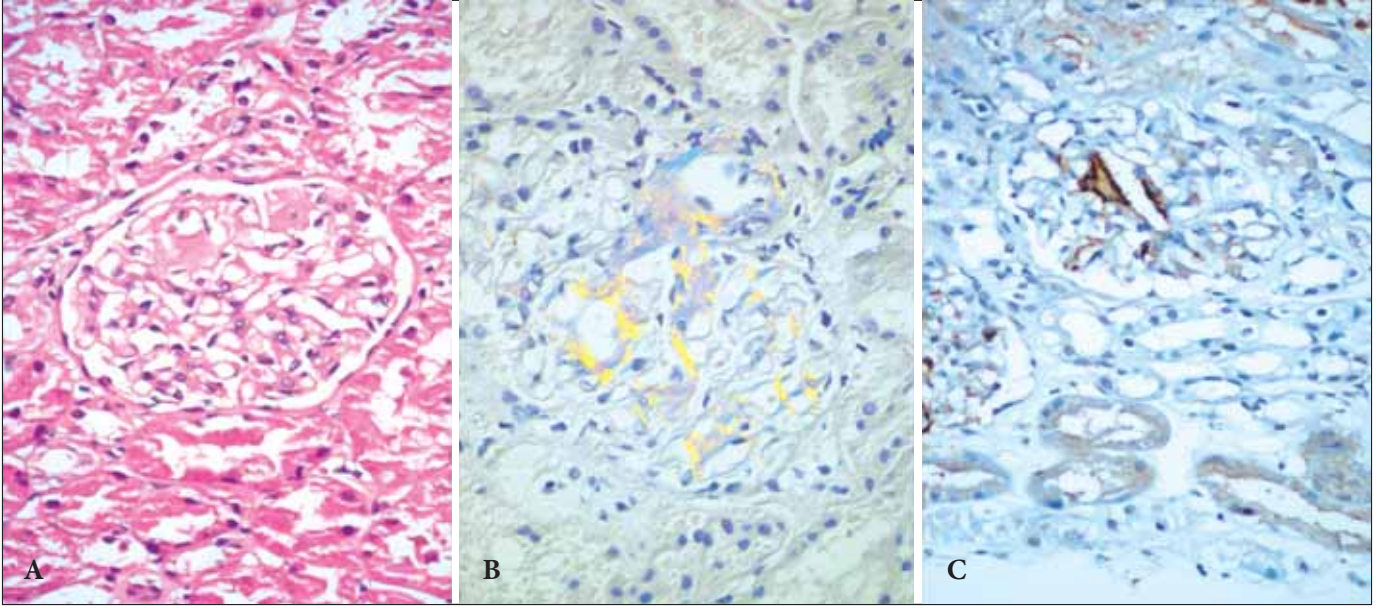
Tablo II: Çalışma sırasında amiloidoz tanısı alan tüm olguların klinik ve patolojik özellikleri

Sıra No	Olgu No	C	Yaş	Endikasyon	Klinik ön tanılar	Etiyolojik faktör	Amiloid tipi	Temel birikim	Birikim paterni	Tioflavin T
1	316	E	66	Proteinüri	Diyabet, hipertansiyon	Belirtilmemiş	AA	Glomerüler	4	Pozitif
2	317	K	44	Nefrotik sendrom	MGN, Amiloidoz	Belirtilmemiş	AA dışı	Glomerüler	6	Pozitif
3	318	E	44	Proteinüri	Amiloidoz	AS	AA	Glomerüler	4	Pozitif
4	319	E	20	Nefrotik sendrom	Amiloidoz	FMF	AA	Glomerüler	3	Pozitif
5	320	K	38	Nefrotik sendrom	Amiloidoz	FMF	AA	Glomerüler	1	Pozitif
6	321	E	33	Proteinüri	MGN, amiloidoz	AS	AA	Glomerüler	4	Pozitif
7	324	E	49	Nefrotik sendrom		AS	AA	Glomerüler	2	Pozitif
8	325	E	62	Proteinüri	Amiloidoz	Enfeksiyon	AA	Glomerüler	4	Pozitif
9	326	E	58	Nefrotik sendrom	MDH, MGN	Belirtilmemiş	AA dışı	Glomerüler	6	Pozitif
10	327	E	19	Proteinüri	Karın ağrısı	Belirtilmemiş	AA	Glomerüler	3	Pozitif
11	T-315	E	38	KAN	Protokol biyopsi, 11 yıl	FMF	AA	Glomerül ve damar	4	Yapılmadı
12	T-255	E	20	KAN	Protokol biyopsi, 8 yıl	FMF	AA	Glomerül ve damar	3	Yapılmadı
13	T-323	E	28	KAN	Protokol biyopsi, 5 yıl	FMF	AA	Damarlar	1	Yapılmadı
14	Ki-322	E	62	Proteinüri	Renal kitle	Malignite	AA	Glomerüler	4	Yapılmadı

T: Renal transplantlı olgu, Ki: Renal kiteli olgu, E: Erkek, K: Kadın, KAN: Kronik allogreft nefropatisi, MGN: Membranöz glomerülonefrit, MDH: Minimal değişiklik hastalığı, AS: Ankilozan spondilit, FMF: Ailevi akdeniz ateşi; AA: Amiloid A amiloidozu



Şekil 1: Flöresan mikroskopta amiloid birikimlerinin Tioflavin T ve Kongo kırmızısı boyası ile değerlendirilmesi. A) Tioflavin T ile amiloid birikimleri flöresan izotiyosiyanat (FITC, mavi) filtre setleri ile yeşil renkte görülmektedir. Kongo kırmızısı boyamada tetrametil rodamin izotiyosiyanat (TRITC, yeşil) B) Flöresan izotiyosiyanat (FITC, mavi) C) filtrelerle aynı kesitteki amiloid birikimleri kırmızının farklı tonlarında flöresans vermektedir. TRITC filtrede kırmızı renk daha belirginken zemindeki renal parankimi belirlemek daha güçtür (x20).



Şekil 2: Aynı olgunun parafin kesitlerindeki amiloid birikimlerinin görünüşleri. A) Hematoksilen eozin boyamada amorf, hücre içermeyen genelde mezangiyal, eozinofilik birikim. B) Kongo kırmızısında belli belirsiz tuğla kırmızısı renk ve ışığı çift kıran polarizasyon C) Anti AA immünhistokimyasal incelemesinde daha belirgin görünen birikim (x20).

tekrarlayabilir (16-19). Ülkemiz verilerine göre böbrek biyopsilerinde AA amiloidoz saptanma oranı yaklaşık %90'dır (20-23). Son 15 yılın verilerine göre Ege bölgesinde böbrek biyopsilerinin yaklaşık %7'sinde amiloidoz saptanmaktadır (21). Hem amiloidoz saptanma oranı, hem de amiloid protein tip dağılımı, gelişmiş ülke verilerinden farklılık göstermektedir (13). BİB'lerde amiloid birikimleri az olduğunda veya kesitlerin normale göre daha ince olması nedeniyle amiloid birikimleri saptanmayabilir (24,25). Ayrıca KK boyaması da teknik sorunlar içermektedir. Küçük birikimleri saptamak için kalın ve ardışık seri kesitler önerilmektedir (26-28). Geçmişte tioflavinler yanısıra metil viyole gibi metakromatik boyamalar önerilmesine rağmen, sonradan güvenilir bulunmamış ve terk edilmişlerdir. İHK olarak amiloid A tiplendirmesi ve KKF amiloidoz tanısında güvenilir yöntemlerdir (9, 24, 27). Permanganatlı KK artık tiplendirmede kullanılmamaktadır.

Tioflavin boyalarının amiloid fibrillere bağlandıkları uzun zamandır bilinmektedir (5-7,10,11). Tioflavin T ve S geçmişte popüler olmuşlarsa da, renal patolojide üzerinde çok fazla durulmamıştır. Halbuki İF incelemenin rutin olarak yapılması, tioflavin boyamanın kolaylığı renal patoloji rutininde kullanımı için önemli fırsattır. KK boyamadan daha duyarlı olduğu belirtilmekle birlikte, nonspesifik olarak kabul edilmesi dezavantajdır. TT boyamada amiloid birikimleri FITC filtresi ile ultraviyole ışıkta yeşil renkte saptanmaktadır.

Biz bu çalışmada, sadece BİB'lerdeki amiloidoz tanısında TT boyamanın oldukça duyarlı bir yöntem olduğunu ve spesifik bir şekilde sadece amiloid birikimlerini gösterdiğini saptadık. Çalışmada amiloidoz tanısı konan hasta sayısı az olmakla birlikte, bu seride yalancı negatiflik de saptanmamıştır. Üstelik amiloid birikimleri az olan bir olguda KK kesitlerinde birikim güçlükle saptanırken, TT kesitlerinde tanı daha kolay konulmuştur. Çalışmada sadece floresan inceleme kesitlerinin kullanılması ve bu biyopsilerin az sayıda glomerül içermesi de önem taşımaktadır. Frozen kesitlerde ortalama 3.61 glomerül izlenirken, parafin kesitlerde ortalama 30.71 glomerül saptanmıştır. Frozen kesitlerde az sayıda glomerül olmasına rağmen tüm olgular doğru olarak tanı almıştır. Bu nedenle küçük, ama kalın olan frozen BİB kesitlerinde amiloidoz tanısı koymada sorunla karşılaşmamıştır. Bu özellik KKF çalışmalarında da gözlenmiştir (8,9).

Eski çalışmalarda tioflavin boyamanın nonspesifik olarak fibrin veya kollajeni boyadığı belirtilmiştir (5-7,10,11). Bu bileşikler değişik nedenlerle yapılan medikal BİB'lerde sorun yaratabilir. Ayrıca tioflavin'in katyonik özellikleri ile kıkırdak, sülfatlı mukosubstantlar, keratin, elastik lifler ve kolloidi de boyadığı belirtilmiştir (5-7,10,11). Bu nedenle tioflavin boyamaları nonspesifik olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda transplant böbrek biyopsilerini de içeren geniş bir BİB serisinde ve değişik renal patolojilerde yanlış tanıya yol açabilecek herhangi bir boyanma saptanmamıştır.

Bu nedenle BİB'lerde TT'nin amiloidoz tanısında yardımcı bir metod olarak kullanılabilceğini düşünürüz.

KKF ile TT karşılaştırılmasında minimal birikim olan bir AA amiloidoz olgusunda TT'nin ve frozen kesitlerin daha iyi sonuç verdiğini gözlemledik. Bu nedenle TT ile KK kesitlerinde uyumsuzluk olduğunda, KK boyama daha kalın kesitlerde uygulanmalıdır. Değerlendirmede Kongo kırmızı flöresansından da yardım alınmalıdır. AA amiloid için İHK incelemeler güvenilir bulunmaktadır (24-26,29,30). Özellikle AA amiloidoz açısından kuşku duyuluyorsa gereğinde anti AA İHK boyamasından yardım alınabilir. Bizim olgumuzda parafin AA İHK kesitleri, KK boyamadan daha iyi sonuç verdi.

Bu çalışmada, TT için sadece BİB ve frozen kesitler kullanılmıştır. Böbrek dışı dokuların kullanılmaması eksiklik olarak kabul edilebilir. Bu nedenle amiloid tanısında daha sık sorunlar yaşanan deri ve gastrointestinal kanal biyopsilerinde de tioflavin boyama deneyimini ortaya koyan yeni kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulabilir. Özellikle AA amiloidozda böbrekler hedef organ olduğundan ve böbrek yetmezliği de sıklıkla gelişebileceğinden hedef organ hasarını ve derecesini ortaya koymak için, idrar anomalisi de varsa BİB yapılarak amiloidoz tanısı konması daha yararlı olabilir. BİB'in riskli olduğu belirtilmesine rağmen buna yönelik güvenilir veri yoktur (31). Geniş olgu içeren böbrek serilerinde böbreğe yönelik komplikasyon tanımlanmamıştır (13, 21). BİB'lerde amiloid birikiminin özelliklerinin tanımlanmasına ve skorlama önerilmesine rağmen prognostik değeri henüz tam olarak ortaya konamamıştır. Bu konuda ülkemizdeki en geniş patoloji serisinin klinik korelasyonu henüz tamamlanmamıştır (13). Bu çalışmada sadece 2 olguda amiloidoz tanısı erken bulgularla konulmuştur. Kalan olguların yarısında ise tanı geç dönemde konmuştur. Amiloid birikim paternlerine bakıldığında birikimler genelde mezangiyal alandadır.

Çalışmamızda, 10 olgudan sadece 8'i AA amiloidoz olarak değerlendirilmiştir. Bu veri daha önceki ülkemiz çalışmaları ile uyumludur (13, 20-22). AA dışı amiloidozlar AL ve herediter amiloidozları içeren geniş bir spektruma sahiptir (25, 30, 31). Bu olgularda geniş bir immünohistokimyasal inceleme paneli yanı sıra klinikopatolojik korelasyona gereksinim bulunmaktadır. Yurt dışına ait serilerde ise AA dışı amiloidozların sıklığı ve özellikle AL amiloidozlar fazladır (2, 25, 29-31). Yakın zamana kadar anlamı olmayan hafif zincir anomalileri nedeniyle bazı herediter amiloidozlar AL amiloidoz olarak tanı almışlardır (32, 33). Bizim çalışmamızda amiloid tanılı olguların frozen kesitlerinde fibrinojen, kappa ve lambda boyaması yanı sıra parafin kesitlerde de İHK değerlendirmeleri yapılmıştır.

AA dışı amiloidozu olan olgulardan birinin kemik iliği biyopsisinde lambda pozitifliği ile plazma hücre diskrazisi saptanmıştır. Diğer olguda ise klinik incelemeler henüz tamamlanmamıştır.

Çalışmada transplant BİB'ler de kullanılmıştır. Frozen kesit alınan 20 olguda amiloid birikimi saptanmamakla birlikte, diğer transplant BİB'lerden üçünde amiloid birikimi saptanmıştır. Bu olgulardaki amiloid birikimleri ailevi Akdeniz ateşli olguların tekrarlayan amiloid birikimleridir. Bu olguların kliniğinde tipik nativ böbrek hastalığındaki gibi proteinüri gözlenmemektedir. Histopatolojik özellikler genelde damarlarda amiloid birikimleri ile karşımıza çıkmakta ve vericinin arteriyoler hiyalinozisi ya da siklosporin A ilişkili hiyalinozis ile karışabilmektedir (18,19).

Sonuç olarak TT eskiden beri bilinen, ancak tam değerini bulmamış bir yöntemdir. Biz BİB'leri içeren bu çalışmada, TT boyamanın duyarlı olduğunu ve yalancı pozitiflik ya da negatiflik içermediğini gördük. Bu nedenle TT yardımcı bir metod olarak, flöresan mikroskopi sırasında amiloidoz tanısında güvenilir olarak kullanılabilir.

TEŞEKKÜR

İmmünflöresan inceleme sırasında Tioflavin T boyama için kesit alıp, boyama işlemini gerçekleştiren Gökşen Ertutar'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. **Westermarck P, Benson MD, Buxbaum JN, Cohen AS, Frangione B, Ikeda S, Masters CL, Merlini G, Saraiva MJ, Sipe JD:** Amyloid: Toward terminology clarification. Report from the Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid* 2005, 12:1-4
2. **Herrera GA, Picken MM:** Renal diseases associated with plasma cell dyscrasias, amyloidoses, Waldenström macroglobulinemia and cryoglobulinemic nephropathies. In Jennette JC, Olson JL, Schwartz MM, Silva FG (Eds): *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. 6th ed., Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 853-910
3. **Fogo AB, Kashgarian M:** *Diagnostic Atlas of Renal Pathology*, Philadelphia, Elsevier Saunders, 2005, 122-130
4. **Howie AJ:** *Handbook of Renal Biopsy Pathology*, 2nd ed., New York, Springer, 2007, 104-128
5. **Wowles GH, Francis RJ.** *Amyloid. Eds. Bancroft JD and Gamble M:* In *Theory and Practice of Histological Techniques*, 5th ed., Edinburgh, Churchill Livingstone, 2001, 303-324
6. **Elghetany MT, Saleem A:** Methods for staining amyloid in tissues: A review. *Stain Technol* 1988, 63:201-212
7. **Westermarck GT, Johnson KH, Westermarck P:** Staining methods for identification of amyloid in tissue. *Methods Enzymol* 1999, 309:3-25

8. **Linke RP:** Highly sensitive diagnosis of amyloid and various amyloid syndromes using Congo red fluorescence. *Virchows Arch* 2000, 436:439-448
9. **Sen S, Başdemir G:** Diagnosis of renal amyloidosis using Congo red fluorescence. *Pathol Int* 2003, 53:534-538
10. **Hobbs JR, Morgan AD:** Fluorescence microscopy with Thioflavine-T in the diagnosis of amyloid. *J Pathol Bacteriol* 1963, 86:437
11. **Cooper JH:** An evaluation of current methods for the diagnostic histochemistry of amyloid. *J Clin Pathol* 1969, 22:410-413
12. **Kelényi G:** On the histochemistry of azo group-free thiazole dyes. *J Histochem Cytochem* 1967, 15:172-180
13. **Sen S, Sarsık B:** A proposed histopathological classification, scoring and grading system for renal amyloidosis; standardization of renal amyloid biopsy report. *Archiv Pathol Lab Med* 2009, (in press)
14. **Dember LM, Hawkins PN, Hazenberg BP, Gorevic PD, Merlini G, Butrimiene I, Livneh A, Lesnyak O, Puéchal X, Lachmann HJ, Obici L, Balshaw R, Garceau D, Hauck W, Skinner M:** Eprodisate for AA Amyloidosis Trial Group. Eprodisate for the treatment of renal disease in AA amyloidosis. *N Engl J Med* 2007, 356:2349-2360
15. **Ben-Chetrit E, Levy M:** Colchicine: 1998 update. *Semin Arthritis Rheum* 1998, 28:48-59
16. **Heering P, Kutkuhn B, Frenzel H, Linke RP, Grabensee B:** Renal transplantation in amyloid nephropathy. *Int Urol Nephrol* 1989, 21:339-347
17. **Sherif AM, Refaie AF, Sobh MA, Mohamed NA, Sheashaa HA, Ghoneim MA:** Long-term outcome of live donor kidney transplantation for renal amyloidosis. *Am J Kidney Dis* 2003, 42:370-375
18. **Duman S, Şen S, Töz H, Aşçı G, Başdemir G, Başçı A:** AA amyloidosis in renal transplantation. *Proceedings Bantao 5th Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology Dialysis Transplantation and Artificial Organs. Thessaloniki, Greece. 2001, 252-254*
19. **Özdemir BH, Özdemir FN, Sezer S, Sar A, Haberal M:** Among therapy modalities of end-stage renal disease, renal transplantation improves survival in patients with amyloidosis. *Transplant Proc* 2006, 38:432-434
20. **Tuğlular S, Yalcinkaya F, Paydas S, Oner A, Utas C, Bozfakioğlu S, Ataman R, Akpolat T, Ok E, Sen S, Düsünsel R, Evrenkaya R, Akoglu E:** A retrospective analysis for aetiology and clinical findings of 287 secondary amyloidosis cases in Turkey. *Nephrol Dial Transplant* 2002, 17:2003-2005
21. **Şen S, Sarsık B, Yazıcı A:** Classification and scoring system of renal amyloidosis; Experience with 288 cases. *Virchows Archiv* 2007, 451: 516-517
22. **Ensari C, Ensari A, Tumer N, Ertug E:** Clinicopathological and epidemiological analysis of amyloidosis in Turkish patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005, 20:1721-1725
23. **Paydas S:** Report on 59 patients with renal amyloidosis. *Int Urol Nephrol* 1999, 31:619-631
24. **Linke RP, Gartner HV, Michels H:** High-sensitivity diagnosis of AA amyloidosis using Congo red and immunohistochemistry detects missed amyloid deposits. *J Histochem Cytochem* 1995, 43:863-869
25. **Satoskar AA, Burdge K, Cowden DJ, Nadasdy GM, Hebert LA, Nadasdy T:** Typing of amyloidosis in renal biopsies: Diagnostic pitfalls. *Arch Pathol Lab Med* 2007, 131:917-922
26. **Linke RP, Oos R, Wiegel NM, Nathrath WB:** Classification of amyloidosis: misdiagnosing by way of incomplete immunohistochemistry and how to prevent it. *Acta Histochem* 2006, 108:197-208
27. **Şen S, Ertan Y, Başdemir G:** Renal amiloid birikimlerinin tayininde kongo kırmızısı floresansı. *Türk Patoloji Dergisi* 2001, 17:28-33
28. **Şen S, Alkanat MB, Akalın T, Özsan N:** Amiloidozis tanısında zorluklar: Böbrek iğne biyopsisinden kaçınılabilir mi? *Ege Tıp Dergisi* 2002, 41: 201-206
29. **Nishi S, Alchi B, Imai N, Gejyo F:** New advances in renal amyloidosis. *Clin Exp Nephrol* 2008, 12:93-101
30. **Picken MM:** New insights into systemic amyloidosis: The importance of diagnosis of specific type. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2007, 16:196-203
31. **Dember LM:** Amyloidosis-associated kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006, 17:3458-3471
32. **Novak L, Cook WJ, Herrera GA, Sanders PW:** AL-amyloidosis is underdiagnosed in renal biopsies. *Nephrol Dial Transplant* 2004, 19:3050-3053
33. **Lachmann HJ, Booth DR, Booth SE, Bybee A, Gilbertson JA, Gillmore JD, Pepys MB, Hawkins PN:** Misdiagnosis of hereditary amyloidosis as AL (primary) amyloidosis. *N Engl J Med* 2002, 346:1786-1791