

IL MICROSCOPIO E LA CLINICA

Laser Microdissection/Mass Spectrometry: molto più in là del rosso congo



Marco Colucci

Università di Pavia, Pavia

L'amiloidosi è una malattia complessa ed affascinante, che riconosce come momento fondamentale nella propria genesi l'alterazione conformazionale di diverse proteine, espresse costituzionalmente, che per un processo di *misfolding* assumono caratteristiche di citotossicità e tendenza all'aggregazione e deposizione nei tessuti [1]. Ciò si riflette in una molteplicità di manifestazioni cliniche e di interessamenti d'organo, con un comportamento subdolo e differenze spesso sottili tra i vari tipi, rendendo a volte difficile la diagnosi e diventando un banco di prova per il medico. L'interessamento renale in corso di amiloidosi occupa un posto di primo piano nella costellazione di manifestazioni cliniche, sia per frequenza e relativa costanza, che per rilevanza prognostica [2] (full text). Nondimeno, la biopsia renale è uno dei più precoci ed efficaci strumenti di dimostrazione della malattia; in particolare, la determinazione della tipologia di amiloide è assolutamente fondamentale nel condizionare la prognosi ed il trattamento della malattia [3].

Data la sostanziale indistinguibilità dei vari tipi alla microscopia ottica ed elettronica, tale differenziazione viene abitualmente eseguita mediante tecniche di immunoistochimica ed immunofluorescenza, anche se talvolta il risultato può non essere dirimente. Un'ulteriore tecnica, di recente sviluppo, in grado di aiutare in questo compito è la Laser Microdissection/Mass Spectrometry (LMD/MS) [4] (full text). Tale metodica innovativa consiste nell'estrazione dei frammenti peptidici dai tessuti mediante la microdissezione laser, nel loro processamento con tripsina e quindi nell'analisi spettrofotometrica dei campioni ottenuti, i cui dati, elaborati tramite software di proteomica, andrebbero a definire la natura dei depositi [4] (full text).

Tutte queste tematiche sono state riprese in un recente studio retrospettivo condotto da Said et al. [5], in cui sono state esaminate ed analizzate le biopsie renali di 474 pazienti che hanno ricevuto diagnosi di amiloidosi tra il 2007 e il 2011, parallelamente a parametri clinici come età, sesso, creatinina sierica e livelli di proteinuria. Una delle ragioni per ritenere questo studio di particolare interesse è di per sé la dimensione del campione analizzato, comprendente anche forme meno comuni di amiloidosi come ALECT2, AFib e AApoAI/AII/AIV. Al di là della comunque non trascurabile conferma del trend epidemiologico che notoriamente vede i tipi AL e AA come i più rappresentati [3], è interessante notare come si sia potuto distinguere i tipi di amiloide con diversi pattern di interessamento del parenchima renale, in virtù delle diverse interazioni dei peptidi amiloidogenici con l'ambiente [1]. L'analisi ha confermato come i compartimenti parenchimali più frequentemente interessati dal processo patologico fossero i glomeruli e i vasi; è stato tuttavia evidenziato come i tipi ALECT2 e AApoAI/AII/AIV si presentassero con depositi e danno prevalentemente a carico

del tubulo-interstizio, con glomeruli e vasi a volte addirittura pressoché risparmiati, mentre la AFib tendeva a dare un'obliteramento glomerulare massivo [5]. L'esame dei dati clinici al momento della biopsia ha permesso inoltre di stabilire come i livelli di creatinina sierica fossero più bassi nei pazienti con AL/AA/AHL e più alti in quelli con AFib o ALECT2, mentre il gruppo con AL/AA/AHL era associato più frequentemente a proteinuria elevata e a quadri clinici di sindrome nefrosica conclamata [5]. Oltre a queste rilevazioni, lo studio è stato un'ottima occasione per testare la validità della metodica LMD/MS per accertare il tipo di amiloide. Tale metodica è stata impiegata in 147 casi, nel 50% dei quali la tipologia era già stata determinata tramite altre tecniche. La LMD/MS ha dimostrato specificità superiore all'immunoistochimica, offrendo altresì evidenti vantaggi, tra cui la possibilità di eseguire il test su campioni biotici di piccole dimensioni e la non necessità di dover utilizzare molteplici anticorpi per determinare il tipo di amiloide, contribuendo quindi a definire la validità di quello che potrà diventare, applicato su larga scala, uno strumento di grande aiuto nella diagnosi tempestiva di amiloidosi.

Bibliografia

[1] Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *The New England journal of medicine* 2003 Aug 7;349(6):583-96

[2] Dember LM. Amyloidosis-associated kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2006 Dec;17(12):3458-71 (full text)

[3] Falk, Rodney H., Raymond L. Comenzo, and Martha Skinner. "The systemic amyloidoses." *New England Journal of Medicine* 337.13 (1997): 898-909.

[4] Vrana JA, Gamez JD, Madden BJ et al. Classification of amyloidosis by laser microdissection and mass spectrometry-based proteomic analysis in clinical biopsy specimens. *Blood* 2009 Dec 3;114(24):4957-9 (full text)

[5] Said SM, Sethi S, Valeri AM et al. Renal amyloidosis: origin and clinicopathologic correlations of 474 recent cases. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2013 Sep;8(9):1515-23