

В.А. КОЗЛОВ, С.П. САПОЖНИКОВ, П.Б. КАРЫШЕВ,
А.И. ФУФАЕВА, В.Ю. АЛЕКСАНДРОВА, Ю.В. ВАСИЛЬЕВА

ТОНЗИЛОГЕННЫЙ АМИЛОИДОЗ

Ключевые слова: небная миндалина, амилоидоз, конго, трехцветное окрашивание.

В связи с сообщением, что амилоид является функциональным антимикробным веществом, возможно частью врожденного иммунитета, мы предположили, что амилоид может образовываться в небных миндалинах при хроническом тонзиллите. Тридцати двум больным в возрасте от 19 до 52 лет было проведено хирургическое лечение клинически доказанного хронического тонзиллита.

Цель исследования – обнаружение факта формирования амилоидного поражения миндалин при хронических тонзиллитах.

Гистологическое исследование тонзиллэктомированного материала, зафиксированного в 10% растворе формалина и залитого в парафин на 4-микронных гистологических срезах: 1) по обычной методике, окрашенных гематоксилин-эозином, 2) окрашивание конго красным и 3) собственным оригинальным трехцветным методом (двухчасовая инкубация парафиновых срезов в ацидин-пелсине, последовательное окрашивание пикрофуксином по Ван Гизону, гематоксилином Карацци, конго красным по Н.Н. Venhold, пикро-индигокармином).

У всех 32 больных выявлена картина хронического тонзиллита без обострения со склерозом стромы и атрофией лимфатического аппарата железы. Локальный амилоидоз миндалин выявлен в 10 случаях из 32. В результате трехцветного окрашивания неизменённые соединительнотканые волокна прокрашивались в зелёный цвет, изменённые (гиалиноз или амилоидоз) в различные оттенки от желтого, желто-оранжевого до красного, кроме того, в тканях миндалин отчетливо выявлялись лимфоциты, нейтрофилы и тучные клетки. Для сравнения был взят секционный материал небной миндаины у мужчины 49 лет, покончившего жизнь самоубийством через повешенье, но без хронического тонзиллита. Судебно-медицинский диагноз: механическая асфиксия через повешенье. Макроскопически: миндалины не увеличены, складчатые, размеры одной из них вместе с мягкими тканями составляли 2,5×1,5×1 см. Тем не менее в срезах миндалин суицидента обнаружено конгоположительное вещество.

Сделан вывод, что значительное число случаев амилоидоза, не приведших к тяжёлым поражениям жизненно важных органов, остается неучтенным в связи с отсутствием информированности специалистов и, как следствие, рекомендаций к скрининговому исследованию на наличие амилоидоза. Как минимум у 30% больных с хроническим тонзиллитом наблюдается, по крайней мере, локальный амилоидоз миндалин. Амилоидное поражение миндалин может встречаться даже при клинически неизменённых миндалинах.

Введение. Приобретенный амилоидоз традиционно считается осложнением таких длительно протекающих хронических инфекций, как туберкулез, либо системных заболеваний, которые развиваются на протяжении длительного времени. Между тем из материала некоторых зарубежных исследований следует, что амилоидоз встречается при более чем тридцати заболеваниях, патогенез которых ранее никак не ассоциировался с первичным локальным амилоидозом, например, таких, как сахарный диабет II типа (амилоидоген – амилин), открытоугольная глаукома и т.д. [9]. Кроме того, появились не лишённые оснований предположения, что амилоид является функциональным веществом, возможно, частью врожденного иммунитета [12]. По этой причине у нас возникло предположение, что амилоид может образовываться в небных миндалинах при их хроническом инфекционном поражении. Это может быть

либо локальным, возможно защитным, процессом, либо представлять собой более тяжелую проблему при генерализации процесса и поступлении амилоида из миндалин в кровоток. Гистологически выраженный амилоидоз небных миндалин нами был обнаружен в 30% случаев хронического тонзиллита. Более того, к нашему крайнему удивлению, амилоид нами был найден в препаратах небных миндалин практически здорового суицидента 49 лет. Но сведений о локальном амилоидозе миндалин при хроническом тонзиллите ни в отечественной, ни в зарубежной литературе нами не найдено.

Таким образом, существует значительный пробел в понимании механизмов формирования как минимум вторичного амилоидоза, который, судя по нашим данным, может начинаться с локального процесса в небных миндалинах, как пограничных иммунокомпетентных органах, наиболее уязвимых к инфекционному повреждению. При наличии соответствующих условий (хронический воспалительный процесс внутренних органов) локальный амилоидоз может генерализовываться с формированием амилоидных депозитов в органах-мишенях.

Цель исследования – закрепление приоритета обнаружения факта формирования амилоидного поражения миндалин как в результате формирования хронического тонзиллита, так и без видимых причин.

Материал и методы исследования. Краткая характеристика группы больных. В условиях отделения оториноларингологии бюджетного учреждения Чувашской Республики «Больница скорой медицинской помощи» Министерства здравоохранения Чувашской Республики по поводу декомпенсированного хронического тонзиллита обследовано 32 человека в возрасте от 19 до 52 лет, средний возраст – $32,0 \pm 10,3$ года. Женщин – 20 человек, средний возраст – $31,4 \pm 10,7$ года. Мужчин – 12 человек, средний возраст – $32,9 \pm 10,7$ года. Целью обследования являлась подготовка к плановой тонзиллэктомии. Из них не имели сопутствующего диагноза – четыре человека, все женщины. Осложнение тонзиллита в виде ревматического порока сердца имела только одна женщина в возрасте 32 лет. Гломерулонефрит – один мужчина в возрасте 41 года. Двадцать восемь человек имели сопутствующие диагнозы, не связанные с хроническим тонзиллитом, но у всех 32 обследованных наблюдались нарушения процессов реполяризации миокарда и в одном случае у мужчины 51 года – экстрасистолия. В одном случае у женщины 34 лет наблюдался паратонзиллярный абсцесс, все остальные больные прооперированы в период ремиссии.

Кроме того, для сравнения был взят секционный материал небной миндалины у практически здорового соматически мужчины 49 лет, покончившего жизнь самоубийством через повешенье, но без хронического тонзиллита.

Гистологический материал был зафиксирован в 10%-ном растворе формалина и залит в парафин по обычной методике. В предварительном гистологическом исследовании для подтверждения или исключения диагноза «хронический тонзиллит» все 4-микронные парафиновые срезы исследуемых органов были окрашены гематоксилином Карацци с последующим докрасиванием эозином по обычной методике.

На втором этапе исследования часть срезов после перекрашивания гематоксилином Карацци была докрашена 1%-ным раствором конго красного по Н.Н. Venhooold и заделана в прозрачную среду. Другая часть парафиновых срезов тканей была предварительно частично депротеинирована путем инкубации в течение 2 ч в растворе ацидин-пепсина (две таблетки аптечного препарата на 100 мл воды, каждая таблетка содержит 50 мг протеолитического фермента

пепсина и 200 мг беталаина, pH = 4) при комнатной температуре (20°C), затем смонтирована на предметные стекла и депарафинирована, после чего срезы были последовательно окрашены: 1) пикрофуксином по Ван Гизону, промыты в воде, 2) докрашены гематоксилином, промыты в воде, дифференцированы в подкисленном 70° спирте, промыты в воде, 3) окрашены конго красным, дифференцированы в 70° спирте, промыты в воде и 4) окрашены пикро-индигокармином, промыты водой, обезвожены и заделаны в прозрачную среду [2].

Гистологическое исследование осуществляли на кафедре медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова». Микроскопирование осуществляли в проходящем белом свете от светодиодного излучателя 7000 К на микроскопе ЛОМО. Микрофотографии получены с помощью цифровой камеры Levenhuk C800 NG 8M, USB 2.0. Полученные микрофотографии были исследованы морфометрическими методами. Относительную площадь в процентах от общей площади микрофотографии в пикселях измеряли в программе LevenhukLite.

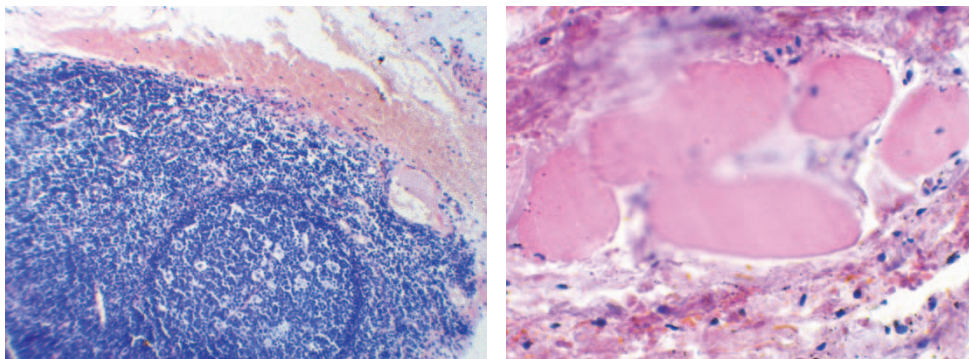
Оптическую плотность участков отложения конго положительного вещества на срезах, окрашенных конго красным по Н.Н. Venhoold, измеряли с помощью флуоресцентного микроскопа «Люмам-4» в соответствии с рекомендациями Л.С. Агроскина и Г.В. Папаяна (1977) [1]. Фотометрию в проходящем белом свете от светодиодного осветителя осуществляли с помощью микролюциметра ФМЭЛ-1А, запирающий светофильтр ЗС2. Электрические параметры на всех замерах определялись следующими параметрами: входное напряжение 900 В, сопротивление усилителя 106 Ом. В насадке был установлен зонд 0,5. Для измерения использовали ФЭУ-39, показания снимали с цифрового вольтметра, данные представлены в единицах оптической плотности.

Полученный цифровой материал обработан методами дескриптивной статистики в табличном редакторе Excel 2007. Различия средних определены с помощью метода χ^2 . Корреляционные отношения рассчитаны по методу Пирсона.

Результаты исследования и их обсуждение. На рис. 1, а, б показаны окрашенные конго красным препараты миндалина человека, резецированной по поводу хронического декомпенсированного тонзиллита. Отложения амилоида наблюдаются в области, непосредственно прилегающей к лимфоидному узелку (рис. 1, а). Наблюдается как образование амилоидных депозитов (рис. 1, б), так и диффузное отложение амилоида на волокна соединительной ткани вокруг депозитов. В результате предварительного гистологического исследования с помощью окрашивания конго красным по Н.Н. Venhold было установлено, что в 10% случаев тонзиллэктомированный материал вне зависимости от возраста больных и сопутствующих заболеваний содержит амилоидные депозиты. В связи с чем было принято решение изучить эти препараты с помощью трехцветной окраски.

На рис. 2 показаны микрофотографии срезов, окрашенных трехцветным способом. На рис. 2, а, б показан край миндалина с подкапсульным слоем и эпителием, инфильтрированным лимфоцитами. Капсула миндалина содержит диффузные отложения амилоида – окрашена конго. Подкапсульный слой, содержащий ретикулиновые волокна, окрашивается индигокармином в сине-зеленые цвета, в нем видны сосуды (артерии), стенки которых содер-

жат амилоидные депозиты. Эпителий, инфильтрированный лимфоцитами, не содержит ретикулиновых волокон и амилоидных депозитов. Ядра и лимфоциты окрашены в оттенки сине-фиолетового цвета. Обнаруживается единичная тучная клетка красно-коричневого цвета, фибробласты и отдельные лимфоциты, окрашенные в сине-фиолетовый цвет.

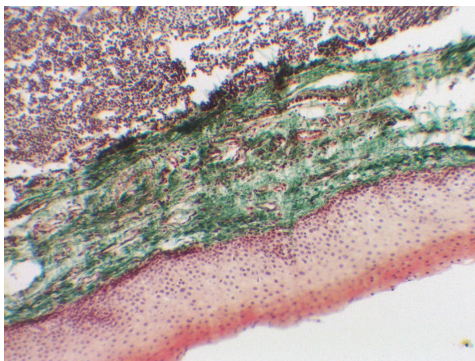


а – участок небной миндалины – граница лимфоидного узелка и диффузной лимфоидной ткани, пораженной амилоидозом. Конго красный. Ув. $\times 100$

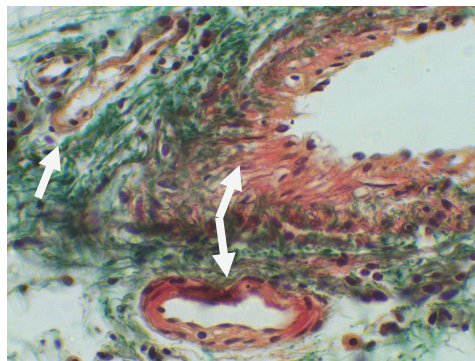
б – участок небной миндалины с амилоидными депозитами. Конго красный. Ув. $\times 400$

Рис. 1. Амилоидоз миндалины человека на фоне хронического декомпенсированного тонзиллита. Фиолетовым цветом окрашены – ядра, красным – амилоидные депозиты.

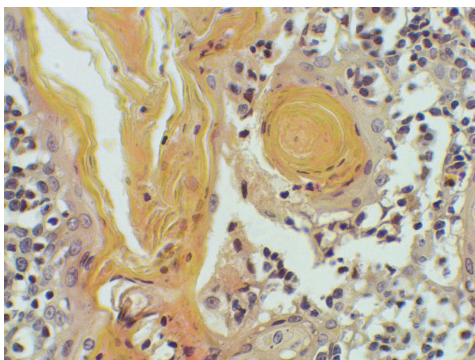
На рис. 2, *в* показаны гиалиновые отложения в строме миндалины, окрасившиеся пикрином в желтый цвет, что можно расценивать как гиалиновые отложения. На рис. 2, *з* в строме миндалины видны множественные тучные клетки с хорошо различной зернистостью и клеточными ядрами, а также лимфоцитами различной степени зрелости и фибробласты. Как и на рис. 2, *в*, цитоплазма тучных клеток окрашена в красный цвет, возможно, такое окрашивание обусловлено тем, что тучные клетки поглощают амилоидные массы, которые в цитоплазме тучных клеток распределяются равномерно. На рис. 2, *д* в центре обнаруживается сегментоядерный нейтрофил, на периферии тучные клетки и два лимфоцита с округлыми ядрами темно-синего цвета. На рис. 2, *е* показан лимфоидный узелок миндалины, содержащий множество лимфоцитов с ядрами, окрашенными в сине-фиолетовые цвета. У обследованного суицидента, к нашему глубокому удивлению, при отсутствии видимых признаков хронического тонзиллита, тем не менее, были выявлены участки амилоидных отложений (рис. 3, *а*). При трехцветном окрашивании (рис. 3, *б*) было установлено, что отложения амилоида накладываются на участки гиалиноза (желтое окрашивание). Отложения амилоида более выражены в области диффузной лимфоидной ткани и стенках артерий, тогда как лимфоидные узелки поражены в меньшей степени. Как и в остальных случаях, при трехцветной окраске видно, что слой рыхлой соединительной ткани, окрашивающийся в цвета индигокармина (сине-зеленые оттенки), практически не содержит амилоидных отложений, тогда как при окрашивании Н.Н. Venhold эти участки связывают конго красный, что, ориентируясь на трехцветный способ окраски, можно расценивать как неспецифичное окрашивание.



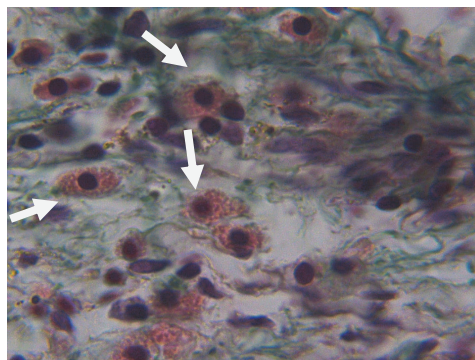
а – край миндалины со слизистой оболочкой, инфильтрированной лимфоцитами и диффузными отложениями конго положительного вещества, подслизистый слой окрашен индиго-кармином (зеленый цвет), лимфоидный узелок – в сине-фиолетовые цвета. Ув. $\times 100$



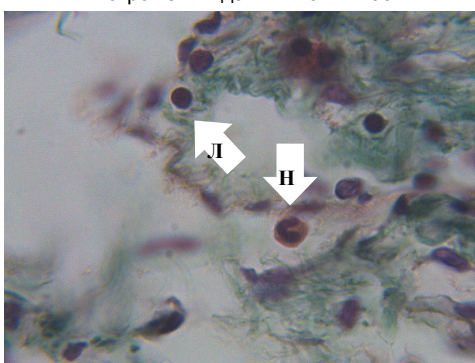
б – сосуды эластического типа с амилоидными отложениями и вена (показана стрелкой) в подкапсульном слое миндалины. Ув. $\times 400$



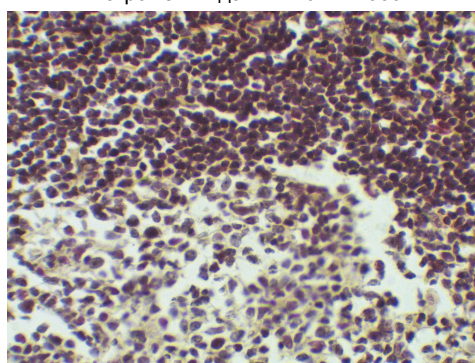
в – гиалиновые отложения (желтый цвет) в строме миндалины. Ув. $\times 400$



г – тучные клетки (показаны стрелкой) в строме миндалины. Ув. $\times 1000$



д – нейтрофил (показан стрелкой) в строме миндалины с лимфоцитами различной степени зрелости и фибробластами. Ув. $\times 1000$

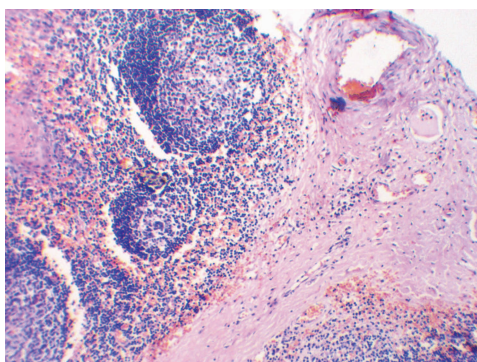


е – лимфоидный узелок миндалины. Ув. $\times 400$

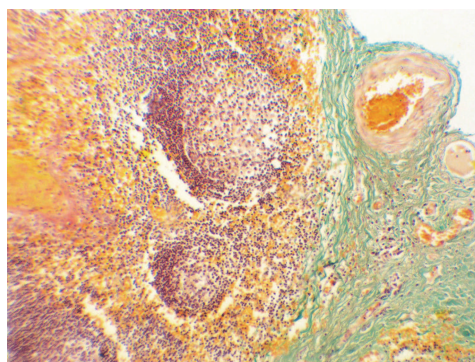
Рис. 2. Амилоидоз миндалины человека на фоне хронического декомпенсированного тонзиллита. Фиолетовый цвет – ядра, сине-зеленый – волокна, не связанные с амилоидом, красно-оранжевый – коллагеновые волокна, связанные с амилоидом, и амилоидные депозиты, желтый – гиалиноз.

Тучные клетки (г) окрашены в цвета конго. Трехцветная окраска по В.А. Козлову и др.

Оптическая плотность амилоидных отложений, измеренная на срезах, окрашенных конго красным по Н.Н. Venhoold, составляла $0,58 \pm 0,18$ ($0,36 \div 0,92$) (зонд 0,5, увеличение 400). То есть, несмотря на то, что интенсивность окрашивания конго визуально кажется достаточно равномерной, объективно обнаруживается различие плотности отложений конго более чем в 1,5 раза. Видимо по этой причине при сравнении последовательных срезов, окрашенных трехцветным способом и конго красным (рис. 3, а, б), площадь, окрашенная конго сильно различается: конго – $26,4 \pm 0,1\%$ (от общей площади среза при увеличении 400), трехцветная окраска – $18,2 \pm 0,1\%$ ($p = 0,002$, χ^2). Оптическая плотность цитоплазмы тучных клеток (рис. 2, а) при увеличении 1000 и зонде 0,1 составила $0,05 \pm 0,001$. Коэффициент корреляции между оптической плотностью конго положительных участков и возрастом больных, миндалины которых содержали амилоидные отложения, составил $-0,37$ ($p = 0,05$), что может свидетельствовать об отсутствии связи между выраженностью амилоидного поражения и длительностью протекания хронического тонзиллита.



а – амилоидоз небной миндалины.
Конго красный. Ув. $\times 400$



б – амилоидоз небной миндалины.
Тот же участок, что и на рис. а, но окрашенный
трехцветным методом. Ув. $\times 400$

Рис. 3. Амилоидоз миндалины у соматически практически здорового суицидента 49 лет

Из результатов анализа полученного нами гистологического материала миндалин, удаленных по медицинским показаниям в связи с наличием хронического тонзиллита, а также материала, полученного от относительно здорового суицидента, однозначно следует, что как минимум у 10% обследованных на фоне хронического воспаления миндалин с соответствующими морфологическими изменениями вне зависимости от возраста наблюдается локальный амилоидоз миндалин. Обнаруженный факт, особенно наличие обратной отрицательной корреляционной связи между возрастом больных и оптической плотностью участков отложения амилоида, можно объяснить тем, что склерозирование миндалин при хроническом тонзиллите вызвано персистенцией в их глубоких отделах микстной инфекции: энтерококки, мезофилы, *Candida* и их ассоциации со стрептококками, стафилококками и микрококками [4]. По крайней мере, некоторые из этих возбудителей производят внеклеточный амилоид, необходимый им для образования биопленок – *Candida* sp. [10], либо амилоид является структурным элементом их органоидов движения – пилей и курлей [3]. Таким образом, допустимо сделать предположение, что об-

наруженный нами в миндалинах амилоид имеет бактериальное и/или грибковое происхождение. Это предположение хорошо объясняет причину развития амилоидоза, осложняющего такие хронические бактериальные инфекции, как туберкулез.

Амилоид представляет собой супрамолекулярную структуру – одноосевой кристалл – нанотрубку, образованную мономерными 38–42 аминокислотными последовательностями [5–7, 10]. Будучи кристаллом, эта нанотрубка обладает способностью к самостоятельному росту с обоих концов. Достигнув предела прочности при определенной длине, она ломается как минимум на две части, которые продолжают рост [8]. Поскольку амилоиды образуются из однотипных аминокислотных последовательностей, входящих в состав как минимум тридцати белков, имеющих у человека, то не имеет значения – белок какого происхождения явился причиной образования амилоидной закладки [11]. Однажды образовавшись, он будет самовоспроизводиться дальше, аналогично прионам [8].

На основании сравнения гистологического материала, окрашенного разными способами – конго красным и разработанным нами трехцветным способом, следует вывод, что трехцветное окрашивание, очевидно, более информативный метод изучения амилоидного поражения органов, чем окраска по Н.Н. Venhoold в различных известных модификациях. Данный метод окрашивания позволяет на одном препарате одновременно оценить степень амилоидного поражения ткани, а также дифференцировать клеточный состав и осуществить морфометрический анализ. Кроме того, он позволяет точно дифференцировать амилоидное и гиалиновое поражение и показывает, что эти два процесса могут протекать параллельно. Примененное нами трехцветное окрашивание позволяет получить срезы с хорошим цветовым контрастом, что меньше утомляет зрение при анализе срезов.

Выводы. Из полученных нами данных очевидным образом следует вывод, что наше предположение о том, что миндалины, как пограничный орган иммунной системы, постоянно контактирующий с патогенной и условно-патогенной микрофлорой, часть которой является продуцентом функционального амилоида, подвергается амилоидному поражению. Поскольку наша относительно малая выборка была абсолютно случайной, можно предположить, что частота локального амилоидоза миндалин, связанного с формированием хронического тонзиллита, составляет не менее 10% от числа больных хроническим тонзиллитом. Факт случайного обнаружения амилоидного поражения миндалин у относительно здорового суицидента, не имевшего изменений миндалин, характерных для хронического тонзиллита, позволяет предположить, что даже однократный контакт с микрофлорой, продуцирующей амилоид, может приводить к локальному амилоидозу в силу инфекционности самого амилоида, как супрамолекулярной структуры, способной к самовоспроизведению. Кроме того, из наших данных следует, что какое-то число амилоидозов в силу отсутствия значительного поражения жизненно значимых органов (сальная почка, сальная печень и т.п.) может протекать бессимптомно или малосимптомно и не отражаться в медицинской статистике. Данное обстоятельство требует разработки и внедрения в клиническую практику методов экспресс-диагностики амилоидоза.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Литература

1. Аероскин Л.С., Папаян Г.В. Цитофотометрия. Аппаратура и методы анализа клеток по светопоглощению. Л.: Наука, 1977. 295 с.
2. Козлов В.А., Сапожников С.П., Карышев П.Б. Трехцветная окраска на амилоид // Цитология. 2017. Т. 59, № 9. С. 623–627.
3. Рекстина В.В., Горковский А.А., Безсонов Е.Е., Калебина Т.С. Амилоидные белки поверхности микроорганизмов: структура, свойства и значение для медицины // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2016. № 1. С. 4–13.
4. Цыркунов В.М., Рыбак Н.А., Васильев А.В., Рыбак Р.Ф. Микробиологические и морфологические аспекты хронического тонзиллита // Инфекционные болезни. 2016. Т. 14. № 1. С. 42–47. doi: 10.20953/1729-9225-2016-1-42-47.
5. Baldwin A.J., Knowles T.P., Tartaglia G., Fitzpatrick A., Devlin G., Shammas S., Waudby C.A., Mossuto M.F., Gras S.L., Christodoulou J., Anthony-Cahill S.J., Barker P.D., Vendruscolo M., Dobson C.M. Metastability of native proteins and the phenomenon of amyloid formation. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011. vol. 133, no. 36, pp. 14160–14163. DOI: 10.1021/ja2017703.
6. Knowles T.P.J., Vendruscolo M., Dobson C.M. The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. *Nature Reviews Mol. Cell Biol.*, 2014, vol. 15, no. 6, pp. 384–396. DOI: 10.1038/nrm3810.
7. Krebs M.R., Bromley E.H., Donald A.M. The binding of thioflavin-T to amyloid fibrils: localization and implications. *J. Struct. Biol.*, 2005, vol. 149(1), pp. 30–37.
8. Li Y.R., King O.D., Shorter J., Gitler A.D. Stress granules as crucibles of ALS pathogenesis. *J. Cell Biol.*, 2013, vol. 201, no. 3, pp. 361–372. DOI: 10.1083/jcb.201302044.
9. Luheshi L.vol., Dobson C.M. Bridging the gap: from protein misfolding to protein misfolding diseases. *FEBS Lett.*, 2009, vol. 583, no. 16, pp. 2581–2586.
10. Perutz M.F., Finch J.T., Berriman J., Lesk A. Amyloid fibers are water-filled nanotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 8, pp. 5591–5595.
11. Sipe J.D., Benson M.D., Buxbaum J.N., Ikeda S., Merlini G., Saraiva M.J., Westermark P. Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. Amyloid fibril protein nomenclature: 2012 recommendations from the Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid*, 2012, vol. 19, no. 4, pp. 167–170. DOI: 10.3109/13506129.2012.734345.
12. Soscia S.J., Kirby J.E., Washicosky K.J., Tucker S.M., Ingelsson M., Hyman B., Burton M.A., Goldstein L.E., Duong S., Tanzi R.E., Moir R.D. The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 3, p. e9505. DOI: 10.1371/journal.pone.0009505.

КОЗЛОВ ВАДИМ АВЕИРОВИЧ – доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (pooh12@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7488-1240>).

САПОЖНИКОВ СЕРГЕЙ ПАВЛОВИЧ – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (adaptagon@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0967-7192>).

КАРЫШЕВ ПАВЕЛ БОРИСОВИЧ – лаборант кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (pkarmol@mail.ru).

ФУФАЕВА АЛЕНА ИГОРЕВНА – врач отделения оториноларингологии и челюстно-лицевой хирургии, БУ «Республиканская детская клиническая больница» Минздрава Чувашии, Россия, Чебоксары (priffetik@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4771-7562>).

АЛЕКСАНДРОВА ВЕРА ЮРЬЕВНА – студентка VI курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (verochka789@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5841-7373>).

ВАСИЛЬЕВА ЮЛИЯ ВАЛЕРЬЕВНА – студентка VI курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (yulya-cbx@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1503-8645>).

Vadim A. KOZLOV, Sergey P. SAPOZHNIKOV, Pavel B. KARYSHEV,
Alena I. FUFAYEVA, Vera Yu. ALEXANDROVA, Yulia V. VASILYEVA

TONSILOGENIC AMYLOIDOSIS

Key words: palatine tonsil, amyloidosis, Congo, trichromatic staining.

In connection with the report that amyloid is a functional antimicrobial substance, possibly a part of innate immunity, we suggested that amyloid may form in the palatine tonsils in chronic tonsillitis. Thirty-two patients aged 19 to 52 years underwent surgical treatment for clinically proven chronic tonsillitis.

The aim of the study was to detect the fact of amyloid tonsillar lesions formation in chronic tonsillitis.

We performed histological examination of tonsillo-ectomized material fixed in 10% formalin solution and filled in paraffin on 4-micron histological sections: 1) according to the conventional technique, stained with hematoxylin-eosin, 2) Congo red staining and 3) using our own original trichromatic method (two-hour incubation of paraffin sections in acidin-pepsin, sequential staining with picro-fuchsin according to Van Gieson, Caracci hematoxylin, Congo red according to H. H. Benhold, picro-indigocarmin).

All 32 patients showed a clinical presentation of chronic tonsillitis without exacerbation with stroma sclerosis and atrophy of the lymphatic glandular system. Local amyloidosis of the tonsils was detected in 10 out of 32 cases. As a result of trichromatic staining, unchanged connective tissue fibers stained green, changed tissues (hyalinosis or amyloidosis) stained in various shades from yellow, yellow-orange to red, in addition, lymphocytes, neutrophils and mast cells were clearly detected in the tissues of the amygdala. For comparison, a section of the palatine tonsil was taken from a 49-year-old man who committed suicide by hanging, who had no chronic tonsillitis. Forensic diagnosis: mechanical asphyxia by hanging. Macroscopically: the tonsils are not enlarged, folded, the size of one of them together with the soft tissues was 2.5×1.5×1 cm. Nevertheless, a Congo-positive substance was found in the sections of the suicider's tonsils.

It is concluded that a significant number of amyloidosis cases that did not lead to severe damage to the vital organs remain unaccounted for due to the lack of specialists' awareness and, as a result, recommendations for screening for the presence of amyloidosis. At least 30% of patients with chronic tonsillitis are observed to have at least local tonsillar amyloidosis. Amyloid damage to the tonsils can be seen even in clinically unchanged tonsils.

References

1. Agroskin L.S., Papayan G.V. Tsitofotometriya. *Apparatura i metody analiza kletok po svetopogloshcheniyu* [Cytophotometry. Equipment and methods for analyzing cells by light absorption] Leningrad, Nauka Publ., 1977, 295 p.
2. Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Karyshev P.B. *Trekhtsvetnaya okraska na amiloid* [Trichrome staining for detection of amyloid]. *Tsitologiya*, 2017, vol. 59, no. 9, pp. 623–627.
3. Rekestina V.V., Gorkovskii A.A., Bezsonov E.E., Kalebina T.S. *Amiloidnye belki poverkhnosti mikroorganizmov: struktura, svoystva i znachenie dlya meditsiny* [Amyloid proteins of the surface of microorganisms: structure, properties and significance for medicine]. *Vestnik Rossiiskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2016, no. 1, pp. 4–13.
4. Tsykunov V.M., Rybak N.A., Vasil'ev A.V., Rybak R.F. *Mikrobiologicheskie i morfologicheskie aspekty khronicheskogo tonzillita* [Microbiological and morphological aspects of chronic tonsillitis] *Infektsionnye bolezni*, 2016, vol. 14, no 1, pp. 42–47. DOI: 10.20953/1729-9225-2016-1-42-47.
5. Baldwin A.J., Knowles T.P., Tartaglia G., Fitzpatrick A., Devlin G., Shammass S., Waudby C.A., Mossuto M.F., Gras S.L., Christodoulou J., Anthony-Cahill S.J., Barker P.D., Vendruscolo M., Dobson C.M. Metastability of native proteins and the phenomenon of amyloid formation. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011. vol. 133, no. 36, pp. 14160–14163. DOI: 10.1021/ja2017703.
6. Knowles T.P.J., Vendruscolo M., Dobson C.M. The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. *Nature Reviews Mol. Cell Biol.*, 2014, vol. 15, no. 6, pp. 384–396. DOI: 10.1038/nrm3810.
7. Krebs M.R., Bromley E.H., Donald A.M. The binding of thioflavin-T to amyloid fibrils: localization and implications. *J. Struct. Biol.*, 2005, vol. 149(1), pp. 30–37.
8. Li Y.R., King O.D., Shorter J., Gitler A.D. Stress granules as crucibles of ALS pathogenesis. *J. Cel. Biol.*, 2013, vol. 201, no. 3, pp. 361–372. DOI: 10.1083/jcb.201302044.
9. Luheshi L., Dobson C.M. Bridging the gap: from protein misfolding to protein misfolding diseases. *FEBS Lett.*, 2009, vol. 583, no. 16, pp. 2581–2586.

10. Perutz M.F., Finch J.T., Berriman J., Lesk A. Amyloid fibers are water-filled nanotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 8, pp. 5591–5595.

11. Sipe J.D., Benson M.D., Buxbaum J.N., Ikeda S., Merlini G., Saraiva M.J., Westermark P. Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. Amyloid fibril protein nomenclature: 2012 recommendations from the Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid*, 2012, vol. 19, no. 4, pp. 167–170. DOI: 10.3109/13506129.2012.734345.

12. Soscia S.J., Kirby J.E., Washicosky K.J., Tucker S.M., Ingelsson M., Hyman B., Burton M.A., Goldstein L.E., Duong S., Tanzi R.E., Moir R.D. The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 3, p. e9505. DOI: 10.1371/journal.pone.0009505.

VADIM A. KOZLOV – Doctor of Biological Sciences, Candidate of Medical Sciences, Professor of the Department of medical biology with course of Microbiology and Virology, Chuvash state University, Russia, Cheboksary (pooh12@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7488-1240>).

SERGEY P. SAPOZHNIKOV – Doctor of Medical Sciences, Head of Department of Medical Biology with course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (adaptagon@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0967-7192>).

PAVEL B. KARYSHEV – Laboratory Assistant, Department of Medical Biology with Course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (pkarmol@mail.ru).

ALENA I. FUFAEVA – Physician, Department of Otorhinolaryngology and Maxillofacial Surgery, Republican Children's Clinical Hospital, Russia, Cheboksary ((priffetik@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4771-7562>).

VERA Yu. ALEXANDROVA – Student of Medical Faculty, Chuvash state University, Russia, Cheboksary (verochka789@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5841-7373>).

YULIA V. VASILYEVA – Student of Medical Faculty, Chuvash state University, Russia, Cheboksary (yulya-cbx@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1503-8645>).

Формат цитирования: Козлов В.А., Сапожников С.П., Карышев П.Б., Фуфаева А.И., Александрова В.Ю., Петрова Ю.В. Тонзилгенный амилоидоз [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2021. – № 2. – С. 7–16. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/2>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-7-16.