

Микроскопски полиангиитис

Dr Виолета Рабреновић^{*}, пук. доц. dr sc. med. Зоран Ковачевић^{*},
пук. доц. dr sc. med. Драган Јовановић^{*}, мајор dr Милорад
Рабреновић[†], пук. проф. dr sc. med. Јован Димитријевић[‡], dr Веселин
Шкатарић^{*}, пук. dr Драгољуб Поповић[§], dr Сулаиман Абуграс^{*}

Војномедицинска академија, ^{*}Клиника за нефрологију, [†]Сектор за лечење,
[‡]Институт за патологију и судску медицину, [§]Клиника за плућне болести,
Београд

Микроскопски полиангиитис је рејко обољење које карактеришу лезије артериола, венула и капилара пре свега бубрега и плућа, али и других система и органа. Веома важна имунолошка особеност је и повећан титар антимијелопероксидазних ANCA. Код нашег болесника у клиничкој слици доминирале су промене на плућима (хемоптизије) и бубрезима (рајидно прогресивни гломерулонефритис). Зайочито лечење по стандардној Фаиси-јевој схеми која је прилагодена према тежини болести и годинама болесника (преднизон 60 mg/24 h уз постепено смањење дозе, циклофосфамид 150 mg/24 h) довело је до клиничко-лабораторијске ремисије. Болесник је на имуносупресивној терапији нередовно контролисао вредности леукоцита, због чега није благовремено зајажена агранулоцитоза. Изостанак корекције имуносупресивне терапије и лечења настале пнеумоније довео је до леталног исхода.

К л ј у ч н е р е ч и : vaskulitis; hemoptizije; bubreg, insuficijencija; glomerulonefritis; prednizon; ciklofosfamid.

Увод

Микроскопски полиангиитис (МП) је системски негрануломатозни некротишући васкулитис који захвата мале крвне судове (артериоле, венуле, капиларе) бубрега и плућа, али и других система и органа (коже, нервног система, дигестивног тракта, очију, чула слуха). Имуни га карактерише налаз перинуклеарних антинеутофилних цитоплазматских антитела (p-ANCA).

Ово обољење има своје клиничко-лабораторијске и пато-хистолошке особености, али и поред тога веома тешко се одваја од осталих сличних ANCA-позитивних васкулитиса.

Циљ овог приказа је да укаже на обољење које се веома ретко клинички дијагностикује, а његова дијагноза захтева опсежна клиничка и имунолошка испитивања ради искључења осталих системских васкулитиса са сличном клиничком сликом.

Приказ случаја

Код болесника старог 62 године осам месеци пре пријема у Клинику за нефрологију јавиле су се тегобе у виду слабости, брзог замарања, отежаног дисања и сувог кашља. Два месеца од почетка тегоба јавиле су се и хемоптизије због чега је хоспитализован у Клиници за грудну хирургију ВМА. На радиографском снимку плућа регистровани су обострано дифузни хомогени мрљави инфилтрати (слика 1). У току хоспитализације клиничким испитивањем (bronhoskopijom) искључен је малигнитет. Радиографске промене на плућима су се спонтано повукле уз субјективно побољшање стања болесника.

После два месеца хемоптизије су се поново појавиле уз исте субјективне тегобе. Болесник је примљен у Клинику за пулмологију ВМА. У лабораторијским анализама нађене су повишене вредности неспецифичних фактора упале (седиментација 126, фибриноген 6,2, ал-

фа 2 глобулин), анемијски синдром и леукоцитоза (неутрофилија). Први пут се региструје и бубрежна инсуфицијенција (уреа 14,2, креатинин 148) уз патолошки налаз у урину у виду хематурије (доста свежих и бледих еритроцита) и протеинурије (0,272 g/24 h). На плућима радиографски су нађене сличне промене (мрљасте инфилтрације) као и приликом прве хоспитализације. Клиничко лабораторијским испитивањем искључена је туберкулоза и малигно обољење (ARB, Low, цитолошки преглед спутума на малигне ћелије). Прегледом грудног коша компјутеризованом томографијом (КТ) запажена су увећања лимфних чворова медијастинума и масивне неправилне зоне које су одговарале интерстицијском едему (слика 2). Закључено је да се ради о саркоидози и срчаној слабости, па је започета терапија кортикостероидима (метилпреднизолон 160 mg/24 h дванаест дана и 80 mg следећих десет дана, а након тога преднизон 30 mg/24 h). На примењено лечење долази до побољшања општег стања и регресије плућних промена. Међутим, и даље се одржава хиларна и медијастинална аденопатија.



Сл. 1 – Дифузни хомогени мрљасте инфилтрати у плућима обострано



Сл. 2 – КТ грудног коша указује на неправилне зоне које одговарају интерстицијском едему и увећање медијастиналних лимфних жлезда

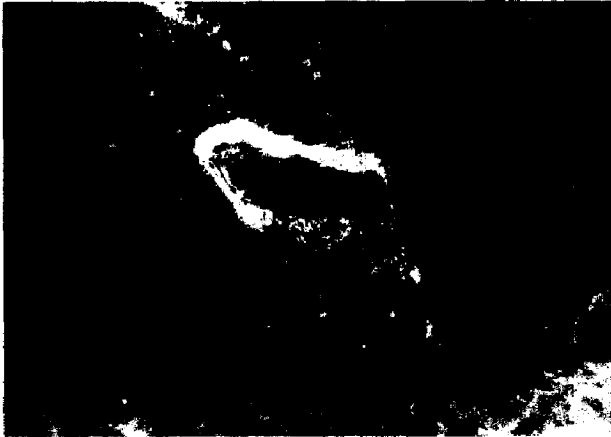
Због хемоптизија болесник је и у наредном периоду још неколико пута хоспитализован у Клиници за плућне болести. С обзиром на то да је у клиничком току прогредирала бубрежна инсуфицијенција, премештен је у Нефролошку клинику ВМА. У учињеним лабораторијским анализама регистровани су и даље повишени неспецифични знаци упале (седиментација 114, с-реактивни протеин 110, фибриноген, алфа 2 глобулин) и прогресија бубрежне инсуфицијенције (уреа 24,1, креатинин 355) уз одржавање патолошког налаза у урину (микроеритроцитурија и протеинурија до 1,47 g/24 h).

Имунолошким испитивањима осим повишених вредности р-ANCA (1:80) остали налаз био је у границама нормале (имуноглобулини, комплемент, имуни комплекси, криоглобулини, с-ANCA). На радиографском снимку плућа виђени су хомогени мрљасте инфилтрати као и приликом претходних хоспитализација. Осталим испитивањима (ехо абдомена, ехо врата са колор доплером крвних судова, ехо срца, гастроскопија) добијени су налази који одговарају животној доби. Електромиографски налаз је указивао на сензомоторну полинеуропатију претежно аксонског типа тежег степена.

Постављена је сумња на системски васкулитис због чега је учињена биопсија бубрега. Светлосном микроскопијом нађен је слабо изражени *crescentic* гломерулонефритис са реналним васкулитисом (слика 3). Имунофлуоресцентном микроскопијом регистровани су IgG, комплекс IgAGM и C3 депозити у деловима зида појединих крвних судова (слика 4). С обзиром на то да су испитивањем искључене лезије горњих респираторних путева, очију и синуса, а имајући у виду висок титар р-ANCA и патохистолошки налаз бубрега постављена је дијагноза микроскопског полиангиитиса. Поред плућа и бубрега, МП је код нашег болесника у свом клиничком току захватио и нервни систем.



Сл. 3 – Сегментна склероза гломерула са појединачном гломеруло-капсуларном прираслицом на уринарном полу (бојење HE, увећање 400x)



Сл. 4 – Депозити IgM, сегментно изражени у зиду ин-тертубуларне артерије (директна IF, анти IgM, увећање 250x)

Лечење је започето стандардном кортикостероидном терапијом (преднизон 60 mg/24 h) и циклофосфамидом (150 mg/24 h), дозама које су биле прилагођене тежини болести и општем стању болесника. Дозе преднизона су постепено смањиване до дозе одржавања од 30 mg/24 h. На примењено лечење долази до побољшања општег стања, побољшања биохемијских анализа и стабиловања бубрежне функције (уреа 17,9, креатинин 242), због чега је отпуштен кући са препоруком за даље лечење уз редовне седмодневне контроле леукоцита.

Међутим, болесник није редовно контролисао леукоците, а петнаест дана пред последњи пријем јавља се температура, кашаљ, а нешто касније и хемоптизије. До пријема болесник је био без антибиотика. У Клинику је дошао у тешком општем стању са клиничким знацима крупозне пнеумоније, а у лабораторијским резултатима нађена је агранулоцитоза. Два дана након пријема и поред интензивне антибиотске терапије дошло је до смртног исхода.

Дискусија

Микроскопски полиангиитис се дефинише као системски некротишући негрануломатозни васкулитис који захвата мале крвне судове (капиларе, венуле, артериоле). Имунолошки га карактерише повећање титра р-ANCA (1). Термин МП предложен је 1992. године у току Chapel Hill Consensus Conference (CHCC) за пулмонално-рениални васкулитисни синдром, који је до тада био познат као микроскопски полиартеритис нодоза. За разлику од полиартеритиса нодоза (ПАН) код њега су све промене искључиво на малим крвним судовима и у истом су стадијуму (2).

Обољење се чешће јавља код мушкараца у старијем животном добу. Код већине оболелих пре постављања дијагнозе, осим опште симптоматологије (повишена температура, слабост, атралгије, миалгије) испо-

љавају се и клинички знаци захватања појединих органа и система (бубрега, плућа, коже, нервног система).

Један од главних критеријума за дијагнозу је оштећење бубрега. Јавља се у почетном стадијуму болести, а заступљено је код 78,8% болесника (3). Лезија бубрега брзо прогредира и клинички иде као и код нашег болесника под сликом рапидно-прогресивног гломерулонефритиса (РПГН). У основи ове клиничке слике лежи фокално сегментни некротишући гломерулонефритис који, ако се не лечи, брзо прелази у *crescentic* гломерулонефритис. У налазу имунофлуоресцентном микроскопијом најчешће је присутан фибриноген, док често недостају или су веома оскудни депозити IgG, IgM и комплемента у зидовима крвних судова и мезангијуму, као што је запажено и код нашег болесника. Ове промене на малим крвним судовима се описују као леукоцитокластички васкулитис (3). Група јапанских аутора је у студији рађеној *post mortem* код болесника са микроскопским полиангиитисом запазила карактеристична микроанеуризматска проширења на интерлобуларним артеријама (4).

Код МП оштећење плућа је најчешће у виду хеморагија и лезија алвеоларних зидова, а запажа се код 12-36,5% болесника и веома је значајан фактор морталитета (1, 3, 5, 6).

У склопу пулмоналног васкулитиса код неких болесника клинички, радиографски и функционално се промене манифестују као интерстицијске лезије које имитирају идиопатску плућну фиброзу (1, 7, 8).

Код нашег болесника, за разлику од типичне клиничке слике МП, обољење се у почетку испољило симптомима од стране респираторног тракта у виду масивних хемоптизија са респираторном инсуфицијенцијом. Оштећење бубрега клинички се манифестовало нешто касније и имало је у почетку спорију прогресију. Тек у каснијем току ишло је под клиничком сликом РПГН.

Код МП је у високом проценту (48,2–72%) захваћен и коштаном-мишићном систем (миалгије, атралгије, артритиси), а описују се и случајеви у којима је полиартеритис био прва манифестација МП (3, 9).

Миалгије су биле једина манифестација захваћености овог система код нашег болесника.

Коже лезије (пурпура, тачкаста крварења) јављају се, такође, у високом проценту, а њихова учесталост се креће од 44% до 62,4% (1, 3, 10). Код 32%–58% болесника МП може захватити и гастроинтестинални тракт. Једна од најчешћих клиничких манифестација лезије гастроинтестиналног тракта је крварење које се јавља у 29% случајева (1). Описан је и акутни улцеративни јејунитис као прва клиничка манифестација обољења (11).

У односу на ПАН, периферна неуропатија је запажена у мањем проценту и њена учесталост се креће од 14% до 57,6% (1, 3, 12, 13). Она је била једна од доминантних клиничких манифестација код нашег боле-

сника. Микроскопски полиангитис може захватити и ЦНС, доводећи до мултиплих церебралних инфаркта (12). Забележен је веома редак случај васкулитиса ЦНС-а који је због психијатријског поремећаја у почетку лечен као шизофренија (14).

Оштећења ува, грла, носа и очију у оквиру МП су нешто чешћа у односу на ПАН (1, 15–17).

За дијагнозу МП један од најважнијих критеријума је налаз ANCA. Та антитела су повишена у скоро 80% случајева МП (18). Као и код нашег болесника, у највећем проценту се налазе p-ANCA, а много ређе c-ANCA (1, 3). За разлику од МП код Вегенерове болести c-ANCA се налази у 95% случајева, мада се у мањем титру могу запазити и p-ANCA. Поред клиничке слике, ова два типа ANCA су најзначајнији имунолошки параметри у диференцијалној дијагнози између Вегенерове болести и МП (19, 20).

Поред дијагностичке вредности, ANCA имају велики значај као параметар за процену одговора на примењено лечење и у процени активности обољења (21, 22). Ово потврђује и пример нашег болесника код кога је након примене терапије и клиничког побољшања запажен и пад титра p-ANCA.

Прогноза код системских васкулитиса измењена је увођењем имunosупресивних лекова у лечење. Лекови избора су кортикостероиди и цитостатици, а пре свих циклофосфамид.

Најприхваћенија је схема по Fauci-ју према којој се иницијално даје преднизон 1 mg/kg т.м. дневно по 1–2 недеље, након тога се доза постепено смањује до дозе одржавања од 20mg дневно 6–12 месеци. Почетна доза циклофосфамида зависи од тежине болести и степена бубрежне инсуфицијенције (од 1 до 3 mg/kg т.м. дневно). Након клиничке ремисије доза се смањује за 25 mg сваких 2–3 месеца. Код болесника са тежим обликом обољења неопходне су веће дозе преднизона (2 mg/kg т.м. дневно) и циклофосфамида (4 до 5 mg/kg т.м. дневно) (23). С обзиром на велику заступљеност узнапредовале бубрежне болести и великог броја релапса у МП код већине болесника је потребно дуготрајно лечење кортикостероидима и цитостатикима (1). Због тога је већа учесталост компликација у виду инфекције, хеморагијског циститиса, карцинома мокраћне бешике, плућне фиброзе, па су потребне чешће лабораторијско-клиничке контроле ових болесника (8).

Ради смањења компликација изванредно број аутора уместо континуиране пероралне терапије користи пулсне дозе циклофосфамида или метотрексата. Међутим, добри резултати забележени су само у блажим формама болести (24, 25).

Добар ефекат лечења и смањен проценат компликација постигнут је комбинацијом кортикостероида и азатиоприна (13).

У тежим формама болести добри резултати постигнути су лечењем кортикостероидима и циклофосфамидом у трајању од 6 до 12 месеци, након чега је ци-

клофосфамид замењен азатиоприном у дози од 1 до 2 mg/kg т.м. дневно (13).

Поједини аутори заступају мишљење да у случајевима који не реагују на стандардну терапију изванредно успех се може постићи и високим дозама интравенских имуноглобулина (IVIg) или моноклонским антителима против CD4, CDW52 молекула. Ови резултати су предмет полемика, па захтевају даља испитивања (24, 26–28).

У новије време покушано је са применом циклоспорина јер се сматра да би он био успешан у спречавању релапса и бубрежног оштећења. Група аутора је након започетог лечења кортикостероидима и циклофосфамидом у трајању од 6 месеци након постигнуте ремисије после 3 месеца смањила дозу циклофосфамида за 75% почетне дозе, а следећа 3 месеца на 50% и уводила циклоспорин са циљаним концентрацијама у серуму од 60 до 90 ng/ml. Постигнути резултати су били добри, тако да од 7 болесника ниједан није имао релапс (29).

Немачки аутори су описали примену микофенолат мофетила (ММ) и малих доза кортикостероида, који су примењивани 15 месеци након стандардне терапије и настанка ремисије. С обзиром на то да су резултати били задовољавајући сматра се да је ММ у комбинацији са малим дозама кортикостероида ефикасан и мање токсичан модалитет лечења (30).

Имајући у виду различите модалитете лечења, који још увек нису клинички довољно испитани, одлучили смо да применимо стандардну терапијску схему уз прилагођавање доза годинама живота болесника. Под овом терапијом болесник је уведен у ремисију. Међутим, није се редовно контролисао, због чега благовремено није дијагностикована једна од компликација имunosупресивне терапије – леукопенија, односно агранулоцитоза. Изостанак корекције имunosупресивне терапије, као и лечење настале респираторне инфекције – бронхопнеумоније довело је до развоја кардиореспираторне инсуфицијенције.

Пример нашег болесника потврђује да је важан елемент успешног лечења дисциплинованост болесника у спровођењу протокола лечења и редовне контроле ради благовременог реаговања у случају појаве компликација.

Закључак

Приказали смо случај микроскопског полиангитиса, веома ретког и озбиљног обољења, чија дијагностика захтева опсежна испитивања ради разликовања од других сличних ANCA позитивних васкулитиса. Овај случај указује на значај одређивања типа ANCA код болесника са ренално - пулмоналним синдромом. Такође напомињемо и значај дисциплинованости болесника у строгом придржавању терапијског протокола и редовних лабораторијско-клиничких контрола.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lhote F, Cohen P, Genereau T, Gayraud M, Guillevin L.* Microscopic polyangiitis: clinical aspects and treatment. *Ann Med Interne (Paris)* 1996; 147: 165–77.
2. *Bruce IN, Bell AL.* A comparison of two nomenclature systems for primary systemic vasculitis. *Br J Rheumatol* 1997; 36: 453–8.
3. *Guillevin L, Durand-Gasselin B, Cevallos R, Gayraud M, Lhote F, Callard P, et al.* Microscopic polyangiitis: clinical and laboratory findings in eighty-five patients. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 421–30.
4. *Inoue M, Akikusa B, Masuda Y, Kondo Z.* Demonstration of microaneurysms at the interlobular arteries of the kidneys in microscopic polyangiitis: a three-dimensional study. *Hum Pathol* 1998; 29: 223–7.
5. *Niho S, Yokota Y, Takemoto T, Fujitaka K, Yamakido M.* [Two patients with pulmonary hemorrhage associated with myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1997; 35: 111–6.
6. *Gaudin PB, Askin FB, Falk RJ, Jennette JC.* The pathologic spectrum of pulmonary lesions in patients with anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies specific for anti-proteinase 3 and anti-myeloperoxidase. *Am J Clin Pathol* 1995; 104: 7–16.
7. *Becker Merok A, Nossent JC, Ritland N.* Fibrosing alveolitis predating microscopic polyangiitis. *Scand J Rheumatol* 1999; 28: 254–6.
8. *Kishikawa H, Tojima H, Tokudome T.* [Microscopic polyangiitis and pulmonary fibrosis in patient who died of Candida pneumonia and intra-alveolar hemorrhage]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1997; 35: 915–20.
9. *Pizzuti P, Kemiche F, Pertuiset E.* Polyarthritis with perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody inaugurating microscopic polyangiitis. Report of a case. *Rev Rhum Engl Ed* 1997; 64: 342–4.
10. *Irvine AD, Bruce IN, Walsh MY, Bingham EA.* Microscopic polyangiitis. Delineation of a cutaneous-limitid variant associated with antimyeloperoxidase autoantibody. *Arch Dermatol* 1997; 133: 474–7.
11. *Radaelli F, Meucci G, Spinzi G, Terruzzi V, Imperiali G, Lenoci N.* Acute self-limiting jejunitis as the first manifestation of microscopic polyangiitis associated with Sjogrens disease: report of one case and review of the literature. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 931–4.
12. *Sasaki A, Hirato J, Nakazato Y, Tanaka T, Takeuchi H.* [An autopsy case of P-ANCA- positive microscopic polyangiitis with multiple cerebral hemorrhagic infarction]. *No To Shinkei* 1998; 50: 56–60.
13. *Tanaka H, Yuki N, Ohnishi A, Hirata K.* [A case of polyneuropathy by microscopic polyarteritis nodosa]. *No To Shinkei* 1998; 50: 1107–11.
14. *Askari A, Saadeh A, Buheis NI.* Microscopic polyangiitis presenting as schizophrenia. *Rheumatol Int* 1999; 18: 215–7.
15. *Messmer EM, Foster CS.* Vasculitic peripheral ulcerative keratitis. *Surv Ophthalmol* 1999; 43: 379–96.
16. *Caster JC, Schettlar DJ, Pappolla MA, Yee RW.* Microscopic polyangiitis with ocular involvement. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 346–8.
17. *Koseki Y, Suwa A, Nojima T, Ishiyama K, Nakajima A, Tanabe M, et al.* [A case of microscopic polyangiitis accompanied by hearing loss as the initial sign of the disease]. *Ryuimachi* 1997; 37: 804–9.
18. *Mouthon L.* Traitement des vascularites systemiques ANCA positives par les immunoglobulines intraveineuses. *Rev Med Interne* 1999; 20 Suppl 4: 431s–435s.
19. *De Bandt M.* [ANCA (antineutrophil cytoplasmic antibodies). Contribution of ANCA to the understanding of pathogenic mechanisms of systemic vasculitis]. *Ann Med Interne (Paris)* 1997; 148: 542–62.
20. *Csernok E, Nuller A, Gross WL.* Immunopathology of ANCA-associated vasculitis. *Intern Med* 1999; 38: 759–65.
21. *Kyndt X, Reumaux D, Bridoux F, Tribout B, Bataille P, Hachuela E, et al.* Serial measurements of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with systemic vasculitis. *Am J Med* 1999; 106: 527–33.
22. *De Oliviera J, Gaskin G, Dash A, Rees AJ, Pusey CD.* Relationship between disease activity and anti-neutrophil cytoplasmic antibody concentration in long-term management of systemic vasculitis. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 380–9.
23. *Gaskin G, Pusey CD.* Systemic vasculitis. In: *Davison AM, Cameron JS, Grunfeld JP, Kerr DN, Ritz E, Winearls CG, editors.* Oxford textbook of clinical nephrology. Oxford: Oxford University Press; 1998. p. 877–910.
24. *Reinhold-Keller E, Tatsis E, Gross WL.* [ANCA-associated vasculitis (Wegener's granulomatosis, Churg Strauss syndrome, microscopic polyangiitis). 3. Therapeutic procedure]. *Z Rheumatol* 1995; 54: 303–9.
25. *Nachman PH, Hogan SL, Jennette JC, Falk RJ.* Treatment response and relapse in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated microscopic polyangiitis and glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 33–9.
26. *Gross WL.* Systemic necrotizing vasculitis. *Bailliers Clin Rheumatol* 1997; 11: 259–84.

27. *Jayne DR, Lockwood CM.* Intravenous immunoglobulin as sole therapy for systemic vasculitis. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 1150–3.
28. *Guillevin L, Cevallos R, Durand-Gasselín B, Lhote F, Jarrousse B, Callard P.* Treatment of glomerulonephritis in microscopic polyangiitis and Churg-Strauss syndrome. Indications of plasma exchanges, Meta-analysis of 2 randomized studies on 140 patients, 32 with glomerulonephritis. *Ann Med Interne Paris* 1997; 148(3): 198–204.
29. *Haubitz M, Koch KM, Brunkhorst R.* Cyclosporin for the prevention of disease reactivation in relapsing ANCA-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2074–6.
30. *Norwack R, Gobel U, Klooker P, Hergesell O, Andrassy K, van der Woude FJ.* Mycophenolate mofetil for maintenance therapy of Wegeners granulomatosis and microscopic polyangiitis: a pilot study in 11 patients with renal involvement. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1965–71.

Рад је примљен 21. XII 2000. год.

Abstract

Rabrenović V, Kovačević Z, Jovanović D, Rabrenović M, Dimitrijević J, Škatorić V, Popović D, Abugras S. *Vojnosanit Pregl* 2001; 58(3): 323–328.

MICROSCOPIC POLYANGIITIS

Microscopic polyangiitis is a very rare disease characterized by the lesions of arterioles, venules and capillaries—mainly of the kidneys and lungs, but also of other systems and organs. The elevated titer of anti-myeloperoxidase ANCA is very important immunological indicator. The main changes in our patient were related to the lung bleeding and rapidly progressive glomerulonephritis. The treatment has started according to the standard Fauci scheme adjusted to the level of disease severity and the age of patient (prednisone 60 mg/24 h, along with the gradual dosage decrease, cyclophosphamide 150 mg/24 h) and has led to the clinical-laboratory remission. The patient had the leukocyte values irregularly controlled during the immunosuppressive therapy and agranulocytosis thus caused was not spotted in time, leading to the inadequate treatment of pneumonia that brought on the lethal outcome.

Key words: vasculitis; hemoptysis; kidney failure; glomerulonephritis; prednisone; cyclophosphamide.