

Minimální požadavky na diagnostický postup pro detekci amyloidu v rámci systémových amyloidóz

Eva Honsová

(eva.honsova@ikem.cz)

*Komentář s vysvětlením technické části diagnózy, včetně rizik barvení Kongo červení, polarizace a limitace dalších typů vyšetření (detekce amyloidu z tukové tkáně, ELMI, hmotnostní spektrometrie atd.) jsou zahrnuty v samostatném textu přílohy (**Doporučený postup pro dg. systémových amyloidóz**).*

Diagnóza amyloidózy s určením typu amyloidu patří v histopatologii k velmi komplikovaným diagnózám. Základním problémem je fakt, že amyloid v depozitech není tvořený pouze fibrilární komponentou vlastního amyloidu, ale vždy obsahuje další komponenty a v různém rozsahu „průsaky“ sérových proteinů. To sebou nese technické problémy a limitace v hodnocení různých diagnostických postupů/metod (viz komentář).

Detekce amyloidu:

Průkaz amyloidu je proces o několika krocích.

1. Prvním z nich je nutnost prokázat, že v depozitech je opravdu amyloid. Zlatým standardem je **barvení Kongo červení** (pozor: řez o síle 4-5 μ m nebo silnější).
2. Použití **polarizace**, s rozpoznáním anomálních barev event. se zeleným dvojlomem (viz komentář).
3. Následujícím krokem by měla být **další metoda** k verifikaci depozit amyloidu (Kongo v imunofluorescenci, thioflavin event. modifikace barvení saturnovou červení).

Určení typu amyloidu:

Role patologa nekončí s diagnózou amyloidózy, cílem a nezbytným předpokladem pro léčbu je **určení typu amyloidu**. V mnoha studiích bylo opakovaně publikováno, že antigenní místa jsou významně alterována během fixace a následného rutinního parafinového zpracování. A protože z mnoha dalších důvodů dosud neexistují komerčně dostupné protilátky proti

lehkým řetězcům, které by se daly spolehlivě použít v parafinu (viz komentář), je nejspolehlivější metodou detekce systémových amyloidóz imunofluorescence.

4. Imunofluorescenční vyšetření dokáže zpracovat jakékoli tkáň, včetně tuku, endoskopických biopsií z GIT či myokardu. Literárně je doloženo, že tato technika spolehlivě identifikuje 90% amyloidóz v běžné nefropatologické praxi.

5. Další možnosti směřované k určení typu amyloidu jsou součástí komentáře.

Algoritmus vyšetření a schéma diagnostiky nejčastějších systémových amyloidóz je součástí Doporučeného postupu pro dg. systémových amyloidóz.

7 pravidel pro diagnostiku amyloidu/amyloidózy

1. Diagnóza amyloidózy s určením typu amyloidu není jednoduchá záležitost, i když je v rukou zkušeného patologa s velmi dobrým laboratorním zázemím.
2. Barvení Kongo červení by se mělo provádět vždy s kontrolou.
3. Detekce amyloidu je nejcitlivější při prohlížení preparátu obarveného Kongo červení ve fluorescenci.
4. Při detekci malých depozit je nezbytné použít při hodnocení všech dostupných metod: Kongo červen v normálním světle, Kongo červen v IF spolu s další podpůrnou metodou (např. thioflavin).
5. Tam, kde je klinická suspekce na amyloid, nelze z jednoho řezu amyloid vyloučit. Hodnotit by se mělo nejméně 10 řezů.
6. Hodnocení by měl provádět zkušený patolog s odpovídajícím vybavením (kvalitní mikroskop, polarizace s rotací, v temné místnosti). *Nefropatologové jsou nejčastějšími diagnostiky amyloidózy; mají vybavení a zkušenosti s technikami (polarizace, imunofluorescence) a jsou proto nejvhodnějšími kandidáty pro vyšetřování takových případů.*
7. Chirurgická biopsie kostičky tukové tkáně umožňuje dg. amyloidu s větší jistotou než aspirát tukové tkáně.

Doporučený postup pro diagnostiku systémových amyloidóz

Komentář

Eva Honsová

(eva.honsova@ikem.cz)

doc. MUDr. Eva Honsová, PhD.

Pracoviště Klinické a transplantační patologie

Transplantcentrum IKEM

Podpořeno MZ ČR – RVO („Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IČ 00023001“)

Diagnóza amyloidózy s určením typu amyloidu patří v histopatologii k velmi komplikovaným diagnózám. Je tomu tak proto, že depozita jsou v barvení hematoxylinem-eosinem (H&E) homogenní a eozinofilní (tj. růžová) jako všechny běžné proteiny. Onemocnění s depozity proteinů v cévách jsou velmi častá (především hypertenze a diabetes mellitus) a depozita u těchto chorob sdílí s amyloidem nejen stejnou morfologii v H&E, ale i lokalizaci v cévách. Drobná depozita amyloidu na začátku onemocnění jsou proto v rutinně barvených preparátech (bez použití speciálních metod) neidentifikovatelná. Dalším problémem je fakt, že amyloid v depozitech není tvořený pouze fibrilární komponentou vlastního amyloidu, ale vždy obsahuje další komponenty a v různém rozsahu „průsaky“ sérových proteinů. To sebou nese technické problémy a limitace v hodnocení různých diagnostických postupů/metod.

1. Diagnostické standardy a technické předpoklady vyšetření

1a. Barvení Kongo červení

Diagnostickým standardem je průkaz amyloidu Kongo červení s následným barevným dvojlomem v polarizovaném světle. Technika barvení je známá od r. 1922 a nese si znamení doby, kdy vznikla. Barvení Kongo červení a jeho různé modifikace používají v posledním kroku „odmytí přebytečného barviva“. Klasická metoda barvení Kongo červení provádí tzv. diferenciaci, tj. situace kdy se přebytečné barvivo z řezů odmyvá a okem se kontroluje, jestli ho zbývá v preparátu dostatečné množství. Různé modifikace barvení Kongo červení se liší jen tím, že odmyvají přebytečné barvivo po pevně stanovenou dobu (např. Stokesova modifikace). Z toho je zřejmé, že metoda je laborantka dependentní a výsledek není a ani nemůže být vždy standardní. Navíc Kongo červení není vhodnou metodou průkazu amyloidu na dnes běžně krájených velmi tenkých řezech (2-3 μ m); Kongo potřebuje řez daleko silnější

nejméně 5 a více μm . Proto prakticky každá laboratoř, která má s diagnostikou amyloidu zkušenosti, používá ještě některý z dalších průkazů k ověření/podpoře diagnózy (thioflavin, Kongo s fluorescencí, saturnová červeň, patří mezi nejčastější).

Opatrnosti je třeba zvl. v lokalitách s přítomností kolagenu (endomyokardiální biopsie), protože Kongo červeň s kolagenem interferuje a navíc kolagen vykazuje dvojlom v polarizovaném světle (s bílou barvou).

Barvení Kongo červení by se mělo provádět vždy s pozitivní kontrolou (pozitivní kontrolou jsou také eozinofily ve vzorku).

Použití thioflavinu má výhodu v jednoduché technice provedení, interpretace pozitivního výsledku je daleko jednodušší než u Kongo červeně. Nevýhodou je, že barvení není trvanlivé a pozitivní není jen amyloid.

1b. Polarizace Kongo červeně a barevný/zelený dvojlom v polarizovaném světle

Správný postup při polarizaci též není jednoduchou záležitostí a kromě jiného je závislý na technickém vybavení mikroskopu (s možností rotace polarizátoru nebo analyzátoru).

Fyzikálně optické vlastnosti Kongo červeně a jejího použití při detekci amyloidu jsou nad rámec tohoto textu a jejich vysvětlení (včetně principu polarizační mikroskopie, spolu s hodnocením absorpce vlnových délek a přechodů barev, a z toho vyplývajícími požadavky na rotaci) jsou součástí několika článků A. Howie (1, 2).

Pro patologa je důležité vědět, že *zelená barva v polarizaci není absolutním požadavkem diagnózy amyloidu*. Čistě zelená barva je naopak velmi výjimečná. Normálně patolog identifikuje 2 a více barev, často žlutou se zelenou a modrou se zelenou. Pokud je vidět více než jedna barva, obvykle změní svoji pozici během rotace polarizátoru nebo analyzátoru. Barvy přecházejí od oranžově-žluté, přes červenou, žlutozelenou, po zelenou a modrou. Celé toto spektrum je součástí diagnózy a tyto tzv. anomální barvy jsou pro diagnózu amyloidu typické. Tzv. „apple green“ je vidět pouze v ideálním stavu a v praxi je daleko častější žlutá-zelená, modrá-zelená nebo jen kombinace žluté a modré.

(Terminologická poznámka: Dichroismus i dvojlom jsou optické vlastnosti a nemají barvu, i když bychom akceptovali, že termíny jsou používány neformálně, dichroismus nemůže být zelený, protože v polarizaci vůbec vidět není).

1c. Určení typu amyloidu

Role patologa nekončí s diagnózou amyloidózy, cílem a nezbytným předpokladem pro léčbu je **určení typu amyloidu**. Používané techniky využívají reakce protilátky proti antigenu,

v českém písemnictví se termín imunohistochemie používá pro metody prováděné ve formolem fixovaném, do parafinu zalitém vzorku, zatímco imunofluorescence je v principu podobná technika, která se provádí ze vzorku zmraženého, bez fixace. K terminologickému chaosu přispívá to, že angličtina používá termín „immunohistochemistry“ jako nadřazený termín, pod kterým je často začleněna i imunofluorescence.

V mnoha studiích bylo opakovaně publikováno, že antigenní místa jsou významně alterována během fixace a následného rutinního parafinového zpracování. Mezi různými typy amyloidu se to týká hlavně detekce AL amyloidózy, kde je ještě třeba brát do úvahy, že lehké řetězce jsou extrémně variabilní a komerčně vyráběné protilátky jsou namířené proti konstantním doménám; proto dosud neexistují komerčně dostupné protilátky, které by spolehlivě detekovaly lambda nebo kappa řetězce amyloidu v parafinových řezech. Kromě výše zmíněného se na problémech s detekcí podílí i fakt, že lehké řetězce jsou běžně součástí bílkovin séra a že musí být v průběhu technické části vyšetření (před vlastním hodnocením) z tkáně odstraněny. V parafinových řezech natrávením; pokud se to zcela nepodaří, vytváří se „nespecifický“ pozitivní výsledek, který může vést k tragickým diagnostickým omylům. Na rozdíl od těchto technik, ve zmraženém nativním materiálu se tyto proteiny z tkáně lehce odstraní prostým vymytím. Není tedy překvapením, že mnoho protilátek funguje nesrovnatelně lépe (nebo jenom) při detekci v nativní tj. nefixované zmrazené tkáni. Proto je pro úspěšnou typizaci amyloidu daleko výhodnější imunofluorescenční detekce (ze zmražené nefixované tkáně), která má ještě tu výhodu, že je velmi rychlá a výsledek může být znám během 2-3hodin. Použití fluorescence znamená *organizační změnu v odběru a transportu vzorku*. Tkáň nesmí oschnout, položí se a zabalí se do mulu namočeného ve fyziologickém roztoku, a pokud není možný okamžitý transport, uloží se do lednice nebo do chladicí tašky. Doprava do laboratoře na patologii by měla být do 1-2hod. Tkáň se před transportem nezmrazuje! Imunofluorescenční vyšetření dokáže zpracovat jakékoli tkáň, včetně tuku, endoskopických biopsií z GIT či myokardu. Literárně je doloženo, že tato technika spolehlivě identifikuje 90% amyloidóz v běžné nefropatologické praxi (3,4,5).

Podle **lokalizace a rozložení depozit** nelze určit, o jaký typ systémové amyloidózy se jedná. Výjimkou je pouze amyloidóza při defektu řetězce fibrinogenu A α , při které jsou masivní depozita v glomerulech a přitom nejsou postiženy arterioly ani jiné extraglomerulární cévy. Protože takové rozložení depozit se u AA ani AL amyloidu nevyskytuje, lze v těchto případech na základě morfologie vyslovit vysokou suspekci na typ amyloidu. Diagnózu je nutné potvrdit

imunofluorescenční nebo imunohistochemickou detekcí a následným genetickým vyšetřením.

1d) Detekce amyloidu v elektronové mikroskopii

V **elektronové mikroskopii (EM)** jsou všechny typy amyloidu stejné, jde o nevětvené fibrily, kterou svoji tloušťkou odpovídají fibrilám cytoskeletu podocytů (8-12nm). V několika laboratořích na světě se k identifikaci typu depozit používá tzv. imunoEM. Jde o techniku, která využívá výhod imunohistochemie (zde značení zlatem) a elektronové mikroskopie dohromady. Imuno-EM umožňuje vidět označené antigeny přesně v jejich lokalizaci (v depozitech, ve fibrilách). Jde o velmi náročnou techniku, která vyžaduje jiný typ fixace a jiný typ zalévacích pryskyřic než se běžně používá a proto je její využití v praxi velmi limitované. Diferenciální diagnostika onemocnění s fibrilárními depozity zahrnuje mnoho kategorií včetně diabetu, fibrilární glomerulopatie a dalších jednotek a je součástí specializace v nefropatologii.

1e) Využití biopsie tukové tkáně v diagnostice amyloidu.

Přibližně sto let je známo, že AA amyloidóza pravidelně postihuje i tukovou tkáň v podkoží. Později se ukázalo, že ve stejné lokalitě jsou depozita i u AL a TTR amyloidózy. To vedlo ke snahám využít v diagnostice snadno dostupnou tukovou tkáň. Postupy, které lze použít, jsou v podstatě dva; jedním z nich je aspirace tukové tkáně a druhým je biopsie malé kostičky o hraně cca 10milimetrů. Volba víceméně záleží na místních zvyklostech. Pro aspiraci je důležité použít jehlu „16-gauge“ a získat více než 100mg tkáně. Senzitivita diagnózy amyloidu se u vyšetření aspirátu pohybovala v různých studiích od 50-90%. Použití *kostky tukové tkáně* je pro patologa *daleko jednodušší*, protože se vzorkem nakládá jako s každým jiným bioptickým materiálem. Vzorek lze rozdělit, polovinu do fluorescence a druhou část do parafinu pro standardní detekci Kongo červení. Hodnocení má oproti aspirátu mnoho výhod, poskytuje totiž strukturální přehled v tkáni a patolog identifikuje nejen depozita amyloidu, ale i jejich lokalizaci, což nemalou měrou přispívá k větší diagnostické jistotě (6). Současně lze z bloku provést více řezů (nejméně by mělo být 10) a tím zvýšit záchyt drobných depozit amyloidu. Navíc na rozdíl od bloku, v aspirátu nelze spolehlivě provést další imunofluorescenční ani imunohistochemické vyšetření. Na druhé straně aspiraci lze snadno opakovat a získaný vzorek lze potom použít na jiné techniky (nyní převážně v rámci výzkumných aktivit; imunochemická analýza: měření koncentrace amyloidogenních proteinů

ELISOU s komerčně dostupným kitem, natrávení tuku a použití extraktu pro hmotnostní spektrometrii).

Pozor je třeba dávat v případech s nodulárně formovanými depozity (to nejde v aspirátu spolehlivě posoudit), protože tato depozita mohou představovat iatrogenní ložiska amyloidu v místech aplikace inzulínu u pacientů s diabetem.

2. Algoritmus vyšetření

V procesu diagnostiky amyloidu/amyloidózy nastávají obvykle 2 situace.

2a. Klinik poslal biopsii standardní cestou ve formolu a v bioptickém vzorku je zjištěna amyloidóza „náhodně“.

Provedena je verifikace amyloidu Kongo červení s polarizací (viz 1a, 1b). Doporučujeme verifikovat depozita ještě další metodou např. lze preparát obarvený Kongo červení vložit do imunofluorescenčního světla (vyšetřit stejně jako preparáty pro imunofluorescenci), což velmi zvýší diagnostickou výtěžnost a odhalí i malá depozita, která jsou jinak v běžném světle diagnosticky nejistá. Současně lze použít i barvení saturnovou červení (v modifikaci, která nebarví vazivo). Diagnostickou výhodou je to, že na rozdíl od barvení Kongo červení, v této modifikaci saturnová červeň neinterferuje s kolagenem, tj. nebarví vůbec vazivo ani svalovinu. Další výhodou je to, že ho lze použít i na tenkých (běžně krájených) řezech. Určení přesného typu amyloidu z tkáně v parafinových blocích představuje problém zvl., pokud používáme komerčně dostupné protilátky (centra, která ukazují úspěšnou detekci typu amyloidu z parafinu, si obvykle produkují vlastní protilátky, především lehké řetězce). V parafinu spolehlivě fungují protilátky proti AA amyloidu, obvykle fungují proti transthyretinu a řetězci fibrinogenu A α . Velmi nespolehlivé jsou výsledky s komerčně dostupnými protilátkami proti lehkým řetězcům kappa, lambda.

Na základě výsledků provedených průkazů je formulován text diagnostického závěru:

a) je-li výsledkem jasná IH pozitivita AA v depozitech, stojí v závěru:

Závěr:

Amyloidóza velmi pravděpodobně typu AA:

Neodpovídá-li typ amyloidu klinickému průběhu, zvažte prosím imunofluorescenční vyšetření, pro které je nezbytné zaslat vzorek nefixované tkáně (tj. bez formolu). Podle klinického stavu lze v IF vyšetřit tuk, biopsii GIT atd.

b) je-li IH průkaz AA negativní, stojí v závěru:

Amyloidosa nejistého zařazení (v imunohistochemickém vyšetření je AA negativní).

K přesnému zařazení typu amyloidu je nezbytné vyšetřit vzorek nefixované tkáně (dle klinického obrazu např. tuk, event. biopsii GIT).

c) endomyokardiální biopsie by měly být vyšetřeny IF a IH.

Pozitivita transthyretinu pouze v IH průkazu v parafinu by měla být posuzována velmi opatrně (průsaky sérových proteinů). Protože postižení myokardu při AL amyloidóze je běžné, vždy by měla být spolehlivě vyloučena dg. AL amyloidózy.

2b) klinik poslal nefixovanou tkáň

Se vzorkem pracujeme jako s peroperační biopsií, je zmražen nakrájen a je provedena imunofluorescenční detekce AA, kappa, lambda, transthyretinu event. použijeme další protilátky detekující vzácné typy amyloidóz (fibrinogen A α , leukocyt chemotaktický faktor² apod.). Vyšetření je rychlé, relativně levné a v rukou pracovišť, kde s IF běžně pracují, je i technicky nepřilíš náročné. Jeho hodnocení vyžaduje, stejně jako v jiných oblastech hodnocení, zkušenost.

a) Pokud **souhlasí oba průkazy (IF i IH) pro AA amyloid**, stojí v závěru:

AA amyloidóza a k tomu je specifikován rozsah postižení.

b) Je-li **v IF pozitivní průkaz lambda nebo kappa (s restrikcí řetězce) a negativní AA**; jde o: *AL amyloid.*

Nepřesvědčivé výsledky by měly být dále specifikovány, především doplněním spektra dalších protilátek.

3. Další možnosti určení typu amyloidu

Další možností je **konzultace** v zahraničí, event. **využití metod laserové mikrodisekce a hmotnostní spektrometrie**. Hmotnostní spektrometrie se zdá být metodou budoucnosti a má nezaměnitelné místo při detekci nových forem/typů amyloidů, proti kterým nejsou protilátky. V současnosti je problémem, že i tato metoda neidentifikuje fibrilu amyloidu, ale proteiny tkáňového extraktu. Proto si sebou nese stejná rizika nejistého výsledku jako metody předchozí. Navíc pro hmotnostní spektrometrii je třeba zachytit poměrně velká depozita amyloidu. Na druhé straně, aby byla léčba úspěšná, je z klinického pohledu nezbytné diagnostikovat onemocnění co nejdříve, tj. v době kdy depozita jsou velmi malá a

svým rozložením v tkáni ojedinělá. To limituje i využití hmotnostní spektrometrie v tukové tkáni, protože onemocnění s minimálními depozity např. v ledvině, obvykle ještě nebudou mít postiženou tukovou tkáň podkoží.

Multicentrová studie zaměřená na určení typu amyloidu hmotnostní spektrometrií, uvádí, že pouze v 37-55% případů bylo možné specifikovat typ amyloidu touto metodou (7).

K přesné identifikaci nejběžnějších typů systémových amyloidóz je nejučinnější využití imunofluorescenční detekce.

Protože systémové amyloidózy často postihují ledviny a způsobují proteinurii, což je indikací k provedení biopsie ledvin, jsou nefropatologové nejčastějšími diagnostiky systémových amyloidóz. Mají zkušenosti s imunofluorescencí (v laboratoři i s vyhodnocením) a současně mají i potřebné vybavení (fluorescenční mikroskop, odpovídající polarizaci, elektronový mikroskop), je tedy logické, že většina center pro diagnostiku amyloidu bývá součástí nefropatologických pracovišť.

ZÁVĚR:

Diagnóza amyloidózy s určením typu amyloidu není jednoduchá záležitost, i když je v rukou zkušeného patologa s velmi dobrým laboratorním zázemím.

Barvení Kongo červení by se mělo provádět vždy s kontrolou.

Detekce amyloidu je nejcitlivější při prohlížení preparátu obarveného Kongo červení ve fluorescenci.

Při detekci malých depozit je nezbytné použít při hodnocení všech dostupných metod: Kongo červen v normálním světle, Kongo červen v IF spolu s další podpůrnou metodou (např. thioflavin).

Tam, kde je klinická suspekce na amyloid, nelze z jednoho řezu amyloid vyloučit. Hodnotit by se mělo nejméně 10 řezů.

Hodnocení by měl provádět zkušený patolog s odpovídajícím vybavením (kvalitní mikroskop, polarizace s rotací, v temné místnosti).

Chirurgická biopsie kostičky tukové tkáně umožňuje dg. amyloidu s větší jistotou než aspirát tukové tkáně (8,9)

Nefropatologové jsou nejčastějšími diagnostiky amyloidózy; mají vybavení a zkušenosti s technikami (polarizace, imunofluorescence) a jsou proto nejvhodnějšími kandidáty pro vyšetřování takových případů.

Literatura:

1. Howie A, Brewer DB. Optical properties of amyloid stained by Congo red: history and mechanisms. *Micron*.2009; 40:285-301.
2. Howie A, Owen-Casey MP. Discrepancies between descriptions and illustrations of colours in Congo red-stained amyloid, and explanation of discrepant colours. *Amyloid* 2010; 17:109-117.
3. Murphy C Larsen C, Solomon A. Leukocyte chemotactic factor 2 (LECT2)-associated renal amyloidosis. *Amyloid*. 2011; 18 Suppl 1:223-225.
4. von Hutten H, Mihatsch M, Röcken C. Prevalence and origin of amyloid in kidney biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2009; 33(8):1198-205.
5. Bauerová L, Honsová E, Rysavá R. Systémové amyloidózy v biopsiích ledvin. *Cesk Patol*. 2009; 45(3):64-68.
6. Picken M, Westermark P. Amyloid detection and typing: summary of current practice and recommendations of the consensus group. *Amyloid*.2011; 18 Suppl 1:48-50.
7. Linke R. On typing amyloidosis using immunohistochemistry. Detailed illustrations, review and a note on mass spectrometry. *Prog Histochem Cytochem*. 2012; 47(2):61-132.
8. Westermark P. Amyloid diagnosis, subcutaneous adipose tissue, immunohistochemistry and mass spektrometry. *Amyloid* 2011; 18(4):175-176.
9. Picken M, Dogan A, Herrera G. Amyloid and related disorders . Springer, New York, 2012; Chapter 16: Generic diagnosis of amyloid: A summary of current recommendations and the editorial comments on Chaps. 12-15.

Schéma diagnostiky nejčastějších typů systémových amyloidů (AA a AL)

KONGO ČERVENĚ POZITIVNÍ s příslušnou polarizací
(je společné pro všechny typy amyloidu)

Tkáň ve formolu (parafinový blok)



Imunohistochemický průkaz AA: +++

Závěr:

Velmi pravděpodobně AA amyloidóza.
Neodpovídá-li typ amyloidu klinickému průběhu, zvažte prosím opakované vyšetření s vyšší citlivostí, pro které je nezbytné zaslat vzorek nefixované tkáně (tj. bez formolu).

Imunohistochemický průkaz AA: negativní

Závěr:

Amyloidóza nejistého zařazení.
Pro určení typu amyloidu zvažte, prosím, opakované vyšetření s vyšší citlivostí, pro které je nezbytné zaslat vzorek nefixované tkáně (tj. bez formolu)

Nativní nefixovaná tkáň

1. imunofluorescence

AA
+++
(negat. lambda a kappa)

lambda
+++
(negat. AA a kappa)

kappa
+++
(neg. AA a lambda)



2. IH průkaz AA

IH průkaz AA: +++

IH průkaz AA: negat.

IH průkaz AA: negat

Závěr: AA amyloidóza

Závěr: AL amyloidóza

Závěr: AL amyloidóza

Je-li IF a IH vyšetření nepřesvědčivé (pozitivní AA i lambda nebo různé jiné kombinace či vše negativní), jde o amyloid nejistého zařazení.

