

המעבדה להמטולוגיה

טלפון: 03-530-2356 פקס: 03-530-3506

אימייל: Hematology.Lab@Sheba.Health.Gov.II

19 ינואר 2025

תפוצת רופאים

דף מידע לבדיקה חדשה:

אפיון סוג העמילואיד ברקמה באמצעות פרוטאומיקה מכוונת

מידע קליני:

עמילואידוזיס היא פתולוגיה שבה פיברילות לא מסיסות של חלבון שוקעות ברקמות ופוגעות בהן. ישנם כ-40 סוגי חלבונים שיכולים לייצר פיברילות עמילואידוגניות כאשר שלושת הסוגים הנפוצים הם: שרשראות אימונוגלובולינים קלות (קאפא או למבדה), טרנסטיירטין (TTR, Transthyretin) ו-SAA (Serum Amyloid A). המחלות מכוונות בהתאמה, AL, ATTR ו-AA. עבור כל סוג חלבון עמילואידי ישנה קליניקה אופיינית, פרוגנוזה וטיפול שונה. ניתן לסווג כך: ATTR פוגע בלב ובעצבים, AA במעי, בכבד ובכליות ו-AL בשילוב כלשהוא של לב, כליות, כבד ועצבים. הפגיעה הלבבית היא קרדיומיופטיה רסטרקטיבית (Restrictive cardiomyopathy), הפגיעה הכלייתית מתבטאת באי ספיקת כליות או תסמונת נפרוטית, ואילו הפגיעה העצבית מתייצגת כתסמונת התעלה הקרפלית, דיסאוטונומיה או נורופתיה פריפריית. אבחון עמילואיד מתבצע בשני שלבים כאשר ראשית יש לזהות את משקעי העמילואיד ואז לאפיין את סוג החלבון הפתולוגי. זיהוי המשקעים מתבצע על ידי צביעת רקמה ב-Congo red שנותנת במיקרוסקופ מראה "ירוק תפוח" באור מקוטב, או על ידי זיהוי פיברילות במיקרוסקופ אלקטרוני. בארץ אפיון סוג העמילואיד עדיין מתבצע על-ידי צביעה אימונו-היסטוכימית או אימונו-פלורסנטית, אך שיטה זאת מוגבלת מבחינת

הרגישות והסגוליות במקרי AL ואינה זמינה לאבחון סוגים נדירים של עמילואיד. מכיוון שכך, פותחה שיטה מתקדמת שבבסיסה חיתוך משקעי העמילואיד מתוך הרקמה תחת המיקרוסקופ באמצעות לייזר ואפיונם הפרוטאומי באמצעות tandem mass spectrometry. כיום שיטה זו היא gold standard באפיון עמילואיד.

דגימות:

נדרשת ביופסיית רקמה חיובית ל-Congo red. ניתן לבצע את הבדיקה על דגימות ששומרו בפראפין (FFPE) וגם על דגימות קפואות ששומרו בתמיסת זמבוני (Zamboni). ניתן לבצע את הבדיקה על כל סוג רקמה למעט שומן. הבדיקה דורשת כמות מזערית של חומר אך בתנאי שיש משקעים חיוביים ל-Congo red.

שיטת הבדיקה ופרמטרים אנליטיים:

הביופסיה נחתכת בעובי 10 מיקרון ומקובעת על סלייד ייעודי מסוג director. הסלייד נצבע ל-Congo red במכון הפתולוגי ומועבר למעבדה להמתולוגיה. במיקרוסקופ LMD6 של Leica מזהים משקעי העמילואיד באור מקוטב ומסומנים לצורך חיתוך בלייזר, המשקעים נופלים למבחנות אפנדורף מתאימות המכילות בופר Zwittergent. לאחר מכן מתבצע מיצוי חלבונים בחום של 98 מעלות צלזיוס למשך 90 דקות, ולאחר מכן סוניקציה. החלבונים עוברים עיכול לפפטידים באמצעות טריפסין. הפפטידים מנוקים על StageTips, מיובשים ומורחפים בתמיסה להרצה. הדגימות מוזרקות למערכת כרומטוגרפיה נוזלית בשילוב ספקטרומטר מסות ברזולוציה גבוהה והנתונים הגולמיים מעובדים בתוכנת Mascot על בסיס מספר מאגרי מידע להפקת רשימת חלבונים מזהים.

מידע הנחוץ להזמנת הבדיקה:

לצורך השלמת הבדיקה יש ליצור קשר עם היחידה להמטו-אימונולוגיה (טל. 2117) במעבדה להמתולוגיה. יש להעביר מספר תעודת זהות ומספר ביופסיה של המטופל. מומלץ לצרף סיכום

קצר של המידע הקליני, בדגש על נוכחות פרקציה ושרשראות אימונוגלובולינים קלות בסרום בעת ביצוע הביופסיה, מידע זה מועיל בעת הפענוח. בדיקה זו אינה מבוצעת באשפוז. על נבדקים שאינם משיבא להביא לשיבא את בלוק הפראפין של הדגימה וסלייד צבוע לקונגו red. קוד שיבא לחיוב: 801876.

פענוח הבדיקה:

פענוח תוצאות האנליזה הפרוטאומית מבוצע על ידי צוות רב תחומי קליני ומעבדתי לפי ההמלצות UK national amyloidosis center. בקצרה, נדרשת נוכחות של 2 מתוך 3 חלבוני זיהוי (apoE, apoA4, SAP) ונדרשת העשרה בדגימה של ה-amyloid type. התוצאה ניתנת כנספח לדוח הפתולוגי של הביופסיה.

משמעות התוצאה לנבדק.ת:

התשובה הניתנת היא זיהוי החלבון ששקע ברקמה, אפיון סוג העמילואיד. על בסיס התשובה ניתן יהיה לבנות תוכנית טיפול מותאמת על ידי רופא מומחה רלוונטי.

זמן למתן תשובה:

בין שבועיים ל-6 שבועות.