

Úloha průtokové cytometrie v diagnostice hematologických a imunologických onemocnění u dětí

Ester Mejstříková

Klinika dětské hematologie a onkologie, CLIP-Cytometrie, 2. LF UK a Fakultní nemocnice Motol, Praha

SOUHRN

Průtoková cytometrie je zásadní diagnostickou metodou v imunologii a v hematologii u dětí. Výhodou cytometrie je rychlost, kdy v rámci hodin může tato metoda klinikům pomoci ve volbě terapie a indikaci dalších vyšetření.

Klíčová slova: Průtoková cytometrie u dětí – Imunodeficience – Hematologická onemocnění – Akutní leukémie – Minimální reziduální nemoc

The role of flow cytometry in the diagnostics of pediatric haematologic and immunologic diseases

SUMMARY

Flow cytometry is an essential diagnostic method in immunology and haematology in children. The advantage of flow cytometry is its speed, where within hours this method can help clinicians in the choice of therapy and the indication of further investigations.

Keywords: Flow cytometry in children – Immunodeficiency – Hematological diseases – Acute leukemia – Minimal residual disease

Cesk Patol 2023; 59(4): 149–156

Průtoková cytometrie je technologie umožňující multiparametrickou analýzu na jednobuněčné úrovni v suspenzi buněk (1). Cytometricky lze hodnotit obecné vlastnosti buněk zejména parametr Fsc (forward scatter - velikost) a Side scatter (Ssc - granularita). Hodnotíme molekuly jak na povrchu, tak i případně uvnitř buňky, zpravidla pomocí monoklonálních protilátek konjugovaných s fluorescenční značkou. Pomocí barviv schopných vázat stechiometricky DNA lze hodnotit případnou ploidii buněk spolu s buněčným cyklem. V hematologii a imunologii má v současné době nezastupitelné místo a jedná se především o analýzu periferní krve a kostní dřeně, menší podíl vzorků tvoří vyšetření mozkomíšního moku a případných biptických vzorků. V případě biptických vzorků tkání je třeba daný materiál nejprve převést do suspenze, což vede ke ztrátě informace o architektuře dané tkáně. Je tedy zřejmé, že cytometrie u těchto vzorků je metodou komplementární k histopatologickému vyšetření. V poslední dekádě jsme svědky nástupu nových technologií umožňujících současnou analýzu až desítek parametrů současně. Počet parametrů je závislý na konkrétní klinické aplikaci. V imunologii a zejména v hematologii, tvoří významnou část cytometrického vyšetření interpretace vlastního nálezu, která může být někdy časově náročnější než vlastní laboratorní zpracování vzorku. U vyšetření tkání je velmi důležitá těsná spolupráce s patologií. Nadstavbou průtokové cytometrie je případná možnost sortování vybraných populací buněk a jejich případná analýza dalšími metodikami (např. stanovení chimérizmu po transplantaci krvetvorných buněk).

✉ Adresa pro korespondenci:

MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie, CLIP-Cytometrie

V úvalu 84, 150 06, Praha 5

tel: 224 436 477

e-mail: Ester.mejstrikova@lfmotol.cuni.cz

CYTOMETRIE V IMUNOLOGII

Diagnostika primárních a sekundárních imunodeficitů

V analýze imunodeficitů se cytometrie uplatňuje především v hodnocení zastoupení subpopulací lymfocytů (2). Základním vyšetřením je hodnocení počtu B, T (CD4, CD8) a NK buněk. Součet B, T a NK buněk by ideálně měl dávat číslo blízké 100%. Vzácně nacházíme expresi antigenu CD19 na subpopulaci NK buněk (3). Tento fenomén může případně komplikovat i detekci minimální reziduální nemoci u B prekurzorové ALL (4). Absolutní počet CD4 lymfocytů je důležitý, jak pro hodnocení stavu imunity u pacientů s HIV infekcí, tak i u pacientů např. po transplantaci hematopoetickými buňkami a řídí se podle tohoto parametru případná antibiotická profylaxe. Lymfocytární buňky lze dále třídit dle stádia zralosti (paměťové, naivní). Pro interpretaci některých nálezů je třeba znát i klinickou situaci pacienta, případnou léčbu (např. kortikosteroidy, anti-CD20, anti-CD19 léčba).

Těžká kombinovaná imunodeficience

Těžká kombinovaná imunodeficience (severe combined immunodeficiency – SCID) je vzácné genetické onemocnění, kde typicky nacházíme absenci nebo významně snížené zastoupení T lymfocytů (5). Podezření je zpravidla vysloveno u velmi malých dětí do 1 roku věku. Absence T lymfocytů není pravidlem vždy, při tzv. materno-fetálním engraftmentu nebo při tzv. Omenově syndromu mohou být počty T lymfocytů absolutně i relativně normální nebo i zvýšené. Klíčovým parametrem je tedy hodnocení nejméně zralých forem T lymfocytů, tzv. recent thymic emigrants, jejichž absence je patognomonická pro SCID. V současnosti probíhá novorozenecký skrínink, kde se testuje přítomnost tzv. T cell excision circles (TREC) a kappa-deleting excision circles (tzv. KREC). Absence TREC je patognomonická pro SCID, některé formy navíc mají i absenci KREC (indikující absenci B lymfocytů). Všichni pacienti s abnormálním výsledkem novorozeneckého