Küpserakuliste lümfoproliferatiivsete haiguste uuringud

Küpserakuliste lümfoproliferatiivsete haiguste uuringud (Lymphoma-CLL Fc)

Põhja-Eesti Regionaalhaigla laboratooriumi kliinilise immunoloogia osakond, Läbivoolutsütomeetria labor

Telefon 617 1141

Üldiseloomustus

Lümfoproliferatiivsed haigused on heterogeenne lümfoidsetest rakkudest lähtuv kasvajaliste haiguste rühm väga erinevate kliiniliste sümptomite, paikme ja prognoosiga.

Eristatakse Hodgkini (HL) ja mitte-Hodgkini (NHL) tüüpi lümfoome. NHL lümfoomid jaotatakse omakorda B-, T- ja NK-rakulisteks lümfoomideks, mis omakorda jagunevad mitmetesse alagruppidesse. Voolutsütomeetriline meetod põhineb vedeliksuspensioonis olevate rakkude pinna- ja tsütoplasmaatiliste markerite (nt CDx) määramisel fluorokroomidega konjugeeritud monoklonaalsete antikehade kaudu. Meetodiga saab samaaegselt mõõta nii erineva liinikuuluvusega rakupopulatsioone (nt eristada omavahel NK rakud, T- ja B-lümfotsüüdid) kui ka mitut erinevat markerit sama raku pinnal (nt B-rakud, mis omavad samaaegselt pinnamarkereid CD19, CD5, CD23, CD200). Selline lähenemine võimaldab rakkude täpset immuunfenotüpeerimist ja subpopulatsioonide määramist lähtuvalt kasutatud antikehadest ning on oluline osa kaasaegses hematopatoloogilises diagnostikas. Samas ei asenda meetod morfoloogilist hindamist või nukleiinhapete analüüsil põhinevaid metoodikaid.

Küpserakuliste lümfoproliferatiivsete haiguste uuringut teostatakse kaheetapilisena: esmasuuringul määratakse B-rakkude suhteline hulk ning kontrollitakse kergete ahelate klonaalsust markeritega CD45, CD19, CD20, kappa, lambda; määratakse T-rakkude suhteline hulk ja kaks peamist alaklassi (CD4+ helper ja CD8+ supressor/tsütotoksilised) markeritega CD45, CD3, CD4, CD8 ning NK rakkude suhteline hulk. Kui esmasuuringu käigus ilmestub klonaalne või aberrantne populatsioon, teostatakse järgnevates etappides lisafenotüpeerimised lähtuvalt aberrantsest kloonist. B-rakkude puhul kasutatakse markereid CD19, CD20, CD5, CD10, CD23, CD43, CD38, CD79b, CD200, vajadusel (kui on morfoloogia põhjal kahtlus karvrakkleukeemiale) CD22, CD25, CD103. T-rakkude puhul kasutatakse markereid CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD56, CD10, CD16, CD25.

Näidustused

- B-, T- ja NK-rakuliste lümfoproliferatiivsete haiguste diagnoosimine

Referentsvahemik

Maliigset rakupopulatsiooni ei esine

Kliiniline tõlgendus

- B-rakulistele neoplaasiatele on iseloomulik monoklonaalne komponent (*kappa*- või *lambda*-klonaalne, kappa/lambda ahela suhe <1;>3), osadel juhtudel lisandub aberrantne immuunfenotüüp, kuid fenotüüp võib olla voolutsütomeetria markeritega ka iseärasusteta. Lõpliku klassifitseerimise teeb hematopatoloog kõikide analüüside põhjal komplekssselt.
- Kroonilisele lümfotsüütleukeemiale/väikerakklümfoomile (CLL/SLL) on iseloomulik monoklonaalne B-rakuline komponent (*kappa*- või *lambda*-klonaalne) immuunfenotüübiga CD19+, CD20+(dim), CD5+, CD23+, CD43+, CD200+, CD79b-, CD10-. Harva esineb atüüpilist fenotüüpi (nt CD5-, CD23- või CD79b+), millisel juhul tuleb lisaanalüüsidega välistada teised B-rakulised maliigsused.
- Karvrakkleukeemiale (HCL) on iseloomulik monoklonaalne B-rakuline komponent (*kappa*- või *lambda*-klonaalne) immuunfenotüübiga CD19+, CD20+, CD103+, CD22+, CD25+, CD200+. Lõplik diagnoos pannakse kliiniliste ja histo-/morfoloogiliste tulemuste põhjal komplekssselt.
- T-rakulistel lümfoomidel eristub aberrantse fenotüübiga populatsioon: puudub mõni pan-T-antigeen (CD2, CD3, CD5 või CD7), võib esineda CD4+/CD8+ topeltpositiivne, CD4-/CD8-topeltnegatiivne, ainult CD4+ või ainult CD8+ populatsioon või mõni aberrantne marker, nt CD10+, CD16+, CD25+, CD56+. Lõpliku klassifitseerimise teeb hematopatoloog kõikide analüüside põhjal komplekssselt.
- Liikvorist saadud tulemuste tõlgendamisel on vajalik korrelatsioon kliiniliste andmete, tsütoloogia, piltdiagnostika või muude meetoditega saadud tulemustega.
- Koelistest materjalidest (sh kehavedelikud) saadud tulemuste tõlgendamise teeb hematopatoloog koos teiste vajalike uuringutega.

Kasutamise piirangud:

Meetod ei sobi Hodgkin`i lümfoomi rakkude määramiseks, samuti võib anda valenegatiivset tulemust agressiivsete suurerakuliste lümfoomide korral, mis on oma pinnamarkerid kaotanud (nt anaplastiline suurrakklümfoom (ALCL), difuusne B-suurrakklümfoom (DLBCL)).

Proovi-/uuringumaterjal(id)	Veri, luuüdi, liikvor, lümfisõlm, muu koeline materjal (nt pleuravedelik, astsiidivedelik, muud koetükid)

Proovianumad	Veri – K2E/K3E katsuti (lilla kork) Luuüdi – LH katsuti (tumeroheline kork) Liikvor – TransFix/EDTA katsuti (küsida laborist tel 617 1141) Lümfisõlm, muu koeline materjal – keeratava kaanega proovitops, koetükid füsioloogilise lahusega niisutatud tekstiilitüki sees. Fikseerimata!
Proovimaterjali säilivusaeg, -temperatuur jt transpordi tingimused	Veri ja luuüdi 18...22 °C 48 h Liikvor (TransFix katsutis) 2...8 °C 72 h Koeline materjal transportida koheselt.
Segavad tegurid	Verehüüve, vere lahjendus luuüdis, verelisand liikvoris, rakkude lagunemine, koematerjali fikseerimine
Teostamise sagedus	E-N 8.00-16.00; R 8.00-15.00
Mõõtemeetod	Voolutsütomeetria
HK kood	66718 x n (koodide arv sõltub kasutatud monoklonaalsete antikehade hulgast)

Kasutatud kirjandus

1. Gorczyca W. Flow Cytometry in Neoplastic Hematology: Morphologic-Immunophenotypic Correlation, Third edition, 2017.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Revised 4th edition, 2017.
3. Porwit A, McCullough J, Erber WN. Blood and Bone Marrow Pathology, Second edition, 2011.
4. Porwit A, Bene MC. Multiparameter Flow Cytometry in the Diagnosis of Hematologic Malignancies, 2018.
5. CLSI standards H43-A2 Clinical Flow Cytometric Analysis of Neoplastic Hematolymphoid Cells; Approved Guideline-Second Edition 2007 (uuesti kinnitatud 2017).
6. Dogos L, Linch DC, Löwenberg B. Textbook of Malignant Hematology, Second edition, 2005.
7. **https://www.cytomark.co.uk/downloads/TransFix_CSF_poster_ICCS2017.pdf**

Koostanud Kati Mädo, laborispetsialist

03.01.2020

Viimati uuendatud 13.11.2024