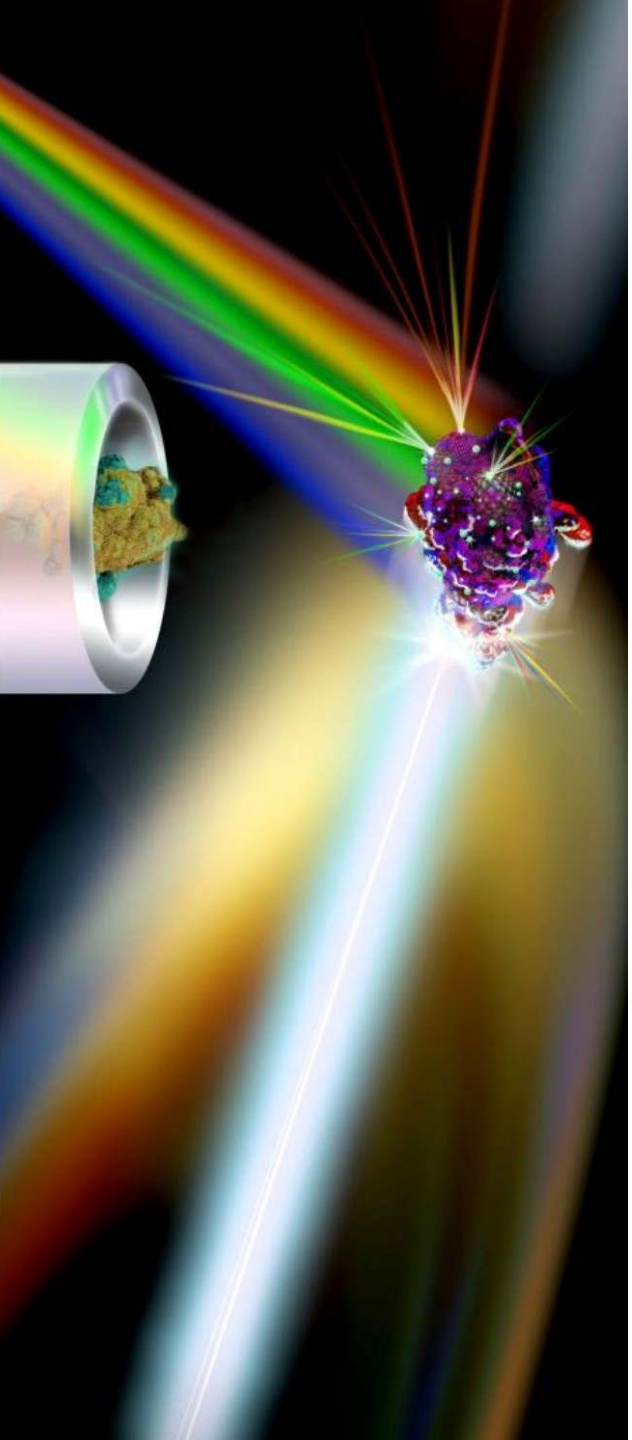


FNsP F. D. Roosevelta
BANSKÁ BYSTRICA

Nečakaná diagnóza:

Keď prietoková cytometria odhalí Sézaryho syndróm

... a iné kazuistiky

RNDr. S. Lenhartová PhD.

Laboratórium prietokovej cytometrie

CLK PKH

Vyhlásenie o konflikte záujmov

Deklarujem nasledujúci konflikt záujmov:

Forma finančného prepojenia	Spoločnosť
Participácia na klinických štúdiách/firemnom grante	-
Nepeňažné plnenia	-
Prednášajúci	-
Akcionár	-
Konzultant/odborný poradca	-
Ostatné príjmy	-

Účelom prednášky nie je reklama liekov. Jej účelom je výlučne zdieľanie výsledkov, výmena skúseností z klinickej praxe a podpora odbornej medicínskej diskusie.

Nahrávanie, reprodukcia, distribúcia obsahu vrátane šírenia vo verejnom priestore (internet, sociálne siete, média...), alebo jeho úprava nie sú povolené bez predchádzajúceho súhlasu autora.

Klasifikácia hemato-onkologických ochorení

- **Lymfoidné**
  - **vychádzajú z progenitora pre lymfoidnú radu alebo zo zrelších lymfocytov**



Primárne kožné lymfómy (PCL)

- presná diagnostika je komplikovaná
- označujú sa ako primárne pokiaľ je v čase diagnostiky postihnutá len koža

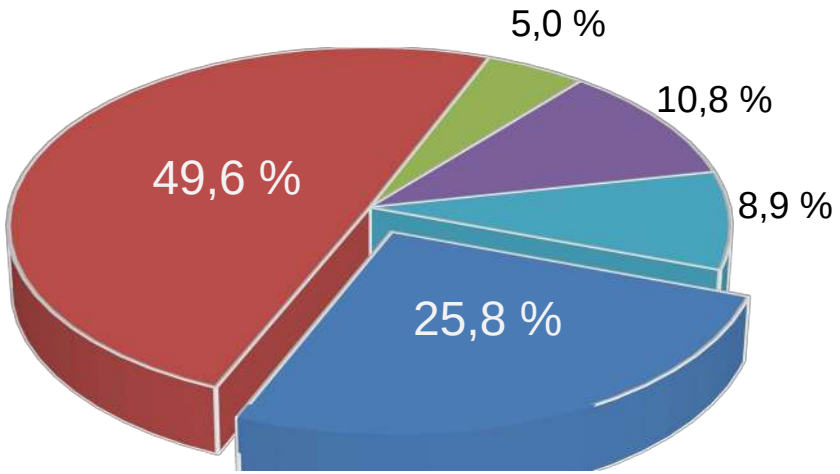
- **Kožné T-bunkové lymfómy (CTCL):** Väčšina prípadov (~75–80 %)
  - MF
  - Sézaryho syndróm (agresívnejší)

- **Kožné B-bunkové lymfómy (CBCL):**
  - Vznikajú z B-lymfocytov (napr. lymfóm z marginálnej zóny alebo z folikulárnych centier)
  - majú zvyčajne veľmi dobrú prognózu

Klinický obraz SS môže byť vo veľkej miere nešpecifický

Retrospektívna štúdia včasných klinických charakteristík pacientov so SS (diagnostikovaných v rokoch 1976–2015)[2]

Klinický obraz pacientov so SS (N=263*)[2]



Pacienti sa **spočiatku častejšie prejavujú:**

- **nešpecifickou dermatitídou**
- **dermatitíde podobnými vyrážkami**
- **MF škvrnami/plakmi**
- **leukémiou bez erytrodermie**

Nie s klasickou erytrodermiou ako **najskorším kožným prejavom**[2,3]

Typický obraz SS je:[4,5]

- Erytrodermia
- Lymfadenopatia
- Zjavné postihnutie leukémiou

Klasické klinické prejavy

Pacient s erytrodermiou - rozsiahle začervenanie postihujúce spravidla viac ako 80–90 % povrchu tela






Obrázky pochádzajú z práce Tsai YC a kol. 2023. SS, Sézaryho syndróm.

Tsai YC a kol. *Br J Dermatol* 2023;189:603–611.

Diagnostika

TNMB klasifikácia:

- **B0-B2** + dôkaz klonálnej prestavby **TCR v periférnej krvi**
- **B2 = ≥ 1 × 10^9/l Sézaryho buniek v periférnej krvi**
- **Flow-cytometrické kritériá:**
  - pomer CD4+/CD8+ ≥ 10
  - alebo CD4+CD7− ≥ 40 %
  - alebo CD4+CD26− ≥ 30 %

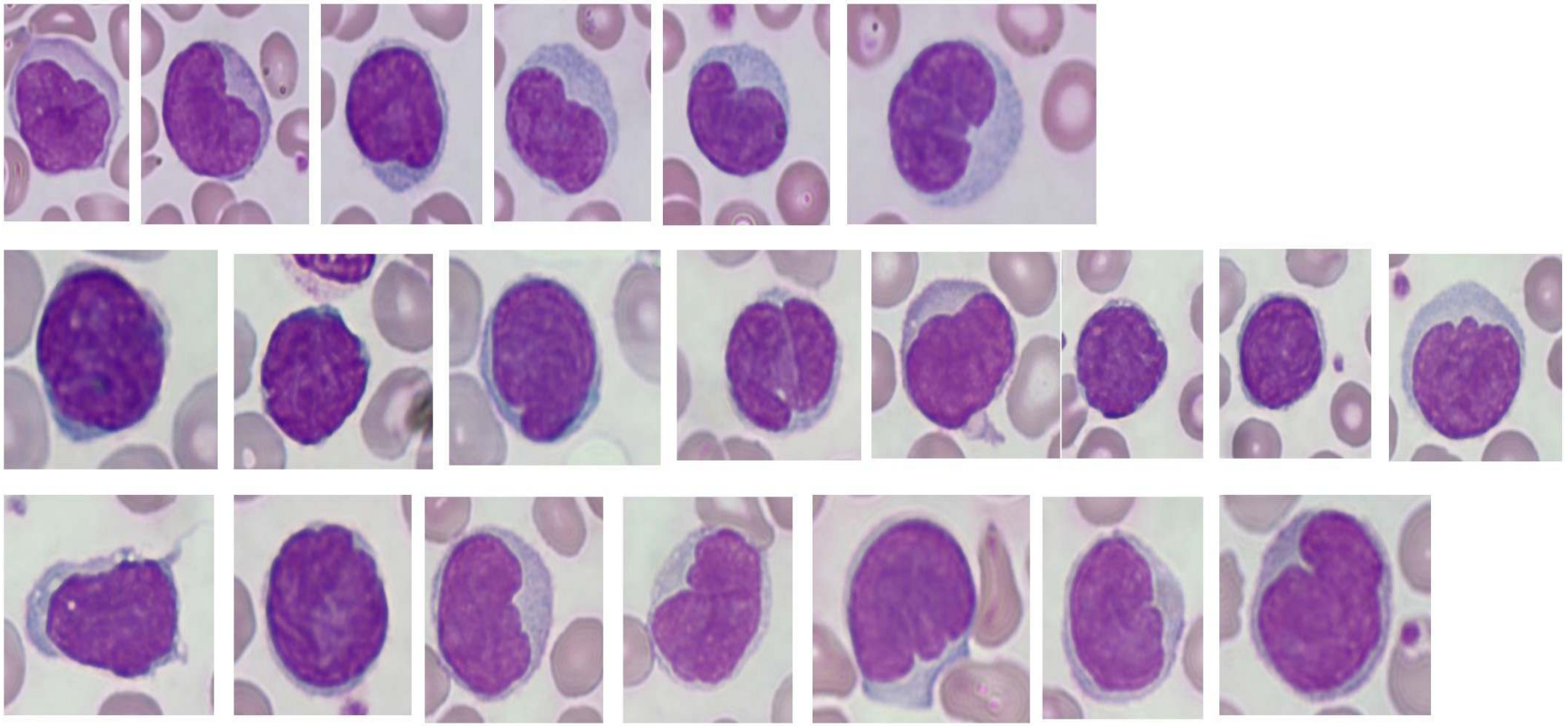


Archív Dermat. amb

Willemze et al. : ESMO guidelines, Annals of Oncology 29 (Supplement 4): iv30–iv40, 2018;

NCCN GUIDELINES on CTCL-v.2.2026; Jonak C., et al. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft; 1610-0379/2021/1909

Morfológia: Sézaryho bb.



Archív lab.

väčšie atypické T-lymfocyty s výrazne
cerebriformným jadrom

Interpretácia výsledkov na FC

- výsledky sa zvyčajne uvádzajú kvalitatívne

  (prítomnosť abnormálnych vs. fyziologických T-lymfocytov)

Zavedenie TRBC1 a TRBC2 od roku 05/2025

- fyziologické hodnoty: **15 – 85 %**
- patologické hodnoty:
  - $TRBC1^-$ / $TRBC2^-$ (< 15%)
  - $TRBC1^+$ / $TRBC2^+$ (> 85%)

- **uviesť aj súvisiaci fenotyp !**

Received: 30 November 2019 | Revised: 22 February 2020 | Accepted: 23 March 2020
DOI: 10.1002/cyto.b.21878

ORIGINAL ARTICLE

CLINICAL CYTOMETRY WILEY

Flow cytometric evaluation of peripheral blood for suspected Sézary syndrome or mycosis fungoides: International guidelines for assay characteristics

Pedro Horna[1] | Sa A. Wang[2] | Kristy L. Wolniak[3] | Katherina Psarra[4] | Julia Almeida[5] | Andrea J. Illingworth[6] | Ulrika Johansson[7] | Fiona E. Craig[8] | Richard Torres[9]

Porovnanie z pohľadu kliniky, periférnej krvi a prietokovej cytometrie

Charakteristika	Klasická MF	Erytrodermická MF	Sézaryho syndróm (SS)
Základné ochorenie	Najčastejší primárny kožný T-bunkový lymfóm	Pokročilá forma MF s rozsiahlym kožným postihnutím	Primárny leukemický kožný T-bunkový lymfóm
Periférna krv	Môže byť bez významného postihnutia	Môže byť postihnutá variabilne	Významné leukemické postihnutie
Sézaryho bunky	Zvyčajne nie / nízky počet	Môžu byť prítomné	Typicky významne prítomné
CD3	+	+	+
CD4	Typicky +	Typicky +	Typicky +
CD8	Zvyčajne –	Zvyčajne –	Zvyčajne –
CD7	Častá parciálna strata	Často parciálna alebo výraznejšia strata	Často výrazná strata
CD26	Môže byť znížený	Môže byť znížený/strata	Často výrazne znížený alebo strata
CD4/CD8	Môže byť zvýšený	Môže byť zvýšený	Často výrazne zvýšený
CD27	Variabilný	Variabilný	Variabilný; nie je špecifickým markerom SS
TRBC1/TRBC2	Môže preukázať klonalitu	Môže preukázať klonalitu	Klonalita typická a diagnosticky významná
TCR Vβ	Môže potvrdiť klonalitu	Môže potvrdiť klonalitu	Často preukáže dominantný klon
TCR klonalita	Častá, ale sama nestačí	Môže byť prítomná	Typicky prítomná
Lymfadenopatia	Najmä pri pokročilom ochorení	Môže byť prítomná	Častá
FC krvi – fokus	**Aberantná T-populácia, CD4/CD8, CD7/CD26, klonalita**	**CD4+ populácia, CD7/CD26, TRBC1/2 ± TCR Vβ**	**CD4+ aberantná populácia, CD7/CD26, TRBC1/2 ± TCR Vβ + kvantifikácia**

Kazuistika č.1

10/2025 20-ročný pacient (infekčné odd.)

- S_CRP ↑, S_BIL, S_BILK, S_ALT, S_ALT, S_GMT ↑...

- Krvný obraz:

  WBC: 28,6 ↑

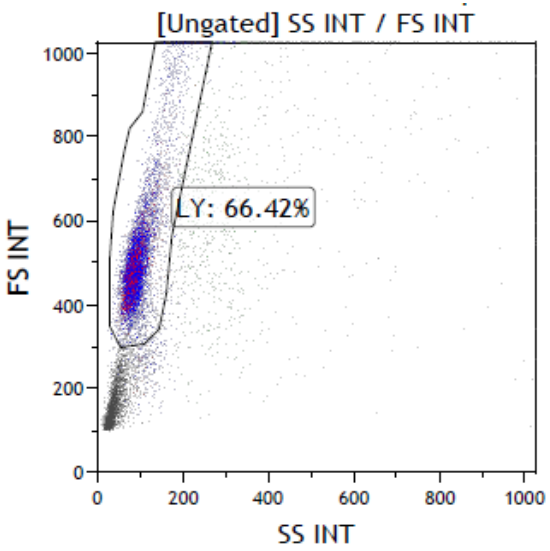
  RBC: 3,7 ; HGB:10,9;

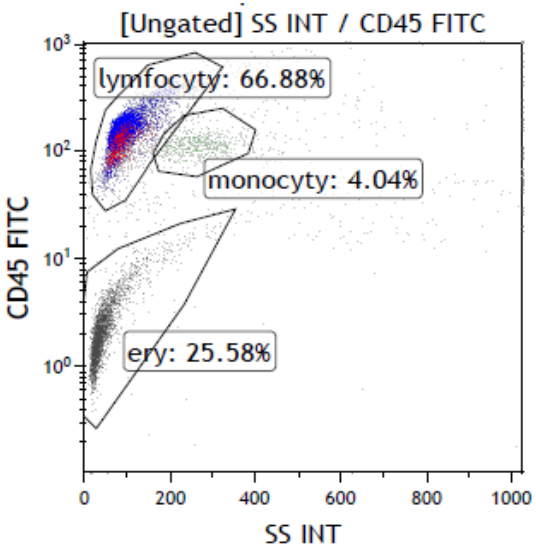
  HCT: 33,7 % ↓

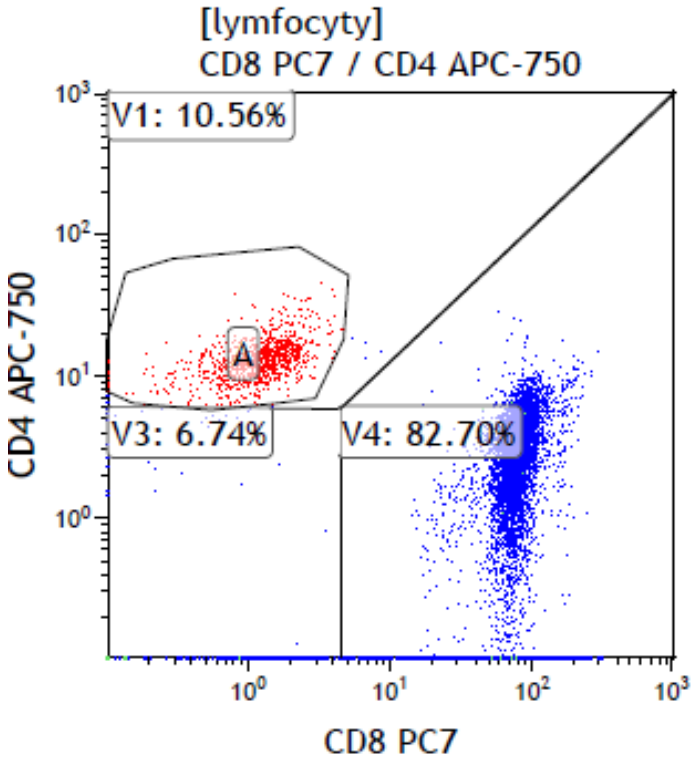
  PLT: 538 ↑

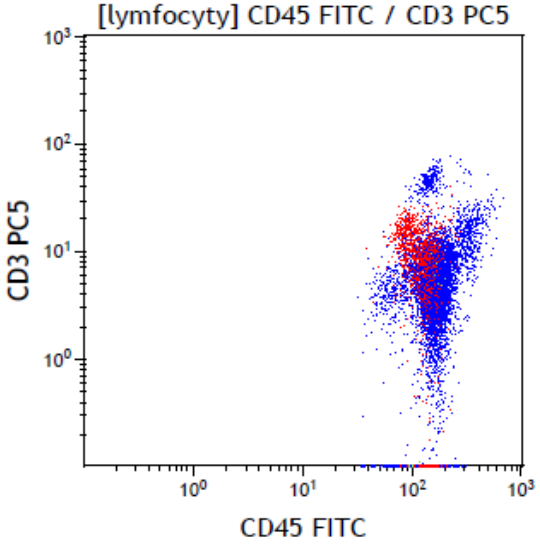
Diff. rozpočet WBC	%
Ne	15,2
Ly	78,2
Mo	5,4
Ba	1,1
Eo	0,1

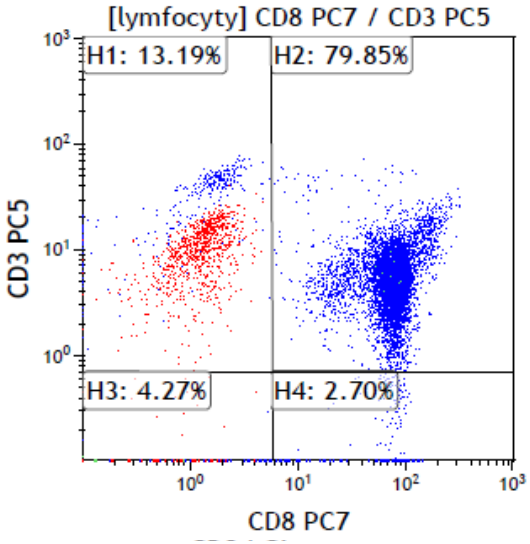
- v krvnom nátery prítomné **reaktívne formy lymfocytov**
- **FC analýza PK**



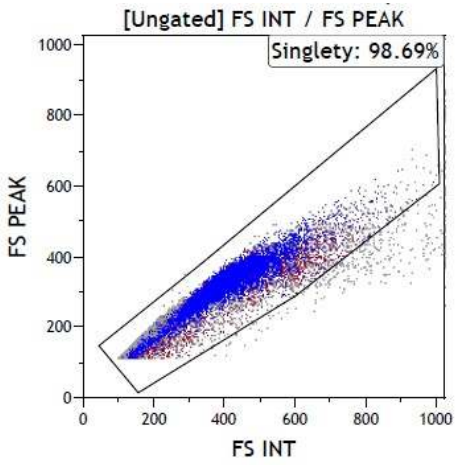


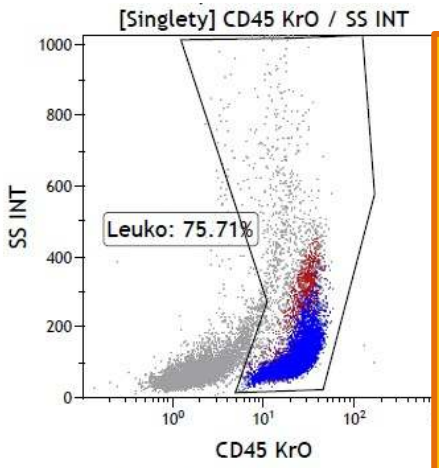


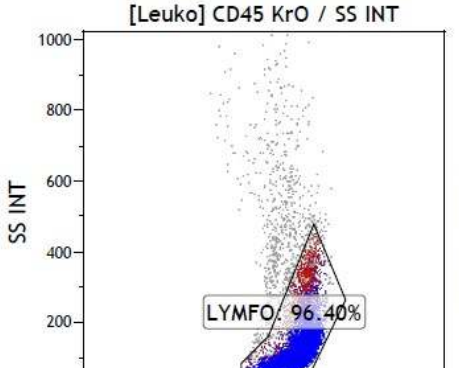


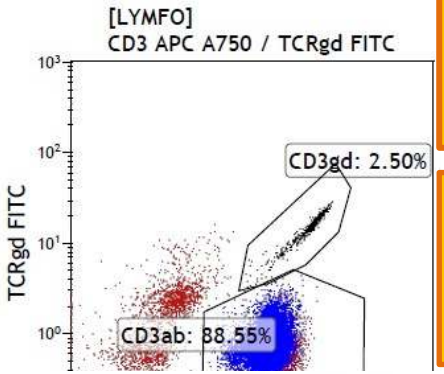


- prevládajú cytotoxické Tc-Ly (82,7 % Ly)
- primeraná expresia znakov: CD45/CD2/CD3/CD5/ CD7/CD8/CD81
- znížený pomer CD4/CD8 (**hodnota 0,10**) !





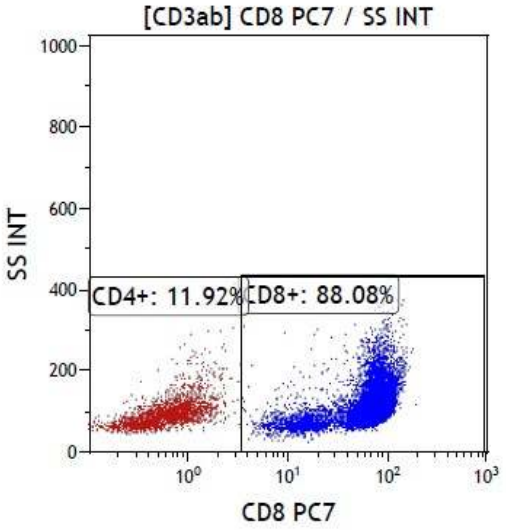


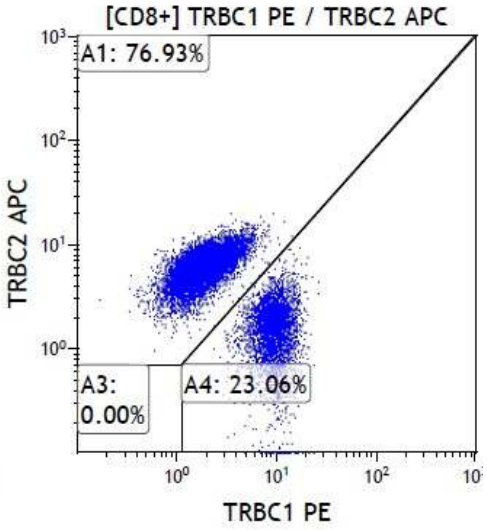


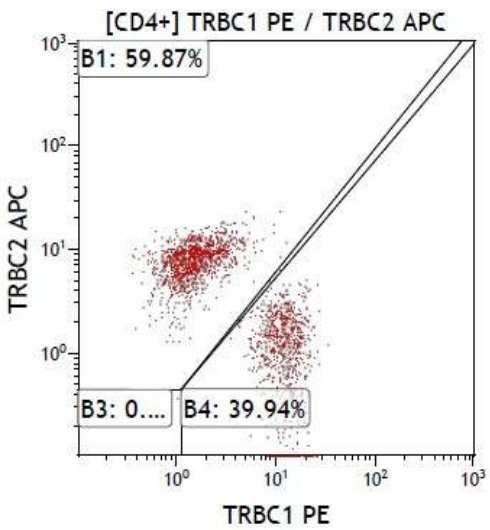
- **zachovaný pomer TRBC1/TRBC2 na TCR α/β receptore**
- expresia aktivačných znakov HLA-DR a CD38 bright !!!

ZÁVER: bez jednoznačnej detekcie patológie T a B-línie v zmysle hematologickej malignity.
Prevaha aktivovaných Tc-lymfocytov.

Diagnóza :
Infekčná mononukleóza





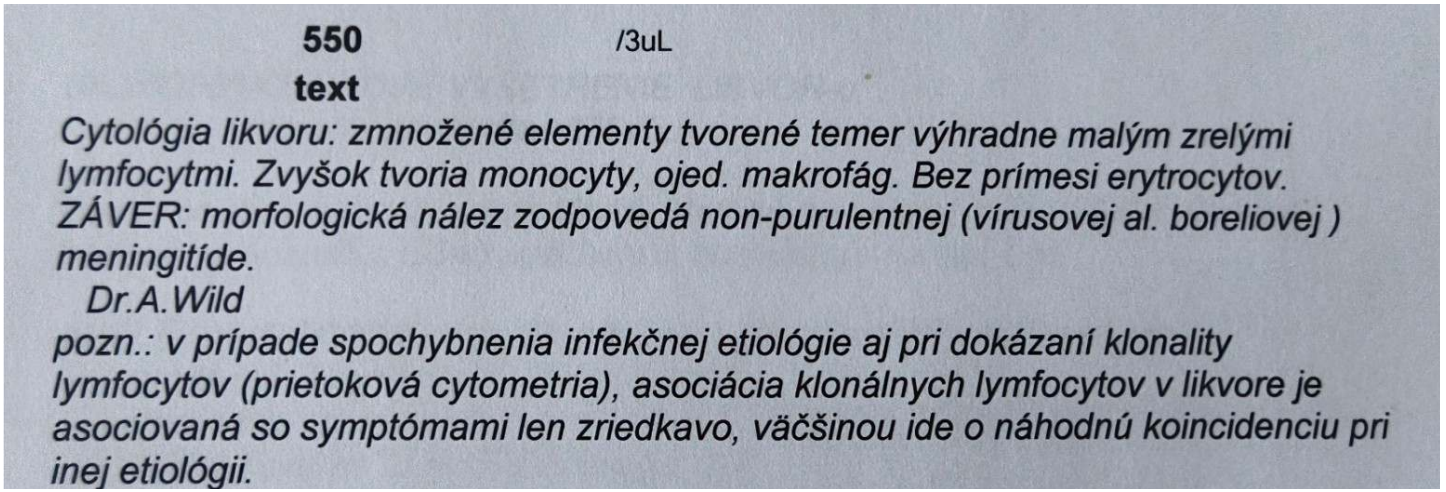


Kazuistika č. 2

09/2026 46-ročný pacient (infekčné odd.)

OKB: QAlb 36,25; so zvýšenou koncentráciou albumínu a imunoglobulínov v likvore

- Krvný obraz: WBC: 15,1 ↑
- 31.8.2026 - likvor; počet elementov: 792/3ul
- 7.9.2026 - likvor; počet elementov: 550 /3ul
- 23.9.2026 - likvor; počet elementov: 275 /3ul



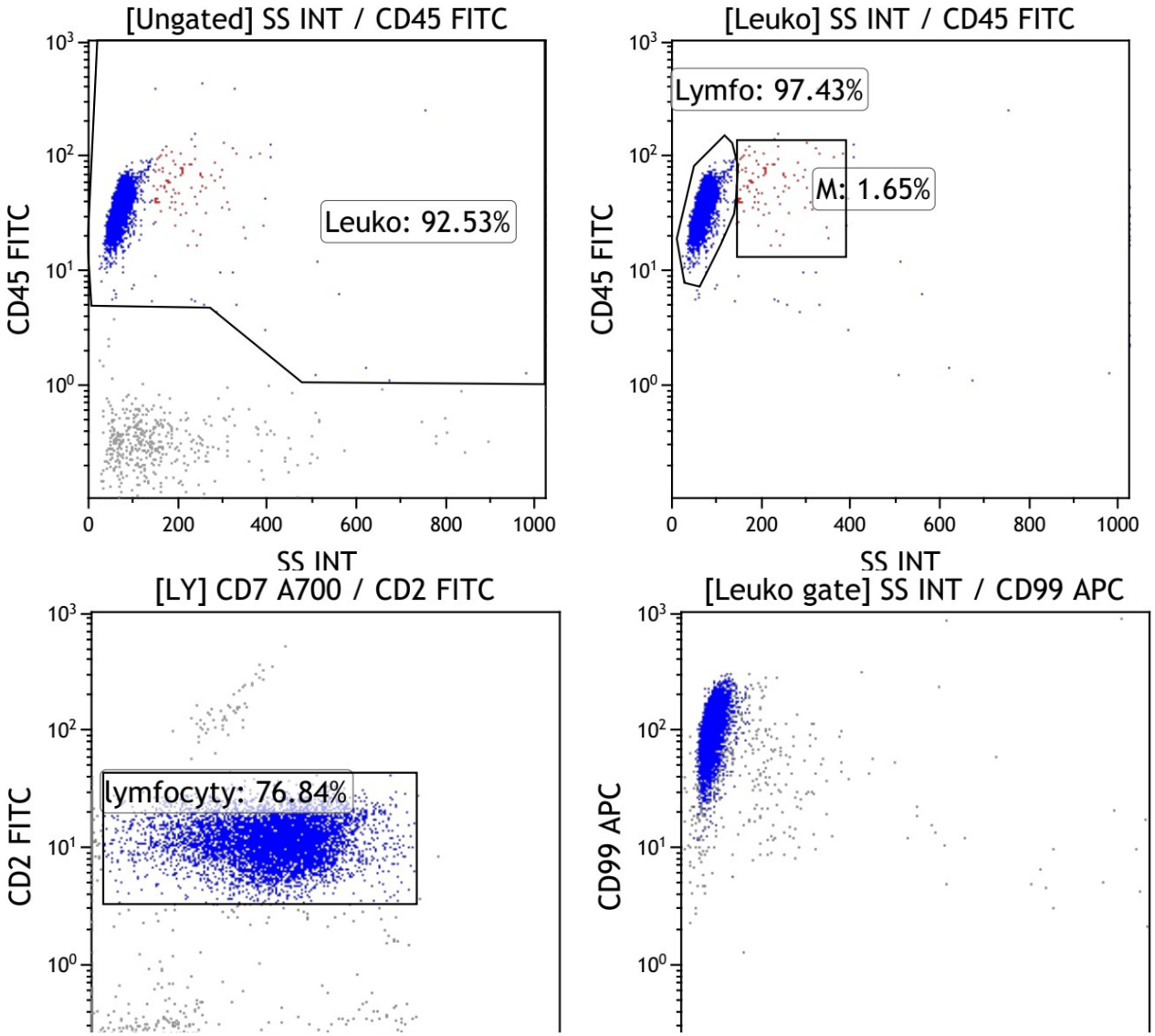
550 /3uL

text

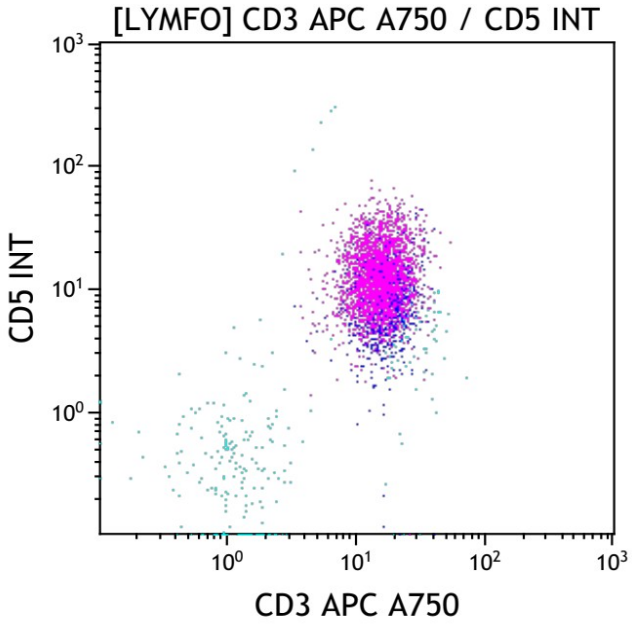
Cytológia likvoru: zmnožené elementy tvorené temer výhradne malým zrelými lymfocytmi. Zvyšok tvoria monocyty, ojed. makrofág. Bez prímesi erytrocytov. ZÁVER: morfologická nález zodpovedá non-purulentnej (vírusovej al. boreliovej) meningitíde.

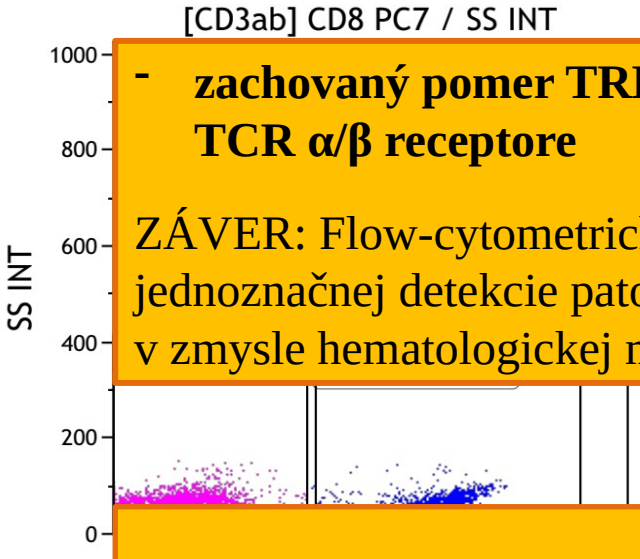
Dr.A.Wild

pozn.: v prípade spochybnenia infekčnej etiológie aj pri dokázaní klonality lymfocytov (prietoková cytometria), asociácia klonálnych lymfocytov v likvore je asociovaná so symptómami len zriedkavo, väčšinou ide o náhodnú koincidenciu pri inej etiológii.



- primeraná expresia znakov: CD45/CD2/CD3/CD5/ CD7/CD8/CD81
- zvýšený pomer CD4/CD8 (**hodnota 3,3**)

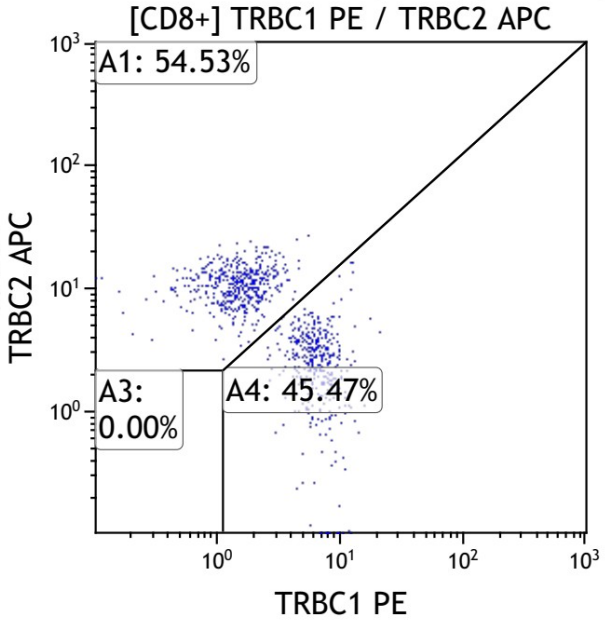


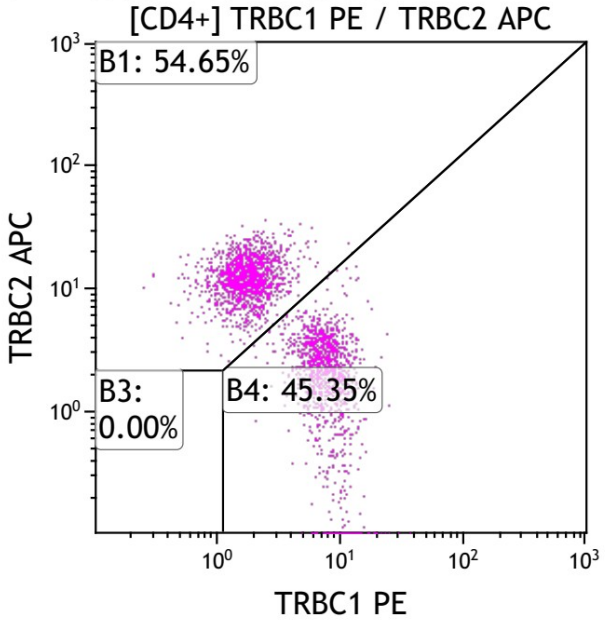


- **zachovaný pomer TRBC1/TRBC2 na TCR α/β receptore**

ZÁVER: Flow-cytometricky t.č. bez jednoznačnej detekcie patológie T a B-línie v zmysle hematologickej malignity.

Diagnóza :
vírusová / bakteriálna meningitída





Kazuistika č.3

07/2025 78-ročný pacient (hemat. amb.)

- S_KREA, S_UREA, S_B2M ↑ ↑, S-CB ↓
- Krvný obraz:

  WBC: 10,6

  RBC: 3,32 ; HGB:10,6;

  HCT: 31,7% ↓

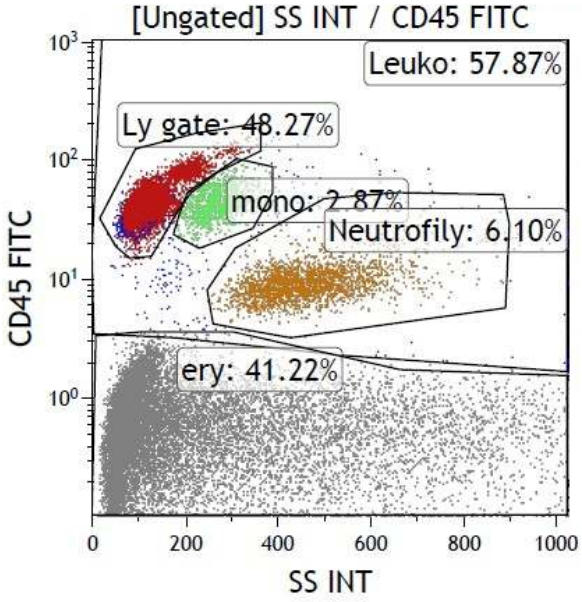
  PLT: 263

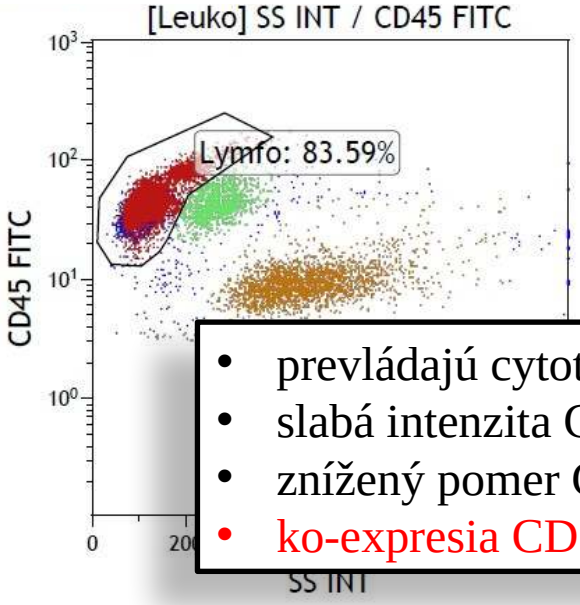
Diff. rozpočet WBC	%
Ne	15,1
Ly	80,1
Mo	4,2
Ba	0,3
Eo	0,3

- v krvnom náteri prítomné **značné zastúpenie lymfocytov**

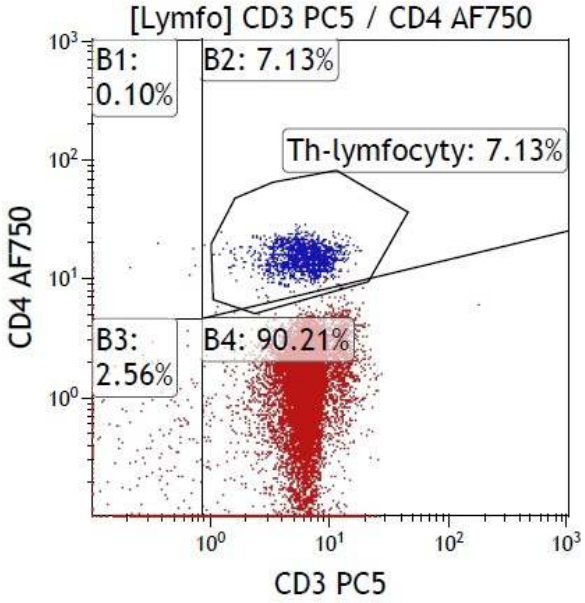
  (ojedinele nahé jadrá)

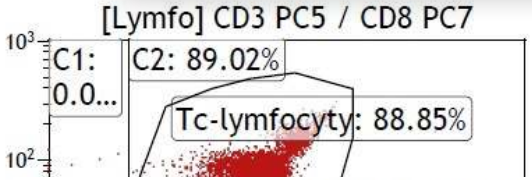
- **FC analýza PK aj KD**

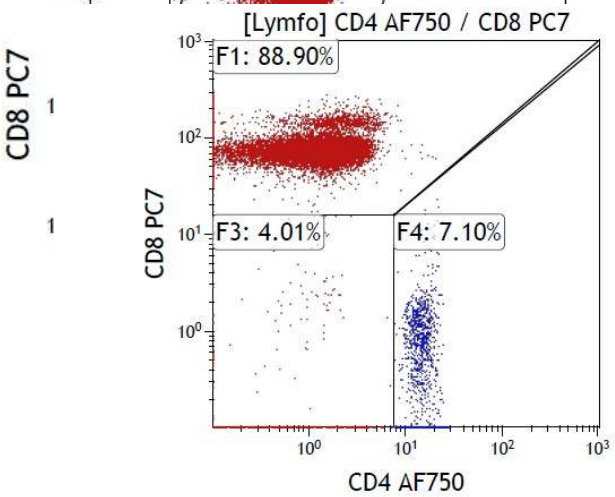


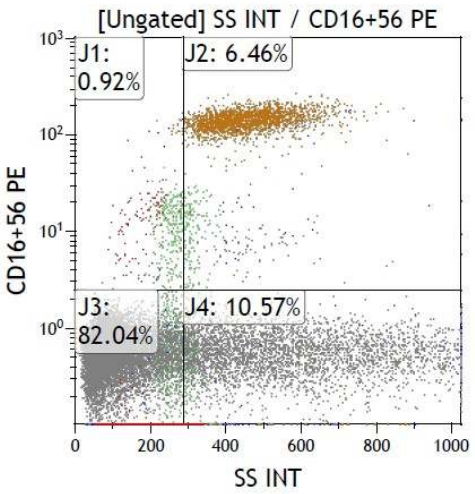


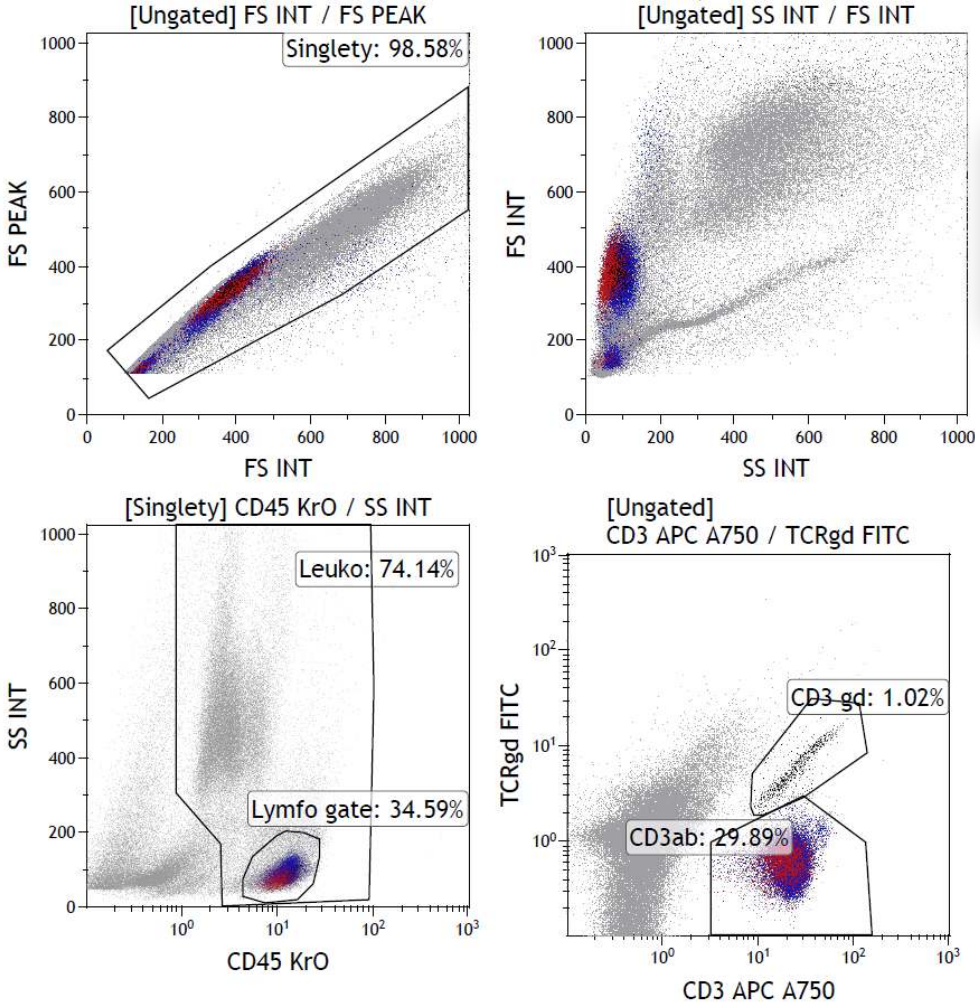
- prevládajú cytotoxické Tc- Ly (88,9%Ly)
- slabá intenzita CD5 dim, CD3 bright
- znížený pomer CD4/CD8 (**hodnota 0,08**) !
- ko-expresia CD11c



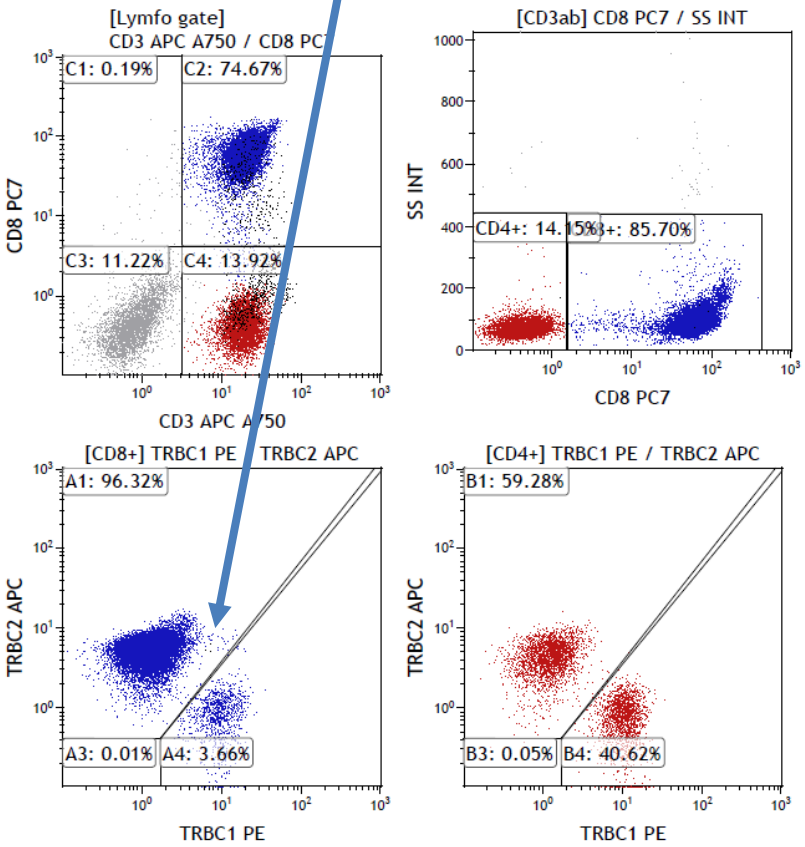








Sledovaním klonality TCR receptorov zaznamenávame prevahu TRBC2 receptorov.



ZÁVER: Flow-cytometricky dokázali prítomnosť atypických **zrelých cytotoxických Tc-lymfocytov** , ktoré suponujú malignitu z **T-buniek (T-LPO)** – potvrdené aj geneticky

- muž

2023: er

–

22.7.20

Krvný c

WBC

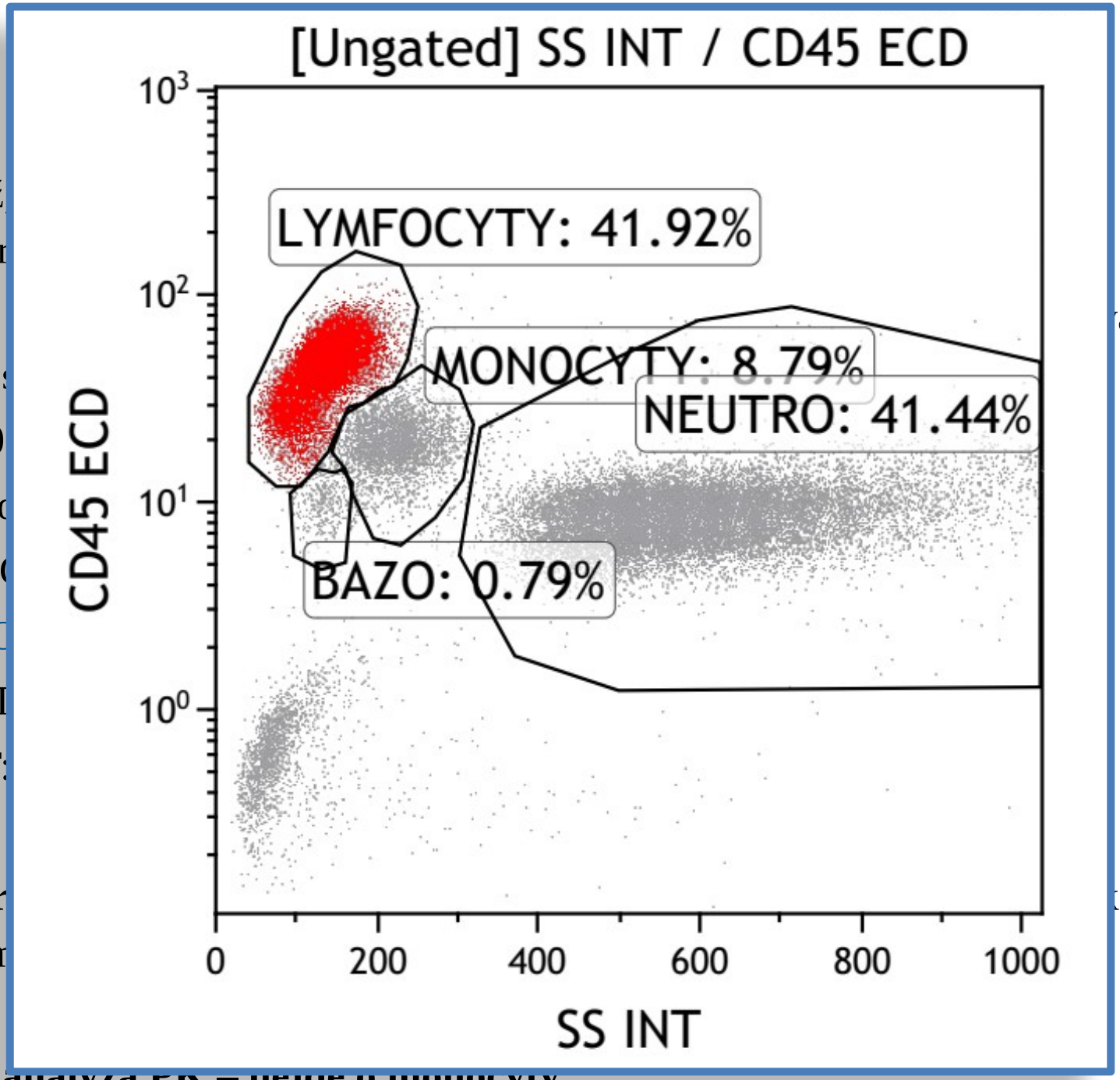
RBC

HCT

PLT:

- **v kr** té form

- **FC analýza PK – ide o monocyty**



1.8.2024 Vyšetrenie na HEM

- Krvný obraz:

  WBC: 10,6

  RBC: 3,84 ; HGB:12,2;

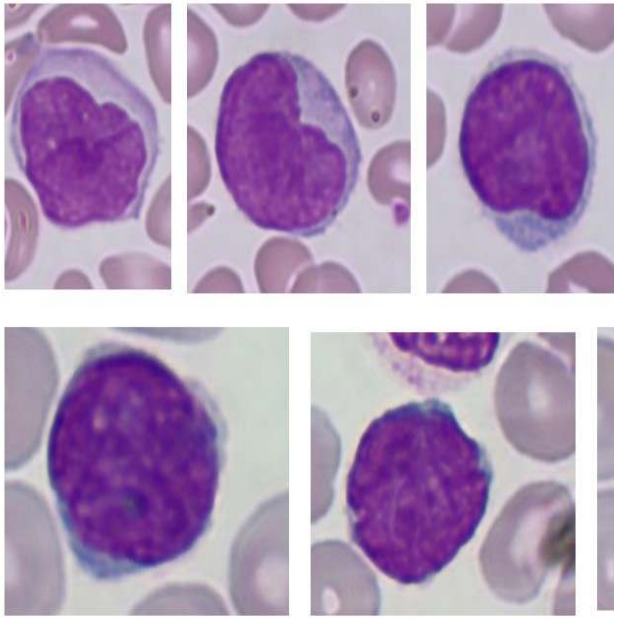
  HCT: 36,4 %

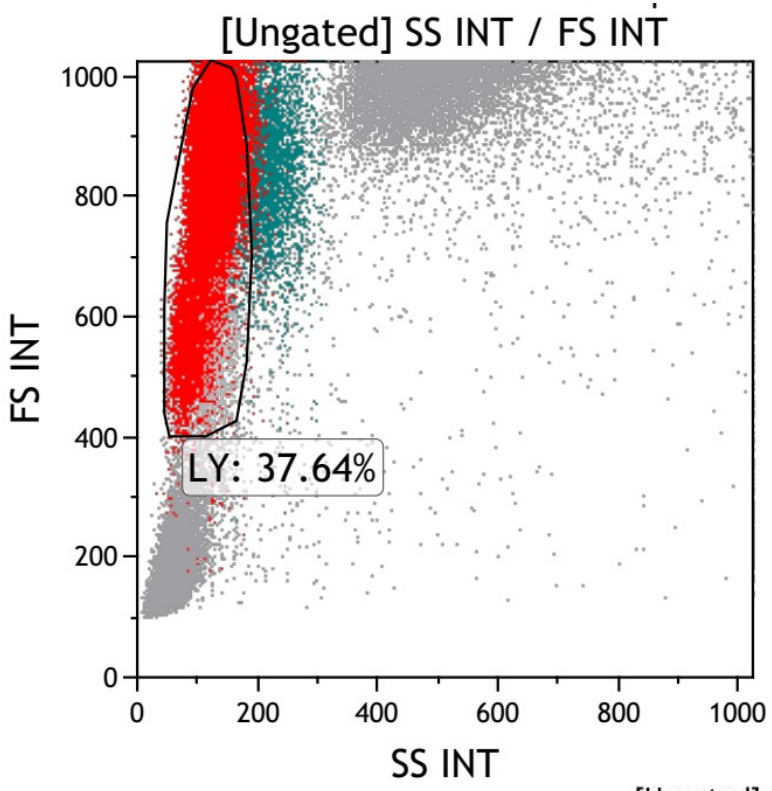
  PLT: 259

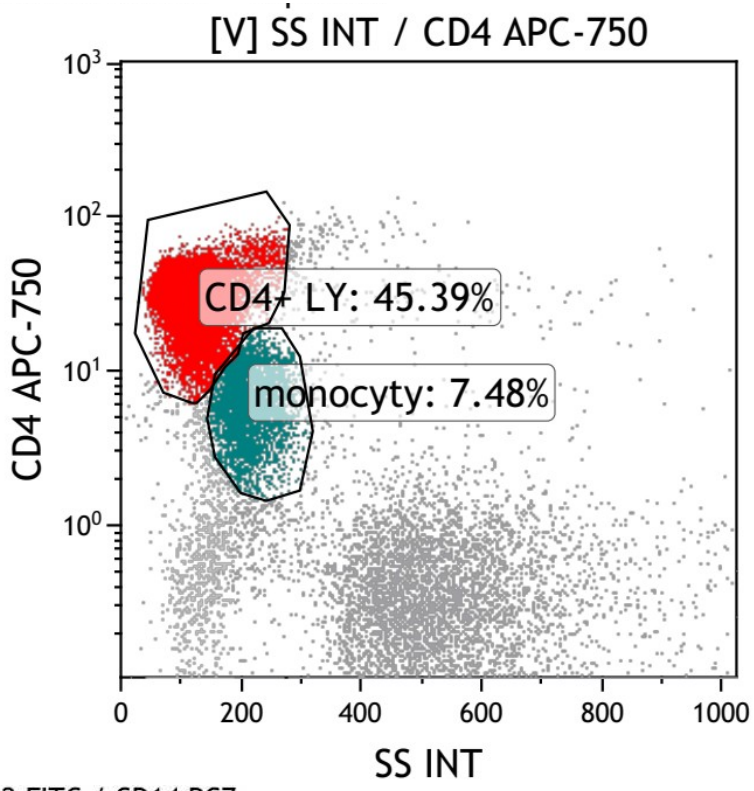
Diff. rozpočet WBC	%
Ne	41,7
Ly	10,6
Mo	**45,7**
Ba	0,8
Eo	1,2

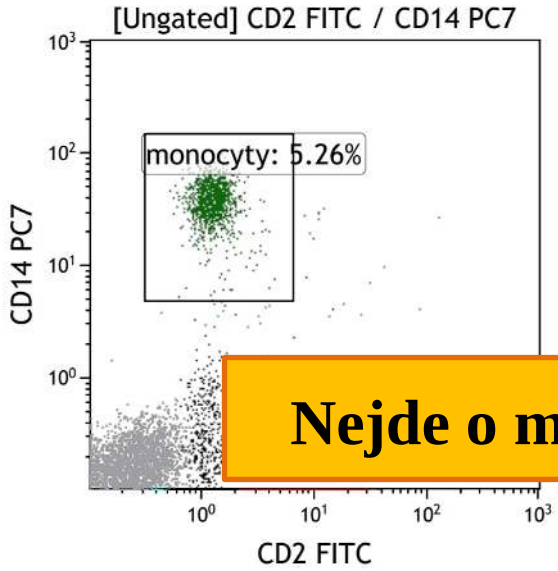
- **v krvnom náteri**:
  prevaha lymfocytov (atypické formy)

- FC kompletná analýza PK

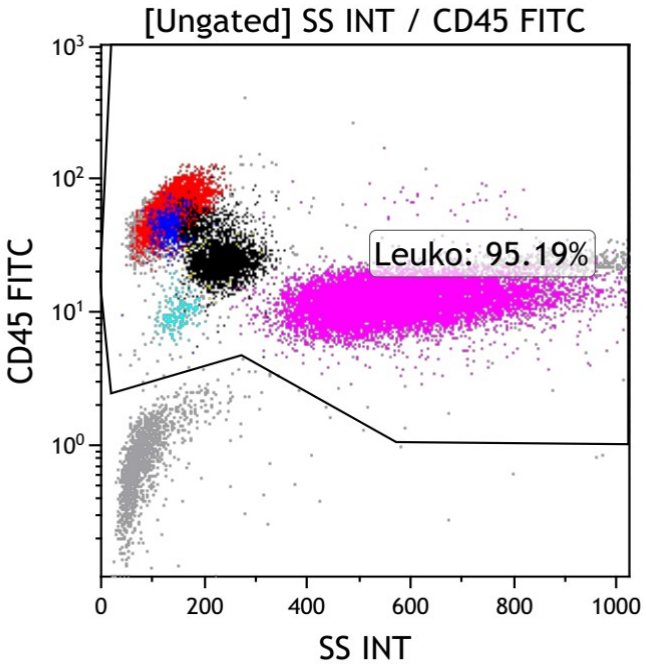


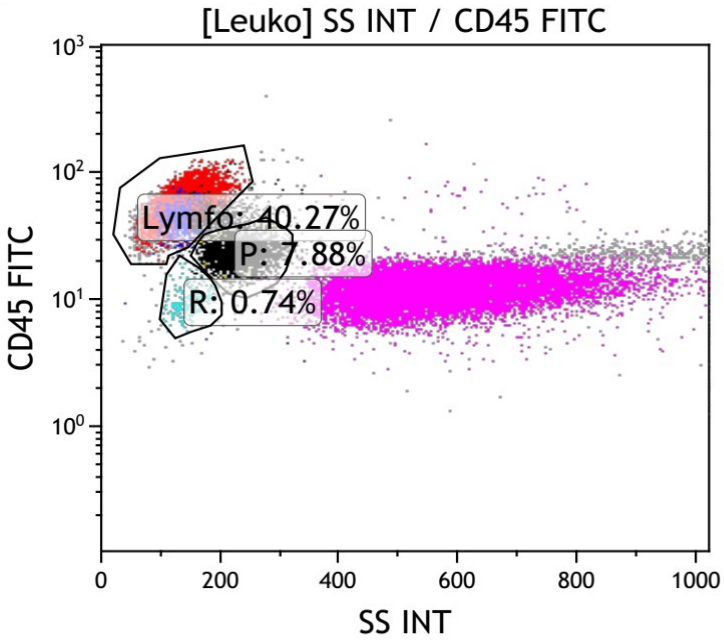


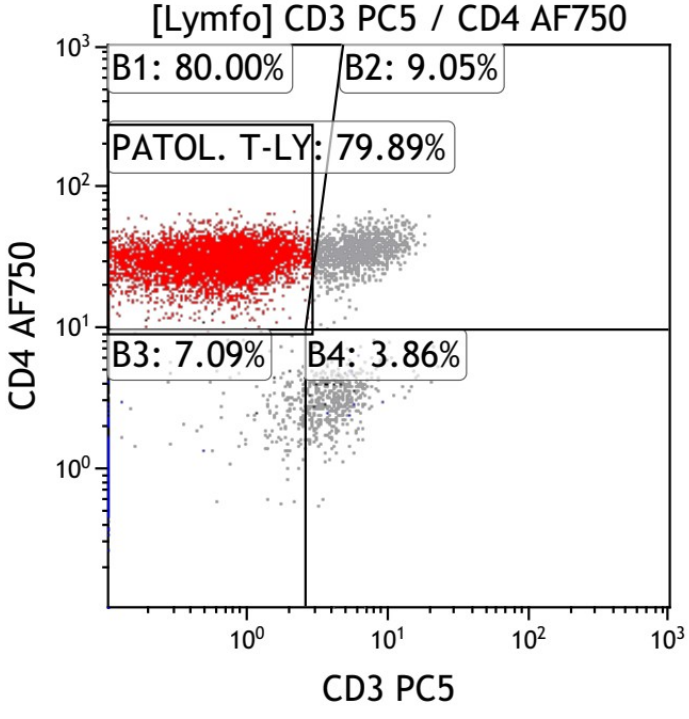


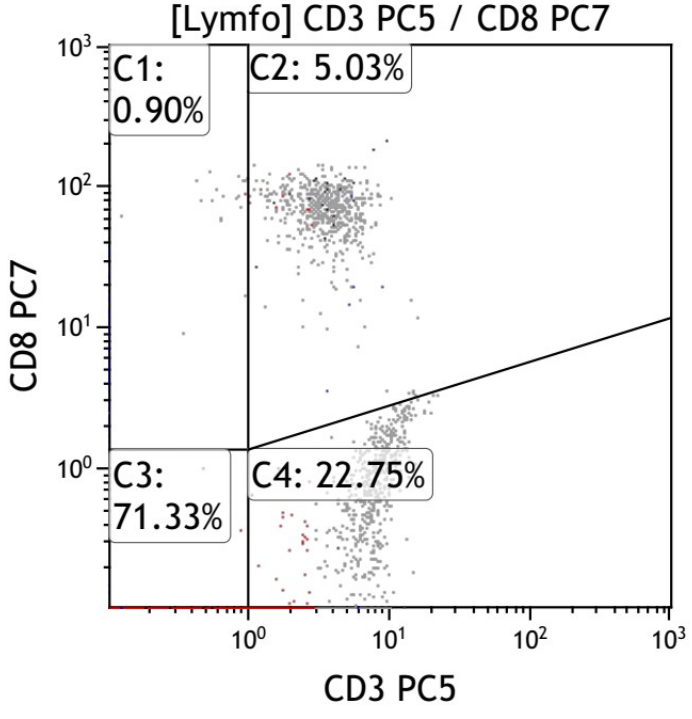


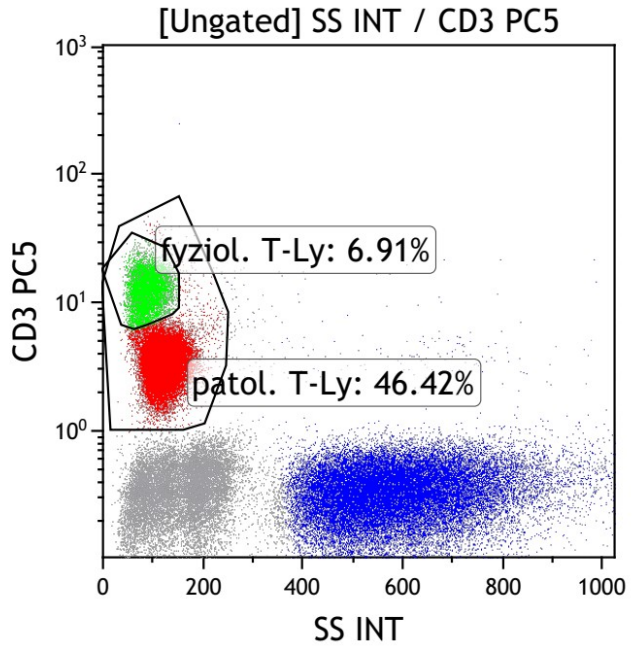
Nejde o monocyty !!

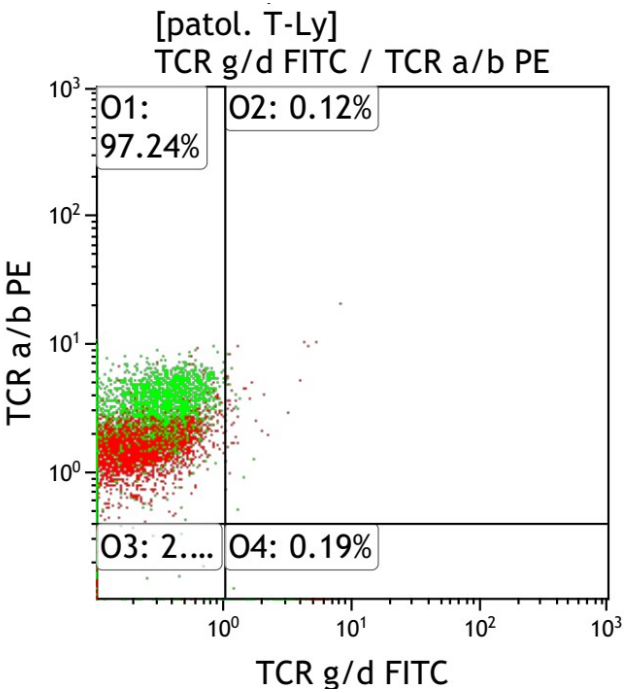

[Ungated] SS INT / CD45 FITC
Leuko: 95.19%
CD45 FITC
SS INT

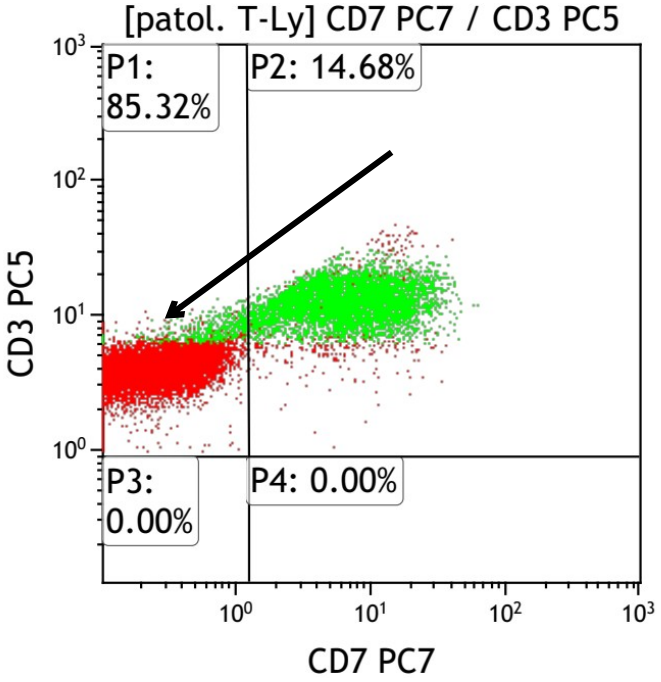

[Leuko] SS INT / CD45 FITC
Lymfo: 40.27%
P: 7.88%
R: 0.74%
CD45 FITC
SS INT

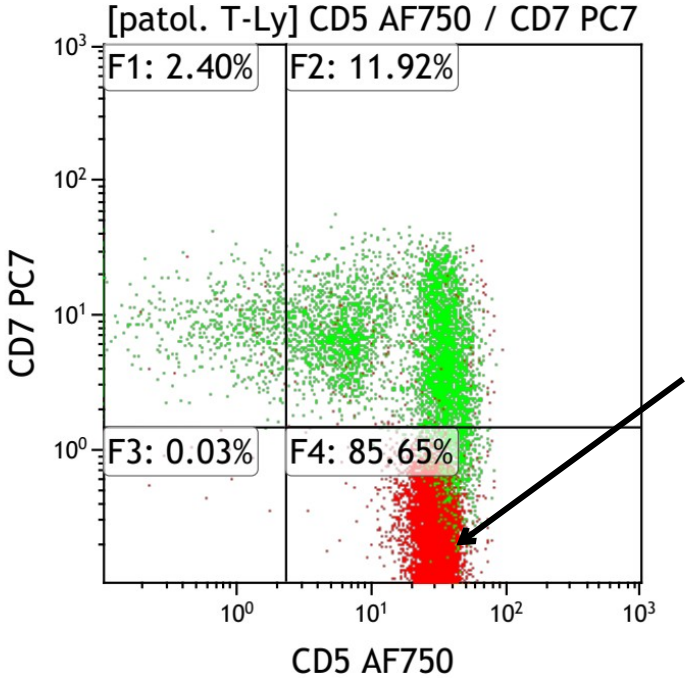

[Lymfo] CD3 PC5 / CD4 AF750
B1: 80.00%
B2: 9.05%
PATOL. T-LY: 79.89%
B3: 7.09%
B4: 3.86%
CD4 AF750
CD3 PC5

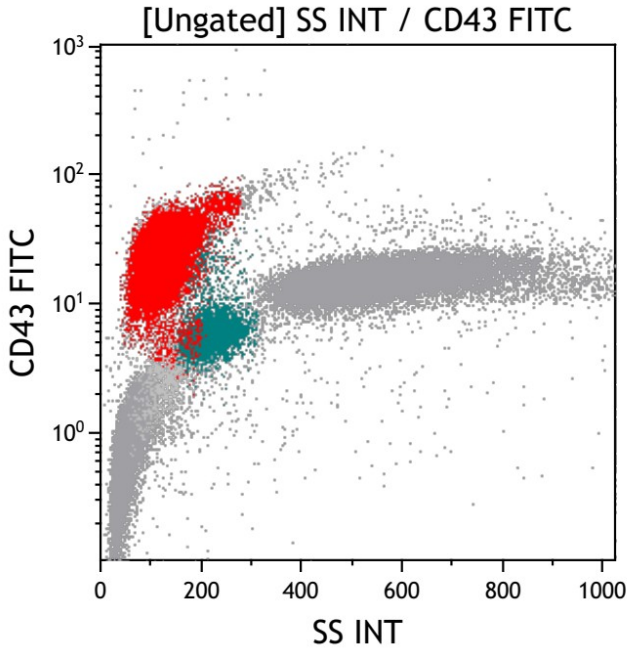

[Lymfo] CD3 PC5 / CD8 PC7
C1: 0.90%
C2: 5.03%
C3: 71.33%
C4: 22.75%
CD8 PC7
CD3 PC5

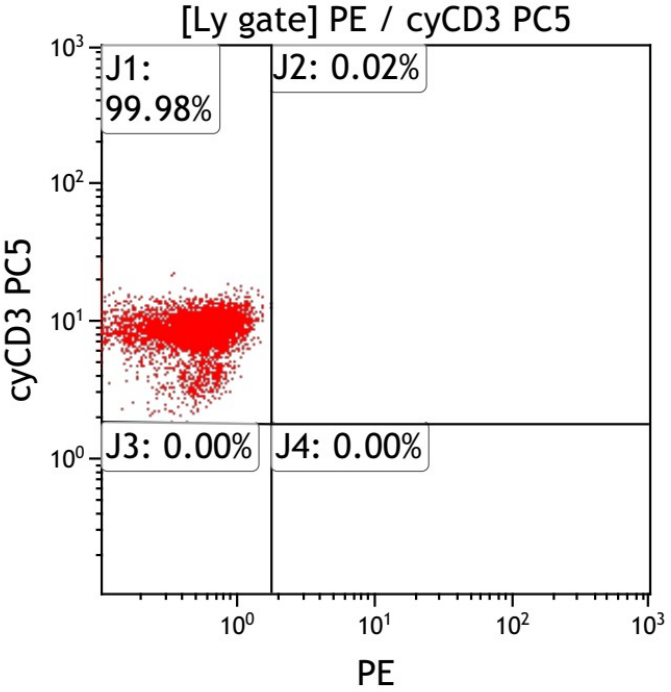

[Ungated] SS INT / CD3 PC5
fyziol. T-Ly: 6.91%
patol. T-Ly: 46.42%
CD3 PC5
SS INT

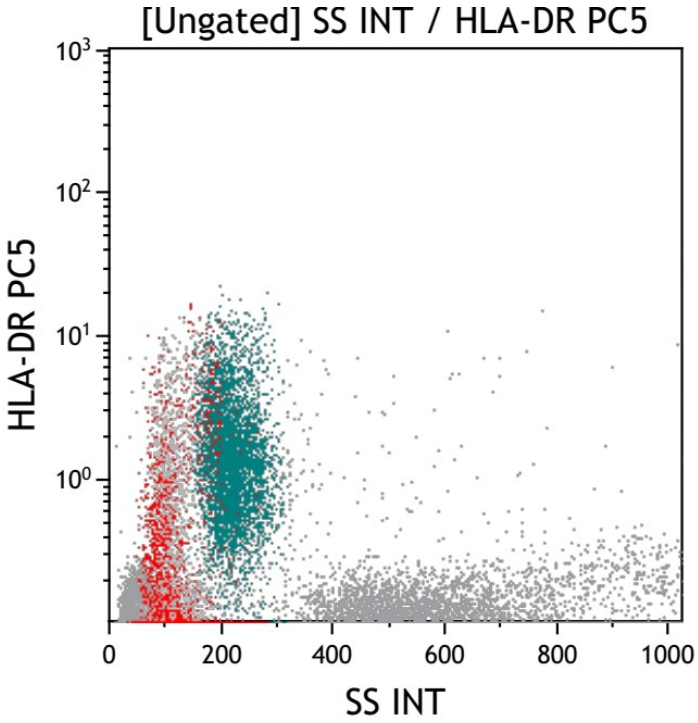

[patol. T-Ly]
TCR g/d FITC / TCR a/b PE
O1: 97.24%
O2: 0.12%
O3: 2....
O4: 0.19%
TCR a/b PE
TCR g/d FITC

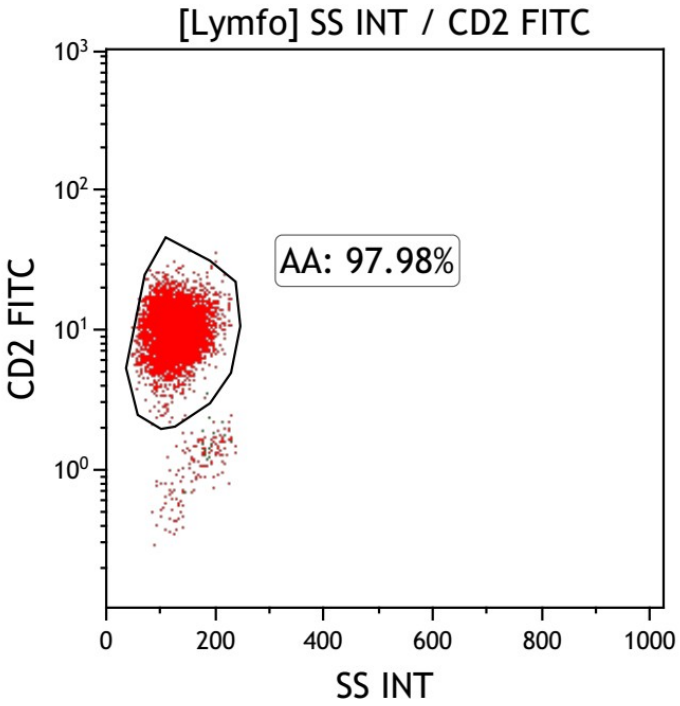

[patol. T-Ly] CD7 PC7 / CD3 PC5
P1: 85.32%
P2: 14.68%
P3: 0.00%
P4: 0.00%
CD3 PC5
CD7 PC7


[patol. T-Ly] CD5 AF750 / CD7 PC7
F1: 2.40%
F2: 11.92%
F3: 0.03%
F4: 85.65%
CD7 PC7
CD5 AF750


[Ungated] SS INT / CD43 FITC
CD43 FITC
SS INT
0
200
400
600
800
1000

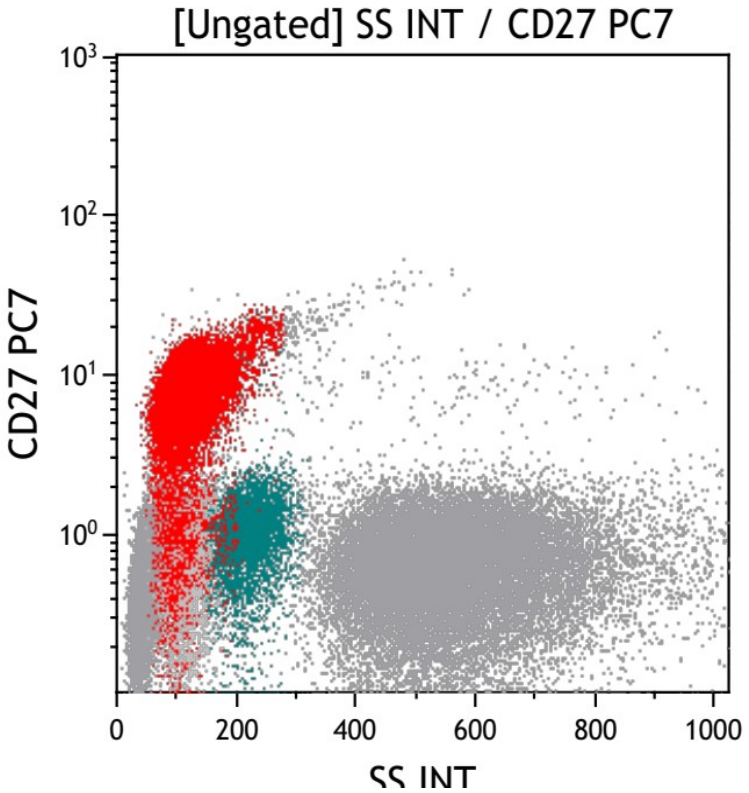

[Ly gate] PE / cyCD3 PC5
J1: 99.98%
J2: 0.02%
J3: 0.00%
J4: 0.00%
cyCD3 PC5
PE


[Ungated] SS INT / HLA-DR PC5
HLA-DR PC5
SS INT
0
200
400
600
800
1000


[Lymfo] SS INT / CD2 FITC
AA: 97.98%
CD2 FITC
SS INT
0
200
400
600
800
1000

Typický imunofenotyp:

- **CD2+**
- **Cytoplazmatický CD3+**
- **CD3 dim**
- **CD4+**
- **CD5+**
- často **CD7− alebo výrazne znížený**
- **CD8−**
- **TCR αβ+**
- **CD27+**



ZÁVER: Flow-cytometricky sme dokázali :

- prítomnosť patol. T-lymfocytov **(cca 41 % Le t. j. 4 346/µl krvi)**,
  - ktorých imunofenotyp (CD4+CD7−CD27+...)
    môže zodpovedať najskôr dg. SS (Sézaryho syndróm).

Základom pre potvrdenie diagnózy SS je histologické vyšetrenie kože, lézie a určenie prestavby TCR génov (molekulárne vyšetrenie)

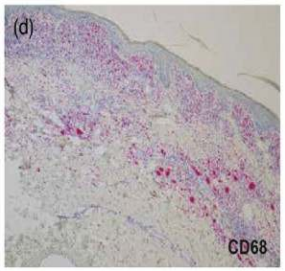
T. č. bez možnosti určenia klonality TCR receptorov (nedisponujeme uvedenou MoAb ani MoAb CD26).

Monocyty tvoria len max. 6,8 % Le.

12.8.2024

- zaslaná biopsia z kože
- výsledok 3.9.2024





Tmavé oblasti môžu zodpovedať obrovským bunkám

Záver :
Na konzultačné vyšetrenie zasielam kompletný bioptický materiál (2xHE a 2xparafínový bloček).
Záver patológa :
1., 2.: V konzultačne vyšetrených "punch" biopsiách kože uvedených lokalizácií (1+1 preparát, 1+1 blok) nachádzame drobné fragmenty kože, kryté inaktnou epidermis, pod ktorou sú v hornom kóriu sčasti periadnexálne viazané okrsky miestami splývajúcej malobunkovej lymfoproliferácie s črtami "single cell" epidermotropizmu. Imunohistochemicky sú tvorené prevahou T-lymfocytov s profilom CD3+, CD4+, CDF5+, CD8 prevažne-, CD30 celkom ojedinele+, CD56-, grazným B disperzne+ v menej ako 5% buniek, sprevádzané prímesou disperzných aj v malých zhlukoch nakopených B-lymfocytov (CD20+, CD79a+) a v druhej excízii aj granulovaných mastocytov, pričom proliferačná aktivita (index Ki-67) je do 10%.
Z á v e r : Limitovaný materiál bez jednoznačných známok klinicky zvažovaného PTCL či inej malignity.

FC PK Leu 10,6x10^9/l; Ly 51% = 4,4x10,6x10^9/l sú **CD4+ CD7-**

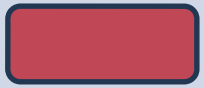
Zodpovedá najskôr SS

Molekulová analýza: **prestavba TCR** v DB_JB a VG_JG1

Biopsia kože (opakovaná) - limitovaný materiál bez PTCL infiltrácie

Lymfadenopatia (CT) -v axilách, parailicky, v inguinach (infiltrácia v uzlinách)

Mogamulizumab2 → viaže CCR4 na T-bunke → aktivuje imunitné mechanizmy → deštrukcia CCR4+ bunky

Čas po zahájení mogalizumabu2	erytrodermia	ošupovanie	lymfocytóza	pruritus	
D1 = 4.2.2025		+++	mierna	+++	+ acitretin + MP
1 týždeň		+++	0	+	Ústup pruritu mimo hlavy a krku
2 týždne		++	0	0	
3 týždne		+	0	0	Bez ošupovania pri použ. Belosalic-leniens
5 týždňov		0	0	0	Dlane bez ošupovania, nepotrebuje rukavice, saponáty na holé ruky netoleruje
3 mesiace		0	0	0	
9 mesiacov		0	0	0	Škvrnité pigmentácie Zhoršenie na rukách: erytém, ragády, na Beloderme zlepšenie
16 mesiacov		0	0	0	2.6.2026 36. dávka

Záver

- fenotyp T-buniek sa mení aj pri ich aktivácii či **pri prebiehajúcej infekcii organizmu**

- **FC**
  - **významná úloha pri identifikácii abnormálnej T-bunkovej populácie**
  - **môže významne prispieť k diagnostike Sézaryho syndrómu /MF**



- **nečakaná diagnóza**
  - **potvrdená prietokovou cytometriou**

Ďakujem za pozornosť !

