Fenotyp někdy svádí na scestí

aneb AML s neobvyklým fenotypem

Vladimíra Řezáčová

Ústav klinické imunologie a alergologie

Fakultní nemocnice Hradec Králové

Očekávaní od průtokové cytometrie v hematoonkologii

- Rychlá identifikace patologické populace
- Liniové zařazení patologických buněk
  - T linie (cCD3)
  - B linie (CD19, cCD79a)
  - Myeloidní linie (MPO)
- Stupeň diferenciace patologických buněk
- Stanovení aberrantního fenotypu
  - Využití pro následné MRN sledování

Výhody a limity průtokové cytometrie v hematoonkologii

- Rychlost – klinicky významná informace o liniovém původu a případně diferenciačním směru patologických buněk přichází v řádu hodin.
- Citlivost – analýza miliónů buněk (MRN)

- Ztráta architektury tkáně – na rozdíl od histologie dochází k rozrušení prostorové orientace buněk
- Riziko ztráty specifických buněčných populací - centrifugace a promývání
- Neurčuje definitivní diagnózu - současné klasifikaci je výrazně geneticky řízená´(její stanovení je v řádu dnů).

Podezření na AL

- CD7/CD45/CD15/HLADR/CD34/CD117/CD33/CD14
- CD20/CD45/CD58/CD22/CD10/CD34/CD19/CD123/CD38
- CD45/cMPO/cCD79a/CD34/CD117/cCD3

Podezření na AL – T lymfoidní linie

- CD7/CD45/CD15/HLADR/CD34/CD117/CD33/CD14
- CD20/CD45/CD58/CD22/CD10/CD34/CD19/CD123/CD38
- CD45/cMPO/cCD79a/CD34/CD117/cCD3

Zařazení blastických buněk do T lymfoidní linie vyžaduje silnou cytoplazmatickou nebo povrchovou expresi znaku CD3.
Pro detekci CD3 se doporučuje využívat jasné fluorochromy (PE, APC, Brilliant Violet)

5. Vydání WHO klasifikace (2022)

Podezření na AL – B lymfoidní linie

- CD7/CD45/CD15/HLADR/CD34/CD117/CD33/CD14
- CD20/CD45/CD58/CD22/CD10/CD34/CD19/CD123/CD38
- CD45/cMPO/cCD79a/CD34/CD117/cCD3

Zařazení blastických buněk do B lymfoidní linie vyžaduje silnou povrchovou expresi CD19 a jeden ze znaků: CD10, cCD22, cCD79a.
Při slabé povrchové expresi CD19 je vyžadováno prokázat alespoň další dva znaky: CD10, cCD22, cCD79a

5. Vydání WHO klasifikace (2022)

Podezření na AL – myeloidní linie

- CD7/CD45/CD15/HLADR/CD34/CD117/CD33/CD14
- CD20/CD45/CD58/CD22/CD10/CD34/CD19/CD123/CD38
- CD45/cMPO/cCD79a/CD34/CD117/cCD3

Pro zařazení blastických buněk do myeloidní linie vyžaduje stanovení cytoplazmatické exprese MPO

5. Vydání WHO klasifikace (2022)

Podezření na AL – monocytární diferenciace

- CD36/CD45/CD56/CD64/CD34/CD117/CD300e/CD14

Pro zařazení blastických buněk do monocytární diferenciace vyžaduje alespoň dvou monocytárních znaků: CD64, CD14, CD11c, lysozym, NSE

5. Vydání WHO klasifikace (2022)

Podezření na AL – Erytroidní diferenciace

- HLADR/CD45/CD36/CD105/CD34/CD117/CD33/CD71
- CD45/CD235a

Pro zařazení blastických buněk do erytrocytární diferenciace předpokládá expresi znaků: CD71, Glykoforinu A, CD36, E-cadherin nebo hemoglobin A
Negativita MPO a lymfoidních znaků

5. Vydání WHO klasifikace (2022)

Podezření na AL – Megakaryocytární diferenciace

- CD31/CD45/CD42a+CD61/CD41/CD34/CD117/CD33
- CD31/CD45/cCD61/cCD41/CD34/CD117/CD33

Pro zařazení blastických buněk do megakaryocytární diferenciace předpokládá expresi znaků: CD61,CD41, CD42b, CD36
Negativita MPO a lymfoidních znaků

5. Vydání WHO klasifikace (2022)

Podezření na AL – Akutní bazofilní leukémie

- CD4/CD45/CD300e/CD203c/CD34/CD117/CD123/CD14

Pro zařazení blastických buněk do bazofilní diferenciace předpokládá expresi znaku
CD123, CD203c, CD11b
Negativita MPO a lymfoidních znaků

5. Vydání WHO klasifikace (2022)

Podezření na AL – BPDCN

- CD4/CD45/CD300e/CD203c/CD34/CD117/CD123/CD14

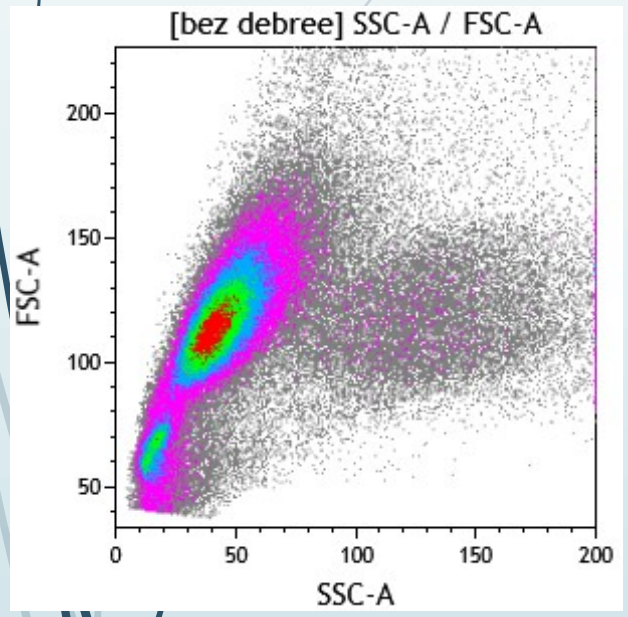
Stanovení BPDCN (Blastic Plasmacytoid dendritic Cell Neoplasm) předpokládá expresi:
CD123, CD4, CD56, HLADR
Negativita MPO a lymfoidních znaků

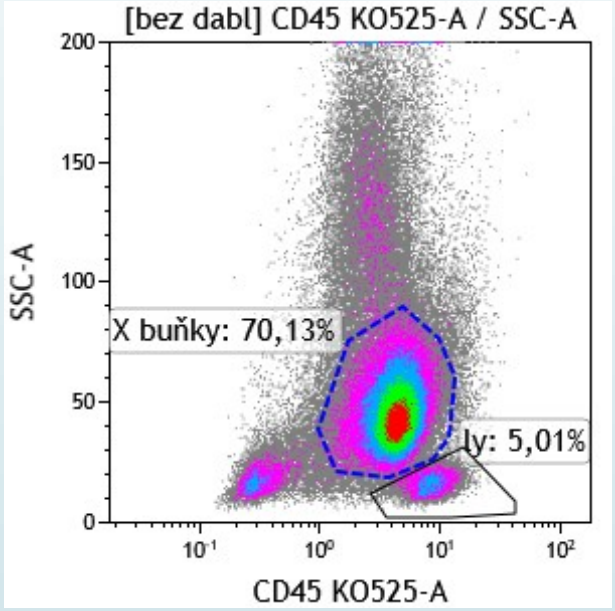
5. Vydání WHO klasifikace (2022)

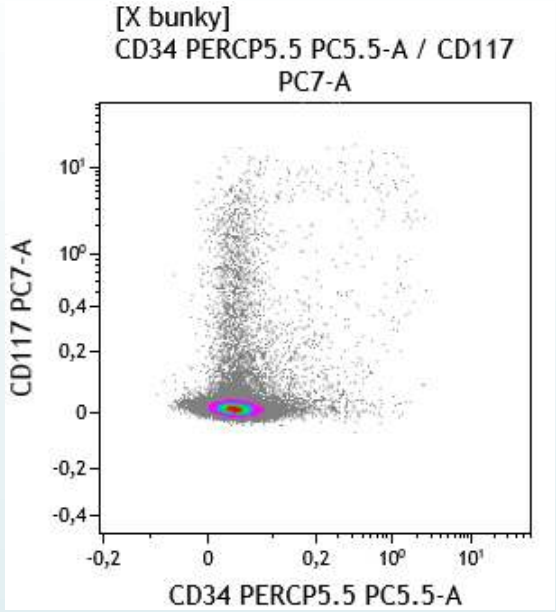
SJ 1963 – duben 2026

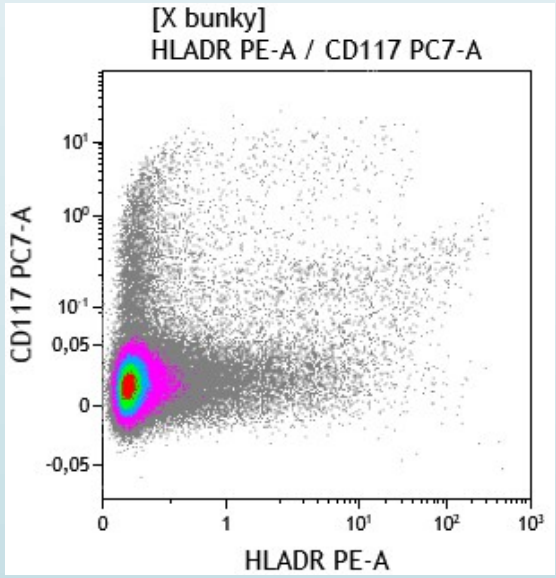
- Pacientka byla přivezena RZP pro dušnost a slabost trvající několik týdnů
- Za poslední 3 týdny zhubla cca 20kg
- Modřiny na HK
- Dle KO podezření na AL
  - Leukocyty: 112 x10 9/l
  - 85 % nezařaditelné buňky
- Odběr KD a provedena leukaferéza
  - Pátek odpoledne

SJ 1963
Znaky nezralosti

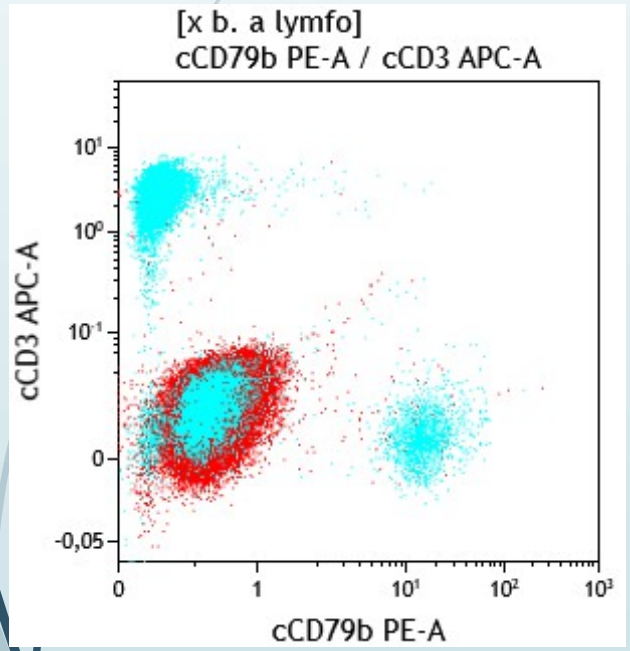


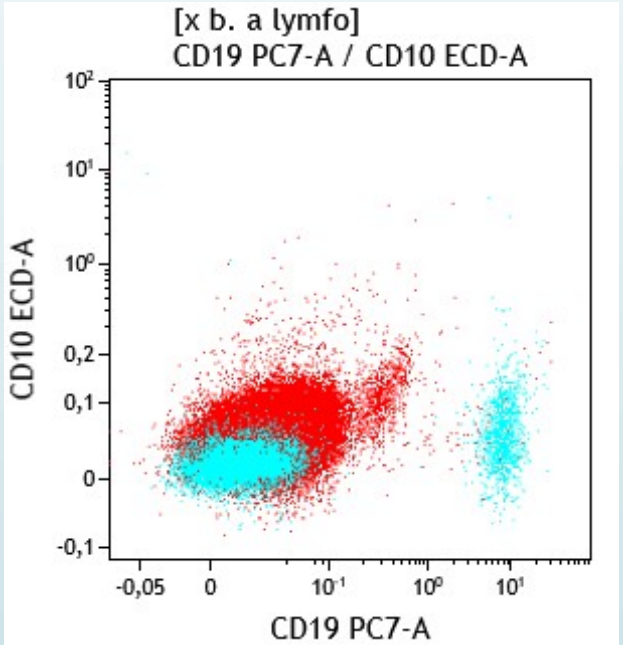


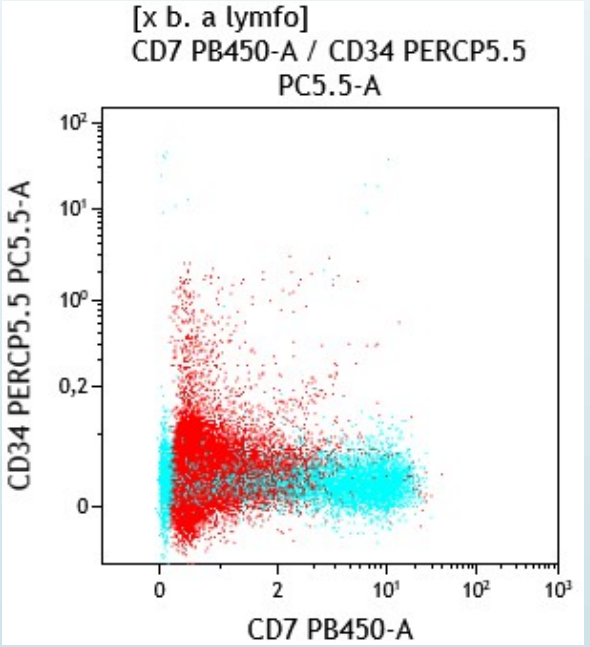




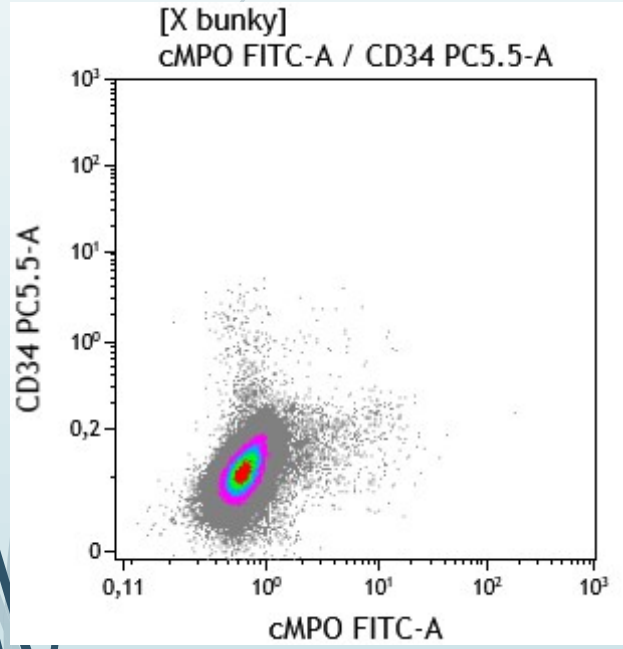
SJ 1963
B nebo T linie?

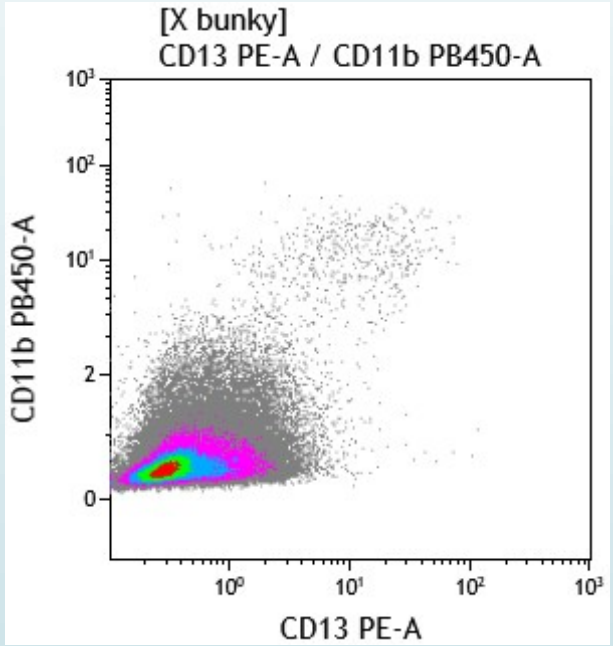


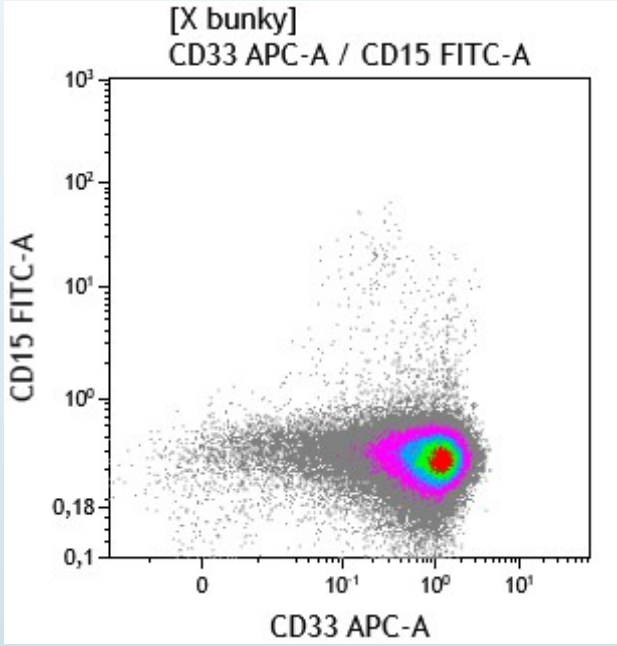




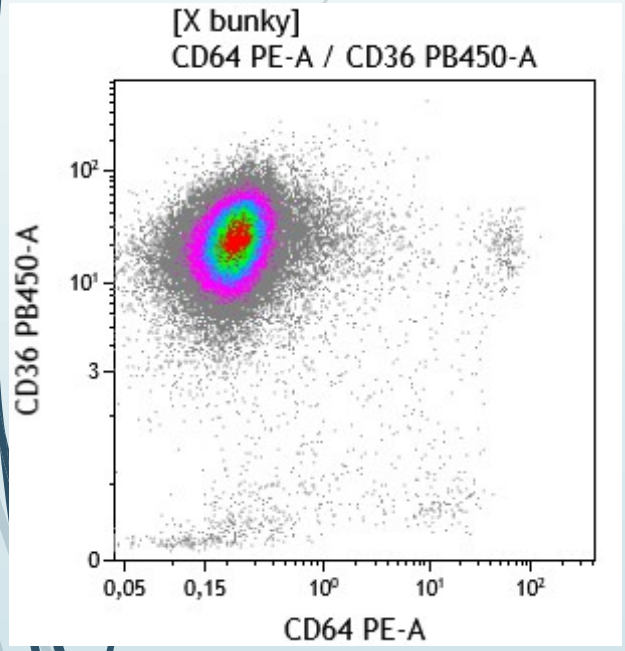
SJ 1963
Myeloidní linie?

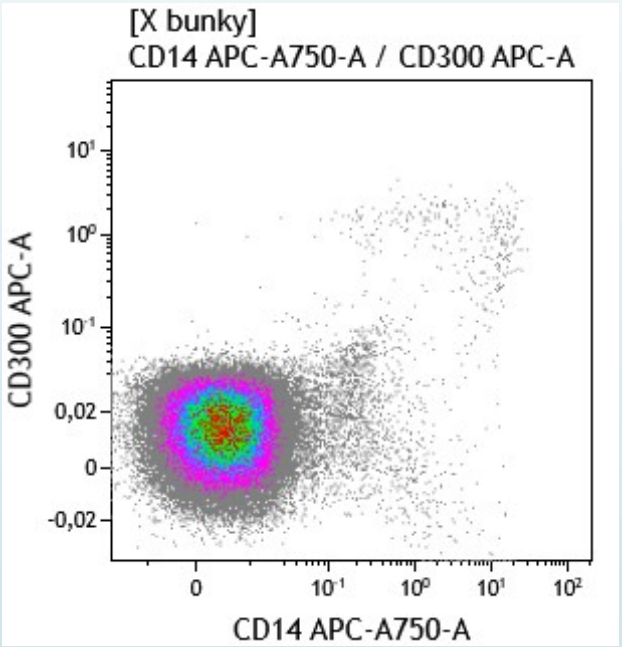


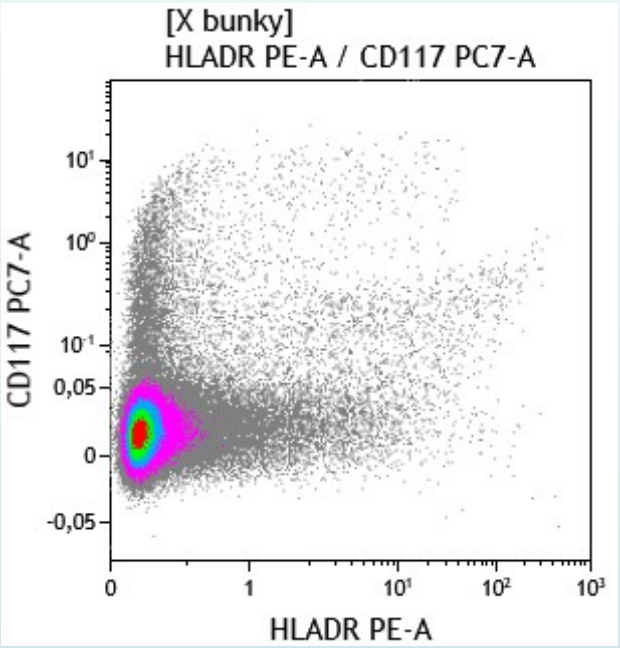




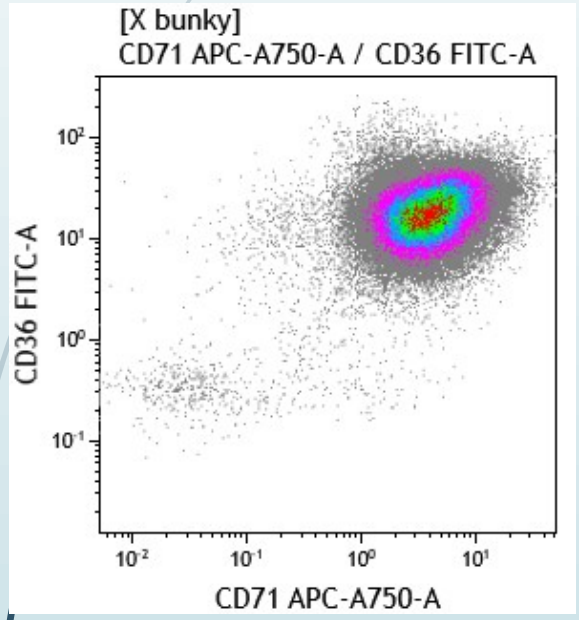
SJ 1963 Monocytární diferenciace?

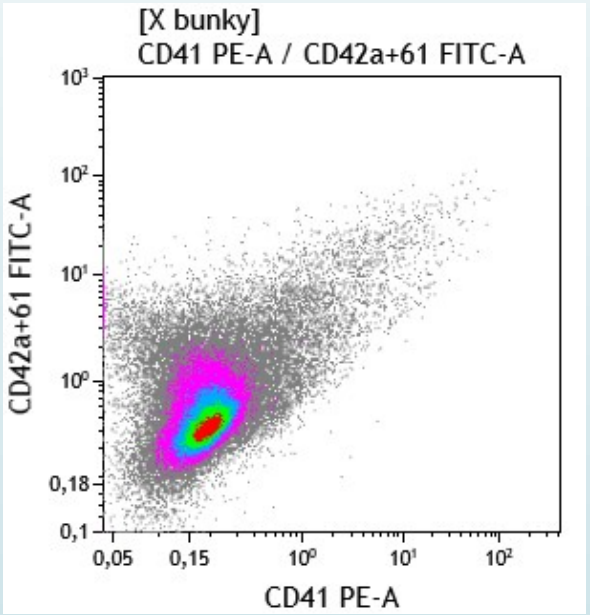


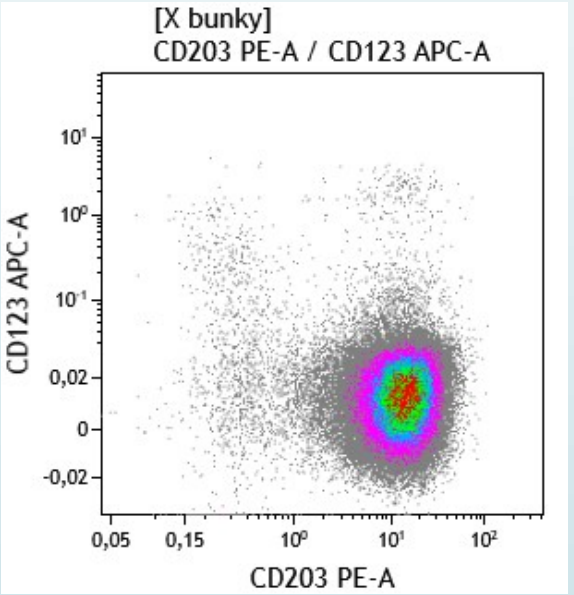




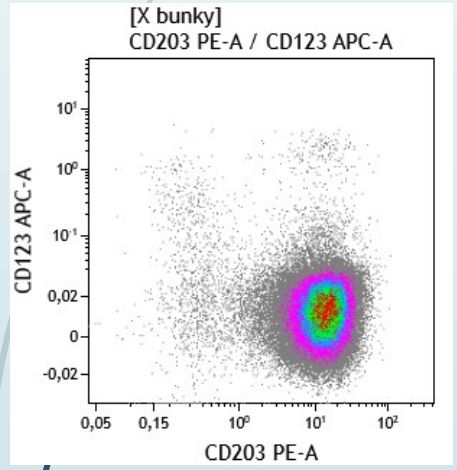
SJ 1963
Erytroidní / megakaryocytární / basofilní / BPDCN

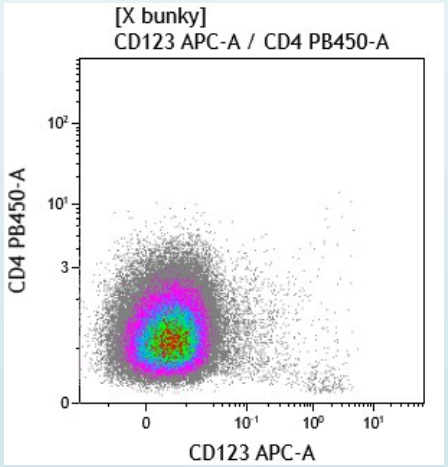


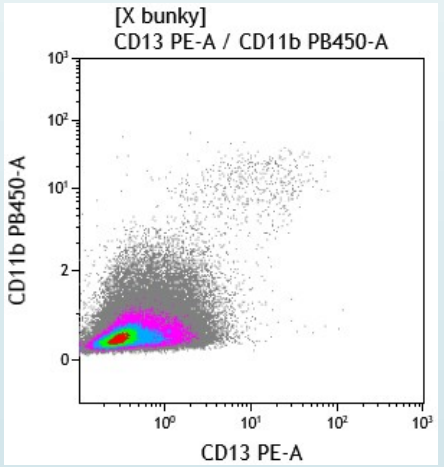


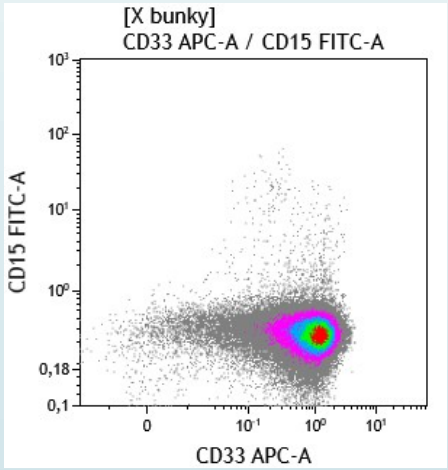


SJ 1963
Bazofilní leukémie???

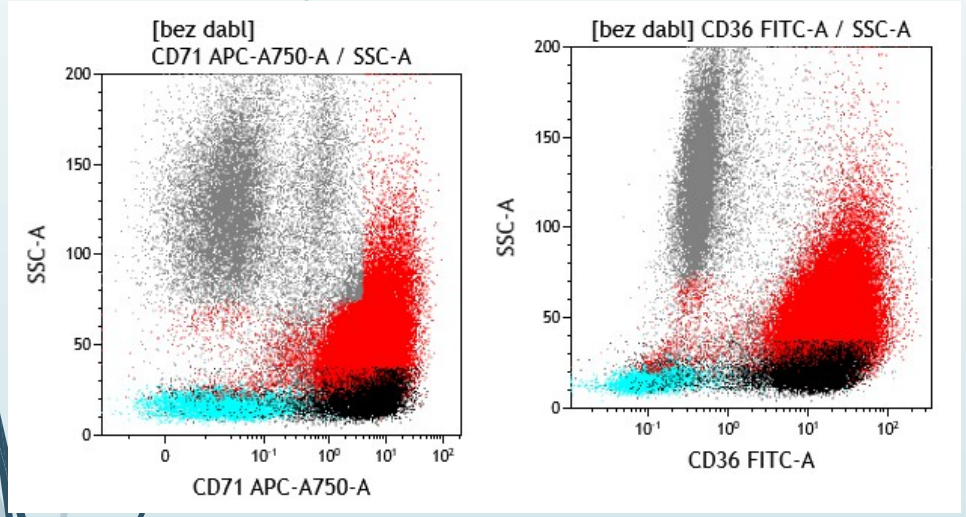


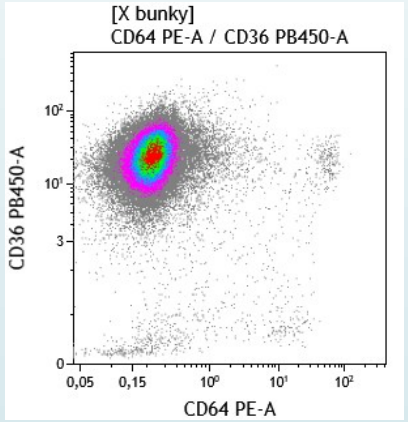


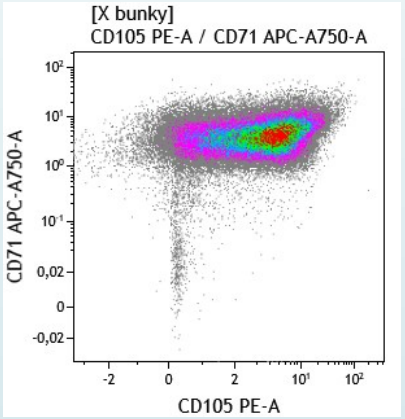


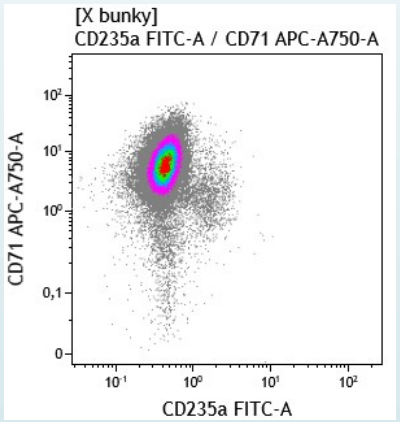


SJ 1963
Akutní erytroidní leukémie?

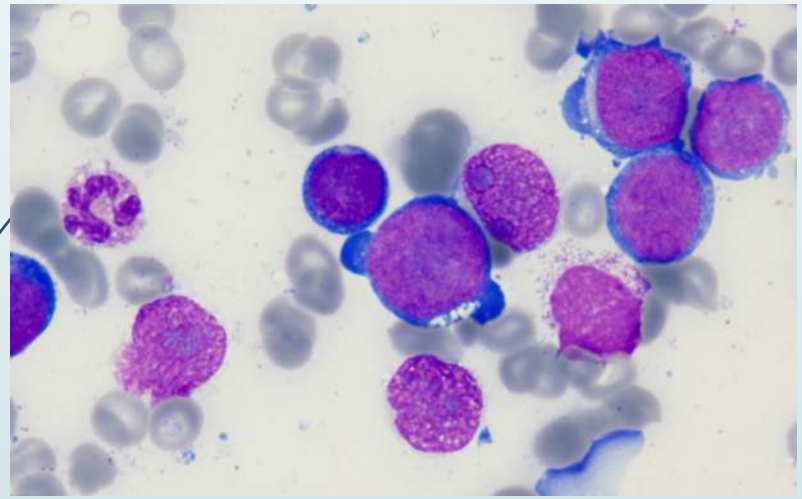


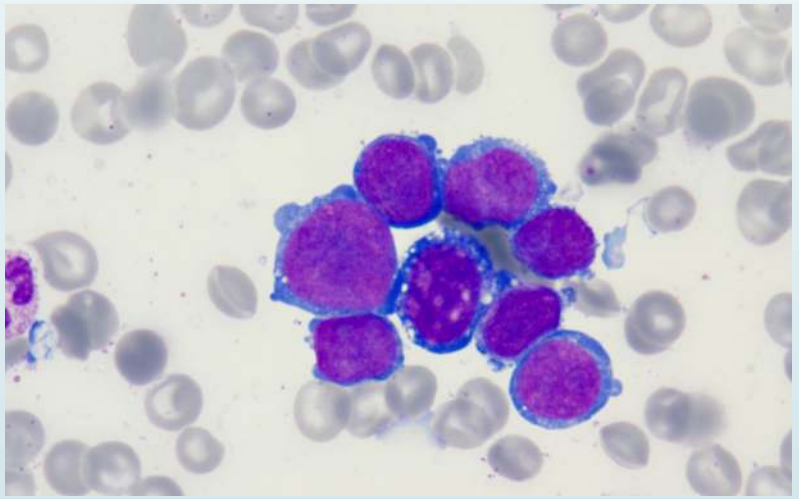






Morfologické okénko





SJ 1963
Diagnostické rozuzlení

- Flow cytometrický závěr: CD33++, CD203++, CD71++, CD36++, CD105+, CD34-, HLADR-, CD117-, cCD3-, cCD79a-, CD19-, MPO- = Akutní myeloidní leukémie se susp. erytroidní differenciací a CD203 aberantní expresí

SJ 1963
Diagnostické rozuzlení

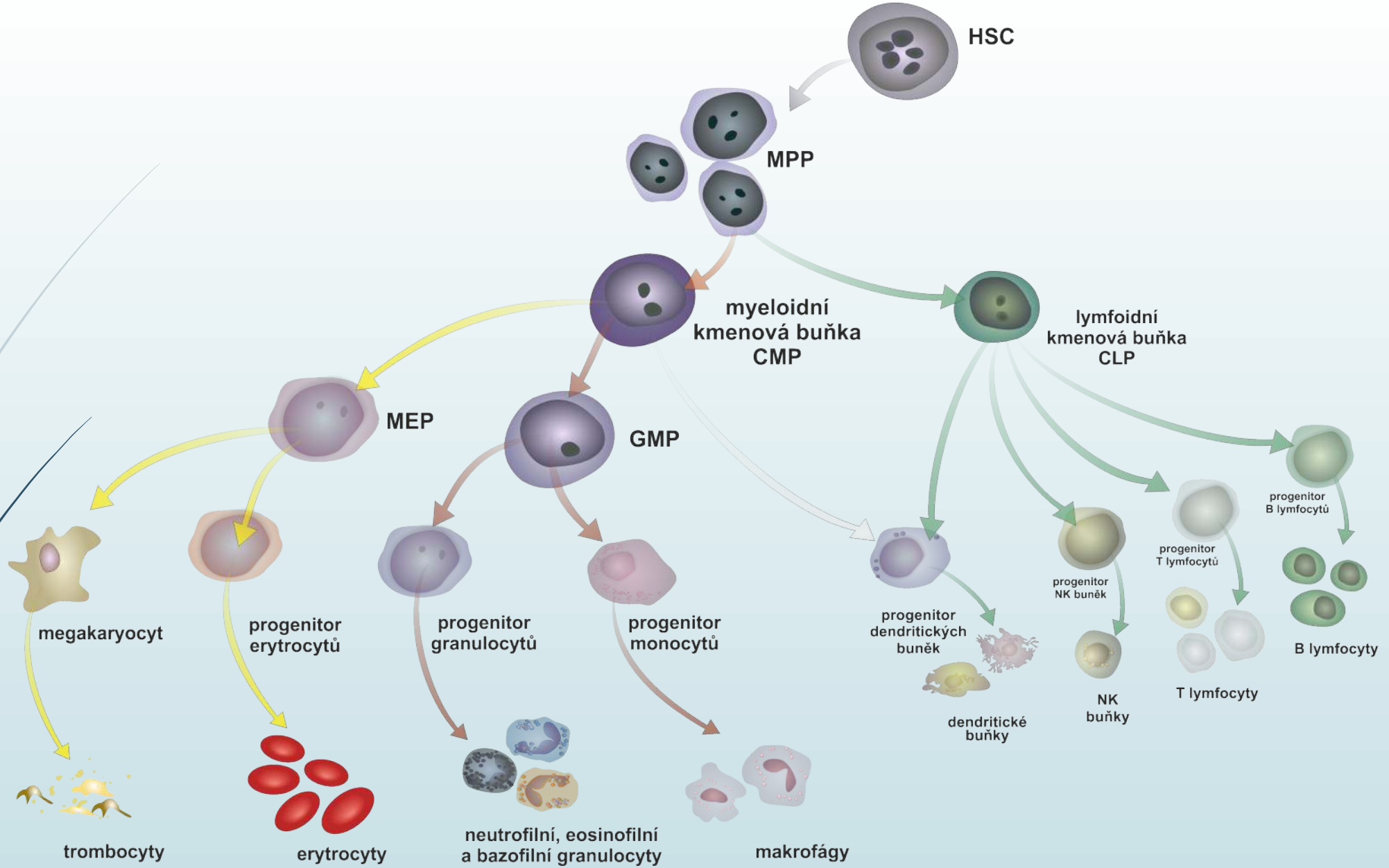
- Flow cytometrický závěr: CD33++, CD203++, CD71++, CD36++, CD105+, CD34-, HLADR-, CD117-, cCD3-, cCD79a-, CD19-, MPO- = Akutní myeloidní leukémie se susp. erytroidní differenciací a CD203 aberantní expresí
- GENETIKA
  - BCR-ABL pozitivní (Komplexní karyotyp: 51, XX,+8,t(9;22)(q34;q11) + der (22)t(9;22)(q34;q11), +10, +13+, 15)
  - Extrémně vzácná BCR-ABL1+ AML; nelze vyloučit blastický zvrat CML

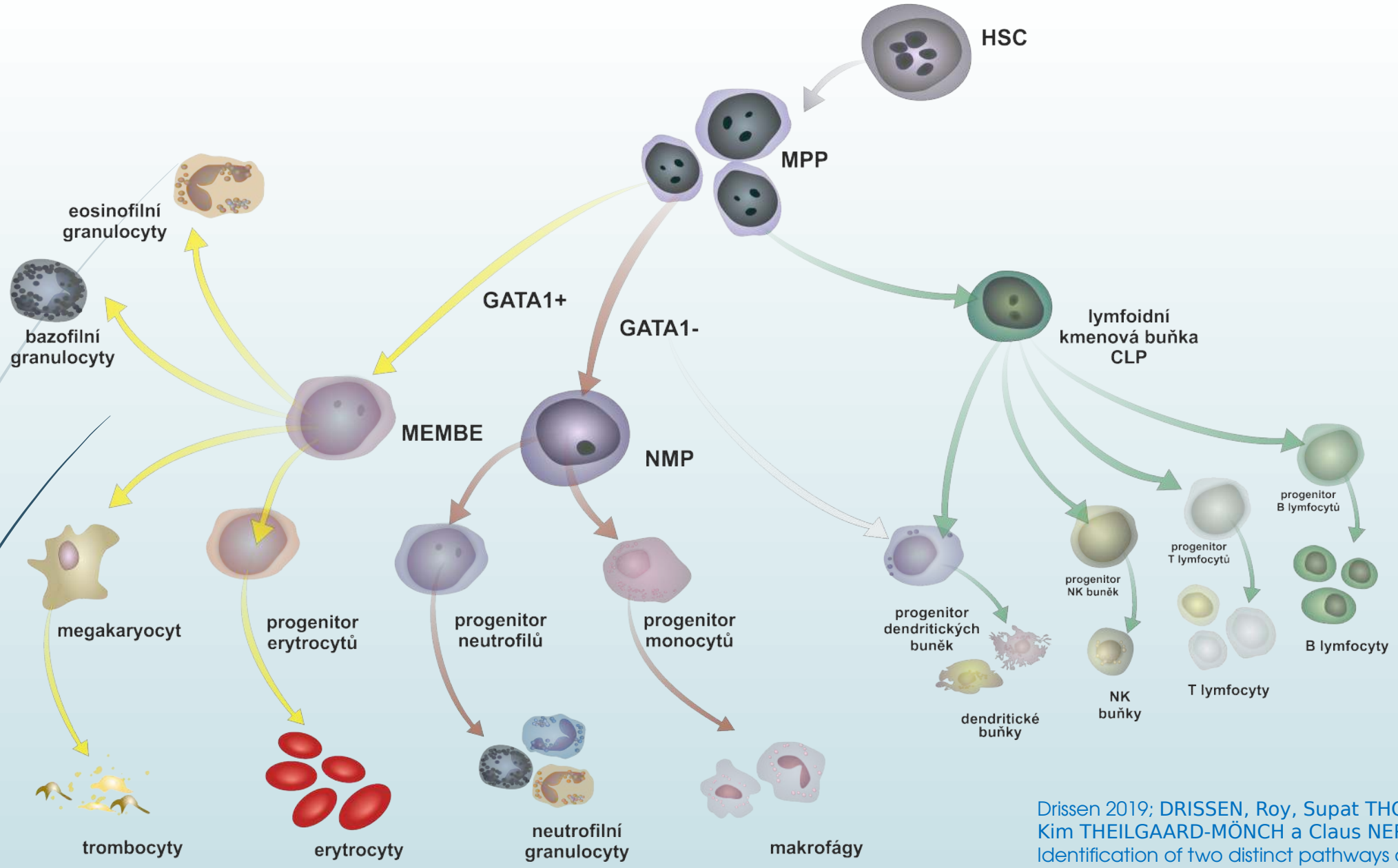
SJ 1963
Diagnostické rozuzlení

- Flow cytometrický závěr: CD33++, CD203++, CD71++, CD36++, CD105+, CD34-, HLADR-, CD117-, cCD3-, cCD79a-, CD19-, MPO- = Akutní myeloidní leukémie se susp. erytroidní differenciací a CD203 aberantní expresí
- GENETIKA
  - BCR-ABL pozitivní (Komplexní karyotyp: 51, XX,+8,t(9;22)(q34;q11) + der (22)t(9;22)(q34;q11), +10, +13+, 15)
  - Extrémně vzácná BCR-ABL1+ AML; nelze vyloučit blastický zvrat CML
- Vysoké riziko dle ELN 2022
  - Kompletní deregulace diferenciačních programů, genomická nestabilita, extrémně agresivní chování a velmi nepříznivá prognóza
- Paliativní přístup; úmrtí za 3 měsíce

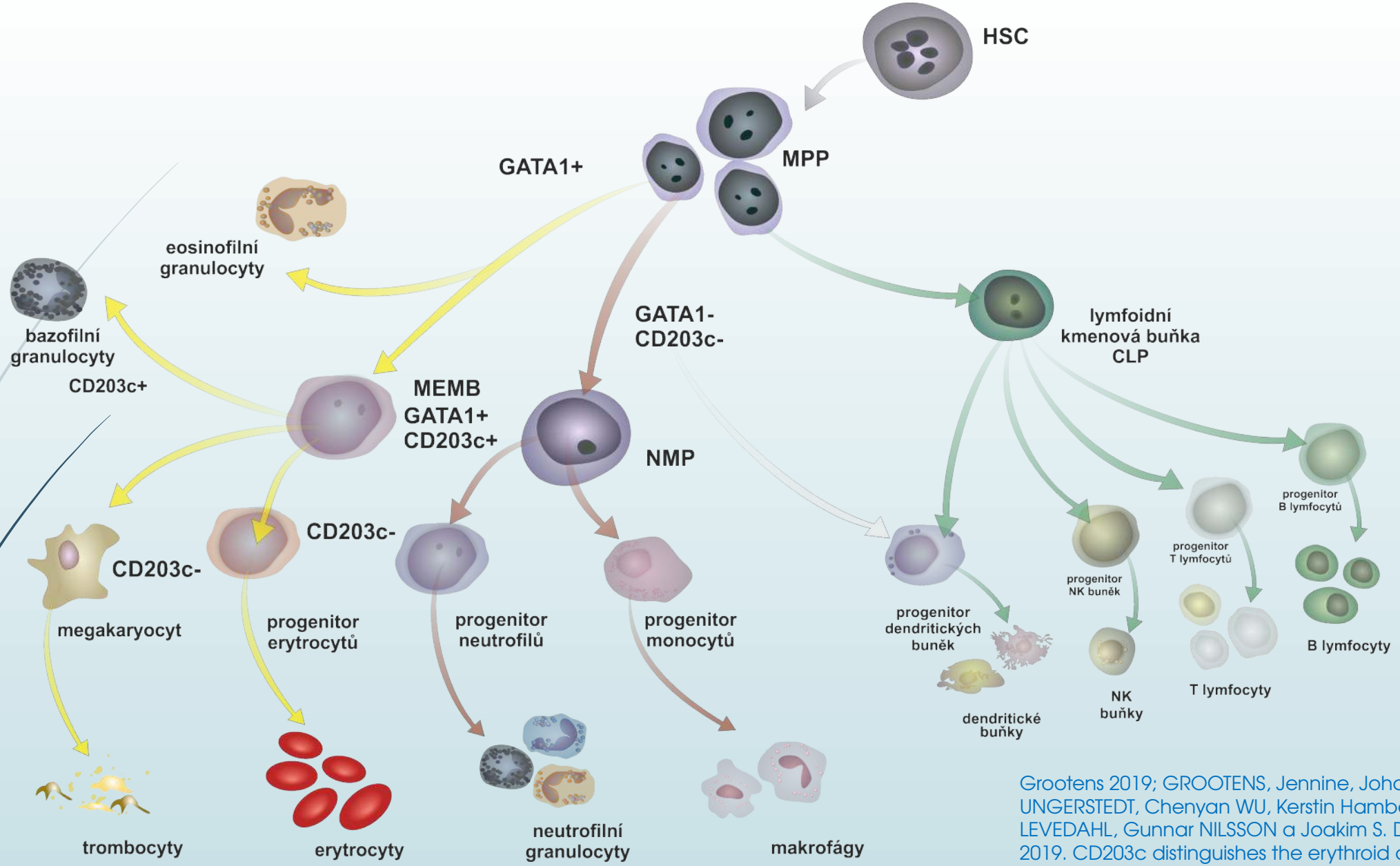
Nový pohled na ontogenezi hematopoetických buněk

Sváděl nás imunofenotyp na scestí?

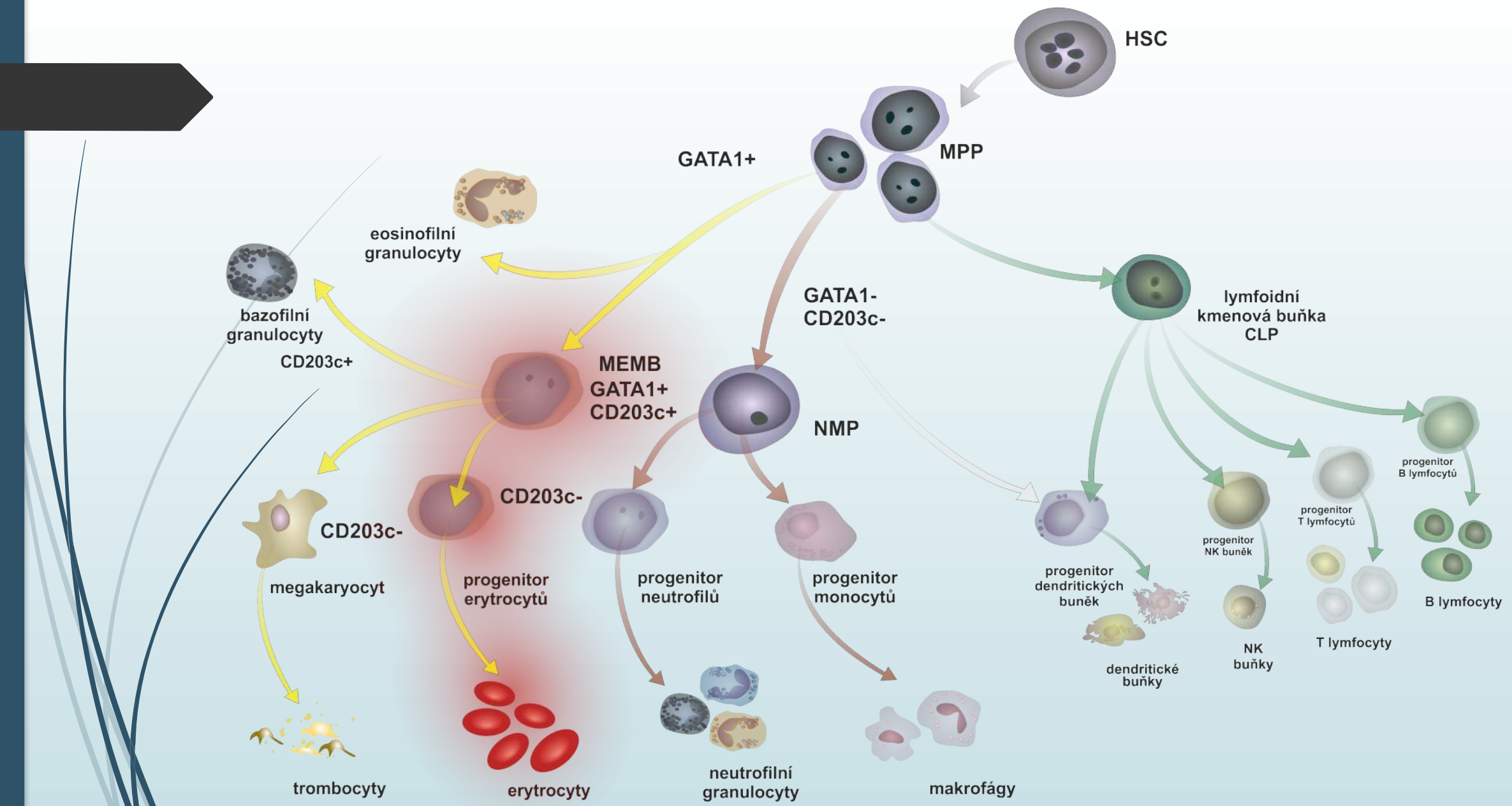

HSC
MPP
myeloidní
kmenová buňka
CMP
lymfoidní
kmenová buňka
CLP
MEP
GMP
megakaryocyt
progenitor
erytrocytů
progenitor
granulocytů
progenitor
monocytů
progenitor
dendritických
buněk
progenitor
NK buněk
progenitor
T lymfocytů
progenitor
B lymfocytů
trombocyty
erytrocyty
neutrofilní, eosinofilní
a bazofilní granulocyty
makrofágy
dendritické
buňky
NK
buňky
T lymfocyty
B lymfocyty



Drissen 2019; DRISSEN, Roy, Supat THONGJUEA, Kim THEILGAARD-MÖNCH a Claus NERLOV, 2019. Identification of two distinct pathways of human myelopoiesis. *Science Immunology* (online). **4**(35), eaau7148.



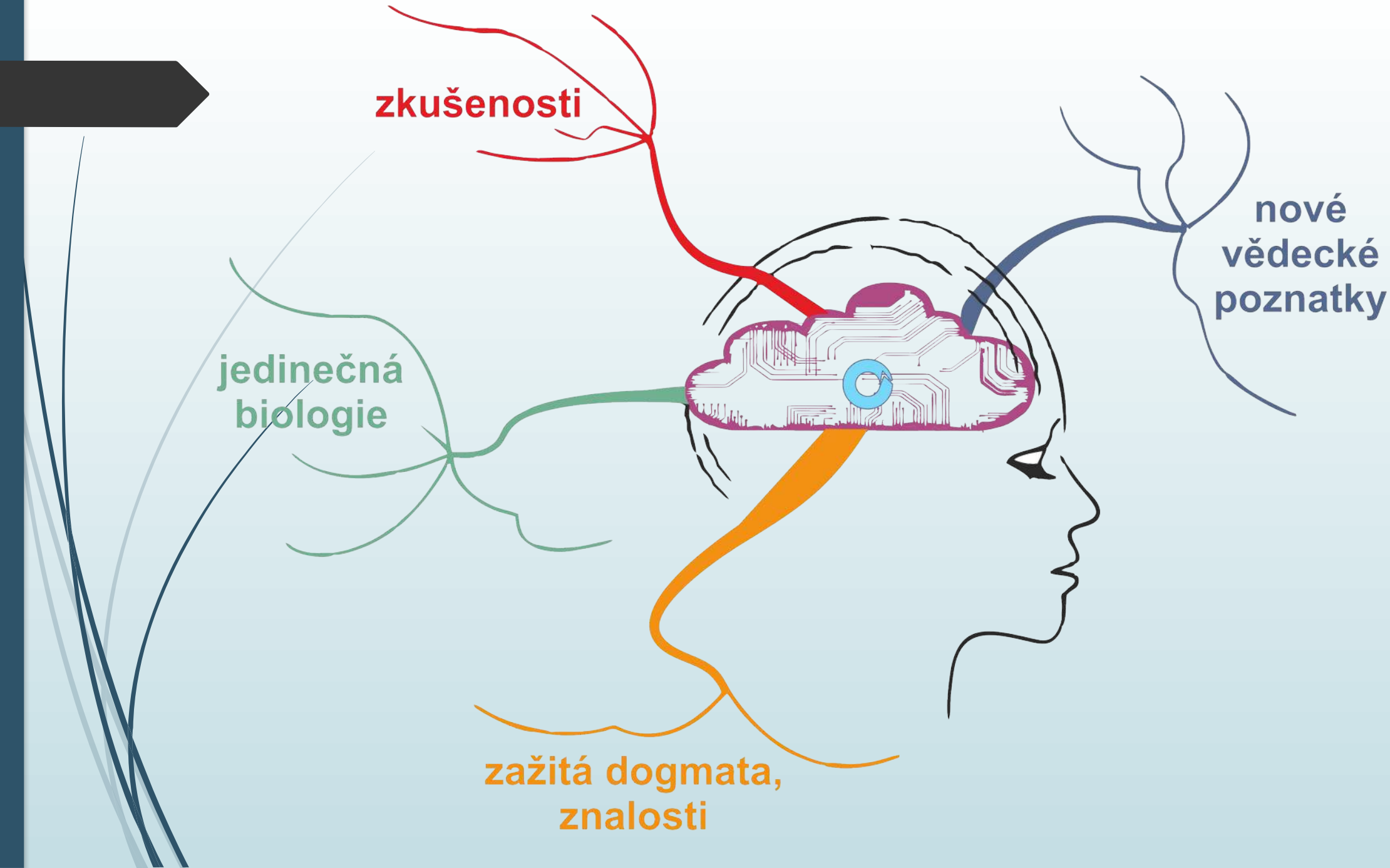
Grootens 2019; GROOTENS, Jennine, Johanna S. UNGERSTEDT, Chenyan WU, Kerstin Hamberg LEVEDAHL, Gunnar NILSSON a Joakim S. DAHLIN, 2019. CD203c distinguishes the erythroid and mast cell-basophil differentiation trajectories among human FcεRI+ bone marrow progenitors. *Allergy* (online). **75**(1), 212-215.



Grootens 2019 a Drissen 2019

ZÁVĚR

- Zdánlivě neobvyklá kombinace znaků byla odrazem reálných vývojových procesů v kostní dřeni.
- Koexprese CD203c++, CD36++, CD71++, CD105+ odpovídá buňce, MEMB progenitoru, který masivně spustil erytroidní program, ale nevypl znak CD203c


zkušenosti
nové
vědecké
poznatky
jedinečná
biologie
zažitá dogmata,
znalosti