Krajská nemocnice Liberec, a.s.

Vzácnější hematoonkologické nálezy perspektivou zkumavek ClearLLab

Tomáš Zajíc
KNL, a.s.

Pracovní setkání průtokové cytometrie, Velké Karlovice, 4.- 6.10.2026

Úloha průtokové cytometrie

- doplňkové vyšetření, které je součástí mozaiky diagnostického procesu
- v některých případech může být stěžejní
- na úrovni nižšího pracoviště pomáhá urychlení a správnému nasměrování pacienta na vyšší pracoviště
- poskytuje oporu diagnostickým metodám, které mají pro konkrétní onemocnění vyšší důležitost

Panely ClearLLab 10C splňují výše uvedené požadavky - **screening a orientační klasifikace**

- odhalení populace s patologickým fenotypem
- vymezení základní diferenciální diagnostiky
- přesnější dourčení až na základě podrobnějšího imunofenotypu
- nutná korelace s dalšími výsledky a klinickým stavem
- nemohou zachytit kompletní spektrum hematoonkologie

Složení panelů

	Blue Laser					Red Laser			Violet Laser	
	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
B Cell Tube	Kappa	Lambda	CD10	CD5	CD200	CD34	CD38	CD20	CD19	CD45
T Cell Tube	TCRγδ	CD4	CD2	CD56	CD5	CD34	CD7	CD8	CD3	CD45
M1 Cell Tube	CD16	CD7	CD10	CD13	CD64	CD34	CD14	HLA-DR	CD11b	CD45
M2 Cell Tube	CD15	CD123	CD117	CD13	CD33	CD34	CD38	HLA-DR	CD19	CD45

B-ALL

CD45/SSC „blast gate“ (vyzrávající B-lymfocyty)

B-linie: **CD19,** cyCD79a a cy/sCD22
Dále: TdT, CD10, CD20, cyIgM a povrchový imunoglobulin

Aberantně: CD13, CD33 či další

myeloidní linie: MPO

T-linie: cy/sCD3

MPAL (mixed phenotype acute leukemia)

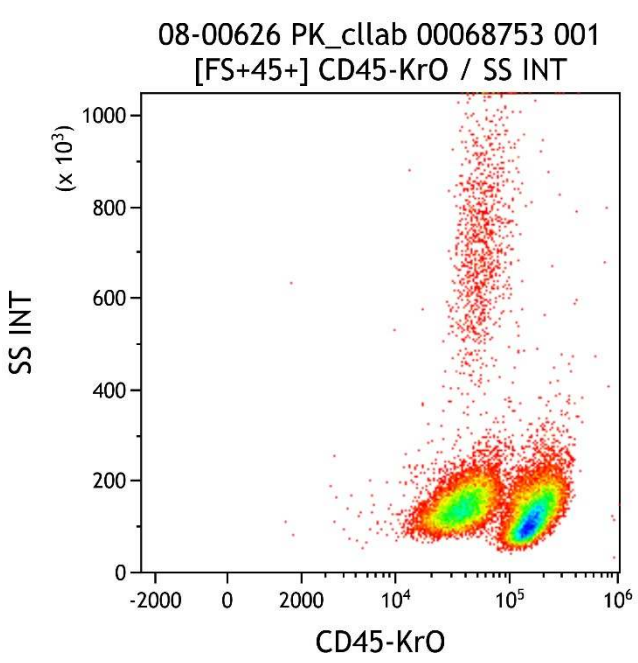
B-ALL

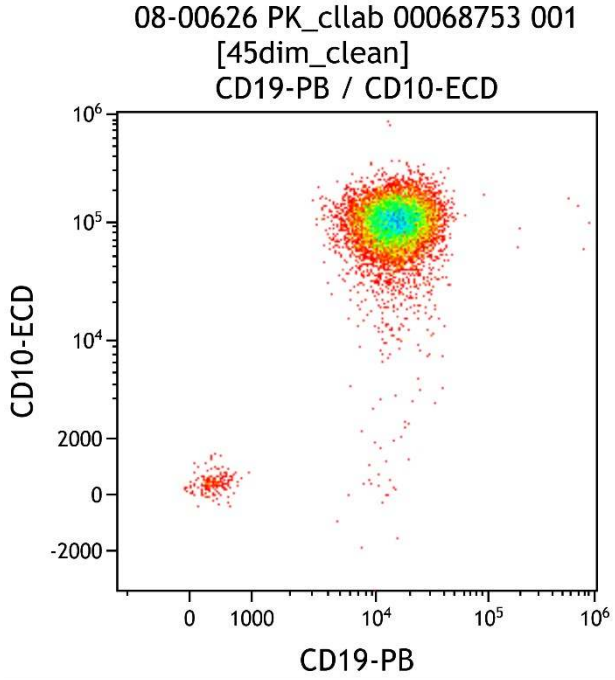
Fenotyp	Stadium
CD19+, CD10−, cyIgM−	pro-B / B-I
CD19+, CD10+, cyIgM−	common B / B-II
CD19+, CD10+, cyIgM+	pre-B / B-III
sIg+	mature B phenotype / B-IV

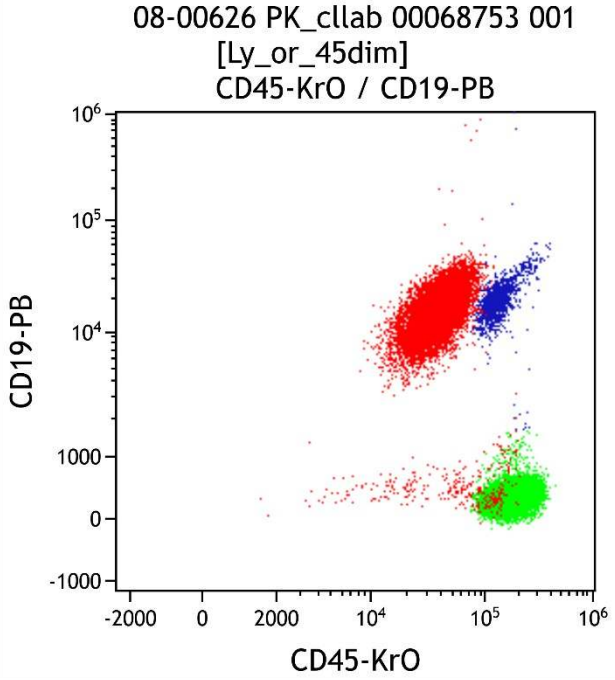
EGIL 1995
X
genetika

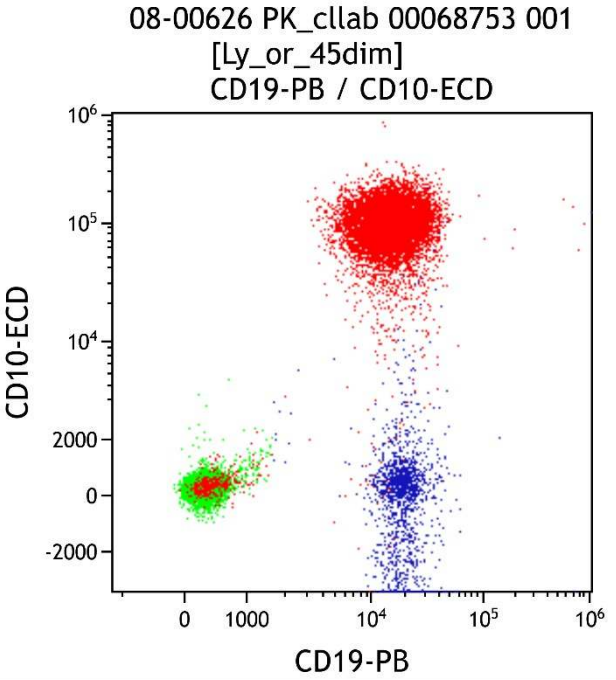
B-ALL

Vyšetření periferní krve průtokovou cytometrií.
V rámci leukocytů periferní krve tvoří asi 38% populace s následujícím fenotypem: CD45dim, CD34-, CD19+, CD10+, CD20-, LC-, CD38+, HLADR+, cyTdT+, cyCD79a+, cyCD22+, cyCD3-, MPO-, CD117-

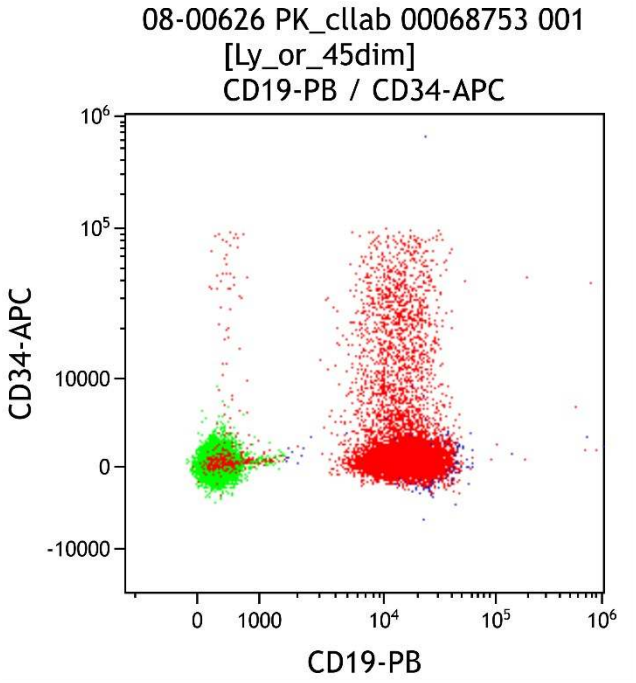


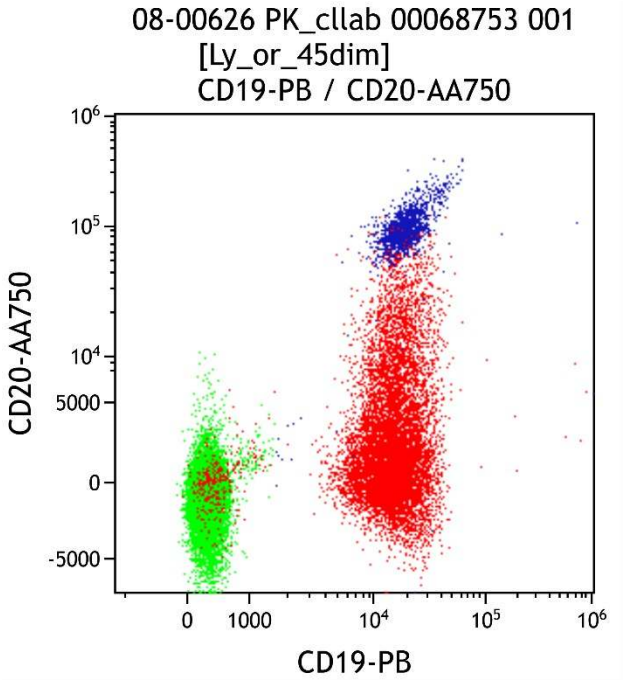


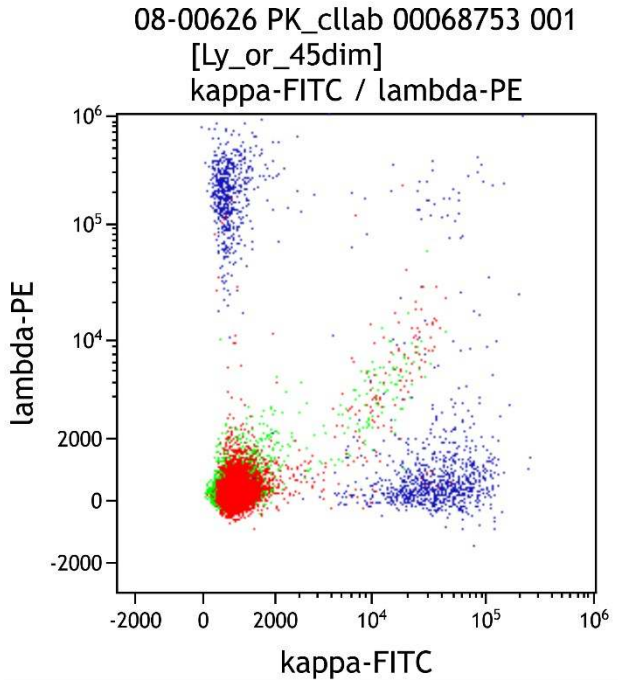




B-ALL

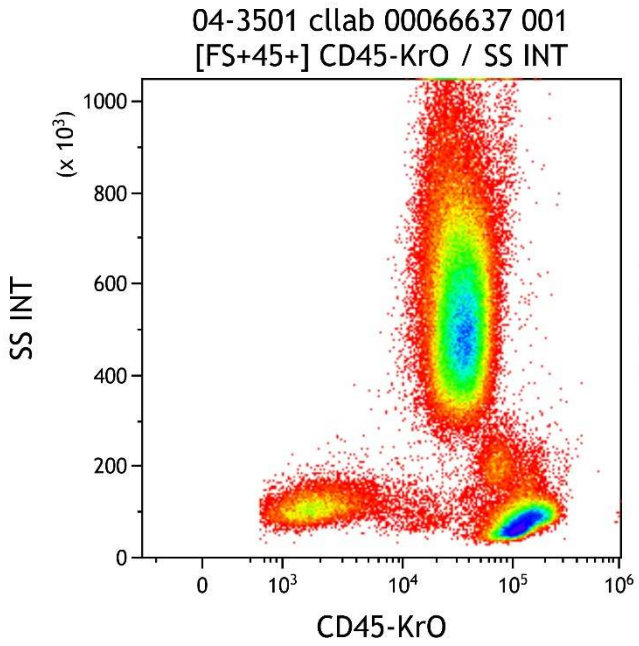

08-00626 PK_cllab 00068753 001
[Ly_or_45dim]
CD19-PB / CD34-APC
CD34-APC
CD19-PB

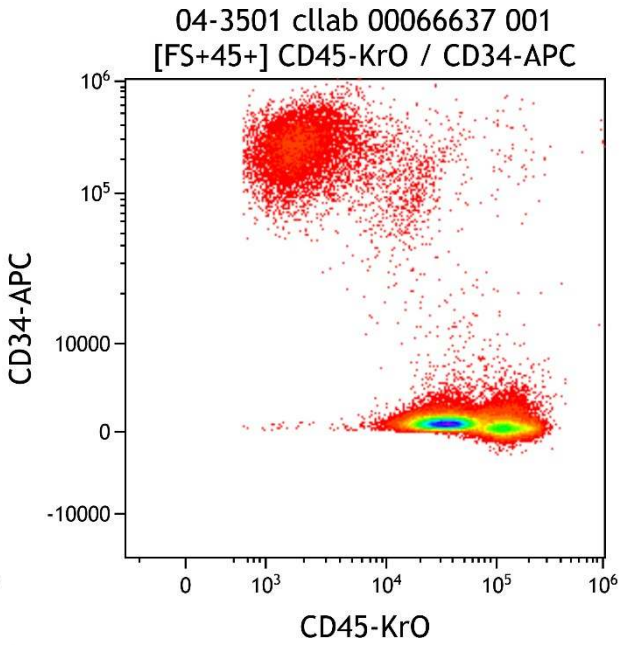

08-00626 PK_cllab 00068753 001
[Ly_or_45dim]
CD19-PB / CD20-AA750
CD20-AA750
CD19-PB

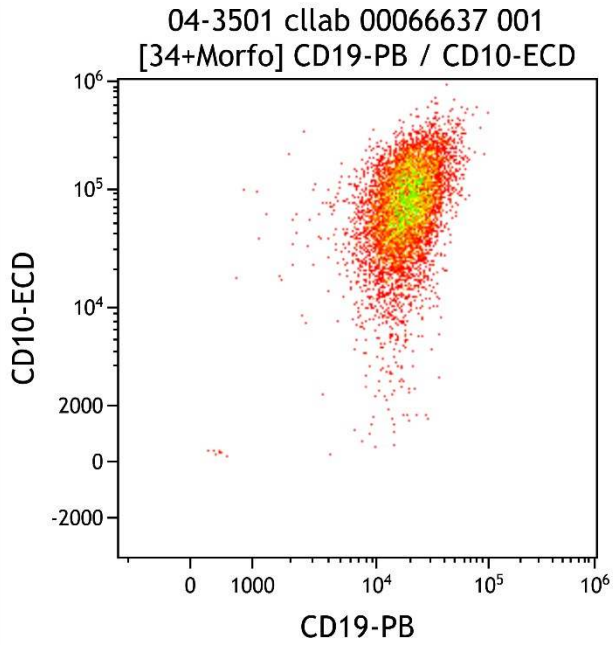

08-00626 PK_cllab 00068753 001
[Ly_or_45dim]
kappa-FITC / lambda-PE
lambda-PE
kappa-FITC

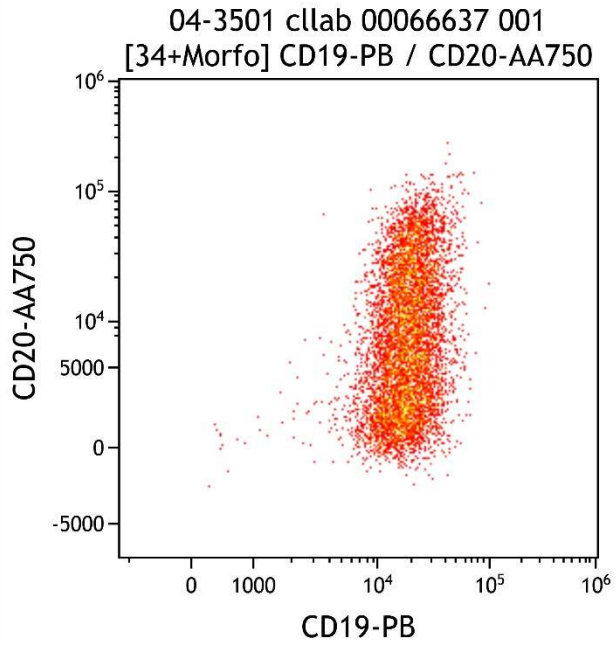
B-ALL

Vyšetření periferní krve průtokovou cytometrií. Požadavek: blasty v PK
V rámci leukocytů tvoří asi 7% B-lymfoblasty s fenotypem: CD45 slabě, CD34+, CD19+, LC-, CD5-, CD10+, HLADR+, CD38 slabě, CD20+, cyCD79a+, cyCD22+, CD117-, CD13-, CD33-, cyCD3-, MPO-

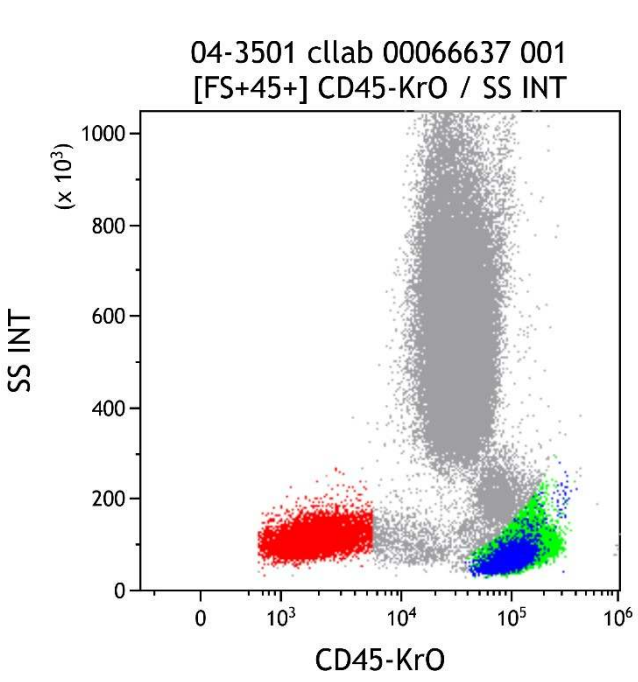


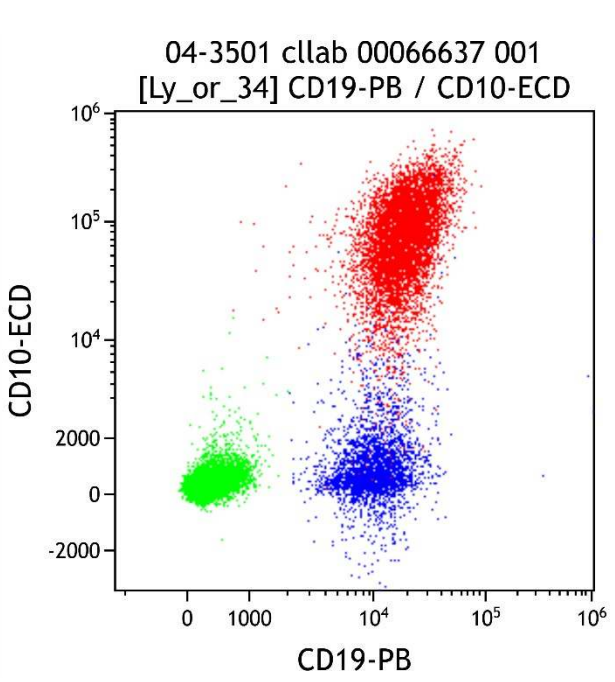


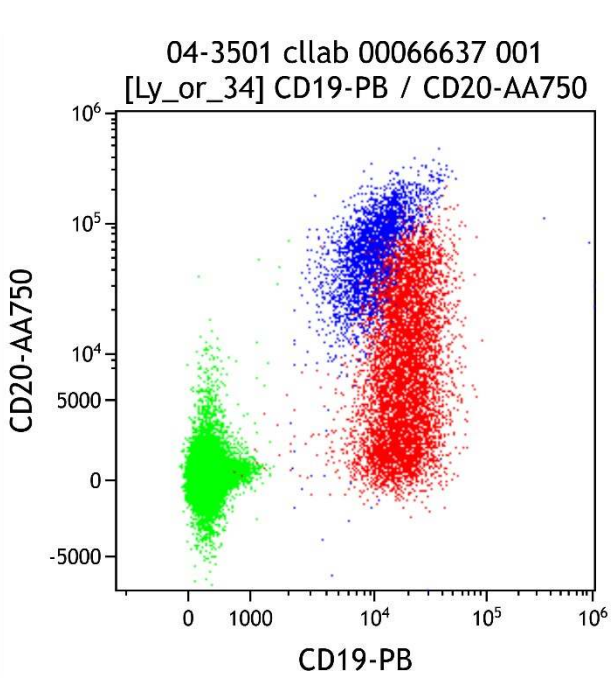


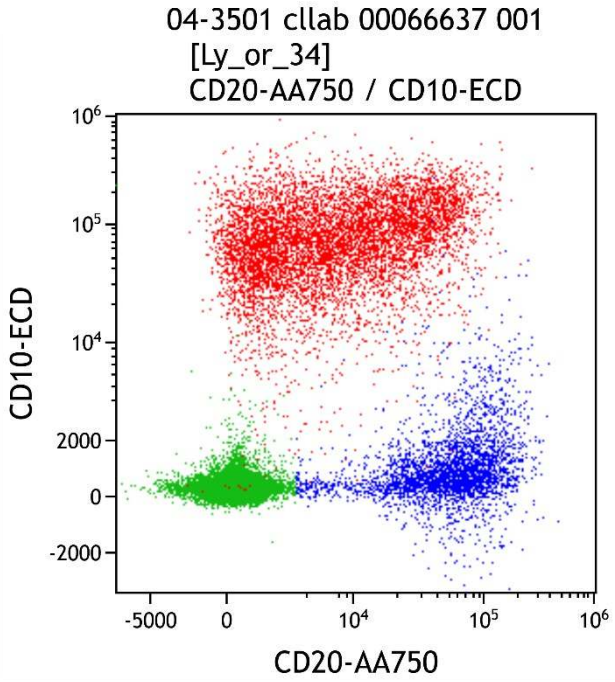


B-ALL


04-3501 cllab 00066637 001
[FS+45+] CD45-KrO / SS INT
SS INT
(x 10³)
CD45-KrO


04-3501 cllab 00066637 001
[Ly_or_34] CD19-PB / CD10-ECD
CD10-ECD
CD19-PB


04-3501 cllab 00066637 001
[Ly_or_34] CD19-PB / CD20-AA750
CD20-AA750
CD19-PB


04-3501 cllab 00066637 001
[Ly_or_34]
CD20-AA750 / CD10-ECD
CD10-ECD
CD20-AA750

B-ALL

ÚHKT, periferní krev
NÁLEZ:
cca 28 % leukemických buněk B-lymfoidního, fenotypem:
pozitivní znaky: CD45slabě, CD10, CD19, CD34, CD20, cCD22, cCD79a, HLA-DR
Negativní znaky: cCD3/CD3, MPO
Imunofenotypizační vyšetření periferní krve metodou průtokové cytometrie (viz nález) prokázalo cca 28 % populace leukemických blastů B-lymfoidního původu odpovídající diagnóze B- lymfoblastické leukémie/lymfomu (WHO 2022), prekurzorové B-lymfoblastické leukemie common (B-II) typu, bcr-abl1+ (EGIL 1995).
Poznámka: patologický klon je CD19, CD20 a CD22 poz. (>20% blastů)

Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)

Typická je generalizovaná lymfadenopatie, B-symptomy, kožní projevy, polyklonální hypergamaglobulinemie, autoimunita

nTFHL nepostihuje pouze lymfatické uzliny - Periferní krev a kostní dřeň i další lokality

Základ diagnózy tvoří histologie + průkaz TFH fenotypu **(**PD-1/CD279 silně, ICOS, CXCL13, CD10, BCL6) + molekulární genetika

Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)

PET/CT staging
nodální PTCL jsou prakticky vždy FDG-avidní.

Z á v ě r:

Rozsáhlá hypermetabolická nad- i podbrániční lymfadenopatie,

postižení sleziny - odpovídá agresivnímu lymfomu..

Hypermetabolická ložiska v blízkosti peritoneálního listu,

volná tekutina intraabdominálně

- susp. infiltace peritonea.

Prosáknutí podkoží pravého stehna

- vhodné doplnění Doppler cév pravé dolní končetiny k vyloučení event. trombózy

- překážku odtoku žilní krve tvoří lymfadenopatie pánve.

Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)

nTFHL, zejména AI typ, je charakteristický výraznou stimulací B buněk.

- polyklonální B hyperplazie,
- plasmacytosa
- imunoblasty,
- EBV+ B buňky

V nTFHL mohou vznikat i sekundární:

- DLBCL,
- EBV+ B-LPD,
- Hodgkin-like proliferace.

V pozadí může být velké množství:

- reaktivních CD4/CD8 T buněk
- eosinofilů
- histiocytů

Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)

Typický fenotyp:

CD2+, CD4+, CD5+, CD8−, CD3 dim/−, TCRαβ dim/−, CD7−/dim, často CD10, CD279/PD-1 silně, CD26+, (TCRCB1/2)

CD2 a CD5 často zachované; CD3 a CD7 častěji aberantní.

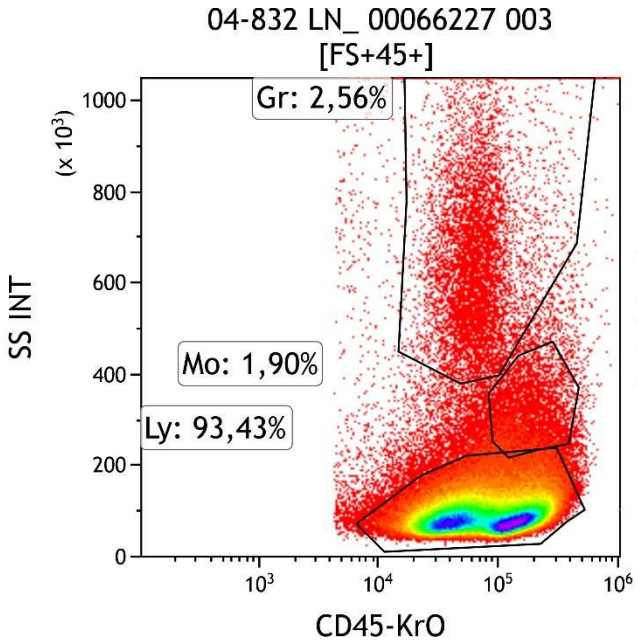
Reaktivní TFH:

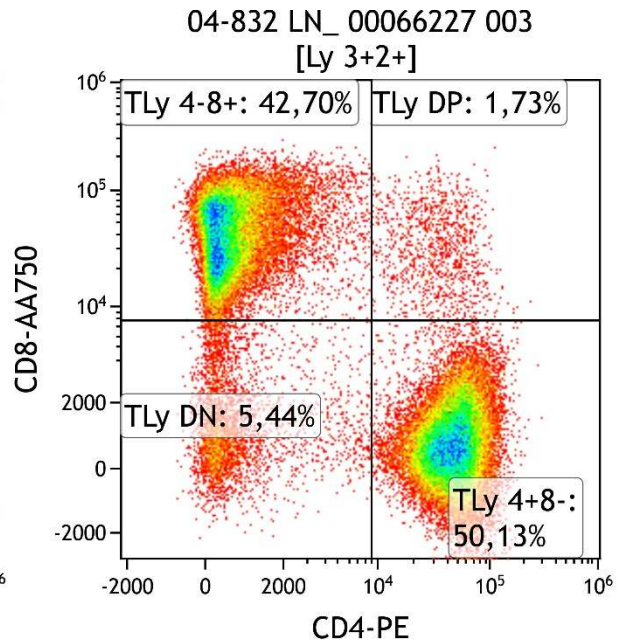
omezené na GC, zachované CD2/CD3/CD5/CD7, polyklonální TCR

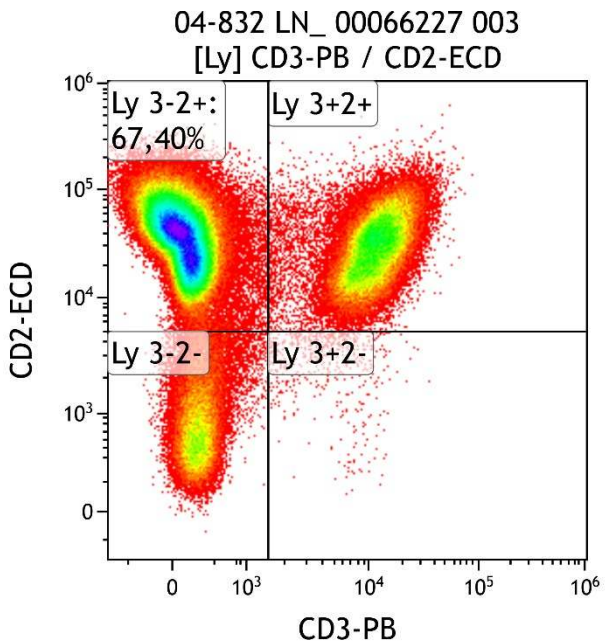
SS/MF: podobný fenotyp
rozdíly převážně CD26, CD10, CD279

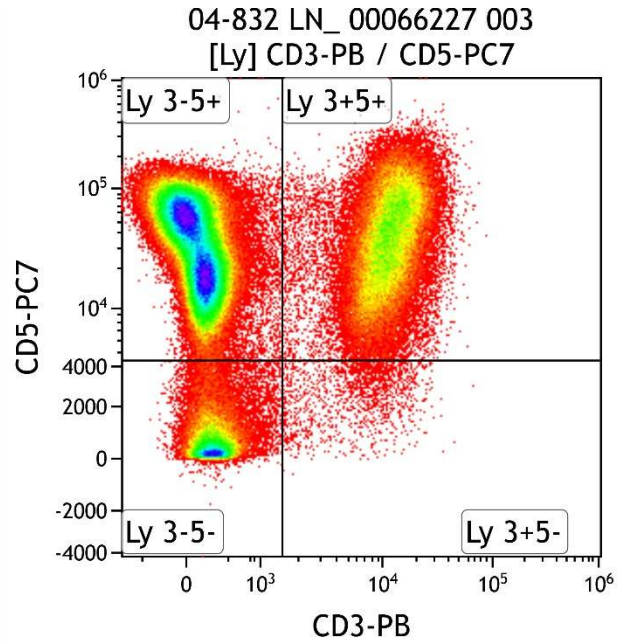
Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)

Materiál: lymfatické uzliny z levé axilly
V rámci T lymfocytů dominuje populace s následujícím imunofenotypem: **CD2+**, **CD3-**, cyCD3+, **CD4+**, CD5+, CD7+, CD8-, TCRGD-, TCRCB1-, **TCRCB2+**, CD56-, CD10 slabě, CD25-, CD26 slabě, CD30-, cyTdT-, CD1a-, CD38+, CD27+, CD28+, CD45RA-, CD197-, CD57-, **CD279+**

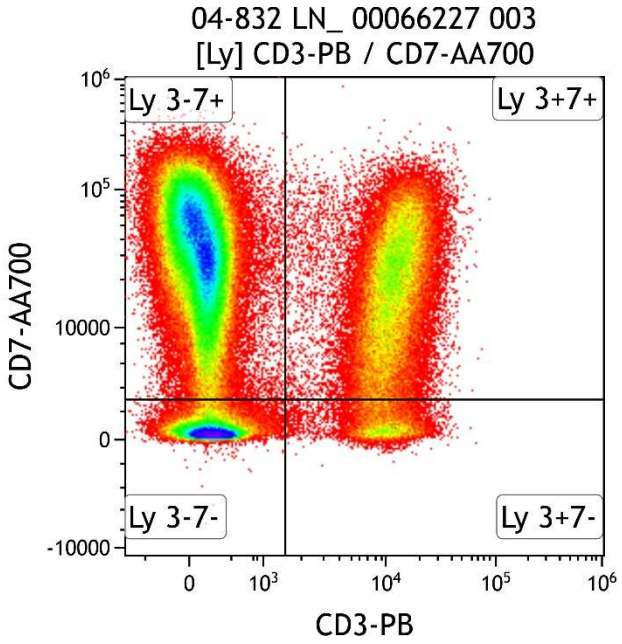


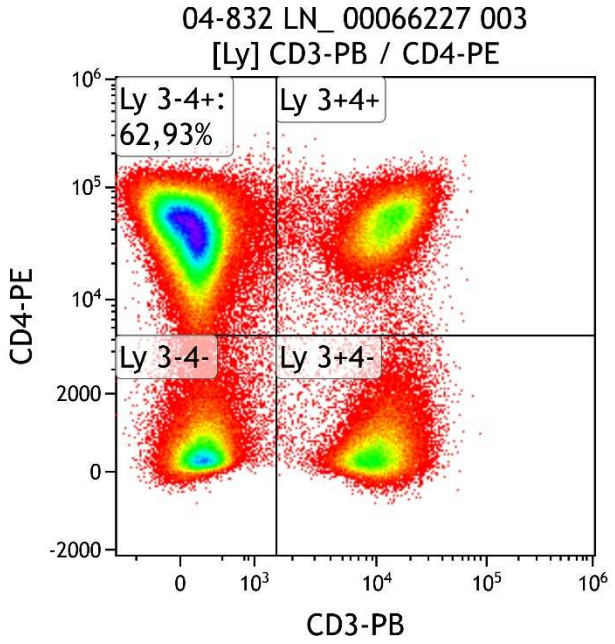


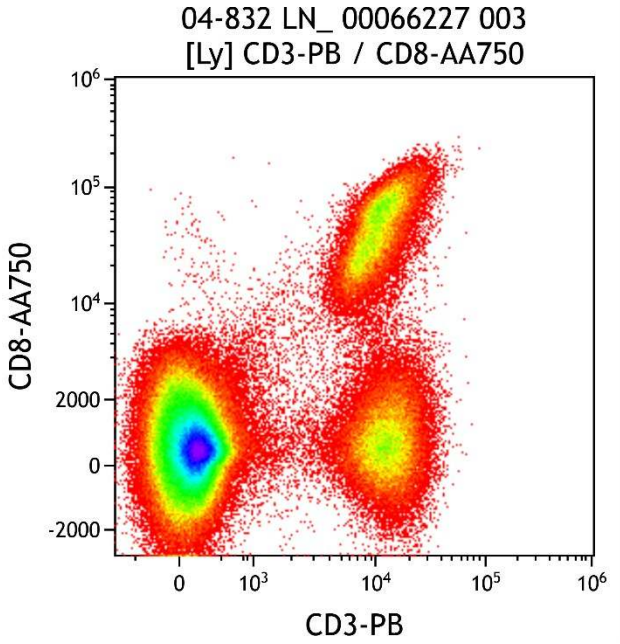


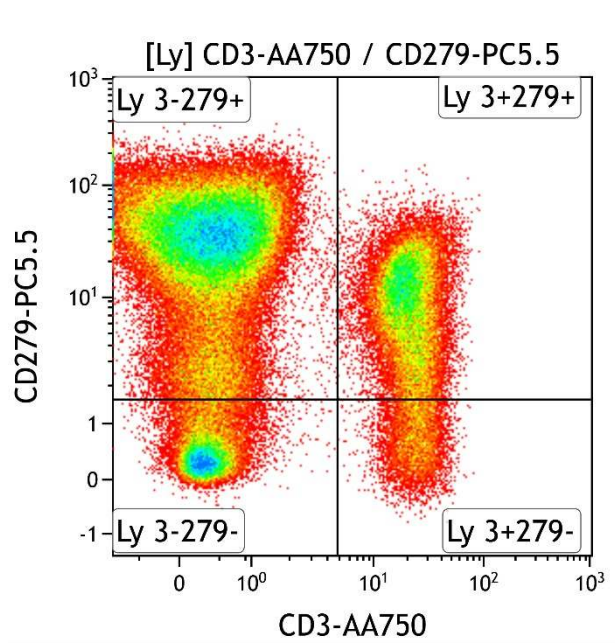


Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)

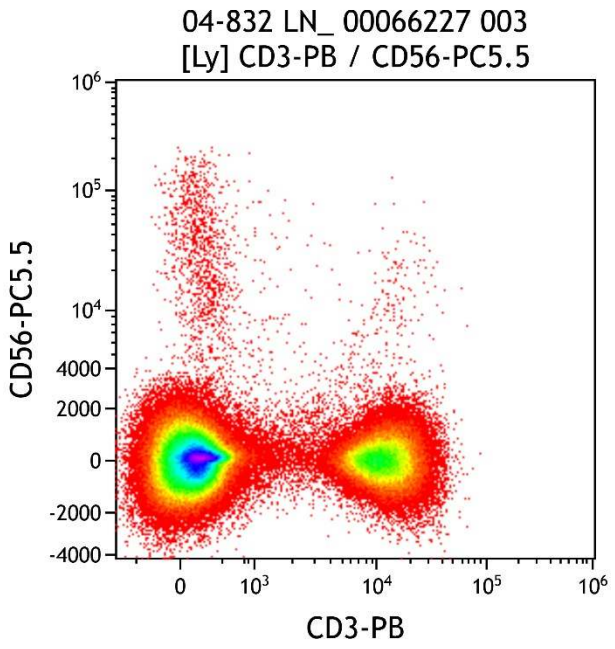


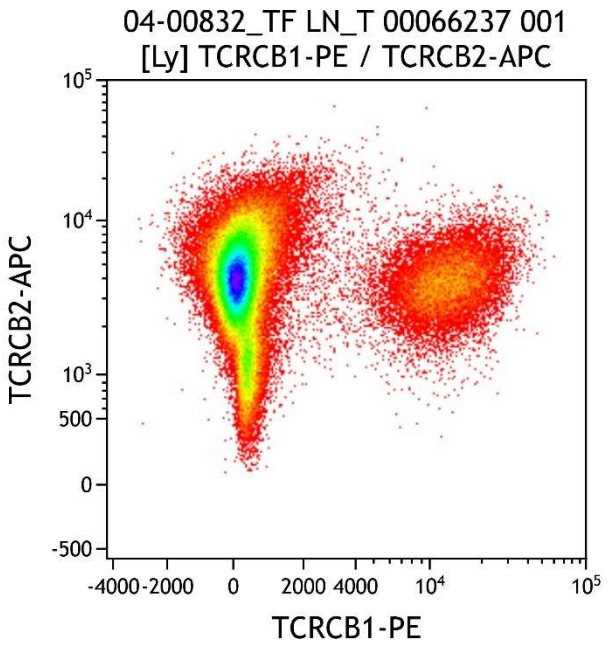


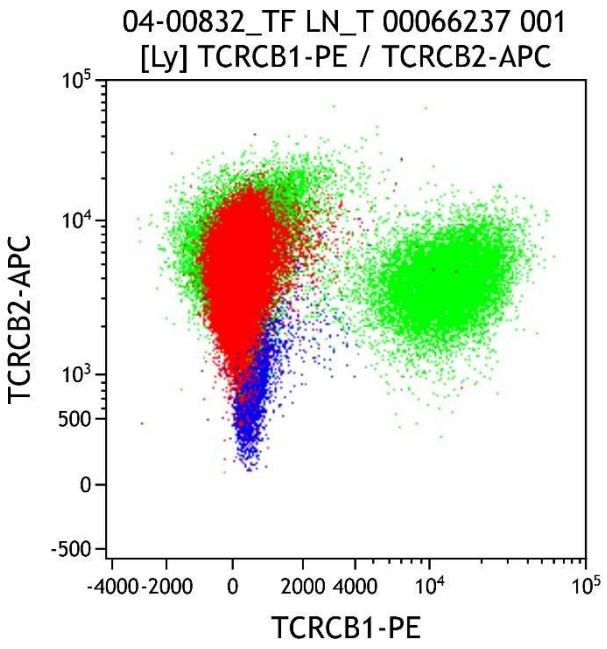




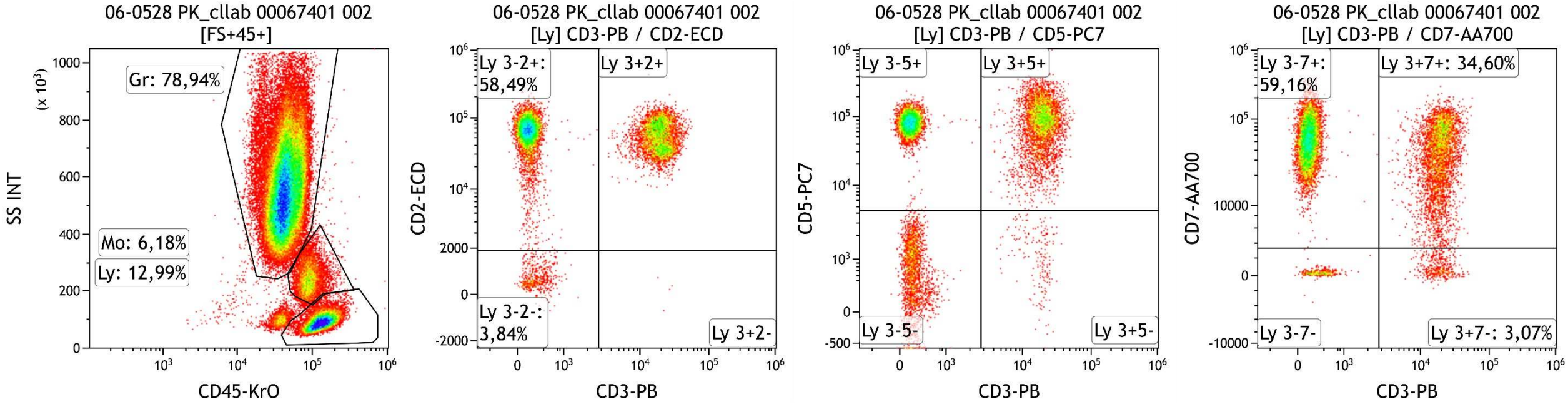
Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)



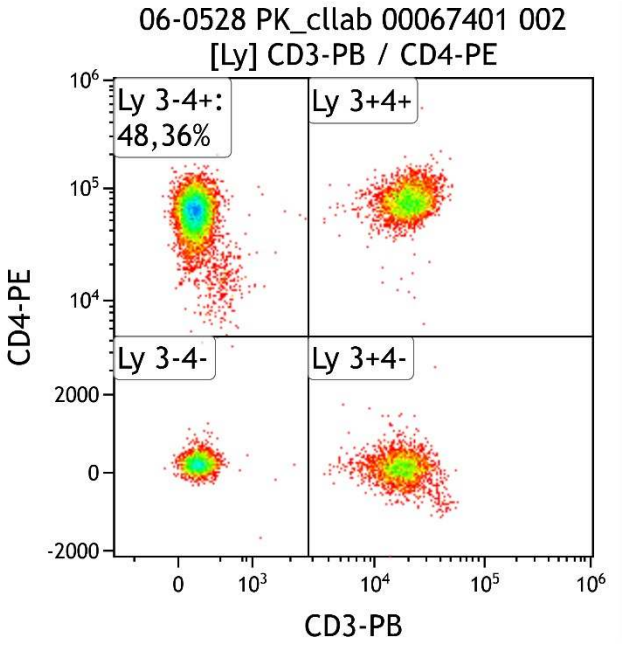


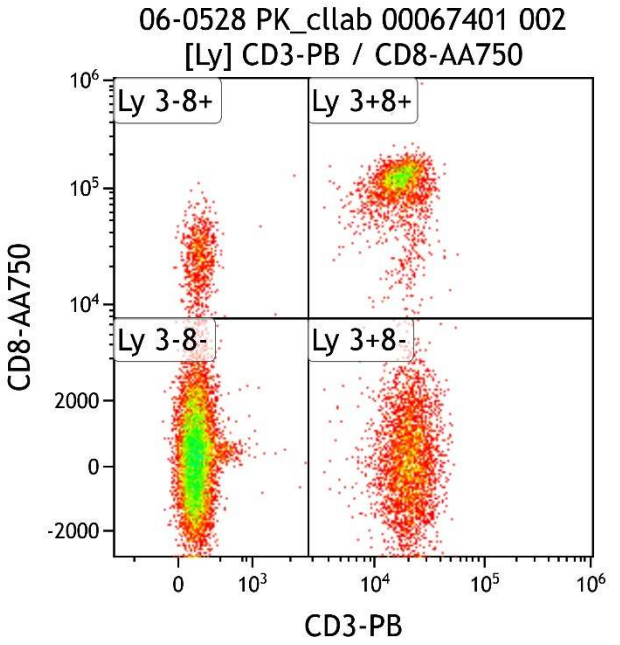


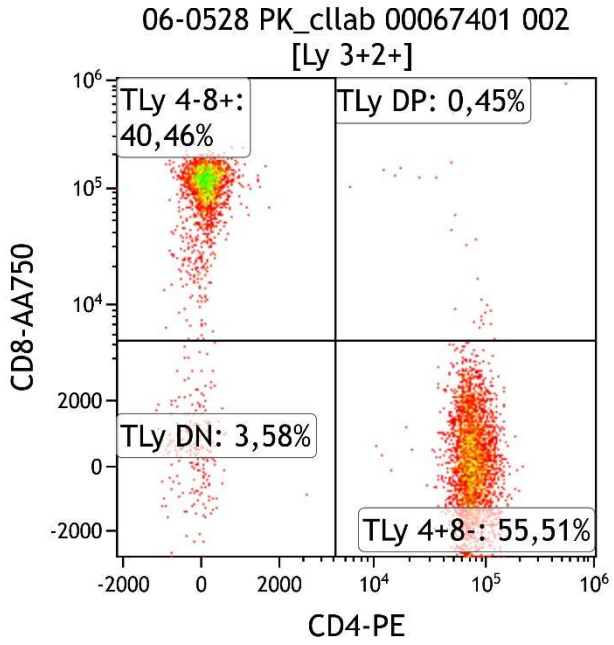
Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)



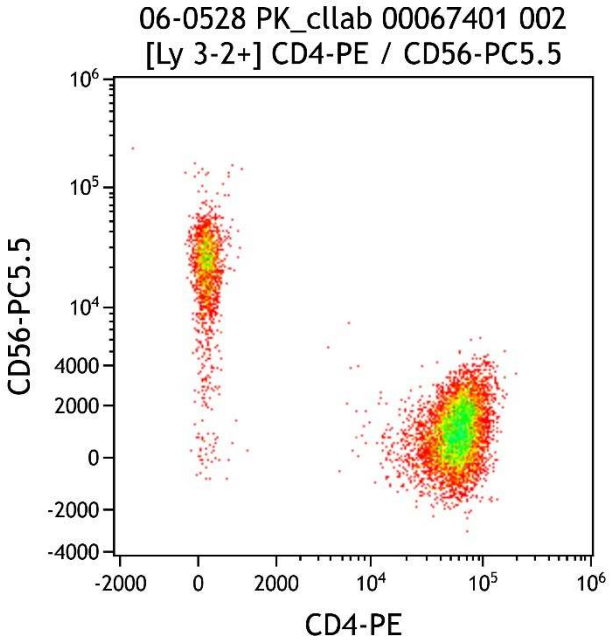
Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)

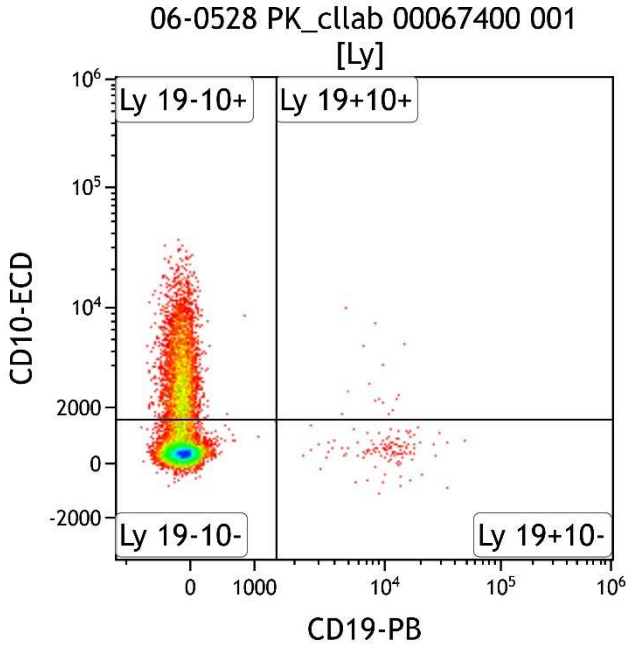


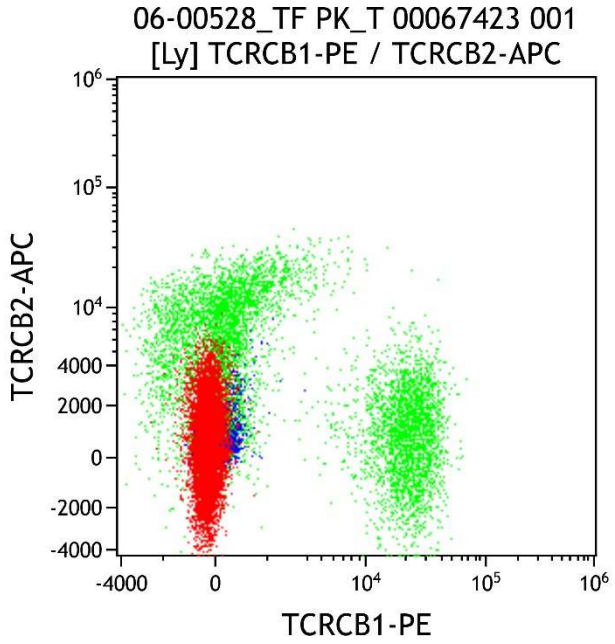




Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)







Nodální lymfom z T-folikulárních helper buněk (nTFHL)

Závěr: Lymfatické uzliny z levé axily, exstirpace.
Infiltrace lymfatických uzlin T lymfomem, blíže neurčeným. V dif.dg. na prvním místě zvažujeme nodální lymfom z folikulárních T helperů (nTFHL). Pro další typizaci nádoru materiál zasíláme na druhé čtení Lymfomové skupině na Ústav patologie a mol. medicíny 2. LF UK a FN Motol a Homolka. O výsledku budeme dále informovat.

Závěr (FN Motol): nodální lymfom z T folikulárních helperů, angioimunoblastický typ (nTFHL-AI), s vyšší proliferační aktivitou a s expresí CD30. Vzhledem k vyšší proliferační aktivitě lze očekávat agresivnější chování.

T-prolymfocytární leukemie (T-PLL)

T-PLL je velmi vzácná, obvykle agresivní leukemie zralých postthymických T-lymfocytů

Typicky starší muži

Rychle narůstající lymfocytosa, splenomegalie, hepatomegalie, postižení lymfatických uzlin, možná infiltrace kůže

T-prolymfocytární leukemie (T-PLL)

Typický obraz:

CD2+, sCD3+, CD5+, CD7+, TCRαβ+, (CD52 silně), CD26+, CD56-, CD57-, TCL1+ (vzácně -), TdT−, CD1a−, CD34−, TCRCB1/2

- CD4+/CD8−
- CD4+/CD8+

Pan-T znaky:

CD3: normální, dim, vzácněji i výrazně snížené

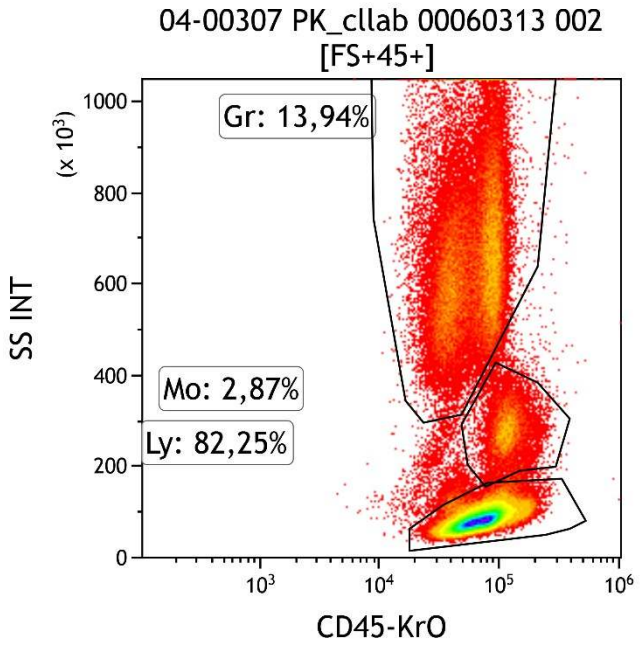
Variabilita CD2, CD5 oproti ostatním normálním T ly, CD7 spíše silně

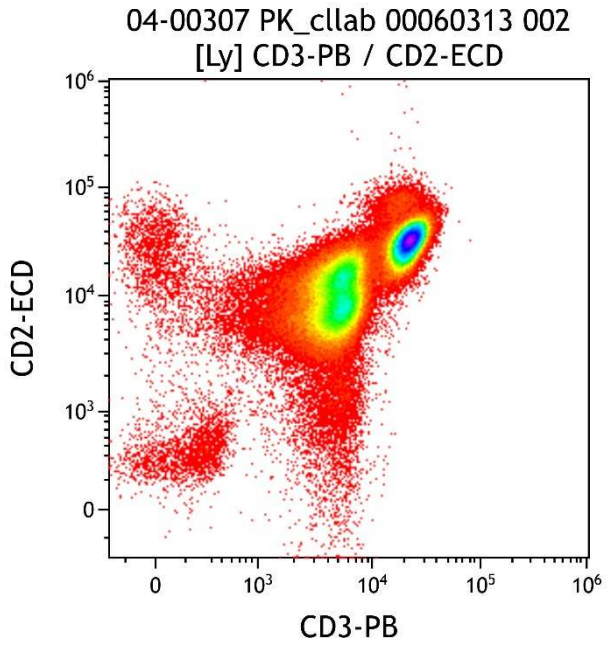
HSTCL: infiltrace sleziny / jater / kostní dřeně

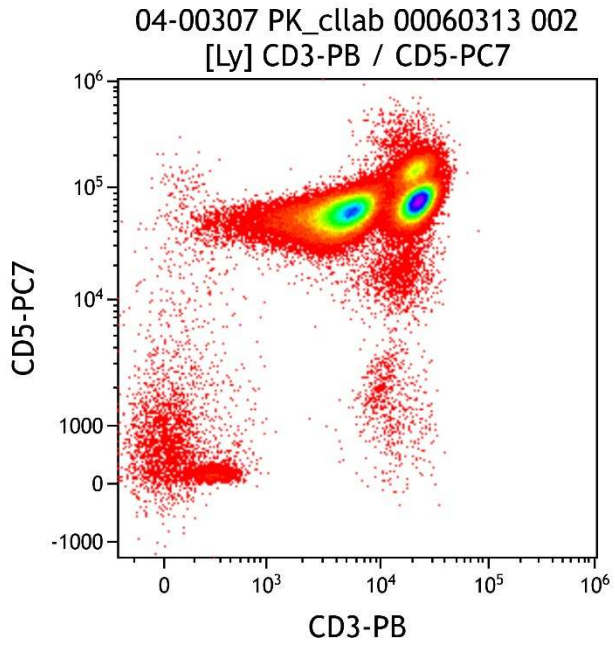
CD4−, CD8− nebo dim, TCRγδ+, CD56+, CD5−

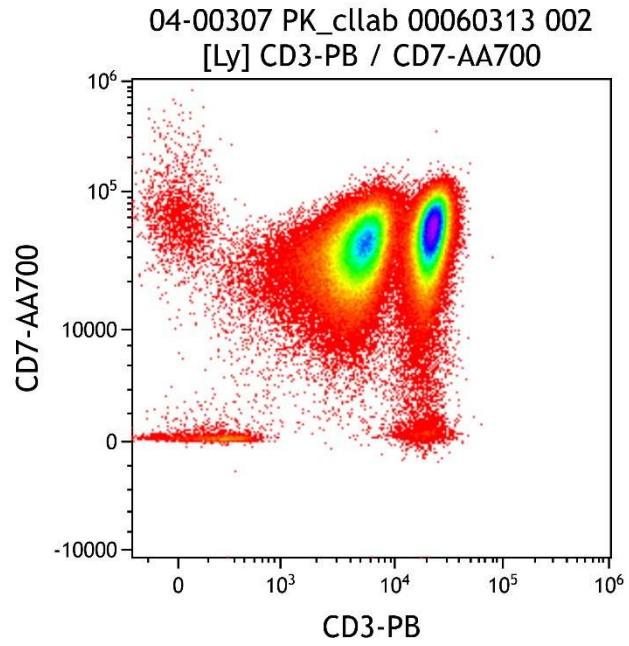
T-prolymfocytární leukemie (T-PLL)

Vyšetření periferní krve průtokovou cytometrií.
V rámci leukocytů periferní krve tvoří asi 75% populace T lymfocytů s následujícím imunofenotypem:
CD2+, CD3+, CD4+, CD5+, CD7+, CD8+, CD56-, TCRab+, TCRgd-, TCRCB1-, TCRCB2+
TdT-, CD1a-, CD26+, CD27+, CD28+, CD30-, CD44+, CD62L+, CD81+, CD197+
Polovina z této populace vykazuje odchylky v těchto znacích:
CD2 snížená, CD3 snížená, TCRab- (TCR CB1 i CB2-), CD27 slabě, CD62L slabě, CD197-

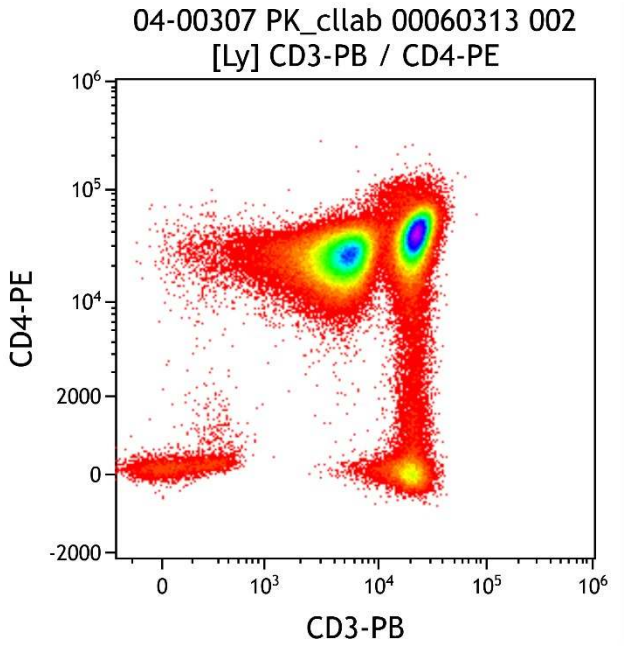


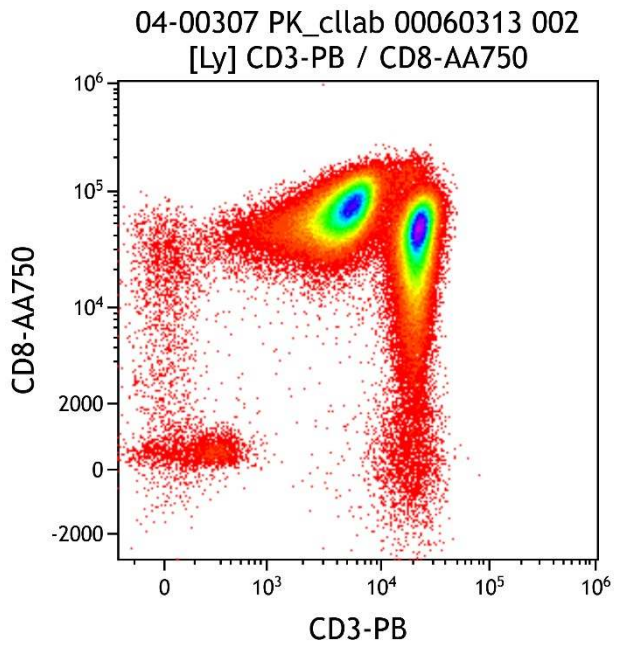


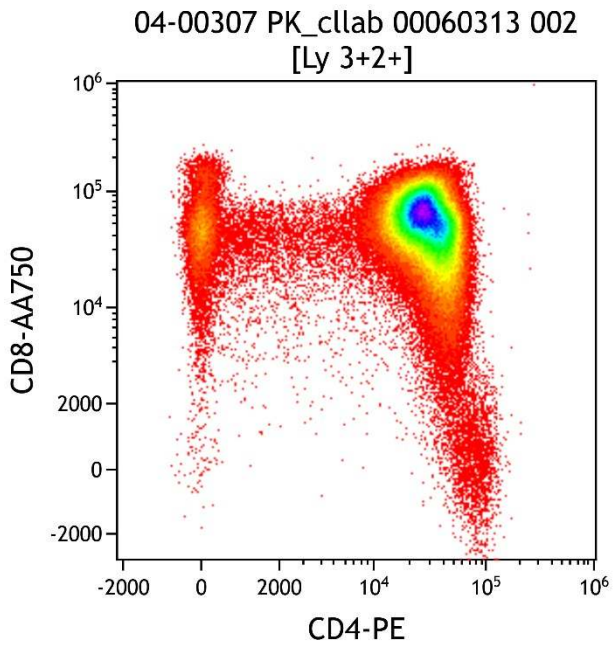




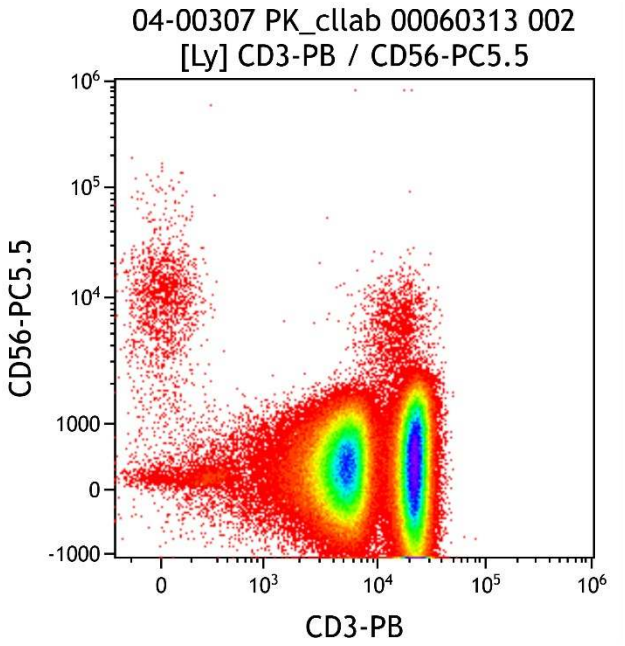
T-prolymfocytární leukemie (T-PLL)

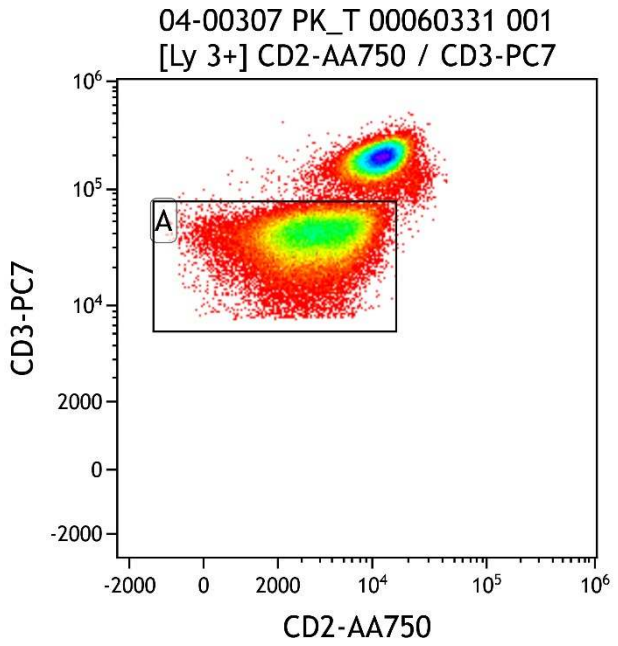


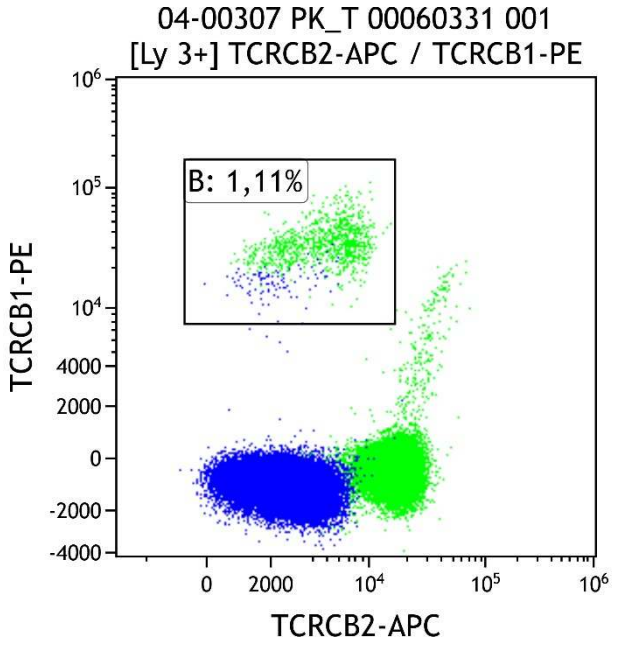




T-prolymfocytární leukemie (T-PLL)







T-prolymfocytární leukemie (T-PLL)

VFN:

Imunofenotypizace – závěr:

Na populaci lymfocytů KD prokazujeme 89,2 % (76 % z leukocytů) monotypických T lymfocytů, které vykazují imunofenotyp (CD45+CD3+/dimCD4+CD8+CD7+CD2+/dim CD28+CD26+TCRab+,CD45RO+CD5+TRBC2+). Ostatní testované znaky jsou negativní (včetně CD1a, nuTdT, cyTCL1). Dále prokázána malá populace (0,5 % z leukocytů) monoklonálních B lymfocytů s fenotypem CLL/SLL (CD19+CD20dimCD5+sIgdim). Nález svědčí pro T lymfoproliferaci. Imunofenotyp připouští zvažovanou dg. T-prolymfocytárni leukémie, neobvyklá je ale negativita znaku cyTCL1. dif. dg. nelze vyloučit ani jiný typ T lymfoproliferace.

FNM:

Histologie: výrazná intersticiální infiltrace KD při T-prolymfocytární leukemii

BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

neoplazie z prekurzorů plazmacytoidních dendritických buněk

Nejčastěji postihuje: kůži, kostní dřeň, periferní krev, lymfatické uzliny, a poměrně významně také CNS

Klasická BPDCN:

CD45 dim, CD4+, CD56+, **CD123 silně**, HLADR+, CD303+, CD304+, CD38 variabilní, CD2+/-, CD7-/+, CD33-/+, TdT variabilní, MPO−, CD14−, CD64−, CD34−, cy/sCD3−, CD19−, CD20−

CD123

- Bazofily (HLADR-)
- normální pDC
- AML
- T-ALL, B-ALL
- některé myeloidní prekurzory

BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

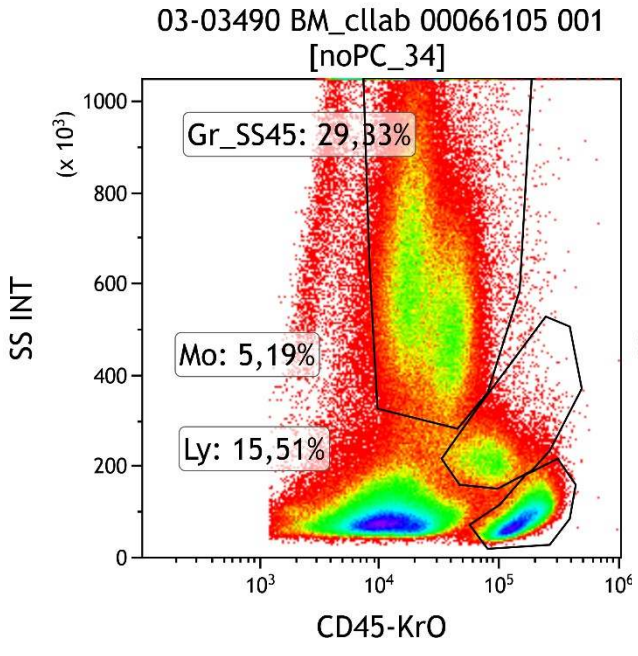
Monoblastická AML:		
CD4+, CD56+, CD123+, HLA-DR+, CD33+, CD34− CD304, TCL1	X	MPO, CD64, lysozyme, CD14, CD36 x CD303,

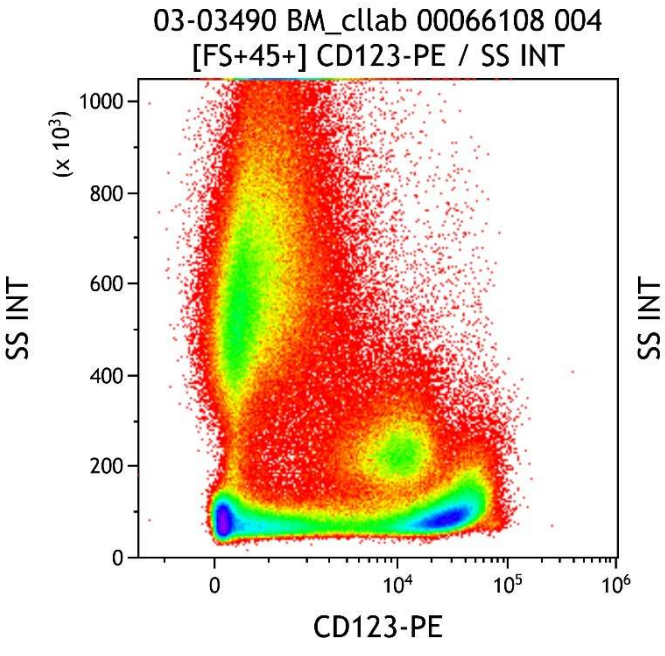
AML s expandovanou patologickou pDC komponentou (**pDC-AML**).		
CD123+, HLA-DR+, CD4+, CD303+	X	**CD34+,** CD56−/dim

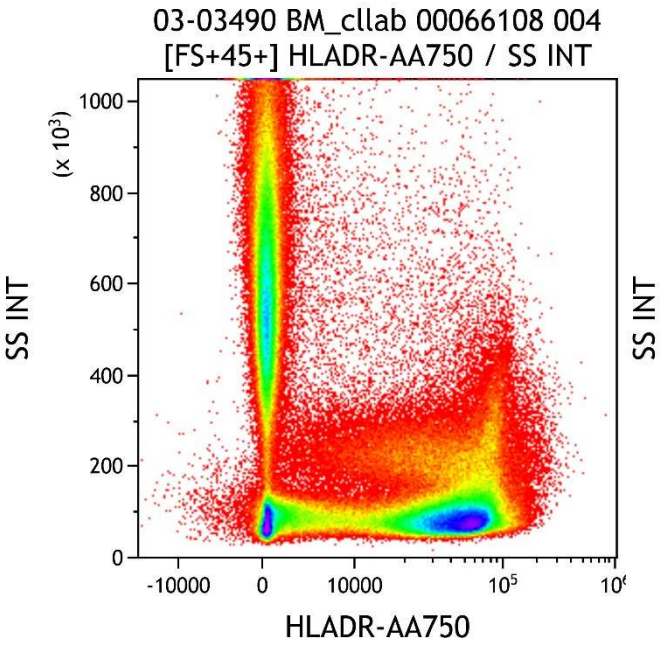
T-ALL:		
CD4+,CD7+,CD56+,CD123+,TdT+	X	cyCD3+

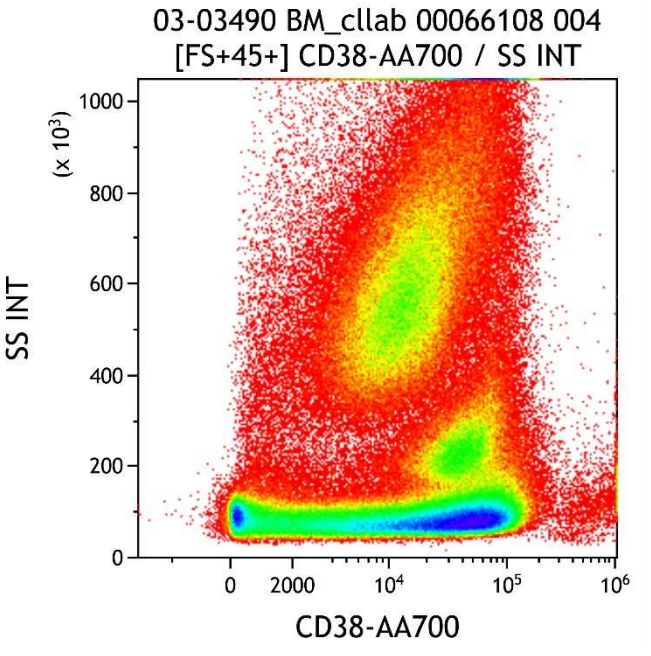
BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

Vyšetření kostní dřeně průtokovou cytometrií
V rámci leukocytů kostní dřeně tvoří asi 45% elementy s následujícím fenotypem: CD1a-, CD2+, CD3/cyCD3-, CD4+, CD5-, CD7+, CD8-, CD10-, CD11b slabě, CD13-, CD14-, CD15-, CD16-, CD19-, CD20-, cyCD22-, CD30-, CD33 slabě, CD34-, CD36 slabě, CD38+, CD41-, CD45 slabě, CD56+, CD61-, CD64-, cyCD79a-, CD105-, CD117-, CD123+, CD200-, CD235a-, HLADR+

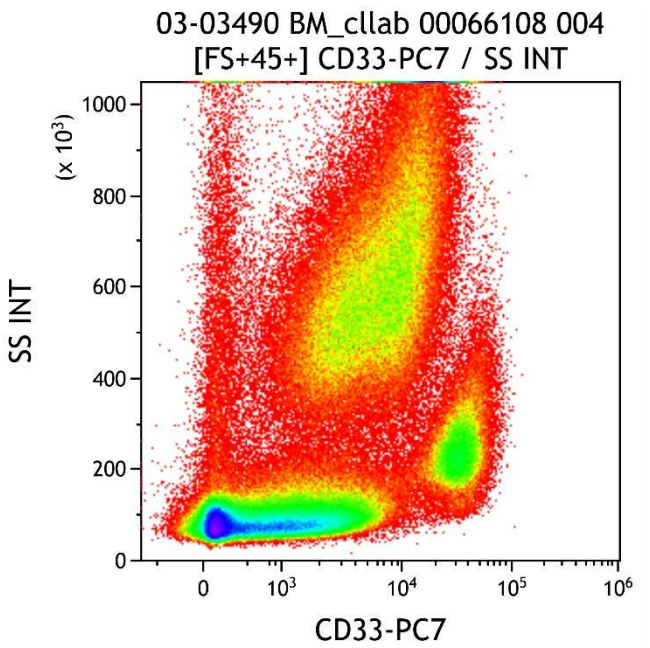


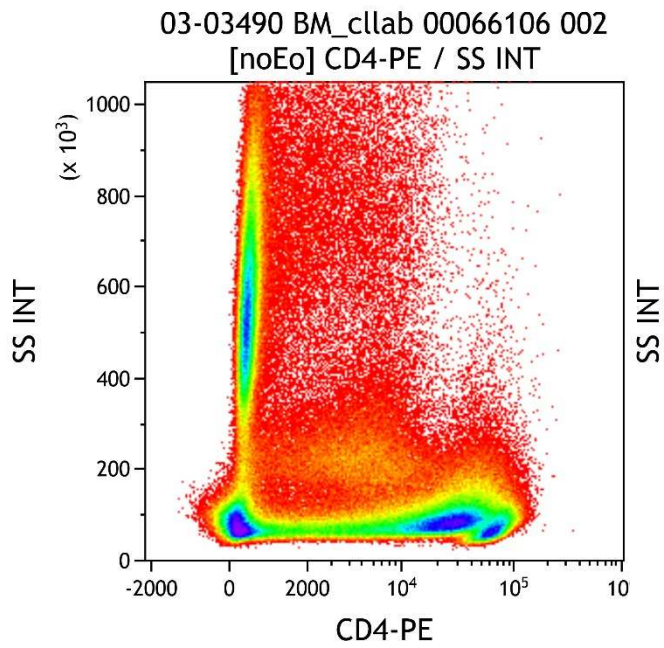


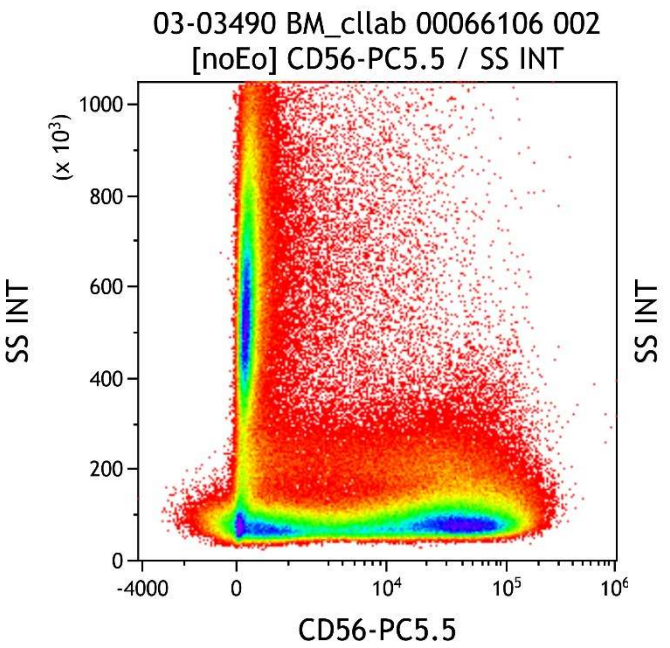


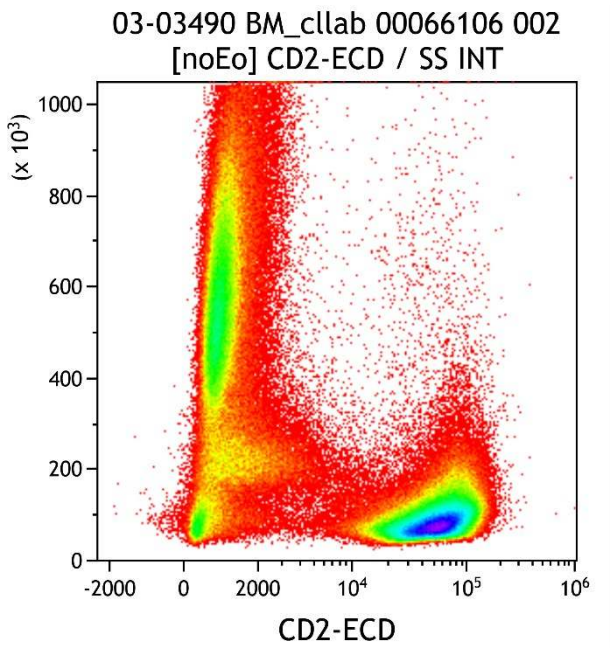


BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

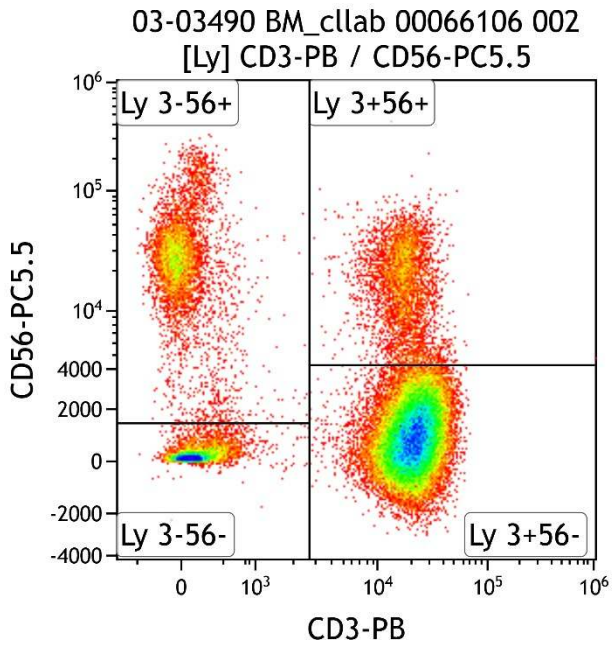


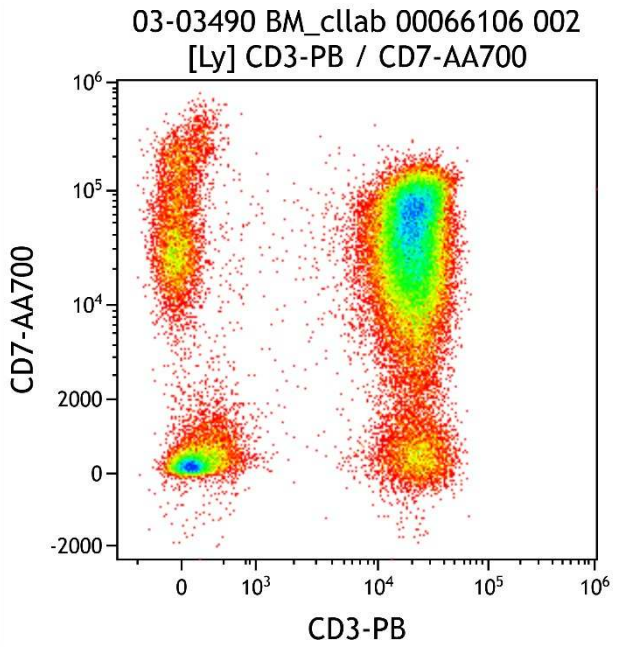


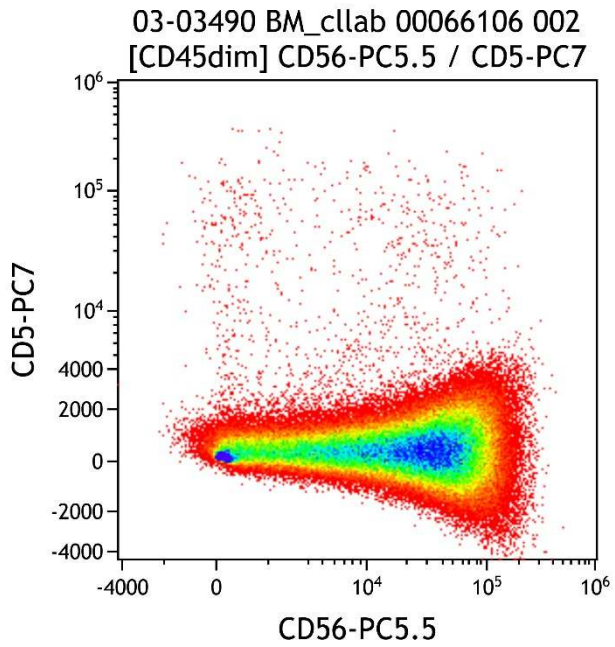


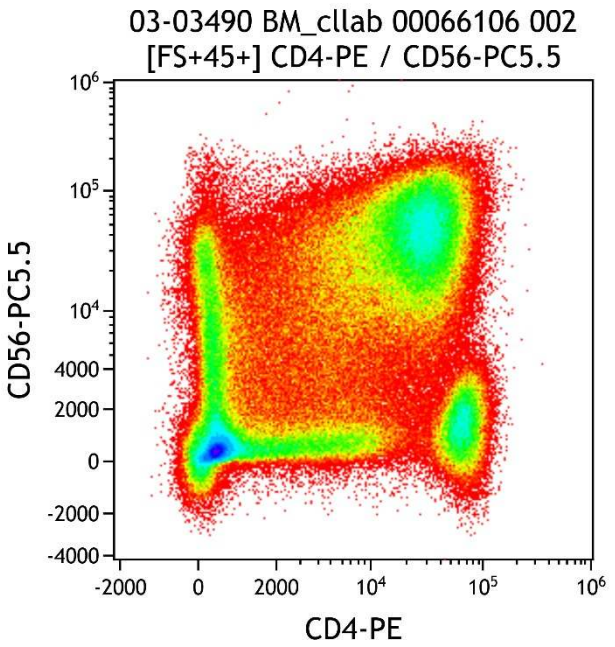


BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

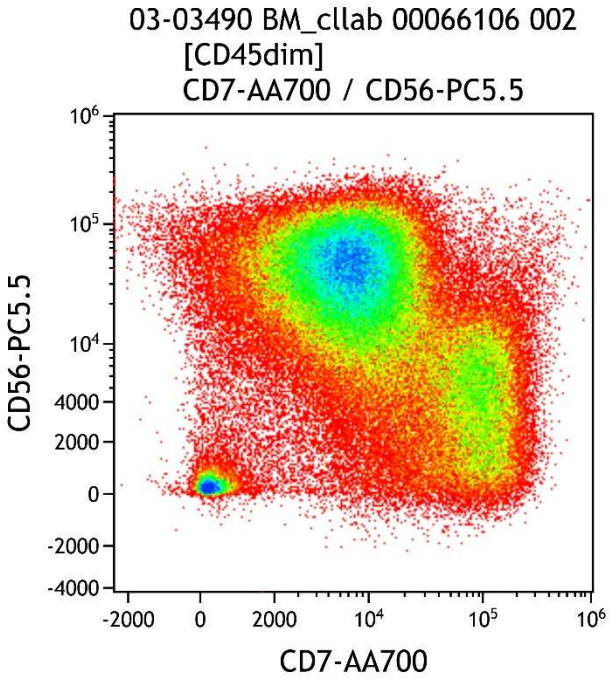


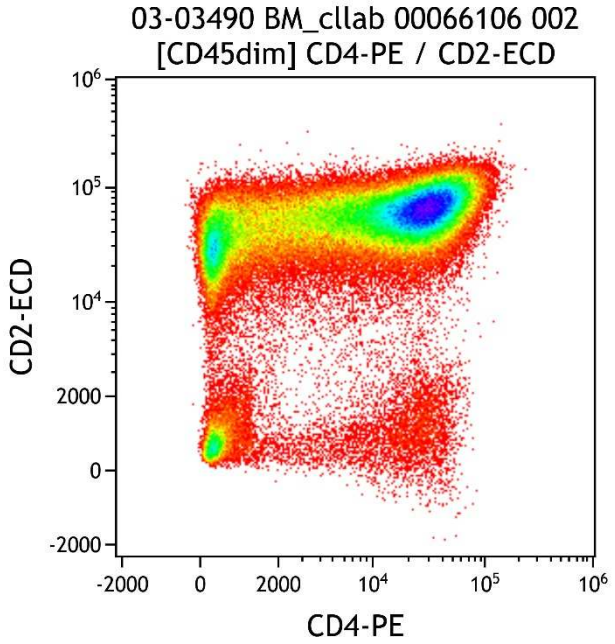


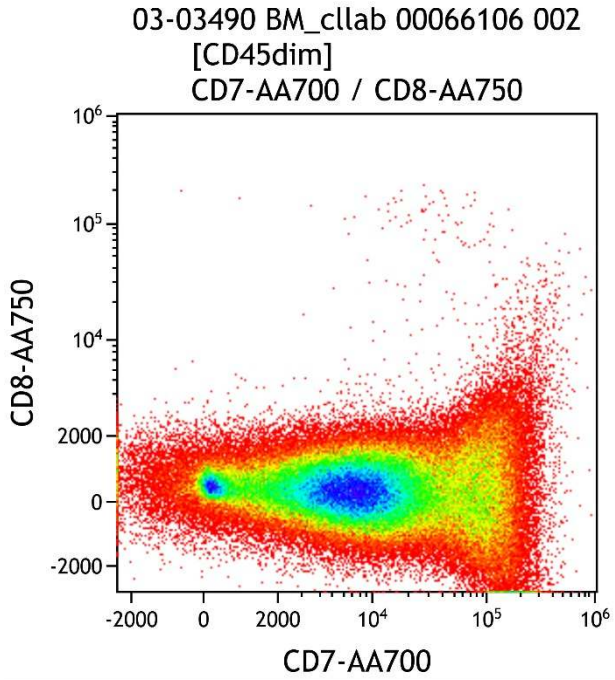




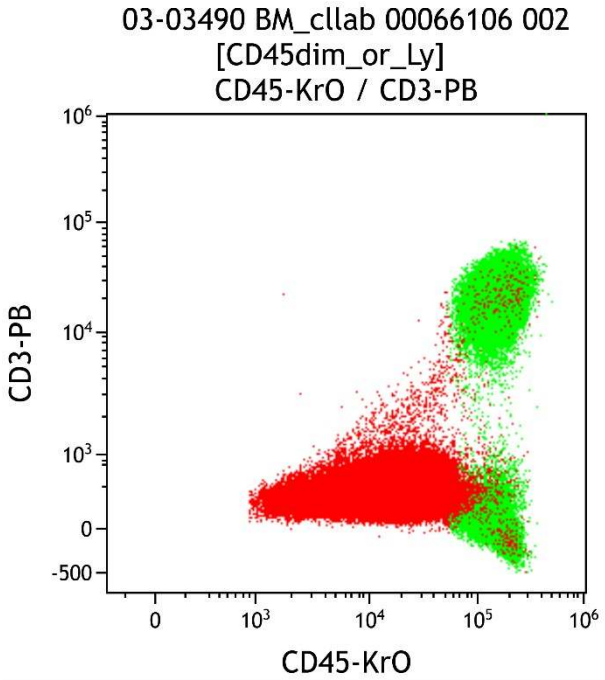
BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

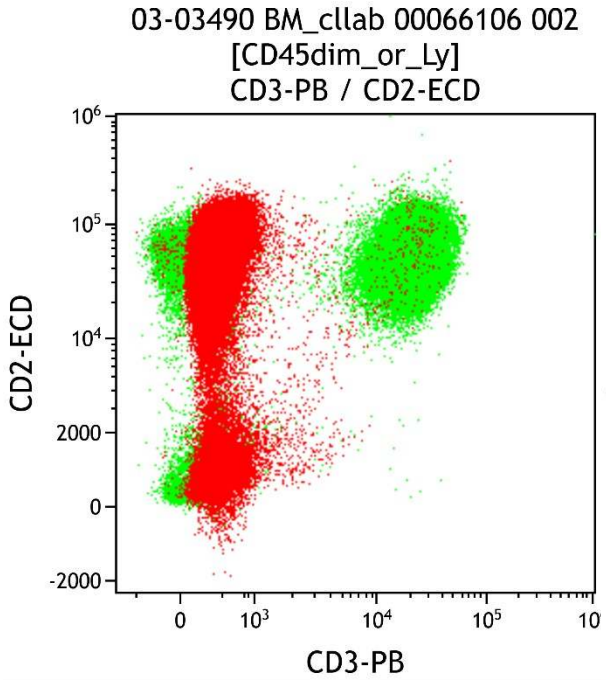


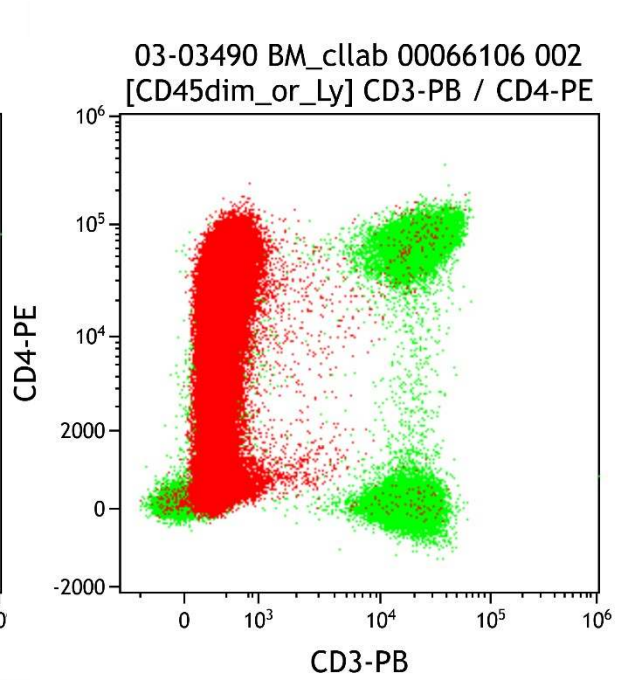


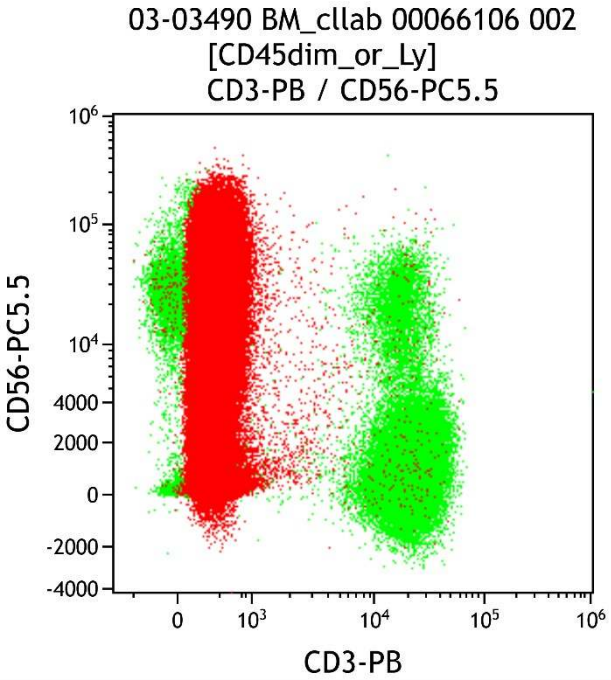


BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

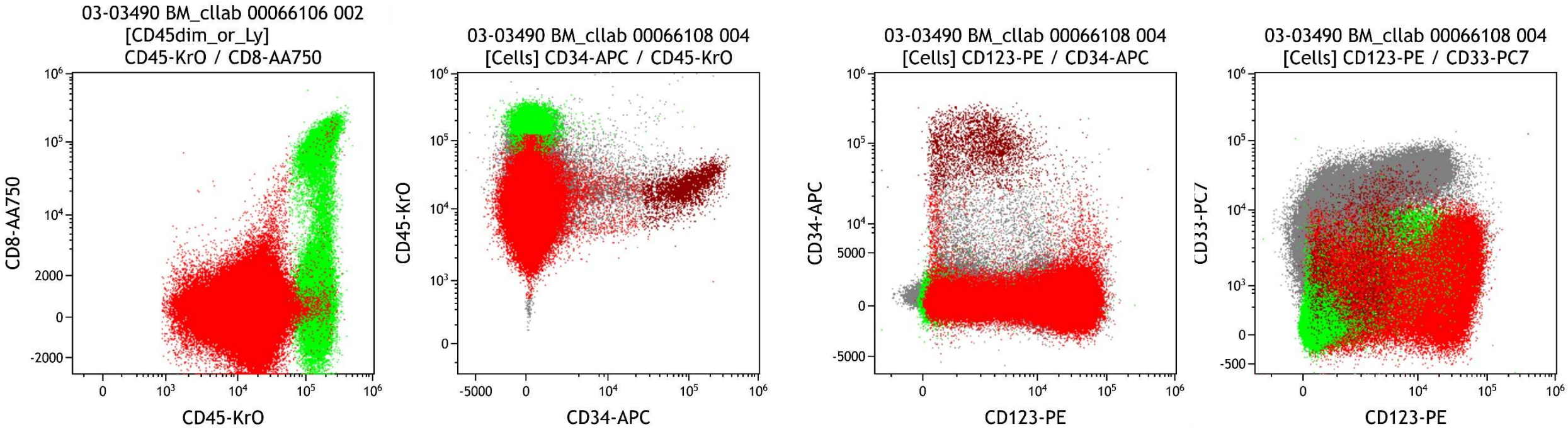








BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm



BPDCN Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

FCM ÚHKT, kostní dřeň
NÁLEZ:
cca 33% patologických buněk dendritického původu fenotypem:
Pozitivní znaky: CD45slabě, CD2, CD4, CD7, CD38, CD56, CD123, CD303, CD304, CD4, CD303 slabě, HLA-DR, cTCL1
Negativni znaky: cCD3/CD3, CD19, cCD22, CD79a, MPO
Imunofenotypizačnĺ vyšetření aspirátu kostní dřeně metodou průtokové cytometrie (viz nález) prokázalo cca 33 % patologických dendritických buněk odpovídající diagnóze nádoru z blastických dendritických buněk (BPDCN).

AI

V data/raw/Kaluza jsou nove soubory z Kaluzy 03-03490. Prohledni je, popis a zkus stanovit diagnozu.

Retrospektivní revize průtokové cytometrie – 03-03490
Datum revize: 2026-09-14
Materiál dle metadat: kostní dřeň (BM)
Přístroj: Beckman Coulter Navios / Navios EX, ID BB20576
Zpracované soubory- ClearLLab B, M1, M2 a T (31. 3. 2026; každý 500 000 událostí)- cyAML (1. 4. 2026; 615 119 událostí)- doplňkové soubory `c_ery1`, `c_ery2` a `c_mgk` (1. 4. 2026; 521 189 až 585 195 událostí). Každý vložený FCS obsahuje dva datové segmenty. Pro výpočet byl použit druhý vysokorozlišovací segment (15 parametrů, rozsah fluorescencí až 2^20), protože jeho kanály a rozsahy odpovídají souřadnicím gate uloženým v Kaluze. Byla aplikována kompenzační matice uložená v příslušném souboru `.analysis` a poté byly v R rekonstruovány gate Kaluzy.

AI

Hlavní nález
Ve všech čtyřech základních panelech je konzistentní výrazná populaceCD45-dim/SSC-low buněk. Podle panelu představuje přibližně 31,8–35,8 % všech zaznamenaných událostí. V M1 a M2 je vlastní blastový gate 31,9 %, respektive31,8 % všech událostí.
Fenotyp je tedy `CD45dim, CD4+, CD56+, CD123+, HLA-DR+, CD38+, CD2+, CD7+,CD34−, sCD3−, CD19−, CD20−, CD13−, CD14−, CD64−`, s parciální expresí CD33a CD11b
Interpretace
Celkový obraz je **vysoce suspektní z blastické neoplazie z plazmocytoidních dendritických buněk (BPDCN)**. Kombinace CD4/CD56/CD123/HLA-DR s absencí definičních B-, T- a myeloidních znaků je pro tuto diagnózu typická. Exprese CD2, CD7 a parciální CD33 se u BPDCN může vyskytovat a sama o sobě neurčuje T- ani myeloidní linii. Jde o pracovní cytometrický závěr, nikoli definitivní diagnózu. V dostupném panelu chybí druhý specifický pDC marker požadovaný pro bezpečné naplnění současných klasifikačních kritérií.

AI

Doporučené potvrzení

1. Doplnit alespoň jeden, lépe několik specifických pDC markerů: CD303/BDCA-2, CD304/BDCA-4, TCF4 a TCL1; vhodný je také CD45RA.
2. Definitivně doložit negativitu MPO, cytoplazmatického CD3 a B-lineage markerů (cyCD79a/PAX5) ve stejné patologické populaci; doplnit lysozym.
3. Korelovat s morfologií aspirátu/trepanobiopsie a imunohistochemií. Aktivně pátrat po kožním postižení a při lézi provést biopsii.
4. Provést standardní cytogenetické a molekulární vyšetření akutní leukemie; výsledek je nutný zejména k vyloučení AML s překryvným pDC fenotypem. Podle WHO-HAEM5 podporuje BPDCN exprese CD123 a dalšího pDC markeru(TCF4, TCL1, CD303 nebo CD304) spolu s CD4 a/nebo CD56 a současnou absencí lineage-definujících markerů. Samotná trojkombinace CD4/CD56/CD123 je proto velmi přesvědčivá, ale k uzavření případu má být doplněn specifický pDC marker.

V doplněném `cyAML` gate je patologická populace MPO-low/negativní,CD13-negativní, CD19-negativní, CD34-negativní, cyCD79a-negativní a cyCD3-negativní, s vysokou HLA-DR. To dále podporuje BPDCN a neprokazuje myeloidní, T- ani B-linii. Hodnocení je založeno na relativní intenzitě vůči ostatním buňkám v téže zkumavce; chybí validovaný laboratorní cut-off cytoplazmatických markerů

Děkuji za pozornost …

