

# OBSAH

<b>Předmluva</b> .....	13
<b>Seznam zkratk</b> .....	15
<b>Úvod</b> .....	19
<b>I Principy průtokové cytometrie</b> .....	21
I.1 Základní komponenty průtokové cytometrie .....	21
I.1.1 Fluidní systém .....	21
I.1.2 Optický systém .....	22
I.1.3 Počítačový systém (workstation) .....	22
I.2 Základní parametry flow cytometrické analýzy .....	24
I.2.1 Dopřední rozptyl (forward scatter channel – FSC) .....	24
I.2.2 Boční rozptyl (side scatter channel – SSC) .....	24
I.2.3 Fluorescence .....	25
I.2.3.1 Fluorochromy .....	25
I.2.3.2 Heterogenita fluorescenční intenzity .....	26
I.2.3.3 Kvantifikace fluorescence .....	28
I.2.4 Kompenzace fluorescenčního přísvitu (spectral-overlap) .....	29
I.2.5 Faktory ovlivňující flow cytometrické analýzy .....	30
I.2.5.1 Relativní intenzita fluorochromů .....	30
I.2.5.2 Nеспецифická vazba .....	30
I.2.5.3 Stabilita tandemových fluorochromů .....	31
I.2.5.4 Sterická zábrana (steric hindrance) .....	32
I.2.5.5 Interakce (vzájemné ovlivňování) protilátek .....	32
<b>II Zobrazování dat z flow cytometrické analýzy – strategie gatingu</b> .....	33
II.1 Zobrazování dat z fyzikálních (FFS/SSC) a fyzikálně-chemických (SSC/CD45) vlastností buněk .....	33
II.2 Lymfoidní oblast (gate) .....	34
II.3 Blastická oblast (gate) .....	34
II.4 Progenitorová oblast (gate) .....	34
II.5 Plazmatická oblast (gate) .....	35
II.6 Monocytární oblast (gate) .....	35
II.7 Granulocytární oblast (gate) .....	35
II.8 Metastatická oblast (gate) .....	35

<b>III Protokoly, pracovní postupy</b> .....	36
III.1 Doporučené postupy pro odběr, uchování a dopravu materiálu .....	36
III.2 Laboratorní metody .....	37
III.2.1 Příprava buněčné suspenze .....	37
III.2.2 Značení buněk pro přímou fluorescenci .....	37
III.2.3 Značení buněk pro nepřímou fluorescenci .....	38
III.2.4 Značení buněk pro stanovení lehkých řetězců kappa a lambda .....	38
III.2.5 Značení intracelulárních antigenů .....	38
<b>IV Praktická aplikace průtokové cytometrie v hematonekologii</b> .....	40
IV.1 Indikace k flow cytometrickému vyšetření v hematonekologii .....	40
IV.2. Nejdůležitější imunofenotypizační markery .....	40
IV.2.1 CD1a .....	40
IV.2.2 CD2 .....	42
IV.2.3 CD3 .....	42
IV.2.4 CD4 .....	42
IV.2.5 CD5 .....	42
IV.2.6 CD7 .....	43
IV.2.7 CD8 .....	43
IV.2.8 CD10 .....	43
IV.2.9 CD11b .....	44
IV.2.10 CD11c .....	44
IV.2.11 CD13 .....	44
IV.2.12 CD14 .....	45
IV.2.13 CD15 .....	45
IV.2.14 CD16 .....	45
IV.2.15 CD19 .....	45
IV.2.16 CD20 .....	45
IV.2.17 CD21 .....	46
IV.2.18 CD22 .....	46
IV.2.19 CD23 .....	46
IV.2.20 CD24 .....	46
IV.2.21 CD25 .....	47
IV.2.22 CD30 .....	47
IV.2.23 CD33 .....	47
IV.2.24 CD34 .....	47
IV.2.25 CD36 .....	47
IV.2.26 CD38 .....	48
IV.2.27 CD41 .....	48

IV.2.28	CD43	48
IV.2.29	CD45	48
IV.2.30	CD52	49
IV.2.31	CD56	49
IV.2.32	CD57	49
IV.2.33	CD58	49
IV.2.34	CD61	49
IV.2.35	CD64	50
IV.2.36	CD68	50
IV.2.37	CD79	50
IV.2.38	CD86	50
IV.2.39	CD90	50
IV.2.40	CD94	51
IV.2.41	CD99	51
IV.2.42	CD103	51
IV.2.43	CD117	51
IV.2.44	CD123	51
IV.2.45	CD133	51
IV.2.46	CD135	52
IV.2.47	CD138	52
IV.2.48	FMC7	52
IV.2.49	HLA-DR	52
IV.2.50	TCR	52
IV.2.51	Terminální deoxynukleotidyltransferáza (TdT)	53
IV.2.52	ZAP-70	53
IV.2.53	NG2 antigen	53
IV.2.54	CD235a	53
IV.3	Charakterizace klonálních B-lymfocytů	53
IV.4	Charakterizace abnormálních T-lymfocytů	54
IV.5	Charakterizace leukemických blastů	55
IV.6	Charakterizace dysplastických změn	57
IV.7	Doporučené postupy pro imunofenotypizaci akutních leukemií podle Evropské skupiny pro imunologickou charakterizaci leukemií (EGIL)	58
IV.8	Doporučené postupy pro imunofenotypizaci imunoproliferativních onemocnění podle Evropské skupiny pro imunologickou charakterizaci leukemií (EGIL)	59
IV.9	Akutní myeloidní leukemie	59
IV.9.1	FAB klasifikace akutní myeloidní leukemie	60
IV.9.2	Imunologická klasifikace akutní myeloidní leukemie	61

IV.9.3	WHO klasifikace akutní myeloidní leukemie .....	62
IV.9.4	Follow-up a detekce minimální reziduální choroby .....	72
IV.10	Akutní bifenotypová leukemie .....	74
IV.11	Prekurzorová B-lymfoblastická leukemie/lymfom .....	75
IV.11.1	FAB klasifikace prekurzorové B-lymfoblastické leukemie .....	75
IV.11.2	Imunologická klasifikace prekurzorové B-lymfoblastické leukemie .....	75
IV.11.3	Follow-up a detekce minimální reziduální choroby u prekurzorové B-lymfoblastické leukemie .....	78
IV.12	Prekurzorová T-lymfoblastická leukemie/lymfom .....	78
IV.12.1	FAB klasifikace prekurzorové T-lymfoblastické leukemie .....	78
IV.12.2	Imunologická klasifikace prekurzorové T-lymfoblastické leukemie .....	78
IV.12.3	Follow-up a detekce minimální reziduální choroby u prekurzorové T-lymfoblastické leukemie .....	80
IV.13	Blastický NK-buněčný lymfom (DC2 akutní leukemie) .....	80
IV.14	Extramedulární myeloidní tumor (granulocytární sarkom) .....	81
IV.15	Imunoproliferativní onemocnění z B-řady .....	81
IV.15.1	Chronická lymfatická leukemie/lymfom z malých lymfocytů (B-CLL/SLL) .....	81
IV.15.2	B-prolymfocytární leukemie (B-PLL) .....	84
IV.15.3	Lymfoplazmocytární lymfom (LPL)/Waldenströмова makroglobulinemie .....	85
IV.15.4	Lymfom z marginální zóny (MZL) .....	86
IV.15.5	Leukemie z vlasatých buněk (HCL) .....	87
IV.15.6	Folikulární lymfom (FL) .....	88
IV.15.7	Lymfom z plášťových buněk (MCL) .....	90
IV.15.8	Difuzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL) .....	90
IV.15.9	Burkittův lymfom (BL) .....	91
IV.15.10	Malignity z plazmatických buněk .....	92
IV.16	Imunoproliferativní onemocnění z T-řady .....	93
IV.16.1	T-prolymfocytární leukemie (T-PLL) .....	93
IV.16.2	Lymfoproliferace z velkých granulárních lymfocytů (LGL) .....	93
IV.16.3	Leukemie/lymfom z T-buněk dospělých (ATCL) .....	97
IV.16.4	Agresivní leukemie z NK-buněk .....	97
IV.16.5	Extranodální lymfom z NK-/T-buněk nazálního typu .....	97
IV.16.6	Intestinální lymfom z T-buněk, enteropatický typ .....	98
IV.16.7	Hepatosplenický T-lymfom .....	98
IV.16.8	Periferní T-lymfom nespecifikovaný .....	98
IV.16.9	Angioimunoblastický T-lymfom .....	98

IV.16.10	Anaplastický velkobuněčný lymfom (ALCL)	99
IV.16.11	Kožní T-lymfomy	100
IV.17	Myelodysplastické syndromy a chronické myeloproliferace	100
IV.17.1	Myelodysplastické syndromy	100
IV.17.2	Chronická myelomonocytární leukemie	103
IV.17.3	Chronické myeloproliferativní onemocnění	104
IV.18	Limitace flow cytometrické analýzy hematologických onemocnění	104
<b>V</b>	<b>Praktická aplikace průtokové cytometrie v nenádorové hematologii</b>	<b>106</b>
V.1	Diagnostika paroxyzmální noční hemoglobinurie (PNH)	106
V.2	Diagnostika hereditární sférocytózy (HS)	108
V.3	Diagnostika hereditární poruchy funkce trombocytů	108
V.3.1	Glanzmannova trombastenie	108
V.3.2	Bernardův-Soulierův syndrom	108
V.3.3	Syndrom šedých trombocytů	108
V.4	Diagnostika imunitních trombocytopenií	109
V.5	Diagnostika megakaryocytárních trombocytopenií	110
V.6	Imunologické stanovení absolutního počtu trombocytů průtokovou cytometrií	111
V.7	Monitorování funkce trombocytů průtokovou cytometrií	111
V.7.1	Monitorování terapie inhibitory P2Y <sub>12</sub> receptoru (clopidogrel, prasugrel)	112
V.7.2	Monitorování terapie IIb/IIIa antagonisty (Abciximab/ReoPro)	113
V.8	Analýza HPA-1 polymorfie	114
V.9	Stanovení trombocytárních mikročástic	114
V.10	Stanovení cirkulujících endoteliálních buněk	115
V.11	Diagnostika septického stavu průtokovou cytometrií	115
<b>VI</b>	<b>Praktická aplikace průtokové cytometrie v transfuzní hematologii</b>	<b>117</b>
VI.1	Potransfuzní purpura (PTP)	117
VI.2	Kontrola kvality skladovaných trombocytárních koncentrátů	117
<b>VII</b>	<b>Praktická aplikace průtokové cytometrie v porodnictví a gynekologii</b>	<b>118</b>
VII.1	Fetomaternální transfuze	118
VII.2	Novorozenecká aloimunitní trombocytopenie	118
<b>VIII</b>	<b>Praktická aplikace průtokové cytometrie v transplantační hematologii</b>	<b>119</b>
VIII.1	Stanovení retikulocytů a retikulovaných trombocytů	119

VIII.2 Stanovení lymfoidních subpopulací při monitorování imunosupresivní terapie a obnovy imunitního systému po transplantaci .....	119
VIII.3 Stanovení periferních CD34+ kmenových buněk .....	120
VIII.4 Průkaz a identifikace anti-HLA protilátek průtokovou cytometrií .....	121
VIII.5 Potransplantační lymfoproliferativní onemocnění .....	123
<b>IX Analýza DNA ploidie, buněčného cyklu a procesu buněčného zániku .....</b>	<b>124</b>
IX.1 Analýza DNA ploidie a buněčného cyklu .....	124
IX.2 Analýza procesu buněčného zániku .....	124
<b>X Lidské CD molekuly .....</b>	<b>129</b>
<b>Doporučená literatura .....</b>	<b>143</b>
<b>Rejstřík .....</b>	<b>146</b>