



Av Jannike Lundervik Sælen

Seksjonsleder, Seksjon for flowcytometri, Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin, Haukeland universitetssjukehus

# Slik påvises akutt leukemi med flowcytometri

Ved flowcytometrisk immunfenotyping av blod eller benmarg kan man i de fleste tilfeller relativt raskt bekrefte eller avkrefte mistanke om leukemi. Ved påvist leukemi vil immunfenotypen til den maligne celleklonen ofte være medvirkende faktor for å avgjøre hvilket behandlingsopplegg pasienten skal følge. Metoden brukes også til responsevaluering av behandling og diagnostisering av restsykdom, såkalt measurable residual disease (MRD).

Flowcytometri er en metode for å analysere enkeltceller i suspensjon med hensyn til fysiske egenskaper og uttrykksmønstre av overflate-, kjerne- og intracellulære antigener. Antigenene benevnes

## CD-markører

- Modne B-celler uttrykker CD19 og CD20, og har fravær av CD10.
- B-celle forstadier uttrykker CD19 og CD10, og har fravær av CD20.
- CD34 uttrykkes på blaster i flere cellelinjer

Cluster of differentiation (CD-markører). Fluorokromkonjugerte monoklonale antistoffer benyttes til å påvise antigener på overflaten og inne i cellene, samtidig gir

lysspredning et mål på cellenes størrelse og granularitet (kompleksitet).

## Screeningpanel

Ved mistanke om akutt leukemi settes det opp to screeningpanel. De inneholder antistoff mot celler i både myeloid og lymfoid rekke, og inneholder også antistoff mot ulike umodenhetsmarkører. Det tar ca. to timer fra mottak av prøven til svar på screeningpanel foreligger. I tilfeller hvor mikroskopering av blodutstryk og klinikk gir sterk mistanke om leukemi i en bestemt cellelinje, vurderer vi å sette opp mer spesifikke antistoffpaneler samtidig med screeningpaneler, for å kunne gi et raskere prøvesvar.

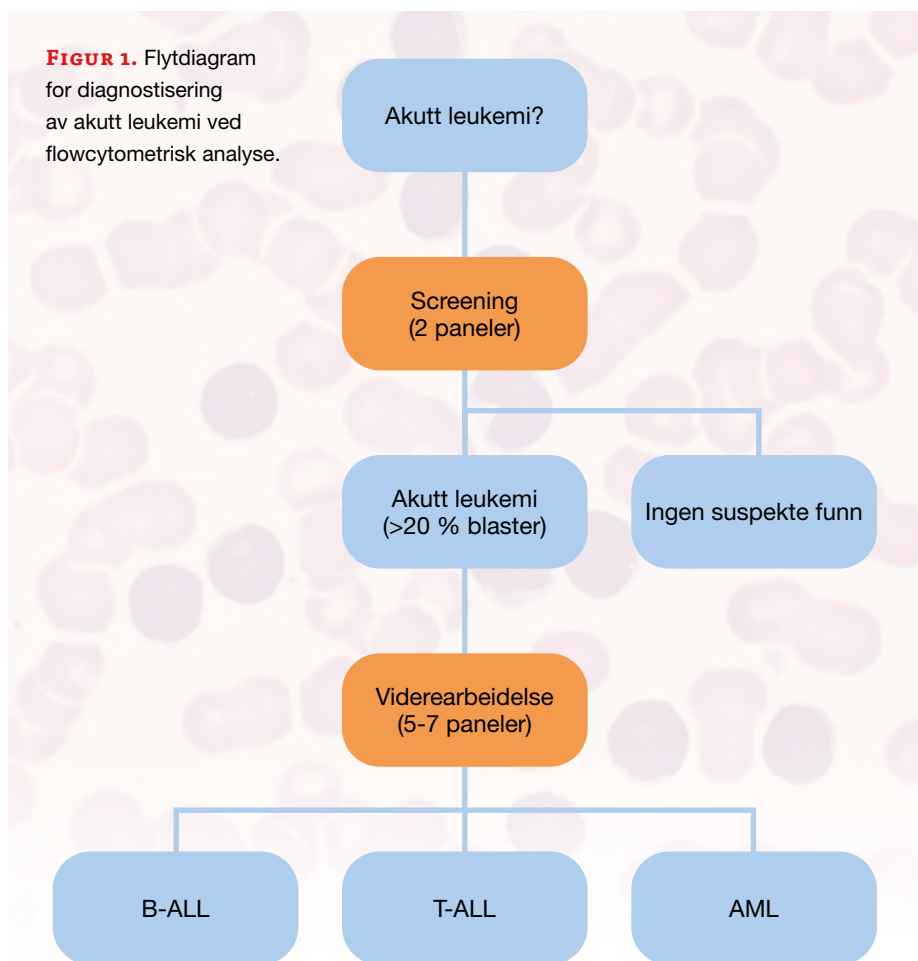
## Videre arbeid

Ved funn av suspekt cellepopulasjon i screeningpanel følger man et strategidokument for valg av antistoffpaneler i det videre arbeidet (figur 1). Ved funn som peker i retning akutt lymfatisk leukemi i B-cellerekken (B-ALL) vil man sette opp ytterligere syv paneler. For å kunne påvise eller utelukke leukemi vurderes både andel celler i ulike cellelinjer, og om cellene uttrykker aberrante CD-markører. Det vil si at cellene uttrykker antigener som celler i denne cellelinjen normalt ikke uttrykker, eller at cellene mangler uttrykk av antigener som celler i denne cellelinjen normalt uttrykker.

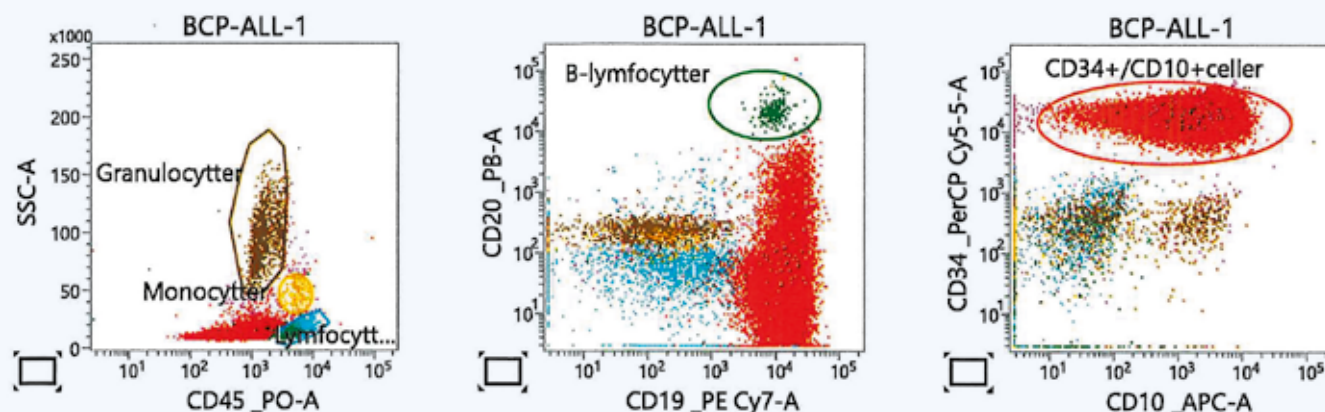
## Standardisering

Panelene som i dag benyttes til leukemiutredning er utarbeidet og validert av Euroflow konsortium og vi følger ALL-Together protokoll (Laborative Guideline for the detection of FCM MRD in BCP and T-ALL). Tidligere benyttet vi selvlagede metoder til både leukemi- og lymfomdiagnostisering, men i perioden 2019-2021 er det gjort et stort arbeid med å standardisere både instrumenter og paneler.

**FIGUR 1.** Flytdiagram for diagnostisering av akutt leukemi ved flowcytometrisk analyse.



## B-ALL



☑ Show Statistical Gates/Populations

▼ Gate Hierarchy

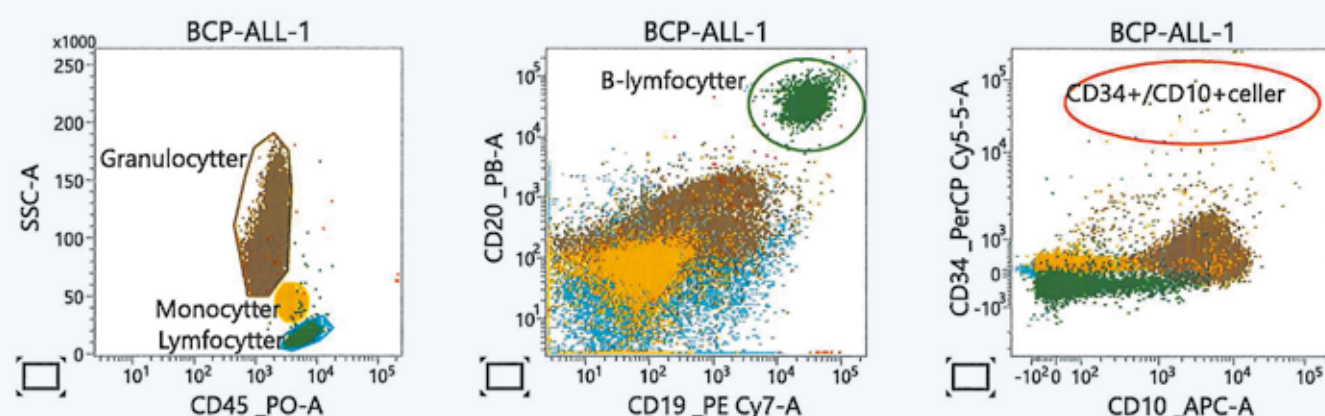
▲ Population View

☑ Show Population Statistics

| Name              | Events  | % Parent | % Grandparent | % Total |
|-------------------|---------|----------|---------------|---------|
| BCP-ALL-1         |         |          |               |         |
| All Events        | 100,000 | ***      | ***           | 100.00  |
| Cells             | 98,351  | 98.35    | ***           | 98.35   |
| FCS Singlets      | 83,546  | 84.95    | 83.55         | 83.55   |
| Lymfocytter       | 2,304   | 2.76     | 2.34          | 2.30    |
| B-lymfocytter     | 236     | 0.28     | 0.24          | 0.24    |
| CD34+/CD10+celler | 79,198  | 94.80    | 80.53         | 79.20   |
| Granulocytter     | 1,076   | 1.29     | 1.09          | 1.08    |
| Monocytt          | 143     | 0.17     | 0.15          | 0.14    |

**FIGUR 2.** For å kunne stille diagnosen akutt leukemi bør blaster utgjøre  $\geq 20\%$  av viable hvite celler i blod eller benmarg. Bildet øverst viser utvalgte scatterdiagram av blod fra en pasient hvor vi påviste B-ALL. Hver prikk tilsvarer en enkelt celle, og i dette tilfellet fant man en populasjon på ca. 79% blaster med immunfenotype CD45 svak/34+/19+/10+ som er forenlig med B-ALL. Bildet nederst viser tilsvarende scatterdiagram av blod fra «normalprøve».

## Normalprøve

**Undersøker benmarg**

På bestemte tidspunkt i behandlingsforløpet undersøkes pasientens benmarg for restsykdom. Ved MRD-vurdering settes

det opp paneler som inneholder CD-markører som finnes på leukemicellene. Flere millioner celler telles (om mulig), og dette gir en relativt høy sensitivitet

på analysen. Hos oss utføres MRD-diagnostikk ved B-ALL og T-ALL, mens MRD-diagnostikk ved AML er sentralisert til Oslo universitetssykehus. ■