

Doporučené, validované a akreditované postupy pro diagnostiku a monitorování krevních chorob průtokovou cytometrií

MUDr. Iuri Marinov, CSc.

Ústav klinické a experimentální hematologie 1. LF UK a Ústavu hematologie a krevní transfuze

Předložený souhrn výsledků odráží podíl autora na vývoji klinické průtokové cytometrie. V českých podmínkách se většinou jedná o původní výsledky a zkušenost.

Extenzivní analýzou „slepých“ panelů monoklonálních protilátek v rámci mezinárodní spolupráce bylo dosaženo originálních poznatků s přínosem pro mezinárodní CD nomenklaturu o lidských diferenciačních antigenech. Analýzou výskytu CDw12 a CD17 na leukemických buňkách autor doložil potenciální význam obou znaků pro diagnostiku akutní myeloidní leukémie. Při výzkumu exprese vybraných adhezních molekul na povrchu leukemických buněk prokázal deregulovanou expresi, která může korelovat s patogenezí a prognózou jednotlivých typů krevních malignit. Dále doložil aberantní výskyt CD38 molekuly na leukemických buňkách a jeho význam pro diagnostiku krevních malignit. V otázce imunofenotypizace akutních leukemií a lymfoproliferací, se autor osobně podílel na vydání konsensuálního dokumentu v rámci European LeukemiaNet. V laboratoři průtokové cytometrie autor zavedl, ve spolupráci s evropským referenčním pracovištěm a prvně v českých podmínkách, diagnostiku myelodysplastického syndromu průtokovou cytometrií. Dále byla v laboratoři poprvé v mezinárodním měřítku provedena klinická validace jednotlivých postupů pro diagnostiku paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH) a byla validována nová, efektivnější strategie pro záchyt PNH klonů. Byla zavedená metoda pro semikvantitativní stanovení exprese CD46 na neutrofilních granulocytech v rámci diagnostiky atypického hemolyticko-uremického syndromu. Po zavedení metody pro monitorování terapie thienopyridiny, byl popsán účinek klopidogrelu u pacientů se stabilní koronární chorobou a potvrzena skutečnost, že významná část pacientů neodpovídá na terapii. Prvně v ČR byly do praxe uvedeny validované metodiky pro kvantifikaci cirkulujících CD34+ kmenových buněk. Zavedená byla metodika na detekci a kvantifikaci CMV specifických paměťových T lymfocytů, která umožňuje monitorování CMV specifické buněčné imunity u pacientů po alogenní transplantaci kmenových buněk. Od r. 2013 laboratoř organizuje mezinárodní program mezilaboratorního porovnání pro speciální metody klinické průtokové cytometrie a je první akreditovanou laboratoří v ČR dle normy ČSN EN ISO 15189.

1. Marinov I., Kohoutová M., Tkáčová V., Lysák D., Holubová M., Stehlíková O., Železníková T., Žontar D., Illingworth A: Intra- and interlaboratory variability of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria testing by flow cytometry following the 2012 practical guidelines for high sensitivity paroxysmal nocturnal hemoglobinuria testing, *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)*, 2013, no. 84b, s. 229-236. IF: 2.231.

2. Marinov I., Kohoutová M., Tkáčová V., Pešek A., Čermák J. and Cetkovský P.: Performance characteristics of consensus approaches for small and minor paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone determination by flow cytometry, *Clin Chem Lab Med*, 2013, vol. 51, no. 11, s. 2133-2139. IF: 3.009.

3. Marinov I., Kohoutová M., Tkáčová V., Pešek A., Čermák J., Cetkovský P.: Clinical relevance of CD157 for rapid and cost-effective simultaneous evaluation of PNH granulocytes and monocytes by flow cytometry. *Int. Jnl. Lab. Hem.*, 2015, 37, 231-237. IF 1.87

Časová osa vývoje průtokové cytometrie	Podíl autora na vývoji průtokové cytometrie
Od r. 1990: Charakterizace nových MoAb	<ul style="list-style-type: none"> - originální poznatky o reaktivitě neznámých MP s přínosem pro mezinárodní CD nomenklaturu - charakterizace originální MP- 2E12 - průkaz deregulované exprese adhezních molekul na maligních buňkách - průkaz aberantní exprese molekuly CD38 na leukemických buňkách - doložení významu znaků CDw12 a CD17 pro charakterizaci akutní myeloidní leukémie
Od r. 1994: Imunofenotypizace krevních malignit	<ul style="list-style-type: none"> - podíl na vydání mezinárodního, konsenzuálního dokumentu o imunofenotypizaci akutních leukemií a lymfoproliferací
Validace metod pro diagnostiku neonkologických krevních chorob	<ul style="list-style-type: none"> - průkaz PNH klonů u pacientů s MDS - validace (prvně v mezinárodním měřítku) jednotlivých postupů pro diagnostiku PNH - validace nové strategie pro záchyt PNH klonů - validace metody pro semikvantitativní stanovení exprese CD46 (MCP) na Ne v rámci diagnostiky aHUS - validace metody na monitorování antiagregační terapie thienopyridiny - popis účinku klopidogrelu u pacientů se stabilní koronární chorobou - doložení skutečnosti, že významná část nemocných neodpovídá na terapii klopidogrelem - doložení nutnosti vstupního vyšetření VASP indexu pro optimální načasování úvodní terapie
Validace vyšetřovacích metod v transplantologii	<ul style="list-style-type: none"> - vyhodnocení výkonnostních charakteristik jednotlivých postupů pro stanovení CD34+ progenitorových buněk - validace techniky pro sledování CMV imunity
Od r. 2011: Validace, harmonizace, standardizace	<ul style="list-style-type: none"> - podíl na mezinárodní harmonizaci a standardizaci v rámci European LeukemiaNet a NetFlow PNH - spolupráce na zpracování nových <i>guidelines</i> pro PNH diagnostiku 2016
Od r. 2012: Akreditace	<ul style="list-style-type: none"> - od r. 2013 organizace mezinárodního programu externí kontroly kvality pro speciální metody klinické průtokové cytometrie - od r. 2013 první akreditovaná laboratoř v ČR dle normy ČSN EN ISO 15189