

Vážené kolegyně a kolegové,

v dnešním čísle Laboratorních listů vám přinášíme podrobné informace o CD znacích v CSF.

Současné znalosti o CD znacích v likvoru a korespondující Disease Related Patterns

Stanovení CD znaků v likvoru naráželo od samého svého počátku na závažné problémy technického rázu, tím hlavním zůstává i nadále nízká buněčnost sledovaných vzorků. Dalším problémem bylo ustanovení dostupných schémat pro využití konkrétních CD znaků. Již i ustanovení normálního obrazu se v likvoru potýkalo právě s oběma těmito problémy. Stanovení normálního obrazu vyžadovalo ihned přítomnost normálního cytologického nálezu v optickém mikroskopu, vždy s vyloučením přítomnosti makrofágů, segmentů, plazmatických buněk či buněk maligních, což může nastat i při zcela normálním počtu elementů v likvoru. Též ihned se zde neosvědčilo pozorování živých buněk pomocí Nomarského systému, Diferenciálně interferenční kontrast Nomarski, DIC, a to pro příliš malý záchyt pozorovatelných objektů. Stanovení bylo pak možno provést sloučením scatterových souborů s jejich finálním vyhodnocením. Tímto byla, také ihned, potvrzena i předchozí úvaha, že i v likvoru budou, stejně jako v periferní krvi, převažovat T buňky, CD3 pozitivní, ve více než 90 procentech. Tímto byl i ustanoven základní požadavek pro provedení imunofenotypizace likvoru přítomností alespoň 60 elementů v komůrce dle Fuchs-Rosenthala, FR.

Během překvapivě krátké doby byly poté ustanoveny DRP u likvorových patologií:

Neuroborrelióza má zcela typický obraz při imunofenotypizaci, přitom počet elementů je obvykle vysoký, i značný, tedy není nutno používat principu slučování souborů, výsledek je rychle a většinou i velmi uspokojivě dostupný. Základním obrazem je vysoké zastoupení B buněk, tedy CD19 pozitivních. Použitím dalších CD znaků a příslušných monoklonálních protilátek MAb, bylo toto i dále potvrzeno, tedy se jednalo o CD20 a CD22 pozitivních B buněk. Dle předpokladů se ihned neosvědčil antigen CD21. Ostatně pak, MAb proti CD20 se již odedávna používají při terapii B lymfomů, Rituximab, a dávno již i v terapii roztroušené sklerózy. Jistě, mohou být přítomny i plazmatické buňky, které již nejsou CD19 pozitivní, tyto jeví sice pozitivitu např. ve znaku CD138, což je nákladná MAb, tyto jsou ale však ihned rozpoznatelné v optickém mikroskopu. Ihned bylo toto také i doloženo morfologicky v DIC, systém Nomarski.

Nálezy u roztroušené sklerózy byly velkou zajímavostí, přičemž řada vzorků ihned, pro dostatečnou buněčnost, splňovala možnosti okamžitého vyhodnocení; u vzorků oligocelulárních bylo pak zpětně přistoupeno k sumaci souborů, což ale, také ihned, potvrdilo nálezy u vzorků značně celulárních. B buňky zde prakticky chybí, tedy ve znaku CD19; jsou zde i plazmocyty, které již znak CD19 neexprimují, třebaže, zcela logicky, z této řady pocházejí. Tyto pak jsou dobře rozpoznatelné i v trvalém cytologickém preparátu za použití optické mikroskopie. Vždy je patrna výrazná převaha T buněk, zde pak lze prakticky vždy dokladovat výraznou přítomnost buněk gamma-delta, které se vyznačují současnou expresí znaků CD4 i CD8. Jinak jsou tyto buňky v likvoru velmi vzácné a nikdy netvoří výrazně zřetelnou populaci.

Granulocytární pleiocytózy, tedy obrazy převážně hnisavých zánětů, netvoří zpravidla v likvoru výraznější diagnostický problém, lze je, a obvykle i snadno a rychle, rozpoznat i v trvalém cytologickém preparátu. Zajímavostí mohou být záchyty myeloidních elementů obecně, ve veterinární medicíně, kde se může dosti často jednat o vyšetření CD znaků u leukémií u non-humánních savců, v tomto případě u psů (*Canis lupus*

Potřebujete kontakt přímo
na odběrové místo, ambulanci,
nebo laboratoř?

Veškeré kontakty naleznete na

www.labin.cz



Institut laboratorní
medicíny

f. familiaris), kde granulocyty, i ostatní myeloidní elementy, exprimují znak CD4. Přítomnost dalších dvou typů granulocytárních pleiocytóz je v likvoru vzácností. Granulocytární pleiocytóza s převahou bazofilů je naprosto raritní a eozinofilní pleiocytózy pouze raritní, doložit ji však můžeme konkrétní impaktovou publikací s vlastními a původními scatterovými diagramy, bylo lze ji snadno rozpoznat i v klasickém cytologickém preparátu.

Lymfocytární pleiocytózy, po vyloučení přítomnosti neuroborreliózy, jsou dosti typickým obrazem virových zánětů CNS, u nás velmi běžných. Typická je převaha aktivovaných T buněk, tedy exprimujících komplex antigenu CD3. Až později se objevují i aktivované B formy, doposud exprimující znak CD19, dále při možném chronickém průběhu i plazmocyty, které již znak CD19 neexprimují. Záchyt i klasifikace virových zánětů je většinou vždy možná i v trvalém cytologickém preparátu, tedy za použití optické mikroskopie.

Přítomnost **maligních elementů** není v likvoru vzácností. Při přítomnosti tumorózní pleiocytózy je toto většinou možno zaznamenat i v trvalém preparátu. Stav, kdy likvor a pleny, jsou osídleny maligními buňkami, býval označován jako maligní infiltrace mening, MIM, v současné době se častěji používá výrazu leptomeningeální metastáza, LMM. Většinou je pouze možno se vyjádřit k přítomnosti karcinomu či melanomu. U karcinomů však prakticky chybí možnost k vyjádření se jeho přímého původu. U melanomů lze, ne však vždy, zaznamenat přítomnost melaninu v maligních elementech. U hematologických malignit je možnost bližšího určení také velmi obtížná, zejména tedy pak proto, že jejich klasifikace se v minulých letech velmi průběžně měnila. Dříve platná rozdělení na leukémie, tedy vyplavující; a na lymfomy, tedy nevyplavující, hematologické malignity, byla již dávno opuštěna. Je však možno, alespoň z části, vyjádřit se k možnosti přítomné myeloidní či lymfocytární leukémie zcela obecně, podle přítomnosti CD znaků těchto buněk, též jejich prekursorů, jsou-li tyto právě v likvoru zachyceny, tedy jistě zřídka kdy.

Úvahy závěrem:

Úvahy do budoucna je možno si dovolit pouze za předpokladu již prokázaných nálezů, zde se jistě jedná o detekci killerů, dále pak jistě i dalších či vhodných CD znaků, pokud k tomuto lze doložit předchozí vlastní pozorování, jistě ne vždy dokonalá či výpravná. U NK buněk, killerů, ihned narážíme na problém charakteru duální ko-exprese antigenů CD16 a CD56, dále i možnou pozitivitou v antigenu CD57, na jejich membráně. Killery jsou v likvoru velmi dobře doložitelné a prokazatelné, toto již i bylo námi publikováno v minulosti.

Otázka procentuálního zastoupení majoritních killerů v likvoru nebyla doposud zodpovězena, lze však očekávat podobné výsledky jako v periferní krvi, tedy kolem 90 %. Stanovení znaku CD25 bylo již námi řešeno, jedná se ale o příliš obecný aktivační znak, zatím tedy bez diagnostického významu, podobně tomu bylo i u DR lokusu. Stanovení CD45 a její sestřihové formy CD45RA umožňuje nejspíše odlišení všech imunokompetentních buněk od pseudo-epitelu, tedy ependymu, epiteloidů; a buněk chorioidálních plexů, ve vzorcích likvoru zcela obecně. Je možno dále uvažovat o detekci CD5 a CD6 pozitivních buněk u scavengerových úklidových reakcí.

