

Setkání uživatelů Průtokové cytometrie Beckman Coulter, 13.-14.5.2018, Valeč

# Mimodřeňová expanze plazmocytů do CNS u mnohočetného myelomu

Říhová Lucie *a kol.*

OKH, FN Brno

BMG při ÚPF, LF MU

# Lokalizace MM

- **kostní dřeň (nejčastěji)**
  - heterogenní rozšíření vs. solitární plazmocytom
- **periferní krev**
  - cirkulující PC (i ve velmi nízkém zastoupení)
  - plazmocelulární leukémie (primární vs. sekundární)
- **měkké tkáně**
  - nově dg. extramedulární MM vs. relaps MM
- **CNS**
  - zřídka nález, ~ 1% pacientů s MM

# Infiltrace CNS u MM

- maligní myelomatóza CNS
- 1% pacientů (1/5-1/4 v čase dg., 4/5-3/4 při relapsu)
- špatná prognóza
- příznaky - bolesti hlavy, špatné vidění, zmatenost, zhoršení paměti
- dg. kritérium - infiltrace likvoru patol. PC
  - cytologická analýza
  - multiparametrická pŕtoková cytometrie (MFC)

# Buněčný obsah CSF

- **Lymfocyty**
  - nejčastěji T, méně B → PC → produkce Ig
- **Monocyty**
  - aktivované či  $M\phi$  svědčí pro patologii
- **Neutrofily**
  - normálně nepřítomny, pouze u novorozenců
  - akutní bakteriální záněty
- **Nádorové buňky**
  - primární vs. metastázující nádory (solidní vs. hematologické)

# Plazmocytóza v CSF

- neinfekční (RS, MM, leukémie, lymfom)
- infekční
  - s plazmocytózou až 40% - WNV
  - mírná plazmocytóza až 6% - virové meningoencefalitidy
  - bez plazmocytózy - neurosyfilis, TBC meningitida...

U MM je nezbytné odlišit patologické (klonální) PC produkující MIG

- imunofixace CSF a séra
- stanovení fenotypu/klonality PC

# Fenotyp plazmocytu

Normální

CD19  
CD27  
CD45  
CD81  
CD44...

$0,3 \leq c\kappa/\lambda \text{ poměr} \leq 3$



Abnormální

CD56  
CD28  
CD117  
CD20  
CD33...

$0,3 > c\kappa/\lambda \text{ ratio} > 3$



CD38  
CD138

# Cíl práce

Detekce PC v likvoru pacientů s MM,  
stanovení jejich fenotypu a porovnání  
s analýzou v dalším dostupném  
biologickém materiálu.

# Soubor pacientů

V letech 2008-2016 dodáno do FC laboratoře  
27 vzorků likvorů pacientů s MM k vyloučení  
infiltrace CNS

- všichni pacienti v relapsu on.
- 22,2 % pozitivních vzorků (6/27)

## Členění souboru

- 15 vzorků s detailnější analýzou
- u 26,7 % (4/15) poz. pacientů srovnání s KD, PK příp. TU



# Metody

## Průtoková cytometrie (FC)

- 2008-2009 multiparametrická FC (12 vzorků)  
CD38/CD138/CD45(/CD19) a příp. také CD5/CD56/CD45/CD19
- 2010-2016 polychromatická FC (15 vzorků)  
CD38/CD45/CD5/CD14/CD138/CD19/CD56/HLA-DR (CD27)

## Okamžité zpracování vzorku

- centrifugace pro zahuštění, inkubace s MoAb a lyzace  $\text{NH}_4\text{Cl}$
- analýza na FC500 Cytomics (BC) či FACSCanto II (BD)
- reanalýza pomocí SW Infinicyt (Cytognos)

# Výsledky 1.

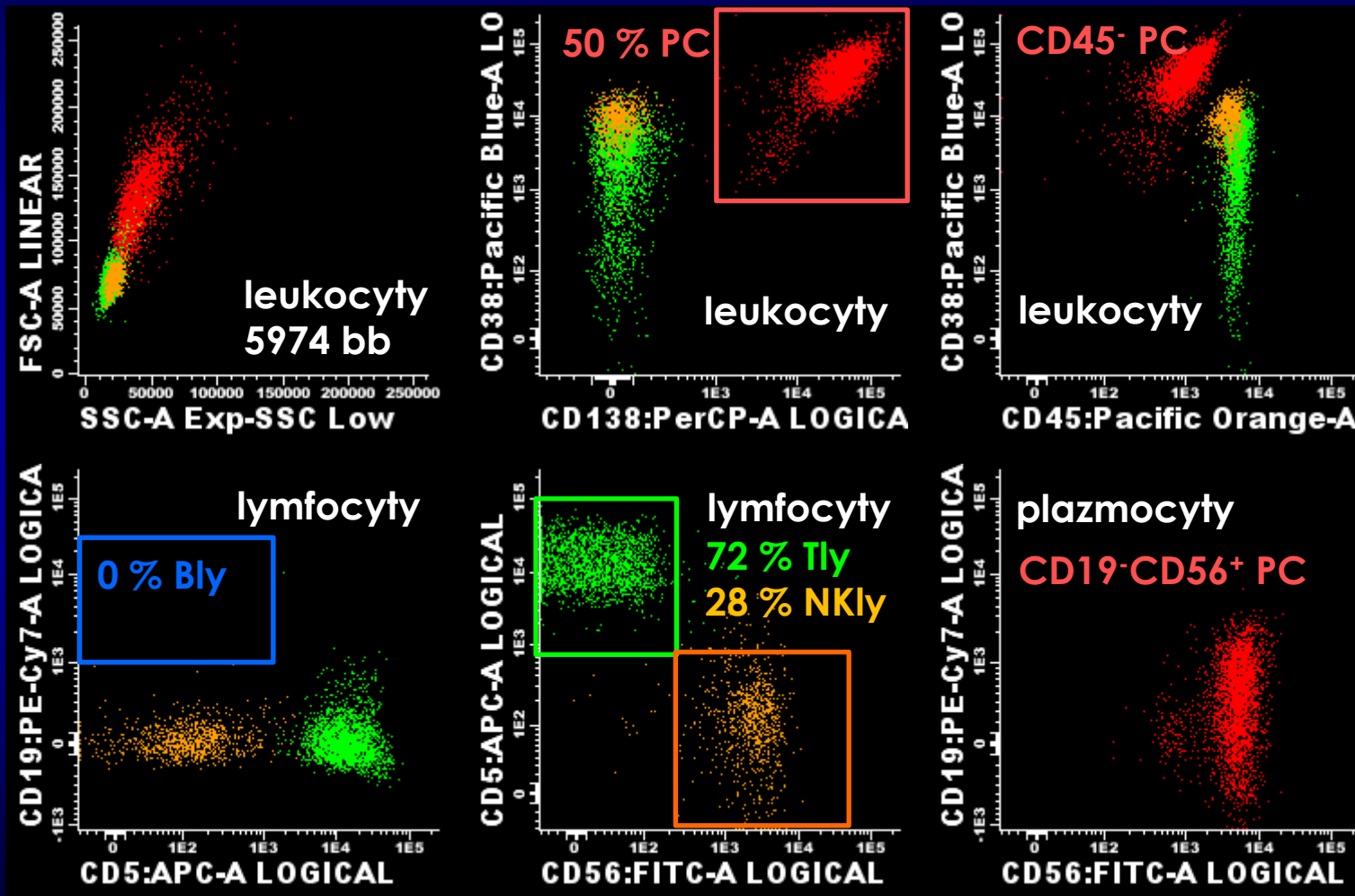
- medián počtu analyzovaných leu: 231 (19-6013)
- medián zast. lymfocytů 73 % (20-100)
- medián zast. monocytů 11 % (0-45)
- záchyt plazmocytů
  - 26,7 % (4/15) pacientů
  - 1,2-70,0 % PC (22-2985 bb) ze všech leu
  - 0 % (0/4) CD19<sup>+</sup> PC vs. 50% (2/4) CD56<sup>+</sup> PC
    - ⇒ pouze patologické PC, normální PC nezachyceny
  - klonalita PC z důvodu nízké buněčnosti neanalyzována

# Výsledky 2.

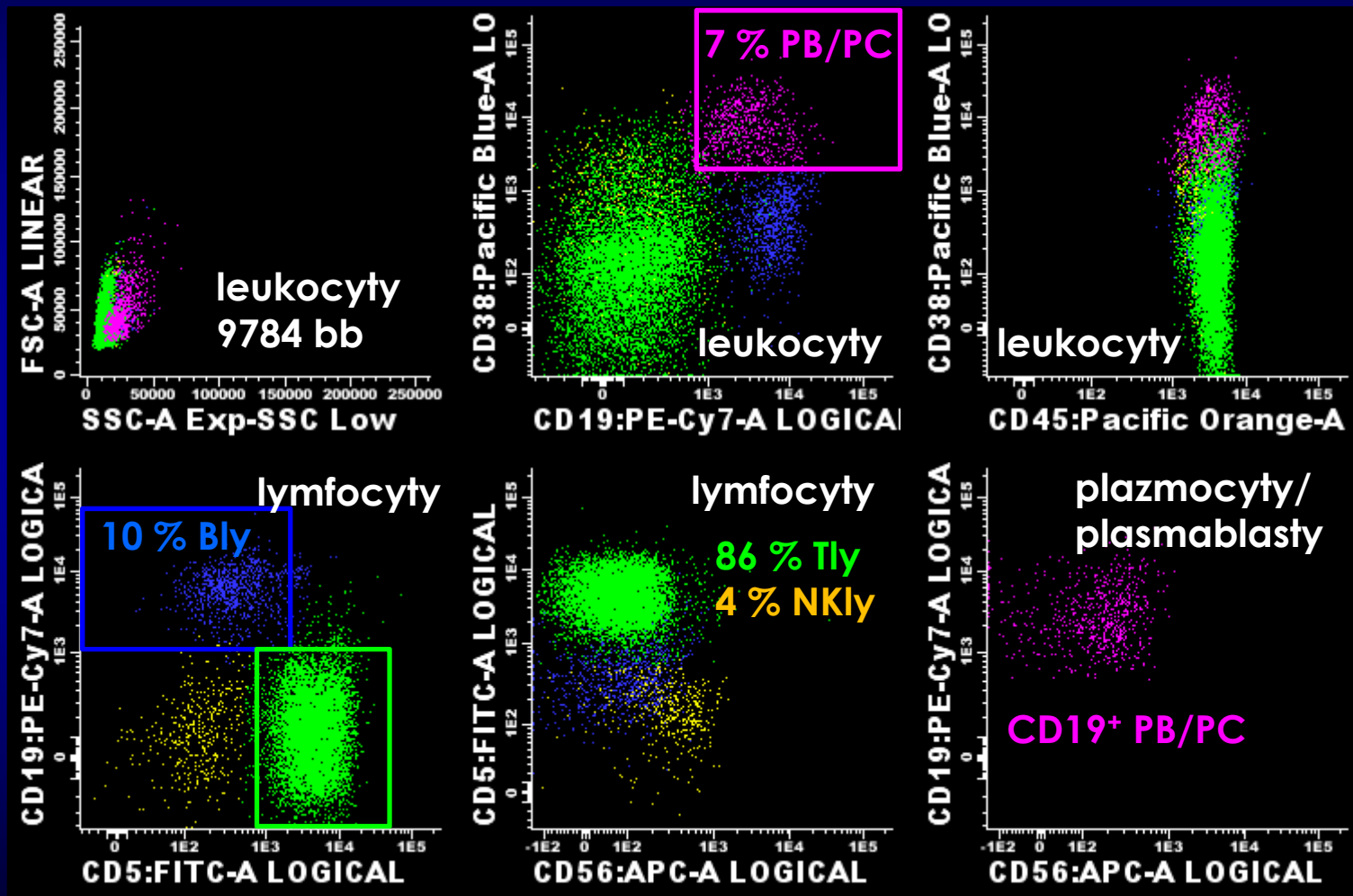
## Pacienti s přítomnými patol. PC (4/15)

- vesměs refrakterní na léčbu (2 pacienti se 4 AT!)
- u všech pacientů přítomny cirk. PC (cPC)
  - 1 pacient s primární plazmocelulární leukémií (PCL)
  - 1 pacient s rozvojem sekundární PCL
- 2 pacienti s extramedulárním relapsem MM (tumor)
- fenotyp patol. PC v likvoru, kostní dřeni, periferní krvi i tumoru dle CD19 a CD56 shodný

# MM s pozitivním likvorem



# Neprokázaná lymfoproliferace



# Souhrn a diskuze

- postižení CNS u pacientů s MM není běžné
- literární údaje s uplatněním MFC v analýze likvoru u MM nejsou početné
- pacienti refrakterní na léčbu s infaustní prognózou
- získaná data (fenotyp, přítomnost cPC) jsou ve shodě s italskou studií, zaměřenou na význam MFC v analýze maligní myelomatózy v CNS či v pleurálním výpotku
- infiltrace CNS = agresivní terminální fáze MM  
asociovaná s sPCL?

Marchesi 2015, Abdallah 2014

# Závěr

Infiltraci CNS u pacientů s MM lze prokázat detekcí patologických PC v likvoru. Polychromatická průtoková cytometrie je citlivou metodou umožňující zachytit tyto patologické plazmocyty a identifikovat další buněčné subpopulace, a to v rozličných tkáňových tekutinách.

# Poděkování

- FC Lab, OKH, FN Brno, Brno
- IHOK, FN Brno a LF MU, Brno



# Děkuji za pozornost

