ПРОТОЧНАЯ ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИЯ

Проточная цитофлюориметрия имеет широкую область применения как в прикладных науках, так и в практической медицине. Принцип метода основан на регистрации флюоресценции и светорассеяния от каждой отдельно взятой клетки в клеточной суспензии. Преимуществом этого метода является возможность зафиксировать на отдельной клетке до 8-10 различных параметров, включая оценку физических свойств (размер и гранулярность) и экспрессию различных поверхностных и внутриклеточных маркеров, конъюгированных с флюорохромами. К достоинствам мультипараметрического и многоцветного анализа можно отнести не только возможность визуализировать коэкспрессию множества маркеров на одной клетке, но также короткое время анализа за счет высокой скорости и анализ большого количества клеток (до 108 клеток). В качестве образцов для исследования на проточном цитометре могут использоваться различные суспензии клеток и любые биологические жидкости. Относительными недостатками методики можно считать короткое время хранения биообразцов и невозможность отсроченной диагностики.

В онкогематологии этот метод является основополагающим в диагностике острых лейкозов, так как за короткий промежуток времени (2-3 часа) можно получить полные данные о суммарном иммунофенотипе опухолевой популяции. Спектр диагностических возможностей проточной цитометрии очень широкий: это не только первичная диагностика острых лейкозов и лимфопролиферативных заболеваний, но и возможность последующего высокочувствительного мониторинга остаточного опухолевого клона в течение терапии. Это достигается путем определения лейкоз-ассоциированного иммунофенотипа (LAIP) в рамках современных международных протоколов.

В настоящее время в международном медицинском сообществе проточная цитометрия стала «золотым стандартом» в диагностике такого заболевания, как пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ). При этом заболевании вследствие соматической мутации PIG-A гена происходит частичная или полная утрата GPI-связанных белковых молекул на поверхности лейкоцитов и эритроцитов, в связи с чем они становятся уязвимы для системы комплимента. Этот метод позволяет быстро и точно выявить ПНГ-клон на эритроцитах и лейкоцитах крови (гранулоцитах и моноцитах).

Параллельно с морфологическими и цитогенетическими исследованиями в диагностике миелодиспластического синдрома (МДС) рекомендуют выполнять иммунофенотипирование аспирата костного мозга. Это исследование позволяет объективно оценить аберрантность фенотипа клеток (миелобластов, нейтрофилов, моноцитов, эритроидных предшественников), объективно рассчитать индекс гранулярности нейтрофилов и выполнить количественный анализ и иммунофенотипирование популяции бластов в случае их избытка.

Иногда единственным методом эффективной терапии онкогематологических заболеваний является аутологичная или аллогенная трансплантация костного мозга. Метод проточной цитометрии по протоколу ISHAGE позволяет качественно и точно определить абсолютное количество гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в продукте (клеточный концентрат костного мозга, аферез периферической крови или пуповинная кровь) и рассчитать необходимое количество ГСК на 1 килограмм веса реципиента.

Патологоанатомическое отделение клинической молекулярной морфологии СЗГМУ им. И.И.Мечникова оснащено проточным цитометром Navios фирмы Beckman Coulter. Данный прибор имеет 2 лазера и позволяет регистрировать 8 параметров флюоресценции и 2 физических параметра (размер и гранулярность клеток). Обработка и анализ полученных данных производится с помощью программного обеспечения Kaluza.