

## Cytometria Przepływowa jako uniwersalna metoda diagnostyczno-badawcza.



2

 **BD**  
BD Biosciences

### PRACOWNIA ZAPRASZA DO WSPÓŁPRACY LEKARZY GINEKOLOGÓW

- Diagnostyka w kierunku niepłodności np. **poronień nawykowych w odniesieniu do pomiaru odsetka limfocytów T ( CD3, CD4, CD8), limfocytów B ( CD19), komórek NK i markerów aktywacji.**
- Ocena fenotypu komórek układu odpornościowego w tym – chorób układu krwiotwórczego – **białaczek, chłoniaków.**
- Analiza zmian odczynowych i wtórnych niedoborów odporności np. **zakażeń wirusowych w tym HIV.**

### PORONIENIA NAWYKOWE [PN] - PRZYCZYNY I DIAGNOSTYKA

#### 1. Czynniki etiologiczne poronień nawykowych( PN):

- **Zaburzenia anatomiczne macicy** – wrodzone i nabyte.  
Stanowią je wady rozwojowe macicy, zrosty wewnątrzmaciczne, polipy endometrialne, mięśniaki podśluzówkowe macicy oraz niewydolność cieśniowoszyjkowa, która jest najbardziej charakterystyczna dla poronień w II trymestrze ciąży. Przyczyny anatomiczne to około 1-5% wszystkich PN.
- **Zaburzenia hormonalne** – stanowią około 3-5% przyczyn PN, wśród nich znajdują się zaburzenia fazy lutealnej cyklu miesięczkowego i niewydolność ciążowego ciała żółtego

przed 8-10 tygodniem ciąży. Przyczyna tych nieprawidłowości niejednokrotnie jest złożona, często u podłoża leży zespół policystycznych jajników, hiperandrogenizm i hiperprolaktynemia. Inne przyczyny to niewyrównane endokrynopatie, takie jak cukrzyca, choroby tarczycy oraz zaburzony metabolizm leptyny.

- **Zaburzenia genetyczne** – przeważają aberracje chromosomalne, a w drugiej kolejności występują mutacje genowe. Czynniki genetyczne to około 3-5% przyczyn PN.
- **Czynniki infekcyjne** – wątpliwy czynnik etiologiczny PN, powoduje raczej poronienia sporadyczne. Czynnikiem sprawczym są różne drobnoustroje zasiedlające narządy płciowe, a także infekcje.
- **Trombofilie wrodzone.**
- **Czynniki środowiskowe** – wątpliwy czynnik etiologiczny PN, wyjątek stanowią biorcy przeszczepów zażywający przewlekłe leki immunosupresyjne, u których potwierdzono wyższy odsetek PN. Wśród innych rozważanych czynników wymienia się leki i inne środki chemiczne działaniu teratogennym, nadużywanie alkoholu, nikotynizm czy przewlekły stres.
- **Czynniki immunologiczne – najczęstsza przyczyna PN.**  
Przypuszcza się, że zaburzenia immunologiczne są odpowiedzialne za około 65-70% utraty ciąży u kobiet z PN. W grupie tej występują czynniki o podłożu autoimmunologicznym i alloimmunologicznym.

## 2. Diagnostyka przyczyn poronień nawykowych [PN] o podłożu autoimmunologicznym

- Wśród autoprzeciwciał największe znaczenie w etiologii PN posiadają autoprzeciwciała przeciwjądrowe (ANA) oraz antyfosfolipidowe (APL), a wśród nich przeciwciała antykardiolipidowe (ACA) oraz lapus anticoagulant (LA).

## 3. Diagnostyka przyczyn poronień nawykowych [PN] o podłożu alloimmunologicznym

- Zaburzenie immunoregulacji na poziomie doczesnej, (komórki NK o fenotypie CD56+/CD16-, limfocyty T i makrofagi)
- Zaburzenie równowagi odpowiedzi immunologicznej typu Th1 nad Th2 – zaburzenie immunoregulacyjnej roli cytokin.
- Zaburzenie immunoregulacyjnego działania progesteronu,
- Brak lub niedobór immunoregulacyjnej roli przeciwciał blokujących,
- Działanie przeciwciał przeciwpłomnikowych ASA

**WNIOSEK** - przed podjęciem prób immunoterapii zaleca się wykonanie u pacjentek następujących badań diagnostycznych:

1. ocena antygenów HLA DQ Alpha u obojga partnerów,
2. test limfocytotoksyczny
3. ocena przeciwciał blokujących we krwi obwodowej.
4. **ocena odsetkowej zawartości subpopulacji limfocytów METODĄ CYTOMETRII PRZEPŁYWOWEJ z krwi obwodowej (immunofenotyp - CD3, CD4, CD8, CD19, NK, CD19+CD5+).**
5. ocena aktywności komórek NK we krwi obwodowej,
6. ocena wydzielania cytokin typu Th1 (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ,) oraz cytokin typu Th2 (IL-4, IL-10),
7. ocena odsetkowej zawartości limfocytów T regulatorowych (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> limfocyty lub komórki Treg) we krwi obwodowej,
8. badanie w kierunku obecności przeciwciał przeciwplemnikowych

Test **METODĄ CYTOMETRII PRZEPŁYWOWEJ** powinien obejmować ocenę odsetkowej zawartości następujących komórek immunologicznych:

<b>ANTYGEN</b>	<b>TESTOWANA POPULACJA LIMFOCYTÓW</b>	<b>Wartość referencyjna</b>
<b>CD3</b>	subpopulacja limfocytów T	<b>64-74%</b>
<b>CD4</b>	subpopulacja limfocytów T- pomocniczych	<b>41-49%</b>
<b>CD8</b>	subpopulacja limfocytów T- cytotoksycznych/supresorowych	<b>31-38%</b>
<b>CD4/CD8</b>	Oznacza proporcję Th1/Th2	<b>0,6-2,8%</b>
<b>CD19</b>	subpopulacja limfocytów B	<b>10-15%</b>
<b>CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup></b>	subpopulacja limfocytów B-1	<b>2-10%</b>
<b>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup></b>	subpopulacja komórek NK – natural killer	<b>13-22%</b>

#### **OZNACZENIE ANTYGENU CD3 NA SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW T**

Podwyższenie odsetka komórek CD3 może świadczyć o nadmiernej aktywności układu immunologicznego. Często występuje u chorych na choroby autoimmunologiczne. U kobiet z PN często stwierdza się podwyższony odsetek limfocytów CD3.

#### **OZNACZENIE ANTYGENU CD4 NA SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW T – pomocniczych, ANTYGENU CD8 NA SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW T-cytotoksycznych/supresorowych, oraz STOSUNEK CD4/CD8**

Bardziej istotne od oznaczenia odsetkowych wartości limfocytów CD4 i CD8 jest określenie proporcji CD4 do CD8. Podwyższona proporcja CD4/CD8 jest w pewnym zakresie odzwierciedleniem proporcji odpowiedzi immunologicznej typu Th1 do Th2.

Podwyższoną proporcję CD4/CD8 obserwuje się u pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi, a także u kobiet z PN o podłożu alloimmunologicznym.

#### **OZNACZENIE ANTYGENU CD19 ORAZ CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup> NA SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW B**

Limfocyty CD19 odpowiedzialne są za produkcję przeciwciał wszystkich klas (IgG, IgM oraz IgA). Limfocyty CD19 prawie zawsze znajdują się w górnej zawartości normy lub znacznie powyżej normy u kobiet z PN o immunologicznym podłożu. W przypadku pobudzenia komórek CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup> produkują one przeciwciała w stosunku do hormonów, receptorów

hormonalnych oraz neurotransmiterów (między innymi serotoninie). Najczęściej wytwarzanymi przeciwciałami przez te komórki są przeciwciała przeciwko hormonom tarczycy, estrogenom, progesteronowi, gonadotropinom i hormonom wzrostu. Kobiety te stanowią 80-90% wszystkich pacjentek z niepłodnością, u których obserwuje się słabą stymulację gonadotropinami. Uważa się, że podwyższony odsetek tych komórek u kobiet z PN jest silnie powiązany z wczesną utratą ciąży. Kobiety z podwyższonym odsetkiem CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup> posiadają także podwyższone ryzyko zapalenia tarczycy i wystąpienia przedwczesnej menopauzy.

### **OZNACZENIE ANTYGENU CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> NA SUBPOPULACJI KOMÓREK NK- NATURAL KILLER**

Oba rodzaje naturalnych komórek NK CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> oraz CD56<sup>+</sup> są przede wszystkim producentem TNF $\alpha$ . Komórki NK - CD56<sup>+</sup> (CD16<sup>-</sup>) są produkowane przez doczesną i zdolne są do znacznie większej produkcji TNF $\alpha$  aniżeli komórki NK CD56<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup>, które z kolei mogą łatwo migrować do doczesnej i tkanek styku maczyny- płodowego.

U kobiet z PN często obserwuje się podwyższenie odsetkowej zawartości obu fenotypów komórek NK.

### **CENNIK BADAŃ**

1. Stosunek CD4/CD8 – **80 PLN** ( w przebiegu zakażenia wirusem HIV)
2. Panel podstawowy – **100 PLN** ( w zaburzeniach odporności i niepłodności)
3. Panel poszerzony – **150 PLN** ( w chorobkach nowotworowych, w tym chłoniakach i białaczkach)

**Uwaga** : do oceny odsetka limfocytów konieczne jest wykonanie badania morfologii krwi w cenie: 8,- PLN



### **KONTAKT**

**Kierownik Pracowni:**

**dr n. med. Aldona Kaczmarek**

**Specjalista:**

**laboratoryjnej immunologii medycznej  
cytomorfologii medycznej**

**Email: [aldona.kaczmarek@wco.pl](mailto:aldona.kaczmarek@wco.pl)**

**Tel. 61-88-50-676, 504-796-360**

**INFORMACJE SZCZEGÓŁOWE ZNAJDUJĄ SIĘ NA STRONIE INTERNETOWEJ**

**WCO.pl – Pracownia Cytometrii**

**PRACOWNIA CZYNNNA:**

**9 - 13<sup>00</sup> od poniedziałku do piątku**

- ZAŁĄCZNIK:**
1. Procedura organizacji badań
  2. Plan lokalizacji