

## Paroksüsmaalse nokturnaalse hemoglobiinuuria paneel (voolutsütomeetria)

### Immuunanaluüsi osakond

Paroksüsmaalne nokturnaale hemoglobiinuuria (PNH) on hematoloogiline haigus, mida põhjustab ühte või mitut hematoloogilist rakuliini haarav somaatiline mutatsioon *PIGA* geenis. Mutatsiooni tulemusena häirub glükosüül-fosfatidüül-inositol (GPI) süntees, mis takistab komplementi reguleerivate valkude seondumist vererakkude pinnale.

Voolutsütomeetria kasutab PNH kloni tuvastamiseks GPI-ga seonduvaid valke, mille ekspressiooni hinnatakse kolmes vereloome rakuliinis: erütrotsüütides (CD59), monotsüütides (CD14) ja neutrofiilides (CD24). Lisaks pinnavalkude vastastele antikehadele kasutatakse leukotsüütide jälgimisel vahetult GPI-ga seonduvat ja fluorestsentsmärgisega konjugeeritud bakteri aerolüsiini (FLAER). Erütrotsüüdid ja leukotsüüdid võivad olla GPI-puudulikud kas täielikult (tüüp 3) või osaliselt (tüüp 2).

### Uuritav materjal, selle võtmine, saatmine ja säilitamine

Katsuti	Eelistatult K2E/K3E-katsuti (lilla kork), sobib ka LH-katsuti (roheline kork)
Analüüsitav kogus	3 mL verd
Säilivus	Toatemperatuuril kuni 24 tundi. Mitte külmutada!

**Analüüsi tegemise aeg:** tööpäeviti, vastus 3 tööpäeva jooksul

**Analüüsimeetod:** voolutsütomeetria

Erütrotsüütide immuunfenotüpeerimisel kasutatavad antikehad CD235a, CD59; monotsüütidel CD45, CD64, CD14, FLAER; neutrofiilidel CD45, CD15, CD24, FLAER.

### Vastuse vorm

PNH kloni suurus (%) erütrotsüütidest, monotsüütidest ja neutrofiilidest.

### Näidustus ja kliiniline tähendus

Voolutsütomeetrist uuringut kasutatakse PNH diagnoosimiseks ja haiguskulu jälgimiseks. Kõrgema PNH riskiga gruppi kuuluvad patsiendid, kellel on leitud selgitamata põhjusega tsütopeenia, aplastiline aneemia (AA), müelodüsplaasia (MDS), selgitamata põhjustega tromboosid noores eas või tromboos haruldases paikmes (intraabdominaalsed veenid ja arterid, ajuveenid, nahaveenid), Coombs-negatiivne hemolüütiline aneemia, hemoglobiinuuria.

Väike GPI-puudulike rakkude kloon leitakse 40–57% omandatud AA diagnoosiga patsientidelt. AA patsiendid vajavad jälgimist, sest kloon võib ajas muutuda ning välja kujuneda kliiniline PNH. MDS puhul leidub GPI-puudulikke rakke ligikaudu 2% patsientidest. Kuna MDS patsientidel tekivad GPI-puudulikud rakud kolooniaid formeerivatest rakkudest (CFC), et kujune neil kliinilist PNH-d. Tervetel indiviididel esineb GPI-puudulikke erütrotsüüte kuni 0,006%.

Kliinilise PNH korral moodustavad GPI-puudulikud rakud uuritud rakupopulatsioonidest tavaliselt üle 10%, MDS ja AA korral jääb vastavate rakkude hulk alla 10%. Väga väikesed (alla 1%) PNH kloonid võivad olla põhjustatud ka immuunsupressiivsest ravist.

Ebakõla GPI-puudulike erütrotsüütide ja leukotsüütide arvu vahel tuleneda hemolüüsist või uuringule eelnenud transfusioonist. Üldjuhul monotsüütide ja neutrofiilide GPI-puudulike rakkude kloonid korreleeruvad hästi, kuid ka nendel puhul võib esineda lahknevusi.

Eva Reinmaa