

## FLOW CITOMETRIA METODË MODERNE NË DIAGNOSTIKIMIN E LEUKEMISË



**Arbana  
Baloku Zejnullahu**

*Specialiste e Pediatriisë  
Reparti i Hemato-Onkologjisë  
Klinika Pediatrike, QKUK*

Flow Cytometria (FC) është një metodë laboratorike që përdoret për të zbuluar, identifikuar dhe numëruar qelizat specifike.

Flow Citometri (ose citometri rrjedhës) është një instrument i sofistikuar që mat karakteristikat e shumëfishta fizike të një qelize të vetme siç janë madhësia dhe granulariteti kur qeliza rrjedh në suspenzion përmes një pajisje matëse, duke i ndriçuar qelizat (ose grimcat e tjera) ndërsa ato rrjedhin individualisht përpara një burimi drite dhe më pas zbulon dhe korrekon sinjalet nga ato qeliza që rezultojnë nga ndriçimi.

Kjo metodë gjithashtu mund të identifikojë përbërës të veçantë brenda qelizave. Ky informacion bazohet në karakteristikat fizike por edhe markerët e quajtur antigjene në sipërfaqen e qelizës ose brenda qelizave që janë unike për atë lloj qelize.

Pajisja e parë e Flow Cytometrisë e bazuar në fluoreshencë (ICP 11) u zhvillua në vitin 1968 nga Wolfgang Göhde nga Universiteti i Münster në Gjermani.

Zyrtarisht, në vitin 1978 emri Cytophotometri u ndryshua në "Flow cytometry" në Konferencën e Fondacionit Amerikan të Inxhinierisë.

Flow cytometria është metodologji e përdorur për të zbuluar antigjene sipërfaqësore në qeliza duke përdorur antitropa monoklonalë të konjuguar me fluorokrome të ndryshme.

Flowcitometria gjen përdorim të gjerë si në shkencë ashtu edhe në praktikën klinike dhe një prej përdorimeve më të rëndësishme është përdorimi i flowcitometrisë për diagnostikim të leukemive.

Vlera e karakterizimit e qelizave leukemike është të përcaktojë linjën e gjakut (të tilla si mieloide, Limfoide T ose limfoide B). Mund të përdoret gjithashtu edhe për të gjetur linja të dyfishta të gjakut në leukeminë bifenotipike, ko-ekspresionin e antigjeneve ose profilet aberrante si dhe për të përcaktuar klonalitetin. Përdoret edhe për të bërë përcjellë sëmundjen minimale residuale të leukemisë.

Pra është një teknikë që përdoret për të zbuluar dhe matur karakteristikat fizike dhe kimike të një populatë qelizash ose grimcash.

Parimi themelor i FC është kalimi i qelizave një nga një përpara një laseri në mënyrë që ato të mund të zbulohen, numërohen dhe renditen. Komponentët e qelizave janë etiketuar në mënyrë fluoreshente dhe më pas ngacmohen nga laseri për të lëshuar dritë në gjatësi valore të ndryshme.

Në këtë proces, një mostër që përmban qeliza ose grimca pezullohet në një lëng dhe injektohet në instrumentin e Flowcitometrit. Mostra përqendrohet për të rrjedhur në mënyrë ideale një qelizë në të njëjtën kohë përmes një rreze laser, ku drita e shpërndarë është karakteristike për qelizat dhe përbërësit e tyre. Mijëra qeliza në sekondë kalojnë një nga një përmes një ose më shumë rrezeve laser në një

Flowcitometër, të cilat matin dritat e shpërndara në disa kënde dhe emisionet e fluoreshencës. Të dhënat e mbledhura pastaj përpunohen në kompjuter.

Komponentet bazike të Flowcitometrit janë: Burimi i dritës, Sistemi fluidik, Sistemi optik, Detektorët e dritës dhe Kompjuteri.

Për punë me Flowcitometër është e rëndësishme të ketë një grup antitropash monoklonalë të zgjedhur posaçërisht për t'u përdorur për sëmundje të ndryshme, të quajtur si panel. Është me rëndësi të caktohet paneli sa më i saktë ngase duke përdorur panelin e gabuar, ose një panel që është shumë i vogël ose i kufizuar, shpesh nuk arrin të përcaktojë fenotipin në mënyrë të mjaftueshme ose mund të humbasë një diagnozë të rëndësishme diferenciale.

Për tu analizuar mostra në Flowcitometër, ajo duhet së pari të përgatitet. Ekzistojnë disa protokole të përgatitjes së mostrës. Pas përgatitjes, mostra vendoset në aparatin Flowcitometër për tu procesuar dhe pas marrjes së të gjitha mostrave, bëhet analizimi i të dhënave të fituara në kompjuter. Raportimi i rezultateve përfshin përcaktimin e përqindjes së qelizave me markerët specifikë për sëmundjen përkatëse dhe llojin e antitropave pozitiv.

Që kur Flowcytometria u bë e disponueshme për tregti mbi 40 vite më parë, zhvillimi i saj është rritur me hapa të mëdhenj. Në fillim mund të matnin 1-2 parametra qelizorë, ndërsa sot, mund të matim në mënyrë rutinore deri mbi 20 parametra fluoreshente njëkohësisht. Flowcytometrat modernë janë gjithashtu të aftë të matin mijëra grimca çdo sekondë.

Flowcitometria përdoret për të identifikuar qelizat në tretësi dhe përdoret më së shpeshti për vlerësimin e gjakut periferik, aspiratit të palcës kockore dhe lëngjeve të tjera të trupit, për të identifikuar dhe vlerësuar sasi të qelizave imune dhe për të diagnostikuar malinjitet hematologjike.

Në Kosovë Flowcitometria për momentin përdoret vetëm për të diagnostifikuar malinjitet hematologjike në moshat pediatrike.

Në vitin 2018 Dr. Arbana Baloku Zejnullahu dhe Dr. Albana Xani, pediatre nga reparti i Hemato-onkologjisë në QKUK janë trajnuar në periudhe gati 1 vjeçare për punë me Flow cytometër në klinikën Universitare të Gracit në Austri nga Prof. Wolfgang Schwinger. Ky trajnim u realizua në kuadër të bashkëpunimit shumë vjeçar që klinika pediatrike pranë QKUK tashmë e ka me Universitetin mjekësor në Grac. Pas kthimit të mjekeve nga Austria ishte e nevojshme të krijohet laborator i Flowcitometrisë, sepse përveç aparatit Flowcitometër që tanimë ishte në repartin e hemato-onkologjisë, nevojitej edhe aparaturë shtesë dhe material shpenzues si reagensa, të cilat realizohen pas përpjekjeve të shumta dhe falë një angazhimi maksimal të stafit. Më në fund është arritur krijimi i laboratorit të Flow cytometrisë. Ky laborator tani gjendet në repartin e hemato-onkologjisë pediatrike pranë klinikës pediatrike në



## Albana Xani

*Specialiste Pediatër  
Reparti i Hemato-Onkologjisë  
Klinika Pediatrike, QKUK*

### QKUK.

Në vitin 2020 përkatësisht në kohë pandemie ka filluar të punohet analiza e pare flowcitometrike. Kjo analizë bëhet duke analizuar aspiratin e palcës kockore ose gjakun periferik.

Deri më tani në klinikën pediatrike janë realizuar 47 analiza Flowcitometrike, ku janë diagnostikuar 17 pacientë me leukemi. Njëkohësisht kjo analizë dërgohet edhe në Grac të Austrisë për kontrollë të dyfishtë nga profesori i cili i ka trajnuar mjeket vendore dhe deri më tani të gjitha diagnozat janë verifikuar plotësisht. Duhet cekur se kjo analizë kryhet pa pagesë nga profesori në Grac për fëmijët kosovarë.

Në pacientët e ekzaminuar, ka dominuar Leukemia akute limfoblastike me qeliza B, pastaj Leukemia akute limfoblastike me qeliza T si dhe Leukemia akute mieloblastike.

Te pacientët është realizuar edhe analiza e diagnostikimit të biologjisë molekulare ku janë ekzaminuar fusion gjenet më të shpeshta te leukemisë akute limfoblastike dhe leukemisë akute mieloblastike, analizë kjo e cila punohet ne Utrecht të Holandës falë bashkëpunimit që ka klinika pediatrike me qendrën për onkologji pediatrike Princess Maxima në Utrecht. Kjo analizë kryhet pa pagesë për pacientët e repartit dhe shërben si marker për stratifikim të pacientëve në bazë të riskut të sëmundjes.

Te fëmijët e diagnostikuar me Leukemi akute limfoblastike ka filluar trajtimi me kemoterapi sipas protokollit dhe të gjithë pacientët janë në përcjellje të vazhdueshme nga mjekët e repartit të hemato-onkologjisë pediatrike. Deri më tani të gjithë pacientët janë në fazë të remisioinit. Analiza Flowcitometrike ka ndihmuar në diagnostikim të shpejtë, përcaktimin e saktë të nëntipit të leukemisë varësisht nga imunofenotipi që kanë shprehur. Kjo ka ndihmuar në stratifikim edhe të riskut të pacientit dhe përcaktim të saktë të protokollit të trajtimit.

### Literatura:

1. Jaban-Tigh RR, Ryan C, Obermoser G, Schwarzenberger K. *Flow Cytometry. J Invest Dermatol.* 2012 Oct

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15354877>

2. Adan A, Alizada G, Kiraz Y, Baran Y, Nalbant A. *Flow cytometry: basic principles and applications. Crit Rev Biotechnol.* 2017 Feb 17

<https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1128876>

3. Baumgarth N, Roederer M. *A practical approach to multicolor flow cytometry for immunophenotyping. J Immunol Methods.* 2000 Sep 21 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022175900002295>

4. Nassar AF, Ogura H, Wisniewski AV. *Impact of recent innovations in the use of mass cytometry in support of drug development. Drug Discov Today.* 2015 Oct

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4668584/>

5. *Citometria de flujo.*

[https://www.wikivevo.com/wiki/Flow\\_cytometry](https://www.wikivevo.com/wiki/Flow_cytometry)

6. Shapiro Howard M. *Practical Flow Cytometry, 4th Edition | Wiley. Wiley.com.*

<https://www.wiley.com/en-ao/>

7. Givan AL. *Flow Cytometry: First Principles. John Wiley & Sons; 2013. 277 p.*

8. Saxena R, Anand H. *Flow cytometry in acute leukemia. Indian J Hematol Blood Transfus.* 2008 Dec

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3475429/>

9. Brown M, Wittwer C. *Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology. Clin Chem.* 2000 Aug 1

<https://doi.org/10.1093/clinchem/46.8.1221>

10. Cossarizga A, Chang H-D, Radbruch A, Akdis M, Andrä I, Annunziato F, et al. *Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies\*. Eur J Immunol.* 2017

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/eji.201646632>

11. Ormerod MG. *Flow Cytometry: A Practical Approach. OUP Oxford; 2000. 300 p.*

### Korrespondenca:

albana\_xani@hotmail.com