

2021-10-26

Chimerismanalys

Patienter som genomgått en allogen hematopoetisk stamcellstransplantation (HSCT) följs bl.a. med avseende på markörer för tidig upptäckt av avstötning och/eller återfall i grundsjukdomen. På transplantationsimmunologiska laboratoriet finns tekniker för chimerismanalys hos stamcellstransplanterade patienter.

Från blod eller benmärg från patienter separeras celler med avseende på fenotyp. I ett första steg anrikas CD19+ (B-celler), CD3+ (T-celler) samt CD33+ (myeloida celler) positiva celler från blod och benmärg. I benmärg anrikas även den potentiella stamcellspopulationen som är CD34+. Vissa sjukdomar kräver dessutom att anrikning av speciella cellpopulationer (CD5, CD16). Efter anrikning prepareras DNA från de separata cellpopulationerna för vidare analys med PCR.

Anrikat DNA analyseras med hjälp av en NGS-baserad chimerismanalys som mäter förekomst av genetiska markörer (In-Del) som skiljer sig mellan patient och donator. Känsligheten av metoden är mycket hög och patientandelen ner till 0,1 % kan detekteras. Metoden är därför lämplig för analys av engraftment samt upptäckt av tidigt återfall i blodmalignteter i både blod och benmärg.

Analys av BCR-ABL

BCR-ABL är en reciprok translokation som innebär att delar av kromosom 9 inklusive genen för ABL ("Abelson") och kromosom 22 inklusive BCR ("breakpoint cluster region") fuseras. Denna translokation innebär att den fuserade genen BCR-ABL nu är lokaliserad på en förkortad kromosom 22 (Philadelphia-kromosomen). Nittiofem procent av patienter med KML är positiva för Philadelphia-kromosomen och det kodade proteinet (tyrosinkinase) bidrar till sjukdomsprogressen. Även vissa patienter med akut lymfatisk leukemi (ALL) kan vara BCR-ABL positiva (25-30 % för vuxna, 2-10 % hos barn). Enstaka patienter med akut myeloisk leukemi (AML) kan också vara BCR-ABL positiva. Eftersom mängden hos patienten förekommande BCR-ABL är direkt korrelerad till sjukdomsaktivitet är kvantitativ påvisning av denna translokation av stor betydelse.

Eftersom brytpunkten hos BCR genen kan skilja sig mellan olika individer och celler, resulterar detta i förekomsten av olika isoformer av BCR-ABL proteinet. Den vanligaste isoformen är ett 210 kD protein (p210), som är den vanligaste formen hos patienter med KML men även 190 kD (p190) formen förekommer hos vissa KML patienter. p190 är dock vanligast förekommande hos ALL patienter. Förutom dessa former finns det ytterligare ett antal BCR-ABL isoformer som generellt är mindre vanliga och därför endast analyseras i speciella fall och då med en annan teknik. Vi har möjlighet att analysera ett stort antal av dessa mindre vanliga isoformer av BCR-ABL.

På laboratoriet detekteras RNA uttryck av p210 och p190 med real-tids PCR, som referensgen används i båda fallen GUS. Andelen BCR-ABL anges alltid som förhållandet BCR-ABL/GUS. Även absolut antal detekterade kopior av BCR-ABL anges i svaret. BCR-ABL kan inte detekteras hos friska individer eller patienter i molekylär remission.