

Metoda: Průtoková cytometrie – funkční testy

Studentka: Denisa Břízová, 2. ročník

Školitel: Ing. Tomáš Vlas

Princip:

1. Test oxidačního vzplanutí fagocytů (Burst test)

Kvantitativní test pro vyhodnocení oxidačního vzplanutí u granulocytů a monocytů. Fagocytující buňky se stimulují E. coli, fMLP a PMA. Zde dochází k oxidačnímu vzplanutí. Ke vzorkům se přidá DHR (dihydrorhodamin 123), který je oxidován na rhodamin123. Tato látka zeleně fluoreskuje. Na průtokovém cytometru se stanoví procento zeleně fluoreskujících granulocytů a monocytů.

2. Test blastické transformace se značením propidium jodidem

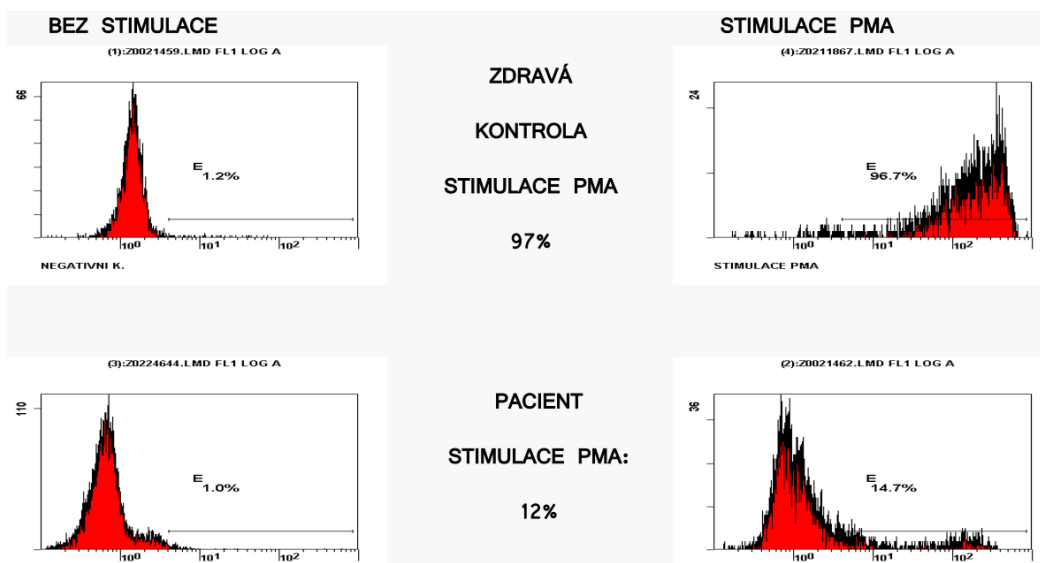
Lymfocytární transformační testy umožňují sledovat aktivaci lymfocytů in vitro. Pro stanovení aktivovaných lymfocytů se používá jaderná DNA značená propidium jodidem a sleduje se její fluorescenční intenzita po předchozí permeabilizaci buněčné membrány a odstranění interferující RNA. Software vyhodnotí a kvantifikuje jednotlivé růstové fáze.

Uplatnění metody:

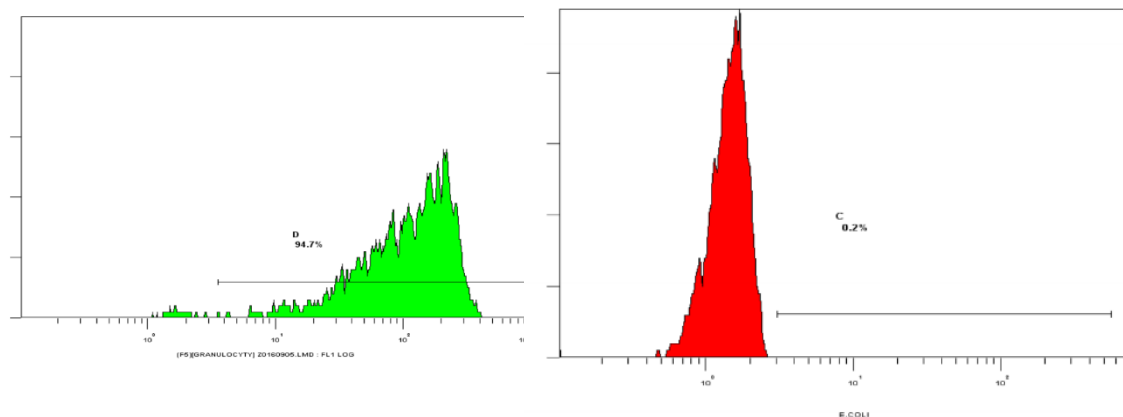
1. Test oxidačního vzplanutí fagocytů (Burst test)

U pacientů s chronickou granulomatózou. Chronická granulomatóza je onemocnění s vrozeným defektem některého z enzymů kyslíkového metabolismu fagocytů např. NADPH oxidázy.

Používá se stimulace fagocytů za pomoci PMA.



Nebo také stimulace za pomoci E. coli.



2. Test blastické transformace se značením propidium jodidem
 Lymfocytární transformační testy mohou být využívány k monitorování efektivity imunosupresivní léčby.

Úskalí metody: Krev se musí zpracovat do 2 hodin po odběru. Musí se dodržovat teplota kolem 37°C. Výsledek může být ovlivněn současným onemocněním a používanou léčbou.

Přístrojové vybavení: Průtokový cytometr

Odběr a transport:

1. Test oxidačního vzplanutí

Použití heparinované plné krve. Odběr krve se provádí klasicky do zkumavky s heparinem.

3. Test blastické transformace se značením propidium jodidem

Plná krev po aktivaci mitogenem, zpracování ihned po odběru.