

Mariella Keränen & Maija Kärki

**AKUUTTI LYMFOBLASTILEUKEMIA JA SEN LABORATORIODIAGNOSTIIKKA**

Opiskelumateriaalia Oulun ammattikorkeakoululle

# **AKUUTTI LYMFOBLASTILEUKEMIA JA SEN LABORATORIODIAGNOSTIIKKA**

Opiskelumateriaalia Oulun ammattikorkeakoululle

Mariella Keränen, Maija Kärki  
Opinnäytetyö  
Kevät 2018  
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma  
Oulun ammattikorkeakoulu

## TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

---

Tekijä(t): Mariella Keränen ja Maija Kärki

Opinnäytetyön nimi: Akuutti lymfoblastileukemia ja sen laboriodiagnostiikka

Työn ohjaaja: Mika Paldanius, Irja Parkkinen

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi:

Kevät 2018

Sivumäärä:

27

---

Opinnäytteenämme tuotimme opiskelumateriaalia Oulun ammattikorkeakoulun käyttöön. Työn tilaajana on Oulun ammattikorkeakoulu. Teimme yhteistyötä NordLab Oulun hematologian laboratorion kanssa. Saimme NordLabilta diffilasit ja Sysmex-tulosteet tuottamaamme opiskelumateriaaliin.

Tarkoituksena oli tuottaa laadukasta opiskelumateriaalia hematologian opintoihin mikroskopointia helpottamaan. Opiskelumateriaali on suunnattu bioanalytiikan koulutusohjelman hematologian ammattiopintoihin. Tavoitteenamme oli, että opiskelijat voivat mikroskopoida itsenäisesti opiskelumateriaalin avulla. Opiskelumateriaali tukee erityisesti Sysmex-tulosteen ja mikroskopoinnin yhteyden hahmottamista ja ymmärtämistä.

Leukemia eli verisyöpä johtuu luuytimen valkosolujen esiasteiden muuttumisesta pahanlaatuisiksi syöpäsoluiksi, blasteiksi. Akuutti lymfoblastileukemia eli ALL on yleisin maligniteetti lapsilla ja pahanlaatuisista taudeista yleisin kuolinsyy. Opinnäytetyömme lähteinä käytimme ajan tasalla olevien oppikirjojen lisäksi Moodi-lehden artikkeleita ja tietokantoja sekä Sysmex-analysaattorin kotisivuja.

Tuotimme opiskelumateriaalia Oulun ammattikorkeakoulun käyttöön. Opiskelumateriaali sisältää diffilasien ja Sysmex-tulosteiden lisäksi valkosolujen erittelylaskennan tulokset sekä kuvia laseilla esiintyvistä soluista. Materiaalit tallennettiin Word-tiedostoina ja ne ovat saatavissa sähköisessä muodossa.

Opinnäytteenä tuotettua opiskelumateriaalia voidaan hyödyntää oppitunneilla ja itsenäisessä opiskelussa bioanalytiikan opinnoissa Oulun ammattikorkeakoulussa. Monimuoto-opiskelussa itsenäisen opiskelumateriaalin tarve kasvaa tulevaisuudessa.

---

Asiasanat: akuutti lymfoblastileukemia, valkosolujen erittelylaskenta, diffaus, opiskelumateriaali

## ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences  
Biomedical laboratory science

---

Authors: Mariella Keränen and Maija Kärki

Title of thesis: Acute lymphoblastic leukemia and its laboratory diagnostics

Supervisors: Mika Paldanius, Irja Parkkinen

Term and year when the thesis was submitted: Spring 2018      Number of pages: 27

---

In our Bachelor's thesis we produced new material for studying to be used in Oulu University of Applied sciences. The subscriber of the Bachelor's thesis was Oulu University of Applied sciences. We collaborated with Nordlab Oulu hematology's laboratory. We received blood films and Sysmex printouts from NordLab for the produced studying materials.

Main objective for the Bachelors Thesis was to produce high-quality studying materials for hematology course and to help microscoping. The studying material was intended for degree programs in Biomedical Laboratory Science's professional studies. Our objective was to enable students independent microscoping with the help of the produced studying materials. The studying material clarifies and helps to understand the connection between Sysmex printout and microscoping.

Leukemia or blood cancer originates from the bone marrow's leukocytes precursors transforming to malignant cancer cells, blasts. Acute lymphoblastic leukemia is the most common of the malignancies for the children and also the most common reason of death in malignant diseases. For the references of this thesis we used up to date textbooks, Moodi-magazine's articles, databases and the home pages of the Sysmex-analysator.

The produced studying material consists from the blood films and the Sysmex-printouts but also from the results of the differential count of leukocytes and the photos of cells visible with the glasses. Materials were produced with Microsoft Word and are available in electronic form.

The studying material produced as the result of this Bachelors thesis is available for use in lessons and independent studies in the degree programs in Biomedical laboratory sciences at Oulu University of Applied Sciences. The need for studying material produced as part of the bachelor's degree or thesis will likely grow in the future as the studies are turning more into multiform studying.

---

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, leukocyte differential count, studying material

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	6
2	PERIFEERISEN VEREN SOLUT .....	7
3	AKUUTTI LYMFOBLASTILEUKEMIA.....	12
3.1	Etiologia ja patogeneesi .....	13
3.2	Oireet ja löydökset.....	14
4	DIAGNOSTIIKKA.....	16
4.1	Perusverenkuva .....	16
4.1.1	Fluoresenssivirtausytometri.....	17
4.1.2	Sysmex-sirontakaavio .....	18
4.1.3	Valkosolujen erittelylaskenta –kanava (DIFF) .....	19
4.1.4	Punasolukanava (RET).....	19
4.1.5	Epäkypsien solujen erittely –kanava (IMI).....	20
4.2	Valkosolujen erittelylaskenta (B-Diffi) .....	20
4.3	Immunofenotyyppitys .....	21
5	TOTEUTUS .....	22
6	POHDINTA.....	24
	LÄHTEET.....	25

# 1 JOHDANTO

Oulun ammattikorkeakoululla on tarve uusille, tuoreille valkosolujen erittelylaskentaa varten tehdyille mikroskoipoitaville laselle eli diffilaseille, joiden mukana ovat Sysmex-verenkuva-analysaattorin tulosteet. Rajasimme opinnäytetyön aiheeksi lasten leukemiat ja erityisesti akuutit lymfoblastileukemiat.

Tavallisimmin (85%) lasten leukemioissa on kyse akuutista lymfaattisesta leukemiasta (ALL). Harvemmin (15 %) häiriö tapahtuu luuytimen myelooisen linjan solussa, jolloin käytetään termiä AML (akuutti myeloinen leukemia). (Jalanko, 2016.) Koska juuri ALL on huomattavasti yleisempi, rajasimme aiheen koskemaan vain sitä.

Bioanalyttikko on työssään ratkaisevassa osassa uusien leukemioiden löytämisessä. Bioanalyttikon työnkuvaan kuuluu osata tunnistaa poikkeamat perusveren kuvasta (B-PVK) ja tehdä vaadittavat jatkotoimenpiteet, joihin kuuluvat diffilasin valmistaminen ja sen mikroskopointi. Opinnäytetyössämme esittelemme bioanalyttikon työtä ja työtehtäviä leukemian löytämiseksi. Opinnäytetyömme keskittyy bioanalyttikon työtehtäviin analyysin varhaisissa vaiheissa. Rajasimme aiheen verenkuva-analysaattorin tuloksen tulkintaan ja veren kuvan morfologiseen mikroskopointiin. Sivuumme myös muita leukemia diagnosoisiin johtavia vaiheita kokonaiskuvan selkeyttämiseksi.

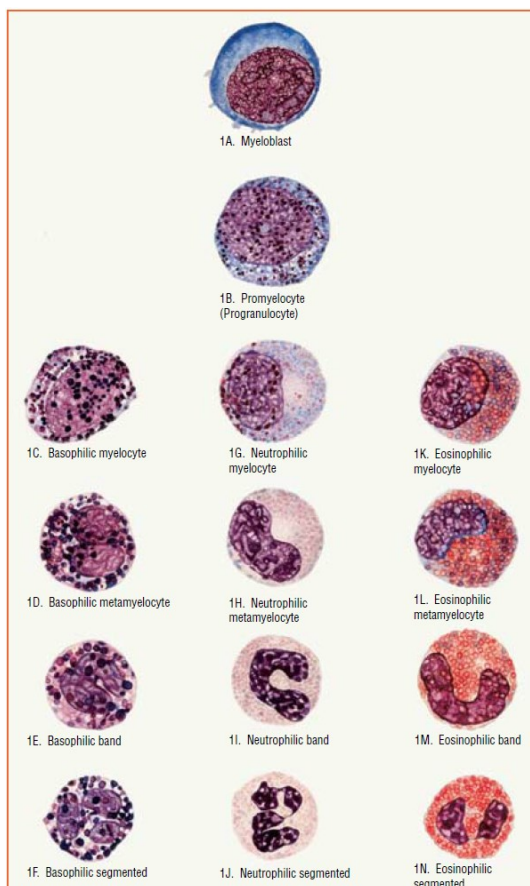
Tarkoituksenamme oli tuottaa käytännön harjoitteluihin ja teoriaopintoihin materiaalia (Diffilasit ja Sysmex-tulosteet). Keskustelimme keväällä 2017 yhteistyöstä NordLab Oulun hematologian laboratorion kanssa. Sovimme tuolloin, että saamme hematologianlaboratoriosta Sysmex tulosteet ja lasit opetusmateriaaliksi jokaisesta uudesta todetusta ALL-tapauksesta. Saimme lasit syksyllä 2018, joissa oli uusia ALL-tapauksia neljä.

Käytimme työssämme sanoja diffi ja diffaus, koska näiden sanojen käyttö on vakiintunut työelämässä tarkoittamaan valkosolujen erittelylaskentaa.

## 2 PERIFEERISEN VEREN SOLUT

Verisolut syntyvät kantasoluista luuytimestä. Kantasolut pystyvät sekä ylläpitämään oman määränsä, että myös tuottamaan erilaisia jälkeläisiä. Tytärsolut jakautuvat ja kypsyvät suuntautuneiksi kantasoluiksi ja siitä vähitellen kukin oman linjansa mukaisesti kypsiksi verisolukuiksi. Tunnusomaisia piirteitä kypsymiselle ovat tuman pieneneminen, kromatiinirakenteen tiivistyminen, nukleolien häviäminen ja sytoplasman kypsyminen kullekin solutyypille ominaiseen tapaan. Veren solut voidaan jakaa erytrosyytteihin, leukosyytteihin ja trombosyytteihin. (Vilpo, Niemelä, 2003.)

Leukosyytit jaotellaan lisäksi myelooisiin ja lymfosyyttisiin leukosyytteihin. Jaottelu jatkuu vielä siten, että lymfaattisen linjan solut jaetaan B- lymfosyytteihin, T-lymfosyytteihin sekä NK-soluihin ja myelooisen linjan solut granulotsyytteihin eli neutro-, baso- ja eosinofiileihin. Lisäksi myelooisen linjan soluihin kuuluvat monosyytit. Tästä solulinjasta kehittyvät myös trombosyytit eli verihiutaaleet. (Heino, Vuento 2010, 232-233).



*KUVA 1. Granulopoieesi eli myeloisten granulosityttien kypsyminen (Medical-labs 2015, viitattu 29.3.2018.)*

**Neutrofiilit** toimivat veren fagosyytteinä. Ne pystyvät fagosytoimaan eli nielaisemaan sisäänsä toisia soluja, hiukkasia ja bakteereja sekä muita siivottavia solujen osia. Neutrofiilit osallistuvat elimistön puolustustehtäviin muun muassa bakteereja vastaan. Neutrofiilien tunnusmerkkeinä voidaan pitää monilohkoista tumaa ja sytoplasmassa näkyviä granuloita eli jyväsiä. (Heino, Vuento 2010, 310.) Tuma värjäytyy tummanvioletiksi ja on liuskoittunut 2-5 liuskaan. Granulat ovat väriltään vaaleanpunertavia. Neutrofiilien läpimitta on noin 13 µm sivelyvalmisteessa. (Vilpo, 2010, 22; Ek 2009, 32.)



*KUVA 2. Neutrofiili (Medical-labs 2015, viitattu 20.3.2018.)*

**Eosinofiilit** eivät pysty osallistumaan fagosytoosiin lähes lainkaan. Eosinofiilit eivät osallistu infektioiden torjuntaan, mutta ne siirtyvät elimistössä alueille, joissa on meneillään allerginen reaktio. Eosinofiilien määrä lisääntyy allergioissa. Ne saapuvat paikalle, jos elimistöön on päässyt loisia, koska ne pystyvät tuottamaan myrkyllisiä aineita loisia vastaan (Sand, Sjaastad, Haug, Bjälje 2011, 324). Eosinofiileillä on kaksi tumaa, jotka värjäytyvät tummanvioletiksi. (Heino, Vuento 2010; Ek 2009, 32.) Eosinofiilien granula on voimakkaan oranssinväristä ja niiden läpimitta sivelyvalmisteessa on 12-17 µm (Vilpo, 2010, 22.)

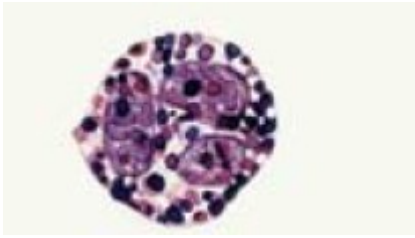


*KUVA 3. Eosinofiili (Medical-labs 2015, viitattu 29.3.2018.)*

**Basofiilit** ovat heikosti fagosytoivia ja huonoiten tunnettuja granulosityttejä. Niiden tunnusmerkkeinä on runsas granula, basofiiliset pilkut. (Heino, Vuento 2010.) Granulat ovat



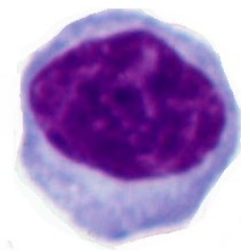
väriiltään voimakkaan tumman sinisiä. (Vilpo 2010, 22.) Tumaa on usein hankalaa erottaa granuloiden takaa. Kooltaan basofiilit ovat samaa luokkaa neutrofiilien kanssa. (Ek, 2009, 33.)



KUVA 4. Basofiili (Medical-labs, viitattu 29.3.2018.)

Immuunijärjestelmän soluihin kuuluvat lymfosyytit kehittyvät eri kantasolulinjasta kuin muut veren solut. (Heino, Vuento 2010, 309; Sand, Sjaastad, Haug, Bjålie 2011, 323-325). Lymfosyytit voidaan jakaa B- ja T-lymfosyytteihin sekä NK-soluihin (luonnolliset tappajasolut). Lymfosyyttien tehtävä on avustaa fagosytoivia soluja elimistön puolustuksessa infektioita vastaan ja aktivoida spesifisen immuunipuolustuksen eli ne ovat immunologisia soluja. B- ja T-lymfosyytit saavat erilaistumisen myötä pinnalleen spesifisen antigeenireseptorin, jonka avulla ne pystyvät tuottamaan klonaalisen lymfosyyttipopulaation. (Siitonen, Koistinen 2007, 29-31.)

**Lymfosyyteillä** on pyöreä tai ovaalinmuotoinen tuma, jonka kromatiinirakenne on tiivistynyt paakkuseksi. Niitä ilmenee veressä erikokoisina ja yleisimmin ne ovat kooltaan pieniä (läpimitta 6-9  $\mu\text{m}$ ) tai keskisuuria (läpimitta 8-14  $\mu\text{m}$ ). Sytoplasma on vaaleansinistä ja sitä on pienemmissä soluissa vähemmän ja isommissa enemmän. Sytoplasma on granulaton, mutta noin 5-20 %:ssa lymfosyyteistä voi ilmetä punaista isohkoja granuloita. Tällöin solua kutsutaan LGL-soluksi. (Siitonen 2012, 159-160.)



KUVA 5. Lymfosyytti (Sciencesourceimages 2018, viitattu 20.3.2018.)

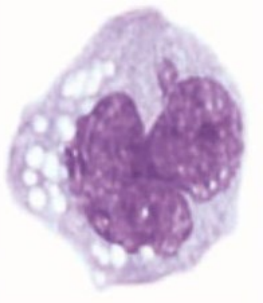
**Reaktiivisia eli atyyppisiä lymfosyyttejä** voi esiintyä esimerkiksi virusinfektioiden yhteydessä. Reaktiiviset lymfosyytit ovat kooltaan isoja, 15-25  $\mu\text{m}$  kokoisia soluja. Sytoplasmaa on paljon ja siinä voi olla voimakas basofiilinen pilkutus. Solu on ulkoreunoiltaan usein epämääräisen

muotoinen. Tuma on silti pyöreähkö ja kromatiinirakenteeltaan löyhempi kuin normaalissa lymfosyytissä. (Siitonen 2012, 160.)



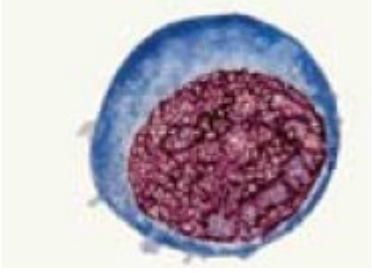
*KUVA 6. Reaktiivinen lymfosyytti (Children's Hospital, Omaha, NE. Viitattu 29.3.2018)*

**Monosyytit** ovat elimistön tärkeimpiä fagosytoivia soluja. Ne kykenevät tuhoamaan mikrobin samoilla vaiheilla kuten neutrofiilit, sekä esittelemään antigeenin lymfosyyteille. Monosyytit käynnistävät mikrobin tuhoamiseksi suunnatun spesifisen immunologisen reaktion. Monosyytti on läpimitaltaan 15-18  $\mu\text{m}$ . Tuman muoto voi vaihdella pyöreän soikeasta munuais- tai hevosenkenkämuotoon ja se voi olla liuskoittunut tai poimuttunut. (Ek, 2009, 27.) Monosyytin sytoplasma on väriltään siniharmaa. Runsas sytoplasma sisältää vaihtelevan määrän pieniä punertavia jyväsiä. (Vilpo, 2010, 23.)



*KUVA 7. Monosyytti (Goasguen, Bennett, Bain, Vallespi, Brunning, Mufti 2009, viitattu 29.3.2018.)*

**Blastit** ovat epäkypsiä verisoluja, joita ei kuuluisi päästä normaalisti perifeeriseen verenkiertoon. Niitä esiintyy verenkierron mm. akuuteissa leukemioissa tai reaktiivisena muutoksena kasvutekijähoidon jälkeen. Blastit ovat kooltaan suuria 14-20  $\mu\text{m}$  kokoisia soluja. Tuma on pyöreähkö ja sen kromatiinirakenne on löyhää. Tumassa voidaan yleensä erottaa 1-2 nukleolia. Sytoplasmaa on vähän tai ei lähes ollenkaan. Lymfaattisen linjan blastit ovat täysin granulattomia, ja myeloosien linjan blasteissa voidaan joskus havaita Auerin sauvoja. (Siitonen, 2012. 163.)



*KUVA 8. Blastii (Medical-labs 2015, viitattu 20.3.2018.)*

### 3 AKUUTTI LYMFOBLASTILEUKEMIA

Leukemia eli verisyöpä johtuu luuytimen valkosolujen esiasteiden muuttumisesta pahanlaatuisiksi syöpäsoluiksi. Akuutit leukemiat ovat klonaalisia, yhdestä kantasolusta lähtöisin olevia pahanlaatuisia veritauteja. Normaalien verisolujen syntyminen ja kehittyminen on jostain syystä estynyt, jolloin epäkypsät blastisolut lisääntyessään pääsevät ilmaantumaan vereen ja muualle elimistöön. Leukemiassa syöpäsoluja on perifeerisessä veressä ja luuytimessä. Joskus syöpäsoluja kertyy imusolmukkeisiin ja muihin elimiin. Akuutit leukemiat syntyvät melko nopeasti. Ne jaotellaan myelooisiin ja lymfaattisiin tyypeihin. Tyypit määräytyvät blastien erilaistumissuunnan mukaan. (Elonen, 2007, 285-295.)

Akuutti lymfoblastileukemia eli ALL on yleisin maligniteetti lapsilla ja pahanlaatuisista taudeista yleisin kuolinsyy. Sen esiintyvyys on noin 30 uutta tapausta vuodessa. Suomessa uusia akuutteja leukemiatapauksia todetaan noin 200, joista 150 aikuisilla ja loput 50 lapsilla. Aikuisten akuuteista leukemioista suurin osa (n.80%) johtuu myelooisen solulinjan kehityshäiriöistä, kun taas lasten leukemiat ovat yleensä (n.85%) lymfaattisia. (Elonen, 2007, 285.) Lasten ALL ilmaantuvuudessa voidaan havaita selkeä huippu yleisimmin 3-4 -vuotiaana. Ilmaantuvuudessa ja ikäjakaumassa on kuitenkin huomattavia maantieteellisiä eroja. Afroamerikkalaisilla tällaista ikäilmaantumisen käyrän huippukohtaa ei ilmene lainkaan ja Japanissa tällainen ilmaantuvuus suhteessa lapsen ikään voidaan havaita vasta 1960-luvulta alkaen. (Pihkala, 2007, 613-620.)

#### **FAB-luokitus**

Lymfoblastit jaetaan rakenteensa mukaan kolmeen luokkaan: L1, L2 ja L3. Lasten lymfoblastileukemiassa yleisin on L1 (84%). L1-luokan blasteissa on vähän sytoplasmaa ja tuma on usein uurteinen. L2-luokan blasteissa sytoplasmaa on enemmän verrattuna L1-luokan blasteihin. Blasteissa on huomattavat nukleiolit. L2-luokan akuutteja lymfoblastileukemioita on noin 15% kaikista ALL:sta. L3-luokka eroaa muista selkeästi, koska siinä blastien sytoplasma on voimakkaasti basofiilinen, jossa on vakuoleja. (Pihkala, 2007, 619.) Vuonna 2012 tehdyn jaottelun mukaan FAB luokituksen L3 luokka muuttui Burkitt'in leukemiaksi/lymfoomaksi. Akuuttien lymfoblastileukemioiden jaottelu alatyyppeihin perustuu leukemiasolujen morfologiaan, immunofenotyyppitykseen ja sytogenetiikkaan. (Zámečnikova, 2012, viitattu 15.11.2017.)

### 3.1 Etiologia ja patogeneesi

Akuuttien leukemioiden syytä ei suurimmaksi osaksi tunneta. On kuitenkin selvää, että akuuttien leukemioiden tunnuspiirteenä ovat normaalien verisolujen tuottamisen häiriintyminen ja epäkypsien eli blastisolujen määrän kasvu. Koska valkosolujen tuotanto on häiriintynyt, pääsee epäkypsiä soluja myös verenkiertoon ja muualle elimistöön. (Elonen, 2007, 285-288.)

Ionisoiva säteily, eräät kemikaalit, alkyloivat ja topoisomeraasi II –entsyymiä estävät solunsalpaajat, HTLV-1-retrovirus, sekä eräät harvinaiset perinnölliset tai synnynnäiset taudit ovat leukemian tunnettuja riskitekijöitä. Osalla potilaista myelodysplastiset oireyhtymät ja myeloproliferatiiviset taudit muuttuvat akuutiksi leukemiaksi. Muutamalle prosentille potilaista, jotka käyttivät alkyloivia solunsalpaajia, kehittyi akuutti leukemia alle kymmenessä vuodessa. Lisäksi tupakoinnin on todettu edesauttavan taudin puhkeamisessa. (Elonen, 2007, 285-288.)

Muutama prosentti akuuteista leukemioista liittyy geneettisiin oireyhtymiin kuten, kuten myelodysplasiaan tai Wiskott-Aldrichin oireyhtymään, sekä Bloomin oireyhtymään. Myös Fanconin anemian on osoitettu herkistävän leukemialle. On esitetty, että leukemia saa alkunsa henkilön varhaisessa hematopoieettisessa kantasolussa geneettisen vaurion vuoksi ja valtaosaa primaarisista kantasoluvaurioista pidetään hankinnaisina. (Elonen, 2007, 285-288.)

Leukemia ei itsessään periydy, mutta joissain tapauksissa tavataan saman suvun sisällä useita pahanlaatuisia veritauteja. On myös osoitettu, että jos toinen identtisistä kaksosista sairastuu, niin toisen kaksosen todennäköisyys saada ALL on 25%, tämä riski kestää kuitenkin vain kouluikänsä asti. (Elonen, 2007, 285-288.)

Vuonna 2015 Suomessa todettiin uusia akuutteja leukemioita 295 henkilöllä ja näistä akuuttien lymfaattisten leukemioiden osuus oli 84. (Syöpätalastot, 2017, viitattu 30.11.2017.) Lasten leukemioista yleisin on akuutti lymfoblastileukemia. Se on myös yleisin maligniteetti lapsilla ja pahanlaatuisista taudeista yleisin kuolinsyy. Vuosittain vajaalla 50:llä lapsella todetaan ALL ja AML:ään sairastuu alle 10 lasta. Tavallisimmin ALL esiintyy 2-8-vuotiailla lapsilla, ja sen ilmaantuvuus on suurinta kolmen-neljän vuoden iässä. Myös muun ikäisillä lapsilla tavataan sairautta. (Lasten syövät, 2017, viitattu 30.11.2017, Pihkala, 2007, 613-620.)

Lasten ALL-tapauksista noin 80-85% on lähtöisin B-solulinjasta ja edustaa B-esiasteita. Kun B-solujen normaalit esiasteet kehittyvät vasta-aineita muodostaviksi soluiksi immunoglobuliinigeenit järjestäytyvät uudelleen. B- linjan soluja pystytään erottamaan indentifioimalla immunoglobuliinigeenejä DNA-tekniikalla. T-solulinjan leukemioita esiintyy noin 10-15% tapauksista ja myös T-soluissa voidaan erottaa myös kypsymisen eri vaiheita. T-solureseptorigeenien esiintymistä voidaan tutkia molekyyligeneettisessä analyysissä. (Pihkala, 2007, 613-620.)

### **3.2 Oireet ja löydökset**

Yleisimpiä oireita akuutissa lymfoblastileukemiassa ovat väsymys, lämpöily ja sitkeät infektiioireet (Salonen, 2005). Yleensä oireet ovat monenlaisia ja epäspesifisiä. Yleiskunto saattaa olla huono, mutta akuutti leukemia todetaan usein hyväkuntoiselta potilaalta verenkuvasta. Osalla potilaista erityisoireena voi olla luu- ja nivelkipua (selkä- ja jalkasäryt). Tämä voi ilmetä pikkulapsilla ontumisena tai kävelemättömyytenä. (Pihkala, 2007, 682-683.)

Iso maksa tai perna sekä suurentuneet imusolmukkeet ovat sellaisia kliinisiä löydöksiä, joihin on kiinnitettävä huomiota. Petekiat ja kalpeus tai mustelmat viittaavat anemiaan (90% potilaista) ja trombosytopeniaan. Anemia on joko normokrominen tai normosytaarinen. Suurimmalla osalla sairastuneista on myös jonkinasteinen trombosytopenia. Verenkuvassa näkyviä muutoksia voivat olla vaikea sytopenia, useamman solulinjan muutokset, leukosytoosi ja blastisolut. Noin 90%:lla potilaista on blastisoluja, mutta vain kolmanneksella niitä on runsaasti. Yleensä luuydin on täysin malignien lymfoblastien täyttämä, eikä normaaleille puna- sekä valkosolujen ja trombosyyttien esiasteille ole elintilaa. Blastien osuus ylittää 20% kaikista hematopoieettisista soluista luuytimessä akuutissa leukemiassa. (Elonen, 2007, 290-292.)

Veren valkosolutasot saattavat vaihdella matalasta erittäin korkeisiin määriin. Akuuttia lymfaattista leukemiaa voidaan epäillä, kun jokin seuraavista esiintyy verenkuvassa: trombosytopenia, granulositytopenia tai poikkeavia soluja erittelylaskennassa. Myös anemiaan yhdistetty trombosytopenia, tai anemiaan yhdistetty leukosyyttien vähyyys tai ylimäärä viittaavat mahdolliseen ALL-leukemiaan. Usein akuuttiin lymfoblastileukemiaan liittyy anemia, joka on normokrominen ja normosytaarinen. Suurella osalla tavataan jonkinasteista trombosytopeniaa.

Maligneja blastisoluja löytyy usein leukosyyttien erittelylaskennassa. Kokemuksen mukaan blastisolut eivät aina löydy ns. konediffissä. Kuitenkin 10%:llä leukemiatilaista ei diagnoosihetkellä ole veressään blasteja. Leukemiadiagnoosin tekemiseksi pitää tehdä aina luuydintutkimus perifeerisen veren löydösten varmistamiseksi. (Elonen, 2007, 290-292.)

## 4 DIAGNOSTIIKKA

Varhainen diagnoosi on hoitoennusteen kannalta ratkaisevassa osassa ja se perustuu veren ja luuytimen mikroskooppiseen tutkimiseen. Tautia ei diagnosoida verenkuvan perusteella vaan diagnoosia varten tarvitaan myös selkäydinnäyte. Diagnoosi perustuu kaiken kaikkiaan potilaan kliiniseen kuvaan, tautisolujen morfologiaan, kudoksen perusrakenteeseen ja immunohistokemiallisiin (IHC) tutkimuksiin. Lisäksi tarvitaan syto- ja molekyyliogenetiikkaa. (Elonen, 2007, 291.) Akuuttien leukemioiden luokittelu perustuu WHO-luokitukseen (Vilpo 2010). WHO:n lymfomaluokituksen uudistuessa molekyyliogeneettisten menetelmien osuus kasvaa. (Vaittinen, 2017.) Diagnoosin tekemiseen tarvitaan MGG-värjäyksen lisäksi solujen pinta-antigeenien tunnistamista monoklonaalisilla vasta-aineilla eli immunofenotyypitystä sekä syto- ja molekyyliogenetiikkaa. (Elonen, 2007, 293.)

Mononukleosisi, juveniili reuma, idiopaattinen trombosytopenia, aplastinen anemia ja akuutit infektiot tulevat erotusdiagnostisesti kyseeseen; asia ratkeaa luuydintutkimuksella.

Lasten ALL jaetaan alaryhmiin immunologisin perustein. Solujen klonaalinen lisääntyminen ja leukeeminen muutos voivat tapahtua missä tahansa lymfaattisten solujen erilaistumisen ja kypsymisen vaiheessa. Differentiaation eli erilaistumisen vaihetta voidaan luonnehtia blastisolun immunofenotyypityksellä eli tutkimalla sen pintarakenteita virtausytometriavälineillä ja käyttäen joukkoa monoklonaalisia vasta-aineita. (Pihkala, 2007, 682-633.)

### 4.1 Perusverenkuva

Poikkeavan perusveren kuvan tulkinta ja ymmärtäminen ovat erittäin tärkeässä roolissa akuutin leukemian löytämisessä. Perusverenkuva (B-PVK) voidaan analysoida eri merkkisillä analyyseilla. Opinnäytetyössämme keskitymme Sysmex-analyyseihin tekemään perusverenkuva-analyysiin. Sysmex-analyysejä voi olla laboratorion koosta riippuen erilaisia, mutta niillä kaikilla voidaan tehdä luotettava perusverenkuva-analyysi, jonka pohjalta voidaan ryhtyä jatkotoimenpiteisiin leukemian havaitsemiseksi.



Sysmex-verenkuvaa-analysointilaitteilla voidaan määrittää kokoverinäytteestä useita punasoluparametreja, trombosyyttien määrää sekä leukosyyttien määrää ja kypsyyssastetta. Analysointi tapahtuu fluoresenssi-virtausytometrian avulla. Sysmex-analysointilaitteet erottavat puna- ja valkosolujen sekä trombosyyttien ja tunnistavat niiden epäkypsät muodot ja tekevät valkosolujen erittelylaskennan. (Sysmex-esite, 2011, viitattu 02.11.2017.)

Nykyaikaiset, automatisoituneet verisolulaskurit käyttävät erilaisia tekniikoita täydellisen verenkuvan parametrien määrittämiseksi. Kun analysointilaitteet imevät EDTA-verinäytteitä, se jakaa veren pieniksi osiksi ennen kuin sitä käytetään analysointilaitteen eri kanavissa. Verta käsitellään erilaisilla reagensseilla solukohtaisten ominaisuuksien vahvistamiseksi, jotta niiden erottelu mahdollistuu. RBC (punasolut) ja PLT(trombosyytit) mitataan samanaikaisesti yhdessä ilmaisimissa käyttäen DC-vaippa virtauksen havaitsemista. Syanidittomia reagensseja käytetään muuntamaan hemoglobiini niin, että se voidaan mitata fotometrillä. (Sysmex-esite, 2011, viitattu 02.11.2017.)

#### **4.1.1 Fluoresenssivirtausytometri**

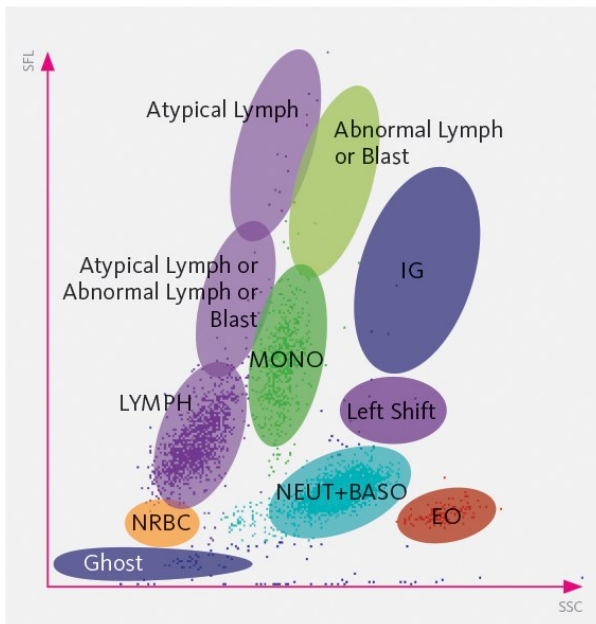
Fluoresenssivirtausytometriä käytetään solujen fysiologisten ja kemiallisten ominaisuuksien analysointiin. Sitä voidaan myös käyttää analysoimaan muita biologisia hiukkasia urinaalialalysointilaitteissa. Se tarjoaa tietoa solun koon ja rakenteen lisäksi tietoa solun sisällöstä. Virtausytometriassa tutkitaan soluja ja hiukkasia, kun ne virtaavat hyvin kapean virtausputken (kapea putki) läpi. (Fluorescence flow cytometry, 2017, viitattu 02.11.2017.)

Ensiksi verinäyte imetään ja suhteutetaan, tämä jälkeen näyte laimennetaan ennalta määrättyyn suhteeseen ja leimataan fluoresenssimarkkerilla, joka sitoutuu spesifisesti näytteen nukleinihappoihin. Seuraavaksi näyte kuljetetaan virtausputkeen. Näyte valaistetaan puolijohdelaserilla, joka voi erottaa solut käyttämällä kolmea eri signaalia: eteenpäin hajallaan oleva valo (eteenpäin hajotettu tai FSC), puoli hajallaan oleva valo (sivusironna tai SSC) ja puoli-fluoresenssia. (Fluorescence flow cytometry, 2017, viitattu 02.11.2017.)

Tulevan sironnan voimakkuus ilmaisee solun tilavuuden. Sivusironna antaa tietoa solusisällöstä, kuten tumasta ja granuloista. Sivuttaissironna osoittaa solun läsnä olevan DNA:n ja RNA:n määrän. Solut, joilla on samankaltaiset fyysiset ja kemialliset ominaisuudet, muodostavat kaaviot,

jotka tunnetaan sirontakaaviona (scattergram). (Fluorescence flow cytometry, 2017, viitattu 02.11.2017.)

#### 4.1.2 Sysmex-sirontakaavio



KUVA 9. Sysmex-sirontakaavio (Measurements principles. Sysmex 2014, viitattu 29.3.2018.)

Sysmex-analysaattori muodostaa virtausytometrian avulla sirontakaaviot eri solulaskentakanavien soluista. Lyysausreagenssi aluksi esivalmistelelee solukalvot jättäen solut suurelta osin ehjiksi. Seuraavaksi solunsisäinen DNA ja RNA leimataan fluoresenssimerkkiaineella. Sirontakaaviossa solut eriytetään niiden fluoresenssin ja sisäisen rakenteen mukaan. Kaaviosta voidaan päätellä solujen määrää ja kokoa. Fluoresenssisignaalin intensiteetti on suoraan verrannollinen solun nukleiinihappopitoisuuteen. Jotkut voimakkaimmista fluoresenssisignaaleista tunnistavat epäkypsät solut, johtuen niiden korkeasta RNA-pitoisuudesta. Siksi ne havaitaan onnistuneesti ja ne voidaan laskea. (Measurements principles. Sysmex 2014, viitattu 29.3.2018)

### 4.1.3 Valkosolujen erittelylaskenta –kanava (DIFF)

Valkosolujen erittelylaskenta Sysmex-analysaattorilla koostuu solujen sytokemiallisesta reaktiosta reagenssin kanssa, jota seuraa fluoresenssivirtausytometrinen analyysi. Reagenssissa oleva pinta-aktiivinen aine indusoi punasolujen hajoamista. Samanaikaisesti valkosolujen solumembraanit perforoidaan ultramikroskooppisilla huokosilla, joiden kautta polymetiinipohjainen fluoresenssimerkki siirtyy ja sitoutuu nukleiinihappoihin ja näyte analysoidaan sitten fluoresenssivirtausytometrillä. Sivusirontaa (SSC) ja sivufluoresenssia (SFL) koskevat mittaussignaalit analysoidaan ja kuvataan hajotussignaalilla. Solut, joilla on samanlaiset sytokemialliset ominaisuudet, kuuluvat samalle alueelle hajotuskaistalle ja ne voidaan erottaa käyttämällä kehittyntä ohjelmistoalgoritmia. Diffi-kanava (valkosolujen erittelylaskenta) tarjoaa laskelman kaikista normaaleista veren valkosolupopulaatioista sekä liputuksen poikkeavuustilanteissa. (WBC differential channel, 2017, viitattu 03.11.2017.)

### 4.1.4 Punasolukanava (RET)

RET-kanavassa pinta-aktiivinen aine RET-SEARCH (II) rei'ittää punasolujen, valkosolujen ja verihitaleiden solukalvot ja sallii siten fluoresenssimerkin tunkeutumisen soluun. Fluoresenssimerkki merkitsee valkoisten verisolujen, NRBC: n (tumalliset punasolut) retikulosyyttien ja verihitaleiden nukleiinihappoja. Käyttämällä eteenpäin hajotettua valoa ja fluoresenssisignaalia retikulosyytit voidaan erottaa kypsistä punasoluista, valkosoluista ja NRBC-yhdisteistä. Niiden fluoresenssin voimakkuuden mukaan retikulosyytit fraktioidaan kolmeen luokkaan, jotka edustavat eri kypsyyssasteita LFR:aa (alhainen fluoresenssi retikulosyytit), MFR:aa (keskimääräinen fluoresenssi-retikulosyytit) ja HFR:aa (suuren fluoresenssin retikulosyytit). IRF (epäkypsä retikulosyyttifraktio) heijastaa epäkypsiä retikulosyyttien osuutta ja sen arvo lasketaan MFR: n ja HFR: n summasta. RET-kanava tarjoaa myös optisen verihitaleiden määrän. (Ret/PLT-O channel, 2017, viitattu 02.11.2017.)

Hemoglobiini on rutiininomainen diagnostinen parametri jokaisessa veren kuvan määrittämisessä. ICSH: n (Hematologian kansainvälisen standardisointikomitean) suosittelemaa menetelmää hemoglobiinipitoisuuden mittaamiseksi on syaani-methemoglobiinimenetelmä. SLS-hemoglobiini-detektio menetelmä käyttää syanidittomia natriumlauryylisulfaattia (SLS). Reagenssi hemolysoi punasoluja ja valkosoluja näytteessä. Kemiallinen reaktio alkaa muuttamalla globiinia ja sitten

hapettamalla verta. Nyt SLS: n hydrofiiliset ryhmät voivat sitoutua vereen ja muodostaa stabiilin, värillisen kompleksin (SLS-HGB), joka analysoidaan fotometrisen menetelmän avulla. LED lähettää monokromaattista valoa ja siirtymällä seoksen valoa absorboivat SLS-HGB-kompleksit. Esiintyminen mitataan valoanturilla, jonka antaman tulos on kääntäen verrannollinen näytteen hemoglobiinipitoisuuteen. Absorptiofotometrisiin menetelmiin vaikuttaa yleensä näytteen sameus. Verinäytteissä voi esiintyä sameuksia lipemian tai leukosytoosin takia. SLS-HGB-menetelmää käyttämällä nämä häiriöt voidaan minimoida reagenssin vaikutuksesta johtuen. (Ret/PLT-O channel, 2017, viitattu 02.11.2017.)

#### **4.1.5 Epäkypsien solujen erittely –kanava (IMI)**

Epäkypsien solujen erittely –kanava eli IMI-kanava havaitsee selektiivisesti epäkypsät myelooisen sarjan solut. Solut altistetaan IMI-reagenssille, jolloin kypsän solun kalvot vaurioituvat niiden korkean lipidipitoisuuden vuoksi. Tämän jälkeen solunsisäiset komponentit eluoidaan pois. Epäkypsän solun solukalvo sisältää vain pieniä määriä lipidejä ja suuren määrän aminohappoja. Näidenkin solujen kalvot ovat vaurioituneet, mutta ennen solun sisäisten komponenttien eluoitumista reagenssi pääsee soluun ja vahvistaa sekä solukalvon että solunsisäiset komponentit, joten epäkypsät solut eivät hajoa. DC / RF-detektointimenetelmän avulla Sysmex-analysaattorit voivat erottaa blastit, myelosyytit, metameylosyytit, promyelosyytit ja sauvatumaiset granulositytit toisistaan.

#### **4.2 Valkosolujen erittelylaskenta (B-Diffi)**

B-Diffi-tutkimusta käytetään infektioiden, sytoosien ja sytopenioiden tutkimiseen sekä epäiltäessä hematologista maligniteettia. (NordLab tutkimusohjekirja, 2016, viitattu 20.11.2017.) Tutkimusta varten tehdään tuoreesta EDTA-kokoverestä veren sivelyvalmiste. Suosituksena valmisteen tekemiselle pidetään alle kolmea tuntia, sillä verisolujen morfologiassa alkaa tapahtua muutoksia, mitä pidempään näytteenotosta on kulunut. (Mahlamäki, 2004, 268-277.)

Objektilasille tiputettu oikeankokoinen veripisara vedetään sivelyksi vetolasin avulla. Veto tapahtuu 30-45 asteen kulmassa. (Mahlamäki, 2004, 268-277.) Sivelyvalmisteen ihannekoko on pituudeltaan 3-3,5cm ja vähintään 2,5cm. Laadukas valmiste syntyy, kun alun paksumman osan jälkeen tulee ohuempi noin 1-1,5cm pituinen osa. (Siitonen 2012. 158.) Sivelyvalmisteen laatuun

vaikuttavia tekijöitä ovat oikeanlainen veto-tekniikka, oikeanlainen verimäärä sekä puhtaat työvälineet. Objektisasi on välittömästi ilmakeivattava vedon jälkeen huolellisesti. Tämän jälkeen veren sivelyvalmisteet värjätään May-Grünwald-Giemsan värjäyksellä. MGG-liuoksen vaikuttavia värejä ovat emäksinen metyleeninsini, hapan eosini sekä atsuuri. Nämä erottelevat solujen rakenteita sitoutumalla eri tavoin happamiin ja emäksisiin ryhmiin. (Mahlamäki, 2004, 268-277.) Eosini värjää punasolut punertaviksi ja metyliinisini värjää leukosyyttien tumat sinivioleteiksi. Atsuuri värjää eosiniin kanssa leukosyyttien granulat. (Siitonen 2012).

Mikroskopoitaessa soluja kiinnitetään huomiota solun kokoon, tuman kokoon ja sen rakenteeseen sekä sytoplasman värjäytyvyyteen, määrään ja granulaarisuuteen. Aluksi on hyvä arvioida valmisteen laatu ja solujakauman yleiskuva käyttämällä pientä suurennosta mikroskoopissa. Erittely-laskennassa lasketaan yleensä 100 tai 200 peräkkäistä leukosyyttiä. Yleensä käytetään 50-kertaisesti suurentavaa öljyimmissio-objektiivia ja laskenta-alueeksi valitaan objektiasilta sellainen kohta, missä leukosyytit ovat hyvin säilyneet. Verensivelyvalmisteelta erotellaan normaalit leukosyytit neutrofiilisiin, eosinofiilisiin, ja basofiilisiin granulositytteihin sekä lymfosyytteihin ja monosyytteihin. (Mahlamäki, 2004, 268-277.)

### **4.3 Immunofenotyyppitys**

Virtausytometriän menetelmää käytetään antigeenimäärityksiin eli immunofenotyyppitykseen akuuteissa lymfaattisissa leukemioissa. Immunofenotyyppitysten avulla tehtävä luokitus kertoo omalta osaltaan taudin ennusteesta ja vaikuttaa hoidon valintaan. (Penttilä, 2004.) Immunofenotyyppityksellä saadaan tietoa solujen myelooisuudesta, vai lymfaattisuudesta sekä solujen kypsyysasteesta. Immunofenotyyppitys perustuu spesifisiin monoklonaalisiin vasta-aineisiin, joiden avulla CD-luokitus voidaan tehdä (cluster of differentiation). Tällä hetkellä CD-luokkia tunnetaan yli 200. CD-luokat voidaan edelleen jakaa ryhmiin sen perustella, minkälaisia soluja ne tunnistavat. (Pihkala, 2007, 618-622.)

Lasten ALL:ssä leukeeminen muutos ja solujen klonaalinen lisääntyminen voivat tapahtua missä tahansa lymfaattisten solujen erilaistumisen ja kypsymisen vaiheessa. Differentiaation vaihetta pystytään kuvaamaan blastisolun immunofenotyyppityksellä. (Pihkala, 2007, 614-618.)

## 5 TOTEUTUS

Tavoitteenamme oli tuottaa konkreettista ja hyödyllistä opiskelumateriaalia Oulun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan tutkinto-ohjelman käyttöön. Teimme opinnäytteenämme opiskelumateriaalia bioanalyttikko-opiskelijoille lasten leukemioista. Oulun ammattikorkeakoulussa siirrytään monimuoto-opiskeluun bioanalytiikan alalla, jossa opiskelu on itsenäisempää kuin päiväopiskelussa. Tuottamamme opiskelumateriaalia voidaan hyödyntää myös itsenäisessä opiskelussa. Aihe rajattiin koskemaan ainoastaan yleisintä lasten leukemiaa eli akuuttia lymfaattista leukemiaa (ALL).

Valkosolujen erittelylaskenta sekä veren morfologiset tutkimukset ovat osa bioanalytiikan kliinisen hematologian opintoja. Verisolumuutosten huomaaminen voi olla vaikeaa, joten tätä materiaalia voi käyttää tukena mikroskopoidessa ja solujen tunnistamisessa. Koska ihmisen solut voivat olla usein eri näköisiä eri henkilöillä, on niiden tunnistaminen varsinkin alkuun haastavaa, koska jokaisella lasilla samat solut voivat näyttää hyvinkin erilaisilta. Opiskelumateriaali sisältää kuvia potilaalla esiintyvistä soluista.

Kävimme keväällä 2017 keskustelua NordLabin hematologian laboratorion kanssa ja sovimme, että saamme NordLabilta diffilaseja uusista jo todetuista lasten ALL tapauksista. Saimme lasit ja Sysmex-tulosteet syksyllä 2018. Teimme jokaisesta tapauksesta erilliset opiskelumateriaalit. Materiaalit tehtiin paperitulosteina sekä Word-tiedostoina, jolloin ne on mahdollista siirtää opettajan toimesta esimerkiksi Moodle-työalustalle. Materiaalit sisältävät:

- Diffilasit
- Sysmex-tulosteet
  - Tärkeät kohdat ympyröity
  - Selitykset tulosteen liputuksista
- Erittelylaskenta tulokset (tuloste)
- Kuvia lasilla olevista valkosoluista

Työmme tarkoituksena oli helpottaa diffilasien ja Sysmex-tulosteiden yhteyden ymmärtämistä ja diffilasien lukua. Opetusmateriaalin avulla bioanalyttikko-opiskelijat saavat lisää tietoa ja

ymmärrystä solujen ulkonäöstä sekä diffilasin yhteydestä Sysmex-analysaattorin antamiin tuloksiin ja kuvaajiin.

Saimme syksyllä 2017 Nordlab OYS:n hematologian laboratoriosta diffilaseja neljästä eri potilaasta. Potilaat olivat iältään 4-7-vuotiaita ja tulokset poikkesivat toisistaan Sysmex-tulosteiden perusteella: valkosolutasot vaihtelivat 7,06-42,5  $10^9/l$  välillä, hemoglobiini 74-120g/l ja trombosyytit olivat 19-175  $10^9/l$ . Kolmella potilaalla oli blastihälytys. Myös lymfosyytit olivat koholla kolmessa tapauksessa ja viimeisestä potilaasta Sysmex ei ollut saanut laskettua niiden määrää.

Kahdelta potilaalta puuttui diffitulokset, joten teimme näille valkosolujen erittelylaskennan. Tulokset varmistettiin NordLabin hematologian laboratoriossa. Mikroskopioimme aluksi kaikki lasit, jonka jälkeen otimme jokaisen potilaan soluista kuvia. Valitsimme kuvat sen perusteella, että ne ovat mahdollisimman edustavia ja kuvaavat lasilla esiintyviä tyypillisiä soluja. Mikroskopoinnin helpottamiseksi kuvia on otettu monipuolisesti lasilla esiintyvistä soluista. Solukuvien ylle kirjoitimme, mitä soluja ne ovat. Solukuvat valittiin tukemaan myös Sysmexin tulosten ymmärtämistä. Opiskelumateriaalien kuviksi valittiin enimmäkseen tautisoluja, koska juuri niiden tunnistaminen on haasteellista, mutta tärkeää. Kuvien ottamisen jälkeen teimme varsinaiset opiskelumateriaalit. Teimme Sysmex-tulosteisiin merkintöjä helpottamaan tulosteiden lukemista ja ymmärtämistä. Ympyröimme huomionarvoiset kohdat tulosteista ja lisäsimme hälytyksiin selitykset. Avasimme myös lyhenteiden merkitykset.

Esittelimme opinnäytteemme aihe suunnitelman opettajallemme Mika Paldaniukselle sekä työmme oponojalle Heidi Siermalalle 5.2.2018. Saimme tuolloin palautetta koskien opiskelumateriaalien sisältöä. Palautteen pohjalta teimme Sysmex-tulosteisiin merkintöjä helpottamaan niiden lukua ja ymmärrystä. Kävimme myös hematologian opettajamme Katja Nummilinnan kanssa yhdessä läpi opiskelumateriaalin sisällön kuvineen. Teimme häneltä saadun palautteen pohjalta muutoksia työhömmme kuvien osalta.

## 6 POHDINTA

Oulun ammattikorkeakoululla oli tarvetta uusille diffilaseille. Opinnäytetyömme tarkoituksena oli tuottaa koululle uutta opiskelumateriaalia hematologian opintoihin. Pohdimme omien hematologian opintojen kautta, mitä opiskelumateriaalin tulisi sisältää. Onnistuimme kokoamaan yhtenäiset, monipuoliset ja laadukkaat opiskelumateriaalit.

Tavoitteenamme oli kehittää ja syventää omaa kliinisen hematologian osaamistamme. Syvennämme opinnäytteen myötä osaamistamme mm. lasten leukemioiden osalta. Uskomme, että opinnäytetyön avulla leukemiasolujen ja muidenkin hematologisten solujen tunnistaminen helpottuu ja opiskelijat voivat itsenäisesti opetella kuvien kautta solujen tunnistamista erilaisten tapausten kautta. Opinnäytteen suunnittelu ja toteutus toteutuivat yhtä aikaa hematologian harjoittelujakson kanssa ja ne tukivat hyvin toisiaan ja osaamisen kehittymistä. Opinnäyteprosessista oli huomattava hyöty myös hematologian syventävällä kurssilla keväällä 2018. Solujen tunnistaminen kurssilla oli helpompaa, kun solujen morfologia oli tuoreessa muistissa.

Opinnäytetyön tekeminen oli mielenkiintoista ja vaativaa. Lasien diffaaminen oli opettavaista ja siitä sai lisää hyvää kokemusta valkosolujen erittelylaskennan suorittamiseen. Hyvien kuvien saaminen diffilaseista oli haasteellista, koska meillä oli käytössä kuvaamiseen ainoastaan omien puhelimiemme kamerat.

Opiskelumateriaalin tavoitteena on helpottaa diffilasien ja Sysmex-tulosteiden yhteyden ymmärtämistä ja diffilasien lukua. Mikroskopointitunneilla opettajan saama ohjaus on rajallista. Opiskelumateriaalimme tukee itsenäistä opiskelua ja näytelasien tulkintaa. Opiskelumateriaalin avulla opiskelija pystyy itsenäisemmin suoriutumaan valkosolujen erittelylaskennasta. Kun opiskelijalla on käytössään Sysmex-tulosteet, diffitulos sekä kuvia soluista, diffaaminen helpottuu opiskelijan pystyessä tukeutumaan samanaikaisesti tekemäämme opiskelumateriaaliin.



## LÄHTEET

Children's Hospital, Omaha, NE. Viitattu 29.3.2018. <<http://www.enjyopath.com/H/hp-093/hp-093.htm> >

Ek, A 2009. Verisolujen tunnistusaapinen. Messon: Kankaanpää.

Elonen E. 2007. Teoksessa Veritaudit. Ruutu Tapani, Rajamäki, Allan, Lassila, Riitta, Porkka Kimmo (toim.). Helsinki:Duodecim.

Fluorescence flow cytometry 2017. Viitattu 02.11.2017. <<http://www.sysmex.se/academy/knowledge-centre/measurement-technologies/fluorescence-flow-cytometry.html>>

Goasguen J., Bennett J., Bain B., Vallespi T., Brunning R., Mufti G. Morphological Evaluation Of Monocytes And Their Precursors 2009. Viitattu 29.3.2018. <http://www.haematologica.org/content/94/7/994>

Heino J., Vuento M. 2010. Biokemian ja solubiologian perusteet. WSOY Pro Oy. Helsinki.

Jalanko, H 2016. Syöpä lapsella. Viitattu 10.10.2017 <[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00509](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00509)>

Leukosyytit, erittelylaskenta verestä. NordLab tutkimusohjekirja. Viitattu 20.11.2017. <[http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=2225&terms=b-diff](http://oyslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=2225&terms=b-diff)>

Mahlamäki E. 2004. Teoksessa Kliiniset laboratoriotutkimukset. Penttilä Ilkka (toim.) 2004. WSOY: Helsinki.

Measurements principles. Sysmex 2014. Viitattu 29.3.2018 <https://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/calendar-2014/measurement-technology-and-scattergram.html>

Medical-labs 2015. Viitattu 29.03.2018. <<http://www.medical-labs.net/wp-content/uploads/2015/03/Granulocytes.png>>

Pihkala, U. 2007. Teoksessa Syöpätaudit. Joensuu Heikki, Roberts, Peter J., Teppo, Lyly, Tenhunen, Mikko (toim.) 2007. Helsinki: Duodecim.

Pihkala, U. 2007. Teoksessa Veritaudit. Ruutu Tapani, Rajamäki, Allan, Lassila, Riitta, Porkka Kimmo (toim.). Helsinki: Duodecim.

RET/PLT-o channel 2017. Viitattu 02.11.2017. <<http://www.sysmex.se/academy/clinic-laboratory/analyser-channels/ret-channel.html>>

Salonen, J 2005. Duodecim terveyskirjasto. Viitattu 06.11.207. <[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00824](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00824)>

Sciencesourceimages 2018. Viitattu 20.03.2018. <[https://www.sciencesource.com/archive/Lymphocyte-and-Red-Blood-Cells-\(LM\)-SS2397777.html#/SearchResult&ITEMID=SS2397777](https://www.sciencesource.com/archive/Lymphocyte-and-Red-Blood-Cells-(LM)-SS2397777.html#/SearchResult&ITEMID=SS2397777)>

Siitonen, S.2012. Moodi 4/2012. Leukosyyttien erittelylaskenta – Vakosolujen kummajaisia 158-163.

Siitonen, T. Koistinen, P. 2007. Teoksessa Veritaudit. Ruutu Tapani, Rajamäki, Allan, Lassila, Riitta, Porkka Kimmo (toim.). Helsinki: Duodecim.

Sysmex-esite 2011. Viitattu 02.11.2017. <[https://www.sysmex.com/us/en/Brochures/Brochure\\_XE-2100\\_MKT-10-1134.pdf](https://www.sysmex.com/us/en/Brochures/Brochure_XE-2100_MKT-10-1134.pdf)>

Vaittinen, S 2017. WHO:n lymfoomalukuitus uudistuu. Moodi 3/2017.

Vilpo, Juhani (toim.) 2010. Ilmari Palvan veritaudit. Medivil Oy.

WBC differential channel 2017. Viitattu 03.11.2017. <<http://www.sysmex.se/academy/clinic-laboratory/analyser-channels/wbc-differential-channel.html>>

Zámecnikova, A 2012. Viitattu 15.11.2017. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/oamk-ebooks/reader.action?docID=3020298&ppg=99>>