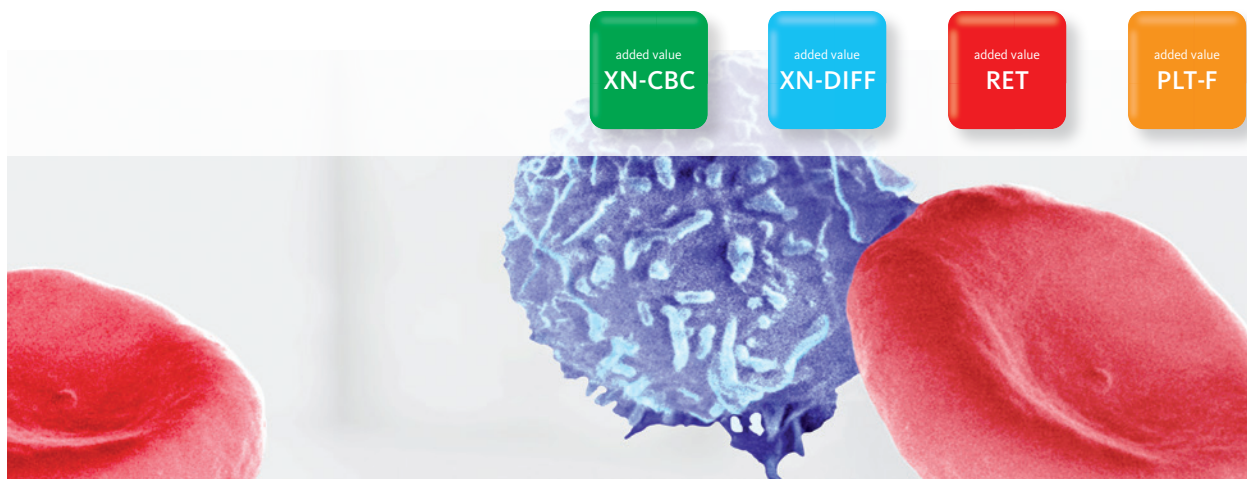


BEFUNDBEISPIEL DER XN-SERIE

Nr. 1: Megaloblastäre Anämie bei einem 2½-jährigen Kind



1. KLINISCHER FALL

Ein 2½-jähriges Kind wurde in komatösem Zustand ins Krankenhaus eingeliefert. Das Ergebnis der ersten Blutuntersuchung (großes Blutbild) ergab eine Panzytopenie sowie eine makrozytäre, hyperchrome Anämie mit ineffektiver Erythropoese und Thrombopoese. Die Cobalamin-Konzentrationen (Vitamin B₁₂) des Stillkindes waren aufgrund einer unzureichenden veganen Ernährungssituation der Mutter stark erniedrigt. Es wurde unmittelbar eine intravenöse Therapie mit Vitamin B₁₂ eingeleitet.

2. ERGEBNISSE

Gezeigt werden die Ergebnisse des großen Blutbilds einige Tage nach Einleitung der Therapie mit Vitamin B₁₂. Die erhöhte Retikulozytenzahl ist das Ergebnis der laufenden Vitamin-B₁₂-Therapie und lässt auf eine erfolgreiche DNA-Synthese schließen. Die neu gebildeten Erythrozyten (Retikulozyten) enthalten jedoch nur geringe Mengen an Hämoglobin, was sich in den niedrigen Werten der Parameter RET-H_e und Delta-H_e widerspiegelt. Dies legt neben dem Vitamin-B₁₂-Mangel auch einen absoluten oder funktionellen Eisenmangel nahe, der durch die Messung einer niedrigen Ferritin-Konzentration (15 ng/mL) bestätigt wurde.

Das Vorliegen von unreifen Granulozyten (IG) und eine leichte Erhöhung der Fraktion der unreifen Thrombozyten (IPF) kann auf eine Erholung der DNA-Synthese im Rahmen der Myelopoese und Thrombopoese hinweisen, während der Flag „Atypische Lympho?“ auf reaktive Lymphozyten hindeuten kann, die bei Kleinkindern häufig anzutreffen sind. Das Vorliegen von kernhaltigen Erythrozytenvorstufen (NRBC) ist hinweisend für eine erhöhte Knochenmarkaktivität oder eine extramedulläre Erythropoese infolge der stark ausgeprägten Anämie.

a. Numerische Patientendaten

WBC-PARAMETER	DATEN	RBC-PARAMETER	DATEN	RBC-FLAG(S)	
WBC (10 ⁹ /L)	7,17	RBC (10 ¹² /L)	1,56	Retikulozytose	
NEUT# (10 ⁹ /L)	3,52	HGB (g/L)	59	Anisozytose	
LYMPH# (10 ⁹ /L)	2,69	HCT (L/L)	0,183	Makrozytose	
MONO# (10 ⁹ /L)	0,87	MCV (fL)	117,3	Anämie	
EO# (10 ⁹ /L)	0,07	MCH (pg)	37,8		
BASO# (10 ⁹ /L)	0,02	MCHC (g/L)	322	PLT-PARAMETER	DATEN
IG# (10 ⁹ /L)	0,74	RDW-SD (fL)	80,4	PLT-I (10 ⁹ /L)	55
HFLC# (10 ⁹ /L) [§]	0,09	RDW-CV (%)	19,1	PLT-F (10 ⁹ /L)	61
NEUT%	49,1	NRBC# (10 ⁹ /L)	0,74	PDW (fL)	15,9
LYMPH%	37,5	NRBC%	10,3	MPV (fL)	10,5
MONO%	12,1	MicroR (%) [§]	2,1	P-LCR (%)	32,1
EO%	1,0	MacroR (%) [§]	34,4	PCT (L/L)	0,0006
BASO%	0,3	HYP0-H _e (%) [§]	1,9	IPF# (10 ⁹ /L) [§]	5,9
IG%	10,3	HYP0R-H _e (%) [§]	10,2	IPF (%)	9,6
HFLC% [§]	1,3	RET# (10 ⁹ /l)	192,2	PLT-FLAG(S)	
NEUT-SSC (ch) [§]	167,2	RET%	12,32	Thrombozytopenie	
NEUT-SFL (ch) [§]	60,1	IRF (%)	60,7		
WBC-FLAG(S)		RET-H _e (pg)	20,2		
NRBC vorhanden		DELTA-H _e (pg) [§]	-16,1		
IG vorhanden		FRC# (10 ¹² /L) [§]	0,0290		
Linksverschiebung?		FRC% [§]	1,86		
Atypische Lympho?					

[§] Forschungsparameter



b. Scattergramme und morphologische Bilder

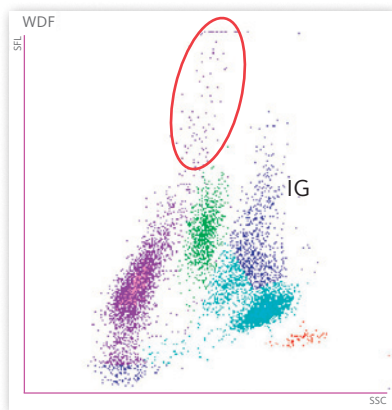


Abbildung 1: WDF-Scattergramm

Das WDF-Scattergramm zeigt eine auffällige Punktwolke (dunkelblau) über den Neutrophilen, bis in den Bereich hoher Fluoreszenzintensität, die auf das Vorkommen unreifer Granulozyten (Immature Granulocytes, IG) schließen lässt. Dadurch wird der Warnhinweis „IG vorhanden“ ausgelöst. Ebenso sind im Bereich hoher Fluoreszenz und mittlerem Seitwärtsstreulichtsignal (O) Zellen registriert, die in diesem Fall den Warnhinweis „Atypische Lymphe?“ generieren und auf reaktive Lymphozyten hinweisen.

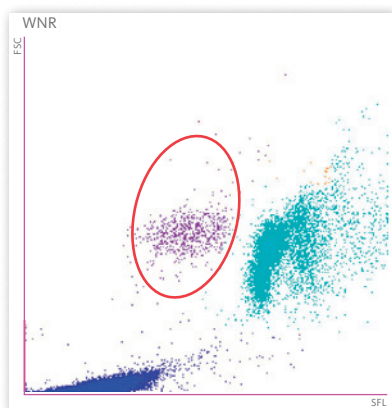


Abbildung 2: WNR-Scattergramm

Das WNR-Scattergramm zeigt eine abnorme Punktwolke im Detektionsbereich von NRBC (O) und gibt einen NRBC-Wert von 10,3% an. Kernhaltige rote Blutzellen können im WNR-Kanal auch in geringen Mengen von Leukozyten differenziert werden. Dabei zeigen Leukozyten ein deutlich höheres Fluoreszenzsignal als NRBC. Im WNR-Kanal werden Seit-Fluoreszenz- und Vorwärtsstreuungssignale abgelesen. Neben der Zählung der NRBC werden auch die Parameter WBC (hellblau) und basophile Granulozyten (gelb) in diesem Kanal bestimmt.

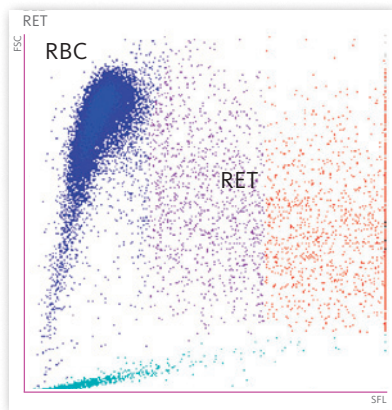


Abbildung 3: RET-Scattergramm

Das RET-Scattergramm zeigt eine Retikulozytose und spricht dafür, dass die Erythropoese durch die Vitamin B₁₂ Therapie erfolgreich angekurbelt wurde. Die Retikulozytenpopulation (O) fällt im Vergleich zu den reifen Erythrozyten (dunkelblaue Punktmenge) auffallend stark ab und zeigt somit eine geringere Vorwärtsstreuung und damit eine geringere Vorwärtsstreuung. Der Hämoglobingehalt der roten Blutzellen wird aus dem Vorwärtsstreuungssignal abgeleitet, dementsprechend ist das RET-H_e (Retikulozyten-Hämoglobin-Äquivalent) auffallend niedrig. Das Delta-H_e ist die Differenz der Signale aus dem mittleren Vorwärtsstreuungssignal der Retikulozyten und Erythrozyten – es ist in diesem Beispiel ebenfalls stark erniedrigt (-16,1 pg), was dafür spricht, dass ein absoluter oder funktionaler Eisenmangel vorliegt und die Eisenreserven für die gesteigerte RBC-Produktion nicht ausreichend sind. Das Delta-H_e ist hierfür ein sensibler Indikator.

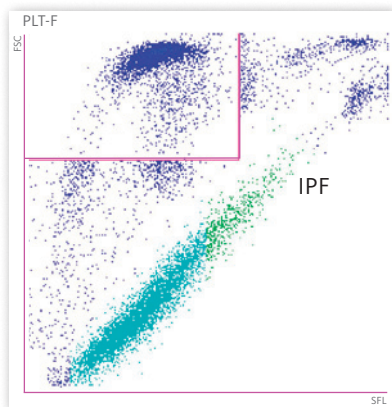


Abbildung 4: PLT-F-Scattergramm

Die Thrombozyten wurden mit der PLT-F-Messung bestimmt. Neben dem genauen PLT-Ergebnis von $61 \times 10^3/\mu\text{L}$ Thrombos kann in diesem Messkanal die IPF bestimmt werden, die den Anteil großer unreifer Thrombozyten beschreibt. Große unreife Thrombozyten haben ein höheres Vorwärtsstreuungssignal bei gleichzeitig intensiverer Fluoreszenzsignalintensität. In diesem Beispiel ist die IPF leicht erhöht (9,6%) und lässt vermuten, dass die Thrombopoese wieder zunimmt. Referenzbereich IPF 1,1 – 6,1%^[1].

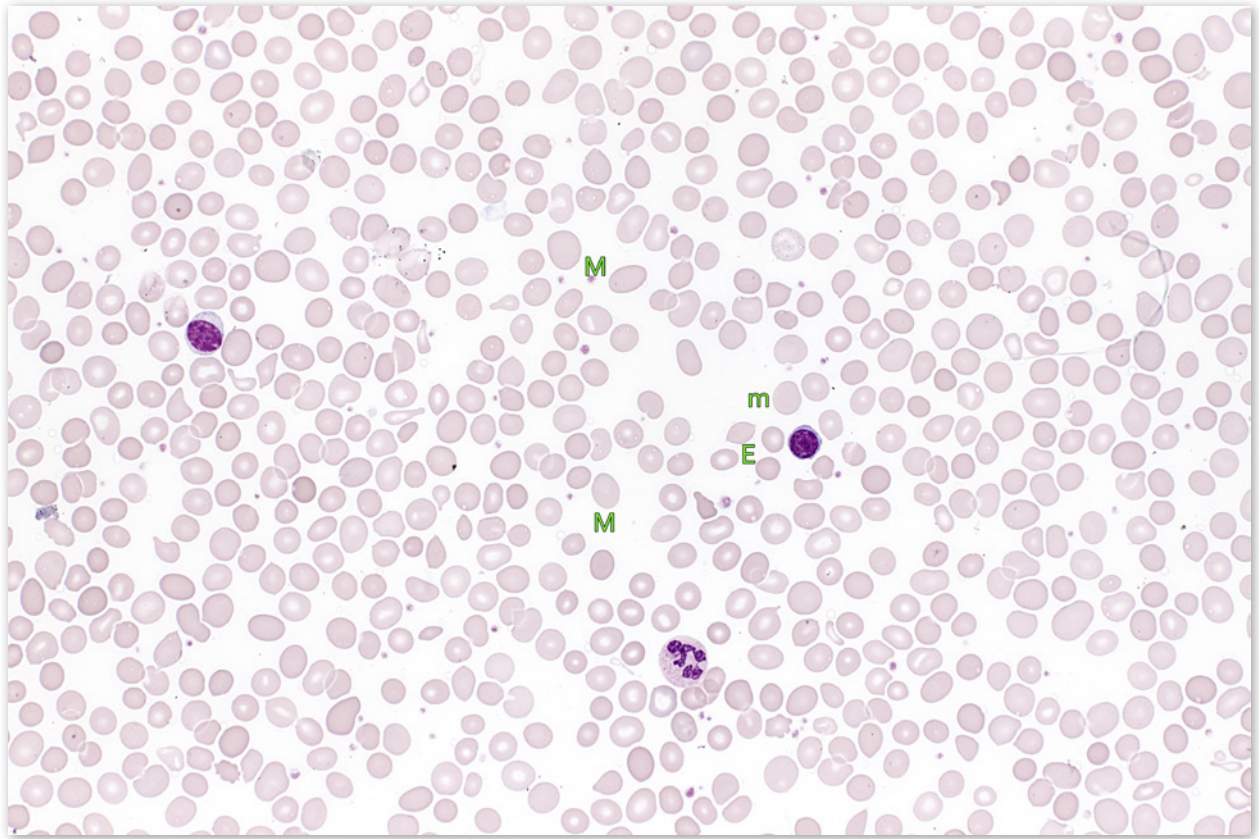


Abbildung 5: Peripherer Blutausstrich

E: normale Erythrozyten; m: Makrozyt; M: ovale Megalozyten; ein Segmentkerniger mit sehr schlankem hypersegmentiertem Kern

Bei der megaloblastären Anämie fällt der ausgeprägte Größenunterschied der Erythrozyten (Anisozytose) auf. Unbehandelt zeigen sich neben normal großen und vergrößerten Erythrozyten häufig ovalär verformte Erythrozyten, numerisch am erhöhten MCV und MCH erkennbar. Die Granulozyten zeigen fast alle übermäßig schlanke, hypersegmentierte Kerne.

Bildquelle: Th. Binder

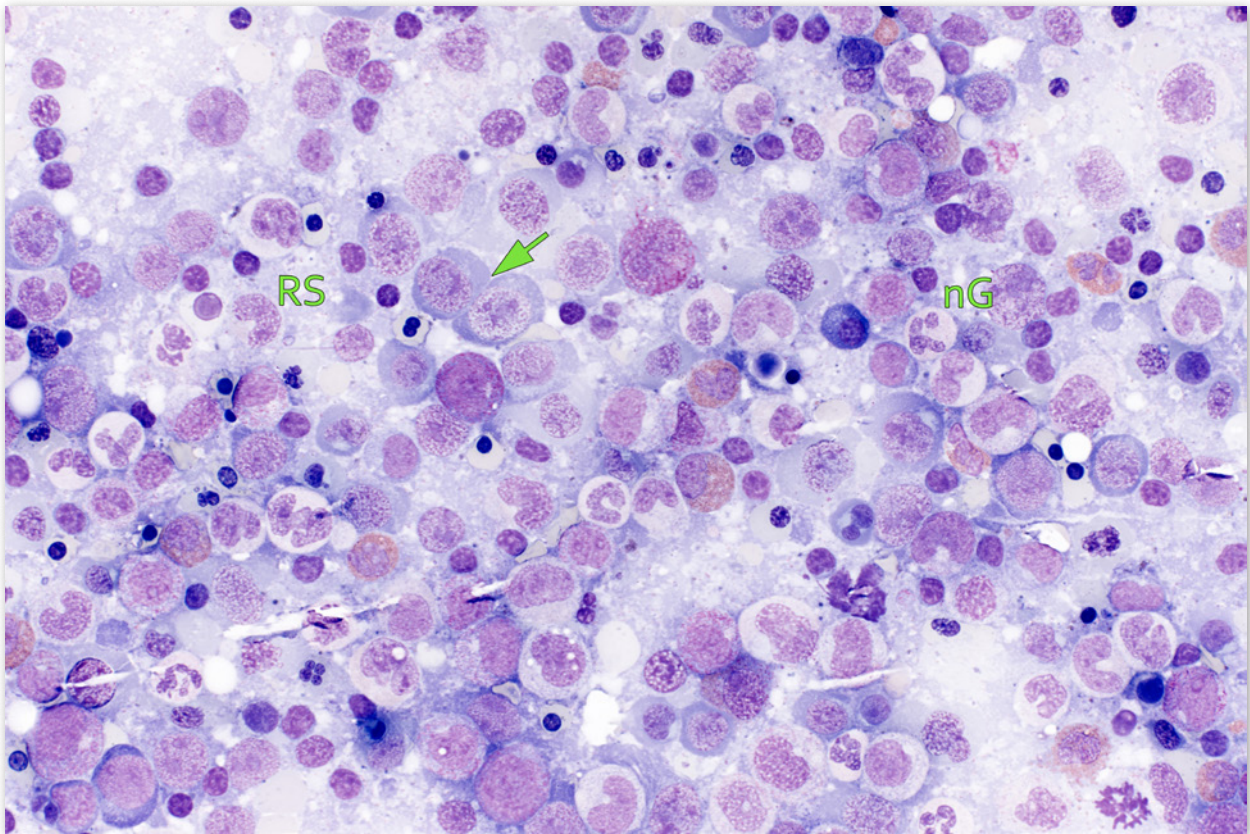


Abbildung 6: Knochenmark

nG: normaler Granulozyt; RS: Riesen-Stabkerniger; Pfeil: abnorme polychromatische Erythroblasten

Das KM ist bei der megaloblastären Anämie fast immer stark bis maximal hyperzellulär. Die roten Vorstufen sind größer als bei Gesunden, basophile und polychromatische Erythroblasten zeigen typischerweise ein locker strukturiertes Chromatin, das an aufgeschnittene Salami erinnert.

Bildquelle: Th. Binder

3. GRUNDERKRANKUNG

Megaloblastäre Anämie^[2,3,4]

Unter der megaloblastären Anämie wird eine heterogene Gruppe an Erkrankungen zusammengefasst, denen bestimmte morphologische Eigenschaften gemein sind. Bei dieser Form der Anämie sind die Megaloblasten größer als gewöhnlich und haben im Verhältnis zur Größe des Zellkerns einen höheren Anteil an Zytoplasma. Das Chromatin im Zellkern verdichtet sich langsamer als üblich und führt mit zunehmender Reife des Zytoplasmas zu der sogenannten Kern-Zytoplasma-Asynchronie. Die Vorläuferzellen der Granulozyten sind ebenfalls vergrößert und zeigen eine Kern-Zytoplasma-Asynchronie, wobei im Knochenmark häufig die Riesenmetamyelozyten und Riesenstabkernigen diagnoseweisend sind. Im peripheren Blut sind die hypersegmentierten Neutrophilen auffällig. Es liegt eine ineffektive Thrombopoese vor, und zwar mit erniedrigter Thrombozytenzahl und funktioneller Anomalie. Die Ätiologie der megaloblastären Anämie ist vielfältig, gemeinsame pathogene Faktoren sind jedoch eine Beeinträchtigung der Synthese und des Zusammenbaus der DNA. Die häufigsten Ursachen einer Megaloblastose sind Mangelzustände hinsichtlich Vitamin B12 (Cobalamin) und Folsäure. Der Cobalamin- und der Folsäure-Stoffwechsel sind eng miteinander verflochten. Da der Mensch Cobalamin und Folsäure nicht selbst synthetisieren kann, müssen sie über die Nahrung zugeführt werden. Dabei speichert der Körper Cobalamin in großen Mengen, ausreichend für 2 – 6 Jahre. Bei der Makrozytose können anhand der Morphologie der Erythrozyten differenzialdiagnostisch zwei größere Kategorien unterschieden werden.

1. Der Makrozytose mit runden Makrozyten liegt eine gestörte Zusammensetzung der Lipide in der Erythrozytenmembran zugrunde. Häufige Ursachen sind Alkoholismus, Leber- und Nierenerkrankungen oder eine Hypothyreose.
2. Die Makrozytose mit ovalen Makrozyten weist auf eine Störung bei der Replikation der DNA hin. Häufige Ursachen dafür sind:
 - Arzneimittelwirkungen inklusive den Wirkungen einer zytotoxischen Chemotherapie
 - megaloblastäre Anämien: Folsäure- oder Vitamin-B12-Mangel und hypersegmentierte Neutrophile
 - Myelodysplasie: hyposegmentierte Neutrophile und auffällige Thrombozytenmorphologie.

Patienten mit Erythrozyten-Kälteagglutininen können einen scheinbaren Anstieg des MCV aufweisen, der auf eine Verklumpung der Erythrozyten bei Raumtemperatur zurückgeht. Auch weil Retikulozyten größer sind als reife RBC, kann es bei Patienten mit erhöhten Retikulozytenzahlen zu einem erhöhten MCV kommen.

Cobalamin-Mangel

Die Ursachen eines Cobalamin-Mangels (Vitamin-B₁₂-Mangel) sind recht unterschiedlich und zudem altersabhängig. Zu einer unzureichenden Versorgungssituation mit Cobalamin kann es infolge einer gestörten Absorption im Magen oder Darm, einer unzureichenden Aufnahme mit der Nahrung, der Einnahme bestimmter Medikamente oder einer kongenitalen Stoffwechselstörungen kommen.

- (A) Ernährungsstörungen: Diese sind nur selten verantwortlich, können allerdings bei Personen auftreten, die über mehrere Jahre hinweg eine strikte vegetarische Ernährung ohne Milch, Käse und Eier (Veganer) eingehalten haben. Ein Cobalamin-Mangel wurde auch bei Säuglingen beschrieben, deren Mütter unter einem schweren Cobalamin-Mangel litten (hauptsächlich vegan lebende Frauen aus Indien).
- (B) Störung der Cobalamin-Absorption: Die Ursachen können im Magen oder Darm liegen.
- Magen: perniziöse Anämie (Addison-Anämie), juvenile perniziöse Anämie, kongenitales Fehlen oder kongenitale Anomalie des Intrinsic-Factors, Z. n. totaler oder partieller Gastrektomie
 - Darm: intestinales Syndrom mit Stagnation (Jejunumdivertikulose, ileokolische Fistel, anatomisch bedingter Blindsack, Darmstriktur usw.), Z. n. Ileumresektion, Morbus Crohn, selektive Malabsorption mit Proteinurie (Imerslund-Gräsbeck-Syndrom), tropische Sprue und Befall mit Fischbandwurm
- (C) Störung der Cobalamin-Absorption ohne schweren Cobalamin-Mangel: unkomplizierte atrophische Gastritis, Gluten-induzierte Enteropathie, schwere chronische Pankreatitis, HIV-Infektion, Zollinger-Ellison-Syndrom, Radiotherapie, Graft-versus-Host-Krankheit, Einnahme bestimmter Medikamente (Neomycin, Colchizin, Phenytoin, Phenformin, Kaliumchlorid als Retardpräparat), Alkohol
- (D) Gestörter Cobalamin-Stoffwechsel: kongenitales Fehlen oder kongenitale Anomalie des Transcobalamin II (TCII), kongenitale Methylmalonazidurie, Lachgas-Inhalation
- (E) Arzneimittel mit Auswirkungen auf den Cobalamin-Stoffwechsel: p-Aminosalicylsäure, Metformin, Phenformin, Colchizin, Neomycin

LITERATUR

- [1] **Briggs C et al.** (2004): Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol* 126: 93 – 99.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2004.04987.x/abstract>
- [2] **Hoffbrand A V.** (1999): Megaloblastic anaemia. In: Hoffbrand A.V., Lewis S.M., Tuddenham E.G.D. (Editors): *Postgraduate Haematology*. 4th Edition. Oxford, UK. Butterworth Heinemann; 47 – 67.
- [3] **Rasmussen K, Moller J.** (2001): Methodologies of testing. In: Carmel R., Jacobsen D.W. (Editors): *Homocysteine in health and disease*. Cambridge, UK. Cambridge University Press; p. 199 – 211.
- [4] **Clarke R, Grimley Evans J, Schneede J, et al.** (2004): Vitamin B12 and folate deficiency in later life. *Age and Ageing*, 33, p. 34 – 41.

Wir bedanken uns bei Dr. med. Thomas Binder (Ulm) für die redaktionelle Mitarbeit.