

BEFUNDBEISPIEL DER XN-SERIE

Nr. 03: B-zelluläre akute lymphatische Leukämie (B-ALL)



1. KLINISCHER FALL

Ein 14-jähriges Mädchen wurde mit Verdacht auf eine Infektion beim Hausarzt vorstellig. Ihr Allgemeinzustand war schlecht: Sie war fiebrig, matt und nass geschwitzt. Bei der Analyse der Blutprobe zeigte sich eine Thrombozytopenie und Anämie verbunden mit einer relativen Lymphozytose. Bei der Differenzialzählung wurde am Hämatologiesystem der Warnhinweis »Blasten?« ausgelöst. Der »Atypical Lympho?«-Flag hingegen wurde nicht angezeigt, so dass das Vorkommen von reaktiven Lymphozyten eher unwahrscheinlich war. Ein Ausstrich des peripheren Bluts zeigte kleine blastäre lymphoide Zellen und keine heterogenen atypischen Lymphozyten.

2. ERGEBNISSE

Obwohl der schlechte Allgemeinzustand des Mädchens eine Infektion vermuten ließ, waren keine morphologischen Zeichen eines Infekts zu beobachten, wie etwa aktivierte Lymphozyten oder aktivierte neutrophile Granulozyten (HFLC nicht erhöht und NEUT-SSC normal, s.u.*). Tatsächlich wiesen die Anämie und die Thrombozytopenie auf eine andere Ätiologie hin. Durch das Vorliegen kleiner blastärer Zellen im peripheren Blutaussstrich (28%, Morphologie entsprechend dem Subtyp L1) war trotz der normalen Leukozytenzahl die Wahrscheinlichkeit einer akuten lymphatischen Leukämie gegeben. Die Immunphänotypisierung (CD34+, TDT+, CD19+, CD10+, CD79a+, keine oberflächlichen oder zytoplasmatischen Immunglobuline) und die genetische Untersuchung bestätigten die Diagnose einer akuten lymphatischen Leukämie der B-Zellreihe mit einer Translokation des TEL-Gens (ETV6) und des AML1-Gens (RUNX1) auf den Chromosomen 12 und 21 (ehemals Common-/Vorläufer-B-Zell-Lymphom). Akute lymphatische Leukämien der B-Zellreihe sind in der Regel mit Knochenmarkinfiltration und somit mit Anämie und erniedrigten Thrombozytenzahlen und einem erhöhten Anteil der unreifen Thrombozyten (IPF) assoziiert. Es wurde umgehend eine Behandlung nach einem Protokoll für die akute lymphatische Leukämie im Kindesalter eingeleitet.

**Erläuterungen:*

HFLC: (high fluorescence lymphocyte cells) Forschungsparameter, der das Vorhandensein hochgradig fluoreszenter Lymphozyten anzeigt, die aktivierte Zellen (Antikörper produzierende B-Lymphozyten/Plasmazellen) darstellen, sofern hämatologische Erkrankungen ausgeschlossen werden können.

NEUT-SSC: Das SSC-Signal der Neutrophilen-Population, das auf der X-Achse des WDF-Scattergramms aufgetragen wird, ist ein Indikator für die Granularität der Zellen und die innere Zellstruktur. Die Fluoreszenzintensität, die dem RNA-/DNA-Zellgehalt entspricht, wird auf der Y-Achse aufgetragen. (Dieser Parameter heißt an den Systemen der XE-Serie NEUT-Y)



a. Numerische Patientendaten

WBC-PARAMETER	DATEN	RBC-PARAMETER	DATEN	PLT-PARAMETER	DATEN
WBC (10 ⁹ /L)	5,47	RBC (10 ¹² /L)	3,54	PLT-I (10 ⁹ /L)	46
NEUT# (10 ⁹ /L)	1,57	HGB (g/L)	102	PLT-F (10 ⁹ /L)	51
LYMPH# (10 ⁹ /L)	3,16	HCT (L/L)	0,318	PDW (fL)	19,2
MONO# (10 ⁹ /L)	0,73	MCV (fL)	89,8	MPV (fL)	13,5
EO# (10 ⁹ /L)	0,00	MCH (pg)	28,8	P-LCR (%)	50,5
BASO# (10 ⁹ /L)	0,01	MCHC (g/L)	321	PCT (L/L)	0,0006
IG# (10 ⁹ /L)	0,05	RDW-SD (fL)	47,2	IPF# (10 ⁹ /L) [§]	7,8
HFLC# (10 ⁹ /L) [§]	0,00	RDW-CV (%)	15,8	IPF (%)	15,2
NEUT%	28,7	NRBC# (10 ⁹ /L)	0,04	PLT-FLAG(S)	
LYMPH%	57,8	NRBC% (/100WBC)	0,7	PLT abnormale Verteilung	
MONO%	13,3	MicroR (%) [§]	2,6	Thrombozytopenie	
EO%	0,0	MacroR (%) [§]	6,0		
BASO%	0,2	HYP0-H _e (%) [§]	n.a.		
IG%	0,9	HYP0R-H _e (%) [§]	n.a.		
HFLC% [§]	0,0	RET# (10 ⁹ /L)	n.a.		
NEUT-SSC (ch) [§]	131,3	RET%	n.a.		
NEUT-SFL (ch) [§]	40,4	IRF (%)	n.a.		
WBC-FLAG(S)		RET-H _e (pg)	n.a.		
Blasten?		Delta-H _e (pg) [§]	n.a.		
		FRC# (10 ¹² /L) [§]	n.a.		
		FRC% [§]	n.a.		

§ Forschungsparameter
 n.a. nicht analysiert



b. Scattergramme

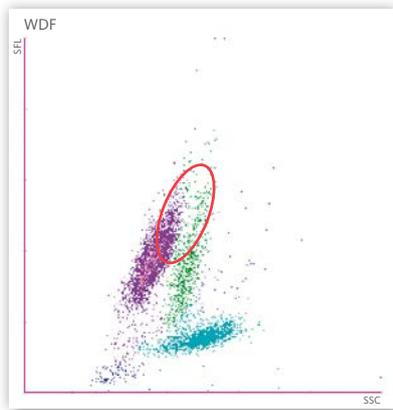


Abbildung 1: WDF-Scattergramm

Das WDF-Scattergramm zeigt eine leicht auffällige Verteilung im Bereich der Lymphozyten und Monozyten (O). Dies löst normalerweise den kombinierten Hinweis auf abnorme Lymphozyten/Blasten aus. Mit der Applikation WPC ist es möglich, den Hinweis im WPC-Kanal genauer zu spezifizieren.

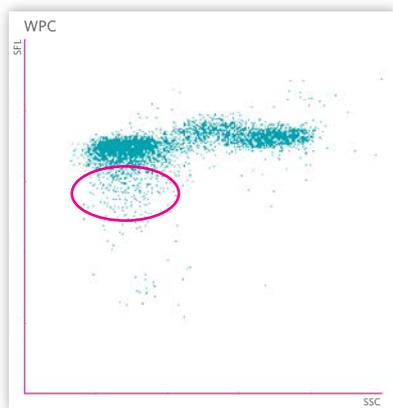
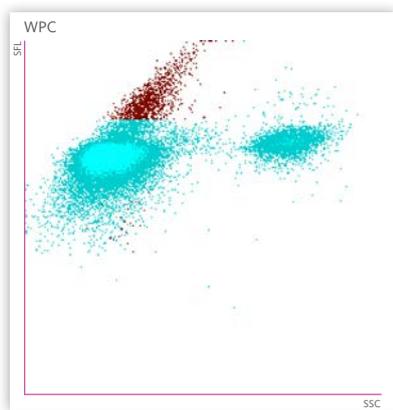


Abbildung 2: WPC SFL-SSC-Scattergramm

Im WPC-Kanal wird ein spezieller Fluoreszenzmarker eingesetzt, der über den unterschiedlichen Gehalt von Lipiden der Zellmembran verschiedener Zellgruppen unterschiedlich stark in die Zellen eindringt. Gemessen und ausgewertet werden in der ersten Darstellung (Abb. 2) das Seitwärtsstreuung und die Fluoreszenzintensität und in der zweiten Darstellung (Abb. 3) das Seitwärtsstreuung und das Vorwärtsstreuung.



Oben: Patientin

Es fällt eine leicht abnorme Zellverteilung auf. Unterhalb der Lymphozytenwolke befindet sich eine abnorme Zellpopulation (O), die zusammen mit den Informationen aus dem WPC (FSC-SSC)-Scattergramm (siehe Abb. 3) den spezifischen Warnhinweis auf »Blasten?« auslöst.

Unten: anderer Patient zum Vergleich

Abnormes WPC-Scattergramm mit einer hohen Anzahl abnormer (reifer) Lymphozyten. Die hohe Anzahl abnormer Lymphozyten ist im Scattergramm als eine sog. »Haifischflosse« zu erkennen (rote Punkt wolke).

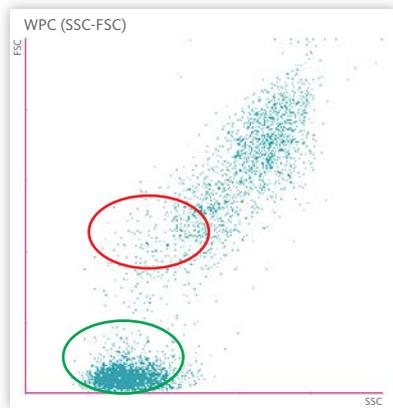
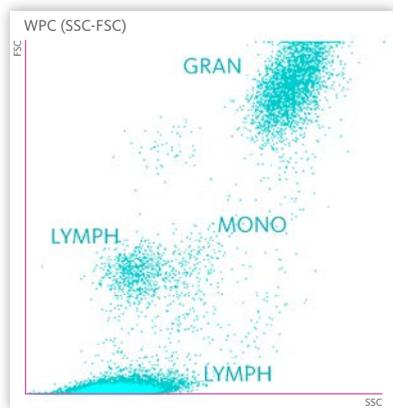


Abbildung 3: WPC (SSC-FSC)-Scattergramm

Oben: Patientin

Das Scattergramm zeigt eine abnorme Verteilung, unter anderem von kleinen Lymphozyten (O) und großen Lymphozyten (O), die durch das Vorwärtsstreuung in zwei Populationen unterschiedlich großer Zellen unterteilt werden. Die kombinierten Hinweise aus den Scattergrammen WDF, WPC (SSC-FSC) und WPC (FLC-SSC) werden vom System ausgewertet und lösen in diesem Fall den Warnhinweis »Blasten?« aus, so dass sich die morphologische Beurteilung des Ausstriches gezielt auf diese abnorme Zellgruppe konzentrieren kann.



Unten: gesunder Proband zum Vergleich

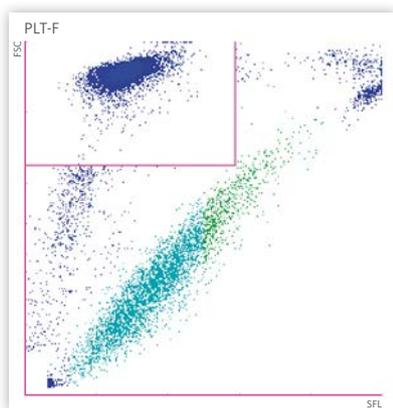


Abbildung 4: PLT-F Scattergramm

Die Messung im PLT-F-Kanal ergab eine Thrombozytopenie mit einem PLT-Ergebnis von $51 \times 10^3/\mu\text{L}$. Auffällig war zudem der erhöhte Anteil der unreifen Thrombozyten (IPF%) von 15,2%. Sichtbar hier im Scattergramm als grüne Punkt Wolke. Die »Immature Platelet Fraction« fällt durch etwas höhere Fluoreszenzsignale als reife Thrombozyten auf.

c. morphologische Bilder

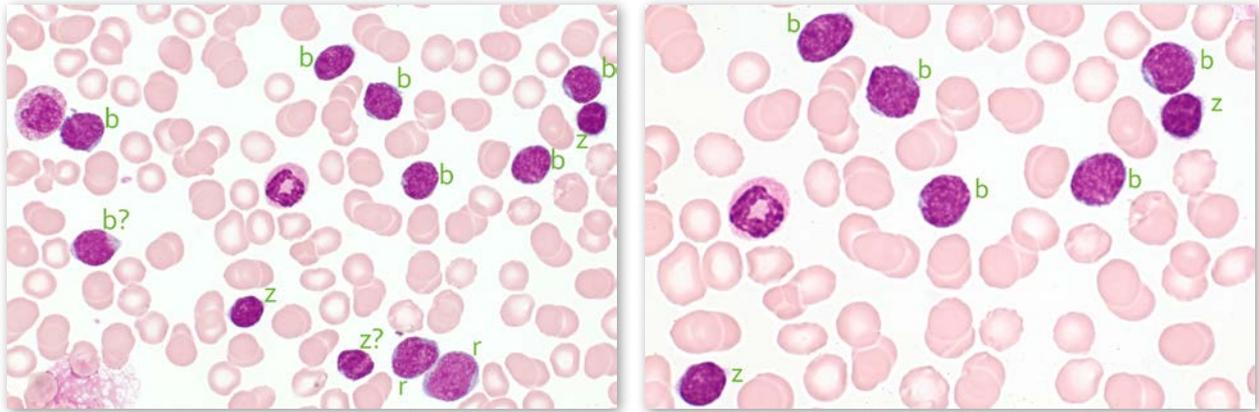


Abbildung 5a (Übersicht) und 5b (Detail des rechten oberen Quadranten aus Abb. 5a):

Peripherer Blutausstrich

Bilder des peripheren Blutes einer ebenfalls 14-jährigen anderen Patientin mit – im Unterschied zum beschriebenen Fall – geringer Leukozytose und etwas höherer relativer Blastenzahl und mit einigen reaktiven Lymphozyten. Wie bei dem beschriebenen Fall ebenfalls »kleinzellige« ALL, nach FAB: L1-Morphologie, wie sehr häufig bei Kindern. Problem ist die Unterscheidung der Blasten von Lymphozyten wegen der geringen Größe der Zellen und des dichten Chromatins. Aber die Struktur des Chromatins ist blastär fein und nicht schollig/flächenhaft dicht verteilt wie bei Lymphozyten.

b = Blast; z = Lymphozyt; r = reaktiver Lymphozyt; »?« = unsichere Zuordnung.

Bildquelle: Th. Binder

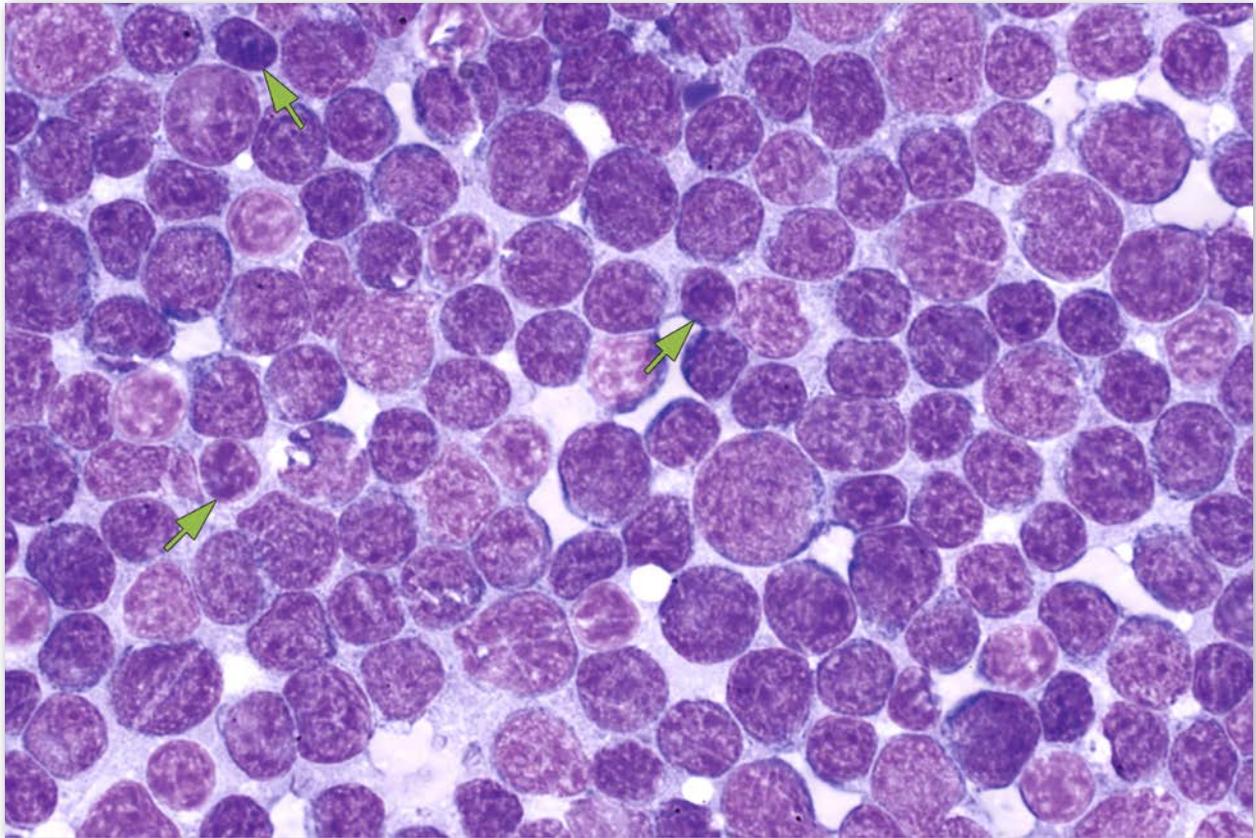


Abbildung 6: Zytologie – Lymphknoten

Lymphknoten – Feinnadelaspirationszytologie aus einem etwas vergrößerten zervikalen Lymphknoten einer 16-jährigen anderen Patientin mit derselben ALL-FAB-L1-Morphologie wie bei der beschriebenen Patientin und der Patientin von Abbildung 5: beachten Sie das dichte aber blastär verteilte Chromatin und zudem den enormen Größenunterschied der Blasten bei sonst identischem Aussehen. Diese Größenvariabilität ist für die ALL sehr typisch und kann in allen Präparaten abgelesen werden (Blut, Knochenmark, Liquor, Lymphknoten), kann aber am besten in »Quetschpräparaten« erkannt werden (Lymphknoten, Knochenmark). Die kleinen scharfen Kernbuchtungen und Falten in den Kernen kommen bei diesem ALL-Subtyp recht häufig vor (sichtbar in Abb. 5 und 6).

Drei Pfeile zeigen auf Zellen die als Lymphozyten eingeordnet werden können.

Bildquelle: Th. Binder

3. GRUNDERKRANKUNG

Akute lymphatische Leukämie im Kindesalter [1, 2, 3]

Bei der akuten lymphatischen Leukämie (ALL) handelt es sich um eine maligne, klonale Erkrankung des Knochenmarks, bei der frühe lymphatische Vorläufer proliferieren und die normalen hämatopoetischen Zellen verdrängen. Zum Diagnose-Zeitpunkt können diese Blasten bereits systemisch vorhanden sein, und nicht nur begrenzt auf das Knochenmark. Extramedullär können insbesondere Thymus, Leber, Milz, Lymphknoten, Hoden und das Zentralnervensystem befallen sein. Die ALL ist mit beinahe einem Drittel aller pädiatrischen Krebsfälle die häufigste maligne Erkrankung im Kindesalter. Einen Häufigkeitsgipfel erreicht die Erkrankung bei Kindern im Alter zwischen 3 und 5 Jahren. Vor 1948 lag die mediane Überlebenszeit von Kindern mit ALL bei zwei Monaten ab Diagnose. Die Heilungsrate hat sich seitdem jedoch drastisch verbessert und liegt heute bei fast 80%.

Obwohl einige Erkrankungsfälle mit hereditären genetischen Syndromen wie dem Down-Syndrom oder der Fanconi-Anämie in Zusammenhang stehen, wurden auch Umwelteinflüsse als mögliche Ursachen gefunden (ionisierende Strahlung, chemische Noxen, Viren und Bakterien). Inzwischen ist allgemein anerkannt, dass es sich bei der kindlichen ALL nicht um ein einheitliches, sondern um ein biologisch vielfältiges Krankheitsbild mit einer steigenden Zahl an gut definierten Untergruppen handelt, die ausgehend von den genetischen Anomalien unterschieden werden. So führen beispielsweise Chromosomentranslokationen zu chimären Fusionsgenen, die als stabile und sensitive Marker für Diagnose, Therapiedesign und Monitoring des Ansprechens auf die Behandlung fungieren. Diese Translokationen können pränatal stattfinden, weshalb sie als primärer Auslöser der ALL eingestuft werden. Der daraus hervorgehende, klinisch stumme präleukämische Klon kann dann bis zu 14 Jahre später durch ein sekundäres Ereignis (»Second Hit«), wie z. B. eine Infektion oder Chemikalienexposition, eine akute Leukämie induzieren.

Die Inzidenz der molekulargetisch unterscheidbaren Subgruppen der ALL ist je nach Alter unterschiedlich: (a) Säuglinge unter einem Jahr, (b) Kinder von 2 bis 10 Jahren und (c) Erwachsene. Jede dieser Untergruppen hat eigene klinische Merkmale und Prognosefaktoren. Einer der Gründe für die heutzutage guten Überlebensraten bei ALL ist die Anwendung von risikoadaptierten Therapieprotokollen, die die Heilungsrate für Hochrisikopatienten verbessern und gleichzeitig die Toxizität der Behandlung bei Patienten mit niedrigerem Risiko begrenzen.

Der klinische Verlauf bei einer ALL ist in der Regel kurz und geht mit Symptomen einher, die sich aus der hämatopoetischen Insuffizienz ergeben (seltener bei Kindern). Die Anämie kann zu Blässe, Müdigkeit, Tachykardie und Dyspnoe führen; die verminderte Granulopoese kann Fieber und eine Infektanfälligkeit zur Folge haben, während die herabgesetzte Thrombopoese mit Purpura sowie einer Blutungsneigung vergesellschaftet sein kann. Knochenschmerzen wegen der leukämischen Infiltration der Knochen sind bei mindestens 50% der Kinder anzutreffen. Auch eine Infiltration der Gelenke ist möglich, die zu einer Arthralgie führen kann, die mit der Arthralgie bei der juvenilen rheumatoiden Arthritis vergleichbar ist. Bei Leukämie mit meningealer Beteiligung sind Kopfschmerzen, Erbrechen sowie Zeichen einer Hirnhautreizung, eines erhöhten intrakraniellen Drucks und von Hirnnervenlähmungen möglich. In Verbindung mit einer T-ALL kommt es häufig zu einer Verlegung der oberen Hohlvene durch infiltrierte anteriore mediastinale Lymphknoten oder Befall des Thymus, was zu einer röntgenologisch sichtbaren Verbreiterung des Mediastinums führt. Auch Leber und Milz können vergrößert sein. Körperliche Symptome können fehlen oder auf eine Lymphknotenvergrößerung beschränkt sein.

Die Anfangsdiagnose einer ALL wird durch eine vollständige Anamnese, körperliche Untersuchung und die Auswertung der Blut- und Knochenmarkmorphologie, gefolgt von zytochemischen, biochemischen, immunologischen, chromosomalen, molekulargenetischen und zytokinetischen Untersuchungen gestellt.

Zu den typischen Laborbefunden bei der Diagnose gehört eine Leukozytose von bis zu 100.000/ μL . Bei allen multivariaten Analysen der Blutbildparameter hat sich die initiale Leukozytenzahl als aussagekräftigster Prognose-Indikator erwiesen. Häufig wird eine normochrome Anämie mit einer Hämoglobinkonzentration von unter 100 g/L beobachtet. Die Thrombozytenzahl kann weniger als 50.000/ μL betragen, was in einigen Studien eine schlechte Prognose anzeigt. Bei rund einem Drittel der pädiatrischen Patienten ist die Leukozytenzahl jedoch normal oder erniedrigt, und in 15% der Fälle ist die Thrombozytenzahl unauffällig. In den Ausstrichen des peripheren Bluts findet man beinahe immer zumindest vereinzelte Lymphoblasten.

LITERATUR

Literatur zum Thema IPF finden Sie auf unserer Webseite im Bereich der Akademie:
<http://www.sysmex.de/akademie/wissenszentrum/haematologie/erweiterte-parameter.html>

[1] Greaves MF (2002): Childhood Leukaemia. *British Medical Journal* 324: 283 – 287

[2] Friedmann AM, Weinstein HJ (2000): The role of prognostic features in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *The Oncologist* 5: 321 – 328

[3] Greaves MF (1997): Aetiology of acute leukaemia. *Lancet* 349: 344 – 349

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