

Der Fall des Halbjahres: chronisch lymphatische Leukämie (CLL)

Mit dem Sammelbegriff »maligne Non-Hodgkin-Lymphome« (NHL) werden alle bösartigen Erkrankungen des lymphatischen Systems (Lymphome) mit Ausnahme des Hodgkin-Lymphoms zusammengefasst. Dabei handelt es sich um eine sehr heterogene Gruppe von Erkrankungen, je nachdem, welche Zellen betroffen sind. Erst die Entwicklung neuerer immun- und molekularbiologischer Untersuchungsmethoden hat dazu beigetragen, die malignen Zellen hinsichtlich ihrer Zugehörigkeit zu einer bestimmten Lymphozytenpopulation, ihres Reifegrades und ihrer Aktivitätsmerkmale einordnen zu können.

Generell lassen sich B-NHL und T-NHL unterscheiden. Da in der Gruppe der chronisch lymphatischen Leukämien (CLL) die B-Lymphozyten weitaus häufiger betroffen sind als die T-Lymphozyten, bezieht sich dieser Artikel auf die B-CLL.

Nach der Klassifikation der WHO wird die CLL als indolentes Lymphom (low risk) eingestuft. [1]

Häufigkeit, Altersverteilung und Ursachen

Die chronisch lymphatische Leukämie ist die häufigste Leukämieform bei Erwachsenen in der westlichen Welt. Durchschnittlich erkranken in Deutschland pro Jahr etwa drei von 100.000 Menschen daran. Die Krankheit kann in jedem Lebensalter vorkommen, meist tritt sie jedoch zwischen dem 4. und 7. Lebensjahrzehnt auf. Kinder sind extrem selten betroffen. Männer erkranken im Schnitt etwas häufiger als Frauen (Verhältnis 2:1). Die Inzidenz steigt mit dem Lebensalter stetig an. [2] In den letzten Jahren ist das Durchschnittsalter der neu diagnostizierten CLL-Fälle zurückgegangen, was aber häufigeren Blutuntersuchungen zuzuordnen ist.

Die CLL ist eine generalisierte Erkrankung des lymphatischen Systems, die mit einer monoklonalen Vermehrung von immuninkompetenten Lymphozyten im peripheren Blut einhergeht. In den Geweben ist eine abnorme Wucherung lymphatischer Zellen zu beobachten. Zunächst wurde die Krankheit als akkumulierende Funktionsstörung naiver Lymphozyten, die nur einer geringen Apoptose unterliegen, beschrieben. In den letzten 10 Jahren gewann man durch molekulargenetische Untersuchungen neuere Erkenntnisse und geht nun davon aus, dass es sich um B-Lymphozyten handelt, die bereits Kontakt mit Antigenen hatten und sich im Grad der Mutation im Immunglobulin V-Gen unterscheiden. [3]

Die Ätiologie der CLL ist heutzutage noch weitgehend unklar. Genetische Faktoren gelten als gesichert, wogegen der Einfluss von Umweltfaktoren zurzeit diskutiert wird.

Diagnose, Krankheitsverlauf und Prognose

Der Krankheitsverlauf beginnt meist schleichend und mit uncharakteristischen Symptomen. Deswegen ist es kaum möglich, einen exakten Krankheitsbeginn festzulegen. Meistens wird eine CLL bei Routineuntersuchungen eher zufällig bei Patienten ohne Krankheitssymptome entdeckt. Es gibt aber auch Beschwerden, die an das Vorliegen einer CLL denken lassen und zu einer weiteren Klärung führen sollten. Dazu gehören vermehrte Müdigkeit, verminderte Leistungsfähigkeit, unerklärliche Gewichtsabnahme oder unerklärliches Fieber, Kopfschmerzen oder Lymphknotenschwellungen. Einige Erkrankte klagen allerdings auch über hartnäckig andauernde oder schwer verlaufende Infekte.

Der Untersuchungsbefund ist in Abhängigkeit vom Krankheitsstadium des Patienten sehr variabel. In einem frühen Stadium, das häufig nur durch eine Lymphozytose auffällt, können Patienten völlig ohne pathologische Befunde bei der Untersuchung sein. Eine Lymphknotenschwellung und/oder Milzvergrößerung bei der Erstuntersuchung ist aber der häufigste Befund.

Die Behandlung der CLL ist heute wesentlich differenzierter zu sehen als noch vor einigen Jahren und wird alters- und risikoangepasst vorgenommen. Des Weiteren orientiert sie sich am Stadium und der Aktivität der Erkrankung und dem Vorliegen von Symptomen.

Zur Abschätzung der Prognose werden herkömmliche Stadieneinteilungen von Binet et al oder Rai et al verwendet, die sich auf das Ausmaß der Symptome (wie z. B. Lymphknotenschwellungen, Entwicklung einer Splenomegalie oder Hepatomegalie) und der Kombination mit auftretenden Anämien und Thrombozytopenien stützen. [2] Weitere Faktoren werden benutzt, um einen ungünstigeren Verlauf vorherzusagen. Hierzu gehören zum Beispiel die Lymphozytenverdopplungszeit von weniger als 12 Monaten oder das Auftreten bestimmter Chromosomenaberrationen. Zum Beispiel wurde festgestellt, dass Patienten mit wenig oder keinen Mutationen im V-Gen oder Expression von CD38 oder ZAP-70 an den B-Zellen einen wesentlich aggressiveren Krankheitsverlauf aufzeigen. [3] Die Kombination der etablierten Stadieneinteilungen mit den Erkenntnissen der molekularen Untersuchungen dürfte in der nahen Zukunft zur Therapieentscheidung eine immer größere Rolle spielen. [4]

Laborbefunde

Zur Differentialdiagnose gegenüber anderen Erkrankungen müssen das Blutbild inklusive eines Blutausstrichs des Patienten untersucht und eine Immunphänotypisierung vorgenommen werden. Die (B-)CLL gilt als gesichert, wenn eine Lymphozytose von über $5.000/\mu\text{L}$ vorliegt und die Lymphozyten morphologische Reifezeichen sowie immunphänotypisch typische Oberflächenmarker aufweisen. [4] Eine Knochenmarkuntersuchung ist nicht zwingend notwendig. Sie kann aber bei der Beschreibung des Ausmaßes und des Musters des Knochenmarkbefalls durch die CLL hilfreich sein. Die Entfernung eines Lymphknotens und die anschließende histologische Beurteilung sind erforderlich, wenn eine klare Abgrenzung der CLL von anderen Non-Hodgkin-Lymphomen mittels alleiniger Blut- und Knochenmarkuntersuchung nicht sicher gelingt.

1. Blutbild

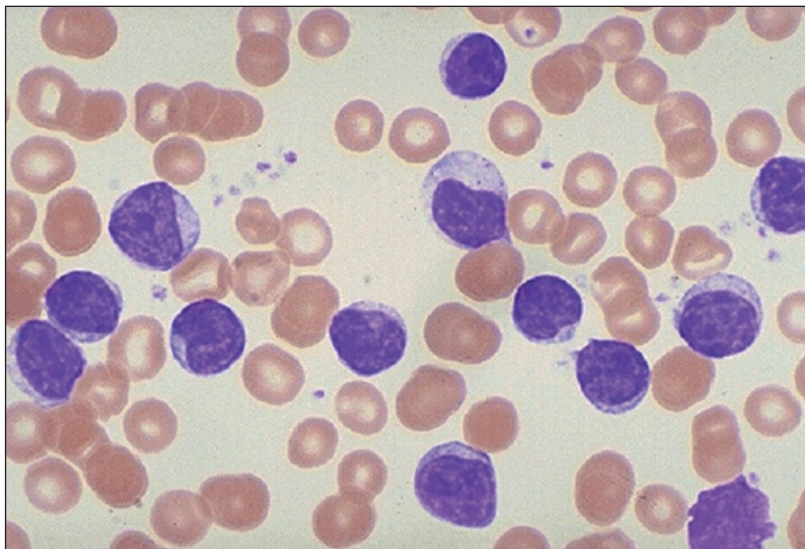


Abb. 1 Blutausstrich eines Patienten mit einer CLL

Bei der klassischen Verlaufsform findet sich im Blutbild eine Leukozytose. Die Leukozytenzahl kann bis zu mehreren Hunderttausend pro μL erhöht sein, aber es sind auch Fälle bekannt, bei denen über Jahre die Werte zwischen $10-20 \times 10^3/\mu\text{L}$ liegen. Seltener sind aleukämische Formen mit normalen Leukozytenzahlen.

Im Differentialblutbild findet man eine intensive Vermehrung

der Lymphozyten bis zu 99% der ausgezählten Leukozyten. Es dominieren kleine Lymphozyten mit einem schmalen, ungranulierten Zytoplasmasaum (hohe Kern-Plasma-Relation) und einem rundlichen Zellkern mit dichtem, scholligem Kernchromatin. Meist kann man gleichzeitig im Kern chromatinfreie, bandartige Aufhellungszonen erkennen. Die Größenvariabilität der Zellen ist relativ gering. [5]

Durch die Fragilität der Lymphozyten kommt es beim Ausstreichen oft zur Zerstörung dieser Zellen. Im Ausstrich findet man dann typischerweise plasmalose, chromatinfarbene ausgestrichene Zellkerne, die als Kernschatten bezeichnet werden. Der Name »Gumprecht'sche Kernschatten« sollte, solange die Diagnose noch nicht durch alle Befunde bestätigt ist, nicht verwendet werden. Nach Empfehlung des Arbeitskreises »Laboratorium« der DGHO zum Thema Morphologie von 2001 sind die Kernschatten als eigenständige Population bei der Differenzierung in die 100% mit einzuschließen. [6]

Das rote Blutbild ist in den frühen Stadien meist normal. Später treten normo- bis hypochrome Anämien auf und man findet im Blutaussstrich eine mehr oder minder ausgeprägte Anisozytose. Je weiter das Krankheitsbild fortgeschritten ist, desto ausgeprägter kann die auftretende Anämie sein. Die Schwere der Anämie korreliert auch mit dem Infiltrationsgrad des Knochenmarks. Autoimmunhämolytische Anämien sind eine häufige Komplikation der CLL. Autoimmunthrombozytopenien treten bei etwa 2-3 % der Erkrankten auf.

2. Immunphänotypisierung

Durch folgende Merkmale lässt sich der Immunphänotyp der B-CLL charakterisieren:

- CD5+, CD19+, CD23+ und CD20 schwach positiv
- CD79b und FCM7 sind häufig schwach positiv oder negativ
- Oberflächen-Immunglobuline meist schwach positiv

Des Weiteren können Analysen mit Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) helfen, die CLL von anderen lymphatischen Erkrankungen zu unterscheiden.

3. Histologie

Lymphknotenpräparate zeigen charakteristisch eine Auflösung der Lymphknotenarchitektur durch diffuse Infiltration mit kleinen lymphatischen Zellen. Die vorherrschenden Zellen sind denen im Blut sehr ähnlich: kleine Lymphozyten mit verklumptem Chromatin, meist rundem Kern und gelegentlich einem kleinen Nukleolus. Größere lymphatische Zellen sind gewöhnlich in Herden, den sogenannten »Pseudofollikeln« oder Proliferationszentren, angeordnet. [6]

4. Knochenmark

Die Untersuchung des Knochenmarks zeigt im Allgemeinen eine Infiltration mit lymphatischen Zellen, die sich morphologisch nicht wesentlich von den Blut-Lymphozyten unterscheiden. Des Weiteren fehlen Plasmazellen und Gewebsbasophile nahezu gänzlich. Zu Beginn der Erkrankung oder während Remissionsphasen kann die Markinfiltration sehr gering sein, so dass die Diagnose kaum aus dem Knochenmarkbefund gestellt werden kann. [5,7]

5. Zytogenetik

Es lassen sich bei mehr als 80 % aller Erkrankten Chromosomenaberrationen feststellen. [2,4] Die für die Prognose der Patienten am bedrohlichsten sind Deletionen am 11q22-23, 17p13 und 6q21. So haben zum Beispiel Patienten mit 17p- oder 11q- Deletion eine schlechtere Prognose als Patienten mit normalem Chromosomenmuster. [3]

Fallbeispiele zu B-CLLs mit unterschiedlichen Prognosen finden Sie auch in einem »Casebook«, welches von SYSMEX in Zusammenarbeit mit dem Labor Dr. Eberhard (Dortmund) und der Firma BD Bioscience (Heidelberg) erstellt wurde. Dort finden Sie sowohl die hämatologischen Befunde mit Bildern der Scattergramme und Blutzellen als auch die Ergebnisse der zytogenetischen Analyse. [8]

Fallvorstellungen

Im Folgenden finden Sie die Beschreibungen von drei verschiedenen Fällen, die jeweils am xE-2100 gemessen worden sind. Die Beschreibungen für die DIFF-Scattergramme treffen auch für die Geräte der xT-Serie und xS-Serie zu. Bitte beachten Sie, dass einige Messkanäle (z. B. IMI-Kanal) an diesen Geräten nicht verfügbar sind.

Im DIFF-Kanal wird die Technologie der »Fluoreszenz-Durchflusszytometrie« angewandt. Dabei dringt ein Fluoreszenzfarbstoff in die Leukozyten ein und färbt die RNA-/DNA-Bestandteile der Zelle an. Während die so vorbehandelten Zellen eine Durchflusszelle passieren, werden Fluoreszenz- und Seitwärtsstreulichteigenschaften gemessen. Lymphozyten haben aufgrund ihrer Struktur (runder Zellkern, schmaler Zytoplasmasaum - meist keine Granulation) von allen Zellen die geringste Seitwärtsstreulichtintensität. Weiterhin zeigen sie auch eine geringe Fluoreszenzintensität (stark kondensiertes Chromatin im Zellkern). Aus diesen Gründen findet man Lymphozyten in der pinkfarbenen Wolke unten links im Scattergramm wieder.

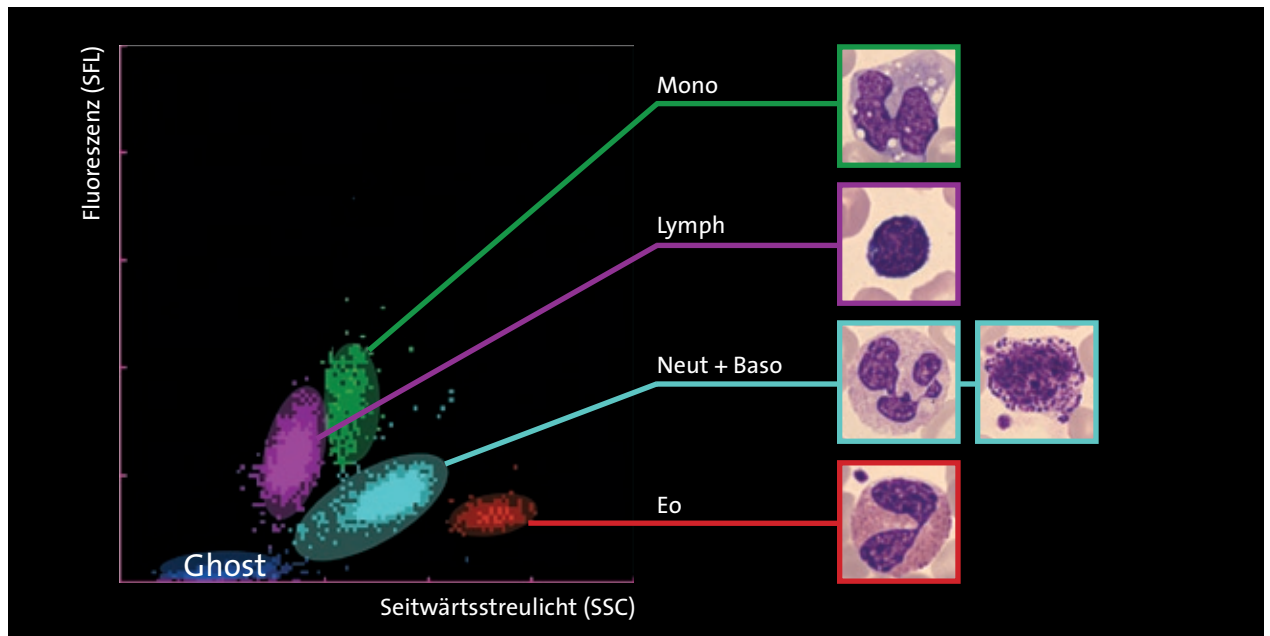


Abb. 2 Normales DIFF-Scattergramm

Beispiel 1: Lymphozytose

Das Scattergramm des DIFF-Kanals zeigt eine kompakte und prominente Lymphozytenpopulation. Aufgrund der erhöhten Anzahl Lymphozyten wird der Warnhinweis »Lymphozytose« angezeigt. Der morphologische Warnhinweis »Abnormale Lymphozyten?« wurde nicht ausgelöst.

Im Blutausstrich dieses Patienten sind zahlreiche kleine bis mittelgroße Lymphozyten zu finden. Diese weisen jedoch alle eine sehr ähnliche und unauffällige Morphologie auf, so dass sie im technologischen Sinne als »normal« beurteilt werden. Die Zellen, die im Ausstrich als Kernschatten bezeichnet werden, werden vom Gerät als Lymphozyten erfasst. Kernschatten sind fragile Lymphozyten, die erst durch die mechanische Beanspruchung während des Ausstreichvorgangs entstehen. Im DIFF-Kanal findet keine mechanische Beanspruchung dieser Zellen statt, so dass diese als »intakte« Zellen gezählt werden können.

Generell sollte, unabhängig von der Anzeige der Warnhinweise, bei einer unbekanntenen Lymphozytose (relativ oder absolut) immer geklärt werden, ob die Ursache reaktiven oder malignen Ursprungs ist. Eine morphologische Beurteilung des Blutausstrichs ist wichtig und eine Lymphozytose sollte demnach Anlass sein, einen Ausstrich anzufertigen.

Hinweis: Das Flag »Lymphozytose« ist an allen Geräten der x-CLASS anwenderspezifisch einstellbar. So können die Bereichsgrenzen der Warnhinweise, die durch eine zahlenmäßige Verschiebung der Werte in den oberen oder unteren Grenzbereich ausgelöst werden, von jedem Anwender spezifisch am Gerät eingestellt werden.

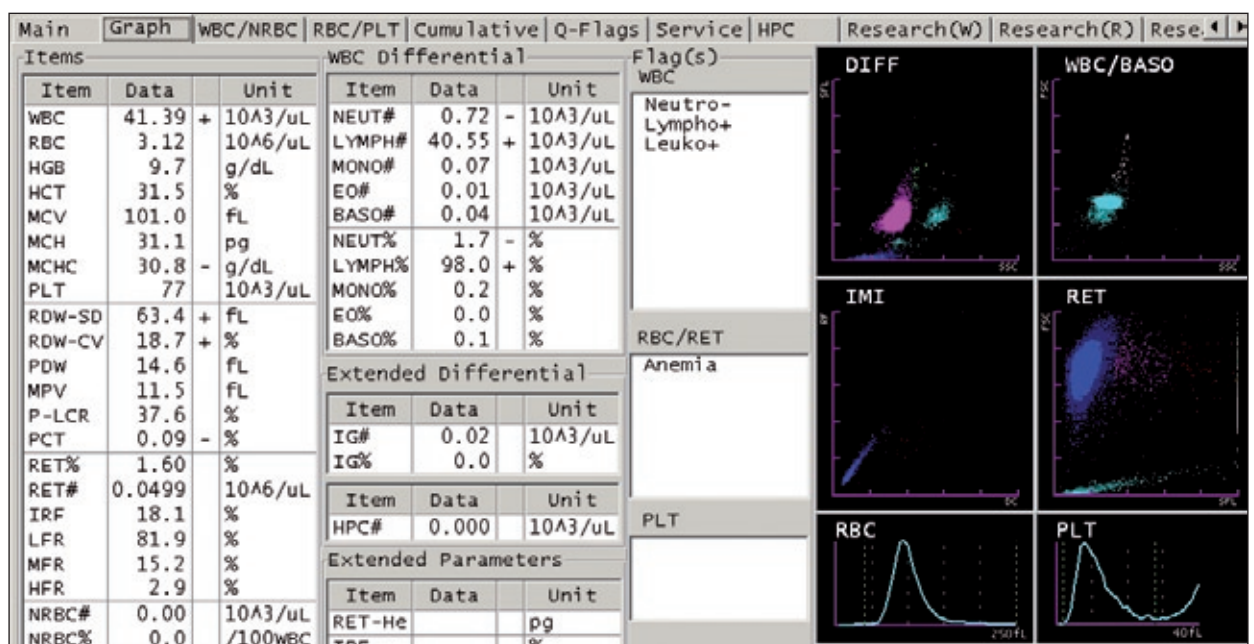


Abb. 3 Beispiel 1 mit Lymphozytose-Flag

Beispiel 2: Abn. Lymph/ L-Blast?

In diesem Beispiel ist neben der erhöhten Lymphozytenzahl und dem daraufhin erscheinenden Warnhinweis »Lymphozytose« auch noch das morphologische Flag für abnormale Lymphozyten oder Lymphoblasten (»Abn Ly/L_BI?«) vorhanden. Die Wolke der Lymphozyten im DIFF-Kanal ist nicht ganz so kompakt wie im ersten Beispiel. Der auslösende Bereich für das Flag befindet sich im DIFF-Scattergramm zwischen den Lymphozyten und den Monozyten. Ist in diesem Bereich eine erhöhte Anzahl an Ereignissen vom Gerät registriert worden und sind gleichzeitig im IMI-Kanal der xe Geräteklasse im Bereich »Blasten« keine Ereignisse zu finden, dann wird das Flag »Abnormale Lymphozyten/L-Blasten?« angezeigt. (Bei den Geräten der xt- und xs-Serie wird dieses Flag nur aus dem DIFF-Kanal generiert und hat deswegen andere Bezeichnungen.)

Im manuellen Blutausstrich wurden 77 % kleine bis mittelgroße Lymphozyten, 16 % Kernschatten, 2 % Monozyten und 5 % Neutrophile ausgezählt.

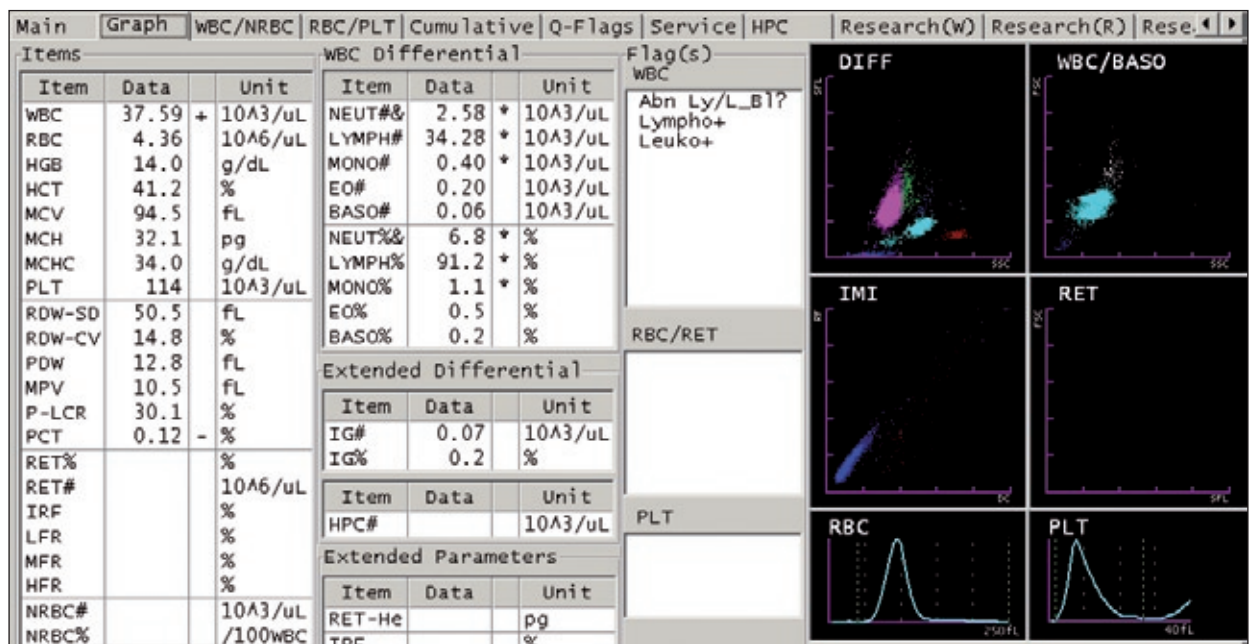


Abb. 4 Beispiel 2 mit Flags für Lymphozytose und Abnormale Lymphozyten

Beispiel 3: verschiedene Warnhinweise

Das nächste Beispiel zeigt einen Befund, in dem mehrere unterschiedliche Flags aus dem DIFF-Kanal generiert worden sind. Man erkennt eine graue Wolke, die darauf hinweist, dass keine deutliche Separation zwischen den Populationen der Lymphozyten und der Monozyten stattfinden konnte. Der Warnhinweis »WBC Abnormal Scattergram« wird angezeigt. Die Ergebnisse für Neutrophile, Lymphozyten und Monozyten werden vom Gerät aufgrund der überlappenden Zellbereiche gesperrt. Gleichzeitig wurde das Flag »Abnormale Lymphozyten/L-Blasten?« generiert.

Die Varianz der Zellen in diesem Beispiel bezieht sich hauptsächlich auf das Fluoreszenzsignal: Es sind sowohl Zellen mit sehr niedrigen als auch mit höheren Fluoreszenzsignalen zu finden. Wandern die Ereignisse über eine bestimmte Grenze hinaus in den Bereich erhöhter Fluoreszenzsignale im Scattergramm, dann wird, wie in diesem Fall, der Hinweis »Atypische Lymphozyten?« angezeigt. Hohe Fluoreszenzsignale deuten auf erhöhte RNA-/DNA-Konzentrationen der Zelle hin und können entweder Hinweise auf eine erhöhte Teilungsaktivität (Blasten) oder aber das Vorhandensein von aktivierten, Antikörper-produzierenden B-Lymphozyten geben.

Im Blutausstrich dieses Patienten fanden sich neben zahlreichen mittelgroßen Lymphozyten auch einige Lymphozyten mit blastärem Charakter. Eine Blastenkrise im Verlauf der CLL sollte daher weiter geklärt werden.

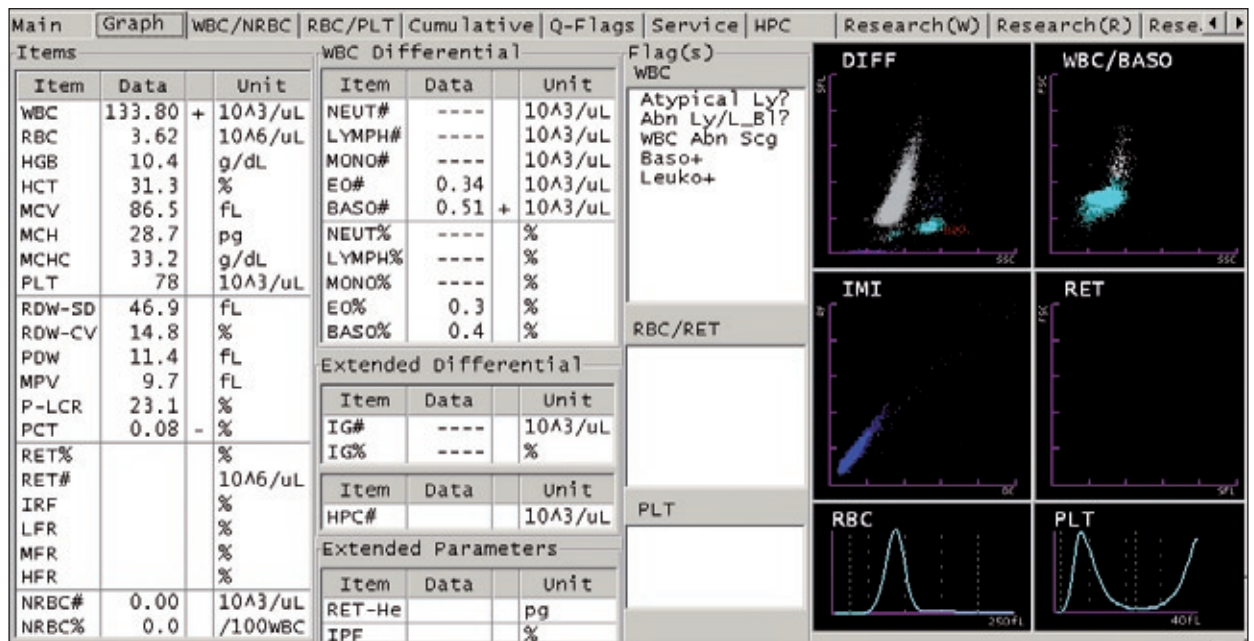


Abb. 5 Beispiel 3 mit verschiedenen Warnhinweisen bei CLL

Literaturangaben

- [1] Nancy Lee Harris et al; *World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting — Airlie House, Virginia, November 1997*,
Journal of Clinical Oncology, Vol 17, No 12 (December), 1999, S. 3835-3849
- [2] Gerd Herold und Mitarbeiter; *Innere Medizin*, 2008, S.74 ff
- [3] Nicholas Chiorazzi et al; *Mechanisms of Disease: Chronic Lymphatic Leukemia*,
New England Journal Medicine, 28th of February 2005, 352(8):804-815
- [4] M. Grever et al; *Chronic Lymphatic Leukemia*, *Clinical Hematology*,
Elsevier Inc. Philadelphia, USA, 2006, S. 447 ff
- [5] Roland Fuchs; *Manual zum Mikroskopierkurs Hämatologie*, 2003,
Nora-Verlag , S. 350 ff
- [6] *Empfehlung des Arbeitskreises »Laboratorium« der DGHO; Kernschatten im Blutaussstrich (12/2001)*
- [7] *WHO Classification of Tumours, Pathology & Genetics, Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*,
IARC Press, Lyon, 2001, S. 127 ff
- [8] *Casebook Durchflusszytometrie, SYSMEX DEUTSCHLAND GMBH, 2007*