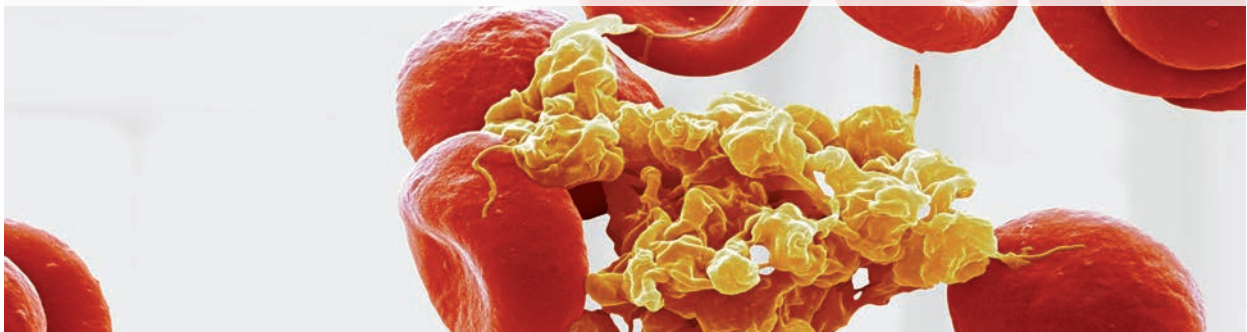


BEFUNDBEISPIEL DER XN-SERIE

Nr. 2: Mikroangiopathische hämolytische Anämie (MAHA) –
Hämolytisch urämisches Syndrom (HUS)



1. KLINISCHER FALL

Ein 12-jähriger Junge wurde mit blutiger Diarrhö, Bauchkrämpfen, Fieber, Nausea und Hämatomen in die Notaufnahme eingeliefert. Die Blutuntersuchung zeigte eine Thrombozytopenie ($23.000/\mu\text{L}$), eine Erhöhung der Fraktion der unreifen Thrombozyten, eine Retikulozytose sowie das Vorliegen von Fragmentozyten und unreifen Granulozyten. Im Anschluss an die Untersuchung sank die Thrombozytenzahl binnen einer Stunde auf $14.000/\mu\text{L}$, sodass eine Thrombozytentransfusion in Betracht gezogen werden musste. Entsprechend war es erforderlich, eine thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP) und ein hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) als Ursache der Thrombozytopenie auszuschließen, da Thrombozytentransfusionen bei diesen Erkrankungen kontraindiziert sind, sofern keine aktive Blutung zu beobachten ist.

2. ERGEBNISSE

Das Vorhandensein von fragmentierten Erythrozyten bzw. Fragmentozyten (FRC#, FRC%) und erhöhter Retikulozytenzahl (RET#, RET% und IRF) können Anzeichen für eine hämolytische Anämie sein. Das Vorliegen von Fragmentozyten im peripheren Blutausschlag und erhöhte LDH- und Bilirubinkonzentrationen erhärten diesen Verdacht. In Verbindung mit einer erniedrigten Thrombozytenzahl (PLT-F) und einem

hohen Thrombozytenumsatz, der an einer erhöhten Fraktion der unreifen Thrombozyten (IPF%) zu erkennen ist, ergeben sich plausible Hinweise auf eine mikroangiopathische hämolytische Anämie (MAHA). Diese kann durch eine Reihe unterschiedlicher Grunderkrankungen ausgelöst werden, darunter TTP, HUS, disseminierte intravasale Gerinnung (DIC), HELLP-Syndrom und Eklampsie.

Die atypischen Lymphozyten (vermutlich reaktive Lymphozyten) und unreifen Granulozyten im peripheren Blut deuten, ebenso wie das Fieber des Patienten, auf eine Infektion hin. Die Analyse einer Stuhlprobe mit einem Enzymimmunoassay führte zum Nachweis von Endotoxinen des enterohämorrhagischen Escherichia coli (EHEC). Daraufhin wurde ein HUS infolge einer EHEC-Infektion diagnostiziert.

a. Numerische Patientendaten

WBC-PARAMETER	DATEN	RBC-PARAMETER	DATEN	RBC-FLAG(S)	
WBC (10 ⁹ /L)	6,70	RBC (10 ¹² /L)	3,75	Retikulozytose	
NEUT# (10 ⁹ /L)	3,65	HGB (g/L)	106	Fragmente?	
LYMPH# (10 ⁹ /L)	1,74	HCT (L/L)	0,305		
MONO# (10 ⁹ /L)	1,06	MCV (fL)	81,3	<u>PLT-PARAMETER</u>	
EO# (10 ⁹ /L)	0,17	MCH (pg)	28,3	PLT-I (10 ⁹ /L)	24
BASO# (10 ⁹ /L)	0,08	MCHC (g/L)	348	PLT-F (10 ⁹ /L)	23
IG# (10 ⁹ /L)	0,41	RDW-SD (fL)	49,4	PDW (fL)	-
HFLC# (10 ⁹ /L) [§]	0,02	RDW-CV (%)	18,4	MPV (fL)	-
NEUT%	54,5	NRBC# (10 ⁹ /L)	0,01	P-LCR (%)	-
LYMPH%	26,0	NRBC%	0,1	PCT (L/L)	-
MONO%	15,8	MicroR (%) [§]	9,3	IPF# (10 ⁹ /L) [§]	0,4
EO%	2,5	MacroR (%) [§]	6,8	IPF (%)	17,4
BASO%	1,2	HYPO-H _e (%) [§]	3,3	<u>PLT-FLAG(S)</u>	
IG%	6,1	HYPERS-H _e (%) [§]	0,9	PLT abnormale Verteilung	
HFLC% [§]	0,3	RET# (10 ⁹ /L)	213,8	Thrombozytopenie	
NEUT-SSC (ch) [§]	143,7	RET%	213,8		
NEUT-SFL (ch) [§]	45,8	IRF (%)	33,5		
<u>WBC-FLAG(S)</u>		RET-H _e (pg)	36,7		
Monozytose		Delta-H _e (pg) [§]	9,3		
IG vorhanden		FRC# (10 ¹² /L) [§]	0,0997		
		FRC% [§]	2,66		

[§] Forschungsparameter
 - Wert nicht bestimmbar



b. Scattergramme und morphologische Bilder

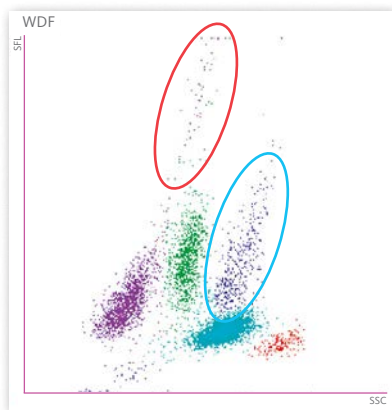


Abbildung 1: WDF-Scattergramm

Das WDF-Scattergramm zeigt das Vorhandensein unreifer Granulozyten (O) (Immature Granulocytes, IG) – die im Vergleich zu reifen Granulozyten durch eine intensivere Fluoreszenzmarkierung auffallen und somit zahlenmäßig sehr genau erfasst werden können. Der IG-Wert umfasst Metamyelozyten, Myelozyten und Promyelozyten. In diesem Beispiel ist der IG-Wert – mit 6,1% – erhöht. Auch im Bereich der atypischen Lymphozyten sind vereinzelt Zellen (O) zu sehen, deren Konzentration jedoch unterhalb des Schwellenwertes für das Flagging lag. Dennoch könnte dies zusammen mit der Erhöhung der unreifen Granulozyten ein Hinweis auf eine Infektion sein. Der Bereich „atypische Lymphozyten“ liegt ebenfalls in einem Bereich, in dem Zellen mit hoher Fluoreszenzmarkierung liegen. Hier zeigen Immunglobulinproduzierende Lymphozyten ein deutlich höheres Signal als andere Lymphozyten, weil durch die Protein-Synthese vermehrt RNA vorliegt, die sich mit dem Fluoreszenzmarker anfärben lässt.

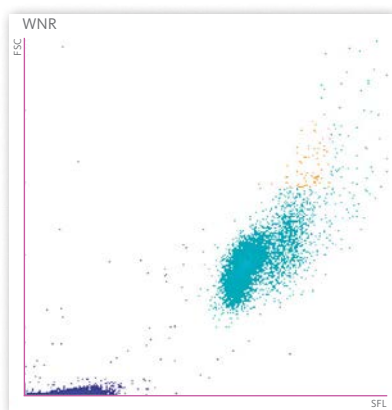


Abbildung 2: WNR-Scattergramm

Im WNR-Kanal wird die WBC-Zahl und Anzahl der basophilen Granulozyten und die Anzahl NRBC bestimmt. Es konnten keine Auffälligkeiten gefunden werden.

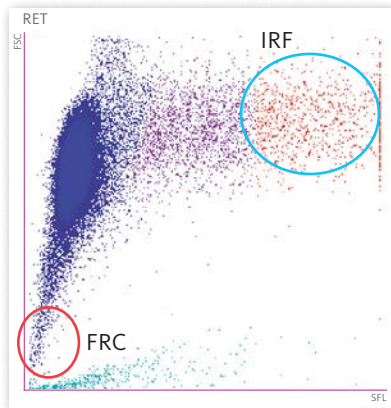


Abbildung 3: RET-Scattergramm

Das RET-Scattergramm zeigt eine deutliche Retikulozytose, mit einem großen Anteil an unreifen Retikulozyten (Immature Reticulocyte Fraction, IRF) – IRF = 33,5% (0) – repräsentativ für eine gesteigerte Erythropoese. Die „Qualität“ der neu gebildeten Erythrozyten (Retikulozyten-Hämoglobin) ist mit einem RET- H_e Wert von 36,7 pg ausgezeichnet. Optisch ist dies daran zu erkennen, dass die gesamte RET-Wolke hohe Vorwärtsstreulichtsignale aufzeigt und nicht abfallend ist. Auffallend ist eine RBC-Wolke im Bereich der fragmentierten Erythrozyten (FRC) (0). Es wurden 2,66% Fragmentozyten detektiert und der Warnhinweis „Fragmente?“ ausgelöst.

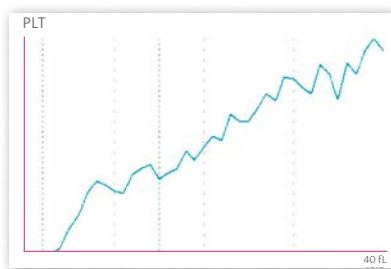


Abbildung 4: PLT-Histogramm

Die PLT-Histogrammkurve der Impedanzmessung zeigt eine abnormale Verteilung bei einem auffallend niedrigen PLT-Wert von $24 \times 10^3/\mu\text{L}$. Der Warnhinweis „PLT Abnormale Verteilung“ wurde getriggert und löste u.a. dadurch die Reflexmessung im PLT-F-Kanal aus. Die Histogrammkurve zeigt einen stufenartigen Verlauf nach oben. Typisch für Interferenzen aus der roten Reihe, wie zum Beispiel Fragmentozyten. Vermutlich würden die PLT-Werte von Wiederholungsmessungen sehr stark schwanken. Hintergrundinfo: Fragmentozyten und Riesenthrombozyten können generell die Impedanzmessung interferieren. Dabei kann durchaus eine echte Thrombozytopenie maskiert oder eine Pseudothrombozytopenie vorgetäuscht werden. Eine Kontrolle des Thrombozytenresultats (PLT-I), zum Beispiel mit Hilfe des PLT-F-Kanals, ist daher unbedingt zu empfehlen um verlässliche Ergebnisse zu erhalten. Alternativ kann die Richtigkeit im Ausstrich nach Fonio überprüft werden.

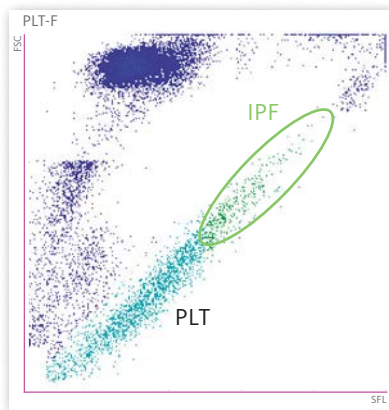


Abbildung 5: PLT-F-Scattergramm

Die PLT-F-Analyse liefert zum einen eine Thrombozytenzahl die mit der Referenzmethode vergleichbar ist, zum anderen kann der Parameter IPF (Immature Platelet Fraction, IPF), der in diesem Messkanal bestimmt wird, in der Diagnose wertvolle Hinweise liefern. Die IPF wurde in diesem Beispiel mit 17,4 % deutlich über dem Referenzbereich (IPF 1,1 – 6,1 % 1) gemessen. Im PLT-F-Scattergramm sichtbar als hellgrüne Population (O). Die erhöhte IPF ist ein deutlicher Hinweis auf eine gesteigerte Thrombopoese und spricht nicht für eine Erkrankung, die mit einer Schädigung des Knochenmarks einhergeht. Im PLT-F Kanal können Thrombozyten von kleinen Erythrozyten/Fragmenten durch ihre Fluoreszenzaktivität gut separiert werden. Fragmentozyten weisen durch ihre geringe Größe zwar ein ähnliches Vorwärtsstreuungsverhalten wie Thrombozyten auf, jedoch werden Thrombozyten vom Fluoreszenzmarker intensiver angefärbt und bilden eine separate Population mit höheren SFL-Signalen. Interferenzen sind im PLT-F Kanal somit sehr selten zu erwarten.

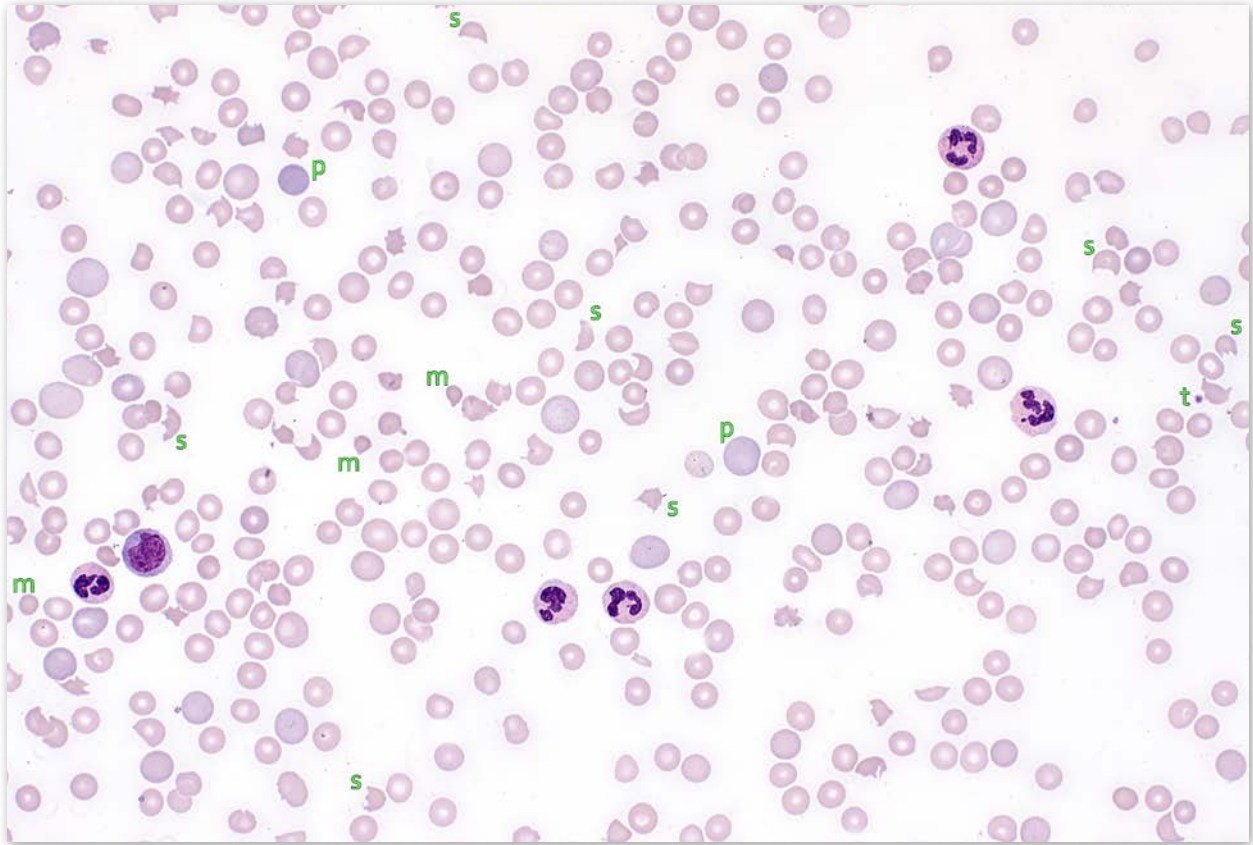


Abbildung 6: peripherer Blutausstrich

s: Fragmentozyten; p: polychromatische Erythrozyten; m: Mikrosphärozyten

In diesem Bildausschnitt des peripheren Blutausstrichs sind zahlreiche Fragmentozyten (s), vermehrt polychromatische Erythrozyten (p), einige Mikrosphärozyten (m) und deutlich verminderte Thrombozyten (t) zu erkennen. Jedoch können beim HUS ebenso Targetzellen, Tränentropfenzellen und Riesenthrombozyten zu finden sein, die in diesem Bildausschnitt nicht sichtbar sind. Beim HUS entstehen die Erythrozytenfragmente dadurch, dass die Erythrozyten vermehrt an den geschädigten Endothelzellen und am engen Maschenwerk aus Fibrin und Thrombozytenaggregaten haften und durch die Scherkräfte des fließenden Blutes von dort abgerissen werden. Viele Erythrozyten verlieren ihre runde Form (Schistozysten), einige können ihre Membran wieder schließen (Sphärozyten). Beim HUS sind überwiegend die Nieren-Kapillaren betroffen.

Bildquelle: Th. Binder

3. GRUNDERKRANKUNG

Mikroangiopathische hämolytische Anämie/thrombotische Mikroangiopathie

Die mikroangiopathische hämolytische Anämie (MAHA) ist eine Untergruppe der hämolytischen Anämien, die durch spezielle Faktoren in den Venolen und Arteriolen hervorgerufen werden. Bei Erkrankungen wie unter anderem dem hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS), der disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC), der thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP) oder auch einer malignen Hypertonie (Präeklampsie/HELLP) ist die Endothelschicht der kleinen Blutgefäße geschädigt, wodurch es zur Fibrin-anlagerung und Thrombozytenaggregation kommt. Bei der Passage durch diese geschädigten Gefäße werden die Erythrozyten zerrissen, sodass es zu einer Fragmentation der Erythrozyten und einer intravasalen Hämolyse kommt. Mikroskopisch imponieren diese beschädigten Erythrozyten als Schistozyten (Fragmentozyten). Ätiologisch führend sind:

- thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP),
- hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS),
- disseminierte intravasale Gerinnung (DIC),
- HELLP-Syndrom und Eklampsie sowie
- verschiedene andere, seltene Ursachen.

Allen diesen Erkrankungen liegt derselbe Pathomechanismus zugrunde, nämlich eine gesteigerte Aktivität des Gerinnungssystems mit Bildung von Netzen aus Fibrin und Thrombozyten-Aggregaten. In diesen Netzwerken und an den geschädigten Endothelzellen haften die Erythrozyten vermehrt und werden durch die Scherkräfte des fließenden Blutes zerrissen. Es entstehen Schistozyten und Sphärozyten.

Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)

Unter dem hämolytisch-urämisches Syndrom werden eine mikroangiopathische hämolytische Anämie und eine Thrombozytopenie und eine Niereninsuffizienz zusammengefasst. Bei Kindern und Jugendlichen ist das HUS die häufigste Ursache eines akuten Nierenversagens. Dabei überschneiden sich die Merkmale des HUS mehrfach mit den Merkmalen der thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP): Beide Erkrankungen gehen mit einer Multiorganstörung infolge der thrombotischen Mikroangiopathie sowie mit aktiver Hämolyse und Thrombozytopenie einher. Unterschiede zwischen TTP und HUS finden sich hauptsächlich im relativen Ausmaß des Nierenversagens. Die entsprechenden Zeichen und Symptome beim Erwachsenen werden in der Regel als TTP beschrieben und sind mit geringerer Wahrscheinlichkeit mit einem Nierenversagen verbunden. Als HUS wird die Erkrankung beim Kind beschrieben, wo sie für gewöhnlich mit Nierenversagen vergesellschaftet ist.

Bei Kindern geht dem HUS in der Regel eine Kolitis (Entzündung des Kolons) voraus, die durch Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* (STEC) hervorgerufen wird. Die Toxine binden an ein Glykolipid-Rezeptormolekül an der Oberfläche der Endothelzellen des Darms und der Nieren sowie gelegentlich auch weiterer Organe. Die vorherrschend anzutreffende Nierenschädigung kann durch die differentielle Expression des Rezeptors an den glomerulären Kapillaren im Vergleich zu anderen Endothelzellen erklärt werden. Die derart geschädigten Endothelzellen der glomerulären Kapillaren setzen vasoaktive und die Thrombozytenaggregation fördernde Substanzen frei. Die Endothelzellen schwellen an, und an den geschädigten Gefäßwänden lagert sich Fibrin an. Dieses Anschwellen der Endothelzellen und die Bildung von kleinen Blutgerinnseln (Mikrothromben) innerhalb der glomerulären Kapillaren führen zu einer lokalisierten intravasalen Koagulopathie. Die glomeruläre Filtrationsrate sinkt und es kommt zu einer Niereninsuffizienz. Die Erythrozyten werden bei der Passage durch die verengten glomerulären Kapillaren beschädigt und fragmentiert, was die charakteristische mikroangiopathische hämolytische Anämie hervorruft.

Die Thrombozytopenie wird auf eine Kombination aus Thrombozytenaggregation, dadurch gesteigertem Verbrauch und Sequestration in Leber und Milz zurückgeführt. Sobald die Thrombozyten die betroffenen glomerulären Kapillaren durchlaufen, werden sie aggregiert und dadurch verbraucht. Die verbleibenden Thrombozyten zirkulieren in degranulierter Form im Blut und zeigen eine eingeschränkte Aggregationsfähigkeit.



Die Leukozytenzahlen im Blut von Patienten mit HUS sind in der Regel erhöht. Es wird davon ausgegangen, dass die aktivierten Neutrophilen durch die Freisetzung von Elastase und die Produktion von freien Radikalen zu einer Schädigung der Endothelzellen führen. Ferner werden unter Umständen auch die Monozyten zur Freisetzung von Zytokinen angeregt, die ebenfalls die Endothelzellen schädigen.

Das durch eine Infektion mit enterohämorrhagischen Erregern bei Kindern hervorgerufene HUS mit typischem Verlauf und Diarrhö klingt in der Regel spontan ab und wird supportiv behandelt. Mehr als die Hälfte der Patienten benötigt eine Dialyse (Nierenersatzverfahren).

LITERATUR

Literatur zum Thema IPF finden Sie auf unserer Webseite im Bereich der Akademie:

<http://www.sysmex.de/akademie/wissenszentrum/haematologie/erweiterte-parameter.html>

LITERATUR ZU HUS UND TTP:

Medscape: Pediatric Hemolytic Uremic Syndrome. Robert S Gillespie, MD, MPH; Chief Editor: Craig B Langman, MD.

<http://emedicine.medscape.com/article/982025-overview>

Thrombocytopenia. In: Goldman L, Schafer AI, eds. *Cecil Medicine.* 24th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2011: chap. 175.

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) and hemolytic-uremic syndrome. *The Merck Manuals: The Merck Manual for Healthcare Professionals.*

<http://www.merck.com/mmpe/print/sec11/ch133/ch133g.html>

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