

Inhaltsverzeichnis

Allgemeine Aspekte zur Labordiagnostik bei Leukämien und Lymphomen	14
1.1. Materialgewinnung	14
1.1.1. Knochenmarkbiopsie und Aspiration	14
1.1.2. Entnahmorte	14
1.1.2.1. Knochenmarkbiopsie	15
1.1.2.2. Knochenmarkaspirate	15
1.2. Probenverteilung	16
1.3. Lymphknotenentnahme	16
1.4. Liquorpunktion	16
Zytomorphologische Diagnostik	20
2.1. Untersuchung des peripheren Blutes	20
2.2. Untersuchung von Knochenmarkaspiraten	21
2.2.1. Verarbeitung und Auswertung der KM-Aspirate	21
2.3. Klassifikation von Leukämien und MDS	24
2.4. Beurteilung des Remissionsstatus bei Leukämien und Lymphomen	27
Hämatologieautomaten	30
3.1. Einführung	30
3.2. Das kleine Blutbild	30
3.3. Einfluss- und Störgrößen des kleinen Blutbildes	32
3.4. Differentialblutbild	34
3.5. Bestimmung der Retikulozyten	35
Die beckenkammbioptische Diagnostik	38
4.1. Die Knochenmarkdiagnostik im historischen Kontext	38
4.2. Histotechnische Voraussetzungen	38
4.2.1. Kunststoffeinbettung von Beckenkammbiopsien	39
4.2.2. Paraffineinbettung von Beckenkammbiopsien	39
4.2.2.1. Prinzipielle Vorteile einer Paraffineinbettung	39
4.2.2.2. Typische Artefakte	39
4.2.2.3. Empfohlene Fixationen	41
4.2.2.4. Neutrale Chelatentkalkung	41
4.2.2.5. Paraffineinbettung, Färbungen	42
4.3. Algorithmus der beckenkammbioptischen Diagnostik	46
4.3.1. Implikationen der Dimension von Beckenkammbiopsien	46
4.3.2. Osteologische Befundkomponenten	47
4.3.3. Fettzellen und allgemeine Zelldichte des Knochenmarks	47
4.3.4. Retikulinfasern - Fibrose	48
4.3.5. Eisengehalt des Knochenmarks	48
4.3.6. Zytologische Analyse von Knochenmarkschnitten	51

4.4.	Histologie versus Zytologie	51
4.4.1.	Sampling error der Markaspiration bei fokaler Markfibrose.....	52
4.4.2.	Nachweis fragiler Zellen in der Beckenkammbiopsie.....	52
4.4.3.	Mark-Knochen- und Knochen-Mark-Wechselwirkungen	52
4.4.3.1.	Hyperkalzämiesyndrome	52
4.4.3.2.	Osteopetrosie.....	53
4.4.3.3.	Ostitis deformans Paget	53
4.4.4.	Nachweis von Tumormetastasen	54
4.4.5.	Histotopographie der neoplastischen Hämatopoese	55
4.5.	Lymphatische Strukturelemente und Lymphome im Knochenmark.....	56
4.5.1.	Nicht neoplastische lymphatische Zellen im Knochenmark	56
4.5.1.1.	Diffus verteilte Lymphozyten	56
4.5.1.2.	Perimetarterioläre Plasmazellen.....	57
4.5.1.3.	Marklymphknötchen	58
4.5.2.	Histotopographische Typologie der Lymphome im Knochenmark	65
4.5.2.1.	Intrasinusoidale Lymphome	66
4.5.2.2.	Perisinusoidale Lymphome	66
4.5.2.3.	Perimetarterioläre Lymphome	68
4.5.2.4.	Paratrabekuläre Lymphome	72
4.5.2.5.	Paratrabekuläre Lymphome mit osteoklastischer Reaktion.....	73
4.5.2.6.	Peritrabekuläre Lymphome	74
4.5.2.7.	Ungeordnet interstitielle Lymphome.....	75
4.5.2.8.	Ungeordnet tumorbildende Lymphome	76
4.5.3.	Diskordante Lymphome	78
4.5.4.	Kombinierte Lymphome – Composite lymphoma	78

5.	Immunphänotypisierung	88
5.1.	Einführung	88
5.2.	Methodik der Immunphänotypisierung mittels multiparametrischer Durchflusszytometrie (MFC).....	88
5.2.1.	Unterscheidung verschiedener Populationen anhand ihrer Streulichteigenschaft	88
5.2.2.	Einsatz fluoreszenzmarkierter monoklonaler Antikörper	89
5.2.3.	CD45-Gating	90
5.2.4.	Multiparametrische Durchflusszytometrie.....	90
5.2.5.	Probenaufarbeitung.....	91
5.2.6.	Verwendung unterschiedlicher Antikörperpanel	91
5.3.	Anwendung der Immunphänotypisierung in der Diagnostik	91
5.3.1.	Akute Leukämien.....	91
5.3.1.1.	Akute lymphatische Leukämie (ALL)	92
5.3.1.1.1.	Pro-B-ALL	93
5.3.1.1.2.	Common-ALL (c-ALL).....	93
5.3.1.1.3.	Prä-B-ALL	93
5.3.1.1.4.	Reife B-ALL.....	93
5.3.1.1.5.	Pro-T-ALL	93
5.3.1.1.6.	Prä-T-ALL	93
5.3.1.1.7.	Kortikale T-ALL	93
5.3.1.1.8.	Reife T-ALL	93
5.3.1.2.	Akute myeloische Leukämie (AML).....	93
5.3.1.3.	Akute Leukämie mit gemischem Phänotyp	94

5.3.2.	Myelodysplastische Syndrome (MDS)	95
5.3.3.	Chronische myeloische Leukämie (CML)	95
5.3.4.	Reife B-Zell-Neoplasien	95
5.3.4.1.	B-CLL und B-PLL	95
5.3.4.2.	Marginalzonenlymphom und verwandte B-Zell-Neoplasien	96
5.3.4.3.	Haarzellleukämie	97
5.3.4.4.	Plazmozytom	97
5.3.4.5.	Follikuläres Lymphom	97
5.3.4.6.	Mantelzellymphom	97
5.3.4.7.	Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom	97
5.3.4.8.	Burkitt-Lymphom	97
5.3.5.	T-Zell- und NK-Zell-Neoplasien	97
5.3.5.1.	T-Zell- und NK-Zell-large granular lymphocytic (LGL)-Leukämie	98
5.3.5.2.	Mycosis fungoides, Sezary-Syndrom	98
5.3.5.3.	T-Prolymphozytenleukämie (T-PLL)	98
5.3.6.	PNH	98
5.4.	Monitoring minimaler Resterkrankung (MRD)	98
5.4.1.	MRD bei ALL	99
5.4.2.	MRD bei AML	100
5.4.3.	MRD bei CLL	101
Zytogenetik und Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung		104
6.1.	Chromosomenanalyse	104
6.1.1.	Bedeutung der Chromosomenanalyse, Indikation	104
6.1.2.	Untersuchungsmaterial	104
6.1.3.	Konventionelle Chromosomenanalyse mittels Bänderungstechniken	104
6.2.	Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH)	104
6.2.1.	Interphase-FISH	105
6.2.2.	Metaphasen-FISH	106
6.2.2.1.	24 Farben-FISH	106
6.2.3.	Komparative genomische Hybridisierung (CGH)	106
6.3.	Nomenklatur	107
6.3.1.	Chromosomenanalyse	107
6.3.2.	Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung an Interphaserkernen	109
6.4.	Charakteristische zytogenetische Veränderungen bei der AML	110
6.4.1.	De novo-AML	110
6.4.2.	Sekundäre, therapieassoziierte AML	112
6.5.	Charakteristische zytogenetische Veränderungen bei der ALL	113
6.6.	Charakteristische zytogenetische Veränderungen bei der CML	114
6.6.1.	Primärdiagnostik	114
6.6.2.	Zytogenetische Befunde zur Therapiekontrolle	114
6.7.	Charakteristische zytogenetische Veränderungen bei der CLL	115
6.8.	Charakteristische zytogenetische Veränderungen bei NHL	116
Molekulargenetik		120
7.1.	Einleitung	120
7.2.	Molekulare Methoden in der Diagnostik von Leukämien und Lymphomen	120
7.2.1.	Southern Blot	120
7.2.2.	Polymerasekettenreaktion (PCR)	121
7.2.2.1.	Nested PCR	123
7.2.2.2.	Fragmentanalyse (Genescan)	123

7.2.2.3.	Chimärismusanalysen mittels Mikrosatelliten-Polymorphismen.....	124
7.2.2.4.	Real-Time-PCR	124
7.2.3.	Verfahren für Mutationsscreenings	126
7.2.4.	Sequenzanalyse nach SANGER.....	127
7.2.5.	Next Generation Sequencing	127
7.3.	Einsatz der molekularen Methoden bei Diagnose und im Krankheitsverlauf.....	129
7.3.1.	Molekulare Methoden bei Diagnose	129
7.3.2.	Remissionskontrollen mittels unterschiedlicher molekularer Techniken.....	129
7.3.3.	Probenmaterial	131
7.4.	Diagnostik der AML.....	132
7.4.1.	Nachweis von Fusionsgenen	132
7.4.2.	Molekulare Mutationen bei der akuten myeloischen Leukämie (AML).....	132
7.4.3.	Remissionskontrollen bei der AML.....	134
7.5.	Molekulare Diagnostik bei Myelodysplastischen Syndromen (MDS)	135
7.5.1.	Nachweis von Deletionen bei MDS	135
7.5.2.	Nachweis von Fusionsgenen bei MDS.....	135
7.5.3.	Molekulare Mutationen bei den MDS	136
7.5.4.	Verlaufsmarker beim MDS.....	136
7.6.	MDS/PN-Overlap-Erkrankungen und CMML	137
7.7.	Diagnostik der CML.....	137
7.7.1.	Verlaufskontrollen bei der CML	137
7.7.2.	Tyrosinkinaseinhibitor-Resistenzen bei der <i>BCR-ABL1</i> -positiven Leukämie.....	138
7.7.3.	Entstehung anderer Mutationen bei der Transformation in eine Blastenkrise.....	138
7.8.	Andere myeloproliferative Neoplasien	138
7.8.1.	Polycythaemia vera	139
7.8.2.	Essentielle Thrombozythämie	139
7.8.3.	Primäre Osteomyelofibrosen	139
7.9.	Lymphatische Leukämien und Lymphome	139
7.9.1.	Nachweis von Fusionsgenen bei der ALL.....	140
7.9.2.	Nachweis von Genmutationen bei der ALL.....	140
7.9.3.	Verlaufskontrollen bei der ALL.....	141
7.10.	Molekulargenetik bei Lymphomen	142
7.10.1.	Chronische lymphatische Leukämie (CLL).....	142
7.10.1.1.	Deletionen bei der CLL	142
7.10.1.2.	Gen rearrangements bei der CLL	142
7.10.1.3.	Molekulare Mutationen bei der CLL.....	142
7.10.1.4.	VH-Hypermutationen bei der CLL.....	142
7.10.2.	Mantelzellymphom (MCL)	143
7.10.3.	Follikuläres Lymphom (FL).....	143
7.10.4.	MALT-Lymphome	143
7.10.5.	Lymphoplasmozytisches Lymphom/Immunozytom (LPL)	143
7.10.6.	Andere Marginalzonen-B-Zell-Lymphome	144
7.10.7.	Haarzell-Leukämie	144
7.10.8.	Plasmozytom	144
7.10.9.	Burkitt-Lymphom	144
7.10.10.	Zusammenfassung für die Molekulargenetik bei Lymphomen	144

Genexpressionsanalysen **154**

8.1.	Microarrays.....	154
8.2.	Methodische Grundlagen.....	154
8.3.	Untersuchungsmaterial.....	155
8.4.	Präparation.....	155
8.5.	Signaldetektion und Datenerfassung.....	155
8.6.	Datenanalyse und Visualisierung.....	156
8.7.	Klassifikation	158
8.8.	Bisherige Studien.....	159
8.9.	Limitation	162
8.10.	Zusammenfassung	162
8.11.	Ausblick.....	162

Anhang **166****Index** **170**