



# LYMPHOZYTÖSE UND LYMPHOPENIE

## WERTIGKEIT DER LYMPHOZYTENTYPISIERUNG

### MITTELS DURCHFLUSSZYTOMETRIE

**Autor:** Univ. Prof. Dr. Winfried F. PICKL  
Medizinische Universität Wien  
Zentrum für Pathophysiologie, Infektiologie und Immunologie  
Institut für Immunologie  
Abteilung für Zelluläre Immunologie und Immunhämatologie  
[www.immunologie.meduniwien.ac.at](http://www.immunologie.meduniwien.ac.at)

**Lecture Board:**

Univ. Doz. Dr. Georg Endler; Univ. Prof. Dr. Susanne Spitzauer; Dr. Peter M. Winter  
Alle: Gruppenpraxis Labors.at, Wien

**Fortbildungsanbieter:**

Labors.at Fortbildungsakademie, Wien  
Obfrau: Univ. Prof. Dr. Susanne Spitzauer

Das Immunsystem eines Erwachsenen besteht aus insgesamt etwa einem Kilogramm Leukozyten (d. h.  $1 \times 10^{12}$  Zellen) (1). Einen bedeutenden Anteil stellen die Lymphozyten dar, welche arbeitsteilig sind und zum adaptiven Immunsystem zählen (2). Alle Leukozyten stammen von hämatopoetischen, pluripotenten Stammzellen im Knochenmark ab, welche unter dem Einfluss unterschiedlicher Stimuli verschiedene Zelllinien ausbilden.

Die Entwicklung und Reifung der antikörperproduzierenden B-Lymphozyten sowie der NK-Zellen erfolgt ausschließlich im Knochenmark. Vorläuferzellen der T-Lymphozyten wandern vom Knochenmark in die Thymusdrüse ein, machen hier die letzten Reifungsschritte durch und verlassen den Thymus als reife T-Lymphozyten in die Peripherie, wo sie den B-Lymphozyten bei der

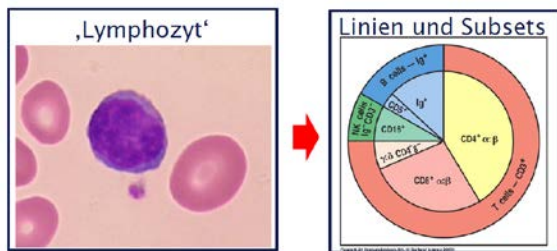
Antikörperbildung helfen können oder im Rahmen der zellulären Immunreaktion zytotoxisch wirken und z. B. Tumorzellen bekämpfen können. Daneben gibt es noch weitere Lymphozytenarten, wie z. B.  $\gamma\delta$ -T-Zellen oder natürliche Killer-T-Zellen.

#### 1. DURCHFLUSSZYTOMETRIE (FACS)

Morphologisch sind die einzelnen lymphozytären Linien nicht voneinander zu unterscheiden. Zur Erstellung eines erweiterten Differentialblutbildes sowie einer detaillierten Bestimmung der lymphozytären Linien und deren Subpopulationen (Subsets) wird die Durchflusszytometrie (Fluorescence-Activated Cell Sorting, FACS), basierend auf direkter Immunfluoreszenztechnologie, herangezogen (Abb. 1).

Abb. 1: Erstellung eines erweiterten Differentialblutbildes mittels Vielfarben-Durchflusszytometrie

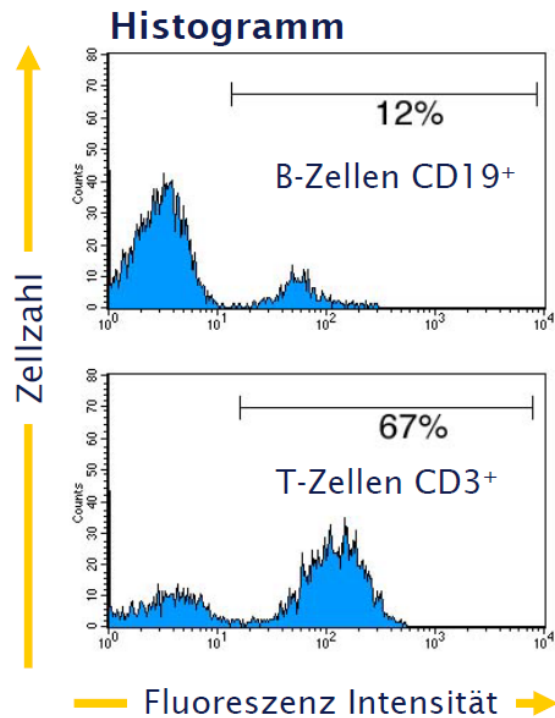
(Janeway C et al., Immunobiology, 6th Edition Garland Science 2005)



Zur Untersuchung können verschiedene Materialien wie peripheres Blut, Knochenmark, Pleurapunktat, Liquor aber auch Lymphknotenhomogenisate, etc. herangezogen werden. Die Leukozyten werden direkt mit Fluoreszenzmarkern markiert. Diese Antikörper sind spezifische Bindungsreagenzien für B- oder T-Zellen oder bestimmte Unterarten (3). Die Zellen werden an monochromatischen Laserlinien unterschiedlicher Farbspektren vorbeigeleitet und beginnen zu fluoreszieren, wenn ein entsprechender Marker vorhanden ist.

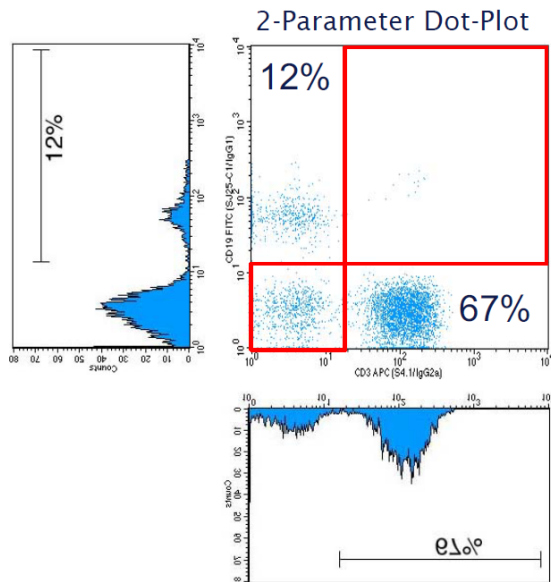
Mittels hochauflösender Durchflusszytometrie ist die Phänotypisierung tausender Zellen in der Sekunde möglich sowie die Zuordnung der so vermessenen Zellen zu bestimmten Lymphozytenpopulation. Das Analyseergebnis kann als eindimensionales Histogramm der entsprechenden Zellpopulation dargestellt werden. Dabei wird der Fokus auf einen Parameter gelegt, z. B. den Prozentsatz positiver Zellen oder aber auch die Fluoreszenz-Intensität der entsprechenden Zellpopulation (Abb. 2).

Abb. 2: Eindimensionale Darstellung der Zellpopulation im Histogramm-Format zur Bestimmung des Phänotyps einer bestimmten Lymphozytenpopulation



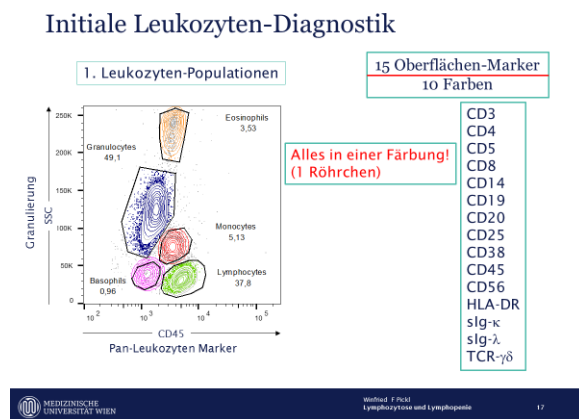
Durch die Kombination von zwei oder mehreren Parametern (Histogramm und Gating) zu einem zwei- oder mehrfach-Parameter Dot-Plot kann der Informationsgehalt weiter gesteigert werden (Abb. 3).

Abb. 3: Steigerung des Informationsgehaltes durch Kombination von zwei Parametern zu einem 2-Parameter Dot-Plot



Die unterschiedlichen Leukozytenpopulationen im peripheren Blut lassen sich bereits an Hand ihres Granulierungsgrades unterscheiden. Durch den Einsatz des Pan-Leukozyten-Markers CD45 können diese Populationen (Lymphozyten, basophile Granulozyten, Monozyten, neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten) in Relativmengen aufgeschlüsselt werden. Derzeit können gleichzeitig bereits 15 Oberflächenmarker in zehn verschiedenen Farben dargestellt und damit sehr differenzierte Analysen durchgeführt werden (Abb. 4).

Abb. 4: Initiale Leukozyten-Diagnostik



In der Klinik ist eine derart detaillierte Analyse nur selten erforderlich. In den meisten Fällen gilt es vielmehr, Erkrankungen des lymphatischen Systems, die sich als Lymphozytosen oder Lymphopenien manifestieren, zu diagnostizieren und ihren Formen und Ursachen auf den Grund zu gehen.

### Lymphozyten-Referenzwerte: altersabhängig und individuell

Die Lymphozyten-Referenzwerte sind stark altersabhängig, Kinder und Kleinkinder haben wesentlich höhere Werte (Tabelle 1).

Tabelle 1: Referenzwerte für Lymphozyten

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Normbereich: 1.500 - 4.000/<math>\mu\text{L}</math> bzw. <math>1,5 - 4,0 \times 10^9/\text{L}</math></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphopenie</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>– ab 12 Jahre: &lt; 1.000 bzw. 1.500/<math>\mu\text{L}</math></li> <li>– bis 12 Jahre: &lt; 2.500/<math>\mu\text{L}^*</math></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphozytose</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>– ab 12 Jahre: &gt; 4.000/<math>\mu\text{L}</math></li> <li>– bis 12 Jahre: &lt; 6.000 - 8.000/<math>\mu\text{L}^*</math></li> </ul>

\*) Kinder haben generell höhere Lymphozytenwerte, bitte entsprechende Tabellen konsultieren.

Wichtig ist es, immer die Absolutzellzahlen zu bewerten, da Relativzahlen nur beschränkt aussagekräftig sind. Wie für viele Laborparameter gilt, dass diese Referenzwerte für 95 Prozent der gesunden Individuen in der Bevölkerung zutreffen. Je 2,5 Prozent haben höhere oder tiefere Werte, ohne krank zu sein. Bei moderaten Abweichungen, sollte die Untersuchung nach ein bis zwei Monaten wiederholt werden. Sind weder klinische Symptome noch eine Dynamik vorhanden, sind keine weiteren Untersuchungen nötig.

Für eine valide Interpretation der Analyseergebnisse ist es daher in jedem Fall von zentraler Bedeutung, dass der zuweisende Arzt dem Labor wesentliche Informationen über den Patienten (Alter, Krankengeschichte, Vorbefunde und zurückliegende oder laufende Therapien etc.) zur Verfügung stellt.

## 2. LYMPHOZYTÖSEN

Im Vordergrund steht die Unterscheidung zwischen reaktiven und klonalen Lymphozytosen. Dazu sind verschiedene Diagnoseschritte erforderlich. In der Anamnese ist die Symptomatik zu erheben, insbesondere Aspekte wie B-Symptomatik (Nachtschweiß, Fieber, Gewichtsverlust), Knochenschmerzen, sowie bei Verdacht auf Reaktivität rezente Infektionserkrankungen. Im Rahmen einer physikalischen Untersuchung ist festzustellen, ob Lymphknoten, Milz oder Leber vergrößert sind. Des Weiteren werden ein großes Blutbild (Erythrozyten, Thrombozyten, neutrophile Granulozyten) sowie ein Differentialblutbild (Morphologie der Lymphozyten) angefertigt.

### Typische Konstellationen

#### Reaktive Lymphozytosen (Tabelle 2):

Tabelle 2: **Typische Konstellation bei reaktiven Lymphozytosen**

• Polyklonale Lymphozytose
• Entsprechende Grunderkrankung (meist Infekt)
• Kein Verdacht auf hämatologische Grunderkrankung
• Meist nach 1 bis 2 Monaten wieder normalisiert

Die vermehrten Lymphozyten sind polyklonal, d. h. es sind verschiedene Zelltypen mit unterschiedlichen Spezifitäten vorhanden. Es liegt eine entsprechende Grunderkrankung vor (meist ein Infekt). Es besteht kein Verdacht auf eine hämatologische Grunderkrankung und keine B-Symptomatik bzw. sonstige Blutbildveränderungen. Im Rahmen einer Wiederholungsuntersuchung kann überprüft werden, ob eine Dynamik vorliegt, d. h. ob sich der initial pathologische Befund weiter verstärkt hat. In den meisten Fällen normalisieren sich die Lymphozytenzahlen innerhalb von ein bis zwei Monaten.

#### Klonale Lymphozytosen (Tabelle 3):

Tabelle 3: **Typische Konstellation bei klonalen Lymphozytosen**

• Akutes oder chronisches lymphoproliferatives Geschehen
• Klonalität (Karyotyp, klonales Immunglobulin- od. T Zell Rezeptor Rearrangement, Leichtkettenrestriktion Kappa oder Lambda)
• Dynamik mit ansteigenden Lymphozytenzahlen (Verdopplungszeiten)
• Oft assoziiert mit Zytopenien (Anämie, Neutro-, Thrombopenie)
• B-Symptomatik (Nachtschweiß, Fieber, Gewichtsverlust)

Charakteristisch ist das Vorliegen eines akuten oder chronischen lymphoproliferativen Geschehens, typischerweise mit Klonalitätszeichen. Feststellbar ist dies über den Karyotyp, durch den Nachweis von klonalem Immunglobulin oder molekularbiologisch über das T-Zell-Rezeptor-Rearrangement (d. h. Verteilungsmuster von T-Zellrezeptoren). B-Lymphozyten liegen als antikörperproduzierende Zellen vor, die entweder Kappa- oder Lambda-Leichtketten produzieren. Das Vorliegen lediglich einer Form ist ein Hinweis auf Klonalität (Leichtkettenrestriktion). Typisch ist auch eine Dynamik mit ansteigenden Lymphozytenzahlen (Bestimmung der Verdopplungszeiten). Klonale Lymphozytosen können mit Zytopenien (Anämie, Neutro-, Thrombopenie) und B-Symptomatik assoziiert sein.

### REAKTIVE LYMPHOZYTÖSEN

Reaktive Lymphozytosen können durch eine Vielzahl von Auslösern verursacht werden, wobei Infekte unterschiedlicher Genese im Vordergrund stehen. Hier ein Überblick über relevante infektiöse und nichtinfektiöse Ursachen.

#### Virale Infekte

Reaktive Lymphozytosen können durch eine Vielzahl viraler Infekte verursacht werden (Tabelle 4).

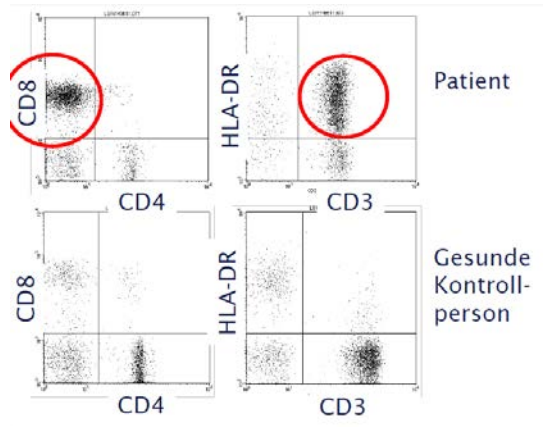
Tabelle 4: Virale Infekte als Ursache reaktiver Lymphozytosen

• Adenoviren
• Coxsackie Viren
• Cytomegalie Virus
• Enteroviren
• Epstein Barr Virus
• Hepatitis
• Herpes Viren
• HTLV-1
• HIV
• Influenza
• Masern
• Mumps
• Poliovirus
• Röteln
• Varizellen

Eine besonders typische Form entsteht durch das Epstein Barr Virus. Im Blutausstrich zeigt sich eine infektiöse Mononukleose (Pfeiffersches Drüsenfieber, Monozytenangina, kissing disease). Die Zellen sehen morphologisch wie Monozyten aus, haben einen bohnenförmigen Kern und taubenblaues Zytoplasma. Es handelt sich allerdings um reaktive T-Lymphozyten, welche die EBV-Infektion der B-Lymphozyten bekämpfen. Diese zu reaktiven T-Zell-Blasten transformierten Lymphozyten müssen zuerst aktiviert werden und beginnen sich dann zu vermehren. Sie treten daher nicht am Beginn der Erkrankung auf, ihr Spiegel erhöht sich erst allmählich, mit einem Gipfel zwei bis drei Wochen nach Krankheitsbeginn.

Typischerweise finden sich die CD8+ T-Lymphozyten erhöht und es kommt dadurch zu einer verschobenen (inversen) CD4/CD8-Ratio. Die CD8+ T-Zellen sind nicht nur vermehrt vorhanden sie sind auch aktiviert, d. h. HLA-DR-positiv, wie mittels Durchflusszytometrie zu sehen ist (Abb. 5).

Abb. 5: Typisches FACS-Histogramm bei EBV-Infektion



Daraus lässt sich erkennen, dass ein reaktiver Phänotyp vorliegt. Höchstwahrscheinlich handelt es sich dabei um einen jungen Patienten von etwa 20 Jahren, der seit Wochen „dahinkrankelt“ und eine schwere Angina mit Lymphknotenschwellung hat. Zur Absicherung der Diagnose dient ein Antikörpernachweis (IgM gegen EBV).

Mononukleoseartige Syndrome können – typischerweise v. a. bei älteren Personengruppen – durch die folgenden weiteren viralen Infekte verursacht werden:

- CMV-Infektionen bei Immunsuppression (4.000 – 5.000 CD8+ Lymphozyten/ $\mu$ l, Normwert: 500 – 600/ $\mu$ l),
- HIV-1-Primärinfektion (oft mit CMV gepaart),
- selten auch HHV-6 oder Adenovirus Typ 12 Infektionen.

Reaktive Lymphozytosen treten auch bei sogenannten Kinderkrankheiten auf, beispielsweise bei Infektionen mit Mumps, Varizellen, Influenza, Hepatitis, Röteln, Masern, Coxsackie Virus B, Poliovirus und Enteroviren (4).

### Bakterielle Infekte

Reaktive Lymphozytosen können auch durch eine Reihe von bakteriellen Infekten ausgelöst werden (Tabelle 5).



Tabelle 5: Bakterielle Infekte als Ursache reaktiver Lymphozytosen

• Bartonella
• Brucellose
• Pertussis
• Paratyphus
• Typhus
• Syphilis
• Tuberkulose

Insbesondere in den letzten Jahren ist ein deutliches Ansteigen von Pertussis-Infektionen zu beobachten. Laut Statistik Austria wurden 2015 bereits 579 Fälle gemeldet. Diese durch *Bordetella pertussis* hervorgerufene Erkrankung verursacht ein sehr typisches morphologisches Bild: Die Lymphozyten besitzen deformierte Kerne (gespalten bzw. gefurcht) (5). Innerhalb der ersten zwei bis drei Wochen können die absoluten Lymphozytenzahlen (ALC) massiv ansteigen, insbesondere bei älteren Kindern (6).

Dabei kommt es weniger zu einer Zunahme der Lymphozyten, sondern vielmehr zu einer Verteilungsstörung. Normalerweise befinden sich nur etwa zwei Prozent der Lymphozyten im Blut, der überwiegende Großteil jedoch in unterschiedlichen Organen wie Lymphknoten, Milz und Darm. Zwischen diesen Bereichen zirkulieren die Lymphozyten (7). *Bordetella pertussis* produziert jedoch ein Toxin, das die Chemokin-Rezeptor-Signalübertragung blockiert. Dadurch finden Lymphozyten aus dem Blut nicht mehr in die sekundären Lymphorgane zurück und verbleiben in der Zirkulation (8), was die Lymphozytose erklärt.

### Einzellige Parasiten

Reaktive Lymphozytosen werden auch durch Toxoplasmose und Babesiose (Rindermalaria) verursacht. Insbesondere bei letzterer kommt es zu einem eher moderaten Lymphozytenanstieg, aber auch zu Lymphopenien (9). Die Erkrankung ist insofern sehr relevant, als 51 Prozent aller Zecken in Österreich mit *Babesia spp.* infiziert sind (10) – weniger stark in Wien, vor allem aber in den Bundesländern mit 30 bis zu 100 Prozent.

### Stress-induzierte Lymphozytose

Vorwiegend im Krankenhaussetting kann man auch die Stress-induzierte Lymphozytose (Lymphozytenzellzahlen: 4.000 - 13.000/ $\mu$ l) beobachten (11). Mögliche Ursachen sind insbesondere kardiale Notfälle, schwere Traumata und *Status epilepticus*. Es handelt sich wahrscheinlich um ein durch Katecholaminwirkung (Cortisol, Epinephrin, Adrenalin) verursachtes Umverteilungsphänomen in die Zirkulation (12).

Hospitalisierte Patienten (auch ohne Trauma) mit Lymphozytose haben ein dreifach höheres Mortalitätsrisiko als Patienten mit Normozytose. Daher gilt eine manifeste Lymphozytose bei hospitalisierten Patienten als guter Vorhersageparameter für Mortalität innerhalb der nächsten 30 Tage (11).

### Post-Splenektomie-Lymphozytose (13)

Lymphozytosen (4.000 - 8.700/ $\mu$ l) treten bei splenektomierten Patienten auch noch lange nach Milzentfernung auf (> 50 Monate). Es handelt sich dabei vorwiegend um Personen mit Autoimmunerkrankungen oder Erythrozytenfehlbildungen und Problemen im Hämoglobinstoffwechsel. Diese Lymphozytosen betreffen v. a. NK-Zellen.

### Persistente polyklonale B-Zell-Lymphozytose (PPBL) (14)

Die PPBL betrifft vorwiegend Frauen, die rauchen. Die Zellzahlen sind deutlich erhöht, es ist zunächst einem Zustandsbild wie bei chronischer lymphatischer B-Zell-Leukämie sehr ähnlich. Allerdings sehen die vermehrt vorhandenen B-Lymphozyten anders aus: Sie haben zweigeklappte Kerne, sind CD5 und CD23 negativ sowie polyklonal, d. h. etwa die Hälfte von ihnen exprimiert Kappa Leichtketten, die andere Hälfte Lambda Leichtketten. Häufig tritt auch ein Hyper-IgM-Syndrom auf, außerdem sind unterschiedliche genetische Assoziationen häufig. Die Veränderungen haben keinen Krankheitswert und verschwinden nur sehr langsam, wenn die Betroffenen zu rauchen aufhören. Prinzipiell sollten die Patienten einmal jährlich untersucht werden, um sicherzustellen, dass keine klonalen Prozesse dahinterstecken.

## KLONALE LYMPHOZYTÖSEN

Im Zusammenhang mit klonalen Lymphozyten sind einige sehr interessante Befund-Konstellationen zu erwähnen, die hier kurz dargestellt werden sollen.

### Lymphozytose beim älteren Patienten – klonal?

Bei Verdacht auf Vorliegen einer klonalen, malignen Lymphozytose sind Lebensalter und Lymphozytenzellzahl die besten Prädiktoren (15):

- Lebensalter                    50 - 67 Jahre  
  Lymphozyten                 > 6.700/ $\mu$ l  
  bzw.
- Lebensalter                    > 67 Jahre  
  Lymphozyten                 > 4.000/ $\mu$ l

sind mit hoher Wahrscheinlichkeit mit einem abnormalen lymphozytären Immunphänotyp assoziiert. Von 5.500 untersuchten Patienten welche älter als 50 Jahre waren hatten 1,3 Prozent Lymphozytenzellzahlen über 4.000/ $\mu$ l, 59 Prozent davon wiesen einen abnormalen Immunphänotyp auf (B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom-Leukämie (B-NHL), etc.). Noch ältere Patienten haben bereits bei niedrigeren Lymphozytenwerten ein erhöhtes Risiko für einen abnormen Lymphozyten-Phänotyp. In vielen Fällen wird letztendlich eine chronisch-lymphatische Leukämie (CLL) diagnostiziert. Die typische Befundkonstellation ist in Tabelle 6 zusammengefasst.

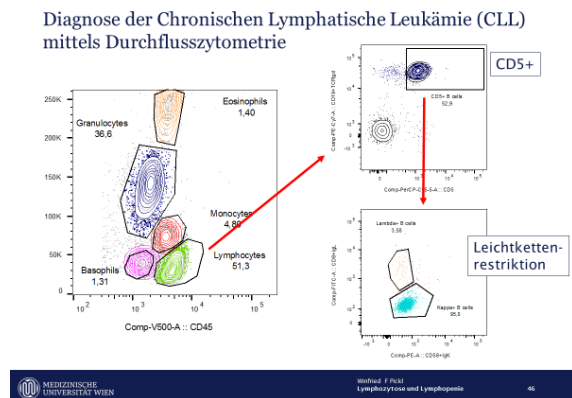
Tabelle 6: Typische Klinik bei Chronisch Lymphatischer Leukämie (CLL)

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphozytose: &gt; 5.000 B-Zellen/<math>\mu</math>l (Werte von 200.000/<math>\mu</math>l nicht unüblich)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Progressive Akkumulation funktionell inkompetenter Lymphozyten</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phänotyp: CD19<sup>+</sup>, CD5<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, und Leichtkettenrestriktion</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hypogammaglobulinämie: 8 % bei Erstdiagnose und in 66 % der Fälle während des weiteren Verlaufes der Erkrankung (d. h. zu wenig Antikörper und erhöhte Infektanfälligkeit)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chronisch lymphoproliferative Erkrankung ist häufigste Leukämie</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inzidenz: 5/100.000 (d. h. 400 neue Fälle pro Jahr in Österreich)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mittleres Alter bei Diagnose: 70 Jahre</li> </ul>

Die Patienten haben eine hohe Lebenserwartung und häufig eine geringe Morbidität. Mittlerweile werden potenzielle Vorstufen der Erkrankung, welche noch geringe, monoklonale Zell-Populationen aufweisen, bereits früh mittels Durchflusszytometrie erkannt.

Die Diagnose der CLL mittels Durchflusszytometrie ergibt sich aus einer typischen Konstellation von Lymphozytose, Erhöhung der CD5+ CD23+ B-Zellen mit deutlicher Leichtkettenrestriktion (d. h. Expression von entweder Kappa+ oder aber Lambda+ Leichtketten) (Abb. 6).

Abb. 6: Diagnose der Chronischen Lymphatischen Leukämie (CLL) mittels Durchflusszytometrie



## T Zell large granular lymphocytic (LGL) Leukämie

Dieses früher auch unter anderen Bezeichnungen (T-gamma Lymphozytose Syndrom, T Zell Lymphozytose mit Neutropenie, Granulierte T Zell Lymphozytose mit Neutropenie) geführte Phänomen ist eine klonale, langsam fortschreitende Vermehrung der T-Lymphozyten (killerartige LGL > 2.000/ $\mu$ l) mit häufig morphologisch interessantem Phänotyp. Sie sind aktiviert und besitzen Granula (16,17). Zwei unterschiedliche Phänotypen sind möglich (beide CD95/CD95L (CD178) stark positiv):

- CD3<sup>+</sup>, TCR $\alpha\beta$ <sup>+</sup>, CD5<sup>schwach</sup>, CD8<sup>+</sup>(CD4<sup>+</sup> selten), CD16<sup>+</sup>, CD27<sup>-</sup>, CD28<sup>-</sup>, CD45RO<sup>-</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD57<sup>+</sup>; (Phänotypen mit CD56<sup>+</sup> Expression sind aggressiver).
- CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup>, TCR $\alpha\beta$ <sup>-</sup>, CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>.

Die Erkrankung ist häufig mit Neutropenie und Autoimmunerkrankungen wie Rheumatoide Arthri-



tis, Felty Syndrom, Hashimoto, autoimmunem polyglandulärem Syndrom und systemischem Lupus erythematodes (SLE) assoziiert. Typische Laborbefunde: ANA, RF, Hyper- oder Hypogammaglobulinämie, Anti-Thrombo Ak, ANCA, MGUS, zirkulierende Immunkomplexe. Eine benigne LGL-Vermehrung kann auch bei HIV, Splenektomie, aHST sowie Organtransplantation vorkommen.

In der Durchflusszytometrie zeigt sich typischerweise die Vermehrung von CD8+ Lymphozyten, welche verminderte CD5-Expression aufweisen. Die Zunahme der CD8+ Zellzahlen bedingt eine inverse (verschobene) CD4/CD8-Ratio.

### 3. LYMPHOPENIEN

Unterschieden werden primäre (angeborene) und – deutlich häufiger vorkommende – sekundäre (erworbene) Lymphopenie-Formen.

#### Primäre Lymphopenien

Primäre Lymphopenien sind ein Spezialgebiet der Kinderheilkunde und werden meist durch vererbte, schwere Immundefekte verursacht. Dabei handelt es sich um sehr seltene Erkrankungen mit einer Prävalenz < 1 : 50.000 und einem oft dramatischen Verlauf, weil z. B. das gesamte lymphozytäre System oder aber die Antikörper komplett fehlen können. Dabei kommt es zu schweren, rekurrenten Infektionen und Gedeihstörungen. Betroffen sind kleine Kinder, die schwer krank sind, weil ihnen die zelluläre und/oder humorale Immunität fehlt. Häufig (in 25 % der Fälle) liegt eine positive Familienanamnese vor.

Der häufigste autosomal-dominant vererbte schwere Immundefekt (SCID) ist die Adenosin-Deaminase (ADA)-Defizienz, der häufigste X-chromosomal vererbte SCID wird durch Mutationen in der gemeinsamen gamma Kette (common  $\gamma$ -chain deficiency) hervorgerufen.

Andere Defekte können z. B. die Expression der HLA-Klasse II-Moleküle auf Antigen-präsentierenden Zellen, wie z. B. B-Zellen und Monozyten betreffen (Schmetterer KG et al., Int Arch Allergy Immunol 2010; 152:390). Deshalb können keine Helferzellen selektioniert werden (Bar Lymphocyte Syndrome, BLS). CD4+-Zellen sind stark vermindert, die CD4+/CD8+-Ratio ver-

schohen, die Lymphozytenfunktion stark eingeschränkt. Die Patienten sind transplantationspflichtig.

Der Morbus Bruton (X-linked agammaglobulinemia) wird durch eine Mutation in der Phosphokinase BTK (B Zell Tyrosinkinase) verursacht und ist durch ein z. T. komplettes Fehlen von B-Zellen und Immunglobulinen charakterisiert. Die Betroffenen sind stark betreuungspflichtig und müssen einmal monatlich Antikörper-Infusionen erhalten. Ein ähnliches Bild wie beim M. Bruton, d. h. eine komplette B Zell Defizienz, welche in der Durchflusszytometrie sehr auffällig ist, kann auch durch eine Anti-CD20-Therapie hervorgerufen werden, wie sie heutzutage im Rahmen der Behandlung von Autoimmunerkrankungen (Rheuma) oder B-NHL zum Einsatz kommt. Damit wird eine – gewollte – Eliminierung von B-Lymphozyten verursacht. Daher ist es wichtig, dass zuweisende Ärzte klar und deutlich auf die Therapien eingehen, die sie ihren Patienten angedeihen lassen.

#### Sekundäre Lymphopenien

Mögliche Entstehungsursachen sind entweder Störungen der Lymphozytenproduktion oder -verteilung oder eine vermehrte Lymphozytenzerstörung. Als Hauptauslöser gelten rezente Infektionen. Typischerweise tritt die Lymphopenie akut mit Einsetzen der Infektion auf.

Die häufigsten Ursachen für sekundäre Lymphopenien sind in Tabelle 7 aufgelistet (18).

Tabelle 7: Häufige Ursachen für sekundäre Lymphopenien

(Brass D et al., Brit Med J 2014;348:g1721)

• Rezente virale, bakterielle oder andere Infekte
• Pneumozystis, multiple Warzen, schwere rezente Infekte
• Medikamente
• Systemische Erkrankung (Autoimmunerkrankungen, Lymphom, Sarkoidose, Nieren- Herzinsuffizienz)
• B-Symptomatik, welche ein Lymphom vermuten ließe
• Fehlernährung





- |  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alkoholabusus</li> </ul>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Andere abnormale Zeichen bei physikalischer Untersuchung (Lymphadenopathie, Splenomegalie, Gelenksbeschwerden, Hautausschläge)</li> </ul> |

Eine wichtige infektiöse Ursache ist HIV, das typischerweise zu einer Infektion der CD4+-T-Lymphozyten führt und diese – unbehandelt – allmählich zerstört. Daraus resultiert ein Mangel an CD4-Lymphozyten, eine relative CD8-Lymphozytose und eine CD4/CD8/Ratio < 1.

Bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen aus dem Formenkreis des Systemischen Lupus erythematodes (SLE) korreliert die Höhe der Autoantikörper-Titer mit dem Ausmaß der Lymphopenie (19). Je mehr Antikörper vorhanden sind, desto weniger Lymphozyten sind nachzuweisen. Im Rahmen des SLE stellt die Lymphopenie den besten unabhängigen Risikofaktor für schwere Infekte dar (20).

Insbesondere im Krankenhaus werden sekundäre Lymphopenien häufig beobachtet, wie eine Untersuchung bei mehr als 1.000 hospitalisierten Patienten zeigte (Tabelle 8) (21).

**Tabelle 8: Ursachen für sekundäre Lymphopenien bei hospitalisierten Patienten**

(Castelino et al., Aust NZ J Med 1997;27-170)

Diagnose Frequenz
Bakterielle/Pilz-Sepsis 24 %
Post-Operativ 22 %
Malignome 17 %
Kortikosteroide 15 %

Dafür können unterschiedliche Medikamente verantwortlich sein. Beispielsweise kann die Verabreichung von Glukokortikoiden (Tabelle 9) innerhalb weniger Stunden zu einer massiven Umverteilung von T-Lymphozyten führen – etwa die Hälfte der T-Lymphozyten wandert innerhalb weniger Stunden von der Zirkulation ins Knochenmark ab (22-24).

**Tabelle 9: Einfluss von Glukokortikoiden auf Lymphozyten:**

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• induzieren T-Zell-Tod (nur Hochdosistherapie)</li> </ul>     |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• hemmen pro-inflammatorische Wachstumsfaktoren</li> </ul>     |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• beeinflussen die T-Zellmorphologie und -wanderung</li> </ul> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• verändern die Umverteilung von T-Zellen (homing)</li> </ul>  |

Nur bei sehr hohen Glukokortikoiddosen werden die Lymphozyten auch tatsächlich abgetötet.

Ein hochpotentes Medikament zur Behandlung von schwerer Multipler Sklerose ist Alemtuzumab. Der humanisierte, monoklonale anti-CD52-Antikörper bindet gezielt an Lymphozyten und Monozyten und entfernt dieselben in großem Umfang. Die Normalwerte für CD4+ CD8+ T-Zellen und B-Lymphozyten bleiben mehr als ein Jahr nach anti-CD52 Verabreichung noch immer deutlich reduziert (25). Dies unterstreicht einmal mehr die Wichtigkeit, auf der Zuweisung Diagnosen bzw. Therapien aufzulisten.

## FAZIT

Morphologisch sind lymphozytäre Linien nicht voneinander zu unterscheiden. Zur Erstellung eines erweiterten Differentialblutbildes sowie einer detaillierten Bestimmung der lymphozytären Linien und deren Subpopulationen (Subsets) wird die Durchflusszytometrie (Fluorescence-Activated Cell Sorting, FACS), basierend auf direkter Immunfluoreszenztechnologie, herangezogen. Damit ist eine exaktere Beurteilung von Lymphozytosen und Lymphopenien und die Unterscheidung ihrer verschiedenen Spielarten möglich. Wichtig für die Diagnose ist in jedem Fall eine genaue Anamnese und eine entsprechende Klinik. Bei der Zuweisung ins Labor sind genaue Informationen über Krankengeschichte, Medikation sowie Verdachtsdiagnose hilfreich, um Fehlinterpretationen zu vermeiden.

Grundsätzlich empfiehlt es sich, alle unklaren Lymphozytosen, die über mehr als drei Monate bestehen, mittels durchflusszytometrischer Untersuchungen abzuklären, um klonale Lymphozytosen auszuschließen.



## LITERATUR

- (1) Litman GW et al., Nature 2009;459:784.
- (2) Dranoff G. Nat Rev Canc 2004;4:11-22.
- (3) Janeway C et al., Immunobiology 6th Edition, Garland Science 2005.
- (4) Garcia R, N Engl J Med 1964;271:251-252.
- (5) Funaki T et al., Lancet Infect Dis 2015;15:130.
- (6) Becker Th et al., Klin Päd 1981;193:80-87.
- (7) Westermann et al., Clin Invest 1992;70:539.
- (8) Sodhi A et al., Nat Rev Cell Biol 2004;5:998-1012.
- (9) Aspöck H et al., 2010;30:717-731.
- (10) Blaschitz M et al., Appl Env Microbial 2008;74:4841.
- (11) Khoet AN et al., J Hosp Med 2007;2:5.
- (12) Dimitrov S et al., Blood 2009;113:5134.
- (13) Garcia-Suarez J et al., Br J Hematol 1995;89:653.
- (14) Cornet E et al., BMC Res Notes 2016;9:138.
- (15) Andrews JM et al., Leuk Lymphoma 2008;49(9):1731-1737.
- (16) Rose MG et al., Oncologist 2004;9:247-258.
- (17) Lamy T et al., Blood 2017;129:1082-1094.
- (18) Brass D et al., Brit Med J 2014;348:g1721.
- (19) Noguchi M et al., Ann Rehum Dis 1992;51:713-716.
- (20) Merayo-Chalico J et al., Q J Med 2013;106:451-457.
- (21) Castelino et al., Aust NZ J Med 1997;27-170.
- (22) Bloemena E et al., Clin Exp Immunol 1990;80:460-466.
- (23) Fauci AS, Immunology, 1975, 28:669-680.
- (24) Besedovsky L et al., Am J Physiol Endocrinol Metab, 2014, 306:E1322-E1229.
- (25) Lundin J et al., Leukemia 2004;18:484).



### DFP Literaturstudium:

Nach der Lektüre des DFP Artikels beantworten Sie bitte die unten stehenden Multiple Choice Fragen. Eine Frage gilt dann als korrekt beantwortet, wenn alle möglichen richtigen Antworten markiert sind. Insgesamt müssen vier von sechs Fragen richtig beantwortet sein, damit zwei DFP-Fachpunkte im Rahmen des Literaturstudiums anerkannt werden.

Bitte senden Sie diese Seiten per Fax oder Email an die Labors.at Fortbildungsakademie  
Kürschnergasse 6B, 1210 Wien; Email: [DFP@labors.at](mailto:DFP@labors.at); Fax: 01/26053 5606

### DFP-FRAGEN

**Frage 1: Folgende Aussagen zu Lymphozyten treffen zu (3 richtig):**

- a) Lymphozyten gehören zum adaptiven Immunsystem.
- b) Alle Lymphozyten stammen von pluripotenten Stammzellen ab.
- c) Die Entwicklung und Reifung aller Lymphozyten erfolgt im Knochenmark.
- d) Die Reifung von T-Lymphozyten erfolgt im Thymus.
- e) Die einzelnen lymphozytären Linien lassen sich morphologisch unterscheiden.

**Frage 2: Folgende Aussagen zu Lymphozyten-Referenzwerten treffen zu (2 richtig):**

- a) Die Referenzwerte sind für alle Altersgruppen gleich.
- b) Kinder und Kleinkinder haben wesentlich niedrigere Werte.
- c) Die Referenzwerte gelten für 95 Prozent der gesunden Individuen in der Bevölkerung.
- d) Relativzellzahlen sind nur beschränkt aussagekräftig.
- e) Klinik und Dynamik haben keinen hohen Stellenwert für die Diagnose.

**Frage 3: Für die Unterscheidung zwischen reaktiven und klonalen Lymphozytosen sind u. a. folgende Aspekte relevant (4 richtig):**

- a) Anamnese
- b) Verdacht auf rezente Infektionskrankheiten
- c) Vergrößerung von Lymphknoten, Milz oder Leber
- d) Vitalparameter
- e) Differentialblutbild

**Frage 4: Welche Aussagen zu den Ursachen reaktiver Lymphozytosen treffen zu (2 richtig):**

- a) Reaktive Lymphozytosen sind häufig erblich bedingt.
- b) Infekte spielen als Ursachen eine untergeordnete Rolle.

- c) Virale Infekte sind eine der Hauptursachen für reaktive Lymphozytosen.
- d) Virale Kinderkrankheiten verursachen keine reaktiven Lymphozytosen.
- e) Infektion mit Bordetella pertussis führt weniger zu einer Zunahme, sondern mehr zu einer Umverteilung der Lymphozyten.

**Frage 5: Welche Aussagen zu Lymphozytosen bei älteren Patienten sind zutreffend (3 richtig):**

- a) Das Lebensalter spielt keine Rolle.
- b) Bei Verdacht auf Vorliegen einer klonalen, malignen Lymphozytose sind Lebensalter und Lymphozytenzellzahl die besten Prädiktoren.
- c) Die Höhe der Lymphozytenwerte korreliert mit der Erkrankungsschwere.
- d) Ältere Patienten haben bereits bei niedrigeren Lymphozytenwerten ein erhöhtes Risiko für einen abnormen Phänotyp.
- e) Bei älteren Patienten mit erhöhten Lymphozytenwerten muss an das Vorliegen einer chronisch-lymphatische Leukämie gedacht werden.

**Frage 6: Welche Aussagen treffen zu Lymphopenien zu (3 richtig):**

- a) Es ist keine Unterscheidung zwischen primären und sekundären Lymphopenien möglich.
- b) Hauptauslöser für sekundäre Lymphopenien sind länger zurückliegende Infekte.
- c) Eine wichtige Ursache für sekundäre Lymphopenien ist eine HIV-Infektion.
- d) Bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen aus dem Formenkreis des Systemischen Lupus erythematoses korreliert die Höhe der Autoantikörper-Titer mit dem Ausmaß der Lymphopenie.
- e) Glukokortikoid-Therapie kann zu Lymphopenie im peripheren Blut auf Grund einer massiven Umverteilung der T-Lymphozyten führen.

Name: .....

ÖAK Arztnummer (falls bekannt): .....

Unterschrift: .....

Datum: .....

Adresse/Praxisstempel:

.....