

Chronische
myeloische Leukämie
Chronische Phase

Zytologie

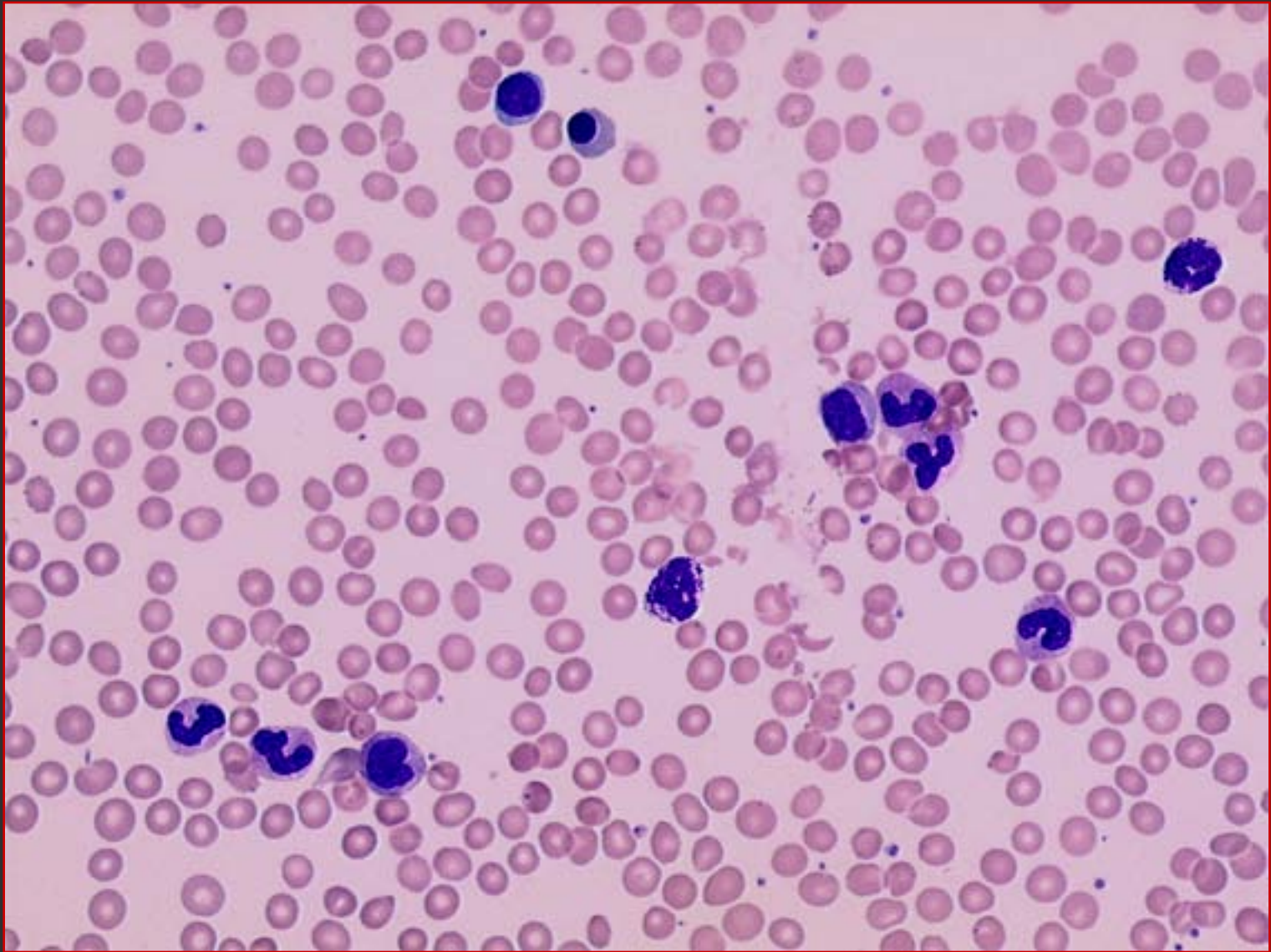
Prof. Dr. med. Roland Fuchs
Prof. Dr. med. Tim Brümmendorf
Medizinische Klinik IV



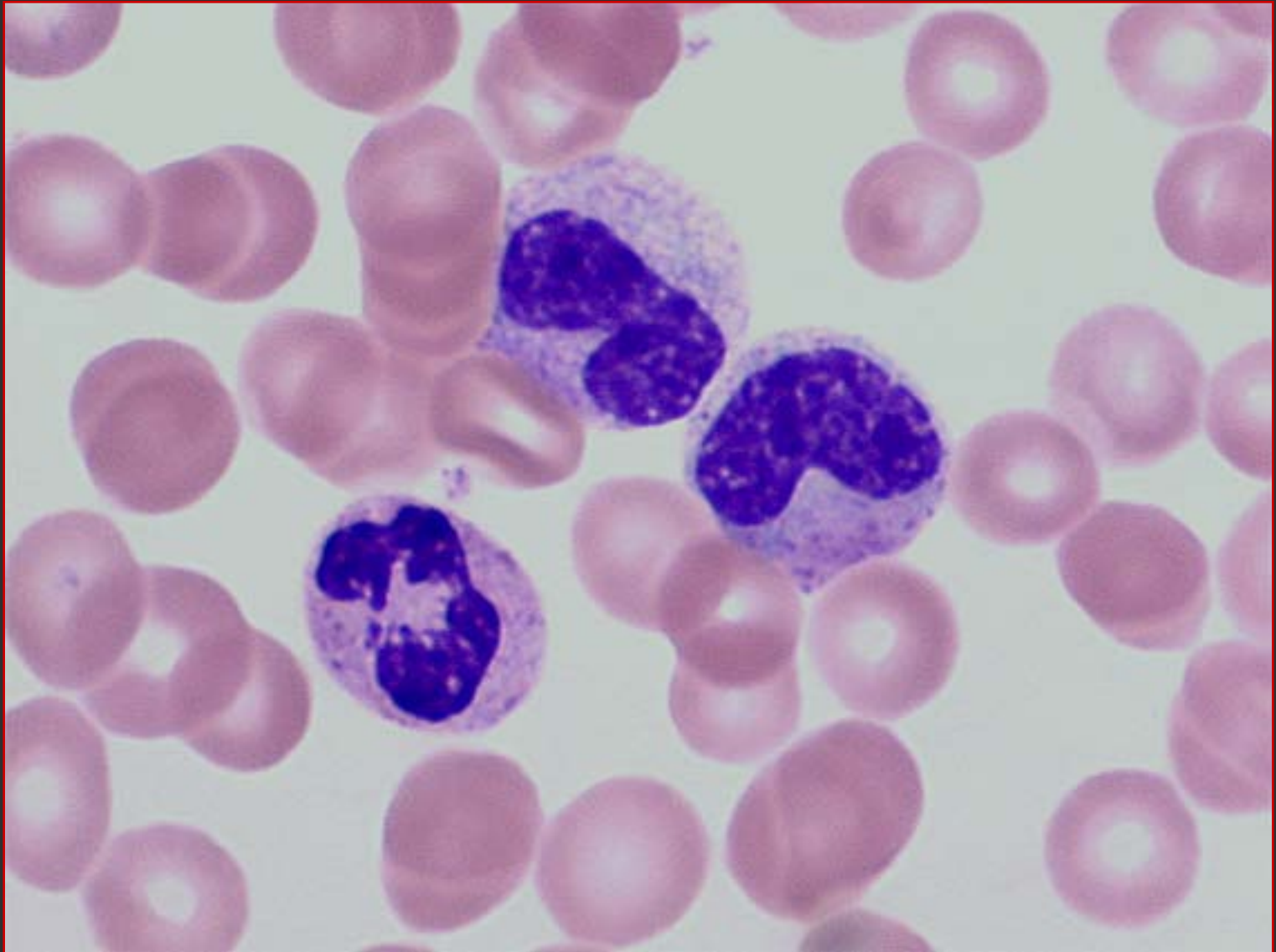
Zytogenetik
Molekulargenetik

Prof. Dr. med. Detlef Haase
Zentrum Innere Medizin

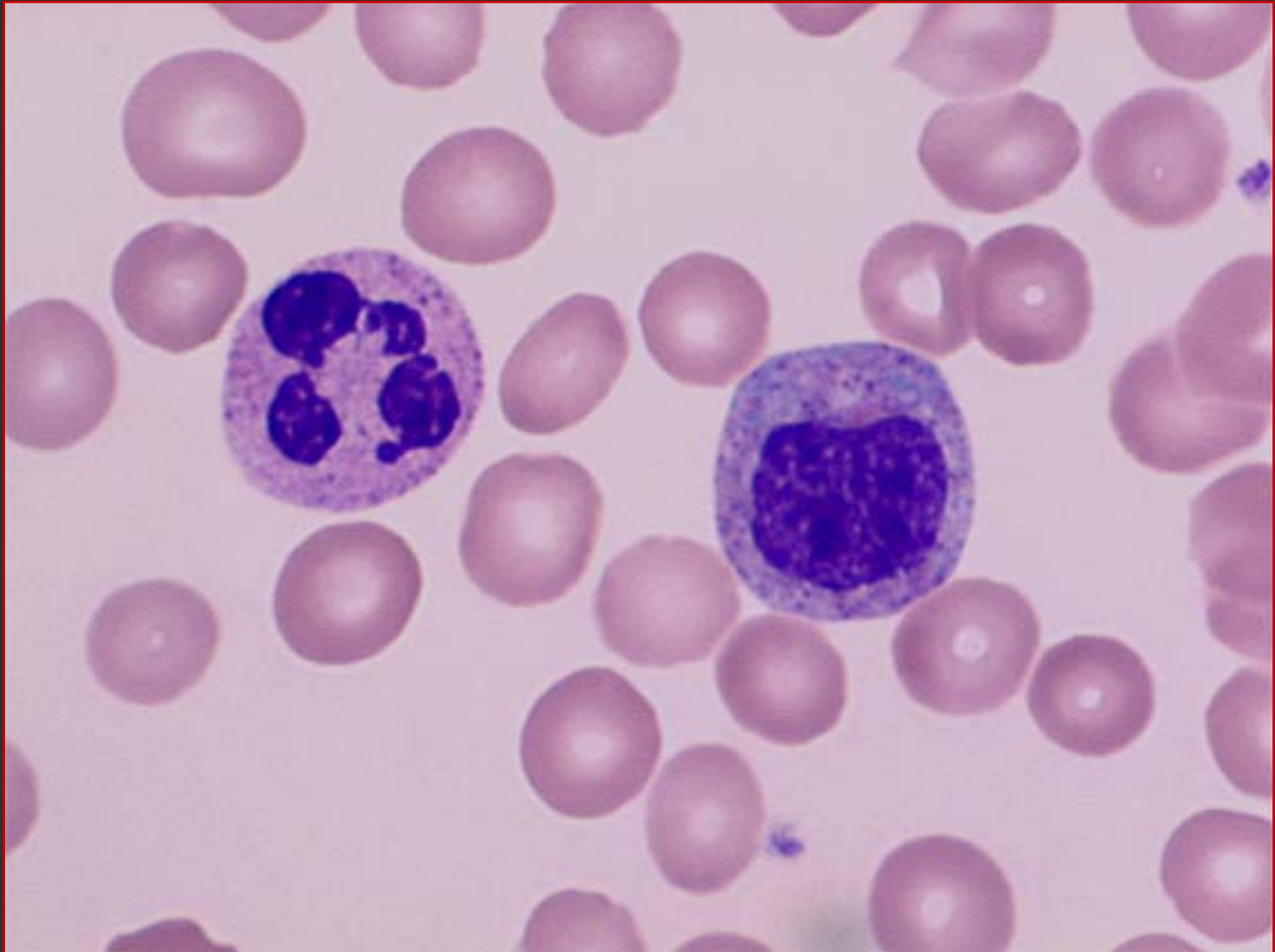




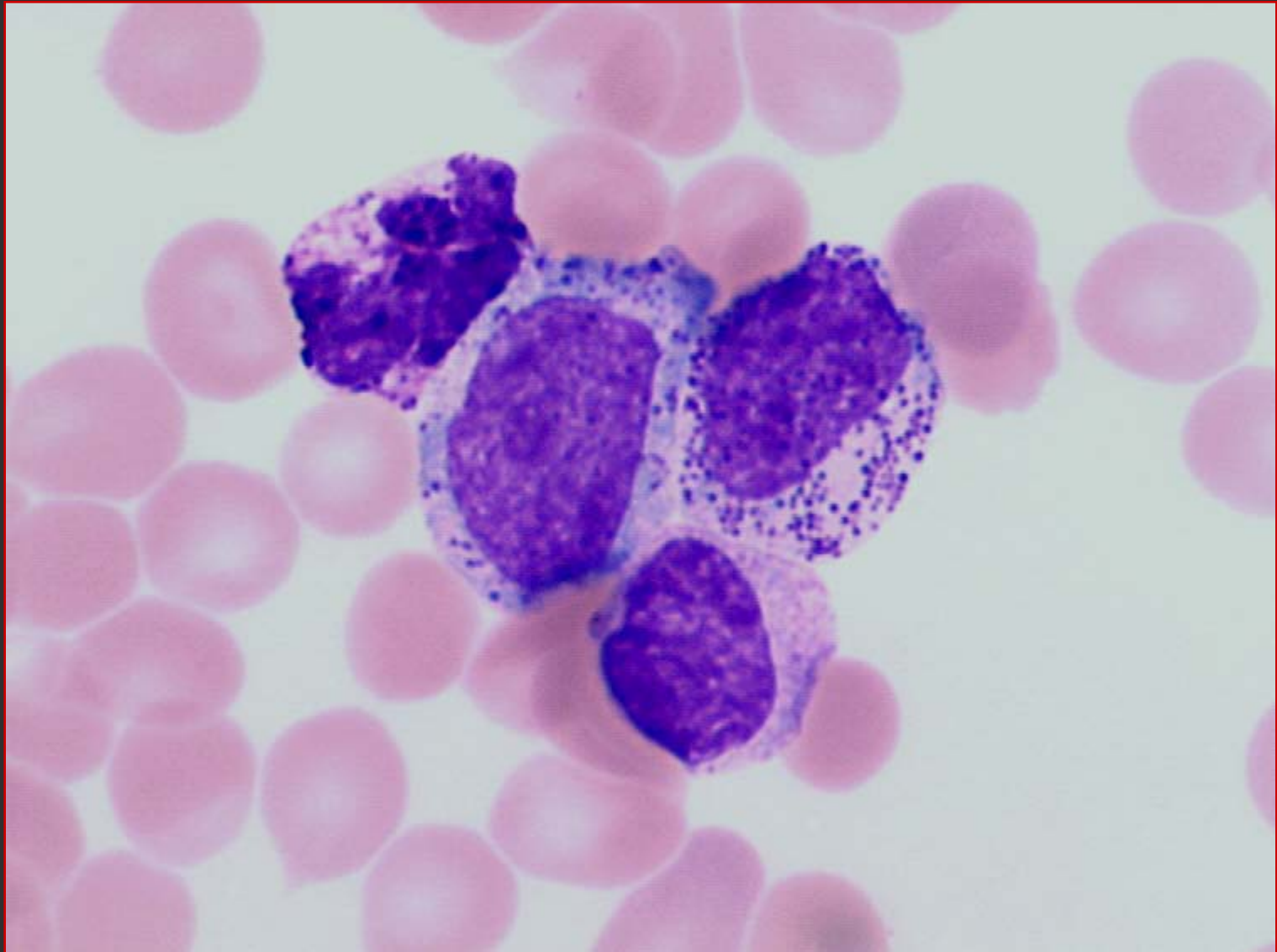
CML. BB, Papp. Leukoerythroblastisches Blutbild. In Bildmitte ein basophiler Granulozyt. Bei 12:00 ein Erythroblast, ein Lymphozyt.



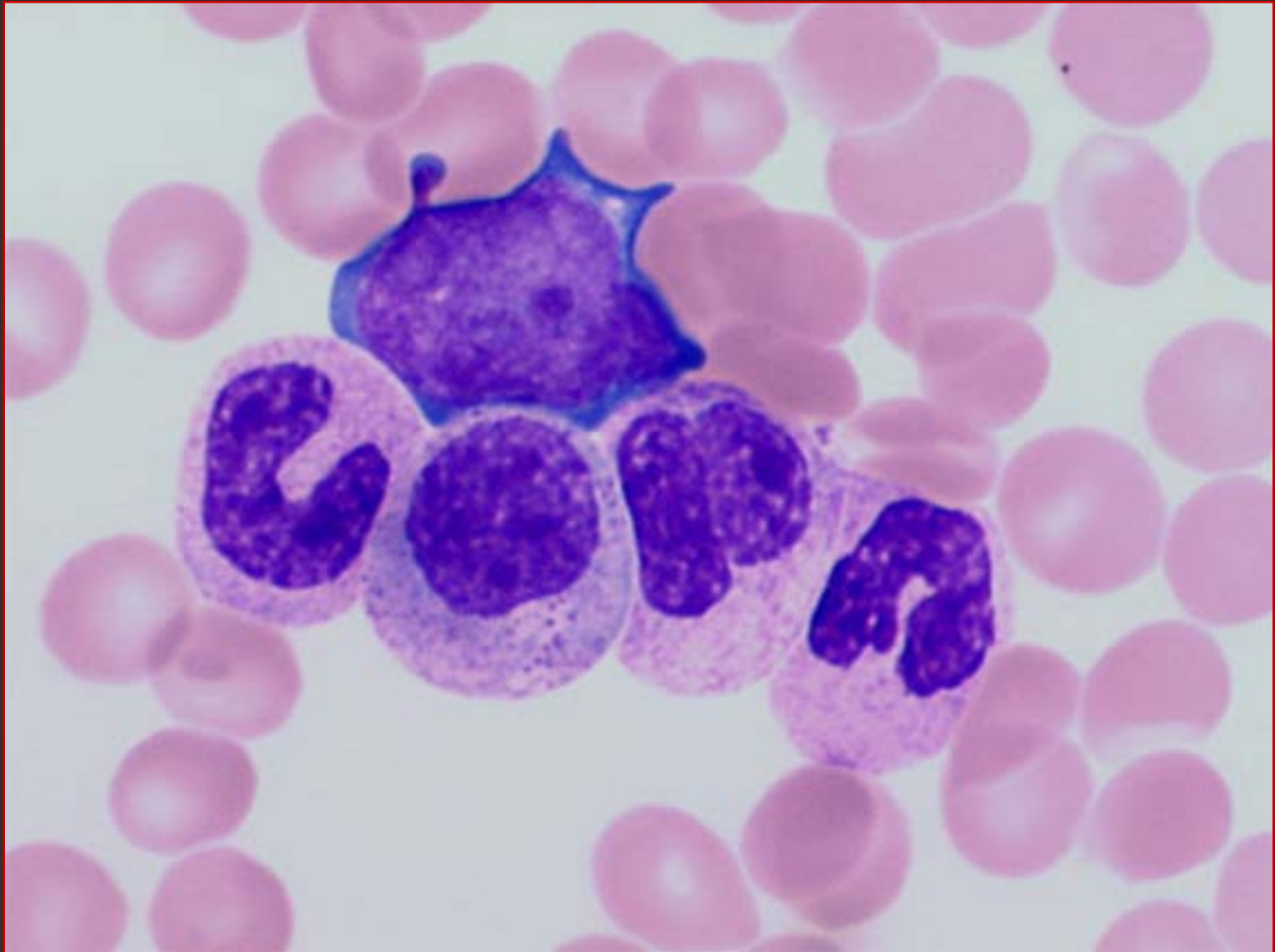
CML. BB, Papp. Segmentkerniger, Stabkerniger, Metamyelozyt.



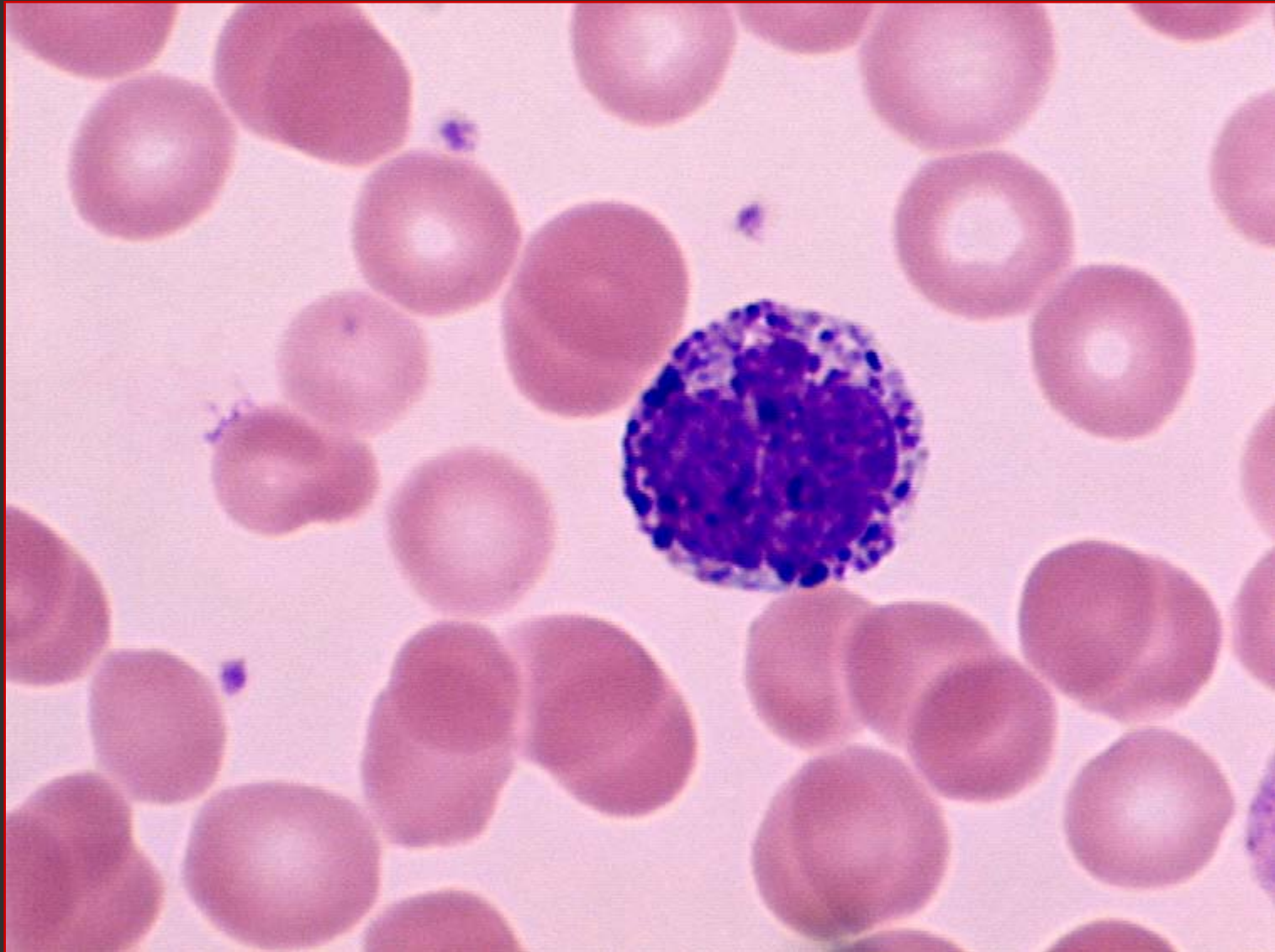
CML. BB, Papp. Segmentkerniger, Myelozyt im frühen Stadium mit noch teilweise basophilem Zytoplasma.



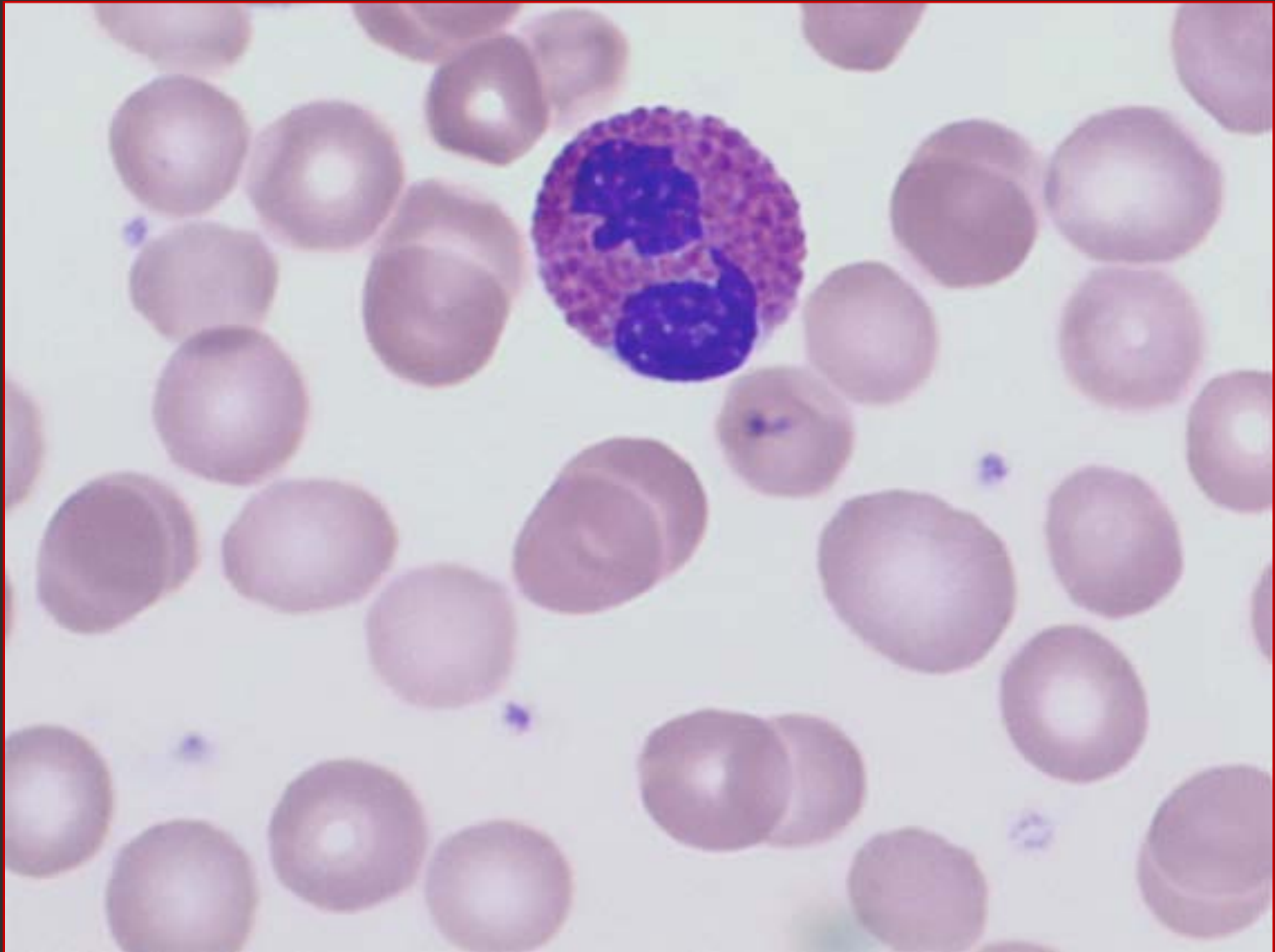
CML. BB, Papp. Charakteristisches Bild. Basophiler Granulozyt, zwei Promyelozyten, ein Myelozyt.



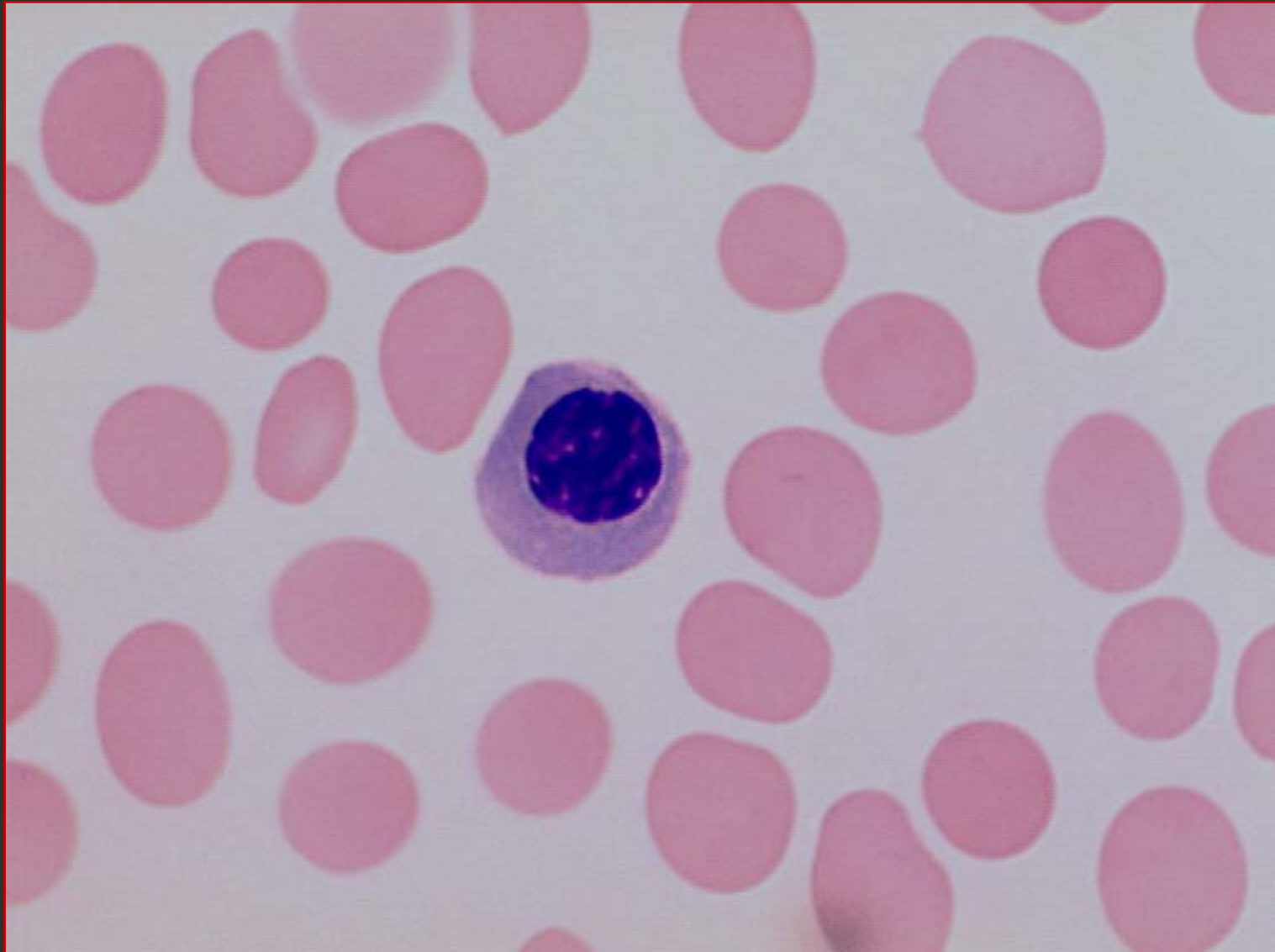
CML. BB, Papp. Stabkerniger, Myelozyt, Metamyelozyt, Stabkerniger, Myeloblast mit einem, die Erythrozyten umfliessenden Zytoplasma.



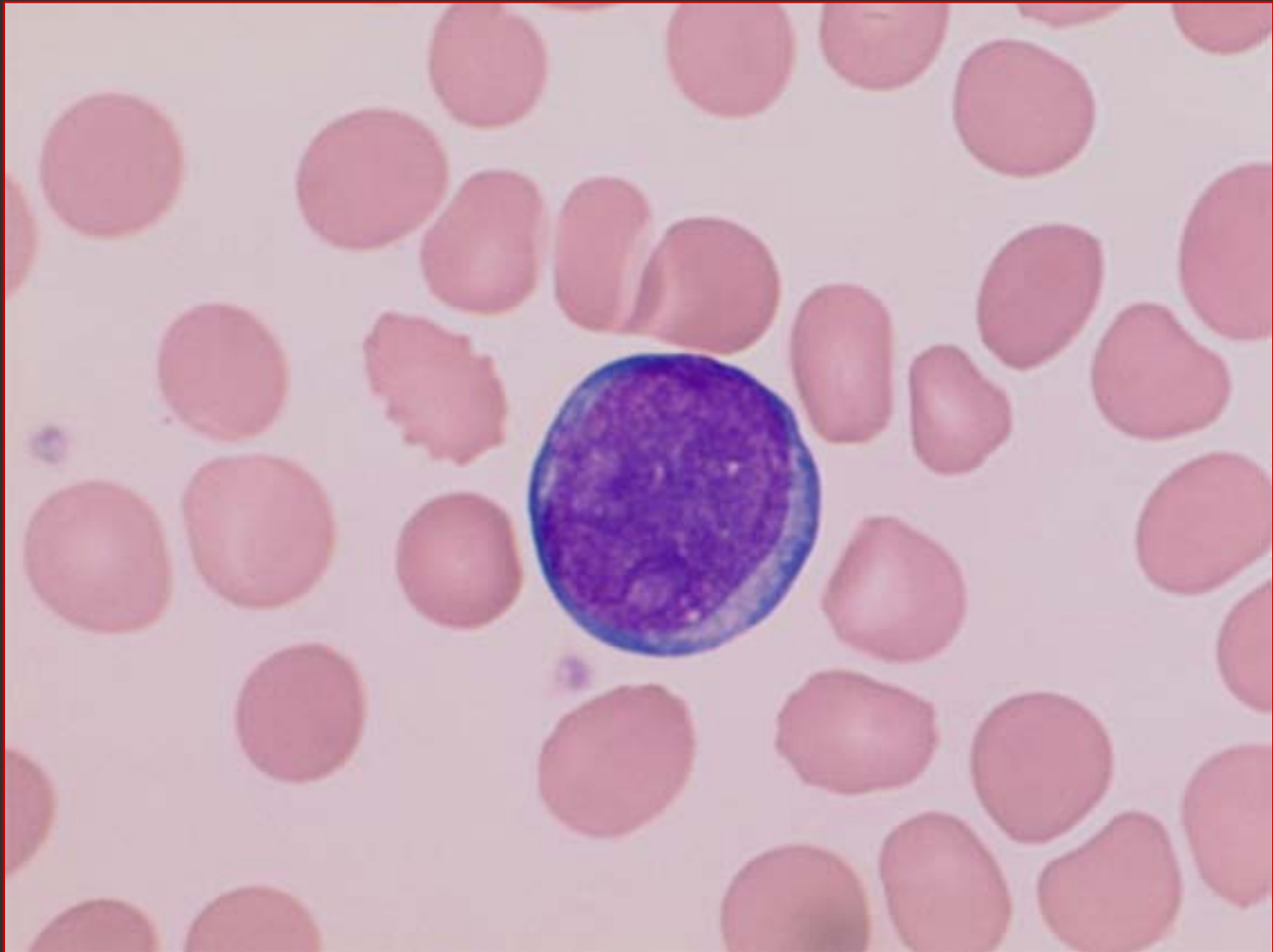
CML. BB, Papp. Basophiler Granulozyt. Neben der neutrophilen Leukozytose mit pathologischer Linksverschiebung gehört die Vermehrung basophiler Granulozyten zum zytologisch typischen Bild der CML.



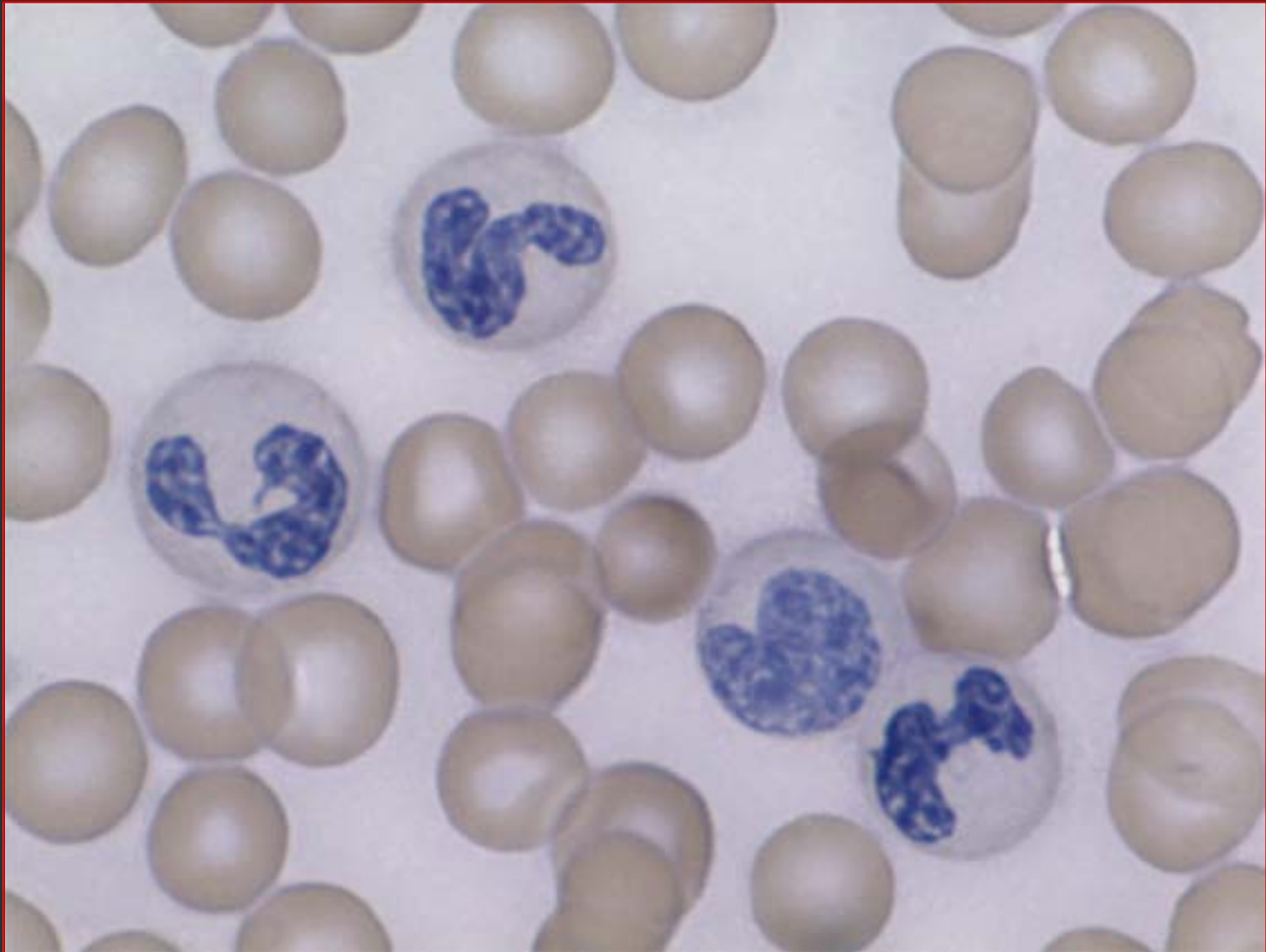
CML. BB, Papp. Unauffälliger eosinophiler Granulozyt mit typischerweise zwei Kernsegmenten. Die Eosinophilen können bei der CML ebenfalls vermehrt sein.



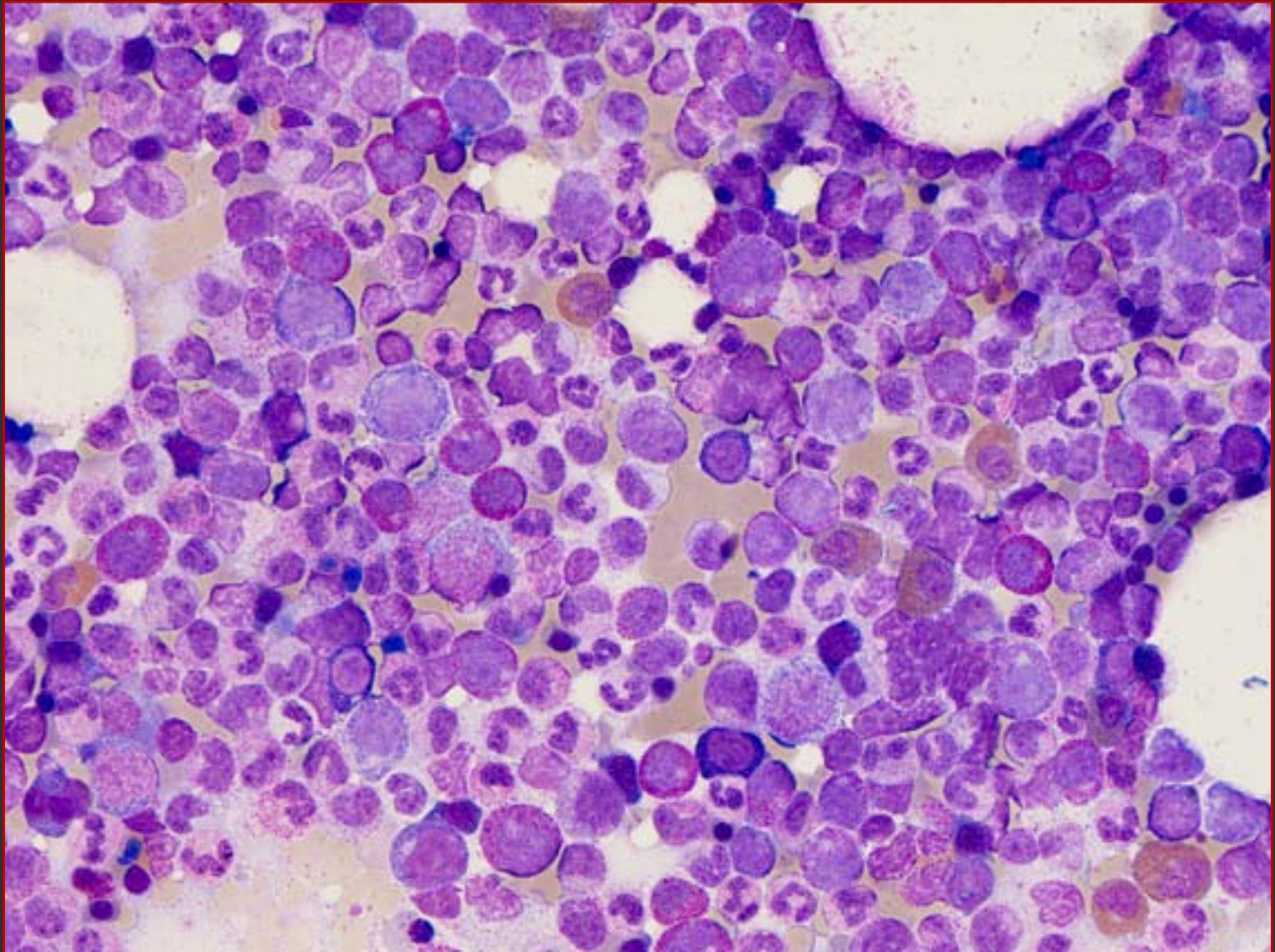
CML. BB, Papp. Erythroblast. Rote Vorstufen sind Bestandteil des leukoerythroblastischen Blutbildes. Einige ortho- oder polychromatische Erythroblasten finden sich regelmäßig. Sie sind Folge der extramedullären Blutbildung in Milz und Leber.



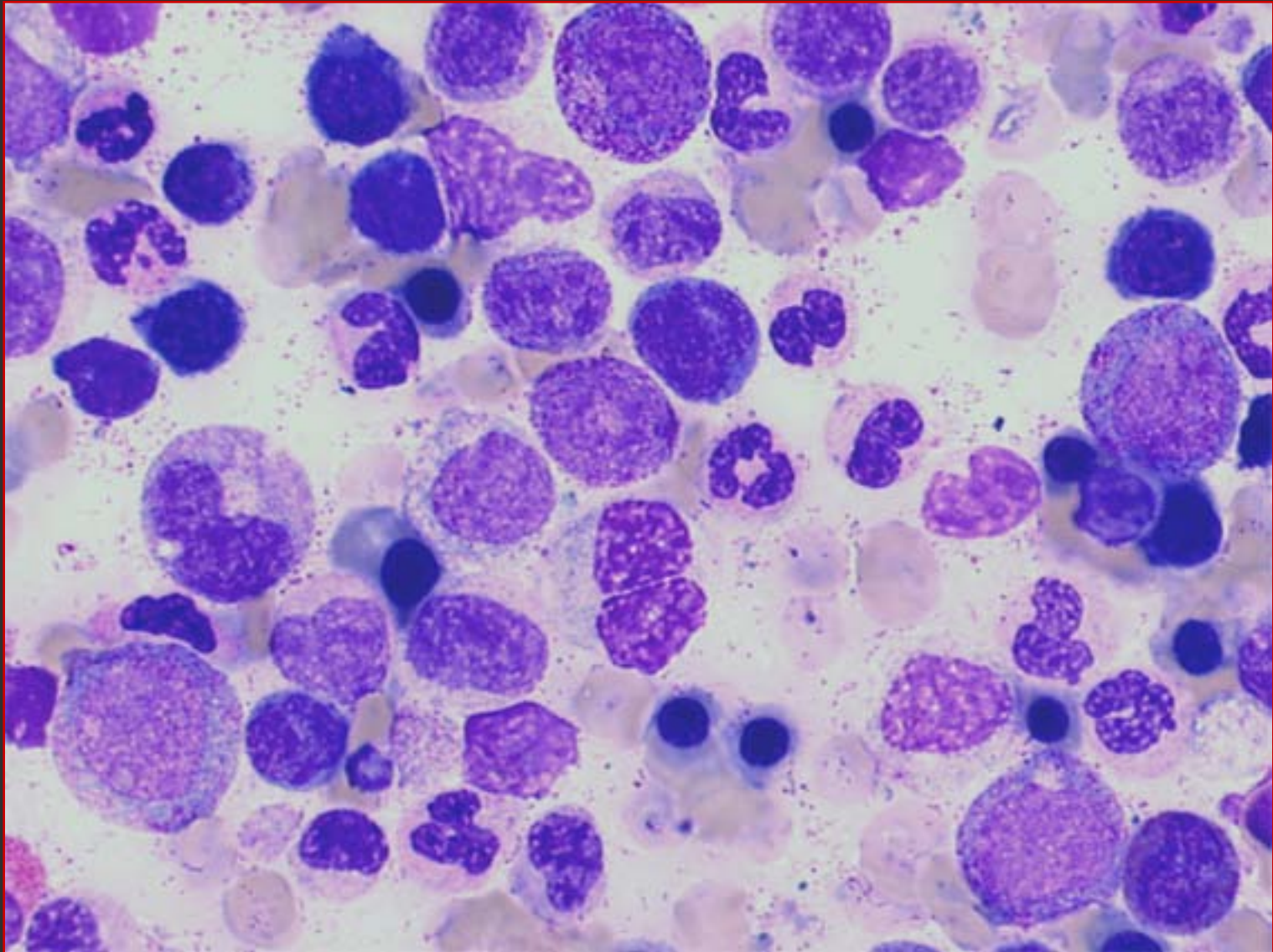
CML. BB, Papp. Der Myeloblast ist ein Bestandteil der pathologischen Linksverschiebung und wird bei sorgfältiger Untersuchung fast immer gefunden.



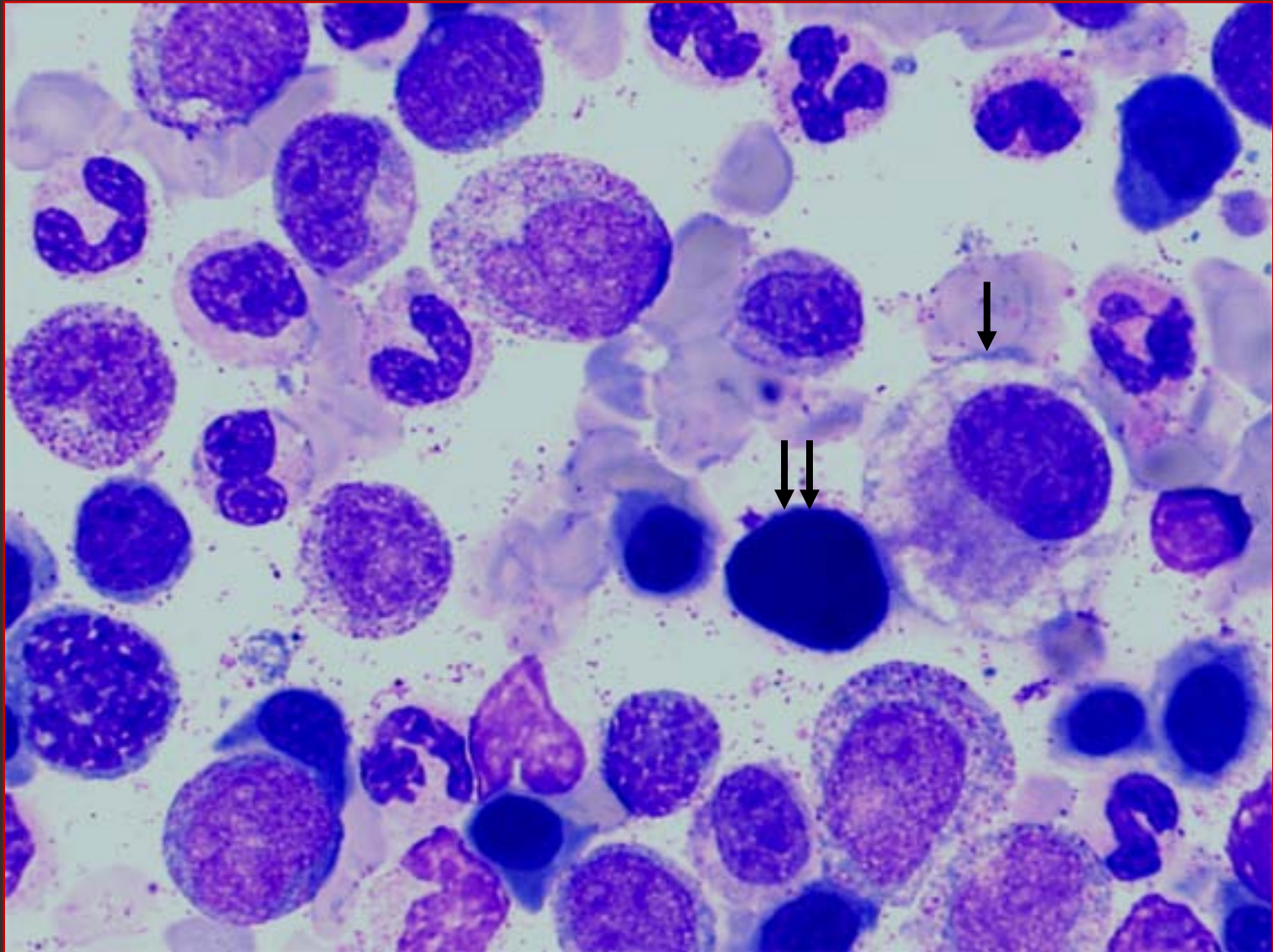
CML. BB, alkalische Granulozytenphosphatase (AGP). Bei der CML fehlt dieses Enzym, wie hier, oder es ist stark vermindert. Aufgrund der heute obligaten zyto- und molekulargenetischen Diagnostik ist die Bestimmung der AGP überflüssig geworden.



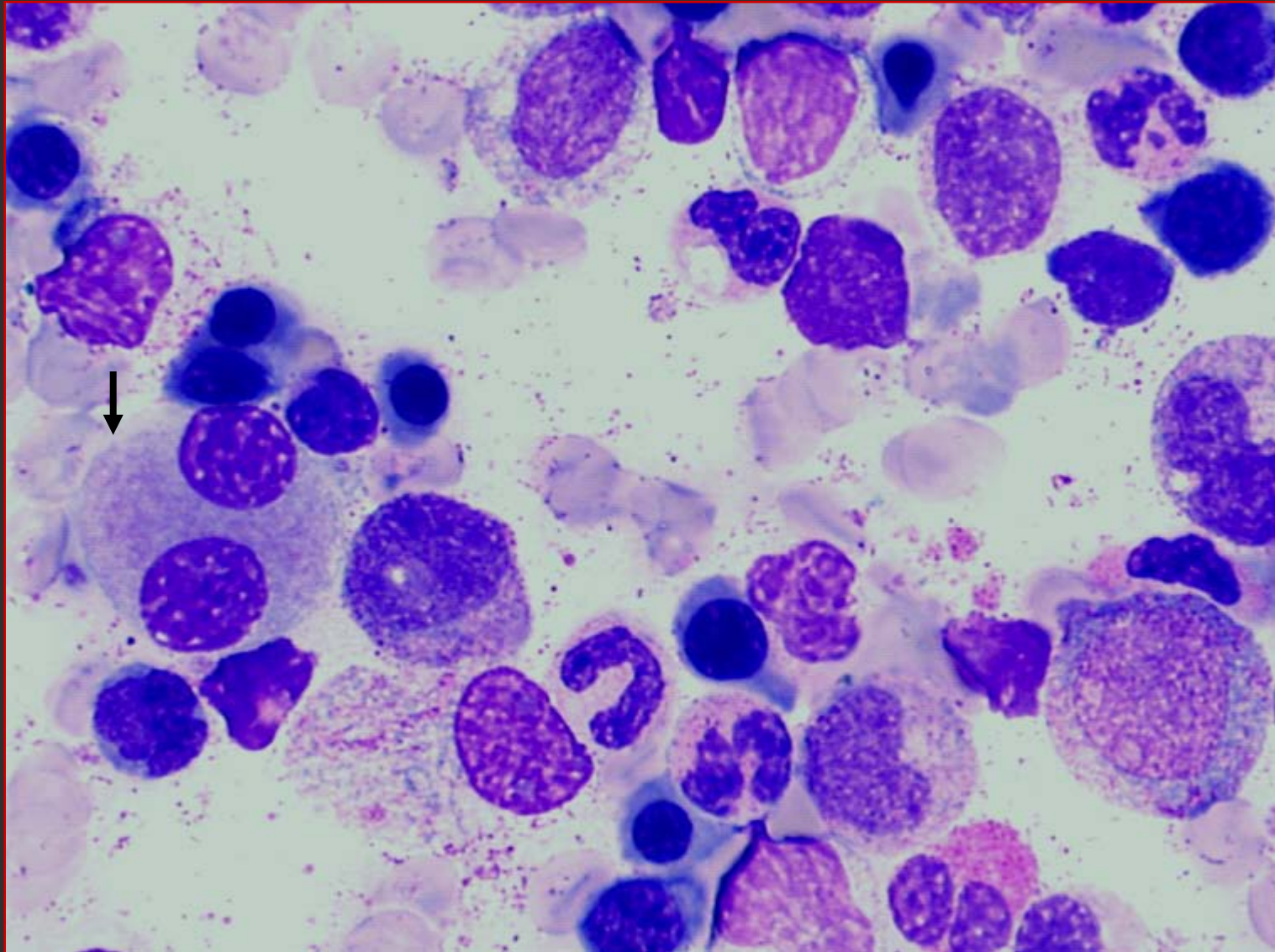
CML, chronische Phase. KM, Papp. Myeloische Hyperplasie mit reichlichem Anteil reifer Granulozyten, Erythroblasten.



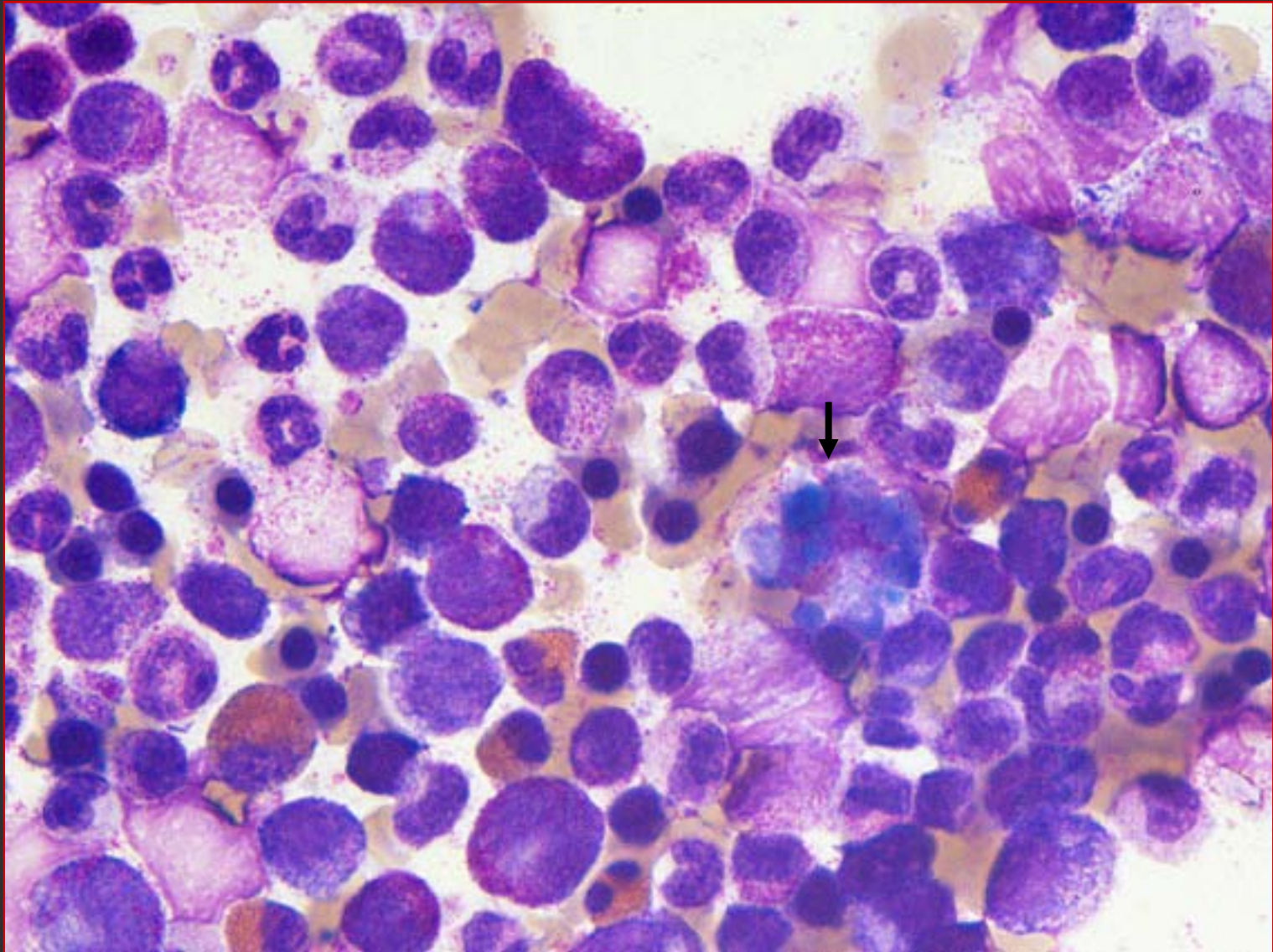
CML, chronische Phase. KM, Papp. Myeloische Hyperplasie mit reichlichem Anteil reifer Granulozyten, Erythroblasten. Es finden sich keine für eine CML spezifische zytologische Merkmale.



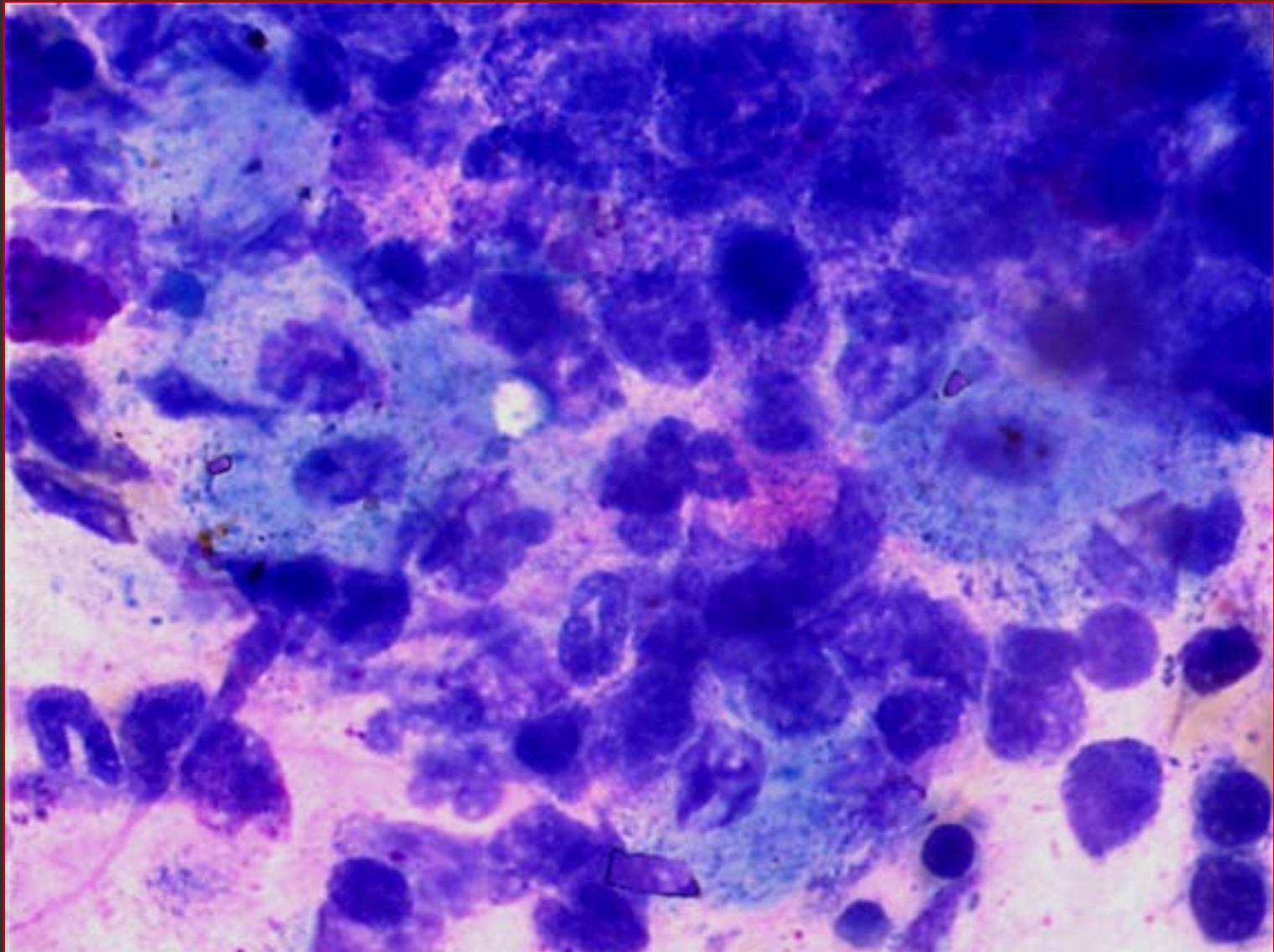
CML. KM, Papp. Myeloische Hyperplasie. Rechts in Bildmitte ein einkerniger, pathologischer Mikromegakaryozyt (Pfeil), Dieser Zelltyp ist charakteristisch für eine CML. Links daneben (Doppelpfeil) ein Megakaryozytenkern.



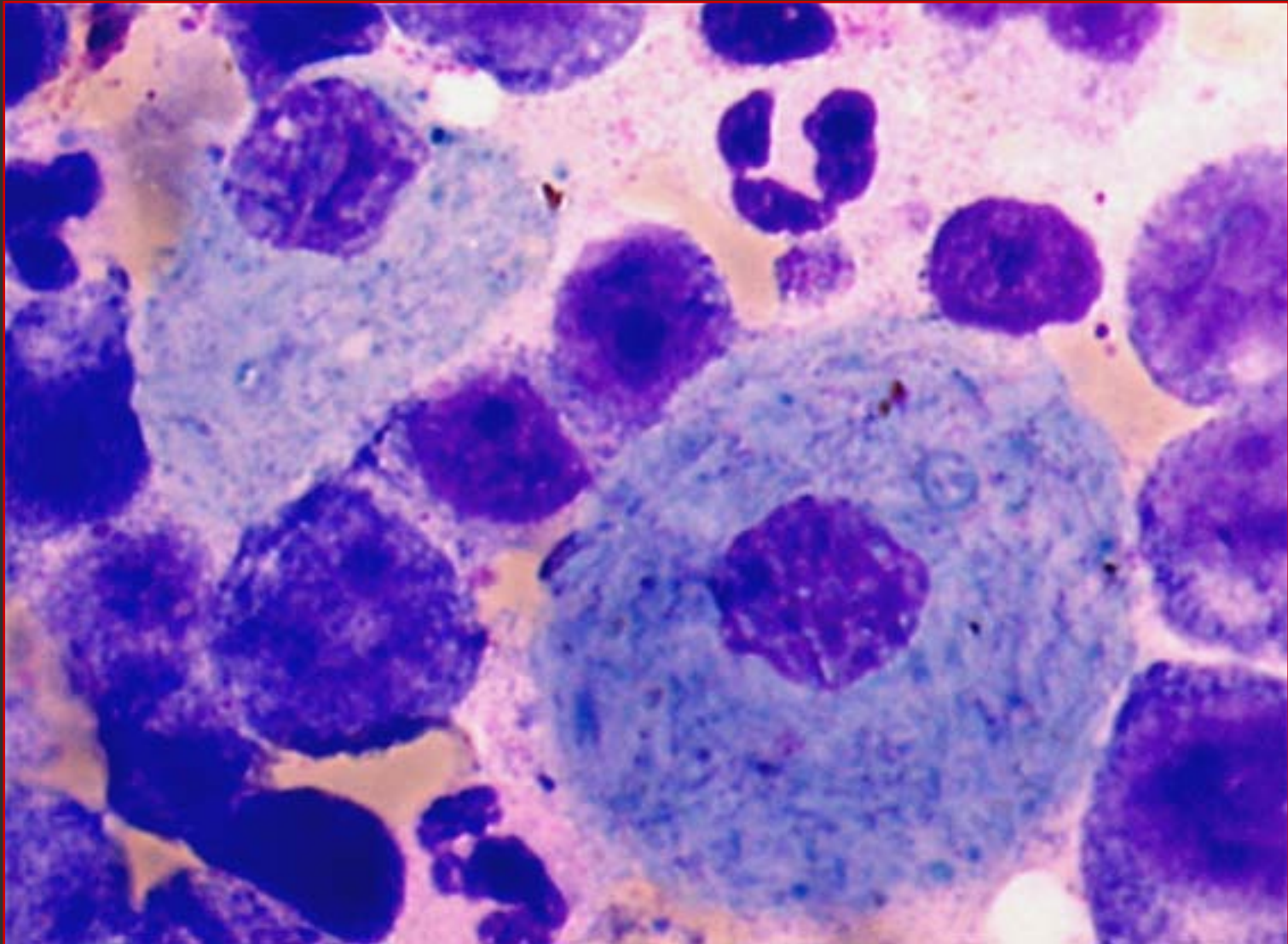
CML. KM, Papp. Myeloische Zellen aller Reifungsstufen mit Ausnahme von Myeloblasten, mehrere Erythroblasten. Links ein dysplastischer Megakaryozyt (Pfeil) mit zwei getrennt liegenden Kernen in einer zu kleinen Zelle, in deren Zytoplasma präformierte Plättchen.



CML. Knochenmark, Papp. Hyperplasie der Granulozytopoese mit erhaltener Ausreifung. Als Zeichen eines vermehrten intramedullären Zellumsatzes Speicherzelle in Form eines meerblauen Histiocyten (Pfeil).



CML. KM, Papp. Am Rand der Markbröckel fünf Pseudo-Gaucher-Zellen mit ihrem charakteristischen türkisfarbenen Zytoplasma.



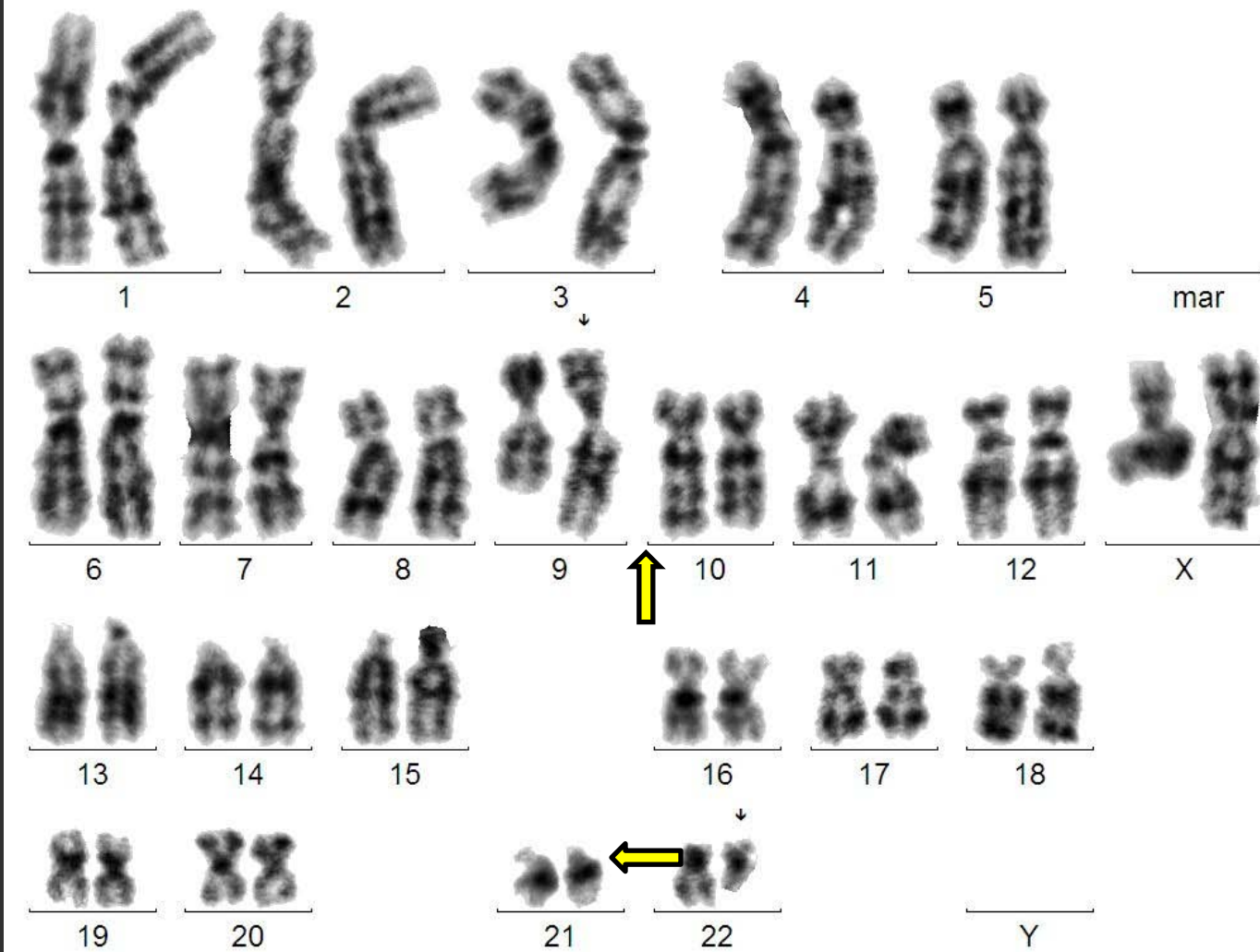
CML. KM, Papp. Zwei Pseudo-Gaucher-Zellen mit der typischen fibrillären Zytoplasmastruktur infolge der Einlagerung von Phospholipiden. Diese eindrucksvollen Zellen sind ein nur gelegentlich auftretendes Epiphänomen ohne spezifische diagnostische Aussage auf eine CML.

CML- Zytogenetik

Standard-Philadelphia-Translokation, t(9;22)(q34;q11)

- a) **Giemsabanden-Karyogramm**
- b) **FISH-Analyse**

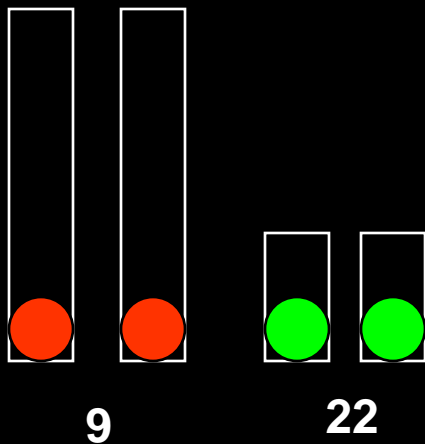
t(9;22)(q34;q11)



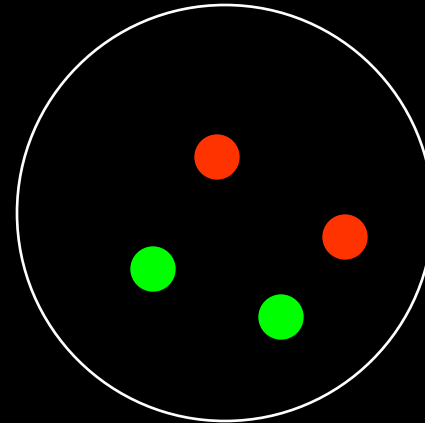
Prinzip der BCR-ABL FISH mit einer „dual colour dual fusion-Sonde“

normal: keine Kolo-kalisation

- Metaphase

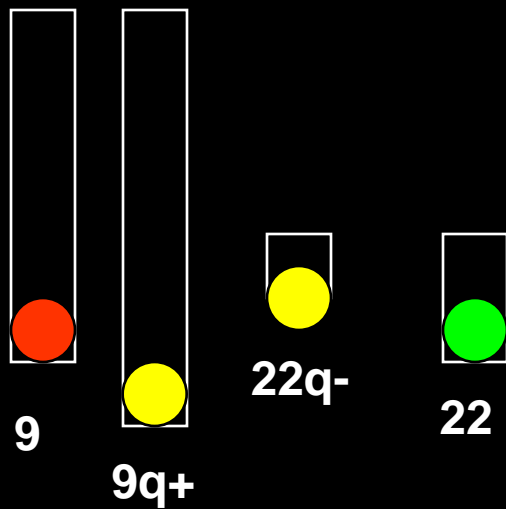


- Interphase

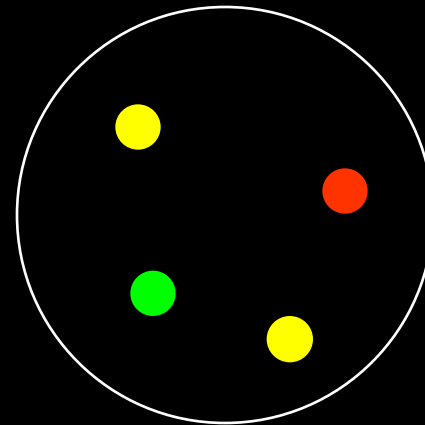


BCR-ABL FISH
typische CML
t(9;22)(q34;q11)

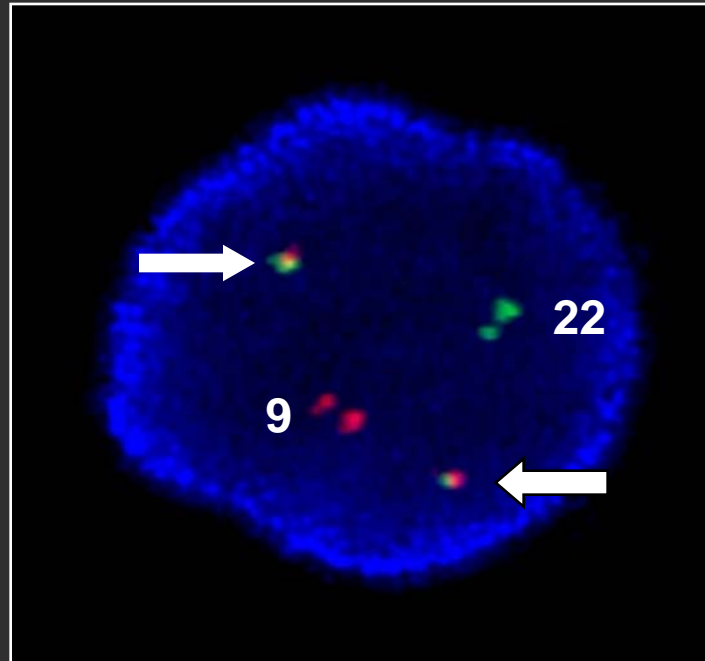
- Metaphase



- Interphase



FISH-Sonde: BCR-ABL dual bei CML



Doppelte Kolokalisation:

BCR-ABL (rot/gün) auf dem derivierten Chromosom 22q (Philadelphia-Chromosom) und ABL-BCR (rot/grün) auf dem derivativen Chromosom 9q. Das grüne Signal ist auf dem normalen Chromosom 22 (Bande q11) und das rote Signal auf dem normalen Chromosom 9 (Bande q34) lokalisiert.

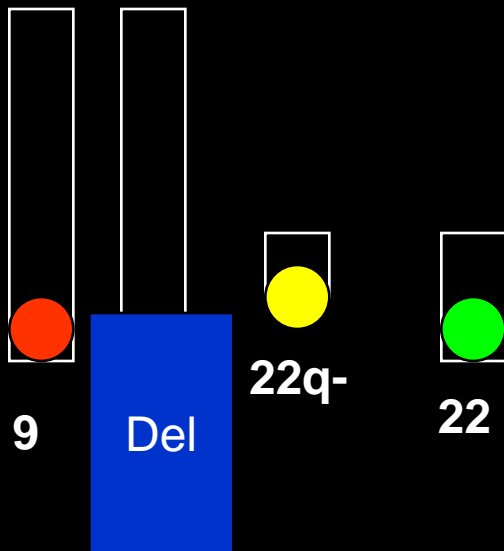
CML- Zytogenetik

Philadelphia-Translokation, t(9;22)(q34;q11) und ABL-Deletion

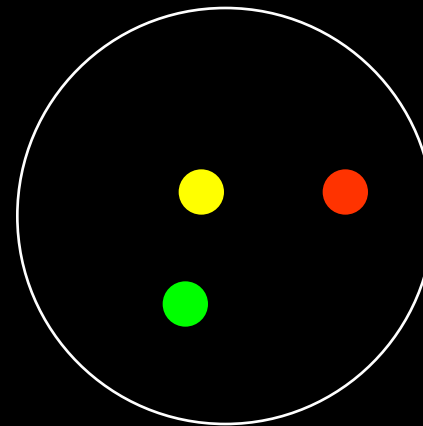
BCR-ABL FISH

mit der „dual colour dual fusion“-Sonde
Hier: CML mit t(9;22)(q34;q11) und zusätzlicher ABL-Deletion,
Nachweis einer ABL-Deletion

• Metaphase



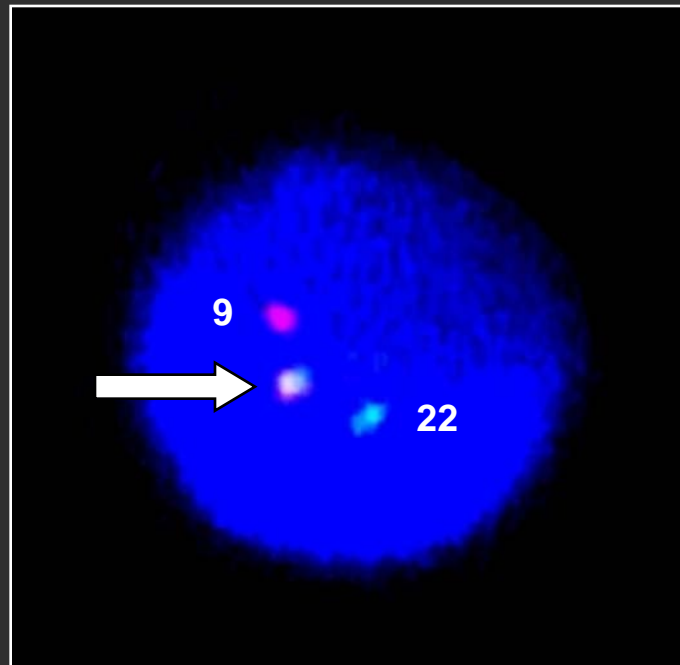
• Interphase



Vorteile:

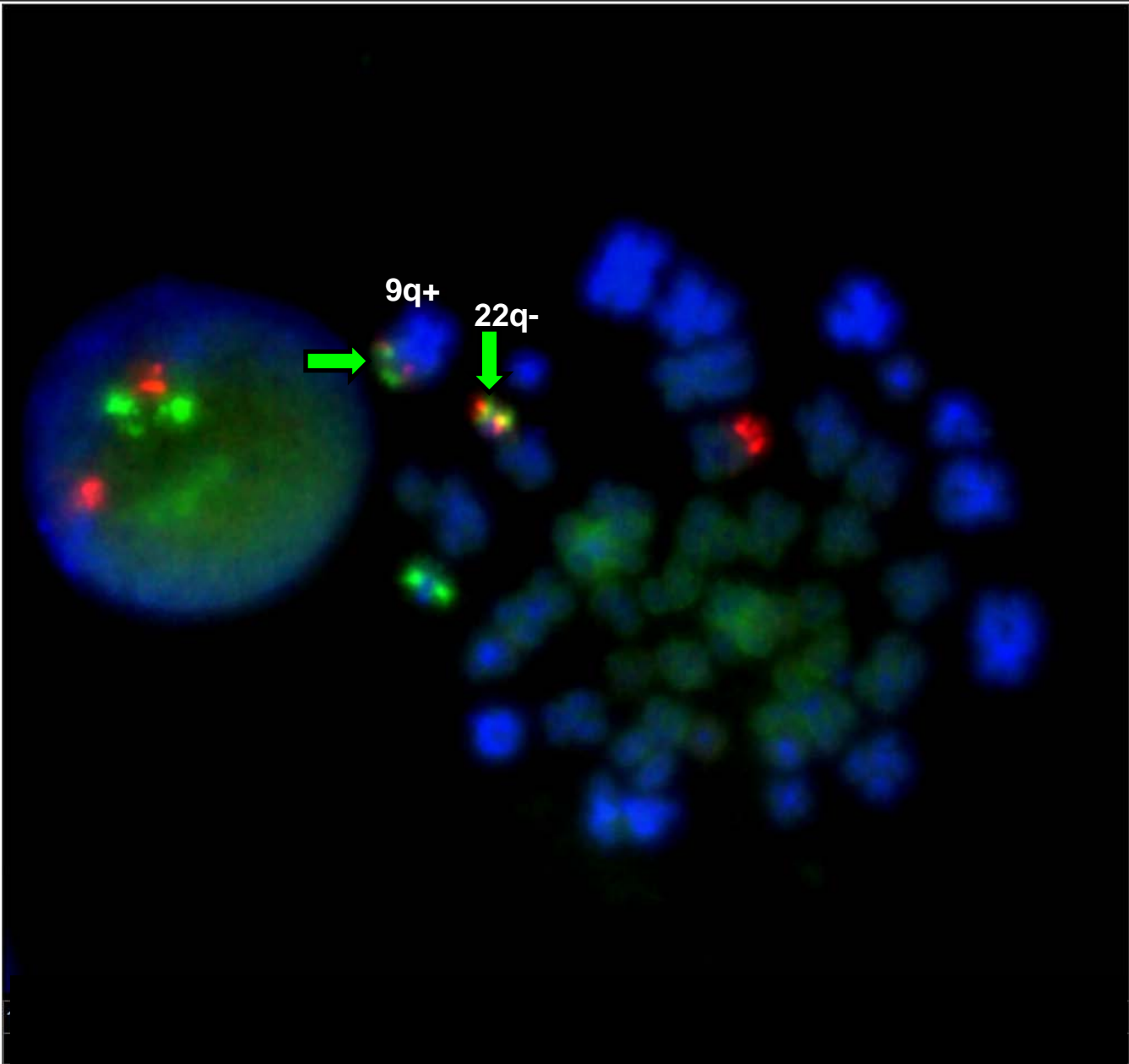
- hohe Sensitivität (Schwelle bei 0,1%)
- 9q34-Deletionen nachweisbar.

FISH-Sonde: BCR-ABL dual bei CML



Einfache Kolokalisation mit
Verlust eines Kolokalisationssignals
= Deletion von ABL-BCR in 9q34

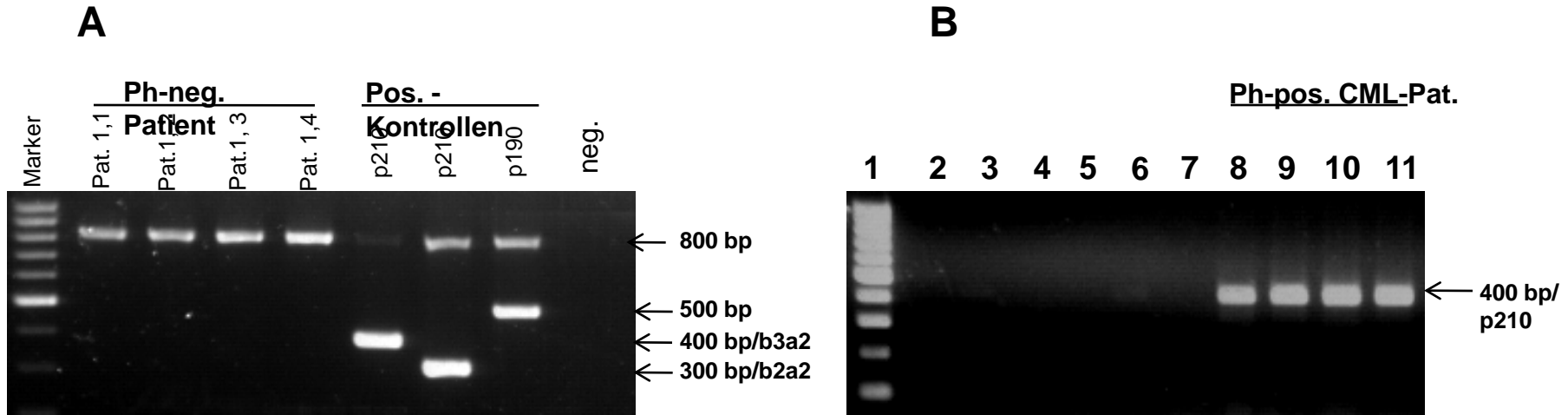
CML in CP, FISH an einem normalen Interphasekern (li) und einer pathologischen Metaphase (re)



CML- Molekulargenetik

PCR-Diagnostik

- a) Ph-negativer Patient mit V.a. CML
- b) Ph-positiver Patient mit gesicherter CML und $t(9;22)(q34;q11)$ und einem p210 Fusionstranskript (Größe 400bp, Typ b3a2)



Die Abbildung **A** zeigt Ergebnisse einer multiplex PCR zum Nachweis des BCR-ABL-Fusionsproteins. Spur 1 enthält 100bp DNA –Marker (Größenmarker) . Die RT-PCR-Produkte in den Spuren 2-5 sind von einem Patienten mit Verdacht auf CML (mit Doppelbestimmung und jeweils 2 mal aufgetragen), der Ph-negativ ist. Die Spuren 6-8 (pos. Kontrollen) zeigen verschiedene BCR-ABL-Fusionsprodukte, Spur 9 enthält ein PCR-Produkt aus einer Kontrolle ohne cDNA (negative Kontrolle).

Die Abbildung **B** zeigt Ergebnisse von RT-PCR- Proben für zwei verschiedene Patienten. Spur 1 enthält 100 bp-DNA Marker, die Spuren 2-3 sind Negativ-Kontrollen. Die RT-PCR-Produkte in den Bahnen 4-7 zeigen ein normales Individuum. Die Spuren 8-11 stammen von einem CML-Patienten, der die klassische $t(9;22)(q34;q11)$ hatte, bei ihm lag das BCR-ABL-Fusionsprotein b3a2 vor. Die Proben wurden jeweils zwei fache bestimmt und je 2 mal aufgetragen.