

Lymphknoten

Einleitung

Die folgenden Ausführungen beschränken sich auf lympho-hämatopathologische Veränderungen des Lymphknotens (LK) also im Wesentlichen auf Lymphome und Leukämien unter Mitberücksichtigung von reaktiven Lymphadenopathien. Lymphknoten-Metastasen sind hier jedoch explizit ausgeklammert und werden insbesondere unter dem Thema des Sentinel-Lymphknotens organspezifisch abgehandelt (cf. Mammakarzinom, Malignes Melanom). Andererseits haben die hier erstellten Richtlinien jedoch weitgehende Gültigkeit für primär extranodale lympho-hämatologische Proliferationen.

Klinische Angaben

Das klinische Krankheitsbild ist integraler Bestandteil der Gesamtbeurteilung lympho-hämatologischer Veränderungen. Für eine optimale Diagnostik ist der Pathologe darauf angewiesen, dass ihm relevante klinische Befunde bekannt gemacht werden. Essentielle Informationen sind:

- Patientenstammdaten (Name, Alter, Geschlecht)
- Klinische Verdachtsdiagnose(n)
- Klinischer Status (Lymphadenopathie - wenn solitär mit topographischen Angaben - oder generalisiert, Hepatosplenomegalie, B-Symptome, AZ des Patienten)
- Hämatologische Befunde (Peripheres Blutbild und Knochenmarksbefund, falls vorhanden)
- Laborwerte (CRP, LDH, β 2-Mikroglobulin, Infektserologien z.B. HIV, EBV, Borrelien, Hepatitis etc.)
- Erwähnung von relevanten Zusatzerkrankungen (Autoimmunkrankheiten, andere Neoplasien) und von laufenden oder stattgefundenen Therapien (post-Transplantationsstatus, immunsuppressive Therapie, Radio-/Chemotherapie oder Medikamente)

Gewebeentnahme (Kliniker) und materielle Aufarbeitung von Gewebeproben (Pathologe)

Die **Lymphknoten (LK)-Biopsie** sollte von einem geübten Chirurgen durchgeführt und der LK mit einer möglichst organerhaltenden Methode entnommen werden. Traumatisierte LK-Fragmente verlieren enorm an pathologisch-diagnostischer Aussagekraft. Der grösste LK einer befallenen Gruppe ist nicht immer zwingend der best geeignete (cave Nekrosen). Wenn möglich, chirurgisch gut zugängliche LK auswählen, präferentiell zervikale LK. Inguinale LK sind häufig fibrosiert und axilläre LK lipomatös-atroph (topographisch bedingtes unspezifisches Epiphänomen).

Die **True cut Nadelbiopsie** ist dem **Ausnahmefall** von schlecht zugänglichen Lokalisationen vorbehalten (retroperitoneal, mediastinal, intraabdominal), weil bei der Stanzbiopsie für die Diagnostik nur sehr wenig - und für allenfalls notwendige Zusatzuntersuchungen oft zu wenig - Gewebe gewonnen werden kann, das zudem erfahrungsgemäss häufig erhebliche Entnahmeartefakte aufweist, welche die Beurteilbarkeit zusätzlich einschränken. So führt die Nadelbiopsie auch häufig zu falsch negativen Befunden und ganz allgemein zu Diagnose-Verzögerungen.

Die **Feinnadelpunktion (FNP)** mit zytologischer Beurteilung am Aspirat liefert in den meisten Fällen eine erste differentialdiagnostische Orientierung und erspart dem Patienten mit reaktiven Veränderungen die invasive Biopsie. Die zytologische Lymphomdiagnose muss allerdings in aller Regel entweder durch molekulare Zusatzuntersuchungen (Klonalitätsanalysen und/oder Nachweis von spezifischen Translokationen) oder besser durch die histologische Aufarbeitung einer Biopsie überprüft werden. Bei begründetem klinischem Lymphomverdacht ist primär eine LK-Biopsie anzustreben.

Auch für die primäre Diagnostik ist die Notwendigkeit von **Frischmaterial** heute nicht mehr unbedingt gegeben. Eine diagnostische Bedeutung hat das Tupfpräparat aber zum Beispiel in der Differentialdiagnose des Burkitt Lymphoms behalten (vakuolisierendes Zytoplasma). Das Tupfpräparat liefert auch das optimale Untersuchungsmaterial für verschiedenste Zusatzuntersuchungen wie die statische Zytometrie (Zellbildanalyse), FISH-Analysen an Ganzzellen, FACS-Analysen und die klassische Zytogenetik. Die Southern Blot Hybridisierung, die auf grosse Mengen von Frischmaterial angewiesen ist, hat im heutigen Diagnostik-Szenario deutlich an Bedeutung verloren. Für Forschungszwecke sind Tumorbanks zudem von zunehmend grösserem Nutzen, hauptsächlich für Expressions-basierte Untersuchungen und für Gen-Expressions-Signaturen. Idealerweise sollte daher bei klinischem Lymphom Verdacht ein Lymphknoten vollständig und unverseht exstirpiert werden und je zur Hälfte unfixiert als Frischmaterial und in gepuffertem Formalin fixiert eingesandt werden. Dabei muss aber in erster Linie sicher gestellt sein, dass für die Diagnostik genügend repräsentatives Gewebe untersucht werden kann.

Beim Einsenden von **Frischmaterial** gilt es unbedingt zu beachten, dass das Gewebe am besten gekühlt in 0.9%-iger NaCl-getränkter Gaze eingewickelt in einer kleinen feuchten Kammer verschickt, **spätestens 1 Stunde** nach Entnahme in der Pathologie verarbeitet werden können sollte.

Frischmaterial, das für einen Erregernachweis entnommen wird, muss in Zusammenarbeit mit dem Mikrobiologischen Institut oder mit Speziallabors (cave: richtiges Medium) unter sterilen Bedingungen verarbeitet werden.

Das Fixativ der ersten Wahl für hämato-lymphatisches Gewebe ist das **gepufferte 3.8%-ige Formaldehyd** (auch die Schaeffer'sche Lösung ist obsolet). Hierzu sollen Gewebestücke von maximal 1.5 x 1.5 cm Grösse und maximal 0.3cm Dicke zugeschnitten und eingebettet werden.

Die Bedeutung der **Schnellschnittuntersuchung (SS)** des LK ist gegeben für den Nachweis von Metastasen; bei hämato-lymphoproliferativen Veränderungen hat der SS lediglich orientierenden Charakter, zum Beispiel zur Klärung der Frage, ob das entnommene Gewebe nach Formalin-Fixation und Paraffin-Einbettung für eine

definitive Diagnose ausreicht. Für die primäre Lymphom Diagnostik ist der SS nicht geeignet. Bei bekannter Hepatitis-, HIV- oder Tuberkulose-Infektion ist der SS aus Hygienegründen sogar contra-indiziert und vom Pathologen abzulehnen.

Die **Asservierung von Frischgewebe** geschieht nach Schockgefrieren im Flüssigstickstoff bei -80°C.

Diagnostik und Berichterstellung

Die an erster Stelle stehende morphologische Beurteilung erfolgt am **Paraffinschnitt**. Pro Zentimeter Lymphknoten- bzw. Tumorgewebe sollte ein Block hergestellt werden. Für eine optimale Beurteilbarkeit der Morphologie (HE, Giemsa, Gomöri-Versilberung und PAS) wie auch der Immunfärbungen sind extra dünne Schnitte von max. 2µm eine *conditio sine qua non*. Diese werden mit Vorteil in einem separaten Labor (Immunlabor) ausserhalb des Routinebetriebs geschnitten und gefärbt. Im Gegensatz zu molekularpathologischen Zusatzuntersuchungen gehört die Immunphänotypisierung in der Lympho-Hämatopathologie zum allgemein anerkannten diagnostischen Standard und wird in den meisten Pathologien routinemässig und vollautomatisiert durchgeführt.

Gängige **molekular-pathologische Zusatzuntersuchungen**, wie die Polymerasen-Kettenreaktion (PCR-Amplifikation) mit Fragmentanalyse (zwecks B- und T-Zell-Klonalitätsnachweis), die direkte DNA-Sequenzierung (zwecks Nachweis von somatischen IGVH-Hypermutationen), FISH-Analysen (zwecks Nachweis von chromosomalen Translokationen) oder Next Generation Sequencing (NGS) Analysen (zwecks Mutationsscreening) können heute alle praktisch ausnahmslos am Formalin-fixierten Paraffin-eingebetteten Material durchgeführt werden. Molekularpathologische Zusatzbefunde, denen prognostisches und insbesondere prädiktives Gewicht zukommt, werden zunehmend häufiger zwecks Therapiestratifizierung von den Klinikern eingefordert, auch wenn sie erfahrungsgemäss nur in ca. 10-20% des lympho-hämatopathologischen Einsendeguts differential-diagnostisch notwendig sind. Zusätzlich muss eingeräumt werden, dass molekulare Zusatzdaten auch nur im Kontext mit der morphologischen und immunphänotypischen Beurteilung zusammen sinnvoll gewertet werden dürfen.

Lymphome und Leukämien werden nach der aktuell gültigen **WHO-Klassifikation 2017** subtypisiert. Die Diagnose basiert nach dem 4-Säulen Prinzip von Morphologie, Immunphänotyp, Genotyp und Klinik. Hieraus ergibt sich auch der Aufbau der Berichterstattung mit Diagnose und strukturiertem Kommentar. Mikroskopische Beschreibungen sind nicht obligat.

Die Abgrenzung reaktiver LK-Veränderungen von lympho-hämatologische Neoplasien ist im Einzelfall eine differentialdiagnostische Herausforderung an den Pathologen, die meist immunhistologische und manchmal auch molekulargenetische Zusatzuntersuchungen erfordert: so zum Beispiel die Unterscheidung zwischen einem folliculären Lymphom und einer folliculären Hyperplasie, zwischen angio-immunoblastischem T-Zell Lymphom und reaktiver Hyperimmunreaktion, zwischen diffusem grosszelligem (immunoblastischem) B-Zell Lymphom und einer Mononukleose, oder dem klassischen Hodgkin Lymphom mit partieller interfollikulärer LK-Infiltration und einer reaktiven Lymphadenopathie. Auf der Seite

der reaktiven LK-Veränderungen gilt es von der unspezifischen (Begleit-)Lymphadenitis die gängigen **spezifischen Krankheitsbilder** wie die verkäsende oder nicht-verkäsende epitheloidriesenzellige Granulomatosen, die retikulozytär-abszedierende Lymphadenitis, die Piringer-Kuchinka Lymphadenitis, die Kikuchi Lymphadenitis oder die dermatopathische Lymphadenopathie zu unterscheiden. Je nach histopathologischer Befundkonstellation und klinischer Fragestellung sollten anschliessend spezifische Färbungen (z.B. Ziehl-Neelsen, Warthin-Starry, Grocott etc.) oder molekularpathologische Analysen zwecks Erreger Nachweis durchgeführt werden.

In Stichworten:

- Erstdiagnosen prinzipiell nur an Formalin-fixiertem Paraffinmaterial stellen
- Gute Diagnosen erfordern eine gute Schnittqualität (2µm)
- Morphologische Diagnosen (Arbeitshypothesen) immunhistologisch überprüfen und falls nötig molekulargenetisch absichern
- Molekulargenetik praktisch ausnahmslos auch am Paraffinmaterial möglich
- Molekulare Parameter nur im klinischen Gesamtkontext und im Abgleich mit Morphologie und Immunphänotyp interpretierbar
- Klassifikation von Lymphomen und Leukämien nach WHO 2017 (revidierte 4. Edition)
- In erster Differentialdiagnose gilt es neoplastische von reaktiven Veränderungen abzugrenzen
- In zweiter Differentialdiagnose gilt es spezifische von unspezifischen Reaktionen abzugrenzen

Die Lymphomdiagnostik ist sehr vielschichtig und komplex und sollte sinnvollerweise an hierfür speziell eingerichteten Instituten mit Zentrumsfunktion durchgeführt werden.

Referenzen

Steven H Swerdlow, Elias Campo, Nancy L Harris, Eliane S Jaffe, Stefano A Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, Daniel A Arber, Robert P Hasserjian, Michelle M Le Beau, Attilio Orazi, Reiner Siebert
WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (revised 4th Edition). International Agency for Research on Cancer, Lyon 2017.

Jaffe E et al., Hematopathology, Elsevier, 2nd Edition, 2017

Tzankov A and Dirrhofer S. A pattern-based approach to reactive lymphadenopathies.
Semin Diagn Pathol. 2018 35(1):4-19

Autoren:
S.B. Cogliatti, S. Dirrhofer
Oktober 2018