

# Knochenmark

## 1. Einleitung

Knochenmarkbiopsien, im Regelfall aus der *Crista iliaca posterior superior*, werden bei Lymphomstaging, Plasmazelledyskrasien inkl. Abklärung von M-Gradienten, Zytopenien, Anämien, Zytosen, blastären Leukämien, sowie im Rahmen von Untersuchungen bei unklarer Splenomegalie, suspekten chronischen Infektionen und Fieber unklarer Genese, bei Therapie- und Verlaufskontrollen von hämatologischen Neoplasien und nach Knochenmark- oder Stammzelltransplantationen, bei Staging von soliden, insbesondere kindlichen Neoplasien (z.B. Neuroblastom) sowie bei einigen anderen klinischen Fragestellungen entnommen (Bain, 2001; Campbell et al., 2003; Cotelingam, 2003; Diebold et al., 2000; Fend, 2013; Foucar et al., 2010; Weinzierl et al., 2013).

## 2. Klinische Angaben

Folgende klinische Angaben sind für eine integrative histopathologische Diagnostik von Knochenmarkbiopsien unentbehrlich:

- Klinische (Verdachts-) Diagnose
- Grund der Biopsieentnahme (z.B. Lymphomstaging, Abklärung einer Leukozytose, Panzytopenie etc.);
- Aktuelles Blutbild mit Differentialblutbild;
- Angaben über bekannte (hämatologische) Neoplasien, inkl. durchgeführte Chemo-/Radio-/Immuntherapien;
- Angaben über andere systemische Erkrankungen (z.B. granulomatöse Entzündungen, Autoimmunerkrankungen, Speicherkrankheiten etc.);
- Angaben über aktuelle bzw. vorangegangene, insbesondere myelotoxische/myelosuppressive Therapie (z.B. Azathioprin, Arsen etc.), Exposition gegenüber hämatopoietischen Wachstumsfaktoren (Erythropoietin, G- oder GM-CSF, Thrombopoietinrezeptoragonisten, Interferon etc.);
- Angaben über vorangegangene autologe/syngene oder allogene (Knochenmark-)Stammzelltransplantationen oder Organtransplantationen;
- Angaben über akute/chronische Viruserkrankungen (EBV, HBV, HCV, HHV8, Parvo-B19, etc.) oder allfällige andere Infektionen;
- Angaben über das Vorhandensein von Organomegalien;
- Allfällige weitere relevante Befunde/Angaben (z.B. Ergebnisse der Aspirationszytologie, Flow-/FACS-Analysen, Zytogenetik etc.).

## 3. Makroskopie

- Anzahl,
- Länge,
- Durchmesser der Knochenmarksstanze(n) sowie allfälliger Blutkoagel.

Eine Länge  $\geq 20$ mm bei Erwachsenen und  $\geq 5$ mm bei Kindern wird im Allgemeinen als adäquat für die Diagnostik angesehen (Campbell et al., 2003; Foucar et al., 2010; Reid and Roald, 1996).

- Knorpelanteile können im Rahmen der makroskopischen Aufarbeitung vor der Entkalkung entfernt werden.

#### 4. Aufarbeitung des Gewebes

- Routinemässige Fixierung in 10%-iger gepufferter Formalinlösung für mind. 24 bis max. 72 Stunden.
- Entkalkung mit meistens 14%-igem Ethylendiamintetraacetat (EDTA) für 8 bis maximal 48 Stunden
  - kann durch Verwendung von Laborgeräten beschleunigt werden
  - allfällige Entkalkerlösungsreste vor der weiteren Entwässerung entfernen, um andauernde Schädigungen der Makromoleküle (insbesondere DNS) zu vermeiden

#### 5. Färbungen

Mindestens 5 Objektträger für die konventionell-optische Beurteilung, gefärbt mit/nach (Stuart-Smith et al., 2005):

- Hämatoxylin und Eosin [1. und 5. Schnitt zur Erhöhung der Wahrscheinlichkeit der Detektion fokaler Läsionen (Brynes et al., 1978)]
- PAS (2. Schnitt),
- Giemsa (3. Schnitt),
- Gömöri (4. Schnitt).

##### 5.1. PAS Färbung:

- 5.1.1. bessere quantitative und qualitative Analyse der Myelo- und Megakaryopoiese sowie Detektion pathologischer megakaryozytärer (Zwerg- bzw. CML-typischer-)Formen,
- 5.1.2. Auffinden von Russel und Dutcher Einschlüssen in Plasma- und plasmazytoiden Zellen,
- 5.1.3. Charakterisierung allfälliger Einschlüsse in Histozyten,
- 5.1.4. Detektion von z.B. mykotischen Mikroorganismen (Diebold et al., 2000).

5.2. Zwecks Standardisierung der Myelofibroseggraduierung (Thiele et al., 2005; s. unten), soll die **Gömöri** Versilberung anderen Versilberungstechniken (z.B. Gordon-Sweet) vorgezogen werden. Da in maschinell erstellten **Gömöri** Versilberungen kollagene Fasern nicht detektiert werden können, muss bei entsprechender Fragestellung eine Masson-Trichromfärbung gemacht werden (Kvasnicka et al., 2016).

5.3. Allfällige Sonderfärbungen wie Kongorot, Grocott, Gram, Ziehl-Neelsen, D-PAS, Kossa etc. können ohne weiteres an den standardisiert aufgearbeiteten Biopsien, je nach Fragestellung, durchgeführt werden.

## 6. Diagnostische Informationen (Befundbericht)

Der Befundbericht sollte formell unterteilt werden in:

- Makroskopisch-mikroskopische Beschreibung
- Diagnose
- Kommentar
- Teil mit allfälligen Fragen an die zuweisenden klinischen Kolleginnen und Kollegen.

### 6.1 Mikroskopisch Beschreibung:

#### 6.1.1 Beurteilbarkeit der Biopsie:

1. Repräsentativ / nicht-repräsentativ
2. Zahl und Lokalisation (subkortikal-tief) der Markräume

#### 6.1.2 Aussage zur Zellularität

1. Hämatopoiese:Fettmark-Verhältnis in %
2. alterskorrelierte Angaben (Normal % Hämatopoiese = 100-Alter; z.B. normale Knochenmarkzellularität bei 80-jährigen Patienten 20%)

#### 6.1.3 Hämatopoietische Reifungsreihen

1. Megakaryopoiese
  - i. Menge
  - ii. Verteilung
  - iii. (Kern-)Atypien
2. Erythropoiese
  - i. Menge
  - ii. Verteilung
  - iii. Qualität (z.B. makroblastär, synchronisiert etc.)
3. Myelopoiese
  - i. Menge
  - ii. Verteilung
  - iii. Ausreifung/Qualität
4. Erythropoiese:Myelopoiese-Index (Norm 1:2-4)  
normal-erhöht-erniedrigt

#### 6.1.4 Unreife Zellen (Blasten)

1. Menge
2. abnorme Lokalisation (ALIP)
3. zytologische Merkmale (z.B. PAS-Positivität, Metachromasie)

#### 6.1.5 Lymphozyten und Plasmazellen

1. Menge
2. Infiltrationsmuster (z.B. intrasinusoidal, peritrabekulär, nodulär, diffus)
3. zytologische Merkmale

#### 6.1.6 Histozytäre Zellen

1. Menge
2. spezifische Eigenschaften (z.B. Granulombildung, sea-blue Charakter, Gaucher-Zellen, Emperipoese oder Hämophagozytose etc.)
3. abnorme Einschlüsse (z.B. Leishmanien, Pilze etc.)

#### 6.1.7 Markfremde Elemente: neoplastisch oder reaktiv, gegebenenfalls infektiös

6.1.8 Retikulinfasergehalt mit Myelofibrosegadangaben (Thiele et al., 2005)

6.1.9 Knochensubstanz: Qualität/Quantität, Umbauzeichen, Osteosklerose etc.

## 6.2 Diagnose:

- Kurz
- Präzise
- Orientierung an Begriffen und Formulierungen aus den gängigen WHO Klassifikationen (Swerdlow et al., 2017)
- Gegebenenfalls, unter Auflistung der 2-3 in Frage kommenden Differentialdiagnosen:

z.B. „Myeloproliferative Neoplasie ohne Myelofibrose, differentialdiagnostisch Frühform einer primären Myelofibrose versus essentielle Thrombozytämie“.

- Bei deskriptiven Diagnosen sollten mindestens Zellularität, Zusammensetzung und Durchreifung der Hämatopoiese in der Diagnose erwähnt werden:

z.B. „Hypozelluläres, trilineär durchreifendes, unspezifisch reaktiv verändertes blutbildendes Knochenmark“.

## 6.3 Kommentar:

- Allfällige klinisch-pathologische Korrelationen
- Wertigkeit der erhobenen Befunde im Kontext der Gesamtpräsentation
- Stellungnahmen zu allfälligen Diskrepanzen zwischen den komplementären Untersuchungen an Knochenmarkaspirationspräparaten und Knochenmarkstanzbiopsien (Dirnhofer et al., 2007)
- Empfehlungen seitens des befundenden Pathologen:

z.B. Verweis auf ausstehende Befunde oder Empfehlung zur Durchführung von weiteren Untersuchungen.

## 7 Molekulare Zusatzuntersuchungen

An Formalin-fixierten, EDTA-entkalkten Knochenmarksbiopsien können bei Bedarf zusätzliche molekularpathologische Untersuchungen (Immunhistochemie, *in situ* Hybridisierung, Polymerase-Kettenreaktion basierte Untersuchungen, NGS durchgeführt werden. Bezüglich dieser Zusatzuntersuchungen verweisen wir auf die einschlägige Literatur (Bartels et al., 2016; Fend et al., 2005; Fend et al., 2008; Kremer et al., 2005; Torlakovich et al., 2015).

## Referenzen

- Bain BJ. Bone marrow trephine biopsy. *J Clin Pathol.* 2001;54:737-42.
- Bartels S, Schipper E, Hasemeier B, Kreipe H, Lehmann U. Routine clinical mutation profiling using next generation sequencing and a customized gene panel improves diagnostic precision in myeloid neoplasms. *Oncotarget.* 2016;7:30084-93.
- Brynes RK, McKenna RW, Sundberg RD. Bone marrow aspiration and trephine biopsy. An approach to a thorough study. *Am J Clin Pathol.* 1978;70:753-9.

- Campbell JK, Matthews JP, Seymour JF, Wolf MM, Juneja SK; Australasian Leukaemia Lymphoma Group. Optimum trephine length in the assessment of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma. *Ann Oncol.* 2003;14:273-6.
- Cotelingam JD. Bone marrow biopsy: interpretive guidelines for the surgical pathologist. *Adv Anat Pathol.* 2003;10:8-26.
- Diebold J, Molina T, Camilleri-Broët S, Le Tourneau A, Audouin J. Bone marrow manifestations of infections and systemic diseases observed in bone marrow trephine biopsy review. *Histopathology.* 2000;37:199-211.
- Dirnhofer S, Went P, Tichelli A. Diagnostic problems in follow-up bone marrow biopsies of patients treated for acute and chronic leukaemias and MDS. *Pathobiology.* 2007;74:115-20.
- Fend F (Hrsg.). Knochenmarkdiagnostik. *Der Pathologe.* 2013;33:479-552.
- Fend F, Bock O, Kremer M, Specht K, Quintanilla-Martinez L. Ancillary techniques in bone marrow pathology: molecular diagnostics on bone marrow trephine biopsies. *Virchows Arch.* 2005;447:909-19.
- Fend F, Tzankov A, Bink K, Seidl S, Quintanilla-Martinez L, Kremer M, Dirnhofer S. Modern techniques for the diagnostic evaluation of the trephine bone marrow biopsy: Methodological aspects and applications. *Prog Histochem Cytochem* 2008;42:203-52.
- Foucar K, Reichard K, Czuchlewski D. Bone marrow pathology. 3<sup>rd</sup> ed. Chicago, ASCP Press; 2010.
- Kremer M, Quintanilla-Martinez L, Nährig J, von Schilling C, Fend F. Immunohistochemistry in bone marrow pathology: a useful adjunct for morphologic diagnosis. *Virchows Arch.* 2005;447:920-37.
- Kvasnicka HM, Beham-Schmid C, Bob R, Dirnhofer S, Hussein K, et al. Problems and pitfalls in grading of bone marrow fibrosis, collagen deposition and osteosclerosis - a consensus-based study. *Histopathology.* 2016;68:905-15.
- Reid MM, Roald B. Adequacy of bone marrow trephine biopsy specimens in children. *J Clin Pathol.* 1996;49:226-9.
- Stuart-Smith SE, Hughes DA, Bain BJ. Are routine iron stains on bone marrow trephine biopsy specimens necessary? *J Clin Pathol.* 2005;58:269-72.
- Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, van der Walt J, Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica.* 2005;90:1128-32.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. (eds.). WHO Classification of Tumours of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon. IARC Press, 2017.
- Torlakovic EE, Brynes RK, Hyjek E, Lee SH, Kreipe H, Kremer M, McKenna R, Sadahira Y, Tzankov A, Reis M, Porwit A; International Council for Standardization in Haematology. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow immunohistochemistry. *Int J Lab Hematol.* 2015;37:431-49.
- Weinzierl EP, Arber DA. The differential diagnosis and bone marrow evaluation of new-onset pancytopenia. *Am J Clin Pathol.* 2013;139:9-29.

---

Autoren:

A. Tzankov, S. Dirnhofer  
Oktober 2018