

Casuïstiek

Foutief-verhoogde plasmakalium- en lactaatdehydrogenaseconcentraties bij T-cel-prolymfocytenleukemie

M.R. HEINER-FOKKEMA¹, A.B. MULDER¹, A.L. GIJZEL² en L.J. van PELT¹

Een 67-jarige vrouw presenteerde zich met een extreme leukocytose ($581 \times 10^9/l$) ten gevolge van een T-prolymfocytenleukemie. In bloed werd een onwaarschijnlijk hoog plasmakalium van 17,9 mmol/l gemeten. In verband met de verdenking op een artefact hebben we de invloed van verschillende preanalytische condities bestudeerd op plasma- en volbloedkalium, plasmafosfaat, plasmalactaatdehydrogenase (LDH) en de leukocyten-differentiatie. Vergeleken met bloed afgenomen onder standaardafname- en -transportcondities (vacuümbuizen en buispost) had bloed dat druppelend was afgenomen in een open buis en ambulant was getransporteerd, lagere plasmakalium (5,3 versus 21,2 mmol/l), -LDH (2180 versus 3950 U/l) en in mindere mate -fosfaat (1,0 versus 1,2 mmol/l). Mede in verband met het herkennen van het tumorlyssyndroom en het juist inschatten van de prognose met de internationale prognostische index (IPI) score kan herkenning van een pseudohyperkaliëmie en een foutief-verhoogd LDH bij patiënten met extreme leukocytose van groot belang zijn.

Trefwoorden: Prolymfocytenleukemie; kalium; lactaatdehydrogenase; preanalyse

Klinische presentatie

Een 67-jarige vrouw presenteerde zich in ons ziekenhuis met een extreme leukocytose ($459 \times 10^9/l$ leukocyten). Haar perifere bloed bevatte 94% T-cellen met expressie van CD45, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7 en TcR-AB. Deze cellen waren negatief voor TdT, CD1, CD8 en CD34. In combinatie met het morfologische beeld werd de diagnose T-cel-prolymfocytenleukemie (T-PLL) gesteld. Bij opname van de patiënte voor de eerste chemokuur met CHOP en alemtuzumab (anti-CD52) werd opnieuw laboratoriumonderzoek verricht. Het leukocytenaantal was verder toegenomen tot $581 \times 10^9/l$. Het Hb was 8,5 mmol/l (MCV 101 fl) en het trombocyten aantal $89 \times 10^9/l$. Daarnaast werd een onwaarschijnlijk hoge plasmakaliumconcentratie

gemeten van 17,9 mmol/l. Het was evident dat de extreem hoge kaliumconcentratie moest zijn veroorzaakt door een artefact. Het is in ons ziekenhuis incidenteel voorgekomen dat bloed na afname in een EDTA-buis wordt overgeschonken in een heparinebuis. In dergelijke gevallen is de kaliumconcentratie ook extreem hoog en de calciumconcentratie onmeetbaar laag. Deze preanalytische fout kon hier worden uitgesloten. Ook een pseudohyperkaliëmie samenhangend met in vitrohemolyse is een bekend fenomeen in de klinische chemie en kon hier ook worden uitgesloten. Pseudohyperkaliëmie als gevolg van in-vitrolysis van extreme aantallen leukocyten is incidenteel gerapporteerd (1-4). Onze hypothese was dat een dergelijk mechanisme bij deze patiënte de verklaring zou kunnen zijn voor de hoge plasmakaliumconcentratie.

Het is gebruikelijk dat veneus bloed wordt afgenomen met een vacuümsysteem en via een buispostsysteem naar het laboratorium wordt verstuurd. Om bij deze patiënte een betrouwbaar plasmakalium te kunnen rapporteren en om meer inzicht te krijgen in het onderliggende fenomeen hebben wij de preanalyse op verschillende manieren beïnvloed. Wij onderzochten het effect van afname onder vacuüm versus afname in een spuit of microcontainer, het verzenden via buispost versus ambulant transport, het meten in volbloed versus meten in plasma (centrifugeren) en het effect van vertraging met 30 minuten in tijd in de verwerking van de monsters (tabel 1). Naast het effect op plasmakalium onderzochten wij het effect van deze variabelen op het plasmafosfaat, het -lactaatdehydrogenase (LDH) en de leukocyten-differentiatie.

Nadat patiënte toestemming had gegeven werd opnieuw bloed afgenomen. De eerste twee heparinebuizen en een EDTA-buis werden afgenomen (na gebruik van een stuwband) met vacuümbuizen via een vleugelnaaldsysteem. De EDTA-buis en één heparinebuis werden via de buispost naar het laboratorium gestuurd. Deze afnamecondities benaderen de gebruikelijke afnamecondities in ons ziekenhuis het meest. De tweede heparinebuis en alle overige monsters werden ambulant naar het lab gebracht om de invloed van het transport te minimaliseren. Via hetzelfde vleugelnaaldsysteem werd voorzichtig bloed via een plastic spuit zonder additieven opgezogen en overgebracht in een open heparinebuis. Twee heparinemicrotainers en een EDTA-microtainer werden gevuld door het bloed uit het slangetje rechtstreeks in de microtainer te laten

Afdeling Laboratoriumgeneeskunde¹ en Interne Geneeskunde², Universitair Medisch Centrum Groningen

Correspondentie: dr. M.R. Heiner-Fokkema, Universitair Medisch Centrum Groningen, Afd. Laboratoriumgeneeskunde, Kamer Y2.119, Huispostcode EA61, Postbus 30.001, 9700 RB Groningen
E-mail: m.r.heiner@lc.umcg.nl

druppelen. De eerste heparine- en de EDTA-microtainer werden zonder vertraging geanalyseerd, de tweede heparinemicrotainer met 30 minuten vertraging.

Kalium werd geanalyseerd in heparinevolbloed op een ABL-700 bloedgasanalyser (Radiometer Nederland BV, Zoetermeer, Nederland) en na centrifugeren in heparineplasma in de ISE-module van de Modular (Roche Diagnostics, Mannheim, Duitsland). Fosfaat en LDH werden geanalyseerd in heparineplasma in de P-module (Roche Diagnostics, Mannheim, Duitsland). Het hematologische bloedbeeld met machine en microscopische differentiatie werd bepaald uit EDTA-bloed. Het bloedbeeld werd geanalyseerd met een Sysmex XE-2100 (Goffin Meyvis, Etten-leur, Nederland).

Onder standaardafnamecondities (conditie 1) maten wij een plasmakaliumconcentratie van 21,2 mmol/l. Onder de meest optimale condities (open systeem, geen vacuüm, ambulante transport, meting in volbloed op de bloedgasmeetapparatuur; conditie 5) maten wij een kaliumconcentratie van 4,7 mmol/l. Wij zagen eenzelfde effect op het plasma-LDH (3950 versus 2180 U/l) en in mindere mate op het plasmafosfaat (1,2 versus 1,0 mmol/l). Meting in plasma met voorafgaand centrifugeren, 30 minuten vertraging in de verwerking van de monsters, afname onder weinig druk (spuit), afname onder vacuüm (vacutainer) en transport in buispost gaven in genoemde volgorde in toenemende mate verhoging van het plasmakalium en -LDH. Plasmafosfaat werd alleen verhoogd gemeten bij de standaardconditie 1 (tabel 1). Vooral transport met buispost bleek een aanzienlijke invloed te hebben op het kalium (21,2 versus 9,2 mmol/l) en LDH (3950 versus 3020 U/l).

Omdat de gedachte is dat de verhoogde kalium- en LDH-concentraties veroorzaakt worden door in-vitrolysis van leukocyten, hebben we tevens gekeken naar de celtelling en differentiatie door de SYSMEX en de microscopische differentiatie onder standaard- (conditie 1) en optimale condities (conditie 5). Wij zagen geen verandering in de leukocytentelling (657 versus 655 x 10⁹/l). Wel zagen wij in de scattergrammen van de differentiatie een extra populatie 'events' in het monster dat met de buispost was verstuurd. Deze populatie 'events' kenmerkte zich door een zijwaartse lichtverstrooiing die vergelijkbaar was met de lichtverstrooiing van de (pro) lymfocyten en door een lage fluorescentie-intensiteit (figuur 1). Deze populatie komt normaliter niet voor. De microscopische diffe-

Tabel 1. Invloed bloedafname, -transport en -verwerking op volbloed- en plasmakalium, plasmafosfaat en plasma-LDH.

Conditie	1	2	3	4	5
Volbloed-K ⁺ (mmol/l)					4,7
Plasma-K ⁺ (mmol/l)	21,2	9,2	7,6	6,3	5,3
Plasmafosfaat (mmol/l)	1,2	0,97	0,96	0,99	1,0
Plasma-LDH (U/l)	3950	3020	2740	2490	2180

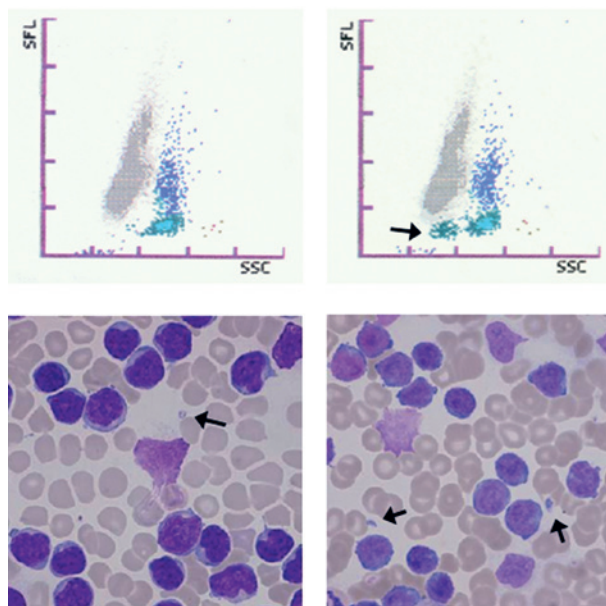
Conditie 1: vacutainer, transport met buispost, verwerking na 30 min (standaard). Conditie 2: vacutainer, ambulante transport, verwerking na 30 min. Conditie 3: spuit, ambulante transport, verwerking na 30 min. Conditie 4: microtainer, ambulante transport, verwerking na 30 min. Conditie 5: microtainer, ambulante transport, verwerking direct (optimaal).

rentiatie liet in beide preparaten minimale hoeveelheden 'lymphoglandular bodies' zien (figuur 1). Dit zijn afsnoeringen van het cytoplasma van lymfocyten, welke regelmatig bij (vooral B-cel) lymfoproliferatieve afwijkingen gezien worden. In beide difpreparaten waren verder veel polymfocyten en Gumprechtsche schollen (6-10/100 leukocyten) zichtbaar.

Tijdens de behandeling was het niet mogelijk om telkens een juiste afname te verrichten. Bij leukocyten >300 x 10⁹/l is er een aantal malen een foutief-verhoogd kalium (en waarschijnlijk ook LDH) gemeten, zie figuur 2. Zes weken na de start van de behandeling was het aantal leukocyten gedaald tot 1,8x10⁹/l, bij een Hb van 5,7 mmol/l (MCV 93 fl) en trombocyten van 159x10⁹/l. Het plasmakalium was genormaliseerd tot 3,7 mmol/l en het -LDH tot 272 U/l. Het kalium was sterk gecorreleerd aan het LDH (zie figuur 2, r=0,897).

Beschouwing

De casus maakt aannemelijk dat foutief-verhoogd gemeten kalium en LDH in plasma kan voorkomen bij patiënten met lymfatische maligniteiten met een extreme lymfocytose. Het voorkomen van een pseudohyperkaliëmie bij hoge leukocytenaantallen is een vaker in de literatuur beschreven verschijnsel. Vooral metingen van kalium in serum zijn gevoelig voor extreme leukocytose (5-8), waarschijnlijk doordat cellen beschadigd raken tijdens de vorming van het stolsel. In de aangehaalde studies corrigeerde het kalium ook na een herhaling van de meting in plasma. Tegenwoordig wordt kalium vrijwel



Figuur 1. Afbeeldingen van de machine- en microscopische differentiatie onder de optimale (links, conditie 5) en de standaardcondities (rechts, conditie 1). Opvallend is de populatie 'events' (rechtsboven, aangegeven met een pijl) die alleen aanwezig is bij het monster dat onder de standaardcondities is afgenomen. De pijlen in de microscopische differentiaties (links- en rechtsonder) duiden 'lymphoglandular bodies' aan. SSC = 'side scatter', SFL = 'side fluorescence'. De leukocytendifferentiatie van de SYSMEX XE-2100 is gebaseerd op de zijwaartse en voorwaartse lichtverstrooiing en de fluorescentie-intensiteit van een label. De label is gebonden aan polymethine dat bindt aan RNA en DNA en wordt toegevoegd nadat de leukocyten lichtpermeabel zijn gemaakt.

altijd in plasma gemeten en wordt pseudohyperkaliëmie bij leukocytose nog slechts zelden gezien. Er zijn enkele beschrijvingen van pseudohyperkaliëmie in plasma bij (vooral lymfatische) leukemieën, waaronder chronische en acute lymfatische leukemie, en het mantelcellymfoom (1-4). Verschillende redenen werden gegeven voor de stijging van plasmakalium, waaronder mechanische celschade door afname onder vacuüm (1) of door heparinebeads (2). Ook heparinegeïnduceerde schade aan de celmembraan is voorgesteld (3). In één van de laatste beschrijvingen werd transport van het monster via een buispostsysteem als belangrijke oorzaak van de pseudohyperkaliëmie aangemerkt (4). Uit onze gegevens blijkt dat het preanalytische proces niet alleen kalium, maar ook het LDH en in geringe mate het fosfaat, significant kan beïnvloeden in geval van extreme leukocytose. Voor LDH is dit problematisch, omdat deze parameter onderdeel uitmaakt van de internationale prognostische index (IPI) score bij lymfatische maligniteiten. Voor zover ons bekend is dit nog niet eerder beschreven. Bij normalisatie van het LDH onder optimale afnamecondities kan de IPI-score gunstiger uitpakken met potentiële consequenties voor de behandeling. Bij onze patiënte was dit overigens niet het geval.

Onze experimenten geven geen definitief bewijs voor het mechanisme dat verantwoordelijk is voor het foutief-verhoogde kalium en LDH bij onze patiënte, al is mechanische schade het meest voor de hand liggend. Mogelijk representeren de extra 'events' in het scattergram van het met de buispost verstuurde monster in figuur 1 een toename van 'lymphoglandular bodies'. Dit blijkt helaas niet direct uit de microscopische differentiatie van beide preparaten. Het is overigens niet bekend of 'lymphoglandular bodies' ontstaan ten gevolge van een natuurlijk proces of (mede) als artefact door het verwerken van patiëntenmateriaal (9). In het laatste geval is het niet ondenkbaar dat tijdens de vorming van de cytoplasmfragmenten kalium en LDH in het bloed terecht komen.

Bij onze patiënt leken meerdere factoren verantwoordelijk voor de extreme hyperkaliëmie. De kaliumwaarden waren bij haar zo onwaarschijnlijk hoog dat een artefact evident was. Wanneer de leukocytose minder extreem is zal de bijdrage van een in-vitroartefact wellicht minder snel worden herkend. Bij patiënten met

een extreme leukocytose (mogelijk al vanaf $100 \times 10^9/l$) (4)) moet men daarom bedacht zijn op een foutief-verhoogd plasmakalium én op een foutief-verhoogd LDH. Bij twijfel verdient het aanbeveling om bloed ongestuwd en met een open systeem af te nemen, het materiaal niet via een buispostsysteem te versturen en de kaliumbepaling in volbloed te verrichten. Bij aanvang van de behandeling van patiënten met een extreme leukocytose moet rekening worden gehouden met het optreden van een reële hyperkaliëmie als gevolg van het tumor lysisyndroom. Herkenning van en aandacht voor een pseudohyperkaliëmie component kan dan van groot belang zijn. Eenzelfde redenering gaat op voor LDH, aangezien dit onderdeel uitmaakt van de IPI-score voor lymfatische maligniteiten.

Literatuur

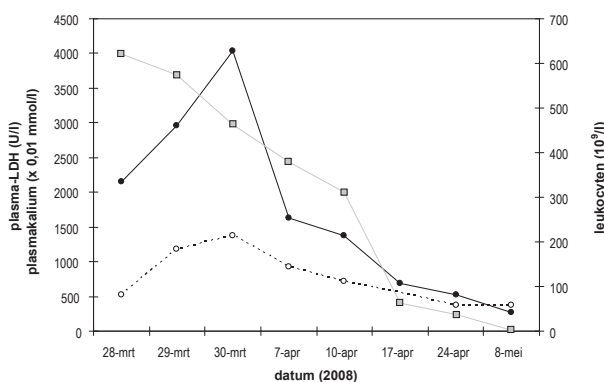
1. Colussi G, Cipriani D. Pseudohyperkalemia in extreme leukocytosis. *Am J Nephrol* 1995; 15: 450-2.
2. Holland MR, Jacobs AG, Kitis G. Pseudohyperkalemia in acute lymphocytic leukaemia. *Lancet* 1976; 2: 1139.
3. Singh PJ, Zawada ET, Santella RN. A case of reverse pseudohyperkalemia. *Miner Electrolyte Metab* 1997; 23: 58-61.
4. Kellerman PS, Thornberry JM. Pseudohyperkalemia due to pneumatic tube transport in a leukemic patient. *Am J Kidney Dis* 2006; 46: 746-48.
5. Sevastos N, Theodossiades G, Efstathiou S, Papatheodoridis GV, Manesis E, Archimandritis AJ. Pseudohyperkalemia in serum: the phenomenon and its clinical magnitude. *J Lab Clin Med* 2006; 147: 139-44.
6. Chumbley LC. Pseudohyperkalemia in acute myelocytic leukemia. *JAMA* 1970; 211: 1007-9.
7. Bronson WR, DeVita VT, Carbone PP, Cotlove E. Pseudohyperkalemia due to release of potassium from white blood cells during clotting. *N Engl J Med* 1966; 274: 369-75.
8. Nanji AA. Unnecessary treatment of hyperkalemia in a patient with chronic granulocytic leukemia. *Can Med Assoc J* 1983; 129: 1180.
9. Michel RB, Mattes MJ. Antibodies to CD20 and MHC class II antigen bound to B-lymphoma cells accumulate in shed cytoplasmic fragments. *Br J Cancer* 2004; 91: 1500-7.

Summary

Heiner-Fokkema MR, Mulder AB, Gijzel AL, Pelt LJ van. T-cell prolymphocytic leukaemia associated with falsely increased plasma potassium and lactate dehydrogenase concentrations. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 199-201.

The case of a 67 year-old patient presented with an extremely elevated leukocyte count ($581 \times 10^9/l$) as a result of a T-cell prolymphocytic leukaemia is discussed. Blood analysis revealed a markedly elevated plasma-potassium concentration of 17.9 mmol/l. An artefactual increase was suspected. We therefore investigated the influence of pre-analytical conditions on plasma and whole blood potassium, plasma phosphate, plasma lactate dehydrogenase (LDH) and leukocyte differentiation. Compared with blood that was drawn in vacutainers and transported by pneumatic tube transport, blood drawn by an open system (free flow into an open tube) and brought by ambulant transport had lower plasma potassium (5.3 versus 21.2 mmol/l) and LDH (2180 versus 3950 U/l). The effect was less pronounced for phosphate (1.0 versus 1.2 mmol/l). For diagnosing a tumor lysis syndrome and for correct calculation of the international prognostic index score, recognition of a pseudohyperkalemia and a falsely elevated LDH can be of great importance for patients with extreme leukocytosis.

Keywords: Prolymphocytic leukaemia; potassium; lactate dehydrogenase; pre-analytic



Figuur 2. Verloop van plasmakalium (○), plasma-LDH (●) en totaal leukocyten (□) na start van de behandeling. Plasmakalium en -LDH waren na herhaling van de meting op 30 maart respectievelijk 3,9 mmol/l en 2180 U/l.