

Een schaap in wolfskleren: ernstige foliumzuurdeficiëntie vermomd als trombotische trombocytopenische purpura

A sheep in wolf's clothing: severe folic acid deficiency disguised as thrombotic thrombocytopenic purpura

dr. T.S. Stutvoet^{1,7}, drs. L.C.M. Grijpink^{2,8}, dr. M.N. Gerding^{3,7}, dr. J.B. de Kok^{4,7}, dr. N.E. Leeuwis-Fedorovich^{5,7}, dr. C. Siemes^{6,7}

SAMENVATTING

Achtergrond: Directe antiglobulinetest (DAT)-negatieve hemolytische anemie kent een groot aantal oorzaken, waaronder trombotische trombocytopenische purpura (TTP). De diagnose TTP wordt bevestigd door aanwezigheid van een lage plasma-ADAMTS13-activiteit. Tot recent kon deze meting tot twee dagen duren. Omdat TTP resulteert in snel progressief orgaanfalen, moet veelal worden gestart met behandeling voordat de diagnose kan worden bevestigd. **Casus:** Een 39-jarige patiënte presenteert zich met een diepe DAT-negatieve hemolytische anemie, trombopenie en fragmentocyten. Vanwege een hoge verdenking op TTP werd gestart met therapeutische plasmawisselingen, prednison en transfusie met erythrocytenconcentraten. Na twee dagen kwam een normale uitslag van de ADAMTS13-bepaling terug en werd de diagnose TTP verworpen. Haar anemie bleek uiteindelijk te berusten op een foliumzuurdeficiëntie door een gebrekkig dieet.

Conclusie: Een gestructureerde en complete analyse is essentieel om de oorzaak van hemolytische anemie vast te stellen. De aanwezigheid van fragmentocyten hoeft hierbij geen teken van trombotische microangiopathie of TTP te zijn, maar kan bijvoorbeeld ook worden veroorzaakt door foliumzuurdeficiëntie. Belangrijke aanwijzingen voor een onderliggende foliumzuurdeficiëntie bij deze patiënten zijn de aanwezigheid van een macrocytair bloedbeeld, meerdere vormafwijkingen in de bloeditstrijk, laag reticulocytengetal en normaal bilirubine. Een snelle ADAMTS13-bepaling, die momenteel in Nederland binnen enkele uren kan worden uitgevoerd, had de verdenking op TTP kunnen weerleggen en nodeloze plasmaferese kunnen voorkomen.

(NED TIJDSCHR HEMATOL 2024;21:137-42)

SUMMARY

Background: Direct antiglobulin test (DAT)-negative haemolytic anemia has many causes, including

¹arts in opleiding tot internist, afdeling Interne Geneeskunde, ²promovendus virologie, afdeling Medische Microbiologie, ³internist-endocrinoloog, afdeling Interne Geneeskunde, ⁴klinisch chemicus, afdeling Klinische Chemie, ⁵patholoog, afdeling Klinische Pathologie, ⁶internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde, ⁷Deventer Ziekenhuis, ⁸LUMC.

Correspondentie graag richten aan: dhr. dr. T.S. Stutvoet, arts in opleiding tot internist, afdeling Interne Geneeskunde, Deventer Ziekenhuis, Nico Bolkesteinlaan 75, 7416 SE Deventer, tel.: 0570 53 53 53, e-mailadres: t.stutvoet@dz.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Dankwoord: We bedanken de medewerkers van de benaderde laboratoria om de snelle en duidelijke beantwoording van onze vragen omtrent ADAMTS13-diagnostiek in hun centrum.

Trefwoorden: ADAMTS13-activiteitsbepaling, directe antiglobulinetest (DAT), foliumzuurdeficiëntie, hemolytische anemie, trombotische microangiopathie, trombotische trombocytopenische purpura

Keywords: ADAMTS13 activity measurement, direct antiglobulin test (DAT), folic acid deficiency, haemolytic anemia, thrombotic microangiopathy, thrombotic thrombocytopenic purpura

ONTVANGEN 14 NOVEMBER 2023, GEACCEPTEERD 9 JANUARI 2024.

thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Low ADAMTS13-activity in peripheral blood confirms this diagnosis. However, this measurement can take up to two days. Because TTP causes rapid organ failure, treatment frequently needs to commence before the conclusive diagnosis can be established. *Case description:* A 39 year-old patient presented with a severe DAT-negative haemolytic anemia with thrombopenia and schistocytes. Because of a high level of suspicion of TTP, treatment with therapeutic plasma exchange, steroids, and red blood cell transfusion was commenced. After two days the ADAMTS13-activity returned normal, excluding TTP. It was determined that the anemia was caused by a folic acid deficiency due to an insufficient diet.

Conclusion: A complete and structured work-up is essential to determine the cause of haemolytic anemia. The presence of schistocytes in a patient with DAT-negative haemolytic anemia does not necessarily point to thrombotic microangiopathy or TTP, but can, for instance, be caused by folic acid deficiency. Important clues for an underlying folic acid deficiency in this setting are the presence of macrocytosis, multiple morphologic erythrocyte changes, low reticulocyte count and normal bilirubin. Rapid ADAMTS13-measurement, which is available in multiple hospitals in the Netherlands within several hours, could have excluded TTP and prevented needless therapeutic plasma exchange.

INLEIDING

Directe antiglobulinetest (DAT)-negatieve hemolytische anemie kan worden veroorzaakt door een breed scala aan onderliggende ziekten. Met behulp van klinisch en laboratoriumonderzoek kunnen snel aanwijzingen voor het onderliggende probleem worden verkregen.¹ Het is van groot belang dit op gestructureerde wijze te doen, zoals wordt onderstreept door het beloop in onderstaande casus.

ZIEKTEGESCHIEDENIS

Een 39-jarige patiënte met een milde verstandelijke beperking presenteerde zich op de Spoedeisende Hulp in verband met dyspneu ten gevolge van een diepe macrocytaire anemie (zie *Tabel 1*). Hierbij had zij een tachycardie van 115 per minuut en inferolaterale ST-segmentdepressie op ECG. Laboratoriumonderzoek toonde een DAT-negatieve hemolytische anemie met trombopenie, laag reticulocytengetal en lage reticulocyten-proliferatie-index (0,7%). Oorzaken van DAT-negatieve anemie, waaronder membraanafwijkingen, hemoglobinoopathiën, infecties, diffuse intravasale stolling of gebruik van medicatie of toxines werden onwaarschijnlijk geacht of uitgesloten door middel van laboratoriumdiagnostiek. Uitstrijk van het perifere bloed toonde fragmentocyten, anisocytose en hypersegmentkernige neutrofielen. De combinatie van een DAT-negatieve hemolytische anemie met fragmentocyten en trombocytopenie werd geduid als trombotische microangiopathie (TMA). Om de kans op trombotische trombocytopenische purpura (TTP) in te schatten werd de PLASMIC-score berekend, die een 72% kans op een TTP voorspelde. Er werd na afname van bloed voor de

ADAMTS13-bepaling gestart met de behandeling voor TTP met therapeutische plasmawisselingen en prednison op de Intensive Care. Na twee dagen bleek de ADAMTS13-activiteit normaal (56, normaal 30-200%), waarmee de werkdiagnose TTP werd verworpen. Het beeld werd uiteindelijk geduid als een ernstige foliumzuurdeficiëntie. Deze was bij opname al vastgesteld, maar door de ernst van het beeld niet aangewezen als primaire oorzaak. Na de start van foliumzuursuppletie liep het reticulocytengetal op, wat werd gevolgd door herstel van de anemie (zie *Tabel 2*, pagina 140). Op dag 6 van de opname bleek de deficiëntie te berusten op een eenzijdig dieet, dat sinds maanden had bestaan uit witbrood met chocoladepasta en cola. Zij verbleef gedurende drie dagen op de Intensive Care, alwaar ze in totaal zeven erythrocytenconcentraten en 43 eenheden plasma ontving. Haar bloedbeeld herstelde volledig en er trad geen recidief op.

BESCHOUWING

Bij de bovenstaande casus werd snel na presentatie hemolyse vastgesteld op basis van een verlaagd haptoglobine en verhoogd LDH. Door een negatieve DAT werden hemolytische ziektebeelden uitgelokt door circulerende erythrocytenantistoffen uitgesloten. DAT-negatieve hemolytische anemie kan worden veroorzaakt door een breed scala aan aangeboren en verworven oorzaken, waaronder medicatie, infectie, hereditaire membraan-, hemoglobine- of metabole afwijkingen, mechanische oorzaken, toxines, diffuse intravasale stolling en TMA.² TMA is een syndroom waarbij door een onderliggende ziekte intravasculaire hemolyse, trombocytenverbruik en microvasculaire

vaatocclusies ontstaan. TTP is hiervan een zeldzame vorm en gaat meestal gepaard met neurologische verschijnselen en koorts, waar in deze casus geen sprake van was. Hierbij remmen autoantistoffen ADAMTS13-activiteit, waardoor Von-Willebrand-multimeren niet worden geknipt en aggregatie van trombocyten optreedt. Omdat dit resulteert in trombusvorming, snel progressieve orgaanschade en mogelijk overlijden, is het noodzakelijk om bij een verdenking op TTP vroegtijdig te starten met therapeutische plasmawisselingen, immuunsuppressie en eventueel directe remming van de Von-Willebrandfactor-trombocytinteractie.² Tot recentelijk kon de diagnose van TTP door middel van bepaling van de ADAMTS13-activiteit niet worden afgewacht, aangezien deze bepaling tot enkele dagen kon duren. Om bij de eerste opvang van een patiënt met TMA de kans op TTP te bepalen is de PLASMIC-score ontwikkeld. Deze bestaat uit zeven parameters (bloedplaatjes-niveau, de aanwezigheid van hemolyse, actieve maligniteit, transplantatie-ontvanger, MCV, INR en kreatinine) en kan het risico op een ernstige ADAMTS13-deficiëntie (gedefinieerd als ADAMTS13-activiteit <15%) berekenen bij patiënten met trombopenie (bloedplaatjes <150) en fragmentocyten in de bloeduitstrijk. Bij een hoge PLASMIC-score is de toegevoegde waarde van therapeutische plasmawisselingen zeer waarschijnlijk en dienen deze binnen 4-6 uur te worden gestart.³ Plasmawisselingen substitueren ADAMTS13 en verwijderen de aanwezige remmende antistoffen. Bij 85% van de patiënten komt de TTP hiermee onder controle. Plasmawisselingen kunnen echter ook resulteren in ernstige complicaties, waaronder anafylaxie, transfusie-gerelateerde acute longschade en ontregeling van het circulerend volume, en gaan gepaard met hoge kosten.⁴ Correcte indicatiestelling is daarom belangrijk. Sinds enkele jaren kunnen de meeste academische centra in Nederland ADAMTS13-activiteit binnen enkele uren bepalen, wat in spoedsituaties ook voor andere ziekenhuizen wordt gedaan (zie Tabel 3, pagina 140). In de huidige casus werd op basis van een verdenking op TTP en een hoge PLASMIC-score gestart met plasmawisselingen. Een spoedbepaling van ADAMTS13-activiteit in een academisch centrum had deze nodeloze plasmawisselingen kunnen voorkomen en dient bij een verdenking op TTP te worden overwogen.

In deze casus bleek de ernstige anemie uiteindelijk volledig te berusten op een foliumzuurdeficiëntie. De initiële laboratoriumbevindingen hadden ons reeds op dit spoor kunnen zetten. De fragmentocyten die in de perifere bloeduitstrijk werden gevonden, kunnen passen bij TMA, maar zijn hiervoor niet specifiek. Andere oorzaken voor de aanwezigheid van fragmentocyten zijn onder andere

TABEL 1. Relevant laboratoriumonderzoek bij opname.

	Waarde	Normaal-waarde	Eenheid
Hematologie			
Bezinking	116	0-20	mm/u
Hemoglobine	1,4	7,5-10,0	mmol/l
Hematocriet	0,07	0,36-0,46	l/l
MCV	114	80-100	fl
Reticulocyten	11	25-110	/nl
Leukocyten	7,4	4,0-10,0	/nl
Trombocyten	29	150-400	/nl
Differentiatie			
Basofielen	0,00	0-0,2	/nl
Eosinofielen	0,09	0-0,5	*10 ⁹ /l
Neutrofielen	4,7	1,5-7,5	/nl
Lymfocyten	2,4	1,0-3,5	/nl
Monocyten	0,22	0,1-1,0	/nl
Stolling			
APTT	29	26-34	sec
PT	17	12-15	sec
Fibrinogeen	3,8	2,0-4,5	g/l
D-dimeer	2.320	0-500	µg/l
DAT	NEG		
Chemie			
Kreatinine	71	50-90	mmol/l
CRP	58	0-10	mg/l
Bilirubine			
Totaal	19	0-17	µmol/l
Direct	8	0-5	µmol/l
LDH	3.268	0-250	U/l
Haptoglobine	<0,1	0,4-2,00	g/l
IJzersaturatie	91	15-45	%
Ferritine	609	20-150	µg/l
Vitamine B12	196	150-700	pmol/l
Foliumzuur	2,7	>8,8	nmol/l

mechanische hartkleppen, HELLP-syndroom, maligne hypertensie en aangeboren en verworven erythrocytafwijkingen zoals membraan- en cytoskeletdefecten en megaloblastaire anemie.⁵ Bij presentatie was er een macrocytair bloedbeeld, laag reticulocytengetal en toonde de bloeduitstrijk hypersegmentkernigen. Deze combinatie past bij

blastaire anemie.⁵ Bij presentatie was er een macrocytair bloedbeeld, laag reticulocytengetal en toonde de bloeduitstrijk hypersegmentkernigen. Deze combinatie past bij

TABEL 2. Beloop van het rode bloedbeeld tijdens en na opname.

	Waarde				Normaal-waarde	Eenheid
	Dag 1	Dag 5	Dag 17	Dag 152		
Hemoglobine	1,4	4,9	5,6	8,3	7,5-10,0	mmol/l
Hematocriet	0,07	0,24	0,29	0,41	0,36-0,46	l/l
MCV	114	100	99	85	80-100	fl
Reticulocyten	11	299	70	–	25-110	/nl
Trombocyten	29	24	432	260	150-400	/nl
Bilirubine Totaal Direct	19 8	19 8	– –	7	0-17 0-5	μmol/l μmol/l
Haptoglobine	<0,1	-	1,4	1,7	0,4-2,00	g/l
LDH	3.268	738	379	253	0-250	U/l

TABEL 3. De beschikbaarheid van spoeddiagnostiek naar ADAMTS13 in Nederlandse academische centra.

	Type test	Beschikbaarheid en doorlooptijd spoedbepaling*	Toegang voor externen
Amsterdam UMC	Ceveron - techoclone	24/7 beschikbaar, doorlooptijd binnen kantooruren <1 uur	Ja, via dienstdoende klinisch chemicus
UMCG	AcuStar	24/7 beschikbaar, doorlooptijd ½ uur	Ja, via dienstdoende klinisch chemicus
LUMC	FRETS-VWF73 fluorescentie	24/7 beschikbaar, doorlooptijd 2,5 uur	Nee
MUMC+	AcuStar	Tussen 08.30-20.00 uur contact opnemen, doorlooptijd 2-4 uur, vanaf medio 2024 24/7 beschikbaar	Ja, via dienstdoende klinisch chemicus
Radboudumc	Ceveron - technoclone	<48 uur, CITO in overleg	Ja, bij specifieke afspraken met het laboratorium
Erasmus MC	AcuStar	24/7 beschikbaar, doorlooptijd <2 uur	Ja, via analist hemostase (24/7) en hoofdanalist (kantooruren)
UMC Utrecht	AcuStar	24/7 beschikbaar, doorlooptijd <2 uur	Ja, via dienstdoende klinisch chemicus
Sanquin	FRETS-VWF73 fluorescentie	Op werkdagen op dezelfde dag, daarbuiten niet	Telefonisch contact Sanquin, stolling

*Doorlooptijd zodra het sample aanwezig is op het laboratorium, buiten kantooruren moet in verschillende centra een analist worden opgeroepen en kan de doorlooptijd langer zijn.

AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1** Directe antiglobulinetest-negatieve hemolytische anemie kent vele oorzaken, derhalve is een gestructureerde analyse belangrijk voor het stellen van de juiste diagnose.
- 2** De aanwezigheid van fragmentocyten betekent niet altijd de aanwezigheid van trombotische microangiopathie.
- 3** Overweeg een ernstige foliumzuur- of vitamine B12-deficiëntie bij patiënten met een verdenking op trombotische microangiopathie.
- 4** Patiënten met een foliumzuur- of vitamine B12-deficiëntie-gerelateerd trombotische microangiopathie-achtig beeld hebben een diepe, macrocytaire anemie met laag reticulocytengetal en normaal bilirubine, in tegenstelling tot patiënten met trombotische trombocytopenische purpura, waarbij vaker een normocytaire anemie met een hoog reticulocytengetal en verhoogd bilirubine wordt gezien.
- 5** Sneldiagnostiek naar ADAMTS13 is steeds breder toegankelijk in Nederlandse ziekenhuizen en kan in een vroeg stadium trombotische trombocytopenische purpura uitsluiten om nodeloze invasieve behandeling te voorkomen.

verstoorde erytro- en myelopoëse door bijvoorbeeld een deficiëntie. Foliumzuur is met vitamine B12 als cofactor essentieel voor de aanmaak van DNA en RNA in hematopoëtische voorlopercellen.⁶ Bij een deficiëntie in een van beide ontstaat er een disbalans tussen ontwikkeling van de kern en het cytoplasma, resulterend in een macrocytair of megaloblastair bloedbeeld en anemie. In myeloïde cellen zorgt de disbalans van DNA-synthese en kerneiwitten voor hypersegmentatie.⁷ Deficiënties worden veroorzaakt door verminderde inname van B12- of foliumzuurhoudende producten, alcoholgebruik of verstoorde opname vanuit de darmen. Na de start van suppletie van de deficiëntie begint het bloedbeeld na enkele dagen te herstellen. Er zijn meerdere patiënten met een TMA-achtig beeld door een ernstige vitamine B12-deficiëntie beschreven, zoals ook recentelijk in het Nederlands Tijdschrift voor Hematologie.⁸⁻¹⁰ Waarschijnlijk veroorzaken foliumzuur- en vitamine B12-deficiëntie hemolyse door hyperhomocysteïnemie-gerelateerde endotheeldisfunctie en toegenomen kwetsbaarheid van erythrocyten. Tevens kan de kenmerkende poikilocytose worden verward met de aanwezigheid van fragmentocyten.¹¹ Slechts eenmaal eerder is een patiënt met een TMA-achtig beeld ten gevolge van geïsoleerde foliumzuurdeficiëntie beschreven, dit betrof echter een patiënte met verstoorde foliumzuuropname ten gevolge van een 'roux-en-y-gastric bypass'.¹² Deze casus toont dat foliumzuurdeficiëntie ook bij normale anatomie een TMA-achtig beeld kan veroorzaken.

Door vroeg in het behandeltraject het onderscheid tussen

TMA en een TMA-achtig beeld door deficiënties te maken, kunnen mogelijk schadelijke behandelingen en verlate start van foliumzuur- of B12-suppletie worden voorkomen. Van 41 retrospectief verzamelde patiënten met een TMA-achtig beeld door een deficiëntie ondergingen 14 patiënten plasmawisselingen. Twee van hen ontwikkelden hierdoor een ernstige complicatie (anafylaxie en pneumothorax tijdens lijnplaatsing).⁹ Patiënten in dit cohort hadden een diepe anemie (gemiddeld 3,41 mmol/l), waarvan het merendeel een macrocytair bloedbeeld had (54% van de patiënten) met aanwezigheid van fragmentocyten (76%), hypersegmentkernige neutrofielen (62%) en trombopenie (80,5%). Opvallend is dat alle patiënten in dit cohort een normale of verlaagde reticulocyten-proliferatie-index hadden (100% van patiënten <3,0% en 90% <2,0%). In een tweede retrospectieve cohortstudie hadden patiënten met een TMA-achtig beeld door een deficiëntie ook een gemiddeld lagere reticulocyten-index dan patiënten met een TMA (0,4 vs. 2,4%).⁸ Verder hadden deze patiënten een diepere anemie (3,8 vs. 5,8 mmol/l), hoger MCV (109 vs. 86 fl), mildere trombopenie (160 vs. 27/ μ l), hoger LDH (3.539 vs. 1.183 IU/l), lager bilirubine (27 vs. 89 μ mol/l) en lagere PLASMIC-score (4,9 vs. 6,1) dan patiënten met een TMA. In deze casus had de combinatie van het monotone dieet, hoge MCV, lage reticulocytengetal en lage proliferatie-index, de hypersegmentkernigen, aanwezigheid van meerdere morfologische erythrocytenafwijkingen en slechts licht verhoogde bilirubine ons in een eerder stadium op het spoor kunnen zetten van de foliumzuurdeficiëntie.

CONCLUSIE

Gestructureerde analyse is essentieel voor het vaststellen van de juiste oorzaak van DAT-negatieve anemie. De aanwezigheid van fragmentocyten in de perifere bloeditstrijk kan passen bij TMA, maar dit hoeft niet altijd het geval te zijn. TTP is een ernstige en levensbedreigende oorzaak van TMA en bij een verdenking dient behandeling snel te worden gestart. Door de verbeterde beschikbaarheid van sneldiagnostiek naar ADAMTS13-activiteit kan TTP tegenwoordig binnen enkele uren worden uitgesloten. Alternatieve oorzaken van TMA-achtige beelden, zoals een foliumzuur- en vitamine B12-deficiëntie, dienen te worden overwogen. Naast de directe meting van deze bouwstoffen, kan met name een hoog MCV, laag reticulocytengetal en normaal bilirubine een foliumzuur- of vitamine B12-deficiëntie waarschijnlijker maken, waarna suppletie dient te worden gestart.

REFERENTIES

1. Beris P, et al. Non-immune hemolysis: diagnostic considerations. *Semin Hematol* 2015;52:287-303.
2. Subhan M, et al. Advances in the management of TTP. *Blood Rev* 2022; 55:100945.
3. Paydary K, et al. Diagnostic accuracy of the PLASMIC score in patients with suspected thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review and meta-analysis. *Transfusion* 2020;9:2047-57.
4. Bauer PR, et al. Plasma exchange in the intensive care unit: a narrative review. *Intensive Care Med* 2022;48:1382-96.
5. Zini ZG, et al. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int J Lab Hematol* 2012;34:107-16.
6. Green R. Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. *Blood* 2017;129:2603-11.
7. Aquiles Sanchez J, et al. New insights into the mechanisms of nuclear segmentation of human neutrophils. *J Cell Biochem* 1999;73:1-10.
8. Koshy AG, et al. Clinical features of vitamin B12 deficiency mimicking thrombotic microangiopathy. *Br J Haematol* 2020;191:938-41.
9. Tran PN, et al. Cobalamin deficiency presenting with thrombotic microangiopathy (TMA) features: a systematic review. *Transfus Apher Sci* 2018;57:102-6.
10. Yousefi A, et al. De kunst van het kijken. *Ned Tijdschr Hematol* 2023;20:360-2.
11. Sabry W, et al. Vitamin B12 deficiency and metabolism-mediated thrombotic microangiopathy (MM-TMA). *Transfus Apher Sci* 2020;59:102717.
12. Larkin E, et al. Pseudo-thrombotic microangiopathy due to folate deficiency. *BMJ Case Rep* 2023;16:e251473.