

LABQUIZ

De diagnostiek van thalassemieën

Elske Kusters, Jean-Louis H. Kerkhoffs en André P. van Rossum

Thalassemieën zijn kwantitatieve afwijkingen in de productie van de globinemoleculen die hemoglobine vormen. In deze labquiz bespreken wij welke aanwijzingen gevonden kunnen worden bij regulier laboratoriumonderzoek naar dragerschap van thalassemie en welke vervolgdagnostiek kan worden ingezet ter bevestiging.

CASUS 1

Patiënt A, een man van 28 jaar van Marokkaanse herkomst, wordt door de huisarts verwezen naar de internist-hematoloog. Patiënt heeft een lichte microcytaire anemie die niet verbetert, ondanks maandenlange orale ijzertherapie. Wel is de ferritinewaarde fors gestegen. Patiënt heeft geen klachten, afgezien van obstipatie als gevolg van de ijzertherapie. De huisarts denkt aan hemochromatose en vraagt de hematoloog om een verdere analyse van deze anemie die refractair is voor ijzertherapie. Hij stuurt de uitslagen van de laboratoriumbepalingen mee (tabel 1).

VRAAG CASUS 1 Welke uitspraak is juist?

- a Screenend hemoglobineonderzoek, bestaand uit hemoglobine-elektroforese of -chromatografie, is de logische vervolgstap in de diagnostiek.
- b Het verdient aanbeveling direct moleculaire diagnostiek in te zetten naar thalassemie.
- c De hoge ferritineconcentratie wijst waarschijnlijk op hereditaire hemochromatose.
- d Bij mensen van Marokkaanse herkomst komt hemoglobinopathie nauwelijks voor.

CASUS 2

Patiënten B en C zijn 2 broers van respectievelijk 5 en 7 jaar die zijn geboren in Nederland. Hun ouders zijn van Filipijnse herkomst. Hun moeder komt met beide jongetjes bij de huisarts omdat ze moe en lusteloos zijn. Uit de heteroanamnese van de moeder blijkt geen macroscopisch bloedverlies, wel had patiënt C recent een 'buikgriepje'. Bij auscultatie van de longen tijdens het lichame-lijk onderzoek hoort de huisarts grove crepitaties bij patiënt C. De huisarts laat bij beide patiënten hemoglobine en erytrocytenparameters, ferritine en CRP bepalen, waaruit bij beide patiënten een anemie blijkt. De resultaten zijn weergegeven in tabel 1.

VRAAG CASUS 2 Welke uitspraak is juist?

- a Beide jongens hebben een voldoende ijzervoorraad gezien de niet-afwijkende ferritineconcentratie.
- b Bij patiënt B is thalassemie waarschijnlijker dan bij patiënt C op basis van de gegevens in tabel 1.
- c De jongens kunnen geen drager van thalassemie zijn; dit wordt sinds 2007 uitgesloten met de hiepprik.
- d Dragerschap van thalassemie hoeft niet te worden opgespoord want het heeft geen consequenties.

TABEL 1 Uitslagen van laboratoriumonderzoek van patiënten A, B en C

bepaling	patiënt A	referentiewaarde volwassene*	patiënt B	patiënt C	referentiewaarde kind*
hemoglobine	7,0	7,5-10,0 mmol/l	6,9	6,2	7,1-9,0 mmol/l
hematocriet	0,37	0,35-0,45 l/l	0,34	0,26	0,33-0,41 l/l
erytrocyten	5,5	4,2-4,9 x10 ¹² /l	4,9	3,6	3,7-4,9 x10 ¹² /l
MCV	68	84-100 fl	70	73	75-87 fl
MCH	1,27	1,68-1,92 fmol	1,41	1,72	1,50-1,94 fmol
ferritine	712	30-300 µg/l	80	40	30-300 µg/l
CRP	6	≤ 8 mg/l	2	132	≤ 8 mg/l

MCV = 'mean corpuscular volume', het gemiddeld volume van de erytrocyten; MCH = 'mean corpuscular hemoglobin', de gemiddelde hoeveelheid hemoglobine per erytrocyt.

*Referentiewaarden van het laboratorium van het Ziekenhuis Bronovo.

> ANTWOORDEN EN UITLEG ELDERS IN DIT NUMMER

ANTWOORDEN OP DE LABQUIZ

De diagnostiek van thalassemieën

Elske Kusters, Jean-Louis H. Kerkhoffs en André P. van Rossum

ANTWOORD CASUS 1: BEWERING 1A IS JUIST, BEWERINGEN 1B, 1C EN 1D ZIJN ONJUIST

Patiënt A, een man van 28 jaar van Marokkaanse afkomst, werd door de huisarts verwezen naar de internist-hematoloog omdat hij een microcytaire anemie had die niet reageerde op de voorgeschreven orale ijzertherapie. De man rapporteerde geen macroscopisch bloedverlies en had geen klachten van de lichte anemie, maar zijn ferritineconcentratie was fors gestegen onder de ijzertherapie.

De combinatie van een microcytaire anemie met een verhoogde erythrocytenconcentratie is zeer suggestief voor thalassemie. Screenend hemoglobine(Hb)-onderzoek toonde verhoogde waarden van het HbA₂ en het HbF (tabel 2); dit is zeer specifiek voor dragerschap van β -thalassemie. Moleculaire diagnostiek bevestigde een heterozygote β -thalassemie-mutatie.

Screenend hemoglobineonderzoek, bestaand uit Hb-chromatografie of Hb-elektroforese, wordt aanbevolen als eerste vervolgstap bij een vermoeden op thalassemie. Dit omdat screenend onderzoek veel goedkoper en sneller is dan kostbare moleculaire diagnostiek. De uitslag maakt duidelijk of in het α - of β -globinegen naar mutaties gezocht moet worden.

De microcytaire anemie bij patiënten met thalassemie wordt vaak ten onrechte aangezien voor ijzergebreksanemie, hoewel bij thalassemie geen verlaagde ferritine- en erythrocytenconcentratie bestaan, zoals wel het geval is bij ijzergebreksanemie. Onterechte ijzersuppletie leidt bij thalassemiedragers niet zelden tot iatrogene ijzerstapeling, die schadelijk kan zijn. Deze ijzerstapeling is bij patiënt A dus geen gevolg van hereditaire hemochromatose.

Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde, Leiden.

Dr. E. Kusters, klinisch chemicus in opleiding.

Haga Ziekenhuis, afd. Interne Geneeskunde, Den Haag.

Dr. J.L.H. Kerkhoffs, hematoloog.

Ziekenhuis Bronovo, Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Den Haag.

Dr. A.P. van Rossum, klinisch chemicus.

Contactpersoon: dr. A.P. van Rossum (apvrosum@bronovo.nl)

TABEL 2 Vervolgdiagnostiek van patiënten A, B en C

bepaling	patiënt A	patiënt B	patiënt C	referentiewaarde*
HbA	90	96	97	95-98%
HbA ₂	5,9	3,1	2,6	2,5-3,5%
HbF	3,8	0,7	0,2	< 1,0%
Gap-PCR	–	heterozygote	wild-type	wild-type
α -globineregio's		SEA-mutatie (--/aa)	(aa/aa)	(aa/aa)
sequentieanalyse	heterozygote	wild-type	wild-type	wild-type
β -globinegen	mutatie codon 39 cag > tag			

HbA = volwassen Hb met 2 α - en 2 β -globineketens ($\alpha_2\beta_2$); HbA₂ = volwassen Hb, $\alpha_2\delta_2$; HbF = foetaal Hb, $\alpha_2\gamma_2$; SEA = 'south-east Asian'; wild-type = niet-gemuteerd

*Referentiewaarden van het laboratorium van het Ziekenhuis Bronovo.

Hemoglobinopathieën, waaronder thalassemieën, worden bij ongeveer 1 op de 17 mensen van Marokkaanse herkomst gevonden en komen daarmee in deze bevolkingsgroep frequent voor.

ANTWOORD CASUS 2: BEWERING 2B IS JUIST, BEWERINGEN 2A, 2C EN 2D ZIJN ONJUIST

Patiënten B en C, broertjes van 5 en 7 jaar met ouders van Filipijnse herkomst, kwamen bij de huisarts. Uit de heteroanamnese van de moeder bleek dat beide jongens lusteloos waren, dat patiënt C recent buikgriep had doorgemaakt en dat in de familie anemie veel voorkwam. Bij lichamelijk onderzoek waren alleen de grove crepitaties van de longen van patiënt C vermeldenswaardig.

Uit het laboratoriumonderzoek volgens anemieprotocol bleek bij beide jongens een anemie. Bij patiënt B ging deze gepaard met een hoge erythrocytenconcentratie, suggestief voor thalassemie. Bij patiënt C vonden wij echter een lage erythrocytenconcentratie, passend bij ferriprive anemie. Hierbij werd de niet-afwijkende ferritinewaarde van patiënt C veroorzaakt door een ontsteking, die onder andere bleek uit de verhoogde CRP-waarde. Bij een ont-

steking kan ijzergebrek bestaan ondanks een niet-afwijkende ferritinewaarde – dat immers een acute-fase-eiwit is – tot 100-150 µg/l.

Gezien de positieve familieanamnese adviseerde de klinisch chemicus voor beide jongens screenend hemoglobineonderzoek. Hoewel in de hielprik geen afwijkingen waren geconstateerd, kan dragerschap van thalassemie toch bestaan; alleen de ernstige vormen van thalassemie worden namelijk sinds 2007 via de hielprik gevonden. Het is gewenst om dragerschap van thalassemie op te sporen, want hoewel het weinig klachten geeft, kan dragerschap van thalassemie ernstige consequenties hebben voor het nageslacht als thalassaemia major optreedt.

Screenend hemoglobineonderzoek bleek bij beide patiënten geen afwijkende uitslagen te geven. Dit sluit kwalitatieve afwijkingen van de hemoglobine-moleculen en dragerschap van β -thalassemie vrijwel uit, maar α -thalassemie niet. Moleculaire diagnostiek toonde bij patiënt B een heterozygote α_0 -thalassemie ($--/\alpha\alpha$), terwijl bij patiënt C geen afwijkingen werden gevonden. Na ijzertherapie herstelden bij patiënt C de Hb-waarde en het MCV tot respectievelijk 7,6 mmol/l en 78 fml.

 **LEES HET ARTIKEL EN DE UITLEG OP WWW.NTVG.NL/A7988**

De diagnostiek van thalassemieën

Elske Kusters, Jean-Louis H. Kerkhoffs en André P. van Rossum

ACHTERGROND

Hemoglobinopathieën zijn erfelijke afwijkingen in de productie van globineketens. Er zijn structurele afwijkingen, zoals HbS, dat in homozygote toestand sikkelcelziekte veroorzaakt, en kwantitatieve afwijkingen in de productie van de ketens; dit zijn thalassemieën. Wij behandelen hier alleen de thalassemieën.

Hemoglobine (Hb) is een tetrameer bestaande uit 2 koppele van globineketens. Het grootste deel van het Hb van volwassenen is HbA, dat is samengesteld uit 2 α - en 2 β -globineketens ($\alpha_2\beta_2$). Naast HbA vormt een volwassene nog een klein percentage HbA₂ (2,5-3,5%; $\alpha_2\delta_2$). In de foetale levensfase is het foetale Hb, HbF, het belangrijkste ($\alpha_2\gamma_2$). Vanaf ongeveer de 6e maand postpartum is het HbF nagenoeg verdwenen. De thalassemieën zijn vernoemd naar het type globine waarvan te weinig wordt geproduceerd. De voornaamste thalassemieën zijn α - en β -thalassemie.

Thalassemie erft meestal autosomaal recessief over. Dit betekent dat mannen en vrouwen even vaak aangedaan zijn en dat 2 ouders met de lichte kenmerken van een thalassaemia minor ('dragers') een kind kunnen krijgen met een thalassaemia major. Voor een dragerpaar van β -thalassemie is het risico op een aangedaan kind 25%. De mendeliaanse overerving van α -thalassemieën lijkt complexer, doordat een gezond persoon 4 α -globinegenen heeft, bestaand uit 2 paren die als koppel overerven. De kans op het krijgen van een kind met een van de ernstige vormen van α -thalassemie is afhankelijk van het aantal en van de combinatie van α -genen dat bij elk van de ouders gemuteerd is (figuur).

HERKOMST EN INCIDENTIE

Thalassemie is afgeleid van het Griekse woord 'thalassa' dat 'de zee' betekent. β -thalassemie komt van oorsprong dan ook het meest voor in de landen rond de Middellandse Zee, maar ook in Azië en Afrika. α -thalassemie komt oorspronkelijk vooral voor in Zuidoost-Azië, India, China en de Filipijnen. De hoge frequentie van dragerschap in deze tropische en subtropische gebieden wordt veroorzaakt doordat thalassemieën een relatieve bescherming bieden tegen malaria tropica.¹

Naar schatting draagt 5% van de wereldbevolking een afwijkend hemoglobinegen.² Er worden wereldwijd jaar-

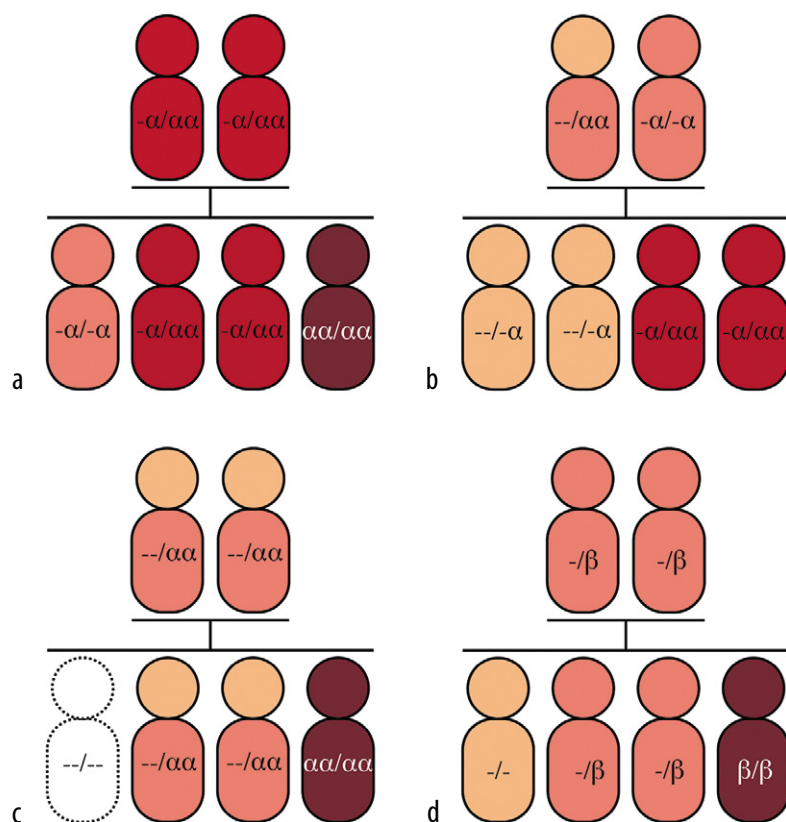
lijks 300.000-500.000 kinderen geboren met een ernstige vorm van hemoglobinopathie, waarvan 56.000 met een ernstige thalassemie. In Nederland worden de incidenties van sikkelcelanemie en thalassaemia major geschat op 40-60 respectievelijk 25-50 kinderen per jaar, waarvan het grootste deel voorkomt onder recente immigranten uit eerdergenoemde gebieden en hun nakomelingen.³ Onder autochtone Nederlanders komt hemoglobinopathie naar schatting voor met een frequentie van 1:1000 als gevolg van spontane mutaties en dankzij verre voorouders uit endemische gebieden. Onder bepaalde immigranten en hun nakomelingen kan de frequentie oplopen tot 1:4.⁴

KLINIEK EN BEHANDELMOGELIJKHEDEN

Is bij een patiënt 1 α -gen gemuteerd, dan is er sprake van een drager die wordt weergegeven als '- α / α ' of als 'heterozygoot α '. 2 gemuteerde α -genen kunnen voorkomen op hetzelfde chromosoom (in cis, '--/ α ', 'heterozygoot $\alpha\alpha$ '), of op verschillende chromosomen (in trans, '- α / α ', 'homozygoot α '). Dragerschap van een lichte α -thalassemie, waarbij nog 3 of 2 α -genen tot expressie komen, leidt meestal tot geen of slechts geringe verschijnselen met een lichte microcytaire anemie. Als slechts 1 α -gen tot expressie komt (--/ α), spreekt men van HbH-ziekte. Patiënten met HbH-ziekte presenteren zich meestal met een matige tot ernstige hemolytische anemie en hepatosplenomegalie, maar patiënten worden meestal niet bloedtransfusieafhankelijk.² Als geen enkel van de 4 α -genen tot expressie komt, spreekt men van het Hb-Barts-hydrops-foetalis-syndroom, waaraan een kind perinataal overlijdt.⁵

Dragerschap van een β -thalassemie leidt in het algemeen tot een lichte microcytaire anemie, maar kan zich ook uiten als een thalassaemia intermedia, waarbij sprake is van hemolyse en een geringe transfusiebehoefte. Homozygote β -thalassemie is een ernstig ziektebeeld, waarbij men bij een kind van enkele maanden oud een voortdurende hemolytische anemie vindt met hepatosplenomegalie, geelzucht of groeiachterstand. Dit leidt meestal al voor het eerste levensjaar tot transfusieafhankelijkheid.⁵ Deze majorvorm van β -thalassemie is te behandelen met bloedtransfusies en ijzerchelatie. Stamceltransplantatie is momenteel de enige curatieve behandeling.

Naast homozygote vormen van thalassemie kunnen ook



FIGUUR Verschillende voorbeelden van overerving bij (a-c) α -thalassemie en (d) β -thalassemie. De mendeliaanse overerving lijkt bij α -thalassemie ingewikkelder te verlopen dan bij β -thalassemie, doordat een gezond persoon 4 α -globinegenen heeft, bestaand uit 2 paren die als koppel overerven. $-a/aa$, $-a/-a$ en $--/aa$ = α -thalassemiedragers; $--/-a$ = HbH-ziekte; $--/--$ = Hb-Barts-hydrops-foetalis-syndroom; $-/\beta$ = β -thalassemiedrager; $-/-$ = β -thalassemie major.

gecombineerde ('compound-heterozygote') vormen met een structurele hemoglobinoopathie ontstaan. Denk hierbij bijvoorbeeld aan sikkelcel- β -thalassemie, dat sikkelcelanemie geeft, of E- β -thalassemie (β -thalassemie in combinatie met HbE), dat leidt tot een fenotype van β -thalassaemia intermedia.

AANPAK LABORATORIUMDIAGNOSTIEK

De diagnostiek van thalassemie bestaat uit verschillende stappen. Een indicatie voor het bestaan van een thalassemie kan verkregen worden via reguliere laboratoriumdiagnostiek, dat wil zeggen door het bepalen van een volledig rood bloedbeeld inclusief indices aangevuld met ferritine. Het vervolgonderzoek bestaat uit Hb-elektroforese of Hb-chromatografie. Tenslotte is moleculair onderzoek voor het definitief vaststellen of uitsluiten van thalassemieën vaak noodzakelijk. De meeste klinisch-chemische laboratoria bieden een anemieprotocol aan,

waarbij stapsgewijs vervolgdagnostiek wordt ingezet ter analyse van een anemie.⁶ Bij deze analyse wordt ook de mogelijkheid van een thalassemie in ogenschouw genomen.

VOLLEDIG ROOD BLOEDBEELD EN FERRITINE

De eerste aanwijzing voor het bestaan van dragerschap van thalassemie is vaak een onverklaarde microcytaire, hypochrome anemie in het rode bloedbeeld (Hb, erytrocytenconcentratie en -indices). Bij thalassemie zal, in tegenstelling tot bij ijzergebreksanemie, het microcytaire bloedbeeld niet gepaard gaan met een verlaagd ferritine.⁷ Een ander onderscheidend kenmerk van thalassemie is een relatief hoge concentratie erytrocyten, zoals bij patiënt A. De verklaring hiervoor is een compensatiemechanisme van het beenmerg, waardoor veel microcytaire hypochrome erytrocyten worden geproduceerd.⁵ Let wel: een Hb-waarde, MCV of erytrocytenconcentratie binnen de referentiewaarden sluit thalassemie niet uit. Een dra-

ger van α -thalassemie kan een MCV tot 90 fl hebben (referentiewaarden 84-100).

Ook de microscopische beoordeling van de bloeduitstrijk kan bij thalassemie of dragerschap hiervan afwijkend zijn. In het microscopische rode bloedbeeld worden in het algemeen kleine erythrocyten gezien van wisselende grootte, soms met vormafwijkingen en insluitsels, zoals microcytose, anisopoikilocytose, targetcellen of basofiele stippeling.

SCREENEND HEMOGLOBINEONDERZOEK

Als in het volledig bloedbeeld aanwijzingen worden gevonden voor thalassemie is de gebruikelijke eerste vervolgstap het scheiden en kwantificeren van de verschillende hemoglobinefracties. Er zijn 2 veelgebruikte technieken, die een vergelijkbaar resultaat geven: capillair-elektroforese en 'high performance liquid chromatography'. Door verschillen in grootte en lading, of in de mate van hechting aan vast dragermateriaal en in oplosbaarheid in de mobiele fase worden de percentages HbA, HbA₂ en HbF van de totale Hb-waarde vastgesteld. De aanwezigheid van structurele hemoglobineafwijkingen, zoals HbS, leidt tot een afwijkend piekenpatroon.

Bij dragerschap van β -thalassemie komt 1 van de 2 β -genen niet of in verminderde mate tot expressie. Het gevolg hiervan is dat er minder HbA ($\alpha_2\beta_2$) gevormd kan worden en er een overschot aan α -ketens ontstaat. De δ -genen, die gewoonlijk maar in geringe mate tot expressie komen – enkele procenten van de expressie van de β -genen –, hebben in deze situatie een relatief hogere mate van expressie. Als gevolg hiervan bestaat een verhoogd percentage van de totale Hb-waarde uit HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$).⁸ Daarnaast is de HbF-waarde vaak verhoogd.⁹ Bij homozygote β -thalassemie zijn er meestal helemaal geen β -ketens en ontbreekt HbA. De in overschot beschikbare α -ketens vormen uitsluitend HbA₂ en HbF ($\alpha_2\gamma_2$).

Bij α -thalassemie vormen de nog aanwezige α -globines bij voorkeur een tetrameer met de β -ketens, wat leidt tot een verlaagd percentage HbA₂. Dit effect is echter minimaal en het percentage HbA₂ valt dan ook vaak binnen de referentiewaarden.⁸ Bij geringe α -thalassemie kunnen dus slechts aanwijzingen gevonden worden met behulp van routine laboratoriumdiagnostiek. Ter bevestiging of uitsluiting hiervan is moleculaire diagnostiek noodzakelijk. Bij HbH-ziekte of het Hb-Barts-hydrops-foetalis-syndroom is het tekort aan α -ketens zo groot dat zich tetrameren vormen van de overvloedige β -ketens (bij HbH, β_4) of γ -ketens (bij neonaten met Hb-Barts-hydrops-foetalis-syndroom, γ_4), die zichtbaar zijn als een afwijkende piek in het Hb-chromatogram.

TABEL 3 Tarieven voor verschillende laboratoriumbepalingen, vastgesteld door de Nederlandse Zorgautoriteit per 1 januari 2014

laboratoriumbepaling:	kosten:
volledig rood bloedbeeld*	€ 1,71
ferritine	€ 9,12
CRP	€ 4,07
foliumzuur	€ 7,63
screenend Hb-onderzoek	€ 12,32

* Dit houdt in: bepaling van Hb, Ht, rode-bloedcelconcentratie (RBC), MCV, MCH, en 'mean corpuscular hemoglobin concentration' (MCHC).

MOLECULAIRE DIAGNOSTIEK

Moleculair onderzoek is de laatste stap in de diagnostiek van thalassemie. Er zijn verschillende technieken waarmee de verschillende mutaties kunnen worden aangetoond. Bij α -thalassemie zijn er meestal deleties van relatief grote stukken DNA – van enkele kilobasen – uit het α -cluster, waardoor 1 of beide α -genen ontbreken. De mutaties die β -thalassemie veroorzaken zijn meestal puntmutaties: deleties, inserties of verwisseling van 1 of enkele basen.⁵ Een recent verschenen artikel geeft een handzaam overzicht van de in de Nederlandse bevolking voorkomende mutaties.⁴

Met 'gap'-PCR worden de breekpunten van veelvoorkomende deleties gescreeend. Puntmutaties worden aangetoond door regio's met bekende mutaties te sequencen. Worden er met deze technieken geen mutaties gevonden, dan wordt verder gezocht met technieken die ook minder frequent voorkomende mutaties opsporen. Dit gebeurt bijvoorbeeld door het gehele globinegenen en de regulerende DNA-sequenties te sequencen, of door te zoeken naar grote deleties met 'multiplex ligation-dependent probe amplification'.⁵

HIELPRIKSCREENING

Sinds 2007 is in het nationale hielprikonderzoek een screening voor hemoglobinopatieën opgenomen. Met dit onderzoek worden echter alleen sikkelcelanemie en de ernstigste vormen van thalassemie opgespoord: HbH-ziekte en homozygote β -thalassemie. Andere, lichtere vormen worden niet gerapporteerd.³ In de hielprik-screening worden de verschillende hemoglobinefracties met high performance liquid chromatography geanalyseerd. HbH-ziekte wordt vermoed bij patiënten bij wie een HbH-piek in het chromatogram wordt gezien, terwijl β -thalassaemia major wordt gekenmerkt door een zeer lage HbA-waarde of afwezigheid hiervan.

KOSTEN

De laboratoriumbepalingen bij de diagnostiek van een thalassemie kunnen kostbaar zijn. De Nederlandse Zorgautoriteit (NZa) heeft per 1 januari 2014 de tarieven vastgesteld voor de laboratoriumbepalingen die onderdeel uitmaken van de routine-diagnostiek voor een anemie (tabel 3). Voor de moleculaire diagnostiek heeft de NZa geen eenduidig tarief vastgesteld. De kosten variëren dan ook per laboratorium en bedragen al snel honderden euro's.

INTERPRETATIE LABORATORIUMONDERZOEK

Bij de interpretatie van de laboratoriumbepalingen in het kader van thalassemie-diagnostiek moet rekening gehouden worden met wisselende referentiewaarden; deze zijn afhankelijk van de gebruikte methode. Daardoor kunnen zij per laboratorium verschillend zijn. Andere aspecten die van belang zijn bij de interpretatie bespreken wij hieronder.

SENSITIVITEIT EN SPECIFICITEIT

Via screenend onderzoek voor hematologische aandoeningen – het volledig bloedbeeld – kunnen al aanwijzingen worden gevonden voor thalassemie. De sensitiviteit van deze diagnostiek wordt in belangrijke mate bepaald door de interpretatie van de arts of van de klinisch chemicus. Het herkennen van thalassemie gebeurt vaak door de anamnese of de familieanamneses te combineren met een juiste interpretatie van het bloedbeeld. Hierbij speelt alertheid op de mogelijkheid van thalassemie of dragerschap hiervan een grote rol.

Aan de hand van de typische kenmerken van het rode bloedbeeld zijn algoritmes opgesteld waarmee thalassemie geautomatiseerd voorspeld kan worden. Deze algoritmes hebben een variërende sensitiviteit en specificiteit en worden slechts in enkele laboratoria gebruikt.¹⁰ Tenslotte moet hier vermeld worden dat, hoewel een verhoogde HbA₂-waarde in combinatie met een bloedbeeld dat wijst op thalassemie zeer specifiek is voor heterozygote β -thalassemie, er ook β -thalassemieën zijn waarbij het HbA₂ niet verhoogd is (zie ook het kopje 'Valkuilen' verderop in de tekst).^{11,12}

GENOTYPE EN KLINIEK

De ernst van het klinische beeld bij een thalassemie is sterk variabel en is afhankelijk van hoeveel en welke genen er op welke wijze gemuteerd zijn. Daarnaast is het van belang hoe de resterende productie van het betreffende globine zich verhoudt tot de productie van de andere ketens. Zo heeft een patiënt met β -thalassaemia major met een co-existente α -thalassemie een milder fenotype dan een patiënt met β -thalassaemia major maar

zonder α -thalassemie. Bij een homozygote α -triplicatie ($\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$) kan een heterozygote β -thalassemie, die anders mild was geweest, zich uiten als een β -thalassaemia intermedia. Ook een blijvend hogere expressie van de foetale γ -ketens zorgt voor een milder fenotype van een β -thalassemie.¹³

Kennis van het genotype is van essentieel belang bij familieonderzoek en om counseling en prenataal onderzoek van partners met een verhoogd risico te ondersteunen. Verder bestaat er een redelijke correlatie tussen het genotype en de klinische verschijnselen, waardoor adequatere medische ondersteuning kan worden geboden als het genotype bekend is.⁵

VALKUILEN BIJ DE INTERPRETATIE

IJzer Een drager van thalassemie kan zich presenteren als een patiënt met ijzergebrek. Veel thalassemiedragers worden dan ook jarenlang onterecht behandeld met orale ijzertherapie. Vanzelfsprekend kan ijzergebreksanemie bestaan naast thalassemie, maar vaak had de discrepant hoge erythrocytenconcentratie eerder kunnen leiden tot de juiste diagnose.⁵ IJzergebrek kan uitgesloten worden door de ferritinewaarde te meten. Een ferritinewaarde < 15 $\mu\text{g/l}$ is zeer specifiek voor ijzergebrek, maar bij ferritineconcentraties < 40 $\mu\text{g/l}$ is de kans op ijzergebrek nog aanzienlijk.¹⁴ Bij een ontsteking in het lichaam neemt de concentratie van ferritine als acute-fase-eiwit toe en is ijzergebrek ondanks een ferritinewaarde tot 100-150 $\mu\text{g/l}$ niet uit te sluiten.⁷

Bij thalassemie-dragers kunnen tekorten aan nutriënten ontstaan door de verhoogde activiteit van het beenmerg als gevolg van de ineffectieve erytropoëse.⁹ Het verdient dan ook aanbeveling om regelmatig het foliumzuurgehalte te bepalen en sommigen adviseren foliumzuursuppletie ook in afwezigheid van deficiëntie.¹⁵ IJzer, daarentegen, moet niet profylactisch worden gesuppleerd, omdat thalassemiepatiënten een verhoogd risico op ijzerstapeling hebben.^{1,16}

MCV Het MCV van de erythrocyten is een relatief constante parameter. Bij verminderde erytropoëse door nutriëntentekort (ijzer-, foliumzuur- of vitamine-B12-gebrek) zal het MCV toe- of afnemen naarmate het tekort langer aanhoudt. Het lage MCV bij thalassemie is echter over de tijd constant zolang er geen parallelle tekorten optreden. Het onderscheid tussen een ferriprive anemie en een thalassemie kan soms dan ook gemaakt worden door te kijken naar wat de MCV's van een patiënt in het verleden waren. Was het MCV eerder normaal en is het nu verlaagd, dan is een – al dan niet bijkomende – ijzergebreksanemie waarschijnlijker dan een thalassemie. Is het MCV over de jaren stabiel verlaagd, dan staat thalassemie hoger in de differentiaaldiagnose.

Postnatale bevindingen Zoals gezegd is de hielprik-

screening niet gericht op het aantonen of uitsluiten van lichte vormen van thalassemie. Een geringe α -thalassemie bijvoorbeeld is niet of nauwelijks aantoonbaar met de gebruikte screeningstechniek (Hb-chromatografie), hoewel bij een patiënt met een lichte vorm van α -thalassemie bij de geboorte een kleine HbH-piek gevonden zou kunnen worden.¹⁵ Bij de neonaten, die ten tijde van de screening immers slechts enkele dagen oud zijn, bestaat daarnaast het grootste deel van het Hb nog uit HbF. Hierdoor is de HbA₂-piek nog niet of nauwelijks aanwezig en een eventuele verhoging ervan, zoals aanwezig bij dragers van β -thalassemie, is niet detecteerbaar. Na enkele maanden is de hoeveelheid HbF fors afgenomen, en na een jaar bereikt de HbA₂-piek het niveau van een volwassene. Dan kan heterozygote β -thalassemie wel goed opgepikt worden.¹⁷

Bij sommige patiënten gaat dragerschap van β -thalassemie niet samen met verhoging van de HbA₂-piek. De HbA₂-piek kan bijvoorbeeld verlaagd zijn door een gelijktijdige δ -thalassemie ($\delta\beta$ -thalassemie) of bij een gelijktijdige δ -variant-thalassemie of α -thalassemie. Ook kan de HbA₂-piek verhuld worden door de piek van een andere Hb-variant.^{9,11} Als er geen ijzergebrek is en wel een vermoeden van thalassemie op basis van het bloedbeeld, terwijl dit vermoeden niet wordt bevestigd in de Hb-elektroforese, is het raadzaam om moleculaire diagnostiek te verrichten.^{5,8,12}

 **KIJK OOK OP WWW.NTVG.NL/A7988V**

LITERATUUR

- Hartevelde CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:13.
- Martin A, Thompson AA. Thalassemias. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60:1383-91.
- RIVM. Draaiboek neonatale hieprikscreening versie 9.1. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu – Centrum voor Bevolkingsonderzoek; december 2013.
- Hartevelde CL. Hemoglobinopathie in Nederland: een exoot op klompen. *Ned Tijdschr Hematol.* 2014;11:44-54.
- Giordano PC. Strategies for basic laboratory diagnostics of the hemoglobinopathies in multi-ethnic societies: interpretation of results and pitfalls. *Int J Lab Hematol.* 2013;35:465-79.
- NVKCL. Richtlijn reflexdiagnostiek bij anemie. Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumdiagnostiek; 2012.
- Van Rossum AP, Boesten LSM, Vlasveld LT, Swinkels DW. IJzerdiagnostiek. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2011;17:155.
- Stephens AD, Angastiniotis M, Baysal E, Chan V, Fucharoen S, Giordano PC, et al. ICSH recommendations for the measurement of haemoglobin A₂. *Int J Lab Hematol.* 2012;34:1-13.
- Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:11.
- Demir A, Yerali N, Fisgin T, Duru F, Kara A. Most reliable indices in differentiation between thalassemia trait and iron deficiency anemia. *Pediatr Int.* 2002;44:612-6.
- Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *Clin Chem.* 2000;46:1284-90.
- Giambona A, Passarello C, Vinciguerra M, Li Muli R, Teresi P, Anza M, et al. Significance of borderline hemoglobin A₂ values in an Italian population with a high prevalence of beta-thalassemia. *Haematologica.* 2008;93:1380-4.
- Rund D, Fucharoen S. Genetic modifiers in hemoglobinopathies. *Curr Mol Med.* 2008;8:600-8.
- Guyatt GH, Oxman AD, Ali M, Willan A, McIlroy W, Patterson C. Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia: an overview. *J Gen Intern Med.* 1992;7:145-53.
- Tabei SM, Mazloom M, Shahriari M, Zareifar S, Azimi A, Hadaegh A, et al. Determining and surveying the role of carnitine and folic acid to decrease fatigue in beta-thalassemia minor subjects. *Pediatr Hematol Oncol.* 2013;30:742-7.
- Musallam KM, Cappellini MD, Wood JC, Taher AT. Iron overload in non-transfusion-dependent thalassemia: a clinical perspective. *Blood Rev.* 2012;26(Suppl 1):S16-9.
- VHL. Aanbeveling hemoglobinopathieonderzoek in de praktijk. Vereniging Hematologische Laboratoriumdiagnostiek; 2003.