

Thalassämien-Hämoglobinopathien (Ansatz für Labordiagnostik)

Thalassämien-Hämoglobinopathien sind die weltweit häufigsten genetischen Erkrankungen, die autosomal rezessiv vererbt werden. Jüngsten Daten zufolge sind mehr als 800 Millionen Menschen von ihnen betroffen, wobei schätzungsweise 300 Millionen das Sichelzellen-Allel (HbS) tragen. Ihre Veränderungen verursachen einen Defekt in der Synthese der Globinketten des Hämoglobins (Thalassämien) oder die Produktion eines abnormalen Hämoglobins (Hämoglobinopathien), von denen sich viele verschiedene klinische Ausprägungen ableiten lassen, wobei der Zustand des «silent-carrier» sicherlich der heimtückischste ist.

Bei gesunden Personen bildet das zirkulierende Hämoglobin keine einheitliche Fraktion; vielmehr lassen sich drei verschiedene Hämoglobin-Fraktionen feststellen, die sich nicht nur in der Konzentration, sondern auch in der Struktur der Globinkette unterscheiden (Tabelle 1).

Tabelle 1: Verteilung der normalen Hämoglobin-Typen

HbA	$\alpha\alpha/\beta\beta$	96.5-98%
HbA2	$\alpha\alpha/\delta\delta$	2.0-3.2%
HbF	$\alpha\alpha/\gamma\gamma$	<1%

Die Labordiagnostik von Thalassämien-Hämoglobinopathien erfolgt auf zwei verschiedenen Ebenen:

1. In der **ersten Stufe** mit dem sogenannten «**Hämoglobin-Screening**»
2. In der **zweiten Stufe** mit der «**Molekulardiagnostik**» (einschliesslich genetischer Beratung)

Hämoglobin-Screening

- Dieses erfolgt im Hämatologielabor von MEDISYN mithilfe der automatisierten HPLC (Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie).
- Die wichtigsten Hämoglobinfraktionen einer Probe werden anhand ihrer spezifischen Retentionszeit-«Fenster» identifiziert und quantifiziert.
- In etwa 90 % der Fälle kann damit eine korrekte Diagnose gestellt werden, bei «klassischen» Beta-Thalassämie-Trägern und/oder Sichelzellanomalie (mit Einbindung des Sichelzelltests) sogar in 100 % der Fälle. Bei den beiden letztgenannten Erkrankungen handelt es sich um die bedeutendsten beta-Globin-Gendefekte – sowohl, was die gesundheitlichen Auswirkungen im Einzelfall angeht,

als auch im Hinblick auf die Bewertung des Risikos von Thalassämie- und/ oder Sichelzell-Syndromen im Rahmen der Beratung von Paaren mit Kinderwunsch.

- In einigen Fällen, z. B. bei den wichtigsten Formen der Alpha-Thalassämie (HbH-Krankheit, Hydrops fetalis), **muss** die Verdachtsdiagnose gemäss den einschlägigen Leitlinien **grundsätzlich** durch molekulargenetische Untersuchungen bestätigt werden.
- Für diese Laboruntersuchung verfasst ein auf dieses Gebiet spezialisierter Hämatologe einen abschliessenden Bericht, der eine diagnostische Aussage sowie gegebenenfalls auch die Indikation für weitere molekulardiagnostische Tests enthält.

Kurzübersicht der HPLC-Ergebnisse, die gemäss den internationalen Leitlinien eine molekulardiagnostische Abklärung erfordern (modifiziert nach [1][2])

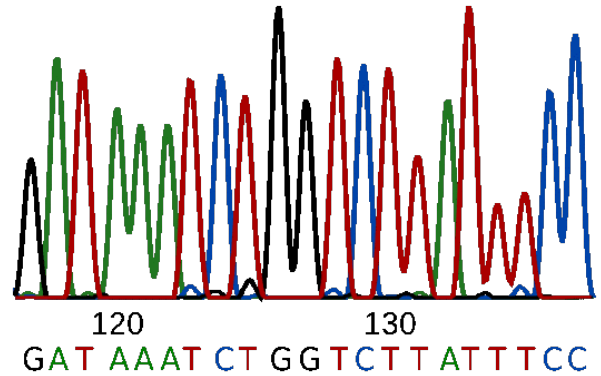
- HbA2 «grenzwertig», insbesondere wenn kombiniert mit einer leichten/grenzwertigen Mikrozytose
- HbA2 erniedrigt mit erhöhtem HbF und Mikrozytose ($\delta\beta$ Thalassämie-Träger?)
- HbA2 erniedrigt mit ausgeprägter Mikrozytose (α Thalassämie-Merkmale?, $\delta+\beta$ Thalassämie?)
- Heterozygotes Vorliegen bestimmter Hämoglobinvarianten mit Mikrozytose (Hb Lepore?)
- Fehlen von HbA bei ca. 100 % HbF (Homozygotie bezüglich $\delta\beta$ Thalassämie oder β Thalassämie?)
- HbA2 sehr niedrig oder in zwei Fraktionen unterteilt (δ Thalassämie? δ Globin-Variante?)
- Fehlen von HbA bei Vorliegen von ca. 100 % Hb Barts (Hydrops fetalis?)
- HbA2 sehr niedrig, HbF erhöht, ausgeprägte Mikrozytose (HbH-Krankheit?)
- HbS > 50 %, HbA < 50 % und HbF erhöht mit Mikrozytose (Mikrodrepanozyten-Krankheit?)
- HbS ca. 80 % (HbS-Homozygotie?)
- HbF stark erhöht (hereditäre Persistenz von HbF [HPFH]?)

Verantwortliche Personen MEDISYN Luzern



Dr. med. Dimitrios Tsakiris, Prof
 FAMH Hämatologie
 FMH Hämatologie/Innere Medizin
 dimitrios.tsakiris@medisyn.ch

Abb.1: Repräsentativ-stichprobenartiges Beispiel der Basensequenzierungstechnik zur Mutationsanalyse



MOLEKULARDIAGNOSTIK

- Die Molekulardiagnostik umfasst definitionsgemäss die diagnostischen Abklärungen der zweiten Stufe, die im Wesentlichen der Bestätigung/Vervollständigung der Ergebnisse aus dem Hämoglobin-Screening dienen und, abgesehen von seltenen Ausnahmen, immer diesem nachgeordnet sein müssen.
- Zwei der wichtigsten Techniken sind die DNA-Sequenzierung (Bestimmung der Basenabfolge oder NGS) zur Mutationsanalyse (Abb. 1) sowie die multiplexe ligationsabhängige Sondenamplifikation (MLPA) zur Erkennung grosser Deletionen.
- Im Hämatologielabor von MEDISYN kann eine vollumfängliche Analyse aller Globingene durchgeführt werden ($\alpha\beta\delta$).
- Bei der Durchführung von molekulargenetischen Untersuchungen sind einige Empfehlungen zu beachten: Vor der DNA-Analyse ist eine hämatologische Bewertung des Falles wichtig für die Wahl der am besten geeigneten molekulargenetischen Methode, und nach der DNA-Analyse ist eine hämatologische Bewertung der genotypisch-phenotypischen Korrelation der Ergebnisse obligatorisch, um eine Fehldiagnose auszuschliessen.
- Die korrekte Charakterisierung der Träger-Genotypen bildet die Grundlage der adäquaten genetischen Beratung und ist eine zentrale Voraussetzung für die pränatale Diagnostik.

Luzern, 26.01.2022

Autor: Dr. med. Massimo Garatti
 Leiter der Arbeitsgruppe für Thalassämie und
 Hämoglobinopathien MEDISYN SA

Literatur:

- 1: Traeger-Synodinos J, Hartevelde CL, Old JM, et al. Eur J Hum Genet 2015; 23 (4): 426-437
- 2: Mettananda S, Gibbons RJ, Higgs DR. Blood 2015; 125 (24): 3694-3701