

Diagnostik von Hämoglobinopathien

Integrierter Befund für mehr Klarheit

Armin Piehler und Gregor Hörmann

Hämoglobinopathien, vor allem die Sichelzellkrankheit und Thalassämien, stellen heutzutage eine regelmäßige Problemstellung in der Patientenversorgung unterschiedlichster Fachrichtungen dar. Die Labordiagnostik der Hämoglobinopathien ist ein Zusammenspiel aus laborchemischen und molekulargenetischen Methoden. Letztere haben an Bedeutung zugenommen, unter anderem mit der Erkenntnis, dass Alpha-Thalassämien ungefähr die Hälfte aller im Labor nachgewiesenen Thalassämien ausmachen. Kombinationen von unterschiedlichen Hämoglobinopathien treten ebenfalls regelmäßig auf und bedürfen zur eindeutigen Charakterisierung oft der gesamten Palette an diagnostischen Möglichkeiten. Ein integrierter Befund interpretiert sämtliche Ergebnisse der Hämoglobinopathie-Diagnostik gesammelt und geht bei Bedarf auf Differenzialdiagnosen und weiterführende Diagnostik ein.

Schlüsselwörter: Stufendiagnostik, Hämoglobindifferenzierung, Sanger-Sequenzierung, NGS, gap-PCR, MLPA

Hämoglobinopathien sind genetisch bedingte Hämoglobinerkrankungen [1], die einen protektiven Effekt vor Malaria ausüben [2]. Dieser selektive Vorteil hat dazu geführt, dass Hämoglobinopathien weltweit zu den häufigsten genetischen Erkrankungen gehören und vor allem bei Menschen mit genetischer Herkunft aus Afrika, dem Mittelmeerbereich, dem Mitt-

leren Osten, dem indischen Subkontinent und Südostasien vorkommen [3]. Heutzutage sind sie auch in Europa regelmäßig in der Patientenversorgung anzutreffen [4].

Hämoglobin besteht aus vier Globinketten, an die je ein Häm-Molekül mit zentralem Eisenion für den Sauerstofftransport gebunden ist. Physiologisch liegt beim Erwachsenen überwiegend Hämoglobin A

(HbA) vor, bestehend aus zwei Alpha- und zwei Beta-Globinketten (2 α 2 β). Daneben lassen sich in geringeren Mengen HbA2 (2 α 2 δ ; 2–3 %) und gelegentlich HbF (2 α 2 γ ; < 0,5 %) nachweisen (Abb. 1A). Die adulte Verteilung der Hämoglobinfraktionen stellt sich circa ab dem sechsten Lebensmonat ein; intrauterin und perinatal ist die Hämoglobinverteilung zugunsten von

Tab. 1: Übersicht über Genotyp und Phänotyp bei Alpha-Thalassämien.

Genotyp	Genetische Einteilung	Klinische Diagnose	Klinisches Bild	Hämoglobin	MCH	Hb-Differenzierung
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	Normalbefund	Normalbefund	Normalbefund	Im Referenzbereich	Im Referenzbereich	Unauffällig
$-\alpha/\alpha\alpha$	Heterozygote α^+ -Thalassämie	α -Thalassaemia minima	Blutbild: Keine Veränderungen oder geringfügige Mikrozytose und Hypochromie	Im Referenzbereich	26–28 pg	Unauffällig
$-\alpha/-\alpha$	Homozygote α^+ -Thalassämie	α -Thalassaemia minor	Blutbild: Geringfügige Mikrozytose und Hypochromie; selten gering ausgeprägte Anämie	Im Referenzbereich oder minimal erniedrigt	22–26 pg	Unauffällig
$--/\alpha\alpha$	Heterozygote α^0 -Thalassämie	α -Thalassaemia minor	Blutbild: Schwach ausgeprägte mikrozytäre, hypochrome Anämie	Leicht erniedrigt	<24 pg	Unauffällig, evtl. leicht erniedrigtes HbA2
$--/-\alpha$	Compound heterozygote α^0/α^+ -Thalassämie	HbH-Krankheit (α -Thalassaemia intermedia)	Blutbild: Unterschiedlich stark ausgeprägte mikrozytäre, hypochrome Anämie, evtl. mit Hämolyse, Splenomegalie, kardialen Problemen, Gallensteinen, Unterschenkelulcera oder Folsäuremangel	8–10 g/dl	<22 pg	Nachweis von HbH (Tetramer aus vier β -Globinketten): HbH (β_4) bis ca. 20 %
$--/--$	Homozygote α^0 -Thalassämie	Hb Barts Hydrops Fetalis-Syndrom (α -Thalassaemia major)	Ausgeprägte intrauterine Anämie; betroffene Kinder sterben zumeist intrauterin oder kurze Zeit nach der Geburt; Gefährdung der Mutter in der Schwangerschaft durch Präeklampsie	Intrauterin <6 g/dl	<20 pg	Hb Barts (γ_2): ca. 80–90 %; gelegentlich HbH; Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2, \zeta_2\beta_2$): ca. 10–20 %

α^+ oder α^0 : Aufgehobene Aktivität eines oder beider Alpha-Globingene auf einem Chromosom.

HbF mit seiner höheren Sauerstoffaffinität verschoben.

Die humanen Globingene sind in zwei Globingen-Komplexen organisiert. Auf Chromosom 16 befinden sich die beiden Alpha-Globingene (*HBA1* und *HBA2*). Auf Chromosom 11 sind die Nicht-Alpha-Globingene lokalisiert, allen voran das beim Erwachsenen dominierende Beta-Globin (*HBB*) zusammen mit den Delta- (*HBD*) und Gamma- (*HBG1* und *HBG2*) Globingen (Abb. 1A). Physiologisch besitzen Menschen somit insgesamt vier Alpha- und zwei Beta-Globingene: auf jedem der beiden Chromosomen 16 je ein *HBA1*- und *HBA2*-Gen ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$) und auf jedem der beiden Chromosomen 11 je ein *HBB*-Gen (β/β). Genetische Veränderungen in diesen Globingen-Komplexen können zu qualitativen oder quantitativen Störungen der Globinkettensynthese führen [3].

Bei Thalassämien ist die Produktion einer strukturell normalen Globinkette herabgesetzt (quantitative Störung). Bei Alpha-Thalassämien ist entweder ein (α^+) oder sind beide (α^0) Alpha-Globingene auf

einem Chromosom betroffen [5] (Tab. 1); Beta-Thalassämien beruhen auf einer herabgesetzten (β^+) oder vollständig aufgehobenen (β^0) Produktion von Beta-Globinketten [6] (Tab. 2). Typisches Kennzeichen einer Thalassämie ist die Mikrozytose und Hypochromie mit oder ohne Anämie und Erythrozytose. Tab. 1 und 2 zeigen in Abhängigkeit von der Anzahl der vom Aktivitätsverlust betroffenen Globingene die Ausprägung der Symptome und die klinische Einteilung dieser Krankheitsbilder.

Bei anomalen Hämoglobinen führt die genetische Variante zu einer Änderung der Polypeptidsequenz und somit zu einer veränderten Struktur des Hämoglobins (qualitative Störung); zumeist ist dabei das *HBB*-Gen betroffen. Zu den häufigsten anomalen Hämoglobinen gehören HbS, HbE, HbC und HbD [1]. HbS in homozygoter Form oder in Kombination mit anderen anomalen Hämoglobinen führt zur Sichelzellerkrankung, die durch Polymerisierung des Hämoglobins, Sichelzellbildung und Gefäßverschlüsse mit Infarkten in unterschiedlichsten Organen (u. a. Knochen,

Haut, Nieren, Retina und ZNS) gekennzeichnet ist [7].

Diagnostik von Hämoglobinopathien

Indikation

Mikrozytose und Hypochromie mit oder ohne Anämie sind Leitbefunde von Thalassämien; nach Ausschluss eines Eisenmangels ist eine Untersuchung auf Hämoglobinopathien indiziert. Eine hämolytische Anämie zeigt sich unter anderem bei der Sichelzellerkrankung. Allgemein zeigen die unterschiedlichen anomalen Hämoglobine kein einheitliches Krankheitsbild. Typischerweise zeigen Personen mit heterozygoten Formen von Hämoglobinopathien meist keine oder nur geringe Symptome. Wenn jedoch auch der Partner oder die Partnerin Träger einer Hämoglobinopathie ist, können die Kinder schwer erkranken. Nach genetischer Beratung ist daher die Familienplanung bei Personen mit positiver Familienanamnese oft eine Indikation für eine Untersuchung auf Hämoglobinopathie.

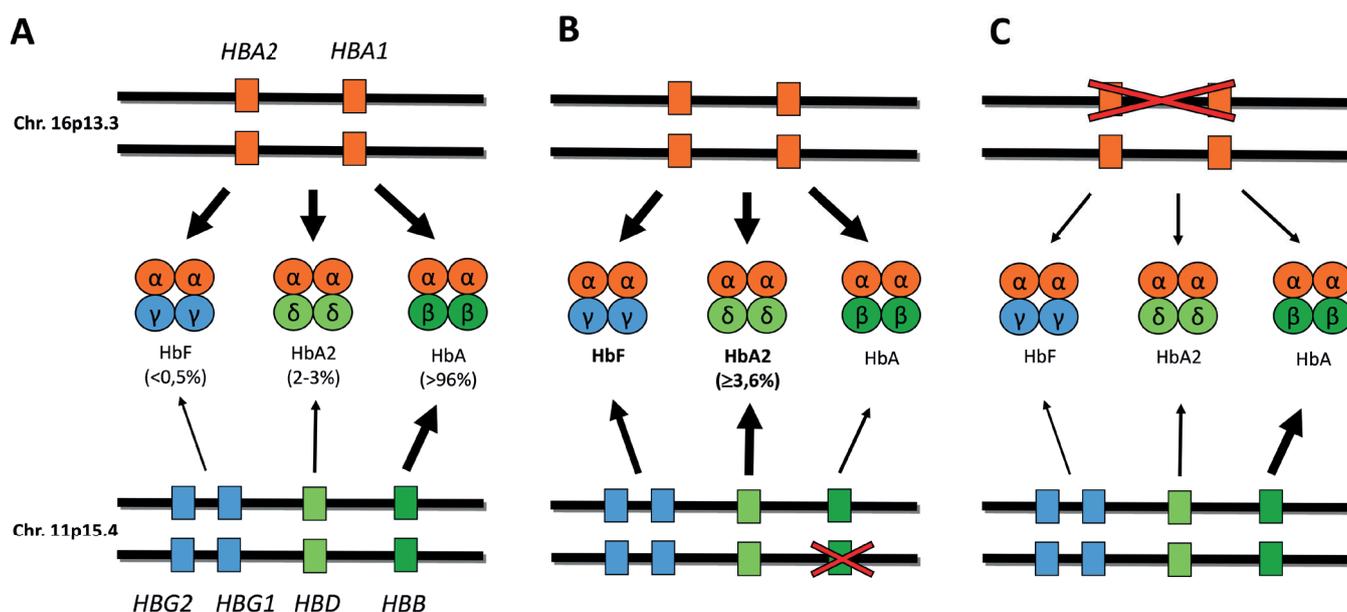


Abb. 1: Humane Globingene und Hämoglobinfraktionen – physiologisch (A) sowie bei α - (C) und β -Thalassämie (B). Gezeigt ist die Anordnung der humanen Globingene im Alpha-Globingen-Komplex auf Chromosom 16p13.3 (*HBA1* und *HBA2*) und im Beta-Globingen-Komplex auf 11p15.4 (*HBB*, *HBD*, *HBG1* und *HBG2*). Diese kodieren für die Globinketten der Hämoglobine HbA ($2\alpha 2\beta$), HbA2 ($2\alpha 2\delta$) und HbF ($2\alpha 2\gamma$) mit ihrer physiologischen Verteilung (Panel A). Bei der Beta-Thalassämie (Panel B) erhöht sich der relative Anteil an HbA2 und ggf. HbF aufgrund der herabgesetzten Produktion von Beta-Globinketten. Bei der Alpha-Thalassämie (Panel C) ist die Produktion von Alpha-Globinketten herabgesetzt; der relative Anteil der unterschiedlichen Hämoglobinfraktionen ist jedoch unverändert.

Typische Indikationen für eine Untersuchung auf Hämoglobinopathien sind:

- Hypochromie/Mikrozytose mit oder ohne Anämie (nach Ausschluss eines Eisenmangels),
- chronische hämolytische Anämie,
- Gefäßverschlüsse ungeklärter Ätiologie,
- rezidivierende Schmerzkrisen,
- unerklärte schwere Infektionen,
- Hydrops-fetalis-Syndrom und
- positive Familienanamnese für Hämoglobinopathien.

Differenzialdiagnosen der mikrozytären, hypochromen Anämie

Die zwei wichtigsten Differenzialdiagnosen der Thalassämie sind der Eisenmangel als weltweit häufigste Ursache einer hypochromen, mikrozytären Anämie und die Anämie der chronischen Erkrankung (ACD) [8]. Eine erniedrigte Konzentration von Ferritin im Serum ist in der Regel einem Eisenmangel gleichbedeutend. Als Akut-Phase-Protein kann Ferritin jedoch aufgrund einer Inflammation falsch erhöht sein, was in solchen Situationen einen Eisenmangel maskiert. Bei erhöhtem C-reaktivem Protein (CRP) kann daher die Bestimmung von zusätzlichen Eisenparametern wie dem löslichen Transferrinrezeptor (sTfR) hilfreich sein. Die zugrundeliegenden Erkrankungen bei der ACD sind vielfältig und umfassen syste-

mische inflammatorische Erkrankungen wie Infektionen, Malignome und andere chronische Erkrankungen. Die ACD ist in den meisten Fällen normochrom und normozytär, aber in etwa einem Drittel der Fälle mikrozytär und hypochrom. Weitere Eisenmarker wie der sTfR-Ferritin-Index, Hepcidin oder Zinkprotoporphyrin können zur Unterscheidung von der Eisenmangelanämie beitragen [9].

Nach Ausschluss der häufigsten Ursachen werden weitere Differenzialdiagnosen in Erwägung gezogen, die in hereditäre und erworbene Zustände eingeteilt werden und in Tab. 3 zusammengefasst sind.

Anforderung der Untersuchung

Klinische Informationen zu Betroffenen sind für die gezielte Diagnostik von Hämoglobinopathien und die korrekte Interpretation der Ergebnisse unerlässlich (Tab. 4). Neben Geschlecht und Alter sind Angaben über die genetische Herkunft der Person und über das Vorkommen von Hämoglobinopathien bei direkten Verwandten von Bedeutung. Informationen über Gaben von Erythrozytentransfusionen in den vergangenen drei bis vier Monaten vor der Untersuchung sind essenziell, da die Hämoglobindifferenzierung nicht zwischen Patienten- und Spenderblut unterscheidet. Ebenso sind Angaben zu anderen Therapien für eine korrekte Interpretation der

Laborergebnisse entscheidend. Es hat sich zum Beispiel gezeigt, dass die Bindung von Voxelotor an Hämoglobin bei der Therapie der Sichelzellerkrankung zu zusätzlichen Hämoglobinfraktionen in der Hämoglobindifferenzierung führt [10].

Die Anforderung und die Durchführung sollten als Stufendiagnostik erfolgen. Diese enthält ein Blutbild (evtl. mit Eisenstatus), eine Hämoglobindifferenzierung und ggf. molekulargenetische Untersuchungen. Der Umfang der Diagnostik hängt dabei von der Fragestellung ab und davon, ob die im Verlauf der Stufendiagnostik erhobenen Befunde die hämatologischen Veränderungen und Symptome des Betroffenen vollumfänglich erklären.

Da die Diagnostik von Hämoglobinopathien regelmäßig humangenetische Untersuchungen umfasst, ist es organisatorisch von Vorteil, wenn einer Laboranforderung eine von den Betroffenen unterschriebene Einverständniserklärung nach Gendiagnostikgesetz (GenDG) beiliegt. Somit kann das erneute Einbestellen der Patient:innen vermieden werden.

Blutbild

Bei einer Thalassämie tritt typischerweise eine Mikrozytose und Hypochromie mit oder ohne Anämie auf, auch eine Erythrozytose ist typisch. Viele Studien haben versucht, mit Formeln basierend

Tab. 2: Übersicht über Genotyp und Phänotyp bei Beta-Thalassämien.

Genotyp	Genetische Einteilung	Klinische Diagnose	Klinisches Bild	Hämoglobin	MCH	Hb-Differenzierung
β/β	Normalbefund	Normalbefund	Normalbefund	Im Referenzbereich	Im Referenzbereich	Unauffällig
β/β^+ β/β^0	Heterozygote β -Thalassämie	β -Thalassaemia minor	Mikrozytose und Hypochromie, evtl. gering ausgeprägte Anämie	♀ 9–13 g/dl ♂ 10–15 g/dl	19–25 pg	HbA2 > 3,2 % HbF 0–6 %
β^+/ β^+ β^0/ β^+	Milde homozygote oder kombiniert heterozygote β -Thalassämie	β -Thalassaemia intermedia	Mikrozytäre, hypochrome Anämie mit variablem Transfusionsbedarf (NTDT*)	6–10 g/dl	15–23 pg	HbA2 variabel HbF 10–80 %
β^0/ β^0	Schwere homozygote oder kombiniert heterozygote β -Thalassämie	β -Thalassaemia major	Mikrozytäre, hypochrome Anämie mit regelmäßigem Transfusionsbedarf (TDT**)	< 7 g/dl	14–20 pg	HbA2 variabel HbF bis 100 %

β^+ oder β^0 : Herabgesetzte oder vollständig aufgehobene Aktivität des Beta-Globingens;
*NTDT: *Non-Transfusion Dependent Thalassemia*; **TDT: *Transfusion Dependent Thalassemia*.

Tab. 3: Differenzialdiagnosen der Mikrozytose und Hypochromie (mit oder ohne Anämie).

	Häufig	Selten
Hereditär	<ul style="list-style-type: none"> Klassische Thalassämie (Alpha- oder Beta-Thalassämie) 	<ul style="list-style-type: none"> Andere thalassämische Hämoglobinopathien (z. B. HbE, Hb Lepore) X-chromosomale und andere sideroblastische Anämien Aceruloplasminämie Atransferrinämie Erythropoetische Protoporphyrinurie Pyropoikilozytose Eisenrefraktäre Eisenmangelanämie Pathogene Varianten im Metallionentransporter DMT1 (<i>SLC11A2</i>)
Erworben	<ul style="list-style-type: none"> Eisenmangel Anämie der chronischen Erkrankung (ACD)/Anämie der Inflammation 	<ul style="list-style-type: none"> Bleivergiftung Aluminiumintoxikation Kupfermangel Zinkmangel Hypovitaminosen: Vitamin A, B₆, C und D Medikamente (u. a. Chloramphenicol und Linezolid) Erworbene Thalassämie, evtl. assoziiert mit myelodysplastischer Neoplasie

auf Erythrozytenindizes das Vorliegen einer Thalassämie vorherzusagen oder von einem Eisenmangel zu unterscheiden [11, 12]. Die diagnostische Sensitivität dieser Ansätze ist im Routinebetrieb jedoch nur moderat, sodass damit das Vorliegen einer Thalassämie nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann [13]. Mittlerweile sind auch Modelle publiziert, die auf maschinellem Lernen basieren und bessere Ergebnisse erzielen [14].

Bei den anomalen Hämoglobinen zeigen heterozygote Formen in der Regel keine erythrozytären Blutbildveränderungen. Ausnahmen sind zum Beispiel HbE oder instabile Hämoglobine. Anomale Hämoglobine in homozygoter Form oder in Kombination zeigen je nach Entität unterschiedliche erythrozytäre Blutbildveränderungen. Für die Sichelzellerkrankung ist eine hämolytische Anämie typisch.

Hämoglobindifferenzierung

Die Hämoglobindifferenzierung dient der Auftrennung und Quantifizierung der unterschiedlichen Hämoglobinfraktionen und erfolgt üblicherweise mittels Kapillarelektrophorese oder Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC).

Bei der Beta-Thalassaemia minor findet sich durch die herabgesetzte Aktivität eines Beta-Globingens neben dem domi-

nierenden HbA ein HbA₂ $\geq 3,6\%$; HbF ist variabel nachweisbar (Abb. 1B). Bei der Beta-Thalassaemia major und intermedia ist überwiegend HbF nachweisbar, und HbA₂ ist variabel erhöht. Entsprechend der Restaktivität der Beta-Globingene zeigen sich variierende Anteile von HbA (Tab. 2). Aufgrund der hämatologischen und laborchemischen Ähnlichkeit sollten bei diesen Entitäten zur Unterscheidung molekular-genetische Untersuchungen folgen.

Bei den Alpha-Thalassämien, die circa 50 % aller Thalassämien ausmachen, ist die Produktion von Alpha-Globinketten herabgesetzt und das Mengenverhältnis zwischen den Nicht-Alpha-Globinketten unverändert. Somit beeinflusst eine Alpha-Thalassämie, bei der ein oder zwei Alpha-Globingene ausgefallen sind, die Zusammensetzung der unterschiedlichen Hämoglobinfraktionen nicht und zeigt eine unauffällige Hämoglobindifferenzierung (Abb. 1C). Bei Ausfall von drei oder vier Alpha-Globingenen bilden Nicht-Alpha-Globinketten Homotetramere (HbH: β_4 ; Hb Barts: γ_4), die in der Hämoglobindifferenzierung nachweisbar sein können, sich aber aufgrund ihrer Instabilität vor allem bei nicht optimalen präanalytischen Bedingungen ihrem Nachweis entziehen können. Alpha-Thalassämien können somit anhand einer Blutbildmes-

sung und einer Hämoglobindifferenzierung nicht sicher ausgeschlossen werden; molekulargenetische Untersuchungen sind zwingend erforderlich.

Die meisten anomalen Hämoglobine lassen sich in der Hämoglobindifferenzierung nachweisen. Der Anteil des anomalen Hämoglobins am Gesamthämoglobin ist unter anderem vom betroffenen Gen und der Art des anomalen Hämoglobins abhängig und macht im heterozygoten Zustand weniger als 50 % des gesamten Hämoglobins aus. Unterschiedliche anomale Hämoglobine können ein identisches Wanderungsverhalten in der Hämoglobindifferenzierung zeigen, weshalb deren eindeutige Identifizierung durch eine Hämoglobindifferenzierung nicht möglich ist. Internationale Richtlinien fordern deshalb deren Bestätigung mit einer zweiten Methode [10]. Eindeutig bestimmbar ist ein anomales Hämoglobin mittels DNA-Sequenzierung.

Molekulargenetik

Molekulargenetische Untersuchungen sind mittlerweile fester Bestandteil der Diagnostik von Hämoglobinopathien [15]; aufgrund des Pathomechanismus sollten diese sowohl Einzelbasenvarianten (SNV) als auch Kopiezahlveränderungen (CNV) wie große Deletionen oder Duplikationen identifizieren.

Typische Methoden zur Identifizierung von Sequenzvarianten sind die klassische Sanger-Sequenzierung und die Next-Generation-Sequenzierung (NGS), wobei sich zeigt, dass aufgrund der Sequenzhomologie die Zuordnung der Sequenzen zu den Genen *HBA1* und *HBA2* im NGS oft nicht möglich ist [15, 16]. In diesem Zusammenhang ist der Ansatz der Long-Read-Sequenzierung vielversprechend [17], jedoch bisher noch nicht weit verbreitet. Die Auswertung der Sequenzierung erfolgt mithilfe des Abgleichs der ermittelten

Varianten mit auf Hämoglobinopathien spezialisierten Datenbanken wie HbVar [18] und IthaNet [19].

Der Nachweis von CNVs erfolgt über Methoden wie die gap-PCR oder die MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Die gap-PCR ist eine schnelle, einfache und kostengünstige Methode, jedoch ausschließlich für den Nachweis einer begrenzten Anzahl von bekannten Deletionen geeignet [15]. Die MLPA hingegen weist auch seltenere oder bislang unbeschriebene Deletionen nach, ist jedoch technisch aufwendiger [15]. Mit fortschreitender Entwicklung der NGS-Technologie und deren bioinformatischer Auswertung ist künftig auch eine NGS-basierte CNV-Detektion zu erwarten [15].

Anomale Hämoglobine und Beta-Thalassämien beruhen zumeist auf SNVs. Seltener führen Deletionen im Beta-Globingen-Komplex zu einer Beta-Thalassämie. Alpha-Thalassämien dagegen werden überwiegend durch Deletionen im Alpha-Globingen-Komplex verursacht; die häufigsten sind die Deletionen $-\alpha^{3,7}$, $-\alpha^{4,2}$, $--_{SEA}$, $--_{THAI}$, $--_{MED}$, $--_{FIL}$ und $-(\alpha)^{20,5}$. Zusätzlich finden sich auch Alpha-Thalassämien, die auf SNVs beruhen. Diese sogenannten Nicht-Deletionsformen (abgekürzt α^T) werden durch Sequenzierung der Alpha-Globingene identifiziert.

Zusammenfassend kann eine Indikation für molekulargenetische Untersuchungen unter anderem in folgenden Situationen gestellt werden:

- Abklärung einer Alpha-Thalassämie jeglicher Form – primär oder in Kombination mit anderen Hämoglobinopathien,
- Bestätigung einer Beta-Thalassämie und Bestimmung deren Subtyps (β^+ oder β^0),
- eindeutige Identifizierung eines anomalen Hämoglobins,
- Bestätigung einer hereditären Persistenz fetalen Hämoglobins (HPFH) bzw. einer Delta-Beta-Thalassämie,

- Diskrepanz zwischen tentativer Diagnose und den erythrozytären Blutbildveränderungen,
- Identifizierung von HbA2-Varianten (Varianten in *HBD*) (z. B. zur Unterscheidung von Hb Constant Spring),
- Verdacht auf Delta-Thalassämie (z. B. bei vorliegender Beta-Thalassämie und ausbleibender HbA2-Erhöhung),
- Ausschluss von genetischen Varianten in den Gamma-Globingenen vor kurativer, HbF-reaktivierender Therapie sowie
- zur Familienplanung und genetischen Beratung bei betroffenen Partner:innen oder entsprechender genetischer Herkunft.

Diagnostische Fallstricke und praktische Hinweise

Aufgrund der chromosomalen Anordnung der Globingene können unterschiedlichste Kombinationen von Hämoglobinopathien vorkommen, einschließlich des gleichzeitigen Auftretens von Hämoglobinopathien des Alpha- und Beta-Globingen-Komplexes sowie von qualitativen und quantitativen Störungen der Globinkettensynthese. Laborinterne Untersuchungen haben gezeigt, dass bei heterozygoten Formen einer Beta-Thalassämie, eines HbS oder eines HbE in 10 bis 37% der Fälle begleitend eine Alpha-Thalassämie auftritt [20]. Auch die Sichelzellerkrankheit kann durch unterschiedliche Genotypen verursacht werden. So führt HbS in Kombination mit anderen anomalen Hämoglobinen (v. a. HbC, HbS, HbD Punjab und HbO Arab) oder einer Beta-Thalassämie zu unterschiedlichen

Ausprägungen der Sichelzellerkrankheit mit variierendem Schweregrad und teils unterschiedlich betroffenen Organsystemen [7].

Eine besondere Kombination stellt das gleichzeitige Auftreten einer heterozygoten Beta-Thalassämie und einer Alpha-Globingen-Triplikation dar. In diesem Fall führt ein Zugewinn an Alpha-Globingenen zu einem deutlicher ausgeprägten Ungleichgewicht zwischen Alpha- und Beta-Globinketten und somit zu stärker ausgeprägten Symptomen der Beta-Thalassämie bis hin zu einer Beta-Thalassaemia intermedia [21].

Die Abwesenheit eines anomalen Hämoglobins in der Hämoglobindifferenzierung schließt dessen Vorhandensein nicht vollständig aus. In einigen Fällen ist trotz entsprechender Variante im Globingen kein anomales Hämoglobin in der Hämoglobindifferenzierung nachweisbar. Dies kann bei instabilen Hämoglobinen der Fall sein, die aufgrund ihrer kurzen Halbwertszeit im Labor nicht nachweisbar sind. Häufigste Vertreter von instabilen Hämoglobinen sind Hb Köln, Hb Hasharon und Hb Zürich, die bereits in heterozygoter Form symptomatisch sind [1]. Identisches Wanderungsverhalten eines anomalen Hämoglobins und des physiologischen HbA kann ebenfalls den Nachweis mittels Hämoglobindifferenzierung verhindern. Bei dringendem klinischem Verdacht auf Hämoglobinopathie und unauffälliger Hämoglobindifferenzierung sollten daher ergänzend molekulargenetische Methoden herangezogen werden, um diese vollständig auszuschließen.

Tab. 4: Patienteninformation für zielgerichtete Diagnostik von Hämoglobinopathien sowie korrekte Interpretation der Laborergebnisse.

- Alter
- Geschlecht
- Genetische Herkunft
- Familienanamnese hinsichtlich Hämoglobinopathien
- Vorausgegangene Erythrozytentransfusionen
- Medikamentöse Therapien der Hämoglobinopathie
- Eisenstatus
- Einverständniserklärung nach Gendiagnostikgesetz (GenDG)

Bei der Quantifizierung eines anomalen Hämoglobins in der Hämoglobindifferenzierung ist zu beachten, dass der Anteil eines heterozygot auftretenden anomalen Hämoglobins verhältnismäßig niedriger ist, wenn gleichzeitig eine Alpha-Thalassämie oder ein Eisenmangel vorliegt. Im Falle der Alpha-Thalassämie ist das Ausmaß der Erniedrigung des anomalen Hämoglobins abhängig von der Anzahl der ausgefallenen Alpha-Globingene.

Selten treten auch erworbene Thalassämien im Rahmen von hämatologischen Neoplasien auf. Der genetische Befund im peripheren Blut entspricht dann nicht dem Keimbahnstatus der Betroffenen [22]. Bei entsprechendem Verdacht können hereditäre Formen durch die zusätzliche Analyse von DNA aus nichthämatologischem Gewebe (z. B. Mundschleimhaut, Fingernagel, Fibroblastenkulturen u. a.) unterschieden werden.

Interpretation der Ergebnisse und integrierter Befund

Zusammenfassend ist die genaue diagnostische Charakterisierung einer Hämoglobinopathie bzw. der vorliegenden Kombination für die Betreuung der Patient:innen von entscheidender Bedeutung. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung von Hämoglobinopathien und der Komplexität der Laboruntersuchungen sollte in Zusammenschau aller Laborergebnisse ein integrierter Befund verfasst werden. Dieser nimmt auf Basis aller Laboruntersuchungen Stellung, ob die Symptome und die hämatologischen Veränderungen der Betroffenen dadurch erklärt werden. Für die korrekte Interpretation der Untersuchungsergebnisse sind dabei Informationen zur erkrankten Person entscheidend, wie sie in Tab. 4 gezeigt sind. Falls eine vorliegende Konstellation nicht typisch erscheint, sollten im integrierten Befund auf mögliche Differenzial-

diagnosen eingegangen und weitere Untersuchungen zur Abklärung empfohlen werden. Eine enge Interaktion zwischen diagnostisch und therapeutisch tätigen Mediziner:innen ist unerlässlich, um dem zunehmenden Versorgungsbedarf von Personen mit Hämoglobinopathien gerecht zu werden. 

Literatur

- Bain BJ. *Haemoglobinopathy Diagnosis*. 3rd ed.: Wiley Blackwell; 2020
- Taylor SM et al. *Haemoglobinopathies and the clinical epidemiology of malaria: a systematic review and meta-analysis*. *Lancet Infect Dis* 2012; 12(6): 457–468. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70055-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70055-5)
- Taher AT et al. *Thalassaemia*. *Lancet* 2018; 391(10116): 155–167. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31822-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31822-6)
- Williams TN und Weatherall DJ. *World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies*. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2(9): a011692. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011692>
- Piel FB und Weatherall DJ. *The alpha-thalassaemias*. *N Engl J Med* 2014; 371(20): 1908–1916. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1404415>
- Taher AT et al. *beta-Thalassaemias*. *N Engl J Med* 2021; 384(8): 727–743. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2021838>
- Ware RE et al. *Sickle cell disease*. *Lancet*. 2017; 390(10091): 311–323. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30193-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30193-9)
- Collaborators GBDA. *Prevalence, years lived with disability, and trends in anaemia burden by severity and cause, 1990–2021: findings from the Global Burden of Disease Study 2021*. *Lancet Haematol* 2023; 10(9): e713–e734. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(23\)00160-6](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(23)00160-6)
- Hastka J et al. *Eisenmangel und Eisenmangelanämie*. *Onkopedia Leitlinien*. 07/2022. <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/eisenmangel-und-eisenmangelanaemie/@guideline/html/index.html>
- Bain BJ et al. *Significant haemoglobinopathies: A guideline for screening and diagnosis: A British Society for Haematology Guideline: A British Society for Haematology Guideline*. *Br J Haematol* 2023; 201(6): 1047–1065. <https://doi.org/10.1111/bjh.18794>
- Sudmann AA et al. *Reticulocyte hemoglobin equivalent to detect thalassemia and thalassaemic hemoglobin variants*. *Int J Lab Hematol* 2012; 34(6): 605–613. <https://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2012.01442.x>
- Hoffmann J und Urrechaga E. *Verification of 20 Mathematical Formulas for Discriminating Between Iron Deficiency Anemia and Thalassaemia Trait in Microcytic Anemia*. *Lab Med* 2020; 51(6): 628–634. <https://doi.org/10.1093/labmed/lmaa030>
- Piehler AP. *Mentzer- and Huber-Herklotz-index are not sensitive enough to reliably predict alpha-thalassaemia in a large real-world cohort*. *DGKL* 2024; ID: 71017(P-07-08)
- Schipper A et al. *Machine Learning-Based Prediction of Hemoglobinopathies Using Complete Blood Count Data*. *Clin Chem* 2024; 70(8): 1064–1075
- Harteveld CL et al. *The hemoglobinopathies, molecular disease mechanisms and diagnostics*. *Int J Lab Hematol*. 2022; 44 Suppl 1(Suppl 1): 28–36. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13885>
- Achour A et al. *The Evolving Role of Next-Generation Sequencing in Screening and Diagnosis of He-*

moglobinopathies. *Front Physiol* 2021; 12: 686689. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.686689>

17. Hassan S et al. *Next-Generation Sequencing (NGS) and Third-Generation Sequencing (TGS) for the Diagnosis of Thalassaemia*. *Diagnostics (Basel)*; 2023; 13(3): 373. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13030373>

18. Giardine B et al. *Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassaemia mutations*. *Nucleic Acids Res* 2014; 42(Database issue): D1063–9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt911>

19. Kountouris P et al. *IthaGenes: an interactive database for haemoglobin variations and epidemiology*. *PLoS One* 2014; 9(7): e103020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103020>

20. Piehler AP et al. *Co-inheritance of beta- and alpha-thalassaemia trait is frequent and requires genetic testing for detection*. *DGHO* 2023; V223

21. Ropero P et al. *beta-Thalassaemia Intermedia: Interaction of alpha-Globin Gene Triplication With beta-thalassaemia Heterozygous in Spain*. *Front Med (Lausanne)* 2022; 9: 866396. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.866396>

22. Piehler AP et al. *Classical meets malignant hematology: a case of acquired epsilon-gammamadelbetathalassaemia in clonal hematopoiesis*. *Haematologica* 2024; 109(8): 2745–2748. <https://doi.org/10.3324/haematol.2024.285083>

Fortbildungspunkte



Beantworten Sie zehn Fragen zu diesem Beitrag auf unserem CME-Portal und erhalten Sie zwei Fortbildungspunkte der BLÄK: <https://www.trillium.de/akademie/cme-portal.html>



Dr. Dr. med. Armin Piehler, PhD MM
armin.piehler@mll.com
PD Dr. med. Gregor Hörmann, PhD
gregor.hoermann@mll.com
MLL Münchner Leukämielabor