

Richtlijn

Diagnostiek en behandeling van anemie door aangeboren stoornissen in de ijzerstofwisseling en heemsynthese

Initiatief

Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde
en Vereniging Artsen Laboratoriumdiagnostiek (NVKC-VAL)

In samenwerking met

Nederlandsche Internisten Vereniging (NIV)
Nederlandse Vereniging voor Hematologie (NVvH)
Vereniging Klinische Genetica Nederland (VKGN)
Nederlandse vereniging voor Kindergeneeskunde (NVK)

Met ondersteuning van

Orde van medisch specialisten (de Orde)

Financiering

De richtlijnontwikkeling werd gefinancierd uit de Kwaliteitsgelden Medisch Specialisten (SKMS)

Datum

31 December 2012

Colofon

RICHTLIJN

© 2012 Vereniging Artsen Laboratoriumdiagnostiek en Vereniging voor Klinische Chemie en
Laboratoriumgeneeskunde

t.a.v. Dr. P. Berendes

Beatrix ziekenhuis

Postbus 90

4200 AB Gorinchem

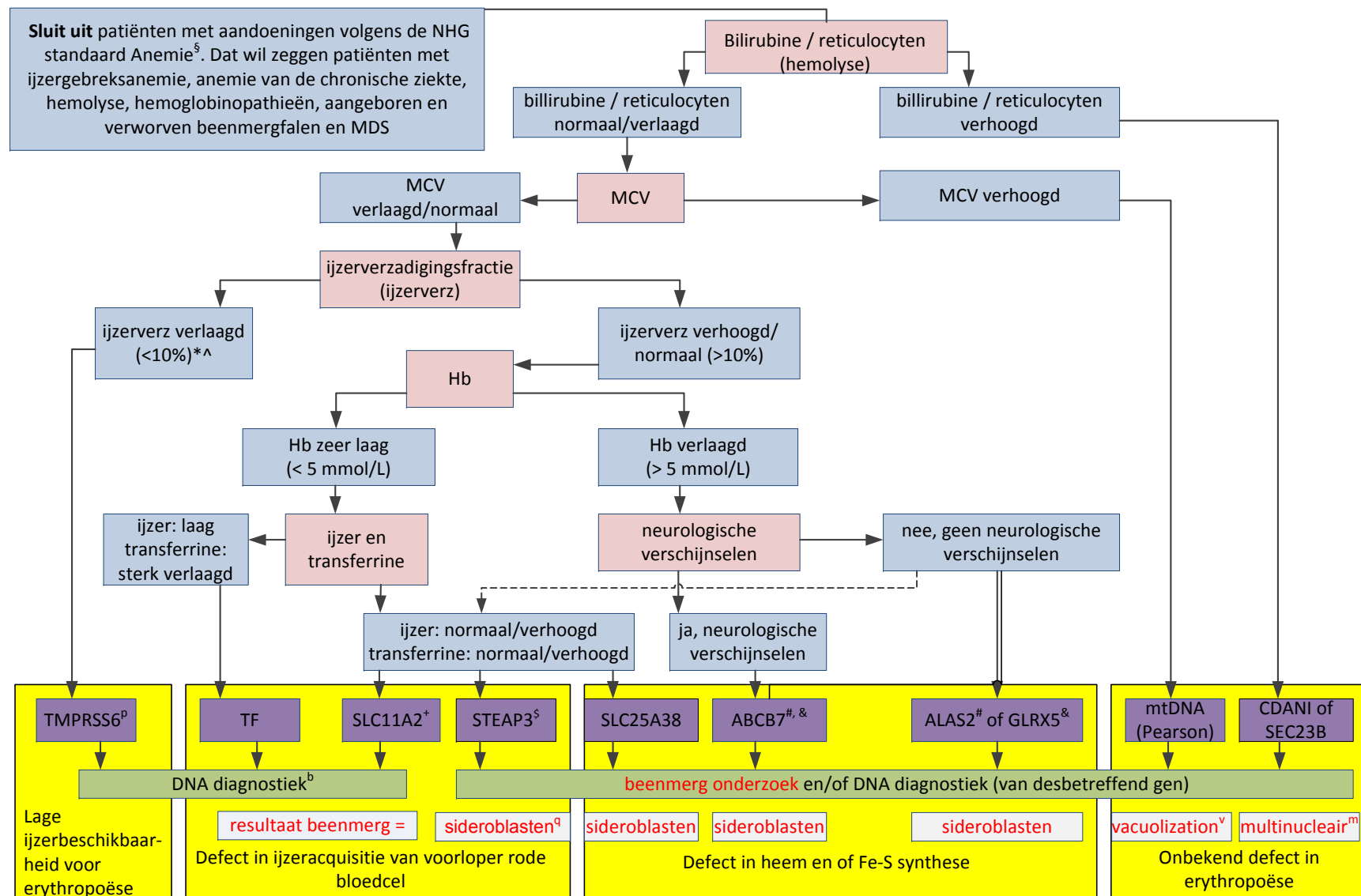
Telefoon: 0183-644800

e-mail: P.Berendes@rivas.nl

Website: www.labarts.nl

Samenvatting

- Diagnostisch diagram (diagram 1)
- Samenvattende tabel (tabel 1)



Diagnostisch diagram bij anemie door aangeboren defect in de ijzerstofwisseling^a. roze: klinische presentatie of laboratorium onderzoek; blauw: bevinding klinische presentatie of laboratoriumonderzoek; paars: (sterke verdenking) aangedaan gen; groen: diagnostiek voor confirmatie (voorkeur gaat uit naar eerst DNA onderzoek, daarna indien nodig beenmerg); wit: beenmergmorfologie; geel: pathofysiologie, [§], Van Wijk et al. (2003) Huisarts Wetenschap, 46(3),147; *, voor aanvang behandeling ijzer; ^, > ref range lab en in afwezigheid van inflammatie; #, X-linked overerving; &, overweeg screening defect Fe-S cluster synthese door enzymmetingen in fibroblasten voorafgaand aan DNA-onderzoek; ^p, bij IRIDA door mutatie in TMPRSS6 is i) de ijzerverzadigingsfractie/hepcidine ratio verlaagd en ii) verbetert het Hb niet of nauwelijks op therapie met orale ijzer maar wel op iv ijzer; q, sideroblasten=ringsideroblasten; ⁺, SLC11A2 ofwel DMT1 geeft geen sideroblasten; [§], STEAP3 is beschreven als geassocieerd met gonadale disfunctie; ^v, vacuolizatie van beenmerg voorlopercellen; ^m, multinucleaire erythroblasten; ^a, Voor OMIM namen van de genen: zie de desbetreffende hoofdstukken in de richtlijn; ^b, overweeg whole exoom sequencen als DNA onderzoek geen defect aantoot; gestippelde lijn, minder waarschijnlijk maar niet uitgesloten.

Diagram 1: Diagnostisch diagram

pathofysiologie	Lage ijzerbeschikbaarheid voor erythropoëse	Defect in ijzeracquisitie van voorloper rode bloedcel			Defect in erythropoëse						
					Defect in heem en/of Fe-S synthese				Onbekend defect in erythropoëse		
aandoening	ijzerrefractaire ijzerdeficiëntie anemie (IRIDA)	Atransferrinemie	Microcytaire anemie met ijzerstapeling	Sideroblastaire anemie	Sideroblastaire anemie	X-linked Sideroblastaire anemie, met ataxie	X-linked sideroblastaire anemie	Sideroblastaire anemie	Pearson	Congenitale dyserythropoëtische anemie (CDA)	
										Type I	Type II
gen	TMPRSS6	TF	DMT1	STEAP3	SLC25A38	ABCB7	ALAS2	GLRX5	MtDNA, matern	CDAN1	SEC23B
beschreven patiënten wereldwijd	20-100	5 tot 20	5 tot 20	5 tot 20	20-100	5 tot 20	> 100	1	20-100	> 100	> 100
erfelijkheid	AR ¹	AR	AR	AR / AD ¹¹	AR	XL	XL ³	AR	de novo / matern	AR	AR
leeftijd bij diagnose	kind	variabel	kind	kind	kind	kind	variabel	volwassen	kind / pasgeborene	kind	kind / volwassen
neurologie	nee	nee	nee	nee ¹²	nee	ja ⁵	nee	nee	ja ¹³	nee	nee
anemie MCV	variabel micro	variabel micro	variabel micro	ernstig / mild micro / normo ¹⁰	ernstig micro	mild micro	mild / nl ²	mild micro	ernstig macro	variabel micro	variabel normaal
ringsideroblasten	nee	nee	nee	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nee	nee
ijzerstapeling	nee	ja	variabel ⁸	mogelijk ⁹	ja	nee	ja ⁴	ja	?	ja	ja
ijzerverzadigingsfractie	< 10%	hoog	hoog	hoog	hoog	nl	hoog	hoog	?	hoog	hoog
ferritine	nl / laag	hoog	variabel ⁸	hoog ⁹	hoog	nl	hoog	hoog	?	hoog	hoog
hepcidine	hoog ⁶	laag	nl / laag	nl / hoog	geen data	geen data	geen data	geen data	?	laag ¹⁴	laag
behandeling	iv iron EPO ⁷	transfusie TF plasma chelatie flebotomie	oraal ijzer transfusie EPO chelatie	transfusie EPO chelatie	BMT transfusie	niet beschreven	pyridoxine folaat flebotomie chelatie	transfusie chelatie	transfusie EPO BMT	expectatief transfusie chelatie IFα BMT	expectatief transfusie splenectomie chelatie BMT

Legenda: ¹, ook autosomaal dominant beschreven; ², bij een groot deel van de mutaties alleen bij pyridoxine deficiënties; ³, ook bij vrouwen; soms alleen bij vrouwen in één familie, omdat bij mannen lethaal is; ⁴, erg wisselend; ⁵, neurologie vaak al op jonge leeftijd; anemie kan zich later manifesteren (jonge adolescent); ⁶, te hoog voor de ijzerparameters: ijzerverzadigingsfractie / hepcidine ratio < ondergrens referentiegebied van het laboratorium; ⁷, nog niet systematisch bij mensen onderzocht; ⁸, bij normaal ferritine, toch met MRI en leverbiopt ijzerstapeling gezien; ^{8,9}, ijzerstapeling kan wellicht worden toegeschreven aan bloedtransfusies; ¹⁰, MCH is verlaagd; ¹¹, heterozygotie voor pathogene mutatie in combinatie met verlaagde expressie normale allel; ¹², gonadale disfunctie; ¹³, variabele verschijnselen duidend op systeemziekte, multi-organopathologie; ¹⁴, hepcidine te hoog voor serum ferritine; BMT, beenmergtransplantatie; Tf, transferrine; IFα, interferon alfa.

Tabel 1: Kenmerken van de diverse vormen van anemie door aangeboren aandoeningen van de ijzerstofwisseling

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
Hoofdstuk 1 Algemene inleiding	10
1.1 <i>Doelstelling</i>	10
1.2 <i>Richtlijngebruikers</i>	10
1.3 <i>Samenstelling van de werkgroep.....</i>	10
1.4 <i>Werkwijze werkgroep.....</i>	11
1.5 <i>Wetenschappelijke onderbouwing</i>	11
1.6 <i>Strategie voor zoeken naar literatuur.....</i>	12
1.7 <i>Onafhankelijkheid werkgroepleden.....</i>	13
1.8 <i>Betekenis van richtlijnen.....</i>	13
1.9 <i>Herziening.....</i>	14
1.10 <i>Afbakening en definities</i>	14
1.10.1 <i>Selectie van de aandoeningen voor deze richtlijn</i>	14
1.10.2 <i>Indeling van de richtlijn.....</i>	15
1.10.3 <i>Definities en omschrijving van enkele laboratorium bepalingen</i>	16
1.11 <i>Overige onderdelen richtlijn</i>	17
1.11.1 <i>Samenvattende tabel en diagnostisch diagram.....</i>	17
1.11.2 <i>Supplementen.....</i>	17
1.12 <i>Literatuurlijst</i>	17
Hoofdstuk 2 Inleiding in de ijzerstofwisseling en heemsynthese	20
2.1 <i>Literatuurlijst</i>	22
Hoofdstuk 3 IJzer-refractaire ijzer deficiëntie anemie (IRIDA) ten gevolge van afwijkingen in <i>TMPRSS6</i> ...	24
3.1 <i>Pathofysiologie en prevalentie.....</i>	24
3.2 <i>Klinische presentatie en diagnostiek.....</i>	25
3.3 <i>Behandeling</i>	27
3.4 <i>Genetisch onderzoek.....</i>	29
3.5 <i>Informatieverstrekking</i>	30
3.6 <i>Literatuurlijst</i>	30
Hoofdstuk 4 Atransferrinemie ten gevolge van afwijkingen in <i>TF</i>.....	34
4.1 <i>Pathofysiologie en prevalentie.....</i>	34
4.2 <i>Klinische presentatie en diagnostiek.....</i>	35
4.3 <i>Behandeling</i>	37

4.4 Genetisch onderzoek.....	38
4.5 Informatieverstrekking	39
4.6 Literatuurlijst	39
Hoofdstuk 5 Anemie met ijzerstapeling ten gevolge van afwijkingen in SLC11A2 (DMT1).....	41
5.1 Pathofysiologie en prevalentie.....	41
5.2 Klinische presentatie en diagnostiek.....	42
5.3 Behandeling	43
5.4 Genetisch onderzoek.....	45
5.5 Informatieverstrekking	45
5.6 Literatuurlijst	46
Hoofdstuk 6 Sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in STEAP3	48
6.1 Pathofysiologie en prevalentie.....	48
6.2 Klinische presentatie en diagnostiek.....	50
6.3 Behandeling	51
6.4 Genetisch onderzoek.....	52
6.5 Informatieverstrekking	52
6.6 Literatuurlijst	52
Hoofdstuk 7 Sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in SLC25A38	53
7.1 Pathofysiologie en prevalentie.....	53
7.2 Klinische presentatie en diagnostiek.....	54
7.3 Behandeling	55
7.4 Genetisch onderzoek.....	55
7.5 Informatieverstrekking	56
7.6 Literatuurlijst	56
Hoofdstuk 8 X-linked sideroblastaire anemie met ataxie ten gevolge van afwijkingen in ABCB7	58
8.1 Pathofysiologie en prevalentie.....	58
8.2 Klinische presentatie en diagnostiek.....	59
8.3 Behandeling	60
8.4 Genetisch onderzoek.....	60
8.5 Informatieverstrekking	60
8.6 Literatuurlijst	61

Hoofdstuk 9	X-linked sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in <i>ALAS2</i>	63
9.1	<i>Pathofysiologie en prevalentie</i>	63
9.2	<i>Klinische presentatie en diagnostiek</i>	66
9.3	<i>Behandeling</i>	68
9.4	<i>Genetisch onderzoek</i>	69
9.5	<i>Informatieverstrekking</i>	70
9.6	<i>Literatuurlijst</i>	70
Hoofdstuk 10	Sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in <i>Glutaredoxine 5 (GLRX5)</i>	73
10.1	<i>Pathofysiologie en prevalentie</i>	73
10.2	<i>Klinische presentatie en diagnostiek</i>	74
10.3	<i>Behandeling</i>	75
10.4	<i>Genetisch onderzoek</i>	75
10.5	<i>Informatieverstrekking</i>	76
10.6	<i>Literatuurlijst</i>	76
Hoofdstuk 11	Pearson syndroom ten gevolge van deleties of duplicaties in het mitochondriële DNA	77
11.1	<i>Pathofysiologie en prevalentie</i>	77
11.2	<i>Klinische presentatie en diagnostiek</i>	79
11.3	<i>Behandeling</i>	80
11.4	<i>Genetisch onderzoek</i>	81
11.5	<i>Informatieverstrekking</i>	81
11.6	<i>Literatuurlijst</i>	82
Hoofdstuk 12	Congenitale dyserythroëtische anemie type I (CDAI) ten gevolge van afwijkingen in <i>CDAN1</i>	85
12.1	<i>Pathofysiologie en prevalentie</i>	85
12.2	<i>klinische presentatie en diagnostiek</i>	87
12.3	<i>Behandeling</i>	89
12.4	<i>Genetisch onderzoek</i>	90
12.5	<i>Informatieverstrekking zie andere richtlijnen</i>	91
12.6	<i>Literatuurlijst</i>	91

Hoofdstuk 13	Congenitale dyserythroëtische anemie type II (CDAIL) ten gevolge van afwijkingen in	
SEC23B	95
13.1	<i>Pathofysiologie en prevalentie</i>	95
13.2	<i>Klinische presentatie en diagnostiek</i>	97
13.3	<i>Behandeling</i>	99
13.4	<i>Genetisch onderzoek</i>	101
13.5	<i>Informatieverstrekking</i>	102
13.6	<i>Literatuur</i>	102
De Supplementen		107
	Supplement 3 OMIM tabel	108
	Supplement 4 Patiëntenfocusgroep	109
	Supplement 5 Belangenverklaringen	111
	Supplement 6 Overzicht expert centra	112
	Supplement 7 Familieonderzoek en verzekerbareid	113

Hoofdstuk 1 Algemene inleiding

De laatste jaren zijn diverse genen en gerelateerde eiwitten ontdekt die een rol spelen in de ijzerstofwisseling. Hierdoor is ons pathofysiologisch inzicht in de stoornissen van de ijzerstofwisseling, waaronder aangeboren vormen van ijzergebrecsanemie en stoornissen in de heemsynthese, fors toegenomen. Gebaseerd op deze kennis zijn ook nieuwe diagnostische en behandelingsmogelijkheden ontwikkeld. Indien de fenotypische manifestatie zeer duidelijk is worden deze aandoeningen op kinderleeftijd gediagnosticeerd. Echter bij een deel van de aandoeningen is zowel de anemie als de ijzerstapeling niet gemakkelijk te onderkennen en kan de diagnose zelfs op ver gevorderde leeftijd pas naar voren komen. Klinici zijn onvoldoende op de hoogte van deze ontwikkelingen. Dit kan leiden tot het missen van diagnoses, onterechte en zelfs schadelijke behandeling zoals bijvoorbeeld chronische ijzertoediening en onterechte diagnostiek, zoals bijvoorbeeld uitgebreide screening op bloedverlies in de tractus digestivus.

1.1 Doelstelling

Het doel van de richtlijn is de kennis over anemieën door aangeboren aandoeningen van de ijzerstofwisseling te verbeteren, ondersteund door een praktisch hanteerbaar diagnostisch diagram en een samenvattende tabel leidend tot betere herkenning, tijdige, zorgvuldige en adequate diagnostiek en adequate behandeling.

1.2 Richtlijngebruikers

De richtlijn is bedoeld voor alle disciplines die betrokken zijn bij de zorg van patiënten met een anemie door een aangeboren ijzerstofwisselingsstoornis, te weten internisten, internist-hematologen, klinisch genetici, artsen klinische chemie, klinisch chemici, kinderartsen, neurologen, huisartsen en de patiënten zelf en hun familieleden en zorgverzekeraars.

1.3 Samenstelling van de werkgroep

Leden van de werkgroep	Vertegenwoordigde vereniging
Mw. Prof. dr. D.W. Swinkels, klinisch chemicus en arts klinische chemie, Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen, voorzitter	NVVC- VAL
Dr. R.A.P. Raymakers, internist-hematoloog, Universitair Medisch Centrum Utrecht	NVVH
Mw. Prof. dr. N.V.A.M. Knoers, klinisch geneticus, Universitair Medisch Centrum Utrecht	VKGN
Dr. P.P.T. Brons, internist (werkzaam als kinderarts), Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen	NVK
Dr. L.Th. Vlasveld, internist, Bronovo ziekenhuis, Den Haag	NIV
Mw. drs. N. Dors, kinderarts, Catharina Ziekenhuis, Eindhoven	NVK

Met ondersteuning van:

- Ir. R. Terink, afdeling Laboratoriumgeneeskunde UMC St. Radboud, Nijmegen
- Drs. M. Wessels, literatuurspecialist OPK, Orde van Medisch Specialisten, Utrecht
- Ir. T.A. van Barneveld, afdelingshoofd OPK, Orde van Medisch Specialisten, Utrecht

1.4 Werkwijze werkgroep

De werkgroep werkte gedurende 2 jaar aan de totstandkoming van de richtlijn. De uit 6 personen bestaande werkgroep werd onderverdeeld in 3 subgroepen, die afhankelijk van expertise en aandachtsgebied ieder de literatuur van een aantal ziektebeelden hebben bestudeerd. Het diagnostisch diagram en de samenvattende tabel werd gezamenlijk opgesteld. Hoewel de afzonderlijke tekstgedeelten door individuele werkgroepleden of subwerkgroepen zijn voorbereid, is dit document nadrukkelijk geschreven uit naam van de gehele werkgroep. Na systematisch literatuuronderzoek beoordeelden de werkgroepleden de kwaliteit en inhoud ervan. Vervolgens schreven zij een *evidence based* paragraaf of hoofdstuk voor de conceptrichtlijn, waarin per onderdeel conclusies en aanbevelingen zijn geformuleerd. De diverse hoofdstukken werden door alle werkgroepleden gelezen en becommentarieerd, waarna in plenaire vergadering consensus werd bereikt over de uiteindelijke teksten. Deze teksten vormen samen de conceptrichtlijn, die aan de deelnemende wetenschappelijke verenigingen en aan de patiëntenvereniging is aangeboden voor commentaar. Het commentaar op de conceptrichtlijn is door de werkgroep beoordeeld en verwerkt in de definitieve versie. Deze is door de deelnemende wetenschappelijke verenigingen geaccordeerd. De (concept) richtlijn is gepubliceerd op www.ijzercentrum.nl.

1.5 Wetenschappelijke onderbouwing

De richtlijn is voor waar mogelijk gebaseerd op bewijs uit gepubliceerd wetenschappelijk onderzoek.

Relevante artikelen werden verkregen door het verrichten van systematische zoekacties op basis van de volgende uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

1.6 Strategie voor zoeken naar literatuur

De richtlijn is voor zover mogelijk gebaseerd op bewijs uit gepubliceerd wetenschappelijk onderzoek. Relevante artikelen werden verkregen door het verrichten van systematische zoekacties. Er werd eerst oriënterend gezocht naar bestaande richtlijnen in de database van het Guideline International Network (GIN), via Artsennet en via Medline (OVID). Tevens werd gezocht naar systematische reviews in de Cochrane Library en via Medline (OVID). Vervolgens werd er voor de afzonderlijke aandoeningen aan de hand van specifieke zoektermen (gennaam, aandoening [naam, afkorting], specifieke symptomen) gezocht naar gepubliceerde wetenschappelijke studies in de elektronische databases Medline (OVID) (1950-2011) en Embase (1974-2011). Tevens werd er aanvullend handmatig gezocht naar studies aan de hand van de literatuurlijsten van de opgevraagde artikelen. De systematische searches zijn verricht van oktober t/m december 2010. Enkele relevante onderzoeken die zijn gepubliceerd na deze termijn zijn ook meegenomen in de richtlijn. In de beschrijvende tekst wordt in die gevallen nadrukkelijk het jaartal vermeld.

De searches werden verder gelimiteerd op literatuur in het Engels, Duits, Frans en Nederlands.

Conclusies

De conclusies zijn gebaseerd op geselecteerde artikelen met de hoogste bewijskracht. De mate van bewijs is bij de conclusies aangegeven. Hierbij is de volgende indeling gebruikt.

INDELING VAN DE LITERATUUR NAAR MATE VAN BEWIJSKRACHT

VOOR ARTIKELEN BETREFFENDE: INTERVENTIE (PREVENTIE OF THERAPIE)	
A1	Systematische reviews die tenminste enkele onderzoeken van A2-niveau betreffen, waarbij de resultaten van afzonderlijke onderzoeken consistent zijn
A2	Gerandomiseerd vergelijkend klinisch onderzoek van goede kwaliteit (gerandomiseerde, dubbelblind gecontroleerde trials) van voldoende omvang en consistentie
B	Gerandomiseerde klinische trials van matige kwaliteit of onvoldoende omvang of ander vergelijkend onderzoek (niet-gerandomiseerd, vergelijkend cohortonderzoek, patiëntcontroleonderzoek)
C	Niet-vergelijkend onderzoek
D	Mening van deskundigen, bijvoorbeeld de werkgroepleden

VOOR ARTIKELEN BETREFFENDE DIAGNOSTIEK	
A1	Onderzoek naar de effecten van diagnostiek op klinische uitkomsten bij een prospectief gevolgde goed gedefinieerde patiëntengroep met een tevoren gedefinieerd beleid op grond van de te onderzoeken testuitslagen, of besliskundig onderzoek naar de effecten van diagnostiek op klinische uitkomsten, waarbij resultaten van onderzoek van A2-niveau als basis worden gebruikt en voldoende rekening wordt gehouden met onderlinge afhankelijkheid van diagnostische tests
A2	Onderzoek ten opzichte van een referentietest, waarbij van tevoren criteria zijn gedefinieerd voor de te onderzoeken test en voor een referentietest, met een goede beschrijving van de test en de onderzochte klinische populatie; het moet een voldoende grote serie van opeenvolgende patiënten betreffen, er moet gebruik gemaakt zijn van tevoren gedefinieerde afkapwaarden en de resultaten van de test en de 'gouden standaard' moeten onafhankelijk zijn beoordeeld. Bij situaties waarbij multipale, diagnostische tests een rol spelen, is er in principe een onderlinge afhankelijkheid en dient de analyse hierop te zijn aangepast, bijvoorbeeld met logistische regressie

B	Vergelijking met een referentietest, beschrijving van de onderzochte test en populatie maar niet de kenmerken die verder onder niveau A staan genoemd
C	Niet-vergelijkend onderzoek
D	Mening van deskundigen, bijvoorbeeld de werkgroepleden

VOOR ARTIKELN BETREFFENDE ETIOLOGIE EN PROGNOSE	
B1	Vergelijkend observationeel onderzoek (cohortonderzoek, patiënt-controleonderzoek) van goede kwaliteit
B2	Vergelijkend observationeel onderzoek (cohortonderzoek, patiënt-controleonderzoek) van matige kwaliteit
C	Niet-vergelijkend onderzoek
D	Mening van deskundigen, bijvoorbeeld de werkgroepleden

NIVEAU VAN BEWIJS VAN DE CONCLUSIES	
Niveau 1	Gebaseerd op 1 systematische review (A1) of tenminste 2 onafhankelijk van elkaar uitgevoerde onderzoeken van niveau A2
Niveau 2	Gebaseerd op tenminste 2 onafhankelijk van elkaar uitgevoerde onderzoeken van niveau B
Niveau 3	Gebaseerd op 1 onderzoek van niveau A2 of B of onderzoek van niveau C
Niveau 4	Gebaseerd op de mening van deskundigen, bijvoorbeeld de werkgroepleden

Voor de bewijsvoering van de pathofysiologie is de afspraak over het benoemen van het niveau van bewijs: Als een mutatie beschreven is in veel casus in verschillende populaties in verschillende settings en door verschillende onderzoekers, dan kan je spreken van een niveau 1, is dit niet het geval, dan spreken we al van een niveau 3. De werkgroep heeft voor de teksten over de pathofysiologie van de aandoeningen gebruik gemaakt van *in vitro* onderzoek. Voor de teksten en bijbehorende conclusies en aanbevelingen heeft de werkgroep zich vooral gebaseerd op case-reports.

Aanbevelingen

De uiteindelijk geformuleerde aanbeveling is het resultaat van de wetenschappelijke conclusie, waarbij overwegingen zoals patiëntenperspectief, organisatorische aspecten en kosten in acht worden genomen.

1.7 Onafhankelijkheid werkgroepleden

De leden van de werkgroep hebben geen financieel of zakelijk belang bij de aanbevelingen die in de richtlijn worden gedaan (supplement 5).

1.8 Betekenis van richtlijnen

Richtlijnen zijn geen wettelijke voorschriften, maar wetenschappelijk onderbouwde en breed gedragen inzichten en aanbevelingen, waaraan zorgverleners zouden moeten voldoen om kwalitatief goede zorg te verlenen. Aangezien richtlijnen uitgaan van 'gemiddelde patiënten', kunnen zorgverleners in individuele gevallen zo nodig afwijken van de aanbevelingen in de richtlijn. Afwijken van richtlijnen is, als de situatie van de patiënt dat vereist, soms zelfs

noodzakelijk. Wanneer van de richtlijn wordt afgeweken, wordt aanbevolen dit beargumenteerd, gedocumenteerd en, waar nodig, in overleg met de patiënt te doen.

1.9 Herziening

Uiterlijk 5 jaar na verschijnen van de definitieve richtlijn zal worden beoordeeld of herziening nodig is. Wanneer ontwikkelingen in de toekomst het eerder noodzakelijk maken deze richtlijn te herzien, zal de richtlijn vóór de termijn van 5 jaar vervallen en zal een herzieningsprocedure worden gestart.

1.10 Afbakening en definities

1.10.1 Selectie van de aandoeningen voor deze richtlijn

Het gaat in deze richtlijn om patiënten met anemie en primaire of secundaire stoornissen in de ijzerstofwisseling en heemsynthese. Onder de primaire stoornissen verstaan we defecten in i) de ijzer beschikbaarheid, ii) ijzeracquisitie van de voorlopers van de rode bloedcellen, en iii) de heemsynthese en ijzerclustersynthese. Onder de secundaire stoornissen verstaan we dyserythropoëse van onbekende origine (iv).

De NHG standaard geeft adviezen over indicatie voor verwijzing van een anemie door de huisarts (van Wijk 2003). De huisarts wordt daarnaast geadviseerd de anemische patiënt naar de tweede lijn te verwijzen indien er een vermoeden op een anemie door aangeboren stoornis in de ijzerstofwisseling bestaat op basis van i) een uitblijvend gunstig effect van ijzersupplementatie op de anemie, ii) een positieve familie-anamnese voor deze vorm van anemie en/of een iii) hoog ferritine passend bij ijzerstapeling, in de afwezigheid van inflammatie.

Deze richtlijn begint na uitsluiting van aandoeningen volgens de NHG standaard anemieën (Van Wijk, 2003). Dat wil zeggen uitsluiting in de eerste of tweede lijn van patiënten met ijzerebreksanemie, anemie van de chronische ziekten, hemolyse, hemoglobinopathieën en aangeboren en verworven beenmergfalen en MDS.

De eerste selectie van aandoeningen is gebaseerd op enkele recente overzichtsartikelen, te weten Camaschella, 2008; Iolascon, 2009; en Rooijen, 2010 en bestond uit aandoeningen ten gevolge van defecten in de volgende genen: *ALAS2*, *ABCB7*, *GLRX5*, *Cp*, *SLC25A38*, *TF*, *DMT1*, *SLC40A1* en *TMPRSS6*. Gedurende de ontwikkeling van de richtlijn verscheen een publicatie van een eerste familie met een anemie door een defect in het *STEAP3* gen (Grandchamp, 2011), resulterend in een anemie op basis van een ijzerstofwisselingsdefect. Dit is de reden waarom in het najaar van 2011 besloten is ook defecten in dit gen in de richtlijn mee te nemen. De werkgroep heeft besloten daar patiënten met de meest voorkomende maar onbekende aangeboren stoornissen van de erythropoëse en/of heemsynthese aan toe te voegen, i.c. CDAl, CDAlI en Pearson omdat deze aandoeningen buiten de gangbare richtlijnen vallen.

Niet opgenomen in de richtlijn zijn: Erythropoëtische ProtoPorfyrie (EPP), Congenitale Erythropoëtische Porfyrie (CEP) (door *URO*S en *GATA-1* defecten), mitochondriale myopathie met lactaat acidose en ring sideroblasten (MLASA) en Diamond-Blackfan anemia (DBA). Gedurende de ontwikkeling van de richtlijn is ook besloten aanvankelijk voor de richtlijn geselecteerde aandoeningen alsnog niet op te nemen, namelijk aceruloplasminemie (aCP) en "loss of function" ferroportin disease (door defect in *SLC40A1*).

Deze bovenstaande aandoeningen zijn **niet** opgenomen in de richtlijn en wel om de volgende redenen:

- EPP: lichtovergevoeligheid staat op de voorgrond. Tevens heeft 40-60% van de patiënten een milde microcytaire anemie en een laag normaal ferritine (Holme, 2007).
- CEP door *UROS* en *GATA-1* mutaties: gaan beiden gepaard met een anemie, maar deze staat niet op de voorgrond en gaat niet gepaard met afwijkingen in de ijzerstatus (Ciovacco, 2008; Phillips, 2007; Sassa, 2006).
- Cp (aceruloplasmine): de klassieke presentatie van deze patiënten bestaat uit neuronale degeneratie, retina degeneratie en diabetes mellitus. Er is ijzerstapeling beschreven in de hersenen, retina, pancreas en de lever. Patiënten kunnen ook een microcytaire anemie ontwikkelen met een lage ijzerverzadigingsfractie en een verhoogde ferritine concentratie, maar de anemie staat bij deze patiëntenpopulatie niet op de voorgrond (Harris, 1995; Kono, 2006; Ogimoto, 2011; Xu, 2004). Wij stellen ons voor dat deze aandoeningen wordt opgenomen in de richtlijn 'Diabetes'.
- *Loss of function* ferroportin *disease* door een defect in *SLC40A1*: de klassieke presentatie van deze patiënten is een hereditaire hemochromatose. Anemie wordt niet beschreven tenzij door aderlating ontstaan; zij blijken dan gevoelig voor het ontwikkelen van een normocytaire anemie (Mayr, 2011).
- MLASA: deze aandoening is vooral beschreven in Persisch-Joodse en Libanese patiënten, voor defecten in nucleaire genen die coderen voor respectievelijk: pseudouridine synthase (*PUS1*) en mitochondriale tyrosyl tRNA synthetase (*YARS2*) (Fleming, 2011). Patiënten presenteren zich met lactaat acidose, mitochondriale myopathy en een sideroblastaire anemie. Bij deze aandoening staan stoornissen in de ijzerstofwisseling en heemsynthese niet op de voorgrond.
- DBA: Deze aandoening geeft een ernstige (macrocytaire) anemie door een "pure red cell aplasia" vroeg in het leven en is geassocieerd met vele andere fysieke anomalieën. De oorzaak is gelegen in defecten in genen die coderen voor ribosomale eiwitten. Bij deze aandoening staan stoornissen in de ijzerstofwisseling en heemsynthese niet op de voorgrond (Ball, 2011).
- CDAlII is de derde variant van CDA. Deze vorm is veel zeldzamer en voornamelijk beschreven in 3 families en enkele niet familiale patiënten. De grootste familie komt uit Zweden, hiervan zijn 37 patiënten beschreven. Het is een autosomaal dominant overervende aandoening met reusachtige veel-kernige erythroblasten in het beenmerg. Het verantwoordelijke gen is niet bekend, maar vermoedelijk gelegen op chromosoom 15q. Er is geen behandeling beschreven. Er is sprake van hemolyse, een milde anemie maar er is geen sprake van secundaire ijzerstapeling (reviews: Sanström, 2000; Iolascon, 2012). Derhalve is dit ziektebeeld niet opgenomen in deze richtlijn.

Voor de naamgeving van de genen en aandoeningen zijn de OMIM namen gebruikt (zie supplement 3), daarbij zijn uitzonderingen gemaakt indien deze OMIM namen afwijken van hetgeen in de praktijk meer gebruikelijk is (<http://www.omim.org>).

1.10.2 Indeling van de richtlijn

In hoofdstuk 2 wordt een inleiding gegeven in de ijzerstofwisseling en de heemsynthese. Daarin wordt de pathofysiologie van anemieën door aangeboren stoornissen in de ijzerstofwisseling en heemsynthese kort beschreven en schematisch geïllustreerd.

In elk van de volgende hoofdstukken worden de uitgangsvragen uitgewerkt voor de diverse aandoeningen:

Hoofdstuk 3: aandoening ten gevolge van afwijkingen in de ijzerbeschikbaarheid: IJzer refractaire ijzer deficiëntie anemie ten gevolge van afwijkingen in *TMPRSS6*.

Hoofdstukken 4 t/m 6: aandoeningen ten gevolge van afwijkingen in de ijzeracquisitie van de rode voorlopercellen.

- Hoofdstuk 4: Atransferrinemie ten gevolge van afwijkingen in het *TF* gen.
- Hoofdstuk 5: Anemie met ijzerstapeling ten gevolge van afwijkingen in het *DMT1* gen.
- Hoofdstuk 6: Anemie ten gevolge van afwijkingen in het *STEAP3* gen.

Hoofdstukken 7 t/m 13: aandoeningen ten gevolge van afwijkingen in de erythropoëse.

- Hoofdstukken 7 t/m 10: aandoeningen ten gevolge van afwijkingen in de heem en/of Fe-S synthese.
 - Hoofdstuk 7: Sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in *SLC25A38*.
 - Hoofdstuk 8: X-linked sideroblastaire anemie met ataxia ten gevolge van afwijkingen in *ABCB7*.
 - Hoofdstuk 9: X-linked sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in *ALAS2*.
 - Hoofdstuk 10: Sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in *GLRX5*.
- Hoofdstukken 11 t/m 13: aandoeningen ten gevolge van een onbekende afwijking in de erythropoëse.
 - Hoofdstuk 11: Pearson ten gevolge van afwijkingen in mitochondriaal DNA.
 - Hoofdstuk 12: Congenitale erythropoëtische anemie (CDA) type 1 ten gevolge van afwijkingen in *CDAN1*.
 - Hoofdstuk 13: Congenitale erythropoëtische anemie (CDA) type 2 ten gevolge van afwijkingen in *SEC23B*.

In de individuele hoofdstukken wordt niet uitgebreid op de differentiaal diagnose (DD) ingegaan. Deze DD is opgenomen in de samenvattende tabel en het diagnostisch diagram.

1.10.3 Definities en omschrijving van enkele laboratorium bepalingen

1.10.3.1 Hepcidine

In sommige artikelen vinden we hepcidineconcentraties die uitgedrukt zijn in molaire eenheden in weer andere zijn ze uitgedrukt in gravitometrische eenheden (1 nmol/L is 2,789 µg/l). Soms ook is hepcidine gemeten in urine, soms in serum of plasma. Verder is de hepcidinebepaling (nog) niet gestandaardiseerd, waardoor uitslagen verkregen in de verschillende laboratoria onderling niet vergelijkbaar zijn (Kroot, 2009).

Hepcidine uitslagen moeten worden geïnterpreteerd in relatie tot de ijzerparameters.

Referentiewaarden voor serum/plasma hepcidine en bijv. de ratio ijzerverzadigingsfractie/hepcidine staan op www.hepcidinanalysis.com, en zijn gebaseerd op de populatiestudie van Galesloot (2011), en gelden alleen voor hepcidinebepalingen die in dit laboratorium zijn verricht.

1.10.3.2 Transferrine, totale ijzerbindingscapaciteit en ijzerverzadigingsfractie

In de beschrijving van patiënten in de literatuur worden soms de totale ijzerbindingscapaciteit (TIJBC) en soms de transferrine gemeten. Samen met de serum ijzerconcentratie (Fe) kan met behulp van de TIJBC de ijzerverzadigingsfractie worden berekend: ijzerverzadigingsfractie = Fe / TIJBC × 100%. De TIJBC wordt in Nederland uitgedrukt in molaire eenheden (µmol/L) en de

transferrine in gravitometrische eenheden (g/l). Ze kunnen als volgt in elkaar worden omgerekend TIJBC (in $\mu\text{mol/l}$) = $25 \times$ transferrine in g/l) (Gambino, 2007).

1.11 Overige onderdelen richtlijn

Er is geen budgetimpact analyse uitgevoerd. De werkgroep acht de kosten van dit instrument niet in verhouding tot de aantallen patiënten waar het in deze richtlijn over gaat.

1.11.1 Samenvattende tabel en diagnostisch diagram

De hoofdstukken zijn in de samenvattende tabel en het diagnostisch diagram op een overzichtelijke wijze samengevat.

1.11.2 Supplementen

Als supplementen in deze richtlijn zijn opgenomen:

Supplement 1: Evidence tabellen (voor zover ingevuld)

Supplement 2: Case tabellen

Voor bijna alle hoofdstukken 3 t/m 13 zijn casetabellen opgenomen in Supplement 2. Deze tabellen presenteren van alle tot nu toe beschreven patiënten het genotype en fenotype, als ook hoe ze behandeld zijn en het succes daarvan. Voor de anemieën ten gevolge van een defect in *ALAS-2* (hoofdstuk 9) en ten gevolge van defecten in het *CDAN1* en *Sec23B* gen (hoofdstukken 12 en 13) zijn geen casetabellen opgenomen omdat het aantal beschreven patiënten daarvoor te hoog is (> 100).

Supplement 3: OMIM tabel

Supplement 4: Verslag van de patiëntenfocusgroep

Om inzicht te krijgen in de voorkeuren van patiënten is er een patiënten focusgroep georganiseerd. Tijdens deze focusgroep konden de patiënten (die waren geselecteerd op de verschillende aandoeningen) in gesprek met de artsen/werkgroepleden. Hier is een verslag van gemaakt, wat is opgenomen in de supplementen achterin de richtlijn (supplement 4). Daarnaast is het patiëntenperspectief meegenomen in de “overige overwegingen” en als zodanig vernoemd tussen conclusies en aanbevelingen in deze richtlijn.

Supplement 5: Belangenverklaringen

Supplement 6: Overzicht expertcentra

Supplement 7: Familie-onderzoek en Verzekeringen

In dit Supplement wordt familieonderzoek en verzekeraarbaarheid in algemene termen beschreven. Specifieke adviezen hierover worden voor elk van de aandoeningen in de hoofdstukken 3 t/m 13 gegeven.

1.12 Literatuurlijst

Ball, S. (2011). Diamond Blackfan anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 487-491.

- Camaschella, C. (2008). Recent advances in the understanding of inherited sideroblastic anaemia. *British Journal of Haematology*, 143, 27-38.
- Ciovacco, W.A., Raskind, W.H., Kacena, M.A. (2008). Human phenotypes associated with GATA-1 mutations. *Gene*, 427, 1-6.
- Fleming, M.D. (2011). Congenital sideroblastic anemias: iron and heme lost in mitochondrial translation. *American Society Hematology Education Program*, 525-31.
- Galesloot, T.E., Vermeulen, S.H., Geurts-Moespot, A.J., Klaver, S.M., Kroot, J.J., van Tienoven, D., Wetzels, J.F., Kiemeny, L.A., Sweep, F.C., den Heijer, M., Swinkels, D.W. (2011). Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood*. 23, 117(25), e218-25.
- Gambino, R., Desvarieux, E., Orth, M., Matan, H., Ackattupathil, T., Lijoi, E., Wimmer, C., Bower, J., Gunter, E. (2007). The relation between chemically measured total ironbinding capacity concentrations and immunologically measured transferrin concentrations in human serum. *Clinical Chemistry*, 43,2408-2412.
- Grandchamp, B., Hetet, G., Kannengiesser, C., Oudin, C., Beaumont, C., Rodrigues-Ferreira, S., Amson, R., Telerman, A., Nielsen, P., Kohne, E., Balsler, C., Heimpel, H. (2011). A novel type of congenital hypochromic anemia associated with a nonsense mutation in the Steap3/TSAP6 gene. *Blood*, 118, 6660-6666.
- Harris, Z.L., Takahashi, Y., Miyajima, H., Serizawa, M., MacGillivray, R.T.A., Gitlin, D. (1995). Aceruloplasmin: molecular characterization of this disorder of iron metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,92, 2539-2543.
- Holme, S.A., Worwood, M., Anstey, A.V., Elder, G.H., Badminton, M.N. (2007). Erythropoiesis and iron metabolism in dominant erythropoietic protoporphyria. *Blood*, 110(12), 4108-10.
- Iolascon, A., DeFalco, F.L., Beaumont, C. (2009). Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematologica*,94,395-408.
- Iolascon, A., Esposito, M.R., Russo, R. (2012) Clinical aspects and pathogenesis of CDAs: from morphology to molecular approach. *Haematologica*
- Kono, S., Miyajima, H. (2006). Molecular and pathological basis of ceruloplasminemia. *Biological Research*,39, 15-23.
- Kroot, J.J., Kemna, E.H., Bansal, S.S., Busbridge, M., Campostrini, N., Girelli, D., Hider, R.C., Koliaraki, V., Mamalaki, A., Olbina, G., Tomosugi, N., Tselepis, C., Ward, D.G., Ganz, T., Hendriks, J.C., Swinkels, D.W. (2009). Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. *Haematologica*, 94(12),1748-1752.
- Ogimoto, M., Anzai, K., Takenoshita, H., Kogawa, K., Akehi, Y., Yoshida, R., Nakano, M., Yoshida, K., Ono, J. (2011). Criteria for early identification of aceruloplasminemia. *Internal Medicine*, 50, 1415-1418.

Kono, S. & Miyajima, H. (2006). Molecular and pathological basis of ceruloplasminemia. *Biological Research*, 39,15-23.

Mayr, R., Griffiths, W.J., Hermann, M., McFarlane, I., Halsall, D.J., Finkenstedt, A., Douds, A., Davies, S.E., Janecke, A.R., Vogel, W., Cox, T.M., Zoller, H. (2011). Identification of mutations in SLC40A1 that affect ferroportin function and phenotype of human ferroportin iron overload. *Gastroenterology*, 140(7),2056-63.

Ogimoto, M., Anzai, K., Takenoshita, H., Kogawa, K., Akehi, Y., Yoshida, R., Nakano, M., Yoshida, K., Ono, J. (2011). Criteria for early identification of aceruloplasminemia. *Internal Medicine*, 50, 1415-1418.

Phillips, J.D., Steensma, D.P., Pulsipher, M.A., Spangrude, G.J., Kushner, J.P. (2007). Congenital erythropoietic porphyria due to a mutation in GATA1: the first trans-acting mutation causative for a human porphyria. *Blood*, 109(6), 2618-21.

Rooijen, K.L., Raymakers, R.A., Cuijpers, M.L., Brons, P.P., Janssen, M.C., Swinkels, D.W. (2010). New causes of microcytic anaemia: hereditary disorders of iron homeostasis. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 154, A1039.

Sassa, S. (2006). Modern diagnosis and management of the porphyrias. *British Journal of Haematology*, 135(3), 281-92.

Sandström, H., Wahlin, A. (2000). Congenital dyserythropoetic anemia type III. *Haematologica*, 85, 753-757.

Van Wijk, M.A.M., Mel, M., Muller, P.A., Silverentand, W.G.J., Pijnenborg, L., Kolnaar, B.G.M. (2003). *NHG standaard anemie. Huisarts en Wetenschap*, 46(1), 21-29 (rectificatie algoritme staat in Huisarts Wetenschap, 46(3), 147))
<http://www.springerlink.com/content/u84t20j230525836/fulltext.pdf>

Xu, X., Pin, S., Gathinji, M., Fuchs, R. (2004). Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1012, 299-305.

Hoofdstuk 2 Inleiding in de ijzerstofwisseling en heemsynthese

IJzer is een essentieel element in de synthese van heem en dus voor de aanmaak van hemoglobine. Daarnaast is ijzer ook essentieel voor vele celeiwitten en enzymen, waaronder de zogenaamde ijzerzwavelclusters (Fe-S clusters). Een tekort aan ijzer zal dus leiden tot defecten in de heemsynthese, verstoring van enzymatische processen, remming van de celproliferatie en uiteindelijk celdood. Anderzijds is een overmaat aan ijzer toxisch voor cellen door radicaalvorming wat kan leiden tot orgaanschade. Dit impliceert een strikte regulatie van de ijzerhomeostase op zowel systemisch als cellulair niveau, die in figuur 1 schematisch is weergegeven. Bij deze regulatie zijn diverse eiwitten betrokken, waarvan vele de afgelopen 10 jaar zijn ontdekt (voor reviews zie: Camaschella, 2008; Fleming, 2011; Fleming 2012, Hentze, 2010; Iolascon, 2009; Kroot, 2011; van Rooijen, 2010). Defecten in deze eiwitten leiden tot stoornissen in de ijzerstofwisseling, waaronder ijzerstapeling (hemochromatose) en bloedarmoede.

De systemische ijzerregulatie draagt zorg voor de onderlinge afstemming van de ijzerbehoefte van de verschillende organen. Een sleutelrol is weggelegd voor het ijzerregulerend hormoon hepcidine (voor review zie: Kroot, 2011). Hepcidine wordt vooral gemaakt in de lever en bindt zeer specifiek het cellulaire ijzer exporterende eiwit ferroportine, waarna het complex wordt geïnternaliseerd en afgebroken. Ferroportine komt voornamelijk tot expressie op de basolaterale membraan van enterocyten en de celmembraan van de macrofagen. Aldus leidt een verminderde productie van hepcidine tot een toename van ferroportin expressie, dus ijzeropname in de darm en ijzerafgifte door de macrofagen. Dit is fysiologisch bij ijzerdeficiëntie, anderzijds kunnen afwijkingen in de regulatie van betrokken eiwitten leiden tot enerzijds pathologisch verhoogde opname, hereditaire hemochromatose en verminderde inbouw in heem, dus inefficiënte erythropoëse (Kroot, 2011).

De belangrijkste cellen betrokken bij het ijzermetabolisme zijn de enterocyt, de hepatocyt, de macrofaag en de erythroïde voorlopercel. Deze cellen spelen een rol bij de ijzeropname in de darm, een efficiënt hergebruik van ijzer uit de macrofagen en gereguleerde opslag van ijzer in het reticuloendotheliale systeem en de lever en gebruik van ijzer voor de heemsynthese voor inbouw in het hemoglobine molecuul.

Bij de duodenale enterocyt (figuur 1a) komt het ijzer het lichaam binnen via de voeding. In het darmlumen wordt het voornamelijk ter hoogte van het duodenum opgenomen. Allereerst wordt Fe^{3+} omgezet in Fe^{2+} via het membraangebonden duodenaal cytochroom B (DcytB). Daarna wordt het de cel in getransporteerd via de ijzertransporter dimetaaltransporter-1 (DMT1). IJzer kan aan de basale zijde het membraan passeren middels de ijzerexporter ferroportine en worden afgegeven aan het bloed. Vrije ijzermoleculen zijn zeer reactief en daarom wordt ijzer gebonden aan transferrine, een ijzertransportmolecuul, en vervoerd naar de weefsels. IJzer dat niet via ferroportine de enterocyt uit kan, zal met het afsterven van darmcellen het lichaam verlaten. Hepcidine kan na specifieke binding ferroportine doen internaliseren, waarna het wordt afgebroken in de darmcel. Hierdoor wordt systemische ijzeropname geblokkeerd.

De hepatocyt (figuur 1b) fungeert als belangrijke opslagplaats voor ijzer in het lichaam. Met name de systemische ijzerregulatie vindt plaats vanuit de hepatocyt, de voornaamste producent van hepcidine. De signaaltransductieroute loopt vanaf het membraan naar de kern, waarbij bot morfogene proteïne (BMP) receptor, het membraaneiwit hemojuveline (HJV), het hemochromatosegen (HFE) en de transferrinereceptoren (TfR)-1 en -2 een essentiële rol spelen. Via intracellulaire routes wordt uiteindelijk het signaal tot hepcidinetranscriptie gegeven. Indien bijvoorbeeld het HJV niet wordt gekliefd door het membraangebonden eiwit matriptase-2 is er

een ongeremde hepcidinesynthese die tot een ernstige, oraal ijzer refractaire microcytaire anemie leidt.

De macrofagen (figuur 1c) zijn reticuloendotheliale cellen die oude of beschadigde rode bloedcellen fagocyteren en deze afbreken. Hierbij wordt het ijzer vrijgemaakt uit de heemeiwitten. In de macrofaag kan ijzer worden opgeslagen als ferritine of hemosiderine en ook weer worden afgegeven voor de heemsynthese. Dit ijzer wordt de macrofagen uit getransporteerd via ferroportine.

In de erythroïde voorlopercel (figuur 1d) vindt na binding van 2 ijzermoleculen aan de TfR opname plaats door endocytose. Binnen het endosoom wordt onder invloed van een ATP-ase de pH verlaagd tot ongeveer 5,5 waardoor Fe^{3+} uit het transferrine vrijkomt. Vervolgens wordt Fe^{3+} door in het endosoom aanwezige reductase, six-transmembrane epithelial antigen of the prostate 3 (STEAP3) gereduceerd tot de ferro (Fe^{2+}) vorm en door het divalent metaal-ion transporter 1 (DMT1) over de membraan van het endosoom naar het cytoplasma getransporteerd. *DMT1* of *STEAP3*-mutaties met een sterk verminderde eiwitsynthese of -functie resulteren in een ijzerdeficiënte erythropoëse en daardoor microcytaire anemie.

Het codanine-1 eiwit en het SEC23B eiwit zijn in de nucleus dicht bij elkaar gelokaliseerd, hetgeen een functionele relatie tussen deze 2 eiwitten suggereert. De functie van zowel SEC23B als codanine 1 is echter niet precies bekend. *SEC23B* codeert voor het secretoire deel van het COPII coat protein complex. COPII is betrokken bij de vorming van transport structuren, die eiwitten en andere materialen helpen te transporteren van het endoplasmatisch reticulum naar het Golgi apparaat. Recent vond men in diermodellen dat een mutatie in *CDAN1*, coderend voor het codanine 1 eiwit, kan leiden tot heterochromatine proteïne 1-alfa accumulatie in het Golgi apparaat, waardoor functies in de celkern verstoord kunnen raken (Renella, 2011).

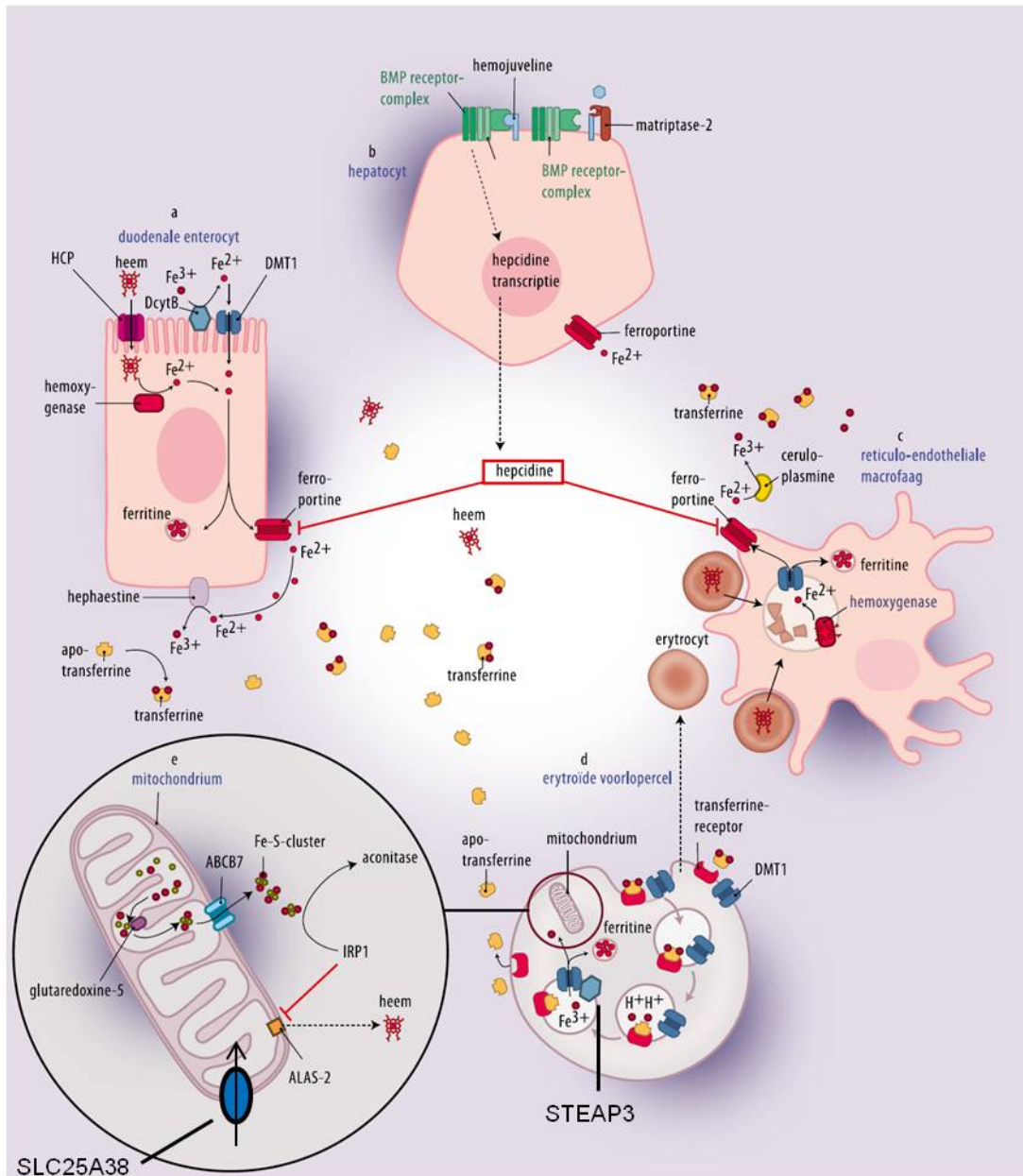
Het codanine-1 eiwit en het SEC23B eiwit zijn aangedaan bij respectievelijk Congenitale dyserythropoëtische anemie (CDA) type I en II (Dgany, 2002; Renella, 2011; Schwarz, 2009). Bij beide vormen van CDA is er sprake van een ineffektieve erythropoëse (stoornis in uitrijping van de voorloper erythrocyt in het beenmerg) of dyserythropoëse (kwalitatieve defecten in de erythrocyt of erythrocyt voorlopercel). Het is niet bekend waarom deze defecten leiden tot een stoornis in de erythropoëse.

In het mitochondrium van de erythroïde voorlopercel (figuur 1e) vindt heemsynthese plaats en worden ijzerzwavelclusters (Fe-S-clusters) gevormd. In de eerste, regulerende stap van de heemsynthese wordt 5-aminolevulinezuur gesynthetiseerd uit succinyl-CoA en glycine door het enzym delta-aminolevulinezuursynthase (ALAS-2). Door mutaties in *ALAS2* en daardoor verkorte overleving van het enzym ontstaat er verminderde heemsynthese. Het mitochondriële membraan eiwit SLC25A38 importeert vermoedelijk glycine in het mitochondrium en exporteert misschien ook ALA naar het cytosol waar ook een groot deel van de synthese van de voorlopers van heem (porfyrines) plaatsvindt.

Het enzym glutaredoxine-5 speelt een rol in de synthese van de Fe-S clusters, die waarschijnlijk via de ABCB7-transporter het cytoplasma bereiken. Indien de synthese van de Fe-S-clusters niet goed verloopt, wordt de heemsynthese via een effect op *ALAS-2* geremd. Hierbij spelen 'iron responsive protein 1' (IRP1) en aconitase een rol. Door het tekort in heemaanmaak wordt de ijzeraanvoer juist gestimuleerd. IJzer accumuleert in de mitochondriën en zo ontstaat een sideroblastaire anemie met ringsideroblasten en een microcytair bloedbeeld.

Het mitochondriële DNA (mtDNA; 16.5 kb molecuul) codeert voor 13 subunits van de mitochondriële ademhalingsketen, voor 22 tRNAs (transfer RNAs) en voor 2 rRNAs (ribosomale

RNAs). Bij deleties en (meer zeldzame) duplicaties van mtDNA treedt het zogenaamde Pearson syndroom op. Dit syndroom (ook wel genoemd Pearson's beenmerg pancreas syndroom) is een multisysteemziekte die wordt gekenmerkt door refractaire sideroblastische anemie. De exacte pathogenese van de sideroblastische anemie bij Pearson syndroom is waarschijnlijk complex en niet volledig opgehelderd. Anemie door mitochondriële dysfunctie zou secundair kunnen zijn aan defecten in de heembiosynthese, of processen die leiden tot verstoord gebruik van ijzer in erythrocyten, of door afwijkingen in de erythropoëse (Inoue, 2007).



Figuur 1. De belangrijkste cellen en eiwitten betrokken bij het ijzermetabolisme (overgenomen en gemodificeerd uit van Rooijen (2010)). a) duodenale enterocyt. Defect in DMT1 leidt tot microcytaire anemie met ijzerstapeling (zie ook DMT1 bij erythroïde voorloper cell); b) hepatocyt. c) erythroïde voorlopercel. Defect in DMT1 leidt tot microcytaire anemie met ijzerstapeling (zie ook DMT1 bij enterocyt), defect in STEAP3 leidt tot sideroblastaire anemie, defect in de eiwitten codanine-1 en SEC23B (functie grotendeels onbekend en daarom niet in figuur aangegeven), leiden tot congenitale dyserythroëtische anemie (CDA I en II) d) mitochondrium van de erythroïde voorlopercel. Defecten in SLC25A38, ALAS-2, ABCB7 en GLRX5 leiden tot sideroblastaire anemie. Deze is bij ABCB7 en ALAS-2 X-linked. ABCB7 defecten gaan gepaard met ataxie. Een onbekend defect in mitochondriële DNA leidt tot het syndroom van Pearson, een multisysteemziekte die wordt gekenmerkt door een sideroblastaire anemie.

2.1 Literatuurlijst

- Camaschella, C. (2008). Recent advances in the understanding of inherited sideroblastic anaemia. *British Journal of Haematology*, 143, 27-38.
- Dgany, O., Avidan, N., Delaunay, J., Krasnov, T., Shalmon, L., Shalev, H., Eidelitz-Markus, T., Kapelushnik, J., Cattan, D., Pariente, A., Tulliez, M., Crétien, A., Schischmanoff, P.O., Iolascon, A., Fibach, E., Koren, A., Rössler, J., Le Merrer, M., Yaniv, I., Zaizov, R., Ben-Asher, E., Olender, T., Lancet, D., Beckmann, J.S., Tamary, H. (2002). Congenital dyserythropoietic anemia type I is caused by mutations in codanin-1. *American Journal Human Genetics*, 71, 1467-1474.
- Fleming, M.D. (2011). Congenital sideroblastic anemias: iron and heme lost in mitochondrial translation. *American Society Hematology Education Program*, 525-31.
- Fleming, R.E. & Ponka, P. (2012). Iron overload in human disease. *New England Journal Medicine*, 366(4), 348-359.
- Hentze, M.W., Muckenthaler, M.U., Galy, B., Camaschella C. (2010). Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*, 142(1), 24-38.
- Inoue, S.I., Yokota, M., Nakada, K., Miyoshi, H., Hayashi, J. (2007). Pathogenic mitochondrial DNA-induced respiration defects in hematopoietic cells result in anemia by suppressing erythroid differentiation. *FEBS letters*, 581, 1910-1916.
- Iolascon, A., DeFalco, F.L., Beaumont, C. (2009). Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematologica*, 94, 395-408.
- Kroot, J.J., Tjalsma, H., Fleming, R.E., Swinkels, D.W. (2011). Heparin in human iron disorders: diagnostic implications. *Clinical Chemistry*, 57(12), 1650-1669.
- Renella, R., Roberts, N.A., Brown, J.M., De Gobbi, M., Bird, L.E., Hassanali, T., Sharpe, J.A., Sloane-Stanley, J., Ferguson, D.J., Cordell, J., Buckle, V.J., Higgs, D.R., Wood, W.G. (2011). Codanin-1 mutations in congenital dyserythropoietic anemia type 1 affect HP1{alpha} localization in erythroblasts. *Blood*, 117, 6928-6938.
- Schwarz, K., Iolascon, A., Verissimo, F., Trede, N.S., Horsley, W., Chen, W., Paw, B.H., Hopfner, K.P., Holzmann, K., Russo, R., Esposito, M.R., Spano, D., De Falco, L., Heinrich, K., Joggerst, B., Rojewski, M.T., Perrotta, S., Denecke, J., Pannicke, U., Delaunay, J., Pepperkok, R., Heimpel, H. (2009). Mutations affecting the secretory COPII coat component SEC23B cause congenital dyserythropoietic anemia type II. *Nature Genetics*, 41, 936-940.
- Van Rooijen, K.L., Raymakers, R.A., Cuijpers, M.L., Brons, P.P., Janssen, M.C., Swinkels, D.W. (2010). New causes of microcytic anaemia: hereditary disorders of iron homeostasis. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 154, A1039.

Hoofdstuk 3 IJzer-refractaire ijzer deficiëntie anemie (IRIDA) ten gevolge van afwijkingen in *TMPRSS6*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

3.1 Pathofysiologie en prevalentie

Op chromosoom 22 ligt het *TMPRSS6*-gen dat codeert voor een zogenaamde type II plasma membraan serine protease, matriptase-2. Matriptase-2 klieft het lever membraangebonden eiwit hemojuveline (Altamura, 2010; Silvestri 2008). Hemojuveline induceert de aanmaak van hepcidine door de hepatocyt. Doordat matriptase-2 hemojuveline knipt, remt het de hepcidine synthese. Mutaties in het *TMPRSS6* indien leidend tot een disfunctionerend matriptase-2 eiwit, resulteren in verhoogde hepcidinesynthese door de lever.

Hepcidine kan binden aan de cellulaire ijzerexporter ferroportine, waarna ferroportine afgebroken wordt en niet meer functioneert (Nemeth, 2004). Bij een teveel aan hepcidine wordt er ook in het geval van ijzerdeficiëntie niet meer ijzer opgenomen uit de voeding of vrijgemaakt uit de reticulo-endotheliale macrofagen. Er ontstaat een chronisch functioneel ijzertekort en refractaire microcytaire anemie (Altamura, 2010; Du, 2008; Folgueras; 2008; Silvestri, 2008).

Recent zijn er enkele Genome Wide Association (GWA) studies uitgevoerd, die in populatiestudies genetische variaties koppelen aan fenotypische waarnemingen (Benyamin, 2009; Chambers, 2009; Nai, 2011; Tanaka, 2010). Uit deze studies is gebleken dat het *TMPRSS6* heterogeen is, dat wil zeggen relatief veel hoog frequente polymorfismen herbergt, waarvan er enkele (met name p.Ala736Val) een significante daling gaven van de ijzerconcentraties, Hemoglobine (Hb) en Mean Cellular Volume (MCV) van de rode bloedcel. Uit deze studies kan worden geconcludeerd dat *TMPRSS6* polymorfismen belangrijke modulatoren zijn van de Hb concentratie, MCV en ijzerconcentraties zoals die in bevolking wordt waargenomen. De prevalentie van pathogene mutaties leidend tot ijzer-refractaire ijzergebreksanemie (IRIDA) is niet bekend, maar onderdiagnostiek lijkt waarschijnlijk.

Conclusie

Niveau 1	Het is aangetoond dat IRIDA kan worden veroorzaakt door mutaties in <i>TMPRSS6</i> . Case reports: Altamura, 2010; Beutler, 2010; Cuijpers, 2010; Edison, 2009; De Falco, 2008; Finberg, 2008; Guillem, 2008; Kannengiesser, 2009; Melis, 2008; Palara, 2010; Ramsey, 2009; Silvestrie, 2009; Tchou, 2009
-----------------	---

3.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Patiënten met een verdenking op een defect in *TMPRSS6* zijn beschreven in 17 case reports, in totaal zijn er 49 cases beschreven, verdeeld over 33 families (Supplement 2: case tabellen). Deze case reports beschrijven diverse mutaties in *TMPRSS6*. Slechts aan enkele van deze mutaties zijn ook functionele studies gedaan (Altamura, 2010; Beutler, 2010; De Falco, 2010; Ramsay, 2009; Silvestri, 2009). Hierdoor wordt het niet altijd duidelijk of de mutaties ook pathogeen zijn.

Deze tot nu toe verschenen case reports kunnen voor wat betreft de klinische presentatie en diagnostiek als volgt worden samengevat:

De patiënten worden meestal op jonge leeftijd voor het eerst gezien door een medisch specialist: gemiddeld 12,9 jaar (range: 7 maanden - 52 jaar). Onderzoek in een grote familie uit Sardinië, waarin 5 patiënten met IRIDA werden gediagnosticeerd, liet zien dat de anemie het meest ernstig was op jonge leeftijd met noodzaak voor therapie met iv ijzer. Op volwassen leeftijd waren de Hb-concentraties acceptabel, maar wel met lage MCV, MCH en ijzerverzadigingsfractie. Bij deze patiënten namen de ferritineconcentraties toe met de leeftijd.

De meest voorkomende klachten zijn verminderde kracht en vermoeidheid. Patiënten hebben een microcytaire anemie met een gemiddeld Hb van 5,6 mmol/L (3,8 – 8,6) en een gemiddeld MCV van 60,6 fl (46,3 – 77,5) (Altamura, 2009; Beutler, 2010; Caetano, 2009; Cuijpers, 2010; De Falco, 2010; Edison, 2009; Finberg, 2008; Guillem, 2008; Kannengiesser, 2009; Melis, 2008; Palare, 2010; Ramsey, 2009; Silvestri, 2009; Tchou, 2009). Daarbij is de ijzerverzadigingsfractie verlaagd: gemiddeld 5,8% (1,8 – 31,4) zijn de ferritine waarden laag-normaal: gemiddeld 81,6 µg/L (4 – 388). De hepcidine waarden zijn te hoog voor de ijzerdeficiëntie (weerspiegeld in ijzerverzadigingsfractie) en dientengevolge is de ratio ijzerverzadigingsfractie/hepcidine te laag (Heeney, 2009, zie ook paragraaf 1.10.4.1). Doordat de hepcidine bepaling niet goed gestandaardiseerd is kan deze ratio alleen goed worden beoordeeld in de context van de referentiewaarden van het eigen laboratorium (Kroot, 2009, 2011). Omdat deze referentiewaarden in veel laboratoria nog ontbreken is deze diagnose vaak lastig te stellen.

Daarnaast reageren patiënten met deze aandoening slecht of geheel niet op oraal ijzer, omdat het ijzer niet goed wordt opgenomen en ook niet goed beschikbaar is voor de heem synthese. In twee case reports en in 2 patiënten die later IRIDA bleken te hebben werd met een orale ijzerresorptietest (Crosby, 1984; Gross, 1976; Jensen, 1998) een deficiënte reactie op orale ijzertoediening geobserveerd (Beutler, 2010; Guillem, 2008; Hartman, 1996). Bij intraveneus toegediend ijzer treedt er een (soms partieel) herstel op van de anemie (zie paragraaf 3.3).

IRIDA is beschreven als een erfelijke aandoening, die autosomaal recessief overerft (Finberg, 2008), hoewel er ook patiënten beschreven zijn waarbij alleen een heterozygote mutatie is gevonden, of een combinatie van een heterozygote mutatie op het ene allel en een polymorfisme op het andere allel (Cuijpers, 2010; De Falco, 2008; Finberg, 2008; Guillem, 2008; Heeney, 2009; Silvestri, 2009, Supplement 2: case tabellen). Dit zou theoretisch kunnen worden

verklaard doordat defecten in de promotor of in andere coderende sequenties worden gemist of doordat met sequentie analyse grotere deleties in exonen niet worden gevonden. Dit beeld van predispositie voor het IRIDA fenotype bij patiënten met heterozygote pathogene mutaties wordt daarentegen ondersteund door een studie waarin muizen die heterozygoot zijn voor een knock out van *TMPRSS6* significant lagere Hb, MCV en ijzerverzadigingsfractie hebben alsmede een verhoging van de hepcidine expressie (Nai, 2010). Nai et al. (2010) concluderen dat de aanwezigheid van een heterozygote pathogene mutatie een patiënt gevoeliger maakt voor de ontwikkeling van anemie bij de verhoogde ijzerbehoefte in de jeugd, tijdens zwangerschap of bij lagere ijzer intake of ontsteking. Tenslotte wordt het uit de bestaande literatuur niet duidelijk welke combinatie van veel voorkomende missense mutaties (=polymorfismen) geassocieerd zijn met IRIDA. Immers voor slechts een beperkt aantal polymorfismen zijn functionele studies verricht. Mogelijk zijn het alleen modulerende polymorfismen, die afhankelijk van hun pathogeniciteit en andere aanwezige omgevingsfactoren, de penetrantie van het genotype bepalen (Delbini, 2010; Sato, 2011).

Conclusies

Niveau 3	Er zijn aanwijzingen dat bij patiënten met milde IRIDA het fenotype kan berusten op een heterozygote pathogene mutatie in het <i>TMPRSS6</i> . Beutler, 2010; Finberg, 2008; Heeney, 2009; Pagani, 2010
Niveau 1	Er is nog veel onduidelijkheid of, en zo ja, welke combinaties van heterozygote pathogene <i>TMPRSS6</i> mutaties en modulerende polymorfismen op DNA niveau, het IRIDA fenotype afdoende verklaren. Delbini, 2010; Sato, 2011
Niveau 1	Bij patiënten met het fenotype van IRIDA, wordt de diagnose IRIDA op DNA niveau bevestigd indien de patiënt heterozygoot is voor 2 verschillende pathogene mutaties op de 2 allelen of homozygoot is voor een pathogene mutatie. De betekenis van alle andere (combinaties van) variaties in het <i>TMPRSS6</i> gen is voorsnog te onduidelijk om er definitieve diagnostische conclusies aan te verbinden. Altamura, 2009; Caetano, 2009; Cuijpers, 2010; De Falco, 2010; Edison, 2009; Finberg, 2008; Guillem, 2008; Kannengiesser, 2009; Melis, 2008; Palare, 2010; Ramsey, 2009; Silvestri, 2009; Tchou, 2009
Niveau 3	Er zijn aanwijzingen dat indien een onbegrepen microcytaire anemie zich voordoet bij een onbehandelde patiënt, met een ijzerverzadigingsfractie < 10% en een laag-normaal ferritinegehalte, die slecht of niet op orale ijzertherapie reageert (evt geobjectiveerd met een orale ijzerabsorptietest) maar wel op iv ijzer, de serum hepcidine concentratie van deze patiënt dan kan worden bepaald. Indien hepcidine te hoog is voor de ijzerverzadigingsfractie kan de patiënt onderzocht worden op een defect in <i>TMPRSS6</i> . Beutler 2010; Guillem 2008; Heeney, 2009; www.hepcidinanalysis.com

Niveau 1	<p>Doordat de hepcidine bepaling niet goed gestandaardiseerd is kan de fenotypische diagnose alleen goed gesteld worden in de context van de referentiewaarden van het eigen laboratorium. Omdat deze referentiewaarden in veel laboratoria nog ontbreken is deze diagnose vaak lastig te stellen.</p> <p>Kroot, 2009; Kroot, 2011; www.hepcidanalysis.com</p>
-----------------	--

Aanbevelingen

Bij patiënten met een onbegrepen microcytaire anemie, bij lage ijzerverzadigingsfractie en laag-normale ferritine, die niet op orale maar wel op iv ijzertherapie reageren is het sterk aan te bevelen een serum hepcidine bepaling te verrichten

Als het hepcidine te hoog is voor de ijzerverzadigingsfractie (ijzerverzadigingsfractie/hepcidine < 2,5 percentiel van het laboratorium) dient mutatie-onderzoek naar mutaties in *TMPRSS6* te worden verricht.

Indien dan een homozygote of samengestelde heterozygotie wordt gevonden voor pathogene mutaties, kan de diagnose IRIDA door een defect in het matriptase-2 eiwit worden gesteld.

Er dient onderzoek te worden gedaan naar de betekenis van *TMPRSS6* polymorfismen in de diagnostiek van patiënten met het IRIDA fenotype.

Gezien de complexiteit van de relatie genotype-fenotype adviseren wij een patiënt met een IRIDA fenotype en een heterozygote pathogene mutatie op DNA niveau door te verwijzen naar een klinisch geneticus.

3.3 Behandeling

Uit de casuïstiek maken we op dat bij patiënten met de lichtere vormen van IRIDA ten gevolge van de minder pathogene of heterozygote mutaties het Hb stijgt na orale ijzertherapie (Beutler, 2010; Kannengieser, 2009). Bij de meer pathogene mutaties (dat wil zeggen mutaties die leiden tot hogere hepcidine bij een lage serum ijzerverzadigingsfractie) zien we aanvankelijk een incomplete respons op iv ijzer maar enkele artikelen beschrijven een goede respons van Hb en ferritine en in mindere mate van de ijzerverzadigingsfractie en MCV na herhaaldelijke iv ijzer injecties (Hartman, 1996, 2009; Guillem, 2008; Melis, 2008; Tchou, 2009). De doseringen waren daarbij als volgt: Guillem (2008): i.v. ijzersucrose, 3 weken, 100 mg/week; Hartman, (2009): iv ijzer tot ferritin > 200 µg/L; Tchou (2009): bij een kind, i.v. ijzersucrose dagelijks, gedurende 5 dagen, 4 uur/dag dosis 1.3 mg/kg/dag.

Deze aanvankelijk incomplete respons op iv ijzer wordt waarschijnlijk verklaard doordat het geïnfuseerde ijzer nadat het is weggevangen door de macrofagen door het hoge hepcidine niet beschikbaar is voor de erythropoëse. Er zijn *in vitro* aanwijzingen dat uiteindelijk het ijzer via het ferroportine de macrofaag zal verlaten ondanks de hoge hepcidine concentratie, via posttranscriptionele opregulatie van ferroportin als de ijzerconcentratie van de macrofaag toeneemt (Abboud, 2000; Lymboussaki, 2003). Het langetermijneffect van chronische iv ijzer therapie is onbekend. Daarom is het aangewezen om bij elke patiënt op zoek te gaan naar een zo laag mogelijke ferritine concentratie, als maat voor ijzerstapeling in het reticulo-endotheliale systeem, voor een voor de kwaliteit van leven optimale Hb concentratie.

Uit de onderzoeken in muizen van Peng, Nicolas en Folguares komt naar voren dat een erythropoëtine (EPO) behandeling misschien kan helpen tegen de anemie (Folgueras, 2008; Nicolas, 2011; Peng, 2010). Peng (2010) onderzochten in *TMPRSS6* knock out muizen het effect van 50U en 100 U EPO per muis. Zij komen tot de conclusie dat de lage dosis EPO de anemie vermindert. Nicolas (2011) deden vergelijkbaar onderzoek als Peng (2010) maar zagen geen correctie van de anemie in de muizen. Nicolas(2011) suggereren dat dit zou kunnen liggen aan de erg lage ijzerwaarden in de muizen. EPO zou alleen de erythropoëse kunnen stimuleren als er voldoende ijzervoorraden in het lichaam aanwezig zijn, van een verhoogde erythropoëse is beschreven dat het de hepcidine concentratie verlaagt. Deze theorie wordt ondersteund door het onderzoek van Peng (2010), waarbij EPO toediening aan muizen met voldoende ijzer (Hemojuvelin (HJV)-knockout en MASK (*TMPRSS6* knock out) muizen), resulteerde in correctie van de anemie.

Bij de behandeling met EPO zouden de ijzervoorraden in het lichaam van de patiënt dus al wel een bepaald niveau moeten hebben. Hieruit zou men kunnen concluderen dat een behandeling met een combinatie van iv ijzer en EPO uitkomst zou kunnen bieden. EPO voor het stimuleren van de productie van nieuwe erythrocyten en intraveneus ijzer om de ijzervoorraden in het lichaam op een voldoende niveau te brengen. Overigens, is er bij gezonde vrijwilligers ook onderzoek gedaan naar het effect van EPO op de hepcidine concentraties (Ashby, 2010). Zij vonden 24 uur na het toedienen van de EPO een verlaging in de hepcidineconcentratie. Of dit ook bij IRIDA patiënten het geval is is nog niet onderzocht.

Hepcidine antagonisten zoals hepcidine antilichamen en Hypoxia-inducible factors (HIF) stabilisatoren kunnen in de toekomst wellicht gebruikt worden bij de behandeling van IRIDA omdat preklinische studies laten zien dat ze de hepcidine expressie kunnen verlagen en de ijzerconcentraties kunnen verhogen (reviewed in Kroot, 2011; Nemeth, 2010; Pietrangelo, 2011).

Conclusies

Niveau 1	Het is aangetoond dat herhaaldelijk intraveneus ijzer toedienen bij IRIDA direct Hb stijging geeft. Guillem, 2008; Hartman, 1996, 2009; Melis 2008; Tchou, 2009
Niveau 4	Er is nog veel onduidelijk over het mechanisme van de werkzaamheid van iv ijzer bij IRIDA en de risico's van veel iv ijzer op ijzerstapeling in weefsels.
Niveau 4	Studies met muizen met IRIDA laten zien dat EPO behandeling leidt tot hogere Hb spiegels, mits de ijzervoorraden van de patiënt op orde zijn. Folguares, 2008; Nicolas, 2011; Peng, 2010

Aanbevelingen

Patiënten met een ijzergebreksanemie door aangetoonde mutaties in *TMPRSS6* dienen met iv ijzer behandeld te worden, waarbij geadviseerd wordt om bij een zo laag mogelijk ferritine, een voor kwaliteit van leven optimaal Hb na te streven om complicaties van ijzerstapeling te voorkomen.

Er dient onderzoek te worden gedaan naar de lange termijn bijwerkingen van iv ijzer behandeling bij patiënten met IRIDA.

Er dient onderzoek te worden gedaan naar het effect van combinatietherapie van EPO en iv ijzer bij patiënten met IRIDA op de verbetering van het Hb. Mogelijk dat door deze combinatie minder iv ijzer en dus minder ijzerstapeling kan worden bereikt.

3.4 Genetisch onderzoek

IRIDA is beschreven als een erfelijke aandoening, die autosomaal recessief overerft (Finberg, 2008), hoewel er ook patiënten beschreven zijn waarbij alleen een heterozygote mutatie is gevonden (Cuijpers, 2010; De Falco, 2008; Finberg, 2008; Guillem, 2008; Silvestri, 2009), of een combinatie van een heterozygote mutatie op het ene allel en een polymorfisme op het andere allel. Dominante overerving is echter niet bewezen omdat kleine (pathogene) deleties op het ogenschijnlijk gezonde allel, en ook verlaagde expressie van het gezonde allele niet zijn uitgesloten.

Omdat IRIDA een recessieve aandoening is, en dominante overerving waarschijnlijk erg zeldzaam is, zullen de ouders van een probandus met een homozygote of samengesteld heterozygoot genotype, in verreweg de meeste gevallen drager zijn van de aandoening (= heterozygoot voor de mutatie) en daarom geen klinische verschijnselen hebben. Maar omdat het niet goed bekend is hoe vaak ouders (en ook broers en zussen) van homozygote of samengesteld heterozygote patiënten nu daadwerkelijk een klinisch fenotype hebben, adviseert de werkgroep **ouders, broers en zussen** van deze patiënten goed klinisch te onderzoeken (Hb, MCV, ijzerverzadigingsfractie, ferritine en hepcidine). Indien zij (sub)klinisch zijn, is het gerechtvaardigd alle eerstegraads verwanten (dat wil zeggen **kinderen van proband en broers en zussen van ouders**) te testen op heterozygotie en indien ze heterozygoot zijn ook verder klinisch onderzoek te doen.

Conclusies

Niveau 3	IRIDA is beschreven als een autosomaal recessief overervende aandoening. Er zijn echter aanwijzingen dat in zeldzame gevallen de aandoening autosomaal dominant kan overerven. Cuijpers, 2010; De Falco, 2008; Finberg, 2008; Guillem, 2008; Silvestri, 2009
-----------------	---

Aanbevelingen

Ouders, broers en zussen dienen in eerste instantie te worden onderzocht op de aanwezigheid van het IRIDA fenotype. Indien het (sub)klinisch fenotype aanwezig is, dan testen op genotype en indien bij hen heterozygotie wordt gevonden, is het gerechtvaardigd ook kinderen van de proband en via cascade screening ook andere familieleden te onderzoeken.

3.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (zie supplement 6, overzicht expertcentra). Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

3.6 Literatuurlijst

Abboud, S. & Haile, D.J. (2000). A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J. Biol. Chem*, 275, 19906–19912.

Altamura, S., D'Alessio, F., Selle, B., Muckenthaler, M.U. (2010). A novel TMPRSS6 mutation that prevents protease auto-activation causes IRIDA. *Biochemical Journal*, 431, 363–371.

Ashby, D.R., Gale, D.P., Busbridge, M., Murphy, K.G., Duncan, N.D., Cairns, T.D., Taube, D.H., Bloom, S.R., Tam, F.W., Chapman, R., Maxwell, P.H., Choi, P. (2010). Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica*, 95, 505–508.

Benyamin, B., Ferreira, M.A., Willemsen, G., Gordon, S., Middelberg, R.P., McEvoy, B.P., Hottenga, J.J., Henders, A.K., Campbell, M.J., Wallace, L., Frazer, I.H., Heath, A.C., de Geus, E.J., Nyholt, D.R., Visscher, P.M., Penninx, B.W., Boomsma, D.I., Martin, N.G., Montgomery, G.W., Whitfield, J.B. (2009). Common variants in TMPRSS6 are associated with iron status and erythrocyte volume. *Nature Genetics*, 41(11), 1173-1175.

Beutler, E., Van Geet, C., te Loo, D.M., Gelbart, T., Crain, K., Truksa, J., Lee, P.L. (2010). Polymorphisms and mutations of human TMPRSS6 in iron deficiency anemia. *Blood Cells Molecules & Diseases*, 44 (1), 16-21.

Caetano, G., Relvas, L., Bento, C., Silveira, M.P., Ribeiro, L. (2009). Atypical iron deficiency Anaemia - Association of two new mutations in Ferroportin and TMPRSS6 genes. *American Journal of Hematology*, 84 (8), E288.

Chambers, J.C., Zhang, W., Li, Y., Sehmi, J., Wass, M.N., Zabaneh, D., Hoggart, C., Bayele, H., McCarthy, M.I., Peltonen, L., Freimer, N.B., Srai, S.K., Maxwell, P.H., Sternberg, M.J., Ruokonen, A., Abecasis, G., Jarvelin, M.R., Scott, J., Elliott, P., Kooner, J.S. (2009). Genome-wide association study identifies variants in TMPRSS6 associated with hemoglobin levels. *Nature Genetics*, 41(11), 1170-1172.

Crosby, W.H., O'Neil-Cutting, M.A. (1984). A small-dose iron tolerance test as an indicator of mild iron deficiency. *JAMA*, 20, 251(15), 1986-1987.

Cuijpers, M.L.H., Wiegerinck, E.T.G., Brouwer, R., de Witte, T.J.M., Swinkels, D.W. (2010). Casuïstiek IJzergebreksanemie door een matriptase 2-mutatie. *Nederlands Tijdschrift Geneeskunde*, 154, A1038.

Delbini, P., Vaja, V., Graziadei, G., Duca, L., Nava, I., Refaldi, C., Cappellini, M.D. (2010). Genetic variability of TMPRSS6 and its association with iron deficiency anaemia. *British Journal of Haematology*, 151 (3), 281-284.

Du, X., She, E., Gelbart, T., Truksa, J., Lee, P., Xia, Y., Khovananth, K., Mudd, S., Mann, N., Moresco, E.M., Beutler, E., Beutler, B. (2008). The serine protease TMPRSS6 is required to sense iron deficiency. *Science*, 320 (5879), 1088-1092.

Edison, E.S., Athiyarath, R., Rajasekar, T., Westerman, M., Srivastava, A., Chandy, M. (2010). A novel splice site mutation c.2278 (1) G>C in the TMPRSS6 gene causes deletion of the substrate binding site of the serine protease resulting in refractory iron deficiency anaemia. *British Journal of Haematology*, 147, 760–774.

DeFalco, L., Totaro, F., Nai, A., Pagani, A., Girelli, D., Silvestri, L., Piscopo, C., Campostrini, N., Dufour, C., Manjomi, A.I.F., Minkov, M., Van Vuurden, D.G., Feliu, A., Kattamis, A., Camaschella, C., Iolascon, A. (2010). Novel TMPRSS6 mutations associated with iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Human Mutations*, 31 (5), E1390-E1405.

Finberg, K.E., Heeney, M.M., Campagna, D.R., Aydinok, Y., Pearson, H.A., Hartman, K.R., Mayo, M.M., Samuel, S.M., Strouse, J.J., Markianos, K., Andrews, N.C., Fleming, M.D. (2008). Mutations in TMPRSS6 cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Nature Genetics*, 40 (5), 569-571.

Folgueras, A.R., De Lara, F.M., Pendas, A.M., Garabaya, C., Rodriguez, F., Astudillo, A., Bernal, T., Cabanillas, R., Lopez-Otin, C., Velasco, G. (2008). Membrane-bound serine protease matriptase-2 (Tmprss6) is an essential regulator of iron homeostasis. *Blood*, 112 (6), 2539-2545.

Gross, S.J., Stuart, M.J., Swender, P.T., Oski, F.A. (1976). Malabsorption of iron in children with iron deficiency. *Journal Pediatrics*, 88, 795-799.

Guillem, F., Lawson, S., Kannengiesser, C., Westerman, M., Beaumont, C., Grandchamp, B. (2008). Two nonsense mutations in the TMPRSS6 gene in a patient with microcytic anemia and iron deficiency. *Blood*, 112, 2089-2091.

Hartman, K.R., Barker, J.A. (1996). Microcytic anemia with iron malabsorption: an inherited disorder of iron metabolism. *American Journal Hematology*, 51(4), 269-275.

Hartman, K.R., Finberg, K.E., Merino, M.E. (2009). Iron resistant iron deficiency anemia: Long term follow-up of 5 patients. *Pediatrics Blood Cancer*, 52 (6), 723 (abstract).

Heeney, M.M., Campagna, D.R., Westerman, M., Fleming, M.D. (2009). The clinical and genetic spectrum of TMPRSS6 mutations leading to inappropriate hepcidin expression and iron refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Blood*, 114 (22), (abstract).

Jensen, N.M., Bransborg, M., Boesen, A.M., Yde, H., Dahlerup, J.F. (1998). Low-dose iron absorption test: establishment of a reference interval. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 58(6), 511-519.

Kannengiesser, C., Guillem, F., Silvestri, L., Oudin, C., Marfaing, A., Chaiba-Berrouche, L., Donadieu, J., Toutain, F., Da Silva, M., Isidor, B., Marguerite, G., guila-Martinez, P., Camaschella, C., Beaumont, C., Grandchamp, B. (2009). Allelic heterogeneity of TMPRSS6 mutations in IRIDA. *American Journal of Hematology*, 84 (8), E272.

Kroot, J.J., Kemna, E.H., Bansal, S.S., Busbridge, M., Campostrini, N., Girelli, D., Hider, R.C., Koliaraki, V., Mamalaki, A., Olbina, G., Tomosugi, N., Tselepis, C., Ward, D.G., Ganz, T., Hendriks, J.C., Swinkels, D.W. (2009). Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. *Haematologica*, 94(12), 1748-1752.

Kroot, J.J., Tjalsma, H., Fleming, R.E., Swinkels, D.W. (2011). Hepcidin in Human Iron Disorders: Diagnostic Implications. *Clinical Chemistry*, 57(12), 1650-1669.

Lymboussaki, A., Pignatti, E., Montosi, G., Garuti, C., Haile, D.J., Pietrangelo, A. (2003). The role of the iron responsive element in the control of ferroportin1/IREG1/MTP1 gene expression. *Journal Hepatology*, 39(5), 710-715.

Melis, M.A., Cau, M., Congiu, R., Sole, G., Barella, S., Cao, A., Westerman, M., Cazzola, M., Galanello, R. (2008). A mutation in the TMPRSS6 gene, encoding a transmembrane serine protease that suppresses hepcidin production, in familial iron deficiency anemia refractory to oral iron. *Haematologica*, 93(10), 1473-1479.

Nai, A., Pagani, A., Silvestri, L., Campostrini, N., Corbella, M., Girelli, D., Traglia, M., Toniolo, D., Camaschella, C. (2011). TMPRSS6 rs855791 modulates hepcidin transcription in vitro and serum hepcidin levels in normal individuals. *Blood*, 118(16), 4459-4462.

Nemeth, E. (2010). Targeting the hepcidin-ferroportin axis in the diagnosis and treatment of anemias. *Advanced Hematology*, 750643.

Nicolas, G., Deschemin, J.C., Ramsay, A.J., Mayeux, P., Grandchamp, B., Beaumont, C., Velasco, G., Vaulont, S. (2011). Is EPO therapy able to correct iron deficiency anaemia caused by matriptase-2 deficiency? *British Journal of Haematology*, 152, 492–502.

Nai, A., Pagani, A., Silvestri, L., Camaschella, C. (2010) Increased susceptibility to iron deficiency of Tmprss6-haploinsufficient mice. *Blood*. 116(5):851-852.

Nai, A., Pagani, A., Silvestri, L., Campostrini, N., Corbella, M., Girelli, D., Traglia, M., Toniolo, D., Camaschella, C. (2011) TMPRSS6 rs855791 modulates hepcidin transcription in vitro and serum hepcidin levels in normal individuals. *Blood*, 118(16), 4459-4462.

Palare, M.J., Ferrão, A., Relvas, L., Bento, C., Morais, A. (2010). TMPRSS6 GENE – Two new nonsense mutations associated with IRIDA. *Haematologica*, 95[suppl.2], 704, abs. 1820.

Peng, H., Truksa, J., Lee, P. (2010). EPO-mediated reduction in Hamp expression in vivo corrects iron deficiency anaemia in TMPRSS6 deficiency. *British Journal Haematology*, 151 (1), 106-109.

Pietrangelo, A. (2011). Hepcidin in human iron disorders: therapeutic implications. *Journal Hepatology*, 54, 173-81.

Ramsay, A.J., Quesada, V., Sanchez, M., Garabaya, C., Sarda, M.P., Baiget, M., Remacha, A., Velasco, G., Lopez-Otin, C. (2009). Matriptase-2 mutations in iron-refractory iron deficiency anemia patients provide new insights into protease activation mechanisms. *Human Molecular Genetics*, 18 (19), 3673–3683.

Sato, T., Iyama, S., Murase, K., Kamihara, Y., Ono, K., Kikuchi, S., Takada, K., Miyanishi, K., Sato, Y., Takimoto, R., Kobune, M., Kato, J. (2011) Novel missense mutation in the TMPRSS6 gene in a Japanese female with iron-refractory iron deficiency anemia. *Internal Journal Hematology*, 94(1), 101-103.

Silvestri, L., Guillem, F., Pagani, A., Nai, A., Oudin, C., Silva, M., Toutain, F., Kannengiesser, C., Beaumont, C., Camaschella, C., Grandchamp, B. (2009). Molecular mechanisms of the defective hepcidin inhibition in TMPRSS6 mutations associated with iron-refractory iron deficiency anemia. *Blood*, 113, 5605–8.

Tanaka, T., Roy, C.N., Yao, W., Matteini, A., Semba, R.D., Arking, D., Walston, J.D., Fried, L.P., Singleton, A., Guralnik, J., Abecasis, G.R., Bandinelli, S., Longo, D.L., Ferrucci, L. A. (2010). Genome-wide association analysis of serum iron concentrations. *Blood*, 115(1), 94-96.

Tchou, I., Diepold, M., Pilotto, P., Swinkels, D.W., Neerman-Arbez, M., Beris, P. (2009). Haematologic data, iron parameters and molecular findings in two new cases of iron-refractory iron deficiency anaemia. *European Journal of Haematology*, 83, 595–602.

Hoofdstuk 4 Atransferrinemie ten gevolge van afwijkingen in *TF*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

4.1 Pathofysiologie en prevalentie

Transferrine is een glycoproteïne dat ijzer transporteert van ijzerexporterende cellen voornamelijk enterocyten en macrofagen, naar de ijzerconsumerende cellen, waaronder vooral de rode bloedcel voorlopercellen in het beenmerg. Transferrine (TF) wordt vooral gemaakt in de lever (Goldwurm, 2000). Het eiwit bevat twee bindingsdomeinen voor ijzer. Als transferrine ijzer heeft gebonden kan het aan de transferrine receptor op het celoppervlak binden, waarna dit complex geëndocyteerd wordt. In de endosomen zorgt het zure milieu ervoor dat het ijzer vrijkomt voor transport naar het cytosol en de mitochondriën voor de synthese van heem en Fe-S clusters. Apotransferrine wordt vervolgens gerecycled en teruggebracht naar de bloedbaan (Goldwurm, 2000).

Een defect in het transferrine-gen leidt tot lage soms onmeetbare transferrineconcentraties en een toename van de ijzeropname in de darm door verminderde hepcidine productie (Trombini, 2007). Het lage hepcidine wordt mogelijk veroorzaakt door een ijzerdeficiënte erythropoëse, maar vermoedelijk ook door een rechtstreeks effect van de lage transferrine concentratie op de aanmaak van hepcidine in de lever (Bartnikas, 2011).

Het niet aan transferrine gebonden ijzer is nauwelijks beschikbaar voor de erythropoëse.

Hierdoor ontstaat een microcytaire en hypochrome anemie. Aan de andere kant wordt ijzer in de vorm van niet aan transferrine gebonden ijzer (NTBI) wel opgenomen in non-hematopoëtische weefsels en stapelt het in vooral de lever, pancreas, hart en endocriene organen.

Aangeboren atransferrinemie is een zeldzame recessieve aandoening, die voor het eerste werd beschreven in 1961 door Heilmeyer. In 2000 beschrijven Beutler voor het eerst een onderliggend moleculair defect in het transferrinegen.

Conclusies

Niveau 1	Het is aangetoond dat atranferrinemie wordt veroorzaakt door mutaties in <i>TF</i> . Beutler, 2000
-----------------	---

4.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Sedert de eerste case beschrijving in 1961 (Heilmeyer) zijn er in 16 artikelen nog 13 casus beschreven uit 11 families (Asada Senju, 2002; Aslan, 2007; Beutler, 2000; Cap, 1968; Chen, 2009; Dorantes Mesa, 1968; Goldwurm, 2000; Goya, 1972; Hamill, 1990; Hayashi, 1993; Heilmayer, 1961; Hromec, 1994; Kniseley, 2004; Shamsian, 2009; Walbaum, 1971). Enkele van deze case reports zijn niet te verkrijgen via databases (PubMed e.d.) (Cap, 1968; Dorantes Mesa, 1986; Heilmeyer, 1961; Sakata, 1969; Walbaum, 1971). 11 case reports met in totaal 8 patiënten zijn *full text* beschikbaar (Asada Senju, 2002; Aslan, 2007; Beutler, 2000; Chen, 2009; Goldwurm, 2000; Goya, 1972; Hamill, 1990; Hayashi, 1993; Hromec, 1994; Kniseley, 2004; Shamsian, 2009). Sommige van de 'oudere' cases (Cap, 1968; Dorantes Mesa, 1986; Heilmeyer, 1961; Sakata, 1969; Walbaum, 1971) worden echter in recentere artikelen opnieuw genoemd, of weergegeven in case tabellen (Aslan, 2007).

Het klinische beeld betreft een microcytaire anemie met een gemiddelde hemoglobine (Hb) van 4,0 mmol/L (range 1,9 – 6,4) en een gemiddeld Mean Cellular Volume (MCV) van 63,7 fl (57 – 74,5). De meeste patiënten komen al op jonge leeftijd in het ziekenhuis terecht: gemiddeld op 7,1 jarige leeftijd (0 – 20) (Aslan, 2007; Beutler, 2000; Cap, 1968; Chen, 2009; Dorantes Mesa, 1986; Goldwurm, 2000; Goya, 1972; Hamill, 1990; Heilmeyer, 1961; Sakata, 1969; Shamsian, 2009; Walbaum, 1971). De eerste verschijnselen zijn bleek zien, vermoeidheid en een laag geboortegewicht.

Bij biochemisch onderzoek is vooral de zeer lage transferrine waarde het meest opvallend. Deze is gemiddeld 0,21 g/dL (0,03 – 0,39). Daarnaast zijn de serum ijzerconcentraties ook verlaagd < 20 µg/dL (Beutler, 2000; Goldwurm, 2000; Goya, 1972; Shamsian, 2009). Bij 2 van de 8 beschreven cases in de *full text* artikelen is een beenmergonderzoek verricht. Hieruit blijkt dat het beenmerg hypercellulair is met een toegenomen erythropoëse (Chen, 2009; Hamill, 1990). Aslan (2007) vindt geen ijzer in het beenmerg. Uit een verder onderzoek door Goldwurm (2000) komt naar voren dat de patiënt met atranferrinemiae hepcidine waarden heeft die lager zijn dan de detectiegrens (Trombini, 2007).

Daarnaast worden bij de patiënten verhoogde ferritinewaarden gevonden: gemiddeld 574 µg/L (317 – 837). Klinisch uit deze ijzerstapeling zich in een vergrote lever: bij 3 van de 8 beschreven patiënten wordt een vergrote lever gevonden (Beutler, 2000; Chen, 2009; Hamill, 1990). Bij 1 van deze 8 beschreven patiënten wordt hemosiderine depositie gevonden in de hepatocyten en de Kupffer cellen (Hamill, 1990). Bij deze laatste patiënte wordt ook leverfibrose beschreven. Naast de afwijkingen in het bloedbeeld, de lever en het beenmerg presenteren sommige patiënten zich ook met anorexia, schildklierafwijkingen, hartafwijkingen en moeheid (Beutler, 2000; Chen, 2009; Hamill, 1991; Knisely, 2004), die vermoedelijk samenhangen met de anemie en de ijzerstapeling. Zonder behandeling overlijden patiënten op jonge leeftijd aan hartfalen door ijzerstapeling (Heilmeyer, 1961).

De eerste patiënt werd moleculair gekarakteriseerd in 2000 door Beutler. Ook bij de 6 patiënten beschreven door Aslan (2007), Cap (1968), Chen (2009), Goya (1972), Sakata (1969) en Goldwurm (2000) is een defect in het transferrinegen gevonden. Daarbij is het DNA-defect van de patiënten van Cap (1968) en Goya (1972) meer recent geanalyseerd en beschreven in

respectievelijk Knisely (2004) en Asada-Senju (2002) (zie case tabel in supplement 2). Functionele studies bij de verschillende defecten zijn niet gedaan. Vanwege deze kleine aantallen kan geen zinvolle uitspraak worden gedaan over een relatie van de aard van het defect in het *TF*-gen en de ernst van de aandoening.

Uit de *case reports* van Aslan (2007), Beutler (2000) en Hayashi (1993) komt naar voren dat de ouders van patiënten vaak ook verlaagde transferrineconcentraties hebben. Dit leidt bij hen echter niet tot een anemie of ijzerstapeling.

Conclusies

Niveau 3	Er zijn aanwijzingen dat heterozygotie voor pathogene mutaties in <i>TF</i> leidt tot verlaagde serum transferrine spiegels, maar niet tot anemie of ijzerstapeling. Aslan, 2007; Beutler, 2000; Hayashi, 1993
Niveau 1	Het is aangetoond dat een homozygoot of samengesteld heterozygoot defect in het transferrinegen leiden tot lage of zelfs onmeetbare transferrineconcentraties in het bloed. Dit resulteert in onvoldoende beschikbaarheid van ijzer voor de erythropoëse, en dus een microcytaire hypochrome anemie. Tevens leiden de lage transferrineconcentraties en de hoge ijzerhonger van het beenmerg tot lage hepcidine concentraties waardoor toename van niet aan transferrine gebonden ijzer in de bloedbaan en ijzerstapeling in de weefsels ontstaat. Aslan, 2007; Beutler, 2000; Chen, 2009; Goldwurm, 2000; Trombini, 2007
Niveau 3	Het is aangetoond dat in het geval van een onbegrepen hypochrome microcytaire anemie bij een onbehandelde patiënt, met een verlaagde serum ijzerconcentratie, een verlaagde transferrinespiegel, en een verhoogde ferritine concentratie, de patiënt een defect kan hebben in het transferrinegen. Asada-Senju, 2002; Aslan, 2007; Beutler, 2000; Chen, 2009; Goldwurm 2000, Knisely, 2004

Aanbevelingen

Bij patiënten met een onbegrepen hypochrome microcytaire anemie, bij lage serum ijzerwaarden, lage totale ijzerbindingscapaciteit of transferrineconcentraties en hoge ferritine concentraties, dient het *TF*-gen te worden onderzocht op pathogene mutaties.

Indien dan homozygotie of samengestelde heterozygotie voor pathogene mutaties in *TF* worden gevonden, kan de diagnose atranferrinemie worden gesteld.

4.3 Behandeling

De beschreven patiënten worden behandeld met bloedtransfusies (n=4 patiënten) (Goldwurm, 2000; Goya, 1972; Sakata, 1969; Shamsian, 2009), plasma (met daarin transferrine) infusie (3 patiënten) (Aslan, 2007; Beutler, 2000; Chen, 2009), of met gezuiverd (humaan) transferrine (n=2 patiënten) (Cap, 1968; Hromec, 1994; Kawakami, 1981) en met gezuiverd humaan-apo-transferrine (is ijzer vrij transferrine, n=2) (Goya, 1972; Sakata, 1969). Hromec (1994) betrokken hun gezuiverde humane transferrin van Behring-Werke uit Marburg (1 mg iv). In een meer recente publicatie uit 2001 beschrijven Bonsdorff de isolatie van apotransferrin uit human plasma door Sanquin (Bonsdorff, 2001). Dit apotransferrine was minder dan 1% verzadigd met ijzer, met een ijzerbindingscapaciteit > 96% en een zuiverheid van > 98% .

De bloedtransfusies gaven bij één patiënt een Hb stijging, maar leidde bij deze patiënt tevens tot ijzerstapeling (Shamsian, 2009), voor de andere patiënt beschrijven de auteurs de behandeling met bloedtransfusies als niet effectief (Goya, 1972). De ijzerstapeling wordt behandeld met ijzerchelatie (Deferoxamine) (Shamsian, 2009).

De plasmainfusies resulteren in alle 3 de patiënten tot een stijging van het Hb (Aslan, 2007; Beutler, 2000; Chen, 2009). Eén van deze patiënten ondergaat zelfs aderlatingen om ijzerstapeling te voorkomen (Beutler, 2000).

De behandeling met gezuiverd humaan transferrine geeft een Hb stijging (Cap, 1968; Hromec, 1994; Kawakami, 1981) evenals de behandeling met gezuiverd humaan-apo-transferrine (Goya, 1972; Sakata, 1969).

Conclusies

Niveau 3	Er zijn aanwijzingen dat behandeling met plasma infusie leidt tot verhoging van het Hb. Aslan, 2007; Beutler, 2000; Chen, 2009
Niveau 3	Door bloedtransfusies kan de ijzerstapeling verergeren. Goldwurm, 2000; Sakata, 1969; Shamsian, 2009
Niveau 3	Er zijn aanwijzingen dat atranferrinemia te behandelen is met gezuiverd humaan apotransferrine. De optimale dosering wordt op basis van de literatuur niet duidelijk. Goya, 1972; Hayashi, 1993; Hamill, 1991; Hromec, 1994
Niveau 3	Er zijn aanwijzingen dat de ijzerstatus van patiënten met atranferrinemie moeten worden vervolgd en in geval van ijzerstapeling moet worden behandeld met chelatietherapie of aderlating. Beutler, 2000; Shamsian, 2009

Aanbevelingen

De expert groep is van mening dat een patiënt bij voorkeur moet worden behandeld met transferrine, hiervoor zijn twee mogelijkheden: plasma of apo-transferrine (met apo-transferrine is nog weinig ervaring).

De behandelend arts dient alert zijn op ontstaan van ijzerstapeling.

In geval van ijzerstapeling, adviseert de werkgroep aderlatingen op geleide van Hb, ferritine en klachten. Als alternatief kan chelatie therapie worden gegeven.

4.4 Genetisch onderzoek

Atransferrinemie is een erfelijke aandoening, die autosomaal recessief overerft (Beutler, 2000). Het is aannemelijk dat er bij dragers geen anemie of ijzerstapeling aanwezig is; de transferrine concentratie kan bij hen wel wat verlaagd zijn (Aslan, 2007; Beutler, 2000; Hayashi, 1993). Bij broers of zussen van proband is screening op hemoglobine, MCV, verhoogd ferritine en laag ijzer en transferine de eerste stap.

In de populatie is de frequentie van dragerschap van *TF* mutaties waarschijnlijk zeer laag. Daarom is DNA-onderzoek van het betrokken ziektegen bij partners van patiënten met deze aandoeningen in het kader van risicobepaling voor hun (toekomstige) kinderen niet geïndiceerd. Anders is dit wanneer patiënt en partner bloedverwant zijn. In dat geval is de kans op dragerschap van de partner hoger en is DNA-onderzoek wel aangewezen.

Aanbevelingen

Patiënt dient te worden geïnformeerd over de erfelijke aard van de anemie, waarbij het met name de broers en zussen zijn die een grote kans hebben om ook de anemie te hebben. De kans dat kinderen van de probandus de ziekte krijgen is (volgens de huidige inzichten) verwaarloosbaar.

De volgende familieleden van een patiënt met een microcytaire anemie door een defect in *TF*, dienen te worden onderzocht op de aanwezigheid van *TF* mutaties als gevonden bij de proband:

- Ouders van probandus: indien kinderwens;
- Broers en zussen en kinderen van probandus: alleen indien fenotype aanwezig is of wanneer zij kinderwens hebben;
- Partner van probandus: alleen indien een kinderwens is en er sprake is van (of sterk vermoeden op) bloedverwantschap van proband met partner.

De werkgroep adviseert om bij (overige) familieleden die klinisch niet zijn aangedaan geen DNA onderzoek te doen.

4.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (zie supplement 6, overzicht expertcentra).

Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

4.6 Literatuurlijst

Asada-Senju, M., Maeda, T., Sakata, T., Hayashi, A., Suzuki, T. (2002). Molecular analysis of the transferrin gene in a patient with hereditary hypotransferrinemia. *Journal of human genetics*, 47, 355-359.

Aslan, D., Crain, K., Beutler, E. (2007). A new case of human atransferrinemia with a previously undescribed mutation in the transferrin gene. *Acta Haematology* 118, 4, 244-247.

Bartnikas, T.B., Andrews, N.C., Fleming, M.D. (2011). Transferrin is a major determinant of hepcidin expression in hypotransferrinemic mice. *Blood*, 117, 630-7.

Beutler, E., Gelbart, T., Lee, P., Trevino, R., Fernandez, M.A., Fairbanks, F.V. (2000). Molecular characterization of a case of atransferrinemia. *Blood* 96, 13, 4071-4074.

Cáp, J., Lehotská, V., Mayerová, A. (1968). Congenital atransferrinemia in a 11-month-old child. *Ceskoslovenska Pediatrie*, 23(11), 1020-5.

Chen, C., Wen, S., Tan, X. (2009). Molecular analysis of a novel case of congenital atransferrinemia. *Acta Haematology*, 122, 27-28.

Dorantes-Mesa, S., Marquez, J.L., Valencia-Mayoral, P. (1986). Iron overload in hereditary atransferrinemia. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 443, 99-101.

Goldwurm, S., Biondi, A. (2000). Case of congenital hypotransferrinemia suggests that tissue hypoxia during fetal development may cause hypospadias. *American Journal of Medical Genetics*, 95, 3, 287-290.

Goldwurm, S., Casati, C., Venturi, N., Strada, S., Santambrogio, P., Indraccolo, S., Arosio, P., Cazzola, M., Piperno, A., Masera, G., Biondi, A. (2000). Biochemical and genetic defects underlying human congenital hypotransferrinemia. *Hematology Journal*, 1, 6, 390-398.

Goya, N., Miyazaki, S., Kodate, S., Ushio, B. (1972). A family of congenital atransferrinemia. *Blood* 40, 2, 239-245.

Hamill, R.L., Woods, J.C., Cook, B.C. (1991). Congenital atransferrinemia. A case report and review of the literature. *American Journal of Clinical Pathology* 96, 2, 215-218.

Hayashi, A., Wada, Y., Suzuki, T., Shimizu, A. (1993). Studies on familial hypotransferrinemia: unique clinical course and molecular pathology. *American Journal of Human Genetics* 53, 1, 201-213.

Heilmeyer, L., Keller, W., Vivell, O., Keiderling, W., Betke, K., Woehler, F., Schultze, H.E. (1961). Congenital atransferrinemia in a 7-year-old girl. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 86, 1745-1751.

Hromec, A., Payer, J., Killinger, Z., (1994). Congenital atransferrinemia. Review. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 119, 663-666.

Kawakami, T., Sone, Y., Numajiri, S., Sakata, T. (1981). Replacement therapy for a patient with congenital antransferrinemia – therapeutic effect of apotransferrin. *Rinsho Ketsueki*, 22, 1708-1713.

Knisely, A.S., Gelbart, T., Beutler, E. (2004). Molecular characterization of a third case of human atransferrinemia. *Blood*, 104, 2607.

Sakata, T. (1969). A case of congenital atransferrinemia (in Japanese). *Journal of Pediatric Practice*, 32, 1523-1528.

Shamsian, B.S., Rezaei, N., Arzanian, M.T., Alavi, S., Khojasteh, O., Eghbali, A. (2009). Severe hypochromic microcytic anemia in a patient with congenital atransferrinemia. *Pediatric Hematology & Oncology*, 26, 356-362.

Trombini, P., Coliva, T., Nemeth, E., Mariani, R., Ganz, T., Biondi, A., Piperno, A. (2007) Effects of plasma transfusion on hepcidin production in human congenital hypotransferrinemia. *Haematologica*, 92, 1407-1410.

von Bonsdorff, L., Tölö, H., Lindeberg, E., Nyman, T., Harju, A., Parkkinen, J. (2001). Development of a pharmaceutical apotransferrin product for iron binding therapy. *Biologicals*, 29, 27–37.

Walbaum, R. (1971). Congenital transferrin deficiency. *Lille Medicine*, 16(8), 1122-1124.

Hoofdstuk 5 **Anemie met ijzerstapeling ten gevolge van afwijkingen in SLC11A2 (DMT1)**

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

5.1 Pathofysiologie en prevalentie

Dimetaaltransporter-1 (SLC11A2), ook wel DCT1, Nramp2 of DMT1 genoemd, is een cellulaire membraangebonden ijzertransporter (Fleming, 1998; Gunshin, 1997; Iolascon, 2009; Gunshin, 2005). Het eiwit bevindt zich op de apicale membraan van de dunne darmcel en is daar verantwoordelijk voor ijzeropname uit de voeding (Cannone-Hergaux, 1999). SLC11A2 zit ook op de membraan van de endosomen van de voorlopers van de rode bloedcellen, (Cannone-Hergaux, 2001; Gruenheid, 1999). In deze cellen wordt transferrine met 2 daaraan gebonden ijzermoleculen opgenomen. Daarna wordt in het endosoom het ijzer los gemaakt. Het SLC11A2 zorgt dan voor transport naar het cytosol. Hier komt het beschikbaar voor onder andere de heemsynthese en voor inbouw in enzymen.

Een *SLC11A2* mutatie is als eerste beschreven in zogenaamde mk muizen en Belgrade ratten (Cannone-Hergaux, 2001; Fleming, 1997; 1998). Door de mutatie wordt het eiwit niet meer naar de juiste locatie gebracht en ingebouwd, waardoor het ijzertransport ook niet meer plaatsvindt (Su, 1998; Touret, 2004). Deze muizen en ratten hebben een microcytaire hypochrome anemie, zonder ijzerstapeling, die te verhelpen is door oraal of intraveneus ijzer toe te dienen. De eerste mutatie in de mens werd beschreven door Mims (2005) in een patiënte met microcytaire anemie en ijzerstapeling in de lever (Priwitzerova, 2004). In de jaren daarna worden nog 3 andere patiënten beschreven.

Op grond van beschreven bevindingen concluderen we dat de anemie voornamelijk ontstaat doordat het circulerende ijzer onvoldoende beschikbaar is voor de heemsynthese. In het bloed wordt een hoge ijzerverzadigingsfractie en een lage tot licht verhoogde ferritineconcentratie gevonden. Bijzonder is dat bij 3 van de 4 patiënten desondanks ijzerstapeling in de lever wordt

gevonden (Iolascon, 2006). De etiologie van deze lichte ijzerstapeling is niet helemaal duidelijk. De ruime ijzervoorraad bij de patiënten met *SLC11A2*-mutaties suggereert dat de gastro-intestinale ijzeropname ongestoord is. Priwitzerova (2004) hypothetiseren daarom dat het ijzer mogelijk wordt opgenomen via de alternatieve route van de heemreceptor op de apicale membraan van de dunne darm. Blanco (2009) komen met een alternatieve hypothese, namelijk dat de ineffektieve erythropoëse leidt tot een normale tot matig verlaagde (urine) hepcidine concentratie ondanks ijzerstapeling. In overeenstemming daarmee wordt in 3 patiënten een voor de ijzerstapeling laag urine hepcidine gevonden (Iolascon, 2008). Een laag hepcidine zal alleen tot een verhoogde ijzeropname in de darm leiden als er nog rest activiteit is van *SLC11A2*. Uit hun analyse van de beschreven patiënten komt inderdaad naar voren dat de ijzerstapeling lijkt te correleren met de restactiviteit van het *SLC11A2* in de darm.

Waarschijnlijk is een microcytaire anemie ten gevolge van afwijkingen in het *SLC11A2*-gen zeer zeldzaam, maar onderdiagnostiek is goed mogelijk.

Conclusies

Niveau 1	<p>Het is aangetoond dat <i>SLC11A2</i> mutaties leiden tot microcytaire anemie met ijzerstapeling.</p> <p>Case reports: Beaumont, 2006; Blanco 2009; Iolascon, 2006; Mims, 2005; Priwitzerova, 2004</p>
-----------------	--

5.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Patiënten met een verdenking op een defect in het *SLC11A2* gen zijn beschreven in 4 cases, waarover 5 reports zijn geschreven (Beaumont, 2006; Blanco, 2009; Iolascon, 2006; Mims, 2005; Priwitzerova, 2004). De kliniek van de eerste 3 patiënten wordt in 2008 samengevat door Iolascon.

DNA onderzoek bij de vier patiënten, 2 mannelijk en 2 vrouwelijke, toont aan dat ze allen mutaties in het *SLC11A2* gen hebben. Twee van de 4 patiënten zijn homozygoot (Blanco, 2009; Mims, 2005) en 2 andere samengesteld heterozygoot voor een mutatie in het *SLC11A2* gen (Beaumont, 2006; Iolascon, 2006; zie case tabel in supplement 2). Er zijn ook functionele studies gedaan aan deze mutaties (Lam-Yuk-Tseung, 2005, 2006). In deze paragraaf beschrijven we genotype en fenotype van deze patiënten.

De patiënten werden gemiddeld op 8 jarige leeftijd (range 0 – 20) ontdekt met een groeiachterstand en een laag geboorte gewicht of een moeizame zwangerschap. Door middel van bloedonderzoek wordt bij alle cases microcytaire anemie gevonden: hemoglobine (Hb) gemiddeld 4,0 mmol/l (2,5 - 5,2) en een Mean Cellular Volume (MCV) van gemiddeld 60,7 fl (53,5 – 71,0). Soluble transferrin receptor (sTfR) is verhoogd (Iolascon, 2008), passend bij ineffektieve erythropoëse.

De ijzerverzadigingsfractie is bij alle patiënten verhoogd: 69% (54 – 85) en de ferritinewaarden zijn laag tot mild verhoogd: 109 µg/L (10 – 256). Patiënten met de normale ferritineconcentraties hebben tevoren minder bloedtransfusies gehad dan de patiënten met verhoogde ferritineconcentraties. Dus vermoedelijk is de ferritineconcentratie de resultante van het genotype en het aantal transfusies. Opvallend is verder dat bij 3 van de 4 cases ondanks normale tot licht verhoogde ferritineconcentraties met MRI en biopsie ijzerstapeling in de lever gevonden, zowel in Kupffer cellen als hepatocyten. Pospisilova (2006) en Beaumont (2006) speculeren dat deze lage serum ferritine concentraties de bottleneck in het intracellulaire ijzertransport (vanuit de macrofaag vacuole naar het cytoplasma na opsonisatie van verouderde erythrocyten)

weerspiegelt. Lage hepcidine spiegels en daardoor hoge ferroportine expressie in patiënten met een defect in het *SLC11A2* eiwit kunnen dan het ijzergehalte van het cytoplasma van de macrofaag verder verlagen en de secretie van ferritine onderdrukken.

De beschrijving van de bevindingen bij het beenmergonderzoek in de 4 casereports lopen uiteen maar kunnen worden samengevat als: hypercellulair, met erythroïde hyperplasie, dysplastische kenmerken en een defect in de hemoglobinisatie. Er worden geen sideroblasten gevonden.

Conclusies

Niveau 1	<p>Het is aangetoond dat een defect in het <i>SLC11A2</i>-gen leidt tot ernstige microcytaire anemie vanaf de kinderleeftijd in combinatie met een verhoogde ijzerverzadigingsfractie.</p> <p>Case reports: Beaumont, 2006; Iolascon, 2006; Mims, 2005; Priwitzerova, 2004</p>
Niveau 1	<p>Het is aangetoond dat patiënten met <i>SLC11A2</i>-mutaties ijzer stapelen in de lever. Het is niet duidelijk of dit secundair is aan de bloedtransfusies, dan wel berust op een endogene neiging om te stapelen, wat samen zou kunnen hangen met het aantal ontvangen bloedtransfusies en de aard van de mutatie (minder stapeling bij minder restactiviteit). Bij deze patiënten sluit een normale ferritineconcentratie, een ijzerstapeling niet uit.</p> <p>Case reports: Beaumont, 2006; Iolascon, 2006; Mims, 2005; Priwitzerova, 2004</p>

Aanbevelingen

Bij patiënten die zich op jonge leeftijd presenteren met microcytaire anemie in combinatie met een verhoogde ijzerverzadigingsfractie moet microcytaire anemie ten gevolge van een defect in het *SLC11A2*-gen in de differentiaal diagnose worden opgenomen. Het is dan aan te bevelen DNA onderzoek te verrichten naar mutaties in het *SLC11A2*-gen. Dit geldt des te meer bij kinderen die voortkomen uit consanguine relaties. Patiënten met *SLC11A2* mutaties dienen te worden vervolgd op de aanwezigheid van ijzerstapeling middels het bepalen van de ijzerparameters in het bloed. Een **normale** ferritineconcentratie geeft bij deze patiënten geen garantie voor de afwezigheid van ijzerstapeling. Daarom dient men ook andere ijzerstapelingsdiagnostiek te overwegen, zoals MRI-lever.

5.3 Behandeling

De 4 cases beschreven ontvingen alle transfusies. De eerste patiënt kreeg meteen na de geboorte erythrocyten transfusies (Priwitzerova, 2004), waardoor haar bloedwaarden stabiliseerden (rond Hb 4,4 mmol/L). Deze patiënt ontving vervolgens alleen nog transfusies als haar Hb onder de 4,2 mmol/L kwam. Op 18 jarige leeftijd werd ijzerstapeling in de lever ontdekt. Bij deze patiënt vonden Pospisilova (2006) dat 100 µg wekelijkse dosis sc darbepoetin geen

effect heeft op Hb, maar een wekelijkse dosis van 200 µg sc daarentegen een lichte stijging geeft, zonder noemenswaardige effecten op de serum ijzerparameters.

De tweede patiënt ontving als baby erythrocyten transfusies, waardoor het Hb binnen 12 dagen steeg van 5,2 naar 7,1 mmol/L. In de jaren daarna werd patiënt behandeld met oraal ijzer, waarop het Hb zakte naar 4,6 mmol/l en het kind bleek en energieloos bleef. Vanaf 6 jarige leeftijd nam de therapie trouw met oraal ijzer toe waarop het Hb steeg van 4,6 naar 5,5 mmol/L en wat een verbeterde kwaliteit van leven als gevolg had. Een MRI toonde dat er ondanks normale ferritineconcentraties ijzerstapeling in de lever was (Beaumont, 2006). Verder blijkt uit Iolascon et al. 2008, dat ook deze patiënt succesvol met EPO is behandeld, maar details hierover ontbreken in dit artikel.

Ook de derde patiënt kreeg erythrocytentransfusies. Vanaf 6 maanden oud werd er gestart met recombinant sc erythropoëetine (start dosis van 800 IU/kg 2x pw). Het Hb steeg hierdoor van 2,4 naar 5,1 mmol/L, maar de MCV daalde van 71 naar 51 fl, vermoedelijk omdat EPO niet de ijzerinbouw in heem bevordert maar wel de apoptose onder de jonge ery's vermindert. In de patiënt voorkwam 4 jaar EPO therapie de ijzerstapeling niet, maar deed ferritine wel fors dalen (van 864 naar 34 µg/L; Iolascon, 2006). Later werd deze patiënt ook met darbepoëtin behandeld met een lichte stijging van het Hb als gevolg (Iolascon, 2009b).

De vierde patiënt werd direct bij de geboorte behandeld met beademing en transfusies. In de follow up was geen respons op ijzertherapie. Na de neonatale periode had patiënt tot zijn 7^e jaar nog 2 keer erythrocytentransfusies nodig gehad (Blanco, 2009).

Uit de artikelen van Beaumont (2006); Iolascon (2006); Mims (2005) en Priwitzerova (2004) komt naar voren dat de behandeling met orale ijzersuppletie of erythrocytenransfusies kan leiden tot secundaire ijzerstapeling in de lever, wat op (langere) termijn ernstige complicaties kan geven. Behandeling met erythropoëetine in 3 patiënten gaf goede resultaten (Iolascon, 2006; 2008; Pospisilova, 2006).

Chelatie therapie om het lever ijzer te reduceren blijkt ineffectief en leidde tot een daling in het Hb (G. Tchernia and C. Beaumont, unpublished data, 2007, genoemd in Iolascon, 2006 en 2009). Een verklaring daarvoor wordt niet gegeven.

Conclusies

Niveau 1	Het is aangetoond dat ijzerdeficiëntie anemie veroorzaakt door <i>SLC11A2</i> mutaties te behandelen is met erythrocyten transfusies, oraal ijzer en EPO. Het is tevens aannemelijk dat behandeling met erythrocyten transfusies en oraal ijzer leidt tot <i>extra</i> ijzerstapeling in de lever. De oorzaak van deze ijzerstapeling is nog onbegrepen. Beaumont, 2006; Iolascon, 2006; Priwiterova, 2004
Niveau 3	Er zijn aanwijzingen dat behandeling van ijzerstapeling bij patiënten met <i>SLC11A2</i> mutaties met behulp van ijzerchelatie leidt tot daling van het Hb. Iolascon, 2009

Aanbeveling

Patiënten met een ijzerebreksanemie door aangetoonde mutaties in het *SLC11A2*-gen dienen met: 1. oraal ijzer en/of 2. EPO en/of 3. bloedtransfusies behandeld te worden. De optimale therapie bij een individuele patiënt zal met trial en error vastgesteld moeten worden. Bij behandeling met oraal ijzer en erythrocytentransfusies dient de behandelend arts alert te blijven op ijzerstapeling in de lever en andere organen, ook als de therapie daar strikt genomen geen aanleiding toe geeft, en de ferritineconcentratie normaal is.

5.4 Genetisch onderzoek

Anemie met ijzerstapeling door een defect in het *SLC11A2*-gen is een autosomaal recessief overervende aandoening (Beaumont, 2006; Priwitzerova, 2004). Het is aannemelijk dat er bij dragers geen anemie of ijzerstapeling aanwezig is. Bij broers of zussen van proband lijkt screening op hemoglobine, MCV en verhoogde ijzerparameters zinvol als eerste stap. In de populatie is de frequentie van dragerschap van *SLC11A2* mutaties waarschijnlijk zeer laag. Daarom is DNA-onderzoek van het betrokken ziektegen bij partners van patiënten met deze aandoeningen in het kader van risicobepaling voor hun (toekomstige) kinderen niet geïndiceerd. Anders is dit wanneer patiënt en partner bloedverwant zijn. In dat geval is de kans op dragerschap van de partner hoger en is DNA-onderzoek wel aangewezen.

Aanbevelingen

Patiënt dient te worden geïnformeerd over de erfelijke aard van de anemie, waarbij het met name de broers en zussen zijn die een grote kans hebben om ook de anemie te hebben. De kans dat kinderen van de probandus/patient de ziekte krijgen is (volgens de huidige inzichten) verwaarloosbaar.

De volgende familieleden van een patiënt met een microcytaire anemie door een defect in *SLC11A2*, dienen te worden onderzocht op de aanwezigheid van *SLC11A2* mutaties als gevonden bij de proband:

- Ouders van probandus: indien kinderwens;
- Broers en zussen en kinderen van probandus: alleen indien fenotype aanwezig is of wanneer zij kinderwens hebben;
- Partner van probandus: alleen indien een kinderwens is, en er sprake is van (of sterk vermoeden op) bloedverwantschap van proband met partner.

De werkgroep adviseert om bij (overige) familieleden die klinisch niet zijn aangedaan geen DNA onderzoek te doen.

5.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (zie supplement 6). Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

5.6 Literatuurlijst

Beaumont, C., Delaunay, J., Hetet, G., Grandchamp, B., de Montalembert, M., Tchernia, G. (2006). Two new human DMT1 gene mutations in a patient with microcytic anemia, low ferritinemia, and liver iron overload. *Blood*, 107, 4168-4170.

Blanco, E., Kannengiesser, C., Grandchamp, B., Tasso, M., Beaumont, C. (2009). Not all DMT1 mutations lead to iron overload. *Blood, Cells, Molecules and Diseases*, 43, 199-201.

Cannone-Hergaux, S., Gruenheid, S., Ponka, P., Gros, P. (1999). Cellular and subcellular localization of the Nramp2 iron transporter in the intestinal brush border and regulation by dietary iron. *Blood*, 93, 4406-4417.

Canonne-Hergaux, F., Zhang, A.S., Ponka, P., and Gros, P. (2001). Characterization of the iron transporter DMT1 (NRAMP2/DCT1) in red blood cells of normal and anemic mk/mk mice. *Blood*, 98, 3823-3830.

Fleming, M.D., Trenor, C.C., Su, M.A., Foernzler, D., Beier, D.R., Dietrich, W.F., Andrews, N.C. (1997). Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nature Genetics*, 16, 383-386.

Fleming, M.D., Romano, M.A., Su, M.A., Garrick, L.M., Garrick, M.D., Andrews, N.C. (1998)./ Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proceedings National Academia Science U S A*, 95(3),1148-1153.

Gruenheid, S., Canonne-Hergaux, F., Gauthier, S., Hackam, D.J., Grinstein, S., Gros, P. (1999). The iron transport protein NRAMP2 is an integral membrane glycoprotein that colocalizes with transferrin in recycling endosomes. *J. Experimental Medicine*, 189(5), 831-841.

Gunshin, H., Mackenzie, B., Berger, U.V., Gunshin, Y., Romero, M.F., Boron, W.F., Nussberger, S., Gollan, J.L., Hediger, M.A. (1997). Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal- ion transporter. *Nature*, 388, 482-488.

Gunshin, H., Fujiwara, Y., Custodio, A.O., DiRenzo, C., Robine, S., Andrews, N.C. (2005). DMT1 is required for intestinal iron absorption and erythropoiesis but dispensable in placenta and liver. *The Journal of Clinical Investigation*, 115 (5), 1258-1266.

Iolascon, A., D'Ápolito, M., Servedio, V., Cimmino, F., Piga, A., Camaschella, C. (2006). Microcytic anemia and hepatic iron overload in a child with compound heterozygous mutations in DMT1 (SCL11A2). *Blood*, 107, 349-354

Iolascon, A., Camaschella, C., Pospisilova, D., Piscopo, C., Tchernia, G., Beauont, M.D. (2008). Natural history of recessive inheritance of DMT1 mutations. *Journal Pediatrics*, 152, 136-139.

Iolascon, A., De Falco, L., Beaumont, C. (2009). Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematologica*, 94(3), 395-408.

Iolascon, A., De Falco, L. (2009b). Mutations in the gene encoding DMT1: clinical presentation and treatment. *Semin Hematol*, 46(4), 358-370.

Lam-Yuk-Tseung, S., Mathieu, M., Gros, P. (2005). Functional characterization of the E399D DMT1/NRAMP2/SLC11A2 protein produced by an exon 12 mutation in a patient with microcytic anemia and iron overload. *Blood, Cells, Molecules and Diseases*, 35, 212-216.

Lam-Yuk-Tseung, S., Camaschella, C., Iolascon, A., Gros, P. (2006). A novel R416C mutation in human DMT1 (SLC11A2) displays pleiotropic effects on function and causes microcytic anemia and hepatic iron overload. *Blood, Cells, Molecules and Diseases*, 36, 347-354.

Mims, M.P. & Prchal, J.T. (2005). Divalent metal transporter 1. *Hematology*, 10, 339-45.

Mims, M.P., Guan, Y., Pospisilova, D., Priwitzerova, M., Indrak, K., Ponka, P., Divoky, V., Prchal, J.T. (2005). Identification of a human mutation of DMT1 in a patient with microcytic anemia and iron overload. *Blood*, 105, 1337-1342.

Pospisilova, D., Mims, M.P., Nemeth, E., Ganz, T., Prchal, J.T. (2006). DMT1 mutation: response of anemia to darbepoetin administration and implications for iron homeostasis. *Blood*, 108(1), 404-405.

Priwitzerova, M., Nie, G., Sheftel, A.D., Pospisilova, D., Divoky, V., Ponka, P. (2005). Functional consequences of the human DMT1 (SLC11A2) mutation on protein expression and iron uptake. *Blood*, 106, 3985-3987.

Priwitzerova, M., Pospisilova, D., Prchal, J.T., Indrak, K., Hlobilkova, A., Mihal, V., Ponka, P., Divoky, V. (2004). Severe hypochromic microcytic anemia caused by a congenital defect of the iron transport pathway in erythroid cells. *Blood*, 103, 3991-3992.

Su, M.A., Trenor, C.C., Fleming, J.C., Fleming, M.D., Andrews, N.C. (1998). The G185R mutation disrupts function of iron transporter Nramp2. *Blood*, 92, 2157-2163.

Touret, N., Martin-Orozco, N., Paroutis, P., Furuya, W., Lam-Yuk-Tseung, S., Forbes, J., Gros, P., Grinstein, S. (2004). Molecular and cellular mechanisms underlying iron transport deficiency in microcytic anemia. *Blood*, 104, 1526-1533.

Hoofdstuk 6 Sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in *STEAP3*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

6.1 Pathofysiologie en prevalentie

Circulerend ijzer is in het plasma gebonden in de ferri (Fe^{3+}) vorm aan het glycoproteïne transferrine (TF). Het ijzer-gebonden transferrine bindt aan de transferrine receptor 1 (Tfr1) op het oppervlak van de ijzer opnemende cellen zoals de erythroblast. Dit membraangebonden gevormde complex wordt opgenomen in een met clathrine beladen groeve met uiteindelijk vorming van een endosoom. Binnen het endosoom wordt onder invloed van een ATP-ase de pH verlaagd tot ongeveer 5,5 waardoor het ijzer uit het transferrine wordt vrijgemaakt. Vervolgens wordt het ijzer door in het endosoom aanwezige reductase gereduceerd tot de ferro (Fe^{2+}) vorm en door het divalent metaal-ion transporter 1 (DMT1) over de membraan van het endosoom naar het cytoplasma getransporteerd. Het ijzer wordt opgenomen in het mitochondrium en aldaar onder invloed van het ferrochelataze geïncorporeerd in het protoporphyrine IX als laatste stap in de heemsynthese (Anderson, 2009; Andrews, 2007).

De identificatie van Steap3 als endosomale ferrireductase bij de muis

Nm1054 muis

Het proces van de ijzer reductie (ferri (Fe^{3+}) naar ferro (Fe^{2+}) in het endosoom werd in 2005 deels opgehelderd in de *nm1054* muis met een spontane, recessief overerfbare vorm van hypochrome microcytaire anemie met een reticulocytose en een verhoogde ratio tussen het zink protoporphyrine IX en heem (ZnPP/H) passend bij een verminderde beschikbaar van ijzer voor de heemsynthese door verminderde beschikbaarheid van ijzer uit het transferrine in de reticulocyt (Ohgami, 2005). Deze muizen hebben passagere tekenen van ijzerstapeling met een toegenomen serum ijzer, totale ijzer bindingscapaciteit en ijzerverzadigingsfractie en ijzerstapeling in de hepatocyten. Homozygote muizen hebben een hoge prenatale sterfte en de overlevende muizen vertonen dwerggroei. De mannetjes zijn infertiel door testiculaire

hypotrofie. Er is zijn tekenen van toegenomen hematopoëse met name erythropoëse zonder ringsideroblasten in het beenmerg.

Aanvullende studies tonen aan dat de anemie in de *nm1054* muis gecorrigeerd kan worden door introductie van een enkel gen: *six-transmembrane epithelial antigen of the prostate 3 (STEAP3)* (Ohgami, 2005a).

Een daarop ontwikkelde muis met homozygote deletie van het *STEAP3* allel toonde hetzelfde fenotype als de *nm1054* muis met een microcytaire hypochrome anemie en een verminderde opname van Tf gebonden ijzer in de reticulocyten. Functionele analyses bevestigden dat de ijzerreductase activiteit in reticulocyten van *STEAP3*-negatieve en *nm1054* muizen ten opzichte van die in controle muizen in dezelfde mate was verminderd. *STEAP3* als endosomaal ferrireductase speelt een belangrijke rol in de transferrine cyclus.

Fragile-red muis

In 2009 werd een *fragile-red* stam geïdentificeerd in B6 muizen met een recessief overerfbare vorm van hypochrome microcytaire anemie met reticulocytose en een verhoogde ZnPP/H ratio vergelijkbaar met de *nm1054* muizenstam. In tegenstelling tot de *nm1054* muizen hadden deze *fragile-red* muizen een normale grootte met een normale fertiliteit. Wel was in deze muizen (vooral bij de vrouwtjes) de hoeveelheid ijzer in de lever toegenomen. Het serum ijzer was normaal met een verhoogde totale ijzer bindings capaciteit. Opvallend was dat het hepcidine normaal was hetgeen werd verklaard door de combinatie van ijzer overload, anemie en ineffectieve erythropoëse bij deze muizen (Lambe, 2009). In de *fragile-red* stam werd een c.867 T->C mutatie gevonden in het *STEAP3* mRNA, leidend tot een p.Y288H aminozuur verandering in het eiwit. Deze verandering gaf geen aanleiding tot verminderde expressie of stabiliteit van het *STEAP3*^{Y288H} eiwit maar structurele analyse toonde dat de mutatie opgetreden was in een sterk geconserveerde cytoplasmatische loop buiten het reductase domein. Immunofluorescentie studies in getransfecteerde cellen toonden aan dat *STEAP3*^{Y288H} niet in het endosoom tot expressie wordt gebracht maar voornamelijk aan het celoppervlak (Lambe, 2009).

Uit deze studies met muizen kan geconcludeerd worden dat *STEAP3* een belangrijke ferrireductase activiteit heeft in het endosoom en dat een deficiëntie of een verminderde activiteit van dit eiwit kan leiden tot een ernstige hypochrome microcytaire anemie als gevolg van verminderde beschikbaarheid van Fe²⁺ voor de heemsynthese. Het leidt tot een vorm van ijzerstapeling in de lever.

STEAP 3 mutaties bij de mens

Het humane eiwit

Het humane gen voor het *STEAP3* is gelegen op chromosoom 2q14.2 en codeert voor een 488 aminozuur proteïne met een moleculair gewicht van 54.601 dalton. Het bevat een N terminaal oxidoreductase domein in het cytosol, 6 transmembraan domeinen en een C terminaal heem-bevattend transmembraan domein (Sendamarai, 2008).

Een familie met een *STEAP3* mutatie

In 2011 werd de eerste familie met een ernstige transfusieafhankelijke congenitale hypochrome sideroblastaire anemie als gevolg van een nonsense mutatie (c.300 C>A leidend tot p.C100X) in het *STEAP3* gen beschreven (Grandchamp, 2011). Het betrof drie kinderen uit een non-consanguin huwelijk van Pakistaanse ouders woonachtig in Duitsland. Ten tijde van de diagnose was de index patiënt (man) 19 jaar, zijn zuster 15 jaar en zijn broer 7 jaar (zie case tabel, supplement 2).

Conclusie

Niveau 1	Een mutatie in <i>STEAP3</i> is een zeldzame oorzaak van hypochrome sideroblastaire anemie Grandchamp, 2011
-----------------	--

6.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Alle drie beschreven familieleden hadden een diepe hypochrome anemie (Hb < 5 mmol/l) met een laag-normaal MCV met een laag aantal erythrocyten en een laag-normaal absoluut reticulocyten aantal. Ook het aantal leucocyten en thrombocyten was normaal. Het serum ijzer en ferritine waren normaal tot verhoogd, de ijzerverzadigingsfractie was bij alle familieleden sterk verhoogd. De ZnPP/H ratio was verhoogd. In het beenmerg was er een toename van ringsideroblasten. Behandeling met pyridoxine was niet effectief.

Beide ouders hadden een normaal bloedbeeld met een normaal Hb, laag normaal MCV en een normaal ijzer (zie case tabel) (Grandchamp, 2011).

IJzerstapeling

In hoeverre ijzerstapeling onderdeel is van het ziektebeeld kan niet met zekerheid worden gezegd omdat leverbiopten pas gedaan zijn na multipole bloedtransfusies (Grandchamp, 2011).

Additionele symptomen

Gonadale disfunctie werd bij alle drie de familieleden gevonden conform de bevindingen bij een van de drie beschreven muizenstammen met een *STEAP3* mutatie. De gonadale disfunctie wordt toegeschreven aan de complexe stoornis in de hypothalamo-hypofyse-gonadale as hoewel er geen details worden beschreven. De patiënte met de meest ernstige anemie had een groeiachterstand (Grandchamp, 2011).

DNA diagnostiek

Analyse van het *STEAP3* en cDNA toonde een nonsense mutatie in exon 3 met een c.300 C>A leidend tot p.C100X in het *STEAP3*. De drie patiënten waren heterozygoot voor deze mutatie die ook bij de asymptotische vader aanwezig was. Bij vader wordt het nul-allel gecompenseerd door een sterke expressie van het normale allel, terwijl bij de kinderen tegenover het nul-allel slechts een zwak normaal allel van de moeder geërfd was.

Deze mutatie was niet aanwezig in de "1000 genomes project database" noch in 200 controle chromosomen. De betekenis van polymorfismen is nog onduidelijk.

Overige diagnostiek

De belangrijkste klinische bevinding bij een *STEAP3* mutatie is een hypochrome licht microcytaire anemie met tekenen van ijzerstapeling met name gekenmerkt door een verhoogde transferrine saturatie. Tevens is er een verhoogde ZnPP/H ratio ten teken van een gestoorde ijzer utilisatie voor de heemproductie. Bovendien zijn in het beenmerg ringsideroblasten aanwezig. De diagnose wordt gesteld door middel van DNA analyse van *STEAP3*.

Differentiaal diagnose

De *STEAP3* mutatie dient onderscheiden te worden van de andere sideroblastaire anemieën. De aanwezigheid van gonadale disfunctie kan een aanwijzing zijn voor een defect in *STEAP3*.

Conclusies

Niveau 3	<p>Er is één familie beschreven met een diepe hypochrome anemie met toename van ringsideroblasten in het beenmerg en een verhoogde ijzerverzadigingsfractie veroorzaakt door een combinatie van een nonsense mutatie in exon 3 van het <i>STEAP3</i> en een verlaagde expressie van het andere allel.</p> <p>In de beschreven familie is gonadale disfunctie een onderdeel van de klinische presentatie (case tabel).</p> <p>De hematologische parameters zijn een transfusieafhankelijke anemie met een verlaagd MCH en een laag-normaal MCV bij een verminderd erythrocyten aantal en een absoluut normaal reticulocyten aantal. Het serum ijzer en het ferritine is normaal tot hoog met een hoge ijzerverzadigingsfractie.</p> <p>Er is een pathologisch verhoogde zink protoporfyrine/heme ratio (in case tabel).</p> <p>Over de mate van endogene ijzerstapeling kan geen goed oordeel worden gevormd omdat er alleen leverbiopten zijn gedaan na multipele bloedtransfusies.</p> <p>De klinische betekenis van polymorfismen in <i>STEAP3</i> is nog niet bekend.</p> <p>Grandchamp, 2011</p>
-----------------	--

Aanbevelingen

Bij patiënten met een hypochrome anemie zonder duidelijke oorzaak in combinatie met sideroblasten in het beenmerg dient een defect in *STEAP3* te worden overwogen.

Bij de combinatie van een hypochrome anemie en gonadale disfunctie dient een defect in *STEAP3* als onderliggende oorzaak overwogen te worden.

6.3 Behandeling

De behandeling bestaat uit erythrocyten-transfusies eventueel gecombineerd met erythropoëtine. Secundaire ijzerstapeling dient te worden voorkomen met ijzerchelatie therapie. Deze vorm van sideroblastaire anemie is niet gevoelig voor behandeling met pyridoxine (Grandchamp, 2011). Beenmergtransplantatie bij deze (ernstige) vorm van anemie is niet beschreven.

Conclusies

Niveau 3	<p>In de beschreven casus gaf behandeling met erythrocyten-transfusies in combinatie met erythropoëtine stijging van het Hb. Daarnaast dient secundaire ijzerstapeling voorkomen te worden door ijzerchelatie therapie</p> <p>Grandchamp, 2011</p>
-----------------	--

Aanbeveling

Behandeling bestaat uit erythrocyten-transfusies eventueel in combinatie met erythropoëetine. Tevens ijzerchelatie therapie om secundaire ijzerstapeling te voorkomen.

6.4 Genetisch onderzoek

Hypochrome anemie, als gevolg van mutaties in *STEAP3* is slechts in één familie beschreven. Het overervingsmechanisme is nog niet duidelijk (recessief of dominant met verminderde expressie) (Grandchamp, 2011). Aanbevelingen over genetisch onderzoek bij familieleden zijn op dit moment nog niet te geven.

6.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (supplement 6). Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

6.6 Literatuurlijst

Anderson, G.J., Vulpe, C.D. (2009). Mammalian iron transport. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *66*, 3241-3261.

Andrews, N.C., Schmidt, P.J. (2007). Iron homeostasis. *Annual Reviews Physiology*, *69*, 69-85.

Grandchamp, B., Hetet, G., Kannengiesser, C., Oudin, C., Beaumont, C., Rodrigues-Ferreira, S., Amson, R., Telerman, A., Nielsen, P., Kohne, E., Balsler, C., Heimpel, H. (2011). A novel type of congenital hypochromic anemia associated with a nonsense mutation in the Steap3/TSAP6 gene. *Blood*, *118*, 6660-6666.

Lambe, T., Simpson, R.J., Dawson, S., Bouriez-Jones, T., Crockford, T.L., Lopherd, M., Latunde-Dada, G.O., Robinson, H., Raja, K.B., Campagna, D.R., Villarreal, G., Ellory, J.C., Goodnow, C.C., Fleming, M.D., McKie, A.T., Cornall, R.J. (2009). Identification of a Steap3 endosomal targeting motif essential for normal iron metabolism. *Blood*, *113*, 1805-1808.

Ohgami, S., Campagna, D.R., Antiochos, B., Wood, E.B., Sharp, J.J., Barker, J.E., Fleming, M.D. (2005). nm1054: a spontaneous, recessive, hypochromic, microcytic anemia mutation in the mouse. *Blood*, *106*, 3625-3631.

Ohgami, R.S., Campagna, D.R., Greer, E.L., Antiochos, B., McDonald, A., Chen, J., Sharp, J.J., Fujiwara, Y., Barker, J.E., Fleming, M.D. (2005). Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells. *National Genetics*, *37*, 1264-1269.

Sendamarai, A.K., Ohgami, R.S., Flemming, M.D., Lawrence, C.M. (2008). Structure of the membrane proximal oxidoreductase domain of human Steap3, the dominant ferrireductase of the erythroid transferrin cycle. *PNAS*, *105*, 7410-7415.

Hoofdstuk 7 Sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in *SLC25A38*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

7.1 Pathofysiologie en prevalentie

SLC25A38, (Solute Carrier Family 25, member, 38) is een eiwit dat zich bevindt in de binnenmembraan van de mitochondria. *SLC25A38* komt met name tot expressie in erythroblasten (transferrine receptor positieve (CD71+) cellen)), in veel mindere mate in de overige haematopoëtische cellen en nauwelijks in andere weefsels en is essentieel voor normale heemsynthese. De functie van dit eiwit is waarschijnlijk het transporteren van glycine de mitochondria in of uitwisseling van glycine met 5-aminolevuline zuur (Guernsey, 2009; Petkau, 2010). Het gen van *SLC25A38* bevindt zich op chromosoom 3p22.1 (Haitina, 2006).

Een mutatie in *SLC25A38* leidt tot een ernstige congenitale microcytaire, hypochrome sideroblastaire anemie met een autosomaal recessief overervingspatroon. Het is niet ras gebonden. Er zijn > 20 verschillende mutaties beschreven. Alle leiden tot een ernstige anemie. Er is nog geen duidelijke relatie tussen genotype en fenotype beschreven.

Door de mutatie in *SLC25A38* wordt een essentiële bouwsteen voor de eerste stap van de heemsynthese (zeer waarschijnlijk glycine) verminderd aangeleverd in de erythroïde voorlopercellen en veroorzaakt een verminderde heemsynthese. Dit leidt tot bovenbeschreven sideroblastaire anemie (Guernsey, 2009).

In de literatuur wordt genoemd dat een mutatie in *SLC25A38*, na de *ALAS2* mutatie, de meest voorkomende oorzaak is van congenitale sideroblastaire anemie (Bergmann, 2010; Kannengieser, 2011). Er zijn tot nu toe 29 patiënten beschreven in Canada, de Verenigde Staten en Europa (Guernsey, 2009; Kannengieser, 2011). Waarschijnlijk is er sprake van onderrapportage.

Conclusie

Niveau 1	Het is aangetoond dat een mutatie in <i>SLC25A38</i> leidt tot verminderde heemsynthese en een ernstige sideroblastaire anemie. Guernsey, 2009; Kannengieser, 2011
-----------------	---

7.2 Klinische presentatie en diagnostiek

In de literatuur zijn nu 29 patiënten beschreven met een ernstige congenitale sideroblastaire anemie met een mutatie in *SLC25A38* (Guernsey, 2009; Kannengieser, 2011) (Supplement 2: case tabellen).

Vanaf jonge leeftijd (geboorte tot 3 jaar) presenteren kinderen zich met het beeld van ernstige – vaak transfusie afhankelijke- microcytaire, hypochrome anemie en een verhoogd ferritine (ook voorafgaand aan regelmatig gegeven erythrocytentransfusies). Er zijn geen gegevens over de kliniek van ijzerstapeling, zoals specifieke stapeling in de lever bij deze aandoening. De anemie reageert niet op behandeling met pyridoxine.

Bij het merendeel van de kinderen worden geen afwijkingen gevonden bij lichamelijk onderzoek, passend bij een syndroom. Bij één kind wordt een cardiale afwijking (ASD/VSD) beschreven en bij één kind bilaterale klompvoeten en een hypospadie.

Het overervingspatroon is autosomaal recessief. Bij ouders, die heterozygoot zijn voor de afwijking, wordt geen anemie aangetoond. Er is geen relatie met het land van herkomst van de beschreven index patiënten.

Het hemoglobine bij presentatie ligt tussen de 3,0 en 5,2 mmol/l (5,1-9,0 gr/dl), het MCV tussen de 50-70 fl. In een beenmergbiopsie is het percentage ringsideroblasten tussen de 15-70%. De ijzerverzadigingsfractie en ferritine zijn verhoogd, ook voorafgaand aan regelmatige erythrocytentransfusies (resp. 56-100% en 136-640 µg/L). De ijzerstapeling is vermoedelijk het gevolg van de ineffektieve erythropoëse waarbij een onbekende humorale factor uit het beenmerg de hepcidinesynthese in de lever remt. De waarde van de bepaling van hepcidine is echter (nog) niet vastgesteld bij deze groep patiënten.

Bij jonge kinderen, die zich presenteren met een ernstige microcytaire anemie zonder tekenen van een verworven ijzerdeficiëntie, maar met tekenen van een aanmaakstoornis of dyserythropoëse, kan gedacht worden aan deze vorm van sideroblastaire anemie. Differentiaal diagnostisch moet met name een hemoglobinopathie uitgesloten worden door Hb typering (β-thalassemie en andere varianten) en DNA diagnostiek (α-thalassemie en bij twijfel bij β-thalassemie of varianten hiervan). In de differentiaal diagnose staat ook een sideroblastaire anemie door een mutatie in *ALAS2*.

Conclusie

Niveau 1	Bij patiënten die zich op jonge kinderleeftijd presenteren met een ernstige microcytaire anemie met een normale of te hoge ijzerverzadigingsfractie en niet gebaseerd is op een hemoglobinopathie moet gedacht worden aan congenitale sideroblastaire anemie op basis van <i>SLC25A38</i> mutatie. Guernsey, 2009; Kannengieser, 2011
-----------------	--

Aanbeveling

Het is aan te bevelen om bij kinderen met een ernstige microcytaire anemie zonder andere oorzaak DNA onderzoek te overwegen naar een mutatie in *SLC25A38*.

7.3 Behandeling

In de genoemde case-series wordt de volgende behandeling beschreven: symptomatische therapie middels chronische erythrocytentransfusie en ijzerchelatie (Cazolla, 2011; Guernsey, 2009; Kannengieser, 2011); beenmergtransplantatie is de enige curatieve optie. Beenmergtransplantatie is inmiddels bij 6 van bovenbeschreven 29 patiënten verricht, waarvan er 4 tot nu toe succesvol zijn verlopen (follow up minder dan 5 jaar) (Guernsey, 2009; Kannengieser, 2011). Screening van een eventuele familiedonor op *SLC25A38* lijkt vooraf zinvol en is technisch mogelijk (Cazolla, 2011; Guernsey, 2009).

Conclusie

Niveau 3	Beenmergtransplantatie is de enige curatieve optie voor congenitale sideroblastaire anemie op basis van <i>SLC25A38</i> mutatie. Symptomatische therapie is erythrocytentransfusie en ijzerchelatie. Guernsey, 2009; Kannengieser, 2011
-----------------	--

Aanbevelingen

Allogene stamceltransplantatie is de enige curatieve behandeling.

Het is aan te bevelen dat patiënten met een ernstige congenitale sideroblastaire anemie (mede) onder behandeling zijn van een kinderarts/internist-hematoloog, om goede behandeling en follow up, onder andere met betrekking tot ijzerchelatie, te kunnen bieden.

7.4 Genetisch onderzoek

SLC25A38 is een autosomaal recessief overerfbare aandoening (zie supplement 7). Het gen is gelegen op chromosoom 3p 22.1. Kinderen presenteren zich op zeer jonge leeftijd met een ernstig klinisch beeld.

Broers of zussen van het aangedane kind moeten worden onderzocht op bloedarmoede en indien aanwezig, kan ook DNA onderzoek worden verricht. Bij ouders van de proband moet worden bekeken of zij beiden drager zijn om de herhalingskans voor een eventueel volgend kind in te schatten.

Dragerschap van een mutatie van *SLC25A38*, gelegen op chromosoom 3p22.1, geeft geen bloedarmoede; dragerschap kan alleen aangetoond worden door het bepalen van de mutatie.

Prenatale diagnostiek is nog niet eerder beschreven bij deze aandoening, maar is wanneer mutatie bij proband bekend is technisch mogelijk. Gezien de ernst van het ziektebeeld lijkt er ook een indicatie voor te bestaan.

Aanbevelingen

Patiënt dient te worden geïnformeerd over de erfelijke aard van de anemie, waarbij het met name de broers en zussen zijn die een grote kans hebben om ook de anemie te hebben. De kans dat kinderen van de probandus de ziekte krijgen is (volgens de huidige inzichten) verwaarloosbaar.

De volgende familieleden van een patiënt met een microcytaire anemie door een defect in *SLC25A38*, dienen te worden onderzocht op de aanwezigheid van *SLC25A38* mutaties als gevonden bij de proband:

- Ouders van probandus: indien kinderwens;
- Broers en zussen en kinderen van probandus: alleen indien fenotype aanwezig is of wanneer zij kinderwens hebben;
- Partner van probandus: alleen indien een kinderwens is, en er sprake is van (of sterk vermoeden op) bloedverwantschap van proband met partner.

De werkgroep adviseert om bij (overige) familieleden die klinisch niet zijn aangedaan geen DNA onderzoek te doen.

Het is ter overweging om bij de geboorte van een kind, waarvan ouders beiden drager zijn van een mutatie in *SLC25A38*, meteen mutatieonderzoek in te zetten om de aandoening uit te sluiten. Follow up onderzoek naar anemie bij dat kind is na uitsluiten van de aandoening dan niet meer noodzakelijk.

7.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (supplement 6). Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

7.6 Literatuurlijst

Bergmann, A.K., Campagna, D.R., McLoughlin, E.M., Agarwal, S., Fleming, M.D., Bottomley, S.S., Neufeld, E.J. (2010). Systematic molecular genetic analysis of congenital sideroblastic anemia: evidence for genetic heterogeneity and identification of novel mutations. *Pediatrics, Blood & Cancer*, 54(2), 273-278.

Cazolla, M., Invernizzi, R. (2011). Ringsideroblast and sideroblastic anemia. *Haematologica*, 96(6), 789-92.

Guernsey, D.L., Jiang, H., Campagna, D.R., Evans, S.C., Ferguson, M., Kellogg, M.D., Lachance, M., Matsuoka, M., Nightingale, M., Rideout, A., Saint-Amant, L., Schmidt, P.J., Orr, A., Bottomley, S.S., Fleming, M.D., Ludman, M., Dyack, S., Fernandez, C.V., Samuels, M.E. (2009). Mutations in mitochondrial carrier family gene *SLC25A38* cause nonsyndromic autosomal recessive congenital sideroblastic anemia. *Nature Genetics*, 41(6), 651-653.

Haitina, T., Lindblom, J., Renstrom, T., Fredriksson, R. (2006). Fourteen novel human members of mitochondrial solute carrier family 25 (SLC25) widely expressed in the central nervous system. *Genomics*, 88(6), 779-790.

Kannengieser, A., Sanchez, M., Sweeney, M., Hetet, G., Kerr, B., Moran, E., Fuster Soler, J., Matthes, T., Oudot, C., Maroun, K., Lascaux, A., Pondarre, C., Sevilla Navarro, J., Vidyatilake, S., Beaumont, C., Grandchamp, B., May, A. (2011). Missense mutations in SLC25A38 play an important role in autosomal recessive sideroblastic anemia. *Haematologica*, 96(6), 808-813.

Petkau, T.L. (2010). Same pathway, different gene: A second gene in the heme biosynthesis pathway causes inherited sideroblastic anemia. *Clinical Genetics*, 77(2), 112-113.

Hoofdstuk 8 X-linked sideroblastaire anemie met ataxie ten gevolge van afwijkingen in *ABCB7*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

8.1 Pathofysiologie en prevalentie

Op het X-chromosoom (Xq13.1-q13.3) ligt het gen voor *ABCB7* (ATP--binding cassette, sub-family B, member 7) (Raskind, 1991; Shimada, 1998). Dit gen codeert voor een eiwit in de binnenmembraan van mitochondria. Het eiwit functioneert waarschijnlijk als een belangrijke transporter van ijzerzwavelclusters of een nog onbekende voorloper van heem van mitochondria naar cytosol. Hierdoor heeft het eiwit een belangrijke signaalfunctie in het proces van ijzerhomeostase en heemproductie in de cel (Bekri, 2000; Boultonwood, 2000; Camaschella, 2008; Cavadini, 2007; Lil 2001; Pondarre, 2007; Shimada, 1998; Ye, 2010).

Daarnaast is er ook een vermeende interactie tussen humaan *ABCB7* en ferrochelatase (FECH), dat in de laatste stap van de heemsynthese, de inbouw van ijzer in protoporfyrine IX katalyseert (Taketani, 2003).

Bij een mutatie in *ABCB7* zijn zowel de homeostase in het ijzermetabolisme in de cel als de heemsynthese verstoord, waardoor een sideroblastische anemie ontstaat. *ABCB7* komt, naast het beenmerg, ook duidelijk tot expressie in het cerebellum. Waarschijnlijk is de pathofysiologie van de geassocieerde neurologische problematiek hierdoor te verklaren (Allikmets, 1999; dHoogh, 2012; Ye, 2010).

X-linked sideroblastische anemie met ataxie (XLSA/A) is een zeldzame aangeboren afwijking, waarbij ataxie en microcytaire anemie voorkomt. In tegenstelling tot andere sideroblastaire anemieën lijkt er geen ijzerstapeling op te treden, de reden daarvoor is niet duidelijk. Er zijn tot nu toe 4 families (17 patiënten, van wie 12 mannelijke patiënten en 5 vrouwelijke draagsters) beschreven in de literatuur. Bij twee vrouwen, obli-gaat draagster van deze aandoening in verband met aangedane zoons, is een microcytaire anemie beschreven zonder

neurologische verschijnselen. Dit kan ontstaan door X-inactivatie (extreme lyonisatie). Er is tevens een relatie beschreven tussen een *ABCB7* mutatie en refractaire anemie met ring sideroblasten (RARS), maar dit is in deze richtlijn buiten beschouwing gelaten, aangezien dit een verworven vorm is.

8.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Patiënten met een verdenking op een defect in *ABCB7* zijn beschreven in 4 case reports (Allikmets, 1999; Bekri, 2000; D’Hooghe, 2012; Hellier, 2001; Maquire, 2001). In totaal zijn er 17 patiënten beschreven met een defect in *ABCB7*. Het gaat om 12 mannen en 5 vrouwen. In deze paragraaf beschrijven we genotype en fenotype van deze patiënten (supplement 2: case reports).

Uit de beschreven case reports komt naar voren dat patiënten met XLSA/A zich presenteren met een cerebrale ataxie op jonge leeftijd, zich uitend in evenwichtsstoornissen en moeite met lopen en praten. Zij kunnen bijna allemaal als volwassenen wel zelfstandig lopen. De ataxie blijft stabiel en is mogelijk progressief vanaf 50 jarige leeftijd.

De anemie is mild, licht microcytaire met sideroblasten en zonder tekenen van ijzerstapeling (normaal ferritine). De milde, microcytaire anemie wordt bij de meeste jongens aangetoond in de tienerjaren. Twee vrouwen in deze families hebben geen neurologische afwijkingen, maar wel een licht microcytair bloedbeeld.

Bij sommige patiënten zijn de protoporfyrine IX concentraties verhoogd in de erythrocyten; differentiaal diagnostisch kan dit ook kan passen bij heemsynthese stoornis bij een ijzertekort. Beenmergbiopsie toont ringsideroblasten. Bij een aantal patiënten is cerebrale hypoplasia aangetoond middels CT en MRI. Daarnaast beschrijven de case reports verschillende mutaties in *ABCB7*. Er is (nog) geen duidelijke relatie beschreven tussen genotype en fenotype (Allikmets, 1999; Bekri, 2000; Helier, 2001; Maquire, 2001; Pagon, 1985).

Patiënten presenteren zich met neurologische klachten op jonge leeftijd. De milde anemie zal geen presenterend signaal zijn. Bij kinderen en/of volwassenen met neurologische klachten passend bij cerebellaire ataxie is het zinvol te bepalen of er sprake is van een microcytaire anemie zonder verworven ijzeregebrek of hemoglobinoopathie. Differentiaal diagnostisch kan met name gedacht worden aan andere mitochondriale spieraandoeningen of andere cerebellaire aanlegstoornissen. Onderscheidend voor een afwijking in *ABCB7* lijkt, naast de aanwezigheid van sideroblasten in het beenmerg, de verhoging van vrije erythrocytaire protoporfyrines, ook bij de vermeende draagsters (supplement 2: case tabel). Er zijn geen tekenen van ijzerstapeling beschreven in de literatuur: serum ferritine en ijzerverzadigingsfractie zijn normaal.

Conclusies

Niveau 1	Het is aangetoond dat <i>ABCB7</i> mutatie een X-gebonden overervende aandoening is, die bij mannelijke patiënten leidt tot een microcytaire anemie en ataxie vanaf de kinderleeftijd. Allikmets, 1999; Bekri, 2000; D’Hooghe, 2012; Hellier, 2001; Maquire, 2001
-----------------	--

Niveau 3	<p><i>ABCB7</i>-mutaties moeten worden opgenomen in de differentiaaldiagnose van een milde microcytaire anemie zonder tekenen van ijzerstapeling, in combinatie met ataxie, zich uitend in evenwichtsstoornissen en dysartrie.</p> <p>Allikmets, 1999; Bekri, 2000; D’Hooghe, 2012; Hellier, 2001; Maquire, 2001</p>
-----------------	--

Aanbeveling

Het is aan te bevelen om bij mannelijke patiënten met een microcytaire anemie in combinatie met ataxie, waarbij gedacht wordt aan een *ABCB7* mutatie, protoporfyrine IX te bepalen in volbloed. In de literatuur is beschreven dat deze verhoogd is.

8.3 Behandeling

In de genoemde case-reports is behandeling gezien de milde anemie niet noodzakelijk. Theoretisch kan ijzerchelatie overwogen worden met het doel ijzer uit te mitochondrien te onttrekken (Kakhlon, 2010). Dit is nog niet beschreven bij een patiënt met XLSA/A.

Conclusie

Niveau 4	De werkgroep is van mening dat er op dit moment geen causale behandeling is voor patiënten met XLSA/A, gezien de pathofysiologie en de geraadpleegde literatuur.
-----------------	--

8.4 Genetisch onderzoek

X-linked sideroblastic anemia met ataxia (XLSA/A) door een mutatie in *ABCB7*, is een geslachtsgebonden erfelijke aandoening, waardoor alleen mannen zijn aangedaan. Bij extreme inactivatie van het gezonde X chromosoom kunnen vrouwen theoretisch hetzelfde klinisch beeld ontwikkelen (zie algemeen stuk genetische counseling, supplement 7). Het gen is gelokaliseerd op het X-chromosoom (Xq13.1-q13.3).

Aanbevelingen

Patiënt dient te worden geïnformeerd over de erfelijke aard van de anemie, waarbij het met name de broers een grote kans hebben om ook de anemie te hebben. Zonen van een proband/patiënt zullen de ziekte niet hebben. Dochters van de proband zijn draagster en hebben vaak een milde kliniek.

De volgende familieleden van een patiënt met een microcytaire anemie door een defect in het gen voor *ABCB7* op het X-chromosoom dienen te worden onderzocht op de aanwezigheid van *ABCB7* mutaties als gevonden bij de proband:

- Ouders: moeder moet onderzocht worden op dragerschap;
- Broers en zussen: broers wel, m.n. bij neurologische kliniek. Zussen kunnen onderzocht worden op dragerschap (en eventueel anemie);
- Partner: niet, alleen indien er sprake is van (of sterk vermoeden op) bloedverwantschap van proband met partner;
- Kinderen van proband/patiënt: zonen niet; dochters kunnen draagster zijn.

Er kan in eerste instantie gekeken worden naar het fenotype: neurologische klachten en/of microcytaire anemie, voordat er genotypisch gekeken wordt.

Er is een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

8.6 Literatuurlijst

- Allikmets, R., Raskind, W.H., Hutchinson, A., Schueck, N.D., Dean, M., Koeller, D.M. (1999). Mutation of a putative mitochondrial iron transporter gene (ABC7) in X-linked sideroblastic anemia and ataxia (XLSA/A). *Human Molecular Genetics*, 8 (5), 743-749.
- Bekri, S., Kispal, G., Lange, H., Fitzsimons, E., Tolmie, J., Lill, R., Bishop, D.F. (2000). Human ABC7 transporter: gene structure and mutation causing X-linked sideroblastic anemia with ataxia with disruption of cytosolic iron-sulfur protein maturation. *Blood* 96 (9), 3256-3264.
- Boulwood, J., Pellagatti, A., Nikpour, M., Pushkaran, B., Fidler, C., Cattani, H., Littlewood, T.J., Malcovati, L., la Porta, M.G., Dersten, M., Killick, S., Giagounidis, A., Bowen, D., Lindberg, M., Cazzola, M., Wainscoat, J.S. (2008). The role of the iron transporter ABCB7 in refractory anemia with ring sideroblasts. *PLoS ONE* (4), e1970.
- Camaschella, C. (2009). Hereditary sideroblastic anemias: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Seminars Hematology*, 46 (4), 371-377.
- Cavadini, G., Biasiotto, M., Poli, S., Levi, R., Verardi, I., Zanella, M., Derosas, R., Ingrassia, M., Corrado, P.A. (2007). RNA silencing of the mitochondrial ABCB7 transporter in HeLa cells causes an iron-deficient phenotype with mitochondrial iron overload. *Blood* 109 (8), 3552-3559.
- Hellier, D., Hatchwell, E., Duncombe, A.S., Kew, J., Hammans, S.R. (2001). X-linked sideroblastic anaemia with ataxia: another mitochondrial disease? *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 70 (1), 65-69.
- D'Hooghe, M., Selleslag, D., Mortier, G., Van Coster, R., Vermeersch, P., Billiet, F., Bekri, S. (2012). X-linked sideroblastic anemia and ataxia: A new family with identification of a fourth ABCB7 gene mutation. *European Journal of Paediatric Neurology* doi: 10.1016 / j.ejpn. 2012.02.003
- Kakhlon, O., Breuer, W., Munnich, A., Cabantchik, Z.I. (2010). Iron redistribution as a therapeutic strategy for treating diseases of localized iron accumulation. *Canadian Journal of Physiology & Pharmacology*, 88 (3), 187-196.
- Lill, R., Kispal, G. (2001). Mitochondrial ABC transporters. *Research in Microbiology*, 152 (3-4), 331-340.
- Maguire, K., Hellier, S., Hammans, May, A. (2001). X-linked cerebellar ataxia and sideroblastic anaemia associated with a missense mutation in the ABC7 gene predicting V411L. *British Journal Haematology*, 115 (4), 910-917.
- Pagon, R.A., Bird, T.D., Detter, J.C., Pierce, I. (1985). Hereditary sideroblastic anaemia and ataxia: an X linked recessive disorder. *Journal Medical Genetics*, 22(4), 267-73.
- Pondarre, C., Campagna, D.R., Antiochos, B., Sikorski, L., Mulhern, H., Fleming, M.D. (2007). Abcb7, the gene responsible for X-linked sideroblastic anemia with ataxia, is essential for hematopoiesis. *Blood*, 109, 3567-3569.

Raskind, W.H., Wijsman, E., Pagon, R.A., Cox, T.C., Bawden, M.J., May, B.K., Bird, T.D. (1991). X-linked sideroblastic anemia and ataxia: linkage to phosphoglycerate kinase at Xq13. *American Journal Human genetics*, 48 (2), 335-341.

Shimada, Y., Okuno, S., Kawai, A., Shinomiya, H., Saito, A., Suzuki, M., Omori, Y., Nishino, N., Kanemoto, N., Fujiwara, T., Horie, M., Takahashi, E., (1998). Cloning and chromosomal mapping of a novel ABC transporter gene (hABC7), a candidate for X-linked sideroblastic anemia with spinocerebellar ataxia. *Journal of Human Genetics*, 43 (2), 115-122.

Taketani, I., Kakimoto, S., Ueta, H., Masaki, R., Furukawa, T. (2003). Involvement of ABC7 in the biosynthesis of heme in erythroid cells: interaction of ABC7 with ferrochelatase. *Blood*, 101(8), 3274-80.

Ye, H., Rouault, T.A. (2010). Human iron-sulfur cluster assembly, cellular iron homeostasis, and disease. *Biochemistry*, 49 (24), 4945-4956.

Hoofdstuk 9 X-linked sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in *ALAS2*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

9.1 Pathofysiologie en prevalentie

ALAS2: “rate limiting step” in heem synthese:

ALAS2 of ALASe (erythroid aminolevulinezuur synthetase) is het katalytisch enzym in de eerste en “rate limiting” stap van de heemsynthese. In het mitochondrium wordt uit glycine en succinyl co-enzym A, aminolevulaanzuur (ALA) geproduceerd. Vervolgens wordt het ALA vanuit het mitochondrium naar het cytoplasma getransporteerd, waar via diverse enzymatische stappen coproporfyriogeen wordt gevormd. Coproporfyriogeen wordt dan weer terug getransporteerd naar het mitochondrium, waar het wordt omgezet naar protoporfyrine. Ferrochelatase, het laatste enzym in de heemsynthese voegt een ijzeratoom toe aan protoporfyrine, zodat uiteindelijk heem ontstaat. Het heem verlaat weer het mitochondrium om te binden aan globine ketens met als uiteindelijk resultaat hemoglobine (Bottomley, 1992).

Het gen voor ALAS2 is gelokaliseerd op het x-chromosoom: Xp11.21. ALAS2 expressie is beperkt tot de erythroïde cellen terwijl expressie van het iso-enzym ALAS1 in alle cellen voorkomt (Bottomley, 2008). Door binding van de co-factor pyridoxine 5'-fosfatase wordt de halfwaardetijd van het ALAS2 eiwit verlengd. Pyridoxine 5'-fosfatase ontstaat door metabolisatie uit pyridoxine, een van de vitamines B6.

Pathofysiologie, mutaties in ALAS2

ALAS2 missense mutaties resulteren in een verkorte halfwaardetijd en dus verminderde enzymactiviteit. De verlaagde enzymactiviteit voor ALAS2 wordt in sommige patiënten verklaard door verlaagd mRNA. In een ander deel van patiënten wordt de halfwaardetijd van mRNA verkort door mutaties in de exonen 5 t/m 11, coderend voor het katalytisch actieve en pyridoxine 5' fosfatase bindende deel van het enzym. Het stabiliserend effect van pyridoxine op

de ALAS2 enzymactiviteit was al bekend voordat de mutaties in *ALAS2* en het mechanisme achter de rol van pyridoxine opgehelderd werden. Pyridoxine geeft vaak verdubbeling van de activiteit (Bottomley, 2008). Naast missense mutaties in het pyridoxine 5 fosfatase bindende deel, exon 5-11, zijn er ook *ALAS2* mutaties die de vouwing van het eiwit beïnvloeden. Bij deze mutaties is er dan ook geen effect van pyridoxine op de anemie.

Er zijn ook mutaties in *ALAS2* die geen sideroblastaire anemie geven. Deze mutaties in het c-terminale deel van *ALAS2* leiden tot een “gain of function”, met het klinische beeld van een protoporfyrie (Whatley, 2008). Dit valt buiten het kader van deze richtlijn.

IJzer wordt in erythroïde precursors getransporteerd naar het mitochondrium, waarbij normalerwijze inbouw in protoporfyriene plaats vindt. Bij een verminderde activiteit van ALAS-2 wordt er minder protoporfyriene aangemaakt en kan er dus minder van het in het mitochondrium aanwezige ijzer worden ingebouwd. IJzer kan het mitochondrium enkel verlaten door binding aan protoporfyriene, dus via heem. Dit verklaart het fenotype van de sideroblastaire anemie. Daarnaast is heem als negatieve regulator van de ijzeropname van het mitochondrium deficiënt door verminderde synthese. Dit draagt bij aan de ijzerstapeling in het mitochondrium.

Naast de, meestal milde, sideroblastaire anemie is het belangrijkste in de pathofysiologie van *ALAS2* mutaties de verhoogde ijzeropname uit het dieet met als gevolg ijzerstapeling in diverse weefsels. Deze verhoogde ijzeropname hangt vermoedelijk samen met een met de ineffektieve erythropoëse geassocieerde lage hepcidineconcentratie in het bloed, maar een laag hepcidine is bij deze aandoening (nog) niet beschreven.

Naast systemische ijzerstapeling is er ook ijzerstapeling in de mitochondriën van de erythroïde voorlopercellen. Het vermoede mechanisme achter de mitochondriële ijzerstapeling is de post transcriptionele regulatie van ijzergelateerde enzymen: IRP1 (iron regulatory protein 1) is een FeS cluster bevattende sensor voor aanwezigheid cellulair ijzer. Wanneer er een verhoogd ijzertransport is van cytosol naar mitochondrium (bij verhoogde ijzerbehoefte in mitochondrium) zijn de FeS clusters minder aanwezig in IRP1 in cytosol en bindt IRP1 aan 3'IREs (Iron Response Element) van meerdere mRNA's betrokken bij cellulaire opname van ijzer (DMT1, TfR1), met als gevolg een verhoogde aanmaak van deze eiwitten die de ijzeropname bevorderen en een toename van het ijzertransport van cytosol naar het mitochondrium. Daarnaast bindt IRP1 ook aan de 5'IRE van het mRNA van ferritine en ALAS-2, met als gevolg een blokkade van de vorming van deze eiwitten. Daarnaast kan inhibitie van ALAS-2 (en dus de heemsynthese) de afbraak van een tweede IRP (IRP2) remmen, en daarmee de cellulaire ijzeropname verder bevorderen en mogelijk de ALAS-2 activiteit verder reduceren. Daarmee ontstaat een vicieuze cirkel van verhoogde ijzer opname in cytosol en transport naar mitochondrium en afname ijzerinbouw in heem, waardoor nog meer ijzeropname in cytosol. enzovoort (Sheftel, 2010).

IJzerstapeling in het mitochondrium kan aldus anemie bevorderen, en de pyridoxine gevoeligheid onderdrukken. IJzerchelatie herstelt het positieve effect van pyridoxine op de anemie.

Frequentie van voorkomen

De eerste beschrijving van X-linked sideroblastaire anemie is door Cooley in 1945, in 2 broers uit een grote familie, met documentatie van de sideroblastaire anemie over 6 generaties (Cooley, 1945). Cotter is de eerste die in 1992 (Cotter, 1992) een casus beschrijft met een mutatie in het *ALAS2*. In 1994 beschrijft Cox (Cox, 1994) een familie met een *ALAS2* mutatie. Ook in 1994 beschrijft Cotter een ALAS-2 mutatie in de in 1945 door Cooley beschreven familie geanalyseerd op *ALAS2* mutaties (Cotter, 1994; Cooley, 1945), waarbij de mutatie in deze grote familie is terug

te voeren op één van origine Nederlandse vrouw. Aansluitend vinden we in de literatuur vele case reports met vaak ook nieuwe mutaties in het *ALAS2*. Inmiddels zijn 48 mutaties beschreven in 80 niet gerelateerde families. In totaal zijn er 46 artikelen, waarin een of meerdere case reports worden beschreven (Supplement 1: evidence tabel).

Bergmann beschrijft een groep van 60 probandi met congenitale sideroblastaire anemie (Bergmann, 2010). In 37% werd een *ALAS2* mutatie gevonden, waarmee dit de meest voorkomende mutatie is die verantwoordelijk is voor een sideroblastaire anemie. De leeftijd van presentatie van de probandi was zeer variabel, tussen de 6 maanden en 49 jaar, met een enkel case report op zeer hoge leeftijd. Er zijn geen schattingen over de frequentie van voorkomen van *ALAS2* mutaties in de populatie. Omdat het fenotype zeer mild kan zijn, beperkte anemie en zeer wisselende ijzerstapeling is onderrapportage zeer waarschijnlijk. Het fenotype van *ALAS2* kan pas op latere leeftijd tot uiting komen, soms op hoge leeftijd, door X-inactivatie (x-lyonisatie in hematopoëtische klonen) of door pyridoxine tekort (Cotter, 1994). Het is mogelijk dat een deel van de patiënten met een verworven sideroblastaire anemie, geduid als MDS RARS (Myelodysplastisch Syndroom, refractaire anemie met ringsideroblasten) een congenitale *ALAS2* mutatie hebben als oorzaak. Hiernaar is geen systematisch onderzoek gedaan.

Conclusies

Niveau 1	<p>Het is aangetoond dat sideroblastaire anemie kan worden veroorzaakt door mutaties in het <i>ALAS2</i>.</p> <p>Alle 46 beschrijvingen van case reports en Bergmann, 2010</p>
Niveau 1	<p>Het is aangetoond dat <i>ALAS2</i> mutaties kunnen leiden tot een verkorte halfwaardetijd van het enzym, verminderde enzymactiviteit en daardoor een insufficiënte heemsynthese.</p> <p>Vermindering van de heemsynthese leidt tot ijzerstapeling in het mitochondrion door verminderde export, sideroblastaire anemie.</p> <p>Een deel van de mutaties (exon 5-11) betreft het katalytisch deel, waar de co-factor pyridoxine-5-fosfatase bindt.</p> <p>Een deel van de mutaties bevinden zich buiten het katalytische deel, met effect op de vouwing en stabiliteit van het eiwit, maar zonder reversibiliteit door pyridoxine.</p> <p>Er zijn inmiddels 48 mutaties beschreven in 80 families, de meeste in het pyridoxine-5-fosfatase bindende deel.</p> <p>Beschrijvingen van case reports (Supplement 1).</p>
Niveau 1	<p><i>ALAS2</i> mutaties, door ineffectieve heemsynthese, resulteren in verhoogde ijzeropname en ijzerstapeling, het belangrijkste klinische aspect van dit fenotype.</p> <p>Bergmann, 2010</p>

9.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Klinische presentatie

Deze bestaat uit een milde microcytaire anemie met ringsideroblasten en systemische ijzerstapeling.

ALAS2 mutaties geven meestal een milde anemie met een microcytair en hypochroom bloedbeeld, zelden een ernstige anemie indien in combinatie met een pyridoxine tekort en zeker geen transfusieafhankelijkheid (geen casus gevonden die dit beschrijft).

Ringsideroblasten zijn een belangrijke bevinding bij *ALAS2* mutaties. Voor het aantonen van ringsideroblasten is echter beenmergonderzoek en ijzerkleuring vereist, onderzoek wat met name bij kinderen niet laagdrempelig wordt verricht.

De verhoogde ijzeropname en stapeling is bij *ALAS2* mutaties het grootste klinische probleem, met name progressieve ijzerstapeling in de lever met leverfibrose en hepatocellulair carcinoom, alsmede stapeling in het hart. Pippard (1984) beschrijft dat de ernst van de anemie niet gecorreleerd is met de ijzerstapeling, maar wel dat de mate van erythroïde hyperplasie, beoordeeld middels ferrokinetische studies of simpelweg morfologie van het beenmergbipt, de beste maat is voor ijzerstapeling en de noodzaak van ijzerchelatie.

Diagnostiek

De belangrijkste klinische bevinding bij *ALAS2* mutatie is de ijzerstapeling, met stapeling in organen als lever en hart, dus het beeld van een 'primaire' hemochromatose. Hierbij passen een hoog ferritine en hoge ijzerverzadiging.

De anemie is een milde hypochrome en microcytaire anemie ($Hb > 6,2$ mmol/l). De ijzerstapeling onderscheidt deze microcytaire anemie van de ijzergebreksanemie. Door het bestaan van twee verschillende erythrocyten populaties kunnen de erythrocytenparameters afwijkend zijn (Harris, 1993). Naar het belang van deze parameters, zoals de RDW (Red cell Distribution Width), in de diagnostiek en opsporing van *ALAS2* is geen onderzoek gedaan.

Op kinderleeftijd, bij pyridoxine tekort, kan de anemie ernstig zijn, maar vrijwel normaliseren na suppletie van pyridoxine, wat verdenking op *ALAS2* mutatie sterk doet vermoeden (Tokgoz, 2010). Ook beschreven is een casus van een 81 jarige man, die aan de hemodialyse kwam en daardoor een pyridoxine deficiëntie ontwikkelde, met als gevolg een sideroblastaire anemie als uiting van zijn congenitale *ALAS2* mutatie (Cotter, 1995). In zoverre is pyridoxine gevoeligheid van de anemie ook een diagnosticum.

Beenmergonderzoek toont karakteristiek ringsideroblasten, door de International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome (IWGM-MDS) gedefinieerd als erythroblasten met een minimum van 5 siderotische granula (Prussian blue staining, Perls reactie) die minstens een derde van de nucleus moeten omringen (Mufti, 2008).

Interpretatie diagnostische parameters, differentiaal diagnose

Het vinden van een ernstige microcytaire, hypochrome anemie is alleen beschreven indien er ook sprake is van een ernstig pyridoxine tekort. Meestal is er een milde tot zelfs afwezige anemie, wat de anemie als diagnosticum voor *ALAS2* mutatie lastig maakt.

In de afwezigheid van homozygotie voor de p.Cys282Tyr in het HFE (hemochromatose) gen, dient bij ijzerstapeling aan *ALAS2* te worden gedacht. Belangrijk is dat de ijzerstapeling bij *ALAS2* zeer sterk wisselt, juist ernstige ijzerstapeling is mogelijk door een combinatie van *ALAS2* met HFE. De vraag is dan ook of er bij ernstige HFE- gerelateerde ijzerstapeling ook onderzoek naar

ALAS2 mutaties zou moeten worden gedaan. Lee et al. (2006) vonden in een groep van 24 hemochromatose patiënten 3 *ALAS2* mutaties. Cotter (1999) beschrijft een hogere frequentie van co-erfelijkheid van de p.Cys282Tyr mutatie in het HFE-gen in 18 niet gerelateerde XLSA hemizygoten. Een nog onbeantwoorde vraag is of naast HFE ook andere hemochromatose genen een rol spelen in de sterk wisselende ijzerstapeling (Barron, 1989).

De differentiaal diagnose van anemie en ringsideroblasten omvat MDS, drugs, alcoholgebruik en koperdeficiëntie, en een aantal congenitale anemieën zoals besproken in deze richtlijn. MDS type RARS is een diagnose die vaak op latere leeftijd wordt gesteld, maar ook *ALAS2* mutaties kunnen pas op latere leeftijd een fenotype geven. De diagnose MDS impliceert dat er ook sprake is van dysplasie in de hematopoëse, maar dit is vaak een lastig morfologisch criterium. Bij MDS RARS kan de dysplasie in andere lijnen dan de erythroïde lijn gering zijn. Toepassing van pyridoxine (en foliumzuur) wordt ook wel geadviseerd bij MDS RARS, met soms vermindering van de anemie. De vraag is dus vooral of er bij een MDS RARS ook onderzoek naar *ALAS2* mutaties gedaan moet worden indien cytogenetisch onderzoek een normaal genetisch patroon laat zien. Dit zou nog relevanter zijn indien de anemie pyridoxine gevoelig is. Er zijn geen data naar systematische analyse van *ALAS2* mutaties in MDS.

Alhoewel *ALAS2* mutatie een X-linked aandoening is, kunnen ook vrouwen zijn aangedaan door scheve X-chromosoom inactivatie. Klonale dominantie van hematopoëtische stamcellen neemt toe met de leeftijd, wat betekent dat juist vrouwen zich op latere leeftijd, bijvoorbeeld in de 4^e of 5^e decade met anemie kunnen presenteren (Avaïdo, 2006). Cazzola beschrijft een vrouw met een ‘verworven’ sideroblastaire anemie, met *ALAS2* mutatie in alle aangedane reticulocyten (Cazzola, 2000). In sommige families blijkt de XLSA mutatie lethaal voor mannen (onvoldoende heemsynthese?) en zijn juist alle aangedane familieleden vrouw.

Conclusies

Niveau 1	<p><i>ALAS2</i> mutatie kan leiden tot onverklaarbare, meestal milde microcytaire anemie, in combinatie met een hoog/normaal ferritine gehalte en hoge ijzerverzadigingsfractie.</p> <p>De diagnose kan ondersteund worden door de aanwezigheid van ringsideroblasten in het beenmerg.</p> <p>Middels DNA onderzoek naar <i>ALAS2</i> mutaties kan de diagnose bevestigd worden.</p> <p>Case reports; Harris, 1993</p>
Niveau 1	<p><i>ALAS2</i> mutaties zijn oorzaak van verminderde heem synthese en daardoor verhoogde ijzeropname, leidend tot ijzerstapeling in hart en lever, met hoog ferritine, ijzer en ijzerverzadigingsfractie.</p> <p>Case reports</p>
Niveau 3	<p>Er zijn case reports van ernstige ijzerstapeling door combinatie van HFE en <i>ALAS2</i> mutaties. Mogelijk is er een co-erfelijkheid. Onzeker is of bij patiënten met ernstige hemochromatose ook naar combinaties van <i>ALAS2</i> mutaties en andere ijzergelateerde genen gezocht dient te worden.</p>

	Lee, 2006; Cotter, 1995
Niveau 3	<p>Bij een patient met refractaire anemie met ringsideroblasten, ook als deze zich op latere leeftijd presenteert, dient indien er geen sprake is van evidente dysplasie in het bloed- en beenmerg, en er een normaal karyotype bestaat, een <i>ALAS2</i> mutatie te worden overwogen.</p> <p>Er zijn geen gegevens over systematische analyse naar <i>ALAS2</i> mutaties in MDS RARS.</p> <p>Aivado, 2006</p>

Aanbevelingen

- Bij ijzerstapeling zonder duidelijke oorzaak en zeker indien er sprake is van een milde anemie dient een *ALAS2* mutatie overwogen te worden.
- Hoewel *ALAS2* een x-linked aandoening is kan deze ook bij vrouwen voorkomen door scheve x-inactivatie. Indien in het beenmerg ringsideroblasten voorkomen dan wordt deze verdenking veel sterker.
- Pyridoxine gevoelige anemie doet een *ALAS2* mutatie in exon 5-11 vermoeden. Pyridoxine ongevoeligheid sluit een *ALAS2* mutatie niet uit.
- Bij vermoeden op een *ALAS2* mutatie is onderzoek naar ijzerstapeling geïndiceerd, middels bepaling ferritine, ijzer en ijzerverzadigingsfractie.
- Bij een verworven sideroblastaire anemie ook op oudere leeftijd zonder duidelijke tekenen van myelodysplasie of cytogenetische afwijkingen dient *ALAS2* mutatie analyse te worden overwogen.

9.3 Behandeling

Bij een deel van de patiënten is de anemie pyridoxine gevoelig, zodat levenslange suppletie met hoge dosis pyridoxine (100-200 mg/dag oraal) wordt geadviseerd. Omdat niet alle mutaties pyridoxine gevoelig zijn is kennis over de mutatie, de ligging in of buiten het katalytische deel (exon 5-11) van waarde voor het advies van pyridoxine suppletie.

Net als bij primaire hemochromatose is aderlating de eerste keuze voor behandeling van de ijzerstapeling, bij de meeste patiënten kan dit zonder ernstige toename van de anemie. Het alternatief, bij een anemie door flebotomie of al bestaande anemie, is ijzerchelatie.

Naast ijzerchelatie dient het risico op ontstaan van leverfibrose en hepatocellulair carcinoom te worden geëvalueerd, door jaarlijkse echografie.

Ijzerstapeling in de mitochondriën kan het fenotype, de ernst van de anemie versterken. Ijzerchelatie kan dan ook de anemie verminderen, middels toename van de pyridoxine gevoeligheid door posttranscriptionele regulatie van ijzergelateerde genen, via het ijzer responsieve element (5'IRE) van *ALAS-2* mRNA. Naast de bekende orgaanschade door ijzerstapeling is dit een tweede reden om ijzerstapeling te behandelen.

Conclusies

Niveau 3	IJzerstapeling dient te worden behandeld, conform de richtlijn voor primaire hemochromatose. Omdat de anemie mild is kan dit veelal middels flebotomie. Meerdere case reports
Niveau 3	Behandeling van ijzerstapeling kan soms de ernst van de anemie verminderen door een hogere ALAS2 activiteit. Sheftel, 2010
Niveau 3	Hoge dosis pyridoxine kan de ernst van de anemie verminderen bij mutaties in het katalytische deel van het enzym. Meerdere case reports

Aanbevelingen

In de aanwezigheid van een *ALAS2* mutatie en ijzerstapeling dient de ijzerstapeling te worden behandeld, bij voorkeur middels flebotomie.

Indien de anemie pyridoxine gevoelig is adviseren wij levenslang hoge dosis pyridoxine, 100-200 mg oraal/dag.

9.4 Genetisch onderzoek

Het *ALAS2* fenotype kan, ook binnen families sterk wisselen. Het ontbreken van anemie of ijzerstapeling bij een familielid betekent nog niet dat dit familielid de mutatie niet heeft. Bij familieonderzoek moeten dan ook alle eerstegraads familieleden genetisch gescreend worden en indien genetisch afwijkend dan ook vaststelling van het fenotype, anemie en ijzerstapeling. Er zijn families beschreven (Cazzola, 2002) waarin de probandus een fenotype heeft, maar familieleden met dezelfde mutatie zonder enig verschijnsel zijn. In sommige families blijkt de XLSA lethaal voor mannen (onvoldoende heemsynthese?) en zijn dus alle aangedane familieleden vrouw.

Bij ernstige ijzerstapeling dient ook onderzoek naar mutaties in het HFE-gen of andere ijzerstapeling gerelateerde genen overwogen te worden.

Door scheve X-chromosoom inactivatie (lyonisatie) kunnen ook vrouwen zijn aangedaan. Doordat de hematopoëse met het vorderen van de leeftijd meer klonaal wordt kunnen vrouwen zich op latere leeftijd bijvoorbeeld in de 4^e of 5^e decade presenteren met anemie en ijzerstapeling (Avaïdo, 2006).

Gezien het bovenstaande beveelt de werkgroep aan dat alle eerste-graads familieleden genotypisch en fenotypisch (Hb, MCV, serum ijzer, transferrine, ferritine) gescreend moeten worden. Het beste kan dit geschieden in overleg met de klinisch geneticus.

De informatie aan familieleden is sterk afhankelijk van het fenotype. Dit is meestal mild. Het belangrijkste risico is ijzerstapeling, die bij goede monitoring en effectieve behandeling geen invloed heeft op de levensverwachting.

Conclusies

Niveau 3	Gezien de sterke wisseling van het fenotype en ook het voorkomen bij vrouwen dienen alle familieleden genetisch gescreend te worden. Indien genetische mutatie dan ook bepalen van het fenotype, de mate van anemie en ijzerstapeling.
Niveau 3	Door X-inactivatie en het ontwikkelen van meer klonale hematopoëse met de leeftijd kan het fenotype bij vrouwen op latere leeftijd naar voren komen.
Niveau 3	ALAS2 mutaties vormen voornamelijk een risico door ijzerstapeling en de daarop volgende orgaanschade, wat goed te monitoren en te behandelen is.

Aanbeveling

Bij familieonderzoek dient bij alle eerstegraads familieleden genetisch en fenotypisch onderzoek te worden verricht.
Alhoewel ALAS2 een X-linked aandoening is komt deze ook bij vrouwen voor.

9.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (supplement 6). Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

9.6 Literatuurlijst

Aivado, M., Gattermann, N., Rong, A., Giagounidis, A. A., Prall, W. C., Czibere, A., Hildebrandt, B., Haas, R., Bottomley, S.S. (2006). X-linked sideroblastic anemia associated with a novel ALAS2 mutation and unfortunate skewed X-chromosome inactivation patterns. *Blood Cells Molecules & Diseases*, 37 (1), 40-45.

Barron, R., Grace, N. D., Sherwood, G., Powell, L.W. (1989). Iron overload complicating sideroblastic anemia--is the gene for hemochromatosis responsible? *Gastroenterology*, 96 (4), 1204-1206.

Bergmann, A.K., Campagna, D.R., McLoughlin, E.M., Agarwal, S., Fleming, M.D., Bottomley, S.S., Neufeld, E.J. (2010). Systematic molecular genetic analysis of congenital sideroblastic anemia: Evidence for genetic heterogeneity and identification of novel mutations. *Pediatric Blood & Cancer*, 54 (2), 273-278.

Bottomley, S.S, Healy, H.M. Brandenburg, M.A., May, B.K. (1992). 5-Aminolevulinate synthase in sideroblastic anemias: mRNA and enzyme activity levels in bone marrow cells. *American Journal Hematology*, 41 (2), 76-83.

Bottomley, S.S. (2008). Sideroblastic Anemias. In: John P, Greer JF, Rodgers George M,

Paraskevas Frixos, Glader Bertil, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology, 12*, Lippincott Williams & Wilkins, 835–855.

Cazzola, M., May, A., Bergamaschi, G., Cerani, P., Rosti, V., Bishop, D.F. (2000). Familial-skewed X-chromosome inactivation as a predisposing factor for late-onset X-linked sideroblastic anemia in carrier females. *Blood, 96 (13)*, 4363-4365.

Cooley, T.B. (1945). A severe type of hereditary anemia with elliptocytosis. Interesting sequence of splenectomy. *American Journal Medical Sciences, 209*561.

Cotter, P.D., Rucknagel, D.L., Bishop, D.F. (1994). X-linked sideroblastic anemia: identification of the mutation in the erythroid-specific delta-aminolevulinate synthase gene (ALAS2) in the original family described by Cooley. *Blood, 84 (11)*, 3915-3924.

Cotter, P.D., Willard H.F., Gorski J.L., Bishop D.F. (1992). Assignment of human erythroid delta-aminolevulinate synthase (ALAS2) to a distal subregion of band Xp11.21 by PCR analysis of somatic cell hybrids containing X; autosome translocations. *Genomics, 13 (1)*, 211-212.

Cotter, P.D., May, A., Fitzsimons, E.J., Houston, T., Woodcock, B.E., Al-Sabah, A., I., Wong, L., Bishop, D.F. (1995). Late-onset X-linked sideroblastic anemia. Missense mutations in the erythroid delta-aminolevulinate synthase (ALAS2) gene in two pyridoxine-responsive patients initially diagnosed with acquired refractory anemia and ringed sideroblasts. *Journal Clinical Investigations, 96 (4)*, 2090-2096.

Cotter, P.D., May, A., Li, L., Al-Sabah, A.I., Fitzsimons, E.J., Cazzola, M., Bishop, D.F. (1999). Four new mutations in the erythroid-specific 5-aminolevulinate synthase (ALAS2) gene causing X-linked sideroblastic anemia: increased pyridoxine responsiveness after removal of iron overload by phlebotomy and coinheritance of hereditary hemochromatosis. *Blood, 93 (5)*, 1757-1769.

Cox, T.G., Bottomley, S.S., Wiley, J.S., Bawden, M.J., Matthews, C.S., May, B.K., (1994). X-linked pyridoxine-responsive sideroblastic anemia due to a THR388- to-Ser substitution in erythroid 5-aminolevulinate synthase. *New England Journal Of Medicines, 330 (10)*, 675-679.

Harris, J.W., Danish, E.H., Brittenham, G.M., McLaren, C.E. (1993). Pyridoxine responsive hereditary sideroblastic erythropoiesis and iron overload: two microcytic subpopulations in the affected male, one normocytic and one microcytic subpopulation in the obligate female carrier. *American Journal of Hematology, 42 (4)*, 400-401.

Lee, P.L., Barton, J.C., Rao, S.V., Acton, R.T., Adler, B.K., Beutler, E. (2006). Three kinships with ALAS2 P520L (c. 1559 C --> T) mutation, two in association with severe iron overload, and one with sideroblastic anemia and severe iron overload. *Blood Cells Molecules & Diseases, 36 (2)*, 292-297.

Mufti, G.J., Bennett, J.M., Goasguen, J., Bain, B.J., Baumann, I., Brunning, R., Cazzola, M., Fenaux, P., Germing, U., Hellström-Lindberg, E., Jinnai, I., Manabe, A., Matsuda, A., Niemeyer, C.M., Sanz, G., Tomonaga, M., Vallespi, T., Yoshimi, A. (2008). International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome. *Haematologica, 93(11)*, 1712-7.

Pippard, M.J., Weatherall, D.J. (1984). Iron absorption in non-transfused iron loading anaemias:

prediction of risk for iron loading, and response to iron chelation treatment, in beta thalassaemia intermedia and congenital sideroblastic anaemias. *Haematologia*, 17(1), 17-24.

Sheftel, A., Stehling, O., Lill, R. (2010). Iron-sulfur proteins in health and disease. *Trends Endocrinol Metab*, 21(5), 302-314.

Tokgoz, H., Caliskan, U., Yuksekkaya, H. (2010). A novel mutation of the erythroid-specific aminolevulinate synthase 2 gene in a patient with pyridoxine responsive sideroblastic anemia and deferasirox responsive hemochromatosis. *Haematologica*, 95, 725.

Whatley, S.D., Ducamp, S., Gouya, L., Grandchamp, B., Beaumont, C., Badminton, M.N., Elder, G.H., Holme, S.A., Anstey, A.V., Parker, M., Corrigall, A. V., Meissner, P. N., Hift, R. J., Marsden, J. T., Ma, Y., Mieli-Vergani, G., Deybach, J. C., Puy, H. (2008). C-terminal deletions in the ALAS2 gene lead to gain of function and cause X-linked dominant protoporphyria without anemia or iron overload. *Am.J.Hum.Genet.*, 83 (3), 408-414.

Hoofdstuk 10 Sideroblastaire anemie ten gevolge van afwijkingen in *Glutaredoxine 5 (GLRX5)*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

10.1 Pathofysiologie en prevalentie

Op chromosoom 5q14 ligt het humane glutaredoxine5-gen. Dit gen codeert voor glutaredoxine 5 (*GLRX5*). *GLRX5* codeert voor een mitochondriaal eiwit, dat essentieel is voor goede biosynthese van ijzer-zwavelclusters. Normale vorming van ijzerzwavelclusters is onder andere van belang voor de ijzerhomeostase in de cel.

In vitro en in vivo werd aangetoond dat een *GLRX5* deficiëntie in erythroblasten de vorming van ijzerzwavelclusters vermindert. Dit leidt tot mitochondriale ijzerstapeling en vervolgens tot verminderde heemproductie door onderdrukking van ALAS2 en versnelde afbraak van ferrochelatase (FECH). Hierdoor ontstaat een sideroblastaire anemie (Camaschella, 2007, 2009; Guez-Manzaneque, 2002; Ye, 2010; Ye, 2010; Ye, 2010; Wingert, 2005).

De afgelopen jaren zijn er nieuwe genen ontdekt die een rol spelen bij de ijzerzwavelclustersynthese. De verwachting is dat er de komende periode meer genen en eiwitten ontdekt zullen worden die een rol spelen in deze synthese, waardoor ook de pathofysiologie van de anemie door *GLRX5* deficiëntie beter begrepen zal worden en nieuwe oorzaken voor (nog onverklaarde) aangeboren vormen van anemie worden gevonden. *GLRX5* deficiëntie is –zover nu bekend– zeer zeldzaam. Er is één volwassen patiënt beschreven. Diabetes mellitus type II en een microcytaire anemie met tekenen van ijzerstapeling waren de presenterende klachten; hij had consanguine ouders (Camaschella, 2007).

Conclusie

Niveau 1	Het is aangetoond dat een sideroblastaire anemie kan worden veroorzaakt door een <i>GLRX5</i> deficiëntie. Camaschella, 2007; Ye, 2010
-----------------	---

10.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Er is tot nu toe in de literatuur één patiënt beschreven met een homozygote *GLRX5* deficiëntie (Camaschella, 2007). De gevonden mutatie bij deze patiënt betrof een c.294A>G mutatie in het op een na laatste nucleotide van exon1. Dit verhindert intron 1 splicing en daardoor ontstaat verminderde hoeveelheid *GLRX5* mRNA.

De patiënt, een 60 jarige man, van consanguine ouders, had een blanco voorgeschiedenis tot hij op 44 jarige leeftijd diabetes mellitus type II ontwikkelde. Op 60 jarige leeftijd presenteerde hij zich met icterus, een donkere huid en hepatosplenomegalie. Aanvullend bloedonderzoek toonde een progressieve microcytaire anemie met een laag reticulocytenaantal, een hoog ferritine en een hoge ijzerverzadigingsfractie (Supplement 2: case tabel). Beenmergonderzoek liet een licht verhoogde aanmaak zien van de erythrocytaire reeks en ijzerstapeling in erythroblasten en macrofagen met 28% sideroblasten. Suppletie met pyridoxine had geen effect.

De diagnose sideroblastische anemie op basis van een *GLRX5*-deficiëntie moet overwogen worden bij een patiënt die zich presenteert met een microcytaire anemie, verhoogde ijzerparameters (ferritine, ijzerverzadigingsfractie) en sideroblasten in het beenmerg. DNA onderzoek lijkt de volgende stap om de mutatie aan te tonen. Bij een defect in de ijzerzwavelclustersynthese is het mitochondrial acitonase en succinate dehydrogenase (complex I-IV) verlaagd (Ye, 2010). Dit is ook gevonden bij de eerder genoemde patiënt (Camaschella, 2007). Indien bij DNA onderzoek geen bekende afwijking gevonden wordt, passend bij een sideroblastaire anemie, is het daarom zinvol om de activiteit van complex I-IV te meten. Hiervoor is een lymfoblastenkweek nodig (invasief onderzoek).

Differentiaal diagnostisch moet met name een sideroblastaire anemie op basis van een *ALAS2* mutatie worden uitgesloten en een verworven MDS met ringsideroblasten. Het bovenbeschreven aanvullend fenotypisch onderzoek naar een defect in ijzerzwavelclustersynthese kan hierbij onderscheidend zijn, evenals DNA onderzoek.

Conclusie

Niveau 3	Bij 1 patiënt met een microcytaire anemie met verhoogde ijzerparameters en sideroblasten in het beenmerg, is een <i>GLRX5</i> deficiëntie beschreven. Camaschella, 2007
-----------------	--

Aanbeveling

- Het is aan te bevelen bij een sideroblastaire anemie waar geen mutatie wordt gevonden in *ALAS 2* of *SLC25A38*, naar een mutatie in *GLRX5* te zoeken.
- Bij een sideroblastaire anemie zonder bovengenoemde mutaties in het *GLRX5*, is het aan te bevelen om in een lymfoblastenkweek te kijken naar een verlaagde activiteit van het mitochondrial acitonase en succinate dehydrogenase (complex I-IV).

10.3 Behandeling

Succesvolle behandeling van bovengenoemde patiënt met een microcytaire anemie en ijzerstapeling door een *GLRX5* deficiëntie bestond uit langdurige, intensieve ijzerchelatie (deferroxamine subcutaan) in combinatie met erythrocytentransfusie bij zeer ernstige anemie. De hypothese is dat ijzerchelatie werkt doordat ijzer vanuit de mitochondrieën teruggebracht wordt naar het cytosol. Hierdoor ontstaat een betere ijzerhomeostase in de cel, wordt ALAS2 minder onderdrukt en zal de heemsynthese effectiever verlopen. Een andere hypothese is dat door ijzertoxiciteit zuurstofradicalen gevormd worden, die schade geven aan de cellen. Door vermindering van het ijzer in de cel, verminderen de zuurstofradicalen en kan normale heemsynthese plaatsvinden (Camaschella, 2007).

Conclusie

Niveau 3	Er zijn aanwijzingen dat een <i>GLRX5</i> deficiëntie te behandelen is met chelatietherapie. Camaschella, 2007
-----------------	---

Aanbeveling

Het is aan te bevelen om een patiënt met een *GLRX5* deficiëntie klinische parameters, passend bij ijzerstapeling, zoals leverfalen, beenmergfalen en hormonale afwijkingen, goed te vervolgen en goede ijzerchelatie na te streven.

10.4 Genetisch onderzoek

GLRX5 is een autosomaal recessief overervende aandoening (zie supplement 7). Het gen is gelegen op 5q14. Het is aannemelijk dat er bij dragers geen anemie of ijzerstapeling aanwezig is. Bij broers of zussen van proband lijkt screening op hemoglobine, MCV en verhoogde ijzerparameters zinvol als eerste stap.

In de populatie is de frequentie van dragerschap van *GLRX5* waarschijnlijk zeer laag. Daarom is DNA-onderzoek van het betrokken ziektegen bij partners van patiënten met deze aandoeningen in het kader van risicobepaling voor hun (toekomstige) kinderen niet geïndiceerd. Anders is dit wanneer patiënt en partner bloedverwant zijn. In dat geval is de kans op dragerschap van de partner hoger en is DNA-onderzoek wel aangewezen.

Aanbevelingen

Patiënt dient te worden geïnformeerd over de erfelijke aard van de anemie, waarbij het met name de broers en zussen zijn die een grote kans hebben om ook de anemie te hebben. De kans dat kinderen van de probandus de ziekte krijgen is (volgens de huidige inzichten) verwaarloosbaar.

De volgende familieleden van een patiënt met een microcytaire anemie door een defect in het gen voor *GLRX5*, dienen te worden onderzocht op de aanwezigheid van *GLRX5* mutaties als gevonden bij de proband:

- Ouders: indien kinderwens
- Broers en zussen: in alle gevallen
- Partner: alleen indien er kinderen zijn of er een kinderwens is, en er sprake is van (of sterk vermoeden op) bloedverwantschap van proband met partner
- Kinderen van probandus/patiënt: niet, tenzij partner bloedverwant (of sterk vermoeden daarop) en/of drager van *GLRX5* mutatie.

De werkgroep adviseert om bij (overige) familieleden die klinisch niet zijn aangedaan geen DNA onderzoek te doen.

10.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (supplement 6).

Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

10.6 Literatuurlijst

Camaschella, C., Campanella, A., Falco, L., Boschetto, L., Merlini, R., Silvestri, L., Levi, S., Iolascon, A. (2007). The human counterpart of zebrafish shiraz shows sideroblastic-like microcytic anemia and iron overload. *Blood*, 110 (4), 1353-1358.

Camaschella, C. (2009). Hereditary sideroblastic anemias: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Seminars in Hematology*, 46 (4), 371-377.

Guez-Manzaneque, M.T., Tamarit, J., Bell, G., Ros, J., Herrero, E. (2002) Grx5 is a mitochondrial glutaredoxin required for the activity of iron/sulfur enzymes. *Molecular Biology of the Cell*, 13 (4), 1109-1121.

Wingert, R.A, Galloway, J.L., Barut, B., Foott, H., Fraenkel, P., Axe, J.L., Weber, G.J., Dooley, K., Davidson, A.J., Schmidt, B., Paw, H.C., Shaw, G.C., Kingsley, P., Palis, J., Schubert, H., Chen, O., Kaplan, J., Zon, L.I. (2005). Deficiency of glutaredoxin 5 reveals Fe-S clusters are required for vertebrate haem synthesis. *Nature*, 436 (7053), 1035-1039.

Ye, H. (2010). GLRX 5 deficiency causes sideroblastic anemia by specifically impairing heme biosyntheses and depleting cytosolic iron in human erythroblasts. *Journal Clinical Investigations*, 120 (5), 1749-1761.

Ye, H., Rouault, T.A. (2010). Human iron-sulfur cluster assembly, cellular iron homeostasis, and disease. *Biochemistry*, 49 (24), 4945-4956.

Ye, H., Jeong, S.Y., Ghosh, M.C., Kovtunovych, G., Silvestri, L., Ortillo, D., Uchida, N., Tisdale, J., Camaschella, C., Rouault, T.A. (2010). Glutaredoxin 5 deficiency causes sideroblastic anemia by specifically impairing heme biosynthesis and depleting cytosolic iron in human erythroblasts. *Journal Clinical Investigations*, 120 (5), 1749-1761.

Hoofdstuk 11 Pearson syndroom ten gevolge van deleties of duplicaties in het mitochondriële DNA

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

11.1 Pathofysiologie en prevalentie

Pearson syndroom (ook wel genoemd Pearson's beenmerg pancreas syndroom) is een zeer zeldzame, vaak fatale multisysteemziekte die wordt gekenmerkt door refractaire sideroblastische anemie, in combinatie met vacuolisatie van beenmergvoorlopercellen en exocriene pancreasdysfunctie. Het syndroom is voor het eerst in 1979 beschreven (Pearson, 1979) en sindsdien zijn er wereldwijd ongeveer 70 gevallen gerapporteerd (supplement 2: case tabel). Gezien de zeldzaamheid is de beschikbare literatuur over dit syndroom beperkt en bestaat voor het allergrootste deel uit case reports.

Ongeveer 10 jaar na de eerste beschrijving van het Pearson syndroom werd ontdekt dat de oorzaak van de aandoening in het mitochondriële DNA ligt (Rotig, 1990).

Het mitochondriële DNA (mtDNA; 16.5 kb molecuul) codeert voor 13 subunits van de mitochondriële ademhalingsketen, voor 22 tRNAs (transfer RNAs) en voor 2 rRNAs (ribosomale RNAs). Ieder mitochondrion bevat 2-10 mtDNA moleculen.

Belangrijk is dat in tegenstelling tot het erfelijk materiaal van de chromosomen (chromosomaal DNA) het mitochondriaal DNA alléén via de moeder overerft (maternale overerving). Dit komt doordat bij de bevruchting de zaadcel van de man alleen chromosomaal DNA bij zich draagt, maar geen mitochondriaal DNA. Al het mtDNA bij de mens is dus van maternale afkomst.

Bij ziekten veroorzaakt door mutaties in het mtDNA en dus ook bij Pearson syndroom is er sprake van heteroplasmie, het verschijnsel dat er een mengsel van zowel gemuteerd als wild-type (normaal) mtDNA in een cel aanwezig is. In het algemeen bepaalt de weefselverdeling van gemuteerd mtDNA en de relatieve hoeveelheid daarvan (= mate van heteroplasmie) de ernst en het klinisch verloop van de aandoening.

Pearson syndroom wordt veroorzaakt door deleties, en in zeldzame gevallen duplicaties, in het mtDNA (Rotig, 1990, 1991). De meest voorkomende mtDNA deletie bij Pearson syndroom is de

4977 bp deletie (= m8470_13446del4977), die in meer dan 80% van de gevallen wordt gevonden. Deze deletie betreft mitochondrieel DNA gecodeerde subunits van complex 1 (NADH dehydrogenase), complex IV (cyochroom C oxidase) en complex V (ATP synthase) van de ademhalingsketen, als ook verschillende mt-tRNA genen. Verschillende andere deleties van variërende grootte en locatie zijn gevonden. Er is geen correlatie tussen de locatie van de deleties in het mtDNA noch de grootte daarvan en het verloop of de ernst van Pearson syndroom (Rötig, 1995). Wel is ook voor Pearson syndroom gevonden dat toegenomen relatieve hoeveelheden van gedeleteerd mtDNA (hoge heteroplasmatische waarden) correleren met een ernstiger ziektebeeld (Sadikovic, 2010). De duplicaties, die overigens extreem zeldzaam zijn, zouden een milder fenotype veroorzaken (Jacobs, 2004, Poulton, 1995).

De exacte pathogenese van de sideroblastische anemie bij Pearson syndroom is waarschijnlijk complex en niet volledig opgehelderd. De mtDNA deleties verstoren de biosynthese van verschillende componenten van de mitochondriële ademhalingsketen die kritisch is voor mitochondriële functie. Anemie door mitochondriële dysfunctie zou secundair kunnen zijn aan defecten in de heembiosynthese, of processen die leiden tot verstoord gebruik van ijzer in erythrocyten, of door afwijkingen in de erythropoëse (Inoue, 2007).

Conclusies

Niveau 1	<p>Het is aangetoond dat Pearson syndroom een mitochondriële aandoening is, veroorzaakt door deleties (en in zeldzame gevallen duplicaties) in het mitochondriële DNA. De meest voorkomende mtDNA deletie bij Pearson syndroom (80% van de gevallen) is de 4977 bp deletie (= m8470_13446del4977). Het Pearson syndroom is een zeldzame aandoening waarvan er in de 30 jaar sinds de eerste beschrijving maar zo'n 70 gevallen zijn gepubliceerd.</p> <p>Cormier, 1991; Rotig, 1990,1991; Superti-Furga, 1993</p>
Niveau 2	<p>Het is aannemelijk/waarschijnlijk dat de pathogenese van de sideroblastische anemie door mitochondriële dysfunctie bij Pearson syndroom complex is en secundair zou kunnen zijn aan defecten in de heem biosynthese, of processen die leiden tot verstoord gebruik van ijzer in erythrocyten, of door afwijkingen in de erythropoëse.</p> <p>Inoue, 2007</p>
Niveau 3	<p>Er zijn aanwijzingen dat patiënten met Pearson syndroom en mitochondriële duplicaties een milder fenotype hebben dan patiënten met mitochondriële deleties. De ernst van het fenotype (inclusief de anemie) wordt niet bepaald door de locatie of de grootte van de mitochondriële deletie. De mate van heteroplasmie zou wel een rol kunnen spelen in de ernst van het fenotype.</p> <p>Jacobs, 2004; Muraki, 1997; Poulton, 1995; Rotig, 1995; Sadikovic, 2010</p>

11.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Pearson syndroom openbaart zich meestal in de eerste levensmaanden, soms al neonataal. Zowel jongens als meisjes kunnen zijn aangedaan. De eerste en meest prominente manifestatie is meestal een ernstige transfusie-afhankelijke macrocytaire anemie met een gemiddeld Hb van 4,2 mmol/L (range 1,1-7,9) (Ayed, 2011; Baerlocher, 1992; Bernes, 1993; Gilbert, 1996; Knerr, 2003; Krauch, 2002; Majander, 1991; Mc Donald, 2002; Mc Shane, 1991; Morel, 2009; Munakata, 2005; Muraki, 1997; Rotig, 1990; Superti-Furga, 1993; Tumino, 2011) en een MCV van 100,8 fl (range 93-114) (Baerlocher, 1992; Bernes, 1993; Gilbert, 1996; Knerr, 2003; Mc Donald, 2002; Superti-Furga, 1993; Tumino, 2011).

Het aantal reticulocyten is te laag voor de mate van anemie, het bilirubine is normaal. De aanwezigheid van gevacuoliseerde hematopoëtische cellen en sideroblasten in het beenmerg vormen een belangrijke diagnostische aanwijzing voor Pearson syndroom. De anemie is vaak geassocieerd met een in ernst variabele leukopenie, neutropenie en/of trombocytopenie. Meestal is er een metabole acidose met lactaatacidemie en een verhoogde lactaat/pyruvaat ratio. Daarnaast is er een groeiachterstand die secundair is aan exocriene pancreasdysfunctie en de daardoor veroorzaakte malabsorptie. Andere verschijnselen die kunnen worden gevonden tezamen met de hematologische verschijnselen of later, in het verloop van de ziekte, zijn: tubulopathie (m.n. proximaal) met amino-acidurie (20-25% van de gevallen, Atale, 2009), hepatomegalie, cholestase, endocriene verstoringen, neuromusculaire afwijkingen, verminderde cardiale functie, miltatrofie, en huidafwijkingen zoals erythemateuze lesies en fotosensitiviteit. De mtDNA deleties zijn bij patiënten met Pearson syndroom met name aanwezig in hematopoëtische cellen en daarom in bloed goed op te sporen. DNA analyse van het mitochondriële DNA (sequentieanalyse, kwantitatieve PCR, MLPA of array-CGH) is een relatief eenvoudige, snelle, betrouwbare en weinig invasieve manier om de diagnose te stellen. De prognose van het ziektebeeld is slecht. De meeste kinderen overlijden voor het derde levensjaar ten gevolge van sepsis, metabole acidose of hepatocellulaire insufficiëntie. Patiënten die overleven ontwikkelen later in het leven andere specifieke mitochondriële syndromen met ernstige neurologische en myopathische verschijnselen zoals het Kearns-Sayre syndroom (KSS) of het Leigh syndroom (Lee, 2007; McShane, 1991; Santorelli, 1996).

Conclusie

Niveau 1	<p>Het is aangetoond dat Pearson syndroom zich meestal op heel jonge leeftijd openbaart met een zeer ernstige transfusie-afhankelijke macrocytaire anemie, met een laag aantal reticulocyten en een normaal bilirubine. Tegelijkertijd, maar soms pas later, openbaren zich andere verschijnselen die duiden op een multisysteemziekte. In combinatie met de aanwezigheid van een metabole acidose met lactaatacidemie en een verhoogde lactaat/pyruvaat ratio, wordt dan klinisch duidelijk dat het om een mitochondriële afwijking zou kunnen gaan. De diagnose kan relatief eenvoudig, snel en betrouwbaar worden gesteld door het aantonen van de oorzakelijke mitochondriële deleties (en heel soms duplicaties) in leukocyten.</p> <p>Atale, 2009; Knerr, 2003; Lee, 2007; McShane, 1991; Morel, 2009; Rötig, 1990, 1991; Santorelli, 1996; Tumino, 2011</p>
-----------------	--

Aanbeveling

Bij een jong kind met een ernstige macrocytaire anemie, een laag aantal reticulocyten en een normaal bilirubine, moet de diagnose Pearson syndroom worden overwogen, ook wanneer er nog geen duidelijke andere verschijnselen zijn die duiden op een multisysteemziekte. DNA onderzoek van het mitochondriële DNA in leucocyten is een snelle, eenvoudige, betrouwbare en weinig invasieve methode om de diagnose Pearson syndroom te stellen.

11.3 Behandeling

De behandeling van Pearson syndroom is vooralsnog alleen symptomatisch en bestaat uit erythrocyten transfusies (soms gecombineerd met erythropoëtine therapie), aandacht voor, en behandeling van metabole ontregelingen en eventuele infecties, suppletie van pancreasenzymen, en behandeling van endocriene stoornissen. Opvallend is dat kinderen met Pearson syndroom die de eerste jaren overleven uiteindelijk onafhankelijk worden van deze transfusies. Er lijkt dan dus een selectie te zijn tegen hematopoëtische stamcellen die een groot percentage gedeleteerde mt-DNA moleculen bevatten (Gatterman, 2004).

Bij twee patiënten is een stamceltransplantatie verricht. Gedurende de behandeling ontwikkelde één patiënt een fatale leukemie, waarschijnlijk ten gevolge van sterke immunosuppressie (Faraci, 2007; Tumino, 2011).

De andere patiënt maakte het 3 jaar na stamtransplantatie (via een niet-verwant navelstrengbloed transplantaat) nog goed met herstel van alle hematologische en biochemische afwijkingen (Hoyoux, 2008).

Conclusies

Niveau 1	Patiënten met Pearson syndroom kunnen vooralsnog alleen symptomatisch worden behandeld. Transfusie met erythrocyten maakt een belangrijk onderdeel uit van deze symptomatische behandeling. De prognose van Pearson syndroom is over het algemeen slecht; vele patiënten overlijden in eerste levensjaren en degenen die overleven worden onafhankelijk van transfusies maar ontwikkelen later andere mitochondriële verschijnselen. Mohri, 1998; Poulton, 1995
Niveau 4	De expertgroep is van mening dat hematopoëtische stamceltransplantatie bij Pearson syndroom in het algemeen nog niet moet worden aangeraden omdat het geen bewezen effect heeft op de verschillende niet hematopoëtisch gerelateerde verschijnselen bij Pearson syndroom. Faraci, 2007; Hoyoux, 2008; Tumino, 2011

Aanbevelingen

De behandeling van Pearson syndroom is symptomatisch. Voor de anemie zijn vaak erythrocyten transfusies noodzakelijk. Verder moet er aandacht zijn voor en behandeling van metabole ontregelingen en eventuele infecties, suppletie van pancreasenzymen, en behandeling van endocriene stoornissen.

De waarde en veiligheid van allogene stamceltransplantatie dient verder te worden onderzocht.

11.4 Genetisch onderzoek

Pearson syndroom wordt veroorzaakt door deleties, en in zeldzame gevallen duplicaties, in het mtDNA (Mc Shane, 1991; Rotig, 1990, 1991). In de meeste gevallen betreft het *de novo* deleties, optredend ofwel in de maternale oocyt tijdens de gametogenese, ofwel heel vroeg in de embryogenese. Het herhalingsrisico voor ouders van een kind met een mtDNA deletie is dan ook in de meeste gevallen zeer laag (Chinnery, 2004). Genetische counseling is in dergelijke gevallen betrouwbaar mogelijk. In zeldzame gevallen is echter maternale overerving beschreven. Zo zijn er twee gevallen gerapporteerd van een moeder met een voornamelijk oculaire myopathie en diens zoon met Pearson syndroom. In beide gevallen hadden moeder en zoon exact dezelfde mtDNA deletie (Bernes, 1993; Shanske, 2002). Wanneer bij een kind de diagnose Pearson syndroom is gesteld is het aan te bevelen om maternale overerving aan te tonen/ uit te sluiten door middel van mitochondrieel DNA onderzoek in het bloed van moeder (Shanske, 2002). In het geval dat een mtDNA deletie wordt vastgesteld bij een vrouw met een mitochondriële ziekte is het moeilijk om te bepalen wat het exacte risico is op een mitochondriële ziekte voor haar kinderen. In een studie bij 40 vrouwen met een dergelijke deletie kwamen Chinnery en co-auteurs op een percentage van ca. 4%, maar studies in grotere cohorten zijn nodig om dit te bevestigen (Chinnery, 2004).

Conclusies

Niveau 1	<p>Het is aangetoond dat Pearson syndroom in de meeste gevallen een <i>de novo</i> mtDNA afwijking is en dus het herhalingsrisico laag is. In deze gevallen is genetische counseling betrouwbaar mogelijk.</p> <p>In de zeldzame gevallen waarbij de moeder dezelfde mitochondriële afwijking heeft, is bepaling van het herhalingsrisico niet betrouwbaar mogelijk.</p> <p>Bernes, 1993; Chinnery, 2004; Knerr, 2003; McShane, 1991; Rotig, 1990, 1991; Shanske, 2002</p>
Niveau 4	<p>De expertgroep is van mening dat mtDNA van moeder van een Pearson syndroom patiënt altijd moet worden onderzocht ook al heeft zij zelf geen evidente verschijnselen van een mitochondriopathie.</p> <p>Bernes, 1993; Shanske, 2002</p>

Aanbeveling

Met het oog op de mogelijkheid van maternale overerving moet bij de moeder van een kind met Pearson syndroom onderzocht te worden of zij drager is van eenzelfde afwijking in het mtDNA.

11.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (zie supplement 6, overzicht expertcentra) Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

11.6 Literatuurlijst

- Atale, A., Bonneau-Amati, P., Rötig, A., Fischer, A., Perez-Martin, S., de Lonlay, P., Niaudet, P., De Parscau, L., Mousson, C., Thauvin-Robinet, C., Munnich, A., Huet, F., Faivre, L. (2009). Tubulopathy and pancytopenia with normal pancreatic function: a variant of Pearson syndrome. *European Journal of Medical Genetics*, 52, 23-26.
- Bernes, S.M., Bacino, C., Prezant, T.R., Pearson, M.A., Wood, T.S., Fournier, P., Fischel-Ghodsian, N. (1993). Identical mitochondrial DNA deletion in mother with progressive external ophthalmoplegia and son with Pearson marrow-pancreas syndrome. *Journal of Pediatrics*, 123, 598-602.
- Chinnery, P.F., DiMauro, S., Shanske, S., Schon, E.A., Zeviani, M., Mariotti, C., Carrara, F., Lombes, A., Laforet, P., Ogier, H., Jaksch, M., Lochmüller, H., Horvath, R., Deschauer, M., Thorburn, D.R., Bindoff, L.A., Poulton, J., Taylor, R.W., Matthews, J.N., Turnbull, D.M. (2004). Risk of developing a mitochondrial DNA deletion disorder. *Lancet*, 364, 592-596.
- Danse, P.W., Jakobs, C., Rötig, A., Munnich, A., Veerman, A.J. (1991). Pearson's syndrome: a multi-system disorder based on a mt-DNA deletion. *Tijdschrift voor Kindergeneeskunde*, 59 (6), 196-202.
- Faraci, M., Cuzzubbo, D., Micalizzi, C., Lanino, E., Morreale, G., Dallorso, S., Castagnola, E., Schiaffino, M.C., Bruno, C., Rossi, A., Dini, G., Cappelli, B. (2007). Allogeneic bone marrow transplantation for Pearson's syndrome. *Bone Marrow Transplantation*, 39, 563-565.
- Gatterman, N. (2004). Mitochondrial DNA mutations in the hematopoietic system. *Leukemia*, 18, 18-22.
- Hoyoux, C., Dresse, M.F., Robinet, S., Forget, P., Pieltain, C., Ketelslegers, O., beguin, Y. (2008). Cord blood transplantation in the child with Pearson's disease. *Pediatric Blood Cancer*, 51, 566.
- Inoue, S.I., Yokota, M., Nakada, K., Miyoshi, H., Hayashi, J. (2007). Pathogenic mitochondrial DNA-induced respiration defects in hematopoietic cells result in anemia by suppressing erythroid differentiation. *FEBS letters*, 581, 1910-1916.
- Jacobs, L.J., Jongbloed, R.J., Wijburg, F.A., de Klerk, J.B., Geraedts, J.P., Nijland, J.G., Scholte, H.R., de Coo, I.F., Smeets, H.J. (2004). Pearson syndrome and the role of deletion dimers and duplications in the mtDNA. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 27, 47-55.
- Knerr, I., Metzler, M., Niemeyer, C.M., Holter, W., Gerecke, A., Baumann, I., Trollmann, R., Repp, R. (2003). Hematologic features and clinical course of an infant with Pearson syndrome caused by a novel deletion of mitochondrial DNA. *Journal of Pediatric Hematology & Oncology*, 25 (12), 948-951.
- Lee, H.F., Lee, H.J., Chi, C.S., Tsai, C.R., Chang, T.K., Wang, C.J. (2007). The neurological evolution of Pearson syndrome: case report and literature review. *European Journal of Paediatric Neurology*, 11, 208-214.

McShane, M.A., Hammans, S.R., Sweeney, M., Holt, I.J., Beattie, T.J., Brett, E.M., Harding, A.E. (1991). Pearson syndrome and mitochondrial encephalomyopathy in a patient with a deletion of mtDNA. *American Journal of Human Genetics*, 48, 39-42.

Morel, A.S., Joris, N., Meuli, R., Jacquemont, S., Ballhausen, D., Bonafé, L., Fattet, S., Tolsa, J.F. (2009). Early neurological impairment and severe anemia in a newborn with Pearson syndrome. *European Journal of Pediatrics*, 168 (3), 311-315.

Muraki, K., Nishimura, S., Goto, Y., Nonaka, I., Sakura, N., Ueda, K. (1997). The association between haematological manifestations and mtDNA deletions in Pearson syndrome. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 20 (5), 697-703.

Pearson, H.A., Lobel, J.S., Kocoshis, S.A., Naiman, J.L., Windmiller, J., Lammi, A.T., Hoffman, R., Marsh, J.C. (1979). A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction. *Journal of Pediatrics*, 95, 976-984.

Poulton, J., Morten, K.J., Marchington, D., Weber, K., Brown, G.K., Rötig, A., Bindoff, L. (1995). Duplications of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Muscle & Nerve*, 3, S154-S158.

Rötig, A., Cormier, V., Blanche, S., Bonnefont, J.P., Ledest, F., Romero, N., Schmitz, J., Rustin, P., Fischer, A., Saudubray, J.M., Munnich, A. (1990). Pearson's marrow-pancreas syndrome. A multisystem mitochondrial disorder in infancy. *Journal of Clinical Investigation*, 86, 1601-1608.

Rötig, A., Cormier, V., Koll, F., Mize, C.E., Saudubray, J.M., Veerman, A., Pearson, H.A., Munnich, A. (1991). Site-specific deletions of the mitochondrial genome in the Pearson marrow-pancreas syndrome. *Genomics*, 10, 502-504.

Rötig, A., Bourgeron, T., Chretien, D., Rustin, P., Munnich, A. (1995). Spectrum of mitochondrial DNA rearrangements in the Pearson marrow-pancreas syndrome. *Human Molecular Genetics*, 4, 1327-1330.

Sadikovic, B., Wang, J., El-Hattab, A., Landsverk, M., Douglas, G., Brundage, E.K., Craigen, W.J., Schmitt, E.S., Wong, L.J. (2010). Sequence homology at the breakpoint and clinical phenotype of mitochondrial DNA deletion syndromes. *PLoS ONE*, 5, e15687.

Santorelli, F.M., Barmada, M.A., Pons, R., Zhang, L.L., DiMauro, S. (1996). Leigh-type neuropathology in Pearson syndrome associated with impaired ATP production and a novel mtDNA deletion. *Neurology*, 47, 1320-1323.

Shanske, S., Tang, Y., Hirano, M., Nishigaki, Y., Tanji, K., Bonilla, E., Sue, C., Krishna, S., Carlo, J.R., Willner, J., Schon, E.A., DiMauro, S. (2002). Identical mitochondrial DNA deletion in a woman with ocular myopathy and in her son with Pearson syndrome. *American Journal of Human Genetics*, 71, 679-683.

Superti-Furga, A., Schoenle, E., Tuchschnid, P., Caduff, R., Sabato, V., DeMattia, D., Gitzelmann, R., Steinmann, B. (1993). Pearson bone marrow-pancreas syndrome with insulin-dependent diabetes, progressive renal tubulopathy, organic aciduria and elevated fetal haemoglobin caused by deletion and duplication of mitochondrial DNA. *European Journal of Pediatrics*, 152 (1), 44-50.

Tumino, M., Meli, C., Farruggia, P., La Spina, M., Faraci, M., Castana, C., Di Raimondo, V., Alfano, M., Pittala, A., Lo Nigro, L., Russo, G., Di Cataldo, A. (2011). Clinical manifestations and management of four children with Pearson syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part A*, Oct 19.

Hoofdstuk 12 Congenitale dyserythropoëtische anemie type I (CDAI) ten gevolge van afwijkingen in *CDAN1*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

12.1 Pathofysiologie en prevalentie

Congenitale dyserythropoëtische anemie (CDA) type I behoort tot een groep van zeldzame congenitale anemieën waarvan de eerste patiënt, in 1967 werd beschreven (Wendt, 1967). In 1968 werd een classificatie in 3 typen voorgesteld, welke nog steeds wordt gehanteerd (Heimpel, 1968). De diverse typen CDA (CDAI, CDAIL en III) worden geclassificeerd op grond van morfologische en serologische criteria en hebben een eigen klinische presentatie. Bij CDA is er sprake van een ineffektieve erythropoëse (stoornis in uitrijping of celdood van de voorloper erythrocyt in het beenmerg) of dyserythropoëse (kwalitatieve defecten in de erythrocyt of erythrocyt voorlopercel). De overige hematopoëtische cellijnen zijn normaal. Het beenmerg vertoont typische morfologische afwijkingen welke verschillen per subtype. Bij CDAI ziet men forse erythroïde hyperplasie, megaloblastaire veranderingen, abnormale kernstructuren, multinucleaire cellen en typische chromatine bruggen tussen erythroblasten (Heimpel, 2004).

Een link met chromosoom 15q15 werd gelegd door het onderzoeken van een grote aangedane Bedoeïene familie (Tamary, 1998). In 2002 werd het genetisch defect beschreven: Een mutatie in het *CDAN1* gen. Het is een in de evolutie sterk geconserveerd gen, met geen andere orthologen in het humane genoom, wat een non redundante functie doet vermoeden, van 15kb groot met 28 exonen. Het codeert voor het eiwit codanine-1, bestaande uit 1227 aminozuren (Dgany, 2002). Er is ook een Pakistaanse familie beschreven met hematologisch en morfologisch CDAI waarbij geen mutatie in het *CDAN1* gen gevonden is en geen link met chromosoom 15q15 (Ahmed, 2006). Een andere genetische oorzaak is derhalve niet uit te sluiten (Ahmed, 2006). De functie van het codanine-1 eiwit is niet bekend, evenmin waarom dit leidt tot een stoornis in de erythropoëse. Recent vond men in diermodellen dat een mutatie in *CDAN1* kan leiden tot heterochromatine proteïne 1-alfa accumulatie in het Golgi apparaat, waardoor functies in de

celkern verstoord kunnen raken (Renella, 2011). Ook vond men dat het codanine-1 eiwit (aangedaan bij CDAI) en het SEC23B eiwit (aangedaan bij CDAlI) in de nucleus dicht bij elkaar waren gelokaliseerd, hetgeen een functionele relatie tussen deze 2 eiwitten suggereert (Renella, 2011).

Reeds in de vroege erythroïde voorlopercellen (BFU-E) zijn middels electronenmicroscopie afwijkingen zichtbaar (Vainchenker, 1980). Bij CDAI zijn glycoconjugaat afwijkingen in band 3, glycophorine A en glycosphingolipiden beschreven (Zdebska, 2000, 2001). Het is niet duidelijk of dit oorzaak of gevolg is van de dyserythropoëse. Een onbalans in de globine synthese is beschreven met een verhoogde alfa:beta globine keten ratio en proliferatie stoornissen met een blokkade in de S-fase (Wickramasinghe, 1986). De ineffektieve erythropoëse in CDAI leidt tot verhoogde expressie van growth differentiation factor 15 (GDF15), en middels suppressie van hepcidine tot secundaire hemochromatose (Tamary, 2008).

Sedert de eerste beschrijving in 1967 zijn er diverse deels overlappende case reports en kleine en grotere series van patiënten met CDAI beschreven, grotendeels uit Europa (Heimpel, 2010) maar ook uit Midden-Oosten (Shalev, 2004), Indië (Marwaha, 2003; Nair, 2009), Japan (Hiraoka, 1983; Kuribayashi, 1979) en China (Ru, 2008). De incidentie in Europa is 0,24 / 1.000.000 inwoners en hangt ook af van de klinische alertheid en mogelijkheden binnen afzonderlijke landen (Heimpel, 2010a).

Conclusies

Niveau 1	Het is aangetoond dat <i>CDAN1</i> mutatie coderend voor het codanine-1 eiwit leidt tot dyserythropoëse en ineffektieve erythropoëse met het typische hematologisch beeld beschreven als congenitale dyserythroëtische anemie type I. Dgany, 2002
Niveau 3	In een minderheid van de patiënten berust de fenotypische afwijking mogelijk op andere genetische oorzaken die nog niet zijn opgehelderd. Ahmed, 2006
Niveau 3	De functie van het codanine-1 eiwit en de pathofysiologische oorzaak van CDAI zijn niet opgehelderd. De meeste beschreven effecten zijn mogelijk secundair. Renella, 2011
Niveau 1	De incidentie in Europa bedraagt 0,24 / 1.000.000, en hangt ook af van de klinische alertheid en mogelijkheden binnen afzonderlijke landen. Heimpel, 2010a

12.2 klinische presentatie en diagnostiek

Sedert de eerste beschrijving in 1967 zijn er diverse deelscase reports en kleine en grotere series van patiënten met CDAI beschreven (Wendt, 1967). In een recente review kwam men op 169 patiënten in 143 families (Heimpel, 2010a). Meer dan 30 verschillende mutaties zijn tot nu toe beschreven (Tamary, 2011). Slechts bij een minderheid van de patiënten is een genotypering van het *CDNA1* gen gedaan. Bij hen ontbreekt een duidelijk relatie tussen genotype en fenotype (Heimpel, 2006, (n=17); Ahmed, 2006 (n=16); Tamary, 2005 (n=8); Shalev, 2004 (n=70), allen zijn homozygoot voor de p.Arg1040Tryp mutatie).

In 1968 werd een classificatie in CDA voorgesteld welke in grote lijnen nog steeds gehanteerd wordt (Heimpel, 1968). Voor de diagnose CDA zijn 4 criteria vereist (Heimpel, 2004):

- 1) aanwezigheid van erfelijke of congenitale anemie/icterus
- 2) aanwezigheid van ineffektieve erythropoëse
- 3) typische morfologische veranderingen van erythroblasten in het beenmerg
- 4) exclusie van andere vormen van congenitale anemieën zoals thalassemie, andere hemoglobinopathieën en hereditaire sideroblastische anemie.
Zo dienen verworven vormen van anemieën die ook gepaard gaan met ineffektieve erythropoëse uitgesloten te worden, zoals vitamine deficiënties en myelodysplastisch syndroom (MDS).

Het klinisch beeld is beschreven in diverse case reports, reviews (Heimpel, 2010a; Iolascon, 2009; Kamiya, 2010; Wickramasinghe, 2005) en grotere series zoals een serie van 20 Bedoeïene patiënten (Tamary, 1996), 12 Franse patiënten (Bader-Meunier, 2005) en 21 Duitse patiënten (Heimpel, 2006). Er is sprake van een meestal mild tot matig ernstige anemie, Hb gemiddeld $5.3 \pm 0,5$ mmol/l in de Bedoeïene groep, $4,8 \pm 1,4$ mmol/l in de Franse groep en een range van 0,4-8,2 mmol/l in de Duitse groep. Er is meestal een normaal leukocyten en trombocyten aantal en splenomegalie toenemend met de leeftijd. Het mean cell volume (MCV) van de rode bloedcel is vaak verhoogd gemiddeld 101 ± 5 fl in de Bedoeïene groep, 92 ± 7 fl in de Franse groep en range 97-110 fl in de Duitse groep. De ineffektieve erythropoëse uit zich in een relatief normaal aantal reticulocyten, in verhouding tot de ernst van de anemie gemiddeld $51 \pm 22 \times 10^{12}/l$ in de Bedoeïene groep, $114 \pm 24 \times 10^{12}/l$ in de Franse groep en range $38-116 \times 10^{12}$ in de Duitse groep. Er is een verhoogd hemolyse met verhoogd bilirubine (range 20-74 $\mu\text{mol}/l$ in de Duitse groep), verhoogd lactaat dehydrogenase (LDH) en een verlaagd haptoglobine.

De presentatie op neonatale leeftijd is uitgebreid beschreven in de serie van 70 Bedoeïene patiënten, waarvan er 45 (60%) neonatale verschijnselen hadden: 11/45 hadden een te laag geboortegewicht voor de leeftijd, 24/45 (53%) hadden neonatale icterus, 6/45 hadden trombocytopenie, gemiddeld $54 \pm 22 \times 10^9/l$ trombocyten. Hepatosplenomegalie werd gezien bij 65% van de neonaten. Leverfunctiestoornissen in 11/22 patiënten. In 7/45 neonaten werd persisterende pulmonale hypertensie geconstateerd, welke bij 2 lethaal bleek (Shalev, 2004). Galstenen is een frequente complicatie bij kinderen en werd gezien in 6/12 Franse kinderen (Bader-Meunier, 2005). Ofschoon patiënten zich op neonatale leeftijd kunnen presenteren (Tamary, 1996), wordt de diagnose vaak pas op latere leeftijd gesteld, gemiddeld 17,3 jr. in de Duitse serie patiënten (Heimpel, 2006). Bij diagnose heeft 81% van de patiënten een splenomegalie (Heimpel, 2006). Indien onbehandeld ontwikkelen bijna alle patiënten, ook zonder transfusies, ijzerstapeling (Tamary, 1996). Monitoring van de ernst van de secundaire hemochromatose is dan ook belangrijk.

Het beenmerg is hypercellulair met een verhoogde erythropoëse, granulopoëse (G:E) ratio van 0,1-0,3, normaal 1-5 (Heimpel, 2006). Op grond van beenmergmorfologie, serologie en electronenmicroscopie kunnen de diverse typen CDA onderscheiden worden: Bij CDAI ziet men in het perifere bloed anisopoikilocytose met basofiele stippeling en soms circulerende rijpe erythroblasten (Heimpel, 2010b). Bij cytomorfologische onderzoek van het beenmerg in een serie van 19 patiënten vond men in 26% van de erythroblasten afwijkingen van de celkern. Het aantal binucleaire cellen (5,5%) en multinucleaire celkernen (0,2%) van de erythroblasten is minder uitgesproken dan bij CDAIL. Typisch voor CDAI zijn de chromatine bruggen (3%), incompleet gedeelde celkernen (2,2%) en abnormale chromatine structuur (8,8%) van de erythroblasten. Basofiele stippeling is frequent aanwezig, 3,7% (Heimpel, 2010b). Onderzoek met electronenmicroscopie laat onregelmatig gecondenseerd chromatine met een sponzig aspect zien en intercellulaire bruggen van chromatine (Conde, 1983; Kamiya, 2010) Bij CDAI is de HAM (*haemolysing acidified milieu* of wel zure lysis) test normaal, evenals de expressie van i en l antigenen op de erythrocyten. In 7/14 onderzochte Bedoeïene patiënten was het HbA2 verhoogd (Tamary, 1996).

Er zijn diverse afwijkingen beschreven die geassocieerd zijn met CDAI. Frequent worden afwijkingen aan skelet beschreven zoals afwezigheid van nagels, korte of afwezige phalanx, syndactylie, polysyndactylie van de 4^e metacarpaal, hallux varus, extra hemivertebra, spondyloepifyseale dysplasie (Bader-Meunier, 2005; Brichard 1994; Le Merrer, 1995; Tekinalp, 2001). Ook pulmonale hypertensie (Shalev, 2000; Shalev, 2004), asthenoteratozoospermie en nonsyndromale doofheid (Avidan, 2003), 'angioïde streaks' van de retina (Roberts, 2006; Tamary, 2008b) uterovesicale reflux, Alport syndroom, en groeihormoon deficiëntie (Bader-Meunier, 2005).

Conclusies

Niveau 1	<p>CDAI wordt gekenmerkt door een congenitale anemie met hemolyse, meestal macrocytair, of icterus met tekenen van ineffectieve erythropoëse en typische morfologie van de beenmerg waarbij chromatine bruggen in de erythroïde voorlopercellen het meest opvallende kenmerk is. De zure lysis test is normaal. De diagnose kan middels mutatie onderzoek van <i>CDAN1</i> bevestigd, maar niet uitgesloten worden.</p> <p>Bader-Meunier, 2005; Dgany, 2002; Heimpel, 2004; Heimpel, 2006; Kamiya, 2010; Kellermann, 2010; Shalev, 2004; Tamary, 1996</p>
Niveau 2	<p>Splenomegalie en hepatomegalie worden frequent gezien. Er is een verhoogde incidentie van galstenen. Indien onbehandeld ontwikkelen bijna alle patiënten, ook zonder transfusies, ijzerstapeling.</p> <p>Bader-Meunier, 2005; Heimpel, 2010a; Iolascon, 2009; Kamiya, 2010; Tamary, 1996; Tamary, 1996; Wickramasinghe, 2005</p>
Niveau 3	<p>Er zijn diverse case-report van associatie van CDAI met andere klinische beelden. De samenhang van deze associaties is onbekend.</p> <p>Avidan, 2003; Bader-Meunier, 2005; Brichard, 1994; Le Merrer, 1995; Offret, 2008; Roberts, 2006; Shalev, 2000, 2004; Tamary, 2008b; Tekinalp, 2001</p>

Aanbevelingen

Bij patiënten met een niet-microcytaire anemie, verhoogde hemolyseparameters en met een relatief licht verhoogd aantal reticulocyten dient de diagnose CDAI overwogen te worden. Familiaire of congenitale origine versterkt de verdenking op CDAI.

De diagnose CDAI wordt gesteld op grond van een typische beenmergmorfologie en een negatieve zure lysis test.

Ter bevestiging van de diagnose is het aan te bevelen om genetisch onderzoek naar *CDAN1* mutatie te verrichten. Het niet vinden van de mutatie sluit de diagnose niet uit.

Bij patiënten met CDAI dient regelmatig onderzoek naar de mate van ijzerstapeling plaats te vinden.

12.3 Behandeling

De noodzaak voor transfusie is meestal beperkt tot de eerste 4 levensjaren; er was geen transfusieafhankelijkheid op oudere leeftijd in een groep van 21 Duitse patiënten (Heimpel, 2006). Bij zeldzame ernstige vormen bestaat er een indicatie voor in-utero transfusie (Parez, 2000). Van de 45 Bedoeïene neonaten, waren er 40/45 transfusie onafhankelijk na de eerste 4 maanden (Shalev, 2004). Echter 5/12 Franse kinderen bleef transfusieafhankelijk na het 1^e jaar.

De behandeling van hemochromatose kan plaats vinden middels orale of intraveneuze ijzerchelatoren danwel flebotomieën (Heimpel, 2006). Splenectomie bij 9/21 patiënten liet geen verbetering van de hematologische parameters zien (Heimpel, 2006). Al vroeg werden gunstige effecten van therapie met interferon-alfa beschreven met verbetering van de anemie en vermindering van de ijzerstapeling (Lavabre-Bertrand, 1995; Parez, 2000). De mate van respons is wisselend. Slechts 3/12 Franse kinderen vertoonden een gunstige reactie in tegenstelling tot alle 5 Duitse patiënten behandeld met interferon-alfa. Bij deze laatste groep steeg het Hb tussen de 2,5-3,5 in mmol/L>. Echter 2/5 patiënten stopten de therapie omdat de bijwerkingen als te zwaar ervaren werden (Heimpel, 2006).

Drie kinderen met een transfusieafhankelijke CDAI zijn succesvol getransplanteerd met beenmerg van een HLA-identieke verwante broer/zus (Ayas, 2002). Een patiënt met CDA overleed na stamceltransplantatie (Nair, 2009).

Conclusies

Niveau 2	<p>Bij een deel van de patiënten met CDAI is incidenteel of gedurende langere tijd transfusie met erythrocytenconcentraat geïndiceerd. Voornamelijk gedurende de eerste 4 levensjaren. Er bestaan geen objectieve laboratorium criteria waarop het transfusiebeleid gebaseerd is.</p> <p>Bij hydrops foetalis dient intra-uteriene transfusie overwogen te worden.</p> <p>Heimpel, 2006; Shalev, 2004; Tamary, 1996</p>
-----------------	---

Niveau 3	Splenectomie leidt niet tot verbetering van het ziektebeeld en is dus gecontraïndiceerd. Heimpel, 2006
Niveau 3	Verbetering van de anemie door behandeling middels alfa-interferon is beschreven, slechts een minderheid lijkt te reageren. De bijwerkingen zijn voor sommige patiënten reden om de therapie te staken. Heimpel, 2006; Lavabre-Bertrand, 1995; Perez, 2000
Niveau 2	Secundaire hemochromatose dient behandeld te worden middels flebotomie of medicamenteuze ijzerchelatie. Heimpel, 2006
Niveau 3	Allogene stamceltransplantatie als behandeling van ernstige vormen van CDAI is experimenteel. Ayas, 2002; Nair, 2009

Aanbevelingen

Er bestaat geen indicatie tot splenectomie.

Behandeling met interferon-alfa kan worden overwogen, ofschoon dit waarschijnlijk slechts bij een minderheid van de patiënten verbetering van de anemie geeft en niet door iedereen goed wordt verdragen

Secundaire hemochromatose dient vroeg opgespoord en behandeld te worden ter voorkomen van orgaanschade.

Bij zeer ernstige vormen van CDAI kan behandeling met allogene stamceltransplantatie overwogen worden, ofschoon de ervaring berust op casuïstiek.

12.4 Genetisch onderzoek

CDA1 is een autosomaal recessief overervende aandoening (zie supplement 7). Het gen *CDAN1* is gelegen op chromosoom 15q15. Het is aannemelijk dat er bij dragers geen anemie of ijzerstapeling aanwezig is.

Bij broers of zussen van proband lijkt screening op hemoglobine, MCV, reticulocyten, LDH, bilirubine en verhoogde ijzerparameters zinvol als eerste stap.

In de populatie is de frequentie van dragerschap van *CDAN1* waarschijnlijk zeer laag. Daarom is DNA-onderzoek van het betrokken ziektegen bij partners van patiënten met deze aandoeningen in het kader van risicobepaling voor hun (toekomstige) kinderen niet geïndiceerd. Anders is dit wanneer patiënt en partner bloedverwant zijn. In dat geval is de kans op dragerschap van de partner hoger en is DNA-onderzoek wel aangewezen.

Aanbevelingen

Patiënt dient te worden geïnformeerd over de erfelijke aard van de anemie, waarbij het met name de broers en zussen zijn die een grote kans hebben om ook de anemie te hebben. De kans dat kinderen van de probandus de ziekte krijgen is (volgens de huidige inzichten) verwaarloosbaar.

De volgende familieleden van een patiënt met een anemie door een defect in *CDAN1*, dienen te worden onderzocht op de aanwezigheid van *CDAN1* mutaties als gevonden bij de proband:

- Ouders van probandus: indien kinderwens;
- Broers en zussen en kinderen van probandus: alleen indien fenotype aanwezig is of wanneer zij kinderwens hebben;
- Partner van probandus: alleen indien een kinderwens is, en er sprake is van (of sterk vermoeden op) bloedverwantschap van proband met partner.

De werkgroep adviseert om bij (overige) familieleden die klinisch niet zijn aangedaan geen DNA onderzoek te doen.

12.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (zie supplement 6). Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

12.6 Literatuurlijst

Ahmed, M.R., Chehal, A., Zahed, L., Taher, A., Haidar, J., Shamseddine, A., O'Hea, A.M., Bienz, N., Dgany, O., Avidan, N., Beckmann, J.S., Tamary, H., Higgs, D., Vyas, P., Wood, W.G., (2006). Wickramasinghe S.N. Linkage and mutational analysis of the *CDAN1* gene reveals genetic heterogeneity in congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood*, *107*, 4968-4969.

Avidan, N., Tamary, H., Dgany, O., Cattan, D., Pariente, A., Thulliez, M., Borot, N., Moati, L., Barthelme, A., Shalmon, L., Krasnov, T., Ben-Asher, E., Olender, T., Khen, M., Yaniv, I., Zaizov, R., Shalev, H., Delaunay, J., Fellous, M., Lancet, D., Beckmann, J.S. (2003). *CATSPER2*, a human autosomal nonsyndromic male infertility gene. *European Journal Human Genetics*, *11*, 497-502.

Ayas, M., al-Jefri, A., Baothman, A., al-Mahr, M., Mustafa, M.M., Khalil, S., Karaoui, M., Solh, H. (2002). Transfusion-dependent congenital dyserythropoietic anemia type I successfully treated with allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, *29*, 681-682.

Bader-Meunier, B., Leverger, G., Tchernia, G., Schischmanoff, O., Cynober, T., Bernaudin, F., Leblanc, T., Munzer, M., Roda, L., Soler, C., Thuret, I., Delaunay, J. (2005). Clinical and laboratory manifestations of congenital dyserythropoietic anemia type I in a cohort of French children. *Journal Pediatrics Hematology & Oncology*, *27*, 416-9.

Brichard, B., Vermeylen, C., Scheiff, J.M., Michaux, J.L., Ninane, J., Cornu, G. (1994). Two cases of congenital dyserythropoietic anaemia type I associated with unusual skeletal abnormalities of the limbs. *British Journal Haematology*, 86, 201-2.

Conde, E., Mazo, E., Baro, J., Lafarga, M., Cuadrado, M.A., Recio, M., Zubizarreta, A. (1983). Transmission and scanning electron microscopy study on congenital dyserythropoietic anemia type I. *Acta Haematologica*, 70, 243-9.

Dgany, O., Avidan, N., Delaunay, J., Krasnov, T., Shalmon, L., Shalev, H., Eidelitz-Markus, T., Kapelushnik, J., Cattani, D., Pariente, A., Tulliez, M., Crétien, A., Schischmanoff, P.O., Iolascon, A., Fibach, E., Koren, A., Rössler, J., Le Merrer, M., Yaniv, I., Zaizov, R., Ben-Asher, E., Olender, T., Lancet, D., Beckmann, J.S., Tamary, H. (2002). Congenital dyserythropoietic anemia type I is caused by mutations in codanin-1. *American Journal Human Genetics*, 71, 1467-74.

Heimpel, H., Wendt, F. (1968). Congenital dyserythropoietic anemia with karyorrhexis and multinuclearity of erythroblasts. *Helvetica Medica Acta*, 34, 103-15.

Heimpel, H. (2004). Congenital dyserythropoietic anemias: epidemiology, clinical significance, and progress in understanding their pathogenesis. *Annual Hematology*, 83, 613-21.

Heimpel, H., Schwarz, K., Ebnöther, M., Goede, J.S., Heydrich, D., Kamp, T., Plaumann, L., Rath, B., Roessler, J., Schildknecht, O., Schmid, M., Wuillemin, W., Einsiedler, B., Leichtle, R., Tamary, H., Kohne, E. (2006). Congenital dyserythropoietic anemia type I (CDA I): molecular genetics, clinical appearance, and prognosis based on long-term observation. *Blood*, 107, 334-40.

Heimpel, H., Matuschek, A., Ahmed, M., Bader-Meunier, B., Colita, A., Delaunay, J., Garçon, L., Gilsanz, F., Goede, J., Högel, J., Kohne, E., Leichtle, R., Muñoz, J., Perrotta, S., Piscopo, C., Renella, R., Schwarz, K., Smolenska-Sym, G., Wickramasinghe, S., Zanella, A., Iolascon, A. (2010). Frequency of congenital dyserythropoietic anemias in Europe. *European Journal of Haematology*, 85, 20-5.

Heimpel, H., Kellermann, K., Neuschwander, N., Högel, J., Schwarz, K. (2010). The morphological diagnosis of congenital dyserythropoietic anemia: results of a quantitative analysis of peripheral blood and bone marrow cells. *Haematologica*, 95, 1034-6.

Hiraoka, A., Kanayama, Y., Yonezawa, T., Kitani, T., Tarui, S., Hashimoto, P.H. (1983). Congenital dyserythropoietic anemia type I: a freeze-fracture and thin section electron microscopic study. *Blut*, 46, 329-38.

Iolascon, A., Delaunay, J. (2009). Close to unraveling the secrets of congenital dyserythropoietic anemia types I and II. *Haematologica*, 94, 599-602.

Kamiya, T., Manabe, A. (2010). Congenital dyserythropoietic anemia. *International Journal of Hematology*, 92, 432-8.

Kuribayashi, T., Uchida, S., Kuroume, T., Umegae, S., Omine, M., Maekawa, T. (1979). Congenital dyserythropoietic anemia type I: report of a pair of siblings in Japan. *Blut*, 39, 201-9.

Lavabre-Bertrand, T., Blanc, P., Navarro, R., Saghroun, M., Vannereau, H., Braun, M., Wagner, A., Taïb, J., Lavabre-Bertrand, C., Navarro, M. (1995). alpha-Interferon therapy for congenital dyserythropoiesis type I. *British Journal Haematology*, 89, 929-32.

Le Merrer, M., Girot, R., Parent, P., Cormier-Daire, V., Maroteaux, P. (1995). Acral dysostosis dyserythropoiesis syndrome. *European Journal Pediatrics*, 154, 384-8.

Marwaha, R.K., Bansal, D., Trehan, A., Garewal, G., Marwaha, N. (2003). Congenital dyserythropoietic anemia: clinical and hematological profile. *Indian Pediatrics*, 40, 551-5.

Nair, V., Das, S., Sharma, A. (2009). Hematopoietic stem cell transplantation in children with genetic defects. *Indian Pediatrics*, 46, 241-3.

Parez, N., Dommergues, M., Zupan, V., Chambost, H., Fieschi, J.B., Delaunay, J., Miélot, F., Cramer, E.M., Dommergues, J.P., Wickramasinghe, S.N., Tchernia, G. (2000). Severe congenital dyserythropoietic anaemia type I: prenatal management, transfusion support and alpha-interferon therapy. *British Journal of Haematology*, 110, 420-3.

Renella, R., Roberts, N.A., Brown, J.M., De Gobbi, M., Bird, L.E., Hassanali, T., Sharpe, J.A., Sloane-Stanley, J., Ferguson, D.J., Cordell, J., Buckle, V.J., Higgs, D.R., Wood, W.G. (2011). Codanin-1 mutations in congenital dyserythropoietic anemia type 1 affect HP1{alpha} localization in erythroblasts. *Blood*, 117, 6928-38.

Roberts, E., Madhusudhana, K.C., Newsom, R., Cullis, J.O. (2006). Blindness due to angioid streaks in congenital dyserythropoietic anaemia type I. *British Journal Haematology*, 133, 456.

Ru, Y.X., Zhu, X.F., Yan, W.W., Gao, J.T., Schwarz, K., Heimpel, H. (2008). Congenital dyserythropoietic anemia in a Chinese family with a mutation of the CDAN1-gene. *Annual Hematology*, 87, 751-4.

Shalev, H., Moser, A., Kapelushnik, J., Karplus, M., Zucker, N., Yaniv, I., Tamary, H. (2000). Congenital dyserythropoietic anemia type I presenting as persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Journal Pediatrics*, 136, 553-5.

Shalev, H., Kapelushnik, J., Moser, A., Dgany, O., Krasnov, T., Tamary, H.A (2004). comprehensive study of the neonatal manifestations of congenital dyserythropoietic anemia type I. *Journal of Pediatrics Hematology & Oncology*, 26, 746-8.

Tamary, H., Shalev, H., Luria, D., Shaft, D., Zoldan, M., Shalmon, L., Gruinspan, A., Stark, B., Chaison, M., Shinar, E., Resnitzky, P., Zaizov, R. (1996). Clinical features and studies of erythropoiesis in Israeli Bedouins with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood*, 87, 1763-70.

Tamary, H., Shalmon, L., Shalev, H., Halil, A., Dobrushin, D., Ashkenazi, N., Zoldan, M., Resnitzky, P., Korostishevsky, M., Bonne-Tamir, B., Zaizov, R. (1998). Localization of the gene for congenital dyserythropoietic anemia type I to a <1-cM interval on chromosome 15q15.1-15.3. *American Journal Human Genetics*, 62, 1062-9.

Tamary, H., Dgany, O., Proust, A., Krasnov, T., Avidan, N., Eidelitz-Markus, T., Tchernia, G., Geneviève, D., Cormier-Daire, V., Bader-Meunier, B., Ferrero-Vacher, Munzer, M., Gruppo, R., Fibach, E., Konen, O., Yaniv, I., Delaunay, J. (2005). Clinical and molecular variability in congenital dyserythropoietic anaemia type I. *British Journal Haematology*, 130, 628-34.

Tamary, H., Shalev, H., Perez-Avraham, G., Zoldan, M., Levi, I., Swinkels, D.W., Tanno, T., Miller, J.L. (2008). Elevated growth differentiation factor 15 expression in patients with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood*, 112, 5241-4.

Tamary, H., Offret, H., Dgany, O., Foliguet, B., Wickramasinghe, S.N., Krasnov, T., Rumilly, F., Goujard, C., Fénéant-Thibault, M., Cynober, T., Delaunay, J. (2008). Congenital dyserythropoietic anaemia, type I, in a Caucasian patient with retinal angioid streaks (homozygous Arg1042Trp mutation in codanin-1). *European Journal Haematology*, 80, 271-4.

Tamary, H. (2011). Congenital Dyserythropoietic Anemia Type I. Bookshelf ID: NBK5313 PMID: 20301759.

Tekinalp, G., Sarici, S.U., Erdinç, A.S., Gögüş, S., Balci, S., Gürgey, A. (2010). Lethal hydrops fetalis due to congenital dyserythropoietic anemia in a newborn: association of a new skeletal abnormality. *Pediatrics Hematology & Oncology*, 18, 537-42.

Vainchenker, W., Guichard, J., Bouguet, J., Breton-Gorius, J. (1980). Congenital dyserythropoietic anaemia type I: absence of clonal expression in the nuclear abnormalities of cultured erythroblasts. *British Journal Haematology*, 46, 33-7.

Wendt, F., Heimpel, H. (1967). Congenital dyserythropoietic anemia in a pair of dizygotic twins. *Medizinische Klinik*, 62, 172-7.

Wickramasinghe, S.N., Pippard, M.J. (1986). Studies of erythroblast function in congenital dyserythropoietic anaemia, type I: evidence of impaired DNA, RNA, and protein synthesis and unbalanced globin chain synthesis in ultrastructurally abnormal cells. *Journal Clinical Pathology*, 39, 881-90.

Wickramasinghe, S.N., Wood, W.G. (2005). Advances in the understanding of the congenital dyserythropoietic anaemias. *British Journal Haematology*, 131, 431-46.

Zdebska, E., Niewicz, B., Damowicz-Salach, A., Cielak, J. (2000). Short report: erythrocyte membranes from a patient with congenital dyserythropoietic anaemia type I (CDA-I) show identical, although less pronounced, glycoconjugate abnormalities to those from patients with CDA-II (HEMPAS). *British Journal Haematology*, 110, 998-1001.

Zdebska, E., Gołaszewska, E., Fabijańska-Mitek, J., Schachter, H., Shalev, H., Tamary, H., Sandström, H., Wahlin, A., Kościelak, J. (2001). Glycoconjugate abnormalities in patients with congenital dyserythropoietic anaemia type I, II and III. *British Journal Haematology*, 114, 907-13.

Hoofdstuk 13 Congenitale dyserythropoëtische anemie type II (CDAII) ten gevolge van afwijkingen in *SEC23B*

Uitgangsvragen:

Pathofysiologie en epidemiologie

- Wat zijn de oorzaken van de anemie en hoe vaak komt de anemie voor?

Klinische presentatie en diagnostiek

- Wat is de klinische presentatie van de anemie?
- Welke diagnostiek dient te worden ingezet en wanneer?
- Hoe dienen de diagnostische parameters te worden geïnterpreteerd?

Behandeling

- Hoe moet de patiënt worden behandeld en vervolgd?

Genetisch onderzoek

- Wat moet er in de familie worden onderzocht?
- Bij welke familieleden moet er onderzoek worden gedaan? En wanneer?

Informatieverstrekking

- Waar kunnen de patiënten en professionals terecht voor meer informatie?
- Welke informatie moet er aan de familie worden gegeven?

13.1 Pathofysiologie en prevalentie

Congenitale dyserythropoëtische anemie (CDA) type II behoort tot een groep van zeldzame congeniale anemieën waarvan de eerste patiënt, later geclassificeerd als type II, in 1966 werd beschreven (Crookston, 1966). In 1968 werd een classificatie in 3 typen voorgesteld, welke ook nu nog steeds wordt gehanteerd (Heimpel, 1968). De diverse typen CDA (CDAI, CDAII en CDAIII) worden geclassificeerd op grond van morfologische en serologische criteria, en hebben een eigen klinische presentatie. Bij CDA is er sprake van een ineffektieve erythropoëse (stoornis in uitrijping van de voorloper erythrocyt in het beenmerg) of dyserythropoëse (kwalitatieve defecten in de erythrocyt of erythrocyt voorlopercel). De overige hematopoëtische cellijnen zijn normaal. Het beenmerg vertoont typische morfologische afwijkingen welke verschilt per subtype.

Typisch bij CDAII zijn de bi- en multinucleaire normoblasten in het beenmerg. Met elektronen microscopie (EM) kan men een zogenaamde dubbel membraan waarnemen, die ontstaan is uit vesikels van endoplasmatisch reticulum onder de plasma membraan (Alloisio, 1996; Heimpel, 1970). Deze afwijkingen zijn al zichtbaar bij de vroege erythroïde voorlopercellen (BFU-E) (Florensa, 1994).

Bij CDAII is er sprake van een gestoorde glycolysering van membraaneiwitten in de erythrocyt. Hierdoor ontstaan er veranderingen in membraaneiwitten zoals Band 3 (anion exchange proteïne 1) en band 4,5 (glucose transporter 1). Er ontstaan veranderde N-gebonden-glycanen met afgekorte polylactosamine structuren. Dit resulteert in een veranderd patroon bij gel elektroforese (Fukuda, 1984, 1990). Ook zijn er veranderingen van O-gebonden-glycanen van glycophorine A. Door deze glycosylatie defecten worden veel erythrocyten al afgebroken in het beenmerg (ineffectieve erythropoëse) en is er een verkorte overlevingsduur van erythrocyten

(Iolascon, 1996). De glycosyleringsdefecten berusten waarschijnlijk op een afwijking die processen in het Golgi apparaat verstoren (Denecke, 2008). De ineffectieve erythropoëse in CDAlI leidt tot verhoogde expressie van growth differentiation factor 15 (GDF15), en middels suppressie van hepcidine tot secundaire hemochromatose (Casanovas, 2011).

Een link met chromosoom 20 werd gelegd door het onderzoeken van een Zuid-Italiaanse familie met CDAlI (Gasparine, 1997; Iolascon, 1997). In 2009 werd het verantwoordelijke gen, dat gemuteerd is bij CDAlI patiënten voor het eerst beschreven: *SEC23B* (Schwarz, 2009). *SEC23B* is gelocaliseerd op chromosoom 20p11 en codeert voor het secretoire deel van het coat protein complex (COPII). COPII is betrokken bij de vorming van transport structuren, die eiwitten en andere materialen helpen te transporteren van het endoplasmatisch reticulum naar het Golgi apparaat. Hoe een fout in het *SEC23B* leidt tot een gestoorde erythropoëse is niet duidelijk. Iolascon beschrijft 3 patiënten uit 2 families met typisch CDAlI waarbij de afwijking niet gelinkt is aan chromosoom 20 (Iolascon, 1998). Het is derhalve niet duidelijk of sporadisch nog andere oorzaken tot een zelfde ziektebeeld kunnen leiden.

Sedert de eerste beschrijving in 1966 zijn er diverse deels overlappende case reports en kleine en grotere series van patiënten met CDAlI beschreven, grotendeels uit Europa zoals Duitsland (Heimpel, 2003), Italië (Iolascon, 2001), Nederland (Broeckaerd, 1973), Tsjechië (Chrobak, 1980), Griekenland (Kostaridou, 2004), maar ook uit Koeweit (Zaki, 1989), China (Szeto, 1986) en India (Marwaha, 2003). De incidentie in Europa is 0,71 / 1.000.000, ongeveer 3x zo hoog als voor CDAl en hangt ook af van de diagnostische alertheid en mogelijkheden binnen afzonderlijke landen (Heimpel, 2010).

Conclusies

Niveau 1	Het is aangetoond dat <i>SEC23B</i> mutatie coderend voor het secretoire deel (Sec 23B component) van het COPII coat protein complex leidt tot dyserythropoëse en ineffektieve erythropoëse met het typische hematologisch beeld beschreven als congenitale dyserythropoëtische anemie type II. Schwarz, 2009
Niveau 3	Het is niet duidelijk of sporadisch nog andere oorzaken tot een zelfde ziektebeeld kunnen leiden. Iolascon, 1998
Niveau 2	De incidentie in Europa bedraagt 0,71 / 1.000.000, en hangt ook af van de diagnostische alertheid en mogelijkheden binnen afzonderlijke landen. Heimpel, 2010

13.2 Klinische presentatie en diagnostiek

Sedert de eerste beschrijving in 1966 zijn er diverse deels overlappende case reports, kleine en grotere series van patiënten met CDAlI beschreven.

De grootste series werden beschreven door Heimpel (Heimpel, 2003) en Iolascon (Iolascon, 2001). In een recent review kwam men op 454 patiënten in 356 families (Heimpel, 2010).

Sedert de ontdekking van *SEC23B* als oorzakelijke mutatie zijn er meer dan 53 verschillende mutaties beschreven in 120 patiënten (Amir, 2011; Bianchi, 2009; Iolascon, 2010; Russo, 2010; Russo, 2011; Schwarz, 2009).

Samengestelde heterozygotie van een missense mutatie met een nonsense mutatie (waarbij een deel van het eiwit niet wordt gevormd) lijkt significant meer pathogeen te zijn dan homozygotie voor een missense mutatie (Iolascon, 2010). Homozygotie of samengestelde heterozygotie voor een nonsense mutatie is nooit beschreven, mogelijk is dit niet levensvatbaar (Russo, 2010).

Mutaties p.Glu109Lys is het meest frequent en werd gevonden in 28% van de Italiaanse en 25% van de niet-Italiaanse patiënten), gevolgd door Mutatie p.Arg14Trp (26% in Italiaanse patiënten en 11% niet-Italiaanse patiënten. Van de Marokkaanse Joden met CDAlI zijn 10/11 van de patiënten homozygoot voor de p.Glu109Lys mutatie, met een relatief indolent beloop, niet transfusie afhankelijk en secundaire hemochromatose op oudere leeftijd (Amir, 2011).

In 1968 werd op grond van morfologische criteria een indeling in CDAl, CDAlI en CDAlII voorgesteld (Heimpel, 1968). In 2003 werden de diagnostische criteria herzien en verfijnd (Heimpel, 2003). De diagnose CDAlI wordt gesteld als voldaan wordt aan alle 3 A criteria en minimaal 1 B criterium. De A criteria zijn: 1) congenitale of erfelijke anemie of icterus, 2) tekenen van ineffectieve erythropoëse en 3) typische morfologie van de beenmerg erythroblasten met minimaal 10% binucleaire erythroïde voorlopercellen. De B criteria zijn: 1) positieve zure lysis test met minimaal 20% normaal serum (acid HAM test), 2) typische abnormale band 3 en 4.5 in SDS-PAGE elektroforese en 3) dubbele membraan aan de binnenkant van het celmembraan van erythroblasten te zien met elektronen microscopie (EM). Genetische criteria (mutatie in *SEC23B*) zijn nog niet aan de officiële classificatie toegevoegd.

Het klinisch beeld uit zich in klachten van anemie met vermoeidheidsklachten en/of tekenen van hemolyse. Uit het onderzoek van Heimpel uit 2003, waarbij 48 patiënten uit 43 families werden onderzocht was het gemiddelde Hb 5,6 mmol/l bij kinderen en 6,1 mmol/l bij volwassenen, het MCV is meestal normaal evenals het MCH (Mean Corpusculair Hemoglobine). De ineffectieve erythropoëse uit zich in een relatief licht verhoogd aantal reticulocyten tot de ernst van de anemie (20 %, range 11-86 bij kinderen en 27%, range 5-65 bij volwassenen). Er is een verhoogd bilirubine (34 μ mol/l, range 12-87 bij kinderen en 51 μ mol/l, range 12-145 bij volwassenen) met in 47/48 patiënten een verlaagd haptoglobine. Zeven patiënten waren tijdelijk transfusieafhankelijk tot de leeftijd van 7 jaren, daarna niet meer, waarbij niet vermeld werd of dit door spontane verbetering kwam of ten gevolge van een splenectomie (Heimpel, 2003). Van de patiënten beschreven door Iolascon (2001) hadden 33 van de 88 patiënten met een Hb onder de 3,7 mmol/l een transfusie nodig in het eerste levensjaren. Op volwassen leeftijd waren slechts 5 patiënten transfusie afhankelijk, waarvan 3 van de 5 tevens een Bèta-thalassemie dragerschap hadden (Iolascon, 2001). Er is meestal een normaal leukocyten en trombocyten aantal (Iolascon, 2001). Iolascon beschrijft 98 patiënten met CDAlI. Bij diagnose zijn de basale laboratorium parameters: Hemoglobine $5,1 \pm 0,7$ mmol/l, MCV 86 ± 10 fl., reticulocyten $103,5 \pm 45,6 \times 10^9/l$ totaal bilirubine 79 ± 39 microgram/l (Iolascon, 2001).

Een patiënt met CDAll wordt soms pas op latere leeftijd gediagnostiseerd. In de serie patiënten beschreven door Heimpel gemiddeld met 18 jaar (range geboorte tot 78 jaar) en in de patiënten beschreven voor Iolascon gemiddeld 15,9 jaar (\pm 11,8 jaar) (Heimpel, 2003; Iolascon, 2001). Ook vroege ernstige presentaties met hydrops foetalis en noodzaak voor intra-uteriene transfusies zijn beschreven (Remacha, 2002).

Van de bovengenoemde B criteria voldeden alle patiënten beschreven door Heimpel aan criterium B2 (23 / 23 patiënten) en criterium B3 (11 / 11 patiënten) en 45 / 47 onderzochte patiënten aan criterium B1 (Heimpel, 2003).

Met de leeftijd ontstaat er een cumulatieve incidentie van splenomegalie, met 20 jaar al bij meer dan de helft van de 48 patiënten door Heimpel beschreven (Heimpel, 2003). In diezelfde groep zag men ook een hoge cumulatieve incidentie van galstenen, sporadisch op de leeftijd onder de 20 jaar, toegenomen tot 22 van 39 patiënten voor het 40^e levensjaar (Heimpel, 2003). Associatie met Gilbert's syndroom lijkt een toename van galstenen te geven, 7/8 CDAll patiënten met Gilbert's syndroom ontwikkelden galstenen vergeleken met 8/33 CDAll patiënten zonder dit syndroom (Perrotta, 2001).

De meeste patiënten ontwikkelen een ijzerstapeling ook zonder transfusietherapie, waarbij ferritine waarden boven de 300 μ g/L worden gevonden bij ongeveer de helft van de patiënten voor het 30^e jaar (Heimpel, 2003). Onbehandeld kan CDAll leiden tot ernstige secundaire hemochromatose, ook zonder transfusietherapie, soms als eerste symptoom (Halpern, 1985).

Casuïstiek is beschreven van paravertebrale of thoracale massa ten gevolge van extramedullaire hematopoëse bij CDAll (Imran, 2008; Lugassy, 1986; Steiner, 1995). Associatie met glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiëntie kan mogelijk meer hemolyse geven zoals beschreven in 3 case reports (Gangarossa, 1995; Szeto, 1986; Ventura, 1984). Ook zijn er casuïstische associaties beschreven met ectodermale dysplasie (Sykora, 1994), hairy cell leukemie (Marisavljevic, 1994), recidiverende multifocale osteomyelitis (Majeed, 2001), Mediterrane koorts (Milledge, 2002), piebaldisme en vaginale atresie (Köklü, 2002), priapisme (Edney, 2002) en maligne lymfoom (Heimpel, 2003; Leong, 2005).

Conclusies

Niveau 1	<p>CDAll wordt gekenmerkt door een vorm van congenitale anemie en hemolyse (icterus, verlaagd haptoglobine) met tekenen van ineffektieve erythropoëse en typische morfologie van het beenmerg waarbij het grote percentage binucleaire erythroïde voorlopercellen het meest opvallende is. De diagnose wordt ondersteund door positieve acid HAM test, typische abnormale band 3 en 4.5 in SDS-PAGE, en een z.g. dubbele membraan te zien met EM. De diagnose kan middels mutatie onderzoek van <i>SEC23B</i> bevestigd worden.</p> <p>Heimpel, 2003; Iolascon, 2001; Schwarz, 2009</p>
Niveau 1	<p>Er bestaat mogelijk een fenotype – genotype relatie waarbij homozygotie voor puntmutaties een relatief mildere beeld geeft in vergelijking tot missense en non-sense mutaties.</p> <p>Amir, 2011; Russo, 2000</p>

Niveau 2	<p>De ernst van de anemie is wisselend, een deel van de patiënten is transfusie-afhankelijk, dit verbetert vaak gedurende kinderleeftijd, transfusie-afhankelijkheid op volwassen leeftijd komt weinig frequent voor.</p> <p>Met de leeftijd ontstaat er een cumulatieve incidentie van splenomegalie en galstenen. De meeste patiënten ontwikkelen een ijzerstapeling ook zonder transfusietherapie. Onbehandeld kan CDAII leiden tot ernstige secundaire hemochromatose.</p> <p>Halpern, 1985; Heimpel, 2003; Iolascon, 2001</p>
Niveau 3	<p>Er zijn diverse case-report van associatie van CDAII met andere klinische beelden, het is niet duidelijk of deze associaties op toeval berusten.</p> <p>Edney, 2002; Gangarossa, 1995; Heimpel, 2003; Imra, 2008; Köklü, 2002; Leong, 2005; Lugassy, 1986; Majeed, 2001; Marisavljevic, 1994; Milledge, 2002; Steiner, 1995; Sykora, 1994; Szeto, 1986; Ventura, 1984</p>

Aanbevelingen

Bij patiënten met een normocytair anemie, verhoogde hemolyseparameters met relatief licht verhoogd aantal reticulocyten dient de diagnose CDAII overwogen te worden. Familiaire of congenitale origine versterkt de verdenking op CDAII.

De diagnose CDAII wordt gesteld als al voldaan wordt aan alle 3 A criteria en minimaal 1 B criterium. De A criteria zijn: 1) congenitale of erfelijke anemie of icterus 2) tekenen van ineffektieve erythropoëse 3) typische morfologie van de beenmerg erythroblasten met minimaal 10% binucleaire erythroïde voorlopercellen. De B criteria zijn: 1) positieve zure lysis test (acid HAM test) met minimaal 20% normaal serum 2) typische abnormale band 3 en 4.5 in SDS-PAGE 3) dubbele membraan aan de binnenkant van het celmembraan van erythroblasten te zien met elektronen microscopie (EM).

De diagnose kan middels mutatie onderzoek van *SEC23B* bevestigd worden. Het is nog niet duidelijk of bij het ontbreken van de mutatie de diagnose kan worden uitgesloten.

Bij patiënten met CDAII dient regelmatig onderzoek naar de mate van ijzerstapeling plaats te vinden.

13.3 Behandeling

Bij ernstige anemie is transfusie met erythrocyten concentraat nodig. In de groep van Heimpel waren 7 patiënten chronisch transfusieafhankelijk tot de leeftijd van 7 jaren, daarna alleen incidenteel (Heimpel, 2003). Van de patiënten beschreven door Iolascon hadden 33 van de 88 patiënten met een Hb onder de 3,7 mmol/l een transfusie nodig in het eerste levensjaren. Op volwassen leeftijd waren slechts 5 patiënten transfusie afhankelijk (Iolascon, 2001). In de literatuur worden geen criteria aangegeven welk hemoglobine gehalte nagestreefd dient te worden. De hoeveelheid en frequentie van bloedtransfusie dient voldoende te zijn om een normale groei en ontwikkeling te waarborgen zonder grote beperkingen in het dagelijks leven (mening werkgroep). Bij hydrops foetalis dient intra-uteriene transfusies overwogen te worden (Iolascon, 2001; Remacha, 2002).

Een gunstig effect van splenectomie op hemolyse en verbetering van de anemie werd al in 1975 beschreven (Rhyner, 1975). In de groep patiënten beschreven door Heimpel werd bij 22 van de 48 patiënten een splenectomie verricht (Heimpel, 2003). Deze operatie leidde bij alle patiënten tot een stijging van de Hb (gemiddeld van 5,7 naar 6,4 mmol/l) en een daling van de bilirubine (van 39 naar 23 micromol/l). Iolascon (2001) vermeldt splenectomie bij 26 van de 98 patiënten. Er trad een Hb stijging op 5,0 mmol/l naar 6,1 mmol/l (en een daling van het bilirubine van 87 naar 43 $\mu\text{mol/L}$) en 3 patiënten werden transfusieonafhankelijk. De reden van de indicatie tot splenectomie wordt in beide series niet vermeld (Heimpel, 2003; Iolascon, 2001). Naast de ernst van de anemie kan ook cholelithiasis en mechanische bezwaren een rol hebben gespeeld (mening werkgroep). Splenectomie leidt echter niet tot minder ijzerstapeling. Bij 13 van de 17 patiënten vervolgd na splenectomie, bleef het ferritine verhoogd (Heimpel, 2003). Iolascon vond geen verschil in ferritine gehalte tussen 21 patiënten die wel en 33 patiënten die geen milt verwijderd hadden (Iolascon, 2001).

Secundaire hemochromatose ten gevolge van CDAll leidt onbehandeld tot ernstige orgaanschade (Halpern, 1985). Secundaire hemochromatose kan succesvol behandeld worden middels flebotomie zoals beschreven in 9 patiënten (Chrobák, 2006; Faruqui, 1982; Hofmann, 1997; Heimpel, 2003; Van, 2002). IJzerchelatie middels deferoxamine werd toegepast bij 13 van de 48 patiënten beschreven door Heimpel, in alle gevallen leidde dit tot afname van de ferritine concentratie (Heimpel, 2003).

Interferon-alfa therapie is beschreven bij drie patiënten met CDAll, zonder positief effect (Marwaha, 2005). Twee patiënten met een ernstige transfusieafhankelijke CDAll zijn succesvol behandeld met een allogene stamceltransplantatie (Iolascon, 2001; Milledge, 2002).

Conclusies

Niveau 3	Bij een deel van de patiënten met CDAll is incidenteel of gedurende langere tijd transfusie met erythrocytenconcentraat geïndiceerd. Met name op de kinderleeftijd. Er bestaan geen criteria waarop het transfusiebeleid gebaseerd is. Bij hydrops foetalis dient intra-uteriene transfusies overwogen te worden. Heimpel, 2003; Iolascon, 2001; Remacha, 2002
Niveau 3	Splenectomie kan vermindering van de hemolyse en verbetering van de anemie geven maar heeft geen effect op het ontstaan van secundaire hemochromatose. Er bestaan geen objectieve criteria voor indicatie tot splenectomie. Heimpel, 2003; Iolascon, 2001; Rhyner, 1975
Niveau 1	Secundaire hemochromatose dient behandeld te worden middels flebotomie of medicamenteuze ijzerchelatie. Chrobák, 2006; Faruqui, 1982; Heimpel, 2003, 2003; Hofmann, 1997; van Steenbergen, 2002

Niveau 3	Interferon-alfa therapie lijkt niet effectief als behandeling van CDAll. Marwaha, 2005
Niveau 3	Allogene stamceltransplantatie als behandeling van ernstige vormen van CDAll is nog experimenteel. Iolascon, 2001; Milledge, 2002

Aanbevelingen

Afhankelijk van de ernst van het ziektebeeld is transfusietherapie met erythrocytenconcentraat soms incidenteel of langduriger geïndiceerd.

Splenectomie kan een verbetering geven van het ziektebeeld maar zal de neiging tot secundaire hemochromatose niet verminderen. De indicatie tot splenectomie dient derhalve zorgvuldig gesteld te worden waarbij de negatieve gevolgen van asplenie (zoals de kans op postsplenectomie sepsissyndroom), meegewogen dienen te worden.

Secundaire hemochromatose dient vroeg opgespoord en behandeld te worden ter voorkoming van orgaanschade.

Er is geen aangetoonde waarde voor behandeling met interferon-alfa.

Bij zeer ernstige vormen van CDAll kan behandeling met allogene stamceltransplantatie tot curatie leiden, ofschoon de ervaring hiermee nog berust op casuïstiek.

13.4 Genetisch onderzoek

CDAll is een autosomaal recessief overervende aandoening (zie supplement 7). Het gen *SEC23B* is gelegen op chromosoom 20p11. Het is aannemelijk dat er bij dragers geen anemie of ijzerstapeling aanwezig is.

Bij broers of zussen van proband lijkt screening op hemoglobine, MCV, reticulocyten, LDH, bilirubine en verhoogde ijzerparameters zinvol als eerste stap

In de populatie is de frequentie van dragerschap van *SEC23B* waarschijnlijk zeer laag. Daarom is DNA-onderzoek van het betrokken ziektegen bij partners van patiënten met deze aandoeningen in het kader van risicobepaling voor hun (toekomstige) kinderen niet geïndiceerd. Anders is dit wanneer patiënt en partner bloedverwant zijn. In dat geval is de kans op dragerschap van de partner hoger en is DNA-onderzoek wel aangewezen.

Aanbevelingen

Patiënt dient te worden geïnformeerd over de erfelijke aard van de anemie, waarbij het met name de broers en zussen zijn die een grote kans hebben om ook de anemie te hebben. De kans dat kinderen van de probandus de ziekte krijgen is (volgens de huidige inzichten) verwaarloosbaar.

De volgende familieleden van een patiënt met een anemie door een defect in *SEC23B*, dienen te worden onderzocht op de aanwezigheid van *SEC23B* mutaties als gevonden bij de proband:

- Ouders van probandus: indien kinderwens;
- Broers en zussen en kinderen van probandus: alleen indien fenotype aanwezig is of wanneer zij kinderwens hebben;
- Partner van probandus: alleen indien een kinderwens is, en er sprake is van (of sterk vermoeden op) bloedverwantschap van proband met partner.

De werkgroep adviseert om bij (overige) familieleden die klinisch niet zijn aangedaan geen DNA onderzoek te doen.

13.5 Informatieverstrekking

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerde centra (zie supplement 6). Ook is er een speciale website voor deze zeldzame vormen van bloedarmoede, deze is te vinden op www.ijzercentrum.nl.

13.6 Literatuur

Alloisio, N., Texier, P., Denoroy, L., Berger, C., del Giudice, E.M., Perrotta, S., Iolascon, A., Gilsanz, F., Berger, G., Guichard, J. (1996). The cisternae decorating the red blood cell membrane in congenital dyserythropoietic anemia (type II) originate from the endoplasmic reticulum. *Blood*, 87, 4433-4439.

Amir, A., Dgany, O., Krasnov, T., Resnitzky, P., Mor-Cohen, R., Bennett, M., Berrebi, A., Tamary, H. (2011). E109K is a *SEC23B* founder mutation among Israeli Moroccan Jewish patients with congenital dyserythropoietic anemia type II. *Acta Haematol*, 125, 202-7.

Bianchi, P., Fermo, E., Vercellati, C., Boschetti, C., Barcellini, W., Iurlo, A., Marcello, A.P., Giorgio, P., Zanella, R., Zanella, A. (2009). Congenital dyserythropoietic anemia type II (CDAII) is caused by mutations in the *SEC23B* Gene. *Human Mutations*. 30, 1292-1298.

Broeckaert Van Orshoven, A., Helleman, P.W., Louwagie, A.C. (1973). Hereditary dyserythropoietic anaemia type II (HEMPAS). *Nederlands Tijdschrift der Geneeskunde*, 117, 1270-6.

Casanovas, G., Swinkels, D.W., Altamura, S., Schwarz, K., Laarakkers, C.M., Gross, H.J., Wiesneth, M., Heimpel, H., Muckenthaler, M.U. (2011). Growth differentiation factor 15 in patients with congenital dyserythropoietic anaemia (CDA) type II. *Journal Molecular Medicine*, 89, 811-816.

Chrobák, L., Radochova, D., Smetana, K. (1980). Congenital dyserythropoietic anaemia, type II (HEMPAS) in three siblings. *Folia Haematologica*, 107, 628-40.

Chrobák, L. (2006). Successful treatment of iron overload with phlebotomies in two siblings with congenital dyserythropoietic anemia--type II (CDA-II). *Acta Medica*, 49, 193-5.

Crookston, J.H., Godwin, T.F., Wightmann, K.J.R., Dacie, J.V., Lewis, S.M., Patterson, M. (1966). Congenital dyserythropoietic anemia. Abstr XIth Congress International Society Hematology, Sydney, Australia.

Denecke, J., Kranz, C., Nimtz, M., Conradt, H.S., Brune, T., Heimpel, H., Marquardt, T. (2008). Characterization of the N-glycosylation phenotype of erythrocyte membrane proteins in congenital dyserythropoietic anemia type II (CDA II/HEMPAS). *Glycoconjugate J*, 25, 375-82.

Edney, M.T., Schned, A.R., Cendron, M., Chaffee, S., Ellsworth, P.I. (2002). Priapism in a 15-year-old boy with congenital dyserythropoietic anemia type II (hereditary erythroblastic multinuclearity with positive acidified serum lysis test). *Journal Urology*, 167, 309-10.

Faruqui, S., Abraham, A., Berenfeld, M.R., Gabuzda, T.G. (1982). Normal serum ferritin levels in a patient with HEMPAS syndrome and iron overload. *American Journal Clinical Pathology*, 78, 97-101.

Florensa, L., Woessner, S., Besses, C., Sol, F., Sans-Sabrafen, J. (1994). Congenital dyserythropoietic anemia type II: morphological characterization of the erythroid colonies (BFU-E) from the bone marrow and peripheral blood of two patients. *Annual Hematology*, 69, 57-9.

Fukuda, M.N., Papayannopoulou, T., Gordon-Smith, E.C., Rochant, H., Testa, U. (1984). Defect in glycosylation of erythrocyte membrane proteins in congenital dyserythropoietic anaemia type II (HEMPAS). *British Journal Haematology*, 56, 55-68.

Fukuda, M.N. (1990). Mini review, HEMPAS disease: genetic defect of glycosylation. *Glycobiology*, 1, 9-15.

Gangarossa, S., Romano, V., Miraglia Del, G.E., Perrotta, S., Iolascon, A., Schiliro, G. (1995). Congenital dyserythropoietic anemia type II associated with G6PD Seattle in a Sicilian child. *Acta Haematology*, 93, 36-9.

Gasparini, P., Miraglia Del, G.E., Delaunay, J., Totaro, A., Granatiero, M., Melchionda, S. et al. (1997). Localization of the congenital dyserythropoietic anemia II locus to chromosome 20q11.2 by genomewide search. *American Journal of Human Genetics*, 61, 1112-1116.

Halpern, Z., Rahmani, R., Levo, Y. (1985). Severe hemochromatosis: the predominant clinical manifestation of congenital dyserythropoietic anemia type 2. *Acta Haematology*, 74, 178-80.

Heimpel, H., Wendt, F. (1968). Congenital dyserythropoietic anemia with karyorrhexis and multinuclearity of erythroblasts. *Helvetica Medica Acta*, 34, 103-115.

Heimpel, H., Forteza-Vila, J., Queisser, W. (1970). Morphological aberrations of the erythroblasts in congenital dyserythropoietic anemia type I and II [abstract]. Abstract Volume XIII International Congress International Society Hematology. Munich, 371.

Heimpel, H., Anselstetter, V., Chrobak, L., Denecke, J., Einsiedler, B., Gallmeier, K., Griesshammer, A., Marquardt, T., Janka-Schaub, G., Kron, M., Kohne, E. (2003). Congenital dyserythropoietic anemia type II: epidemiology, clinical appearance, and prognosis based on long-term observation. *Blood*, 102, 4576-4581

Heimpel, H., Matuschek, A., Ahmed, M., Bader-Meunier, B., Colita, A., Delaunay, J et al. (2010). Frequency of congenital dyserythropoietic anemias in Europe. *European Journal of Haematology*, 85, 20-5.

Hofmann, W.K., Kaltwasser, J.P., Hoelzer, D., Nielsen, P., Gabbe, E.E. (1997). Successful treatment of iron overload by phlebotomies in a patient with severe congenital dyserythropoietic anemia type II. *Blood*, 89, 3068-9.

Imran, A., Mawhinney, R., Swirsky, D., Hall, C. (2008). Paravertebral extramedullary haemopoiesis occurring in a case of congenital dyserythropoietic anaemia type II. *British Journal Haematology*, 140, 1.

Iolascon, A., D'Agostaro, G., Perrotta, S., Izzo, P., Tavano, R., del Giudice, B. (1996). Congenital dyserythropoietic anemia type II: molecular basis and clinical aspects. *Haematologica*, 81, 543-559.

Iolascon, A., del Giudice, M.E., Perrotta, S., Granatiero, M., Zelante, L., Gasparini, P. (1997). Exclusion of three candidate genes as determinants of congenital dyserythropoietic anemia type II (CDAII). *Blood*, 90, 4197-4200.

Iolascon, A., de Mattia, D., Perrotta, S., Carella, M., Gasparini, P., Lambertenghi, Deliliers, G. (1998). Genetic heterogeneity of congenital dyserythropoietic anemia type II. *Blood*, 92, 2593-4.

Iolascon, A., Delaunay, J., Wickramasinghe, S.N., Perrotta, S., Gigante, M., Camaschella, C. (2001). Natural history of congenital dyserythropoietic anemia type II. *Blood*, 98, 1258-60.

Iolascon, A., Russo, R., Esposito, M.R., Asci, R., Piscopo, C., Perrotta, S. et al. (2010). Molecular analysis of 42 patients with congenital dyserythropoietic anemia type II: new mutations in the SEC23B gene and a search for a genotype-phenotype relationship. *Haematologica*, 95, 708-15.

Köklü, S., Ertuğrul, D., Onat, A.M., Karakuş, S., Haznedaroğlu, I.C., Büyükapık, Y., Sayinalp, N., Özcebe, O., Dündar, S.V. (2002). Piebaldism associated with congenital dyserythropoietic anemia type II (HEMPAS). *American Journal Hematology*, 69, 210-3.

Kostaridou, S., Polychronopoulou, S., Premetis, E., Papassotiriou, I., Stamoulakatou, A., Haidas, S. (2004). Ineffective erythropoiesis underlies the clinical heterogeneity of congenital dyserythropoietic anemia type II (CDA II). *Pediatrics International*, 46, 274-9.

Leong, C.F., Zainina, S., Cheong, S.K. (2005). Congenital dyserythropoietic anaemia type II-like dysplastic anaemia preceding the development of non-Hodgkin lymphoma--a case report. *Malaysian Journal Pathology*, 27, 39-43.

Lugassy, G., Michaeli, J., Harats, N., Libson, E, Rachmilewitz, E.A. (1986). Paravertebral extramedullary hematopoiesis associated with improvement of anemia in congenital dyserythropoietic anemia type II. *American Journal Hematology*, 22, 295-300.

Majeed, H.A., Al-Tarawna, M., El-Shanti, H., Kamel, B., Al-Khalaileh, F. (2001). The syndrome of chronic recurrent multifocal osteomyelitis and congenital dyserythropoietic anaemia. Report of a new family and a review. *European Journal Pediatrics*, 160, 705-10.

Marisavljevic, D., Rolovic, Z., Vuckovic, S., Gotic, M., Jovanovic, V. (1994). Hairy cell leukemia associated with congenital dyserythropoietic anemia type II (HEMPAS). *Haematologia*, 26, 39-43.

Marwaha, R.K., Bansal, D., Trehan, A., Garewal, G., Marwaha, N. (2003). Congenital dyserythropoietic anemia: clinical and hematological profile. *Indian Pediatrics*, 40, 551-5.

Marwaha, R.K., Bansal, D., Trehan, A., Garewal, G. (2005). Interferon therapy in congenital dyserythropoietic anemia type I/II. *Pediatrics Hematology & Oncology*, 22, 133-8.

Milledge, J., Shaw, P.J., Mansour, A., Williamson, S., Bennetts, B., Roscioli, T. (2002). Allogeneic bone marrow transplantation: cure for familial Mediterranean fever. *Blood*, 100, 774-7.

Perrotta, S., del Giudice, E.M., Carbone, R., Servedio, V., Schettini, F., Jr., Nobili, B., Iolascon, A. (2000). Gilbert's syndrome accounts for the phenotypic variability of congenital dyserythropoietic anemia type II (CDA-II). *Journal of Pediatrics*, 136, 556-9.

Remacha, A.F., Badell, I., Pujol-Moix, N. Parra, J., Iz-Diaz, E., Ginovart, G. (2002). Hydrops fetalis-associated congenital dyserythropoietic anemia treated with intrauterine transfusions and bone marrow transplantation. *Blood*, 100, 356-8.

Rhyner, K., Möhr, P., Straub, P.W. (1975). Hemolysis and hemolysis mechanisms in congenital dyserythropoietic anemia (CDA) of type I. II., III. *Schweizerischer Medizinischer Wochenschrift*, 105, 1594.

Russo, R., Esposito, M.R., Asci, R., Gambale, A., Perrotta, S., Ramenghi, U. (2010). Mutational spectrum in congenital dyserythropoietic anemia type II: Identification of 19 novel variants in SEC23B gene. *American Journal of Hematology*, 85, 915-20.

Russo, R., Gambale, A., Esposito, M.R., Serra, M.L., Troiano, A., De Maggio, I., Capasso, M., Luzzatto, L., Delaunay, J., Tamary, H., Iolascon, A. (2011). Two founder mutations in the SEC23B gene account for the relatively high frequency of CDA II in the Italian population. *American Journal of Hematology*, 86, 727-32.

Schwarz, K., Iolascon, A., Verissimo, F., Trede, N.S., Horsley, W., Chen, W., Paw, B.H., Hopfner, K.P., Holzmann, K., Russo, R., Esposito, M.R., Spano, D., De Falco, L., Heinrich, K., Joggerst, B., Rojewski, M.T., Perrotta, S., Denecke, J., Pannicke, U., Delaunay, J., Pepperkok, R., Heimpel, H. (2009). Mutations affecting the secretory COPII coat component SEC23B cause congenital dyserythropoietic anemia type II. *Nature Genetics* 41, 936–940

Steiner, W., Denzlinger, C., Weiss, M. (1995). Paravertebral extramedullary hematopoiesis in congenital dyserythropoietic anemia type II (CDA II). *Rontgenpraxis*, 48, 110-2.

Sykora, K.W., Niedich, J., Price, J., Bussel, J. (1994). Type II congenital dyserythropoietic anemia in a patient with ectodermal dysplasia. Distinction from dyskeratosis congenita. *American Journal of Pediatrics Hematology & Oncology*, 16, 173-6.

van Steenberghe, S.W., Matthijs, G., Roskams, T., Fevery, J. (2002). Noniatrogenic haemochromatosis in congenital dyserythropoietic anaemia type II is not related to C282Y and H63D mutations in the HFE gene: report on two brothers. *Acta Clinica Belgica*, 57, 79-84.

Ventura, A., Panizon, F., Soranzo, M.R., Veneziano, G., Sansone, G., Testa U., Luzzatto L. (1984). Congenital dyserythropoietic anaemia type II associated with a new type of G6PD deficiency (G6PD Gabrovizza). *Acta Haematology*, 71, 227-34.

Szeto, S.C., Ng, C.S. (1986). A case of congenital dyserythropoietic anemia in a male. *Chinese Pathology*, 18, 165-8.

Zaki, M., Hassanein, A.A., Daoud, A.S., al Saleh, Q. (1989). Congenital dyserythropoietic anaemia in children: report of three cases from Kuwait. *Annals of Tropical Paediatrics*, 9, 161.

De Supplementen

- 1 Evidence tabellen
- 2 Case tabellen
- 3 OMIM Tabel
- 4 Verslag patiëntenfocusgroep
- 5 Belangenverklaringen
- 6 Overzicht expert centra
- 7 Familieonderzoek en verzekeraarbaarheid

De supplementen 1, 2 en 5 staan op de website <http://www.ijzercentrum.nl/richtlijnen>

Supplement 3 OMIM tabel

Defect	Gen/ Locus (nu in richtlijn)	OMIM gen nummer (*)	OMIM gen naam (afkorting)	OMIM aandoening Nummer (#)	OMIM aandoening Naam (afkorting) (phenotype)	
Lage ijzerbeschikbaarheid voor erythrope	TMPRSS6	609862	TRANSMEMBRANE PROTEASE, SERINE 6; TMPRSS6	206200	IRON –REFRACTORY IRON DEFICIENCY ANEMIA; IRIDA	
Defect in ijzeracquisitie van voorkoper rode bloedcel	STEAP3	609671	SIX-TRANSMEMBRANE EPITHELIAL ANTIGEN OF PROSTATE 3; STEAP3	Niet bekend	Werknaam: sideroblastaire anemie, autosomaal recessief	
	DMT1	600523	SOLUTE CARRIER FAMILY 11 (PROTON- COUPLED DIVALENT METAL ION TRANSPORTER), MEMBER 2; SLC11A2	206100	ANEMIA, HYPOCHROMIC MICROCYTIC, WITH IRON OVERLOAD (Anemia, hypochromic microcytic)	
	TF	190000	TRANSFERRIN; TF	209300	ATRANSFERRINEMIA	
Defect in erythrope	Defect in heem en/of Fe-S synthese	ALAS-2	DELTA-AMINOLEVULINATE SYNTHASE 2; ALAS2	300751	ANEMIA, SIDEROBLASTIC, X-LINKED; XLSA (Anemia, sideroblastic, X-linked)	
		SLC25A38	SOLUTE CARRIER FAMILY 25, MEMBER 38; SLC25A38	205950	ANEMIA, SIDEROBLASTIC, PYRIDOXINE- REFRACTORY, AUTOSOMAL RECESSIVE	
		GLRX5	GLUTAREDOXIN 5; GLRX5	205950	ANEMIA, SIDEROBLASTIC, PYRIDOXINE- REFRACTORY, AUTOSOMAL RECESSIVE	
		ABCB7	ATP-BINDING CASSETTE, SUBFAMILY B, MEMBER 7; ABCB7	301310	ANEMIA, SIDEROBLASTIC, AND SPINOCEREBELLAR ATAXIA; ASAT (Anemia, sideroblastic, with ataxias)	
	Onbekend defect in erythrope	MtDNA		mtDNA	557000	PEARSON MARROW-PANCREAS SYNDROME
		CDAN1	607465	CODANIN 1; CDAN1	224120	DYSERYTHROPOIETIC ANEMIA, CONGENITAL, TYPE I
		SEC23B	610512	S. CEREVISIAE, HOMOLOG OF, B; SEC23B	224100	DYSERYTHROPOIETIC ANEMIA, CONGENITAL, TYPE II

Supplement 4 Patiëntenfocusgroep

Verslag patiëntenfocusgroep 'Anemieën door aangeboren stoornissen in de ijzerstofwisseling en heemsynthese'

In dit document worden de aandachtspunten die volgden uit het focusgroepgesprek van 17 januari 2012 uitgelicht.

Doel van het focusgroepgesprek

Vanuit het patiëntenperspectief inzichtelijk maken hoe de zorg voor patiënten met een anemie door een aangeboren stoornis in de ijzerstofwisseling en heemsynthese hebben verbeterd kan worden.

Deelneem(st)ers aan het focusgroepgesprek

In samenwerking met de behandelend artsen van patiënten met een dergelijke aandoening, werden patiënten en /of familieleden benaderd en geselecteerd. We hebben hierbij getracht vertegenwoordigers van de verschillende anemieën te selecteren. Er namen in totaal 5 personen deel aan het gesprek, 1 moeder die haar zoon vertegenwoordigde, 2 patiënten, waarvan 1 samen met zijn moeder kwam en 1 samen met zijn echtgenote kwam. De anemieën vertegenwoordigd waren tijdens deze focusgroep waren: ALAS2, CDAN1 en TMPRSS6.

De gespreksstructuur

Het gesprek werd voorgezeten door de kinderarts. Zij werd bijgestaan door de klinisch geneticus en de adviseur en inhoudelijk ondersteuner. Een tiental vragen waren voorbereid zodat alle aspecten van de zorg aan de orde zouden komen: diagnostiek, behandeling, genetische voorlichting, en nazorg. De belangrijkste aandachtspunten worden in dit verslag uitgelicht, gegroepeerd naar bovenstaande zorgmomenten.

Algemene punten, voor verbetering van het multidisciplinaire zorgproces

Algemeen

De deelnemers zijn allemaal tevreden over het feit dat ze zijn doorverwezen naar een specialistisch centrum, gezien de zeldzame aard van hun aandoening. In het specialistisch centrum is het plezierig om als patiënt te worden behandeld en niet als "onderzoeksobject". Na diagnostiek en behandeling, als het beleid duidelijk is, is het fijn om terug te kunnen gaan naar een ziekenhuis dicht bij huis.

Alle deelnemers geven aan dat het geen probleem is om ver te reizen voor specialistische kennis.

Diagnostiek

De deelnemers vinden het belangrijk dat zij bij het bloedprikken hun voorkeur mogen bepalen wie deze taak op zich neemt (als zij positieve ervaringen hebben met een bepaald persoon). Dit is vooral een pré als het gaat om jonge kinderen, die angst kunnen hebben voor bloedprikken. Bij het bloedprikken bij kleine kinderen moet degene die het bloed prikt er op letten dat hij/zij het kind niet te stevig vasthoudt. Daarnaast zouden laboratoria beter met elkaar moeten communiceren, zodat bloedwaarden niet dubbel worden geprikt. (Het EPD zou doorgezet moeten worden)

Als het DNA onderzoek ook plaats zou kunnen vinden door middel van speeksel afgifte zou dit de voorkeur hebben, zeker voor kleine kinderen.

Het diagnostische traject voor deze nog (vaak) onbekende anemieën is behoorlijk lang. De patiënten realiseren zich dat dit komt doordat de genetische achtergrond en pathofysiologie van deze anemieën pas recent zijn ontdekt. Vandaar dat zij begrip hebben voor het lange diagnostische traject wat zij hebben doorlopen. Een vlottere diagnostiek zou uiteraard wel de voorkeur hebben, indien mogelijk.

Voor de diagnostiek van sommige anemieën kan het nodig zijn het beenmerg te controleren op de aanwezigheid van sideroblasten. Beenmerg onderzoek wordt als zeer vervelend ervaren en zouden patiënten liever vermijden. Ook bij lever onderzoek zouden patiënten liever een MRI ondergaan dan een punctie. Daarnaast willen patiënten goede informatie krijgen over het beenmerg onderzoek, waaronder de mogelijkheid van sedatie, bijvoorbeeld door het toedienen van Dormicum.

Behandeling

Over de behandeling specifiek hebben de patiënten niets te melden.

Genetische voorlichting

Er wordt vanuit de patiëntenfocusgroep aangegeven dat een genetisch onderzoek niet gewenst is voordat de patiënt aan kinderen begint. Maar als de kinderen ook daadwerkelijk de symptomen vertonen, dan is onderzoek wel gewenst, zodat de juiste behandeling op tijd kan worden ingezet.

Nazorg en informatie verstrekking

De twee moeders die hun zonen vertegenwoordigden hadden zelf literatuur onderzoek gedaan naar de aandoening van hun kind, omdat er nog weinig over bekend was. Zij waren zelf erg geïnteresseerd in wat de gevolgen van de aandoening zouden zijn voor hun kind. Zou bijvoorbeeld de groei en ontwikkeling normaal verlopen?

De jongere generatie patiënten kan veel informatie van internet halen, maar de oudere generatie kan niet zo goed overweg met internet. Daarnaast is het internet niet altijd een betrouwbare bron. In beide gevallen zouden folders en directe informatie van de arts uitkomst kunnen bieden. Meer informatie over de aandoening en de gevolgen van de aandoening is altijd gewenst.

Informatie verstrekking door de behandelend arts is heel belangrijk. De patiënten geven allemaal aan dat zij graag willen weten hoe het gehele behandeltraject eruit zal gaan zien. 'Moeten ze hun hele leven ijzer blijven slikken?' 'Hoe vaak moeten aderlatingen plaats vinden?'

Voor vragen kun je als patiënt natuurlijk ook altijd een afspraak maken met de behandelend arts, dit moet je echter zelf doen. Het zou fijn zijn als er eens in het halve (of hele) jaar een afspraak wordt gepland, om het laatste nieuws omtrent de aandoeningen te horen en met de behandelend arts te spreken en eventuele vragen te kunnen stellen.

Over het algemeen moet de informatie verstrekking beter/uitgebreider: 'Hoe gaat een beenmerg punctie in zijn werk', 'Wat zijn eventuele alternatieven', 'Kan DNA onderzoek ook via het speeksel',

Een website of folders over de aandoening zouden een uitkomst kunnen zijn.

Supplement 5 Belangenverklaringen

Alle werkgroepleden hebben verklaard dat zij in de afgelopen vijf jaar en/of gedurende de looptijd van het project geen belangen hebben gehad die mogelijk kunnen interfereren met de besluitvorming in de werkgroep ten aanzien van de interpretatie van het wetenschappelijk bewijs en het opstellen van aanbevelingen. Individuele belangenverklaringen liggen ter inzage bij het secretariaat van de afdeling Ondersteuning Professionele Kwaliteit van de Orde van Medisch Specialisten.

Supplement 6 Overzicht expert centra

Patiënten en professionals kunnen terecht bij gespecialiseerder expert- en diagnostische centra.

Expertcentra

De werkgroepleden van de richtlijn kunnen beschouwd worden als experts.

Diagnostische centra

Voor de bepaling van hepcidine voor de patiëntenzorg zijn (nog) geen diagnostische kits beschikbaar.

De bepaling kan worden ingestuurd via www.hepcidanalysis.com. Op de website zijn ook de referentiewaarden voor hepcidine en de ijzerverzadingsfractie/hepcidine ratio vermeld.

De werkgroep kent geen andere laboratoria in de wereld die deze referentiewaarden beschikbaar hebben.

Voor DNA diagnostiek aan genen betrokken bij de ijzerstofwisseling kan men terecht op www.DNAdiagnostiekNijmegen.nl

Specifiek voor Pearson syndroom kunnen patiënten en professionals terecht bij gespecialiseerde centra voor mitochondriële aandoeningen in de UMCs.

Supplement 7 Familieonderzoek en verzekeraarbaarheid

Inleiding

Over genetische counseling en familieonderzoek bij anemieën tgv aangeboren stoornissen in ijzerstofwisseling is in de literatuur weinig tot niets beschreven.

In onderstaand voorstel wordt aangegeven hoe in deze gevallen familieonderzoek zou kunnen worden ingezet voor verschillende vormen van overerving. Dit voorstel is gebaseerd op de kennis bij andere ziektebeelden waar familieonderzoek al dagelijkse praktijk is en waar richtlijnen voor bestaan.

Tevens beschrijven we wat de invloed is van erfelijkheidsonderzoek is op de verzekeraarbaarheid van patiënten en hun familieleden.

In de individuele hoofdstukken over de verschillende erfelijke anemieën zal worden uitgegaan van hieronder genoemde richtlijnen voor familieonderzoek. Alleen wanneer daarvan in bepaalde gevallen van wordt afgeweken om specifieke redenen dan is dat in de individuele hoofdstukken aangegeven.

Familieonderzoek

In alle gevallen dient een drie-generatie stamboom te worden opgesteld, waarbij medische gegevens van andere familieleden en eventuele bloedverwantschap (consanguïniteit) gedetailleerd in kaart worden gebracht.

Wanneer bij een patiënt met een anemie door een aangeboren stoornis in ijzerstofwisseling de genetische oorzaak (mutatie(s)) bekend is, is onderzoek van familieleden at-risk in principe eenvoudig mogelijk door middel van DNA-diagnostiek. Daarbij blijkt wie de aanleg voor de aandoening (=de mutatie) wel heeft en wie niet.

Of familieleden moeten worden onderzocht hangt sterk af van het overervingspatroon van de betreffende aandoening, de relatie van het familielid tot de patiënt, de penetrantie (het statistisch risico op het daadwerkelijk optreden van een ziekte wanneer iemand de erfelijke aanleg voor deze ziekte heeft), expressie (m.n. de ernst van de aandoening) en de eventuele behandelbaarheid van het ziektebeeld.

Autosomaal dominante aandoeningen

In geval van een aandoening met een **autosomaal dominant** overervingspatroon hebben (toekomstige) kinderen (zowel meisjes als jongens) van een aangedaan individu een kans van 50% om de aanleg voor de aandoening te krijgen. Vaak, maar niet altijd, zal een van de ouders de mutatie hebben. In dat geval hebben alle sibilings van de patiënt (broers en zussen) een kans van 50% om de aanleg voor de aandoening te hebben. Wanneer geen van de ouders de mutatie heeft, zal er in de meeste gevallen sprake zijn van een nieuwe (de novo) mutatie bij de patiënt en is er alleen een 50% risico voor zijn/haar nakomelingen. In uitzonderlijke gevallen is er sprake van een zogenaamd kiemcelmozaïcisme, d.w.z. dat de mutatie wel voorkomt in een deel van de kiemcellen van één van de ouders van de patiënt, maar niet in diens lichaamcellen. In dat geval is er wel een (licht) verhoogd risico voor de sibilings van de patiënt om de aanleg voor de aandoening te hebben.

Zodra bij een volwassen patiënt met een autosomaal dominante vorm van anemie tgv aangeboren ijzerstofwisselingsstoornis een oorzakelijke mutatie is gevonden, is genetische counseling voor deze persoon (de probandus) geïndiceerd. In een counselingssessie worden door de klinisch geneticus de medische en genetische aspecten van de aandoening met de probandus besproken. Dan wordt ook ingegaan op eventuele consequenties voor (in eerste instantie eerstegraads) familieleden. Met name als het om aandoeningen gaat waarbij therapeutische interventie (het verloop van) de ziekte zou kunnen beïnvloeden is het van

belang om de familieleden op de hoogte te brengen. Met de probandus worden ook afspraken gemaakt over de wijze waarop familieleden geïnformeerd dienen te worden. In de huidige klinisch-genetische praktijk krijgt de probandus een familiebrief mee waarin eerstegraads familieleden (ouders, siblings en nakomelingen > 16 jaar) geïnformeerd worden over de aard van aandoening, en de mogelijkheden van hematologisch- en DNA-onderzoek.

Indien familieleden genetisch getest willen worden kan dat alleen na genetische counseling door een klinisch geneticus of genetisch consulent. Naast aspecten die algemeen onderdeel uitmaken van genetische counseling, zoals het bespreken van de medische feiten van de aandoening, de erfelijke aspecten daarvan en de kans van optreden, komen hierbij ook een aantal specifieke punten aan de orde: (1) mogelijke psychologische gevolgen van de test, zoals verwerking van uitslag, leren omgaan met nieuwe kennis over gen-status, en mogelijke veranderingen in het zelfbeeld (2) mogelijke gevolgen die de uitslag kan hebben voor eerstegraads verwanten, en (3) gevolgen van de test op maatschappelijk gebied, bij voorbeeld ten aanzien van verzekeringen en werk.

Op basis van deze informatie geeft een familielid vervolgens geïnformeerde toestemming voor het uitvoeren van een DNA-onderzoek. Mocht hieruit blijken dat de persoon in kwestie de mutatie heeft is hematologisch onderzoek en follow-up aangewezen. Ook is er dan een verhoogd risico voor zijn/haar eerstegraadsverwanten, die ook weer gescreend kunnen worden (cascadescreening). Mocht blijken dat de persoon in kwestie de mutatie niet heeft, is verder onderzoek en follow- op bij hem/haar niet nodig en kan hij/zij gerust worden gesteld t.a.v. (eventuele) nakomelingen; deze zullen de aanleg voor de aandoening niet hebben.

In geval dat een oorzakelijke mutatie wordt gevonden bij een kind met een anemie tgv een autosomaal dominante aangeboren ijzerstofwisselingsstoornis, zal na counseling van de ouders, over het algemeen eerst DNA-onderzoek worden verricht bij beide ouders. Indien een van de ouders de mutatie heeft zal verdere familiescreening (cascadescreening) kunnen plaatsvinden volgens bovengenoemd protocol. Indien de ouders de mutatie niet blijken te hebben is risico voor hun siblings en ouders nihil, maar bestaat er nog wel een kleine kans voor hun andere (toekomstige) kinderen gebaseerd op kiemcelmozaïcisme. In dat geval zouden de andere kinderen ook moeten worden onderzocht, onder voorwaarde dat er een duidelijk medisch voordeel is van een vroege vaststelling van een genetische aanleg. Voorafgaand aan de genetische test worden kinderen (voor zover mogelijk) zowel als ouders goed geïnformeerd over alle aspecten van deze diagnostiek, inclusief de mogelijk nadelige gevolgen op psychosociaal gebied en beiden geven toestemming voor het doen van dit onderzoek. Dit geldt vooral bij het doen van DNA-onderzoek in de puberteit en adolescentie. De informatie aan kinderen moet zijn toegesneden op hun geestelijke ontwikkelingsniveau. Wanneer er geen medisch voordeel is van vroege vaststelling van een genetische aanleg wacht men totdat kinderen zelf op een goed moment (in Nederland wordt als grens de leeftijd van 16 jaar aangehouden) kunnen beslissen of zij al dan niet willen weten of zij drager zijn van de genetische aanleg voor de aandoening. Hier geldt dus dat de toekomstige autonomie van het kind, het recht van het kind om zelf te beslissen, belangrijker is dan de wens van de ouders om de gen-status van hun kind te weten.

Autosomaal recessieve aandoeningen

In geval van een aandoening met een **autosomaal recessief** overervingspatroon zullen de ouders van een probandus in verreweg de meeste gevallen drager zijn van de aandoening (= heterozygoot voor de mutatie) en hebben daarom meestal geen klinische verschijnselen. In dat geval hebben al hun (toekomstige) nakomelingen (siblings van probandus) een risico van 25% om de aanleg voor de aandoening te hebben (krijgen). Indien ouders nog kinderwens hebben is

het aangewezen om, na non-directieve counseling, dragerschap bij beide ouders te bevestigen om absolute zekerheid over dit herhalingsrisico te krijgen. In uitzonderlijke gevallen namelijk blijkt één van beide mutaties bij de probandus een nieuwe mutatie te zijn, of is er sprake van uniparentale disomie (één ouder geeft beide ziekte-geassocieerde allelen door) of van non-paterniteit. In dergelijke gevallen is het herhalingsrisico geen 25%, maar veel lager. In geval van uniparentale disomie en non-paterniteit is herhalingsrisico verwaarloosbaar laag, in geval van nieuwe mutatie enkele procenten ivm mogelijk kiemcelmozaïcisme.

Het al dan niet verrichten van DNA-onderzoek bij de siblings van de probandus hangt weer samen met de leeftijd van deze siblings en het eventuele medische voordeel van vroege vaststelling van de genetische aanleg (zie boven onder autosomaal dominante aandoeningen). Zorgvuldige counseling van ouders en kind (voor zover mogelijk) is ook hier aangewezen.

In de meeste gevallen is verder familieonderzoek niet aangewezen. De broers en zussen van de ouders van een aangedaan kind kunnen weliswaar drager zijn van de aandoening maar kunnen alleen kinderen krijgen met de aandoening wanneer hun partner eveneens dragers is. Deze kans is over het algemeen zeer laag, tenzij er sprake is van bloedverwantschap.

Voor de nakomelingen van de probandus zelf is het risico op de aandoening over het algemeen erg laag. Deze nakomelingen zullen wel allen drager zijn en hebben alleen een verhoogd risico op de aandoening wanneer de partner van de probandus (de andere ouder) drager is. In de populatie is de frequentie van dragerschap van autosomaal recessieve vormen van anemie tgv aangeboren ijzerstofwisselingsstoornis over algemeen erg laag. Daarom is DNA-onderzoek van het betrokken ziektegen bij partners van patiënten met deze aandoeningen in het kader van risicobepaling voor hun (toekomstige) kinderen over het algemeen niet geïndiceerd. Anders is dit wanneer patiënt en partner bloedverwant zijn. In dat geval is de kans op dragerschap van de partner hoger en is DNA-onderzoek wel aangewezen.

X-gebonden aandoeningen

In geval van een aandoening met een **geslachtsgebonden (X-gebonden) overervingspatroon** zal de ziekte vooral voorkomen bij jongens/mannen en zal de aandoening worden doorgegeven via vrouwen die dan draagster zijn van de aanleg voor de ziekte. Draggers hebben de mutatie op één van beide X-chromosomen en zullen over het algemeen geen of slechts milde klinische verschijnselen hebben omdat het andere X-chromosoom de mutatie niet heeft. In zeldzame gevallen heeft een draagster echter wel klinische verschijnselen ten gevolge van scheve X-inactivatie.

Wanneer bij een jongen met een anemie tgv een X-gebonden stoornis in het ijzermetabolisme een oorzakelijke mutatie wordt gevonden, is het aangewezen om zijn moeder genetisch te testen op dragerschap. Indien moeder draagster is, is het zinvol om haar ook hematologisch te onderzoeken en indien nodig ook te behandelen. Tevens hebben al haar (toekomstige) zoons een kans van 50% om de aanleg voor de aandoening te krijgen. Jongens met de mutatie zullen altijd klinische symptomen hebben. Dochters van een draagster hebben een kans van 50% op dragerschap en zullen afhankelijk van de X-inactivatie al dan niet verschijnselen vertonen. Het is dus zinvol om hen, als zij de mutatie blijken te hebben, ook hematologisch te onderzoeken. De moeder en de zussen van een draagstermoeder kunnen ook draagster zijn. Of familieonderzoek in de familie van de draagstermoeder moet worden opgestart, hangt sterk af van de ernst van het ziektebeeld en of therapeutische interventie (het verloop van) de ziekte zou kunnen beïnvloeden. In ieder geval zouden deze familieleden wel via een familiebrief op de hoogte moeten worden gesteld van de mogelijkheid van counseling en verder onderzoek (zie ook bij autosomaal dominant).

Wanneer familieonderzoek wordt opgestart is het zinvol om te beginnen bij de moeder van de draagstermoeder. Mocht zij geen draagster zijn dan is het zeer waarschijnlijk dat de mutatie bij de draagstermoeder nieuw is ontstaan (tenzij er sprake is van kiemcelmozaïcisme) en zal onderzoek bij de zussen in meeste gevallen niet nodig zijn. Is zij wel draagster, dan start cascadescreening bij de zussen van draagstermoeder en afhankelijk van bevindingen eventueel weer bij dochters van deze zussen.

Prenatale diagnostiek

Voor ouders met een kind met een anemie tgv een aangeboren ijzerstofwisselingsstoornis is prenatale diagnostiek in een volgende zwangerschap in principe mogelijk dmv DNA onderzoek in chorioncellen (chorionbiopsie in 11^e-12^e week van de zwangerschap) of vruchtwatercellen (vruchtwater afgenomen in 15^e week van de zwangerschap) wanneer er bij het aangedane kind een oorzakelijke mutatie is gevonden en het herhalingsrisico verhoogd is. Of prenatale diagnostiek ook geïndiceerd is hangt samen met: 1) ernst en aard van de ziekte (er moet sprake zijn van een hoog individueel risico op een ernstige genetische aandoening), 2) behandel mogelijkheden (naarmate er meer mogelijkheden voor preventieve en/of curatieve behandeling aanwezig zijn, hoe minder PND in de rede ligt).

Verzekerbareid

In Nederland zijn de Wet Medische Keuringen (WMK) en het Moratorium Erfelijkheidsonderzoek van kracht. Hierin zijn regels vastgelegd hoe verzekeraars om moeten gaan met informatie uit erfelijkheidsonderzoek. Ook in het Protocol Verzekeringskeuringen zijn afspraken over erfelijkheidsonderzoek en verzekeringen opgenomen. Het Moratorium en de WMK hebben alleen betrekking op levensverzekeringen en arbeidsongeschiktheidsverzekeringen. Ziektekostenverzekeringen vallen er niet onder.

Het vragen om een erfelijkheidsonderzoek door de verzekeraar, als voorwaarde voor het afsluiten van een verzekering, is verboden.

Daarnaast is vastgelegd dat degene die de verzekering afsluit onder een bepaalde grens geen informatie uit erfelijkheidsonderzoek hoeft op te geven. Het gaat hierbij om erfelijkheidsonderzoek verricht bij patiënt zelf of bij familieleden. Bij levensverzekeringen ligt de grens per 1 juli 2012 op een verzekerd bedrag van € 250.000.

Voor arbeidsongeschiktheidverzekeringen is dit € 36.249 voor het eerste jaar en € 24.159 voor het tweede jaar van arbeidsongeschiktheid.

Meer informatie is beschikbaar op de website van de Bond van verzekeraars, www.verzekeraars.nl.

Bronnen

Borry, P., Goffin, T., Nys, H., Dierickx, K. (2008). Attitudes regarding predictive genetic testing in minors: A survey of European clinical geneticists. *Am J Med Genet:148C*, 78-83.

Clarke, A.J. (1994). The genetic testing of children (Working party of clinical genetics society UK). *J Med Genet* ;31, 785-797.

Godard, B., Hurlimann, T., Letendre, M., Egalite. (2006). INHERIT BRCA: Guidelines for disclosing genetic information to family members: from development to use. *Fam Cancer:5*, 103-116

Gross, S.D., Kalman, L., Khoury, M. (2010). Evaluation of the validity and utility of genetic testing for rare disorders. *Adv Exp Med Biol: 686*, 115-131.

Ned, R.M., Sijbrands, E.J. (2011). Cascade screening for familial hypercholesterolemia. *Plos Curr ; Evidence of genomic tests may 5*, PMC 3102597.

Van Langen, I.M., Hofman, N., Tan, H.L. (2004). Family and population strategies for screening and counseling of inherited arrhythmias. *Ann Med 36, suppl 1*, 116-124.