

Der Fall des Halbjahres: Thalassämie

Einleitung

Die ersten Anzeichen einer Anämie (griechisch «die Blutlosigkeit») sind Müdigkeit, Blässe der Haut, Konzentrationsschwäche, verminderte Leistungsfähigkeit und Kopfschmerzen. Ursache ist die Verminderung des roten Blutfarbstoffs Hämoglobin. Der Hämoglobin-Wert der Erythrozyten ist abhängig vom dynamischen Gleichgewicht zwischen Zellbildung im Knochenmark und Abbau der Erythrozyten im Monozyten-Makrophagen-System, vornehmlich in der Milz.

Die Quantität der Erythropoese beschreibt die Gesamtzahl der Erythrozyten, die Qualität der Erythropoese wird über den Hämoglobingehalt ausgedrückt. Eine Aussage über das Gleichgewicht bekommen wir durch die Blutbild-Parameter Hämoglobin, Erythrozytenzahl und Hämatokrit. Ist bei der Erythropoese das Gleichgewicht zwischen Produktion und Abbau nicht mehr vorhanden, kommt es zur Anämie. Eine Vielzahl von Ursachen können dafür verantwortlich sein, z. B. Blutungen, Eisenmangel, Eisenverwertungsstörungen, Hämoglobiniopathien, Tumore, Leukämien, Vitaminmangel, Parasiten u. v. m.

Die Anämie ist nach der WHO (Weltgesundheitsorganisation) wie folgt definiert:
Verminderung des Hämoglobins bzw. des Hämatokrits

■ Hb	Männer < 130 g/l	(< 8,1 mmol/l)
	Frauen < 120 g/l	(< 7,5 mmol/l)
■ Hkt	Männer < 40 %	(< 0,40 l/l)
	Frauen < 36 %	(< 0,36 l/l)

Eine grobe Einteilung der Anämien in makrozytär, normozytär, mikrozytär, hämolytisch etc. kann grundsätzlich durch die folgenden 4 Parametergruppen vorgenommen werden:

1. Bestimmung der Retikulozyten und Überprüfung auf eine adäquate Erythropoese (RPI = Retikulozyten-Produktions-Index s.u.)
 - a. RPI > 2 adäquate Erythropoese
 - b. RPI < 2 inadäquate Erythropoese
2. Volumen der Erythrozyten MCV
 - c. Mikrozytär < 80 fl
 - d. Normozytär 80 – 100 fl
 - e. Makrozytär > 100 fl
3. Hämoglobingehalt der Erythrozyten MCH
 - a. Hypochrom < 28 pg
 - b. Normochrom 28 – 32 pg
 - c. Hyperchrom > 32 pg
4. Hämolyseparameter
 - a. LDH
 - b. Haptoglobin
 - c. Bilirubin

Retikulozytenproduktionsindex RPI:

Um beurteilen zu können, ob die Regenerationskraft der Erythropoese ausreicht, muß die Retikulozytenzahl abhängig vom Hämatokrit korrigiert werden, woraus der RPI errechnet wird. Im Normalfall dauert die Ausreifung der Retikulozyten zum Erythrozyten 4 Tage, davon 3 Tage im Knochenmark und 1 Tag im peripheren Blut. Bei einer Anämie verlagert sich die Ausreifungszeit der Retikulozyten in Abhängigkeit vom Hämatokrit in das periphere Blut. (Shift)

Hämatokrit	Reti-Verweildauer im Blut (Shift)
45%	1,0 Tag
35%	1,5 Tage
25%	2,0 Tage
15%	2,5 Tage

$$\text{Berechnung RPI} = \frac{\text{Reti (\%)} \times \text{Hämatokrit (l/l)}}{\text{Shift} \times 0,45} \quad (0,45 = \text{Ideal-Hämatokrit})$$

Bewertung

Normalfall:	RPI 1
Adäquate Regeneration	RPI > 2
Inadäquate Regeneration	RPI < 2

Bei allen Überlegungen zur Diagnostik und Therapie einer Anämie ist zu bedenken, dass die Anämie stets nur das Symptom ist.

Bei normalem Abbau kann eine unzureichende Erythropoese ursächlich für eine Anämie sein (z. B. Eisenmangel, Vitamin B12/Folsäure-Mangel, Verdrängung bei Leukämie). Ein erhöhter Erythrozytenabbau bei normaler Neubildung (z. B. intra- oder extravasale Hämolyse, Blutungen) kann ebenfalls zur Anämie führen. Neben diesen beiden Gruppen von Anämien existieren auch Erkrankungen, deren Ursache eine Kombination beider Störungen ist. Das bedeutet, dass die Problematik einer unzureichenden Erythropoese und einem erhöhten Abbau von Erythrozyten gemeinsam zu einer Intensivierung der Anämie-Symptome führt. Zu dieser Gruppe zählt auch die Thalassämie.

Hämoglobin

Hämoglobin ist der eisenhaltige Blutfarbstoff in den Erythrozyten und besteht aus dem eisenbindenden Häm und einem Globinanteil. Die Proteinstruktur des Hämoglobins ist ein Tetramer und setzt sich durch eine Kombination von Globinkettenpaaren zusammen. Es gibt vier verschiedene Globinketten: α , β , γ und δ -Ketten. Die Hauptaufgabe des Hämoglobins ist der Sauerstofftransport. Jeder Erythrozyt enthält ca. 280 Millionen Hämoglobinmoleküle, was 70% seiner Proteinkonzentration(en) ausmacht. Während der 120-tägigen Lebensdauer legt jeder Erythrozyt etwa 400km Wegstrecke zurück und ermöglicht einen 175.000-fachen Wechsel des Beladungszustandes mit O_2 bzw. CO_2 .

Das wichtigste Hämoglobinmolekül des Erwachsenen (HbA_1) setzt sich aus zwei alpha- und zwei beta-Ketten (α_2, β_2) zusammen, wobei jede eine eigene Hämgruppe besitzt. HbF (α_2, γ_2) und HbA_2 (α_2, δ_2) kommen nur in geringen Mengen vor. Beim Fetus überwiegt das HbF .

Neugeborene	(α_2, β_2)	HbA1	20–40 %
	(α_2, δ_2)	HbA2	0,5 %
	(α_2, γ_2)	HbF	60–80 %
Erwachsener	(α_2, β_2)	HbA1	95–98 %
	(α_2, δ_2)	HbA2	1,5 %–3,0 %
	(α_2, γ_2)	HbF	< 1 %

Thalassämie

Thalassämien sind autosomal vererbare hämolytische Anämien infolge einer quantitativen Störung der Globinkettensynthese. Als Hämoglobinanomalien versteht man genetisch vorbestimmte Hämoglobinvarianten, die durch eine Störung der Globinsynthese zustande kommen. Entsprechend der vier Globinketten gibt es vier Grundtypen der Thalassämie: Alpha-, Beta-, Gamma- und Delta-Thalassämie. Klinische Bedeutung haben besonders die Alpha- und Beta-Thalassämien, weil die betroffenen Alpha- und Beta-Globinketten die Hauptkomponenten des normalen Hämoglobins des Erwachsenen sind. Das klinische Bild ist durch eine chronische hämolytische Anämie charakterisiert, deren Schweregrad von der genetischen Situation abhängig ist. Ein normales Gen plus ein Thalassämie-Gen = heterozygot, zeigen in der Regel eine milde Verlaufsform (Thalässemia minor, Thalässemia minima). Erkrankungen mit zwei gleichen oder ähnlichen Thalassämie-Genen = homozygot, weisen eine hochgradige Hämoglobinsynthesestörung und ein entsprechend schweres Krankheitsbild auf.

Die ersatzweise gebildeten, unreifen und fehlerhaften Blutfarbstoffe reichen als Hämoglobin-Ausgleich nicht aus und führen außerdem zu einem verfrühten Absterben der Blutkörperchen. Anstelle der normalen Lebensdauer von etwa 120 Tagen haben die Blutkörperchen nur noch eine Lebensdauer von 30 bis 40 Tagen. Bei diesem Prozess wird Eisen freigesetzt, das sich teilweise in den inneren Organen und der Haut ablagert und diese schwer schädigt. Darüber hinaus dehnt sich das Knochenmark in alle verfügbaren Markräume aus, was erhebliche Auswirkungen auf die Form und Struktur der Knochen hat. Besonders von den belastenden Deformierungen sind der Gesichtsschädel, die Beine sowie die Arme betroffen. Die Leber und die Milz vergrößern sich, bis sie den ganzen Bauchraum ausfüllen. Bisher wurden über 40 verschiedene genetische Veränderungen bei Alpha- und Beta-Thalassämien nachgewiesen.

Alpha-Thalassämie

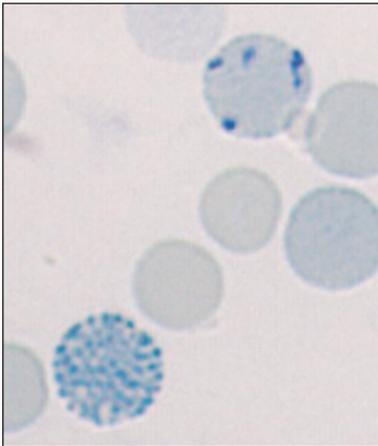


Abb. 1: HbH-Zelle,
Brillantkresylblau-Färbung

Die Alpha-Thalassämie ist selten. Bei der homozygoten Form kann die α -Kette nicht gebildet werden. Es bildet sich entweder ein Tetramer aus γ -Ketten (Hb Barts, nicht lebensfähig) oder ein Tetramer aus β -Ketten (HbH, lebensfähig). Bei letzterem wird keine ineffektive Erythropoese beobachtet, sondern eine gesteigerte Hämolyse infolge der Schädigung der Erythrozytenmembran. Das Vorhandensein von HbH-Erythrozyten beweist die Diagnose. Es handelt sich hier um den Nachweis von β -Tetrameren in den Erythrozyten in Form von Einschlusskörperchen nach Supravitalfärbung mit Brilliantkresylblau. Die Diagnose wird heute molekulargenetisch sichergestellt. Heterozygote Formen weisen einen milden klinischen Verlauf auf.

Beta-Thalassämie

Die Beta-Thalassämie tritt zahlenmäßig häufiger auf. Hier liegt eine Verminderung oder Störung der Synthese der β -Ketten zugrunde. Die homozygote Form ist identisch mit der $\Delta\alpha$ -Thalassämie und auch bekannt als Beta-Thalassämie-major unter dem Namen Cooley-Anämie.

- *T. major*: β -Ketten fehlen vollständig, Cooley-Anämie, Krankheitsbeginn in den ersten Lebensjahren, schwere hämolytische Anämie Hb 3 – 5g/dl, hohe Transfusionsbedürftigkeit, ausgeprägte Splenomegalie, Hepatomegalie, Minderwuchs, Ikterus, Auftreibung der Kieferknochen
- *T. intermedia*: β -Ketten stark vermindert, chronische Anämie, nicht transfusionsbedürftig, normales Wachstum, intermittierender Ikterus, Splenomegalie
- *T. minor*: β -Ketten leicht vermindert, asymptomatisch, Anämie fehlt oder Zufallsbefund einer milden, mikrozytären Anämie

Diagnostik:

- Basisdiagnostik Blutbild
 - Hb, RBC, HK, RDW-SD, RDW-CV, MCH, MCV
 - Retikulozyten
 - Erythroblasten im peripheren Blut
 - Morphologie der Erythrozyten im manuellen Differentialblutbild
- Hämoglobinelektrophorese
- Brilliantkresylblau-Färbung (HbH-Erythrozyten?)
- Knochenmarkszytologie mit Eisenfärbung
- Hämolyseparameter
- Ferritin

Blutbild:

Für eine rasche Diagnoseerstellung und zur Vermeidung unnötiger Untersuchungen kann mittels Kombination von Erythrozytenindizes oder anhand der Erythrozytenvolumen-Verteilungsbreiten (RDW-CV oder RDW-SD) eine Differentialdiagnose zum Eisenmangel und zur ACD (Anämie chronischer Erkrankungen) vorgenommen werden. Verschiedene Studien zeigen, dass eine Unterscheidung zwischen Eisenmangel und Thalassämie mit Hilfe der Erythrozytenvolumen-Verteilungsbreite RDW-CV $< 15\%$ oder RDW-SD < 32 fl in Kombination mit MCV < 80 fl der Diagnose einer β -Thalassämie minor dienen kann. Genauso sind einige Algorithmen unter Benutzung der Erythrozytenindizes, Diskriminanzfunktionen, zur Erkennung hilfreich.

Die 2 wichtigsten DF sind:

Mentzer's Index; MCV/RBC

Index $< 13 \hat{=}$ β -Thalassämie minor

Index $> 13 \hat{=}$ Eisenmangel/Eisenverteilungsstörung

Green's Index; MCV² * RDW-CV/100/HGB

Index $< 73 \hat{=}$ β -Thalassämie minor

Index $> 73 \hat{=}$ Eisenmangel/Eisenverteilungsstörung

Erythrozyten-Morphologie:

Anisozytose, Poikilozytose, Polychromasie, zahlreiche Targetzellen, basophile Tüpfelung.

Auch Targetzellen, die innerhalb der zentralen Aufhellungszone des Erythrozyten eine kreisförmige Hämoglobinverdichtung aufweisen (daher der deutsche Name »Schießscheibenzelle«), sind nicht Thalassämie-spezifisch. Sie kommen aber häufiger vor als z. B. bei einer Eisenmangelanämie. Eine Störung des Gleichgewichts zwischen der Oberfläche und dem Inhalt der Zelle ist der Grund für diese Formveränderung.

Diese »zentrale Aufhellungszone« kann je nach Lage des Erythrozyten auf dem Objektträger auch als randständige, auffällige Zone im Erythrozyten zu erkennen sein. Abnormale Erythrozytenformen wie Targetzellen können auch unter physiologischen Bedingungen vorhanden sein; von einer pathologischen Targetzellen-Zahl spricht man erst, wenn sie mehr als 3% der Erythrozyten ausmacht. Das heißt, in einem normalen Blickfeld bei 100-facher Vergrößerung dürfen maximal 5 anomale Erythrozyten pro Gesichtsfeld (von etwa 200 gezählten Erythrozyten) vorkommen.

Die Reste von denaturierten RNA-haltigen Zellbestandteilen (endoplasmatisches Retikulum) in den Erythrozyten stellt sich in der Pappenheim-Färbung als basophile Tüpfelung (in den Erythrozyten) dar.

Basophile Tüpfelung ist Ausdruck einer ungenügenden Zellreifung, entweder durch überstürzte Neubildung als Reaktion auf Hämolyse (Retikulozytose) oder durch Fehlbildung der Erythrozyten bei Thalassämie, MDS, Perniziosa oder Bleiintoxikation. Das Auftreten von basophiler Tüpfelung spricht eher für eine Thalassämie als für einen Eisenmangel. Sie ist allerdings nicht spezifisch für die Thalassämie.

Neben basophiler Tüpfelung kommen auch Cabot-Ringe bei Thalassämien vor, sind aber selten. Erythrozytäre Einschlüsse, wie basophile Tüpfelung oder Cabot-Ringe, sind auch bei geringerem Vorkommen immer pathologisch.

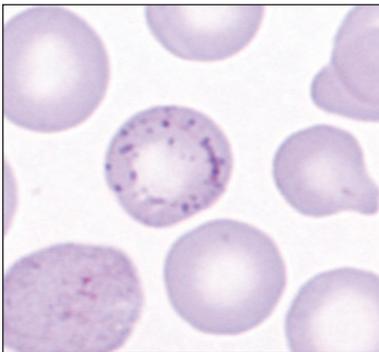


Abb. 2: basophile Tüpfelung

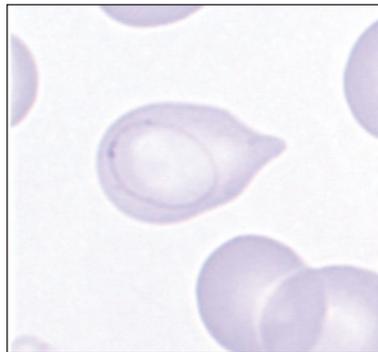


Abb. 3: Cabot-Ring

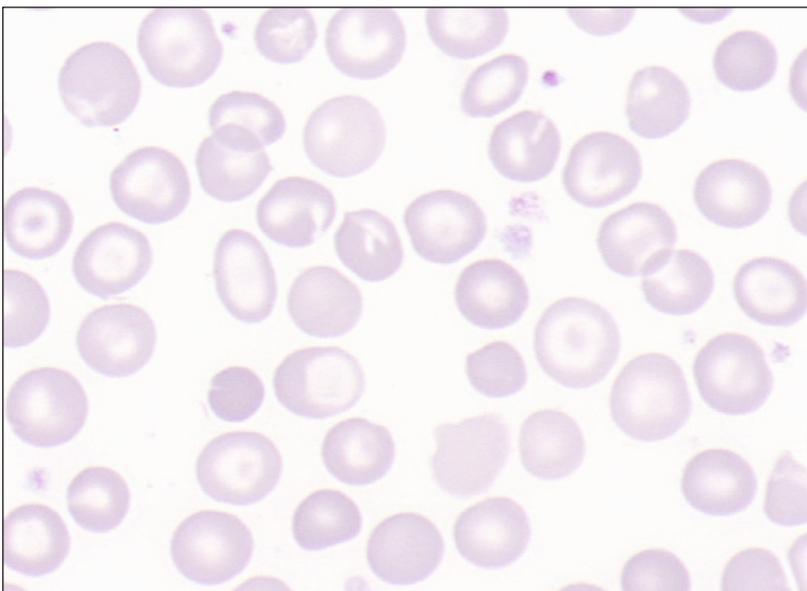
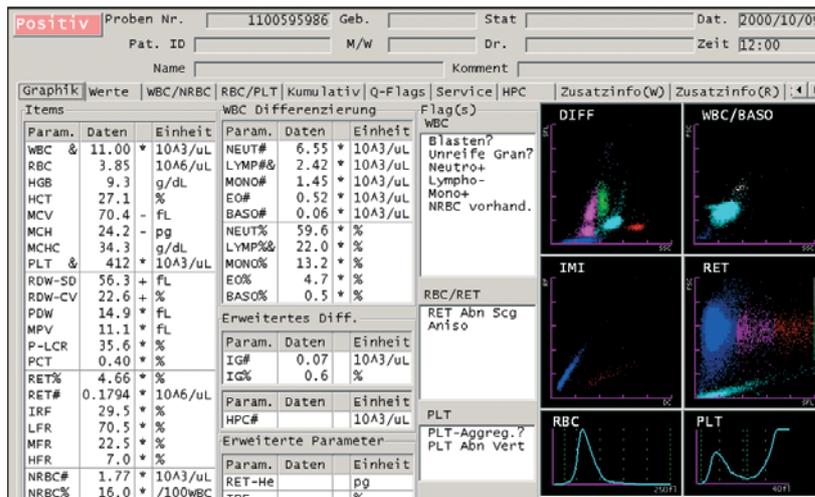


Abb. 4: Blutbild bei Thalassämie

Fallbeispiel



Patient, männlich, 37 Jahre, β -Thalassämie intermedia. Der XE-2100 Befund zeigt eine mikrozytäre Anämie mit normalem MCHC, eine ineffektive Erythropoese (RET / IRF) und das Vorhandensein von Erythroblasten.

Abb. 5: β -Thalassämie intermedia

Am SYSMEX XE-2100 wird in einem separaten Messkanal die Zahl der Erythroblasten mit der Fluoreszenzflowzytometrie bestimmt. Die Erythrozyten werden lysiert und die Leukozyten perforiert und bleiben in ihrer Zellgröße erhalten. Durch die Perforation kann der Fluoreszenzfarbstoff in die Leukozyten eindringen und im Kern und Zytoplasma die DNA und RNA anfärben. Bei den Erythroblasten werden die übriggebliebenen Kerne (DNA) angefärbt. Die Trennung der Populationen geschieht durch das Fluoreszenzsignal (DNA-/RNA-Gehalt) und dem Vorwärtsstreulicht (Volumen).

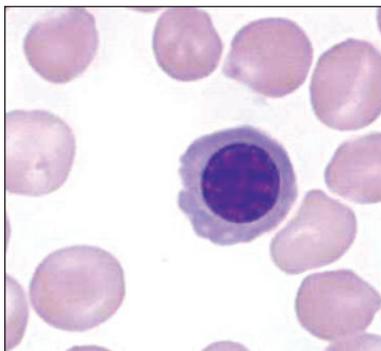


Abb. 6: orthochromatischer Erythroblast (E₅)

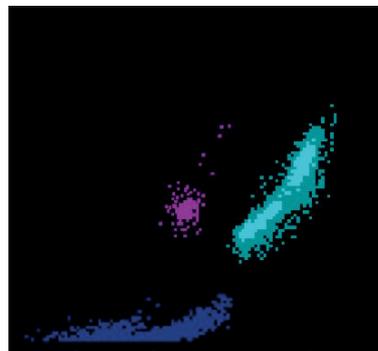


Abb. 7: Kompakte Erythroblastenwolke im Scattergramm (lila)

Die hohe Anzahl an ausschließlich orthochromatischen Erythroblasten (E₅) ist ein Hinweis für eine chronische Anämie.

Das Vorkommen von unterschiedlichen Reifestufen der Erythroblasten (E3, E4, E5) im peripheren Blut spricht häufig für eine akute Steigerung der Erythropoese im Knochenmark und somit eher für eine nicht chronische Anämie.

Therapie

Die Standardtherapie der Thalassämie major besteht aus regelmäßigen Bluttransfusionen (ca. alle 2–4 Wochen). Eines der Hauptprobleme der vielen Transfusionen ist, neben dem Infektionsrisiko, die fortwährende Eisenüberladung des Organismus. Die Fortschritte in der Therapie haben über einen Zeitraum von gut 30 Jahren zu einer wesentlichen Verbesserung der Lebenserwartung und der Lebensqualität der Patienten geführt.

Jahr	Therapieform	Ergebnisse
1960	Transfusionen	Korrektur von Sauerstoffmangelfolgen
1970	Chelatbildner	Eisenüberladung kann kontrolliert werden
1980	Knochenmarktransplantation	Thalassämie kann geheilt werden, wenn ein Spender gefunden wird
Im Jahre 2000	Gentherapie	Sichere Heilung der Thalassämie??

Quellennachweis

Manual zum Mikroskopierkurs Hämatologie 2004 (R. Fuchs, J. Thomalla)

Praktische Hämatologie (Herbert Begemann, Michael Begemann, Thieme)

Sandoz Atlas, Klinische Hämatologie (A.V. Hoffbrand, J.E. Pettit unter Mitarbeit von R.W. Schmidt)

Internet www.thalassaemie.freepage.de (Deutsche Thalassämiehilfe e.V.)

Internet www.de.wikipedia.org/wiki/Hauptseite (Freie Enzyklopädie)

Internet www.fpnotebook.com/HEM82.htm (Family Practice Medicine Resource)

www.sysmex-europe.com/caseforum/ (Sysmex Case Forum)