

Experimentele klinische chemie: met ijzer bruggen bouwen

INAUGURELE REDE DOOR PROF. DR. DORINE W. SWINKELS

Radboud Universiteit Nijmegen



INAUGURELE REDE

PROF. DR. DORINE W. SWINKELS



Een klinisch chemicus onderzoekt lichaamsvloeistoffen zoals bloed en urine om de arts te ondersteunen bij het opsporen en vervolgen van ziekten. In haar oratie laat Dorine Swinkels aan de hand van haar werk aan de ijzerstofwisseling zien hoe in de experimentele klinische chemie met nieuwe fundamentele kennis, nieuwe

laboratoriumtesten worden ontwikkeld, hoe deze vervolgens gevalideerd worden en wat er zoal bij komt kijken om een test uiteindelijk te implementeren in de patiëntenzorg. Zij betoogt dat de laatste jaren tal van genen en eiwitten zijn ontdekt die een rol spelen in de ijzerstofwisseling. Een daarvan, het eiwit hepcidine, blijkt zelfs een sleutelrol te vervullen. Een unieke methode om de hoeveelheid hepcidine in bloed te meten heeft tot nieuwe inzichten geleid in het ontstaan, de opsporing en behandeling van stoornissen van de ijzerstofwisseling, zoals deze optreden bij 's werelds meest voorkomende aandoeningen waaronder bloedarmoede, ijzerstapelingsziekten, maar ook chronische infecties en ontstekingen, zoals malaria, reumatische aandoeningen en nierziekten. Aanvullende translationele studies moeten aantonen dat de hepcidinebepaling inderdaad diagnostische meerwaarde heeft bij deze patiënten.

Dorine Swinkels (1960) studeerde scheikunde (1990, cum laude) en geneeskunde (1992, cum laude) aan de Radboud Universiteit. Ze is sinds 1996 werkzaam als klinisch chemicus, laboratoriumarts en plaatsvervangend hoofd van de Afdeling Klinische Chemie (AKC) van het UMC St Radboud. Haar onderzoek richt zich op een beter begrip van de ijzerstofwisseling en dan vooral de identificatie en karakterisering van nieuwe factoren die een rol spelen bij stoornissen hiervan. Nieuwe bevindingen worden vertaald in nieuwe laboratoriumbepalingen en therapeutische strategieën die kunnen worden geïmplementeerd in de patiëntenzorg.

EXPERIMENTELE KLINISCHE CHEMIE: MET IJZER BRUGGEN BOUWEN

'I am a great believer in luck, and I find the harder I work, the more I have of it'.
Thomas Jefferson (1743-1826, derde president van de Verenigde Staten)

Experimentele klinische chemie: met ijzer bruggen bouwen

Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar Experimentele klinische chemie aan het UMC St Radboud van de Radboud Universiteit Nijmegen op vrijdag 9 januari 2009

door prof. dr. Dorine W. Swinkels

Vormgeving en opmaak: Nies en Partners bno, Nijmegen
Fotografie omslag: Bert Beelen
Drukwerk: Thieme MediaCenter Nijmegen

ISBN 978-90-9024030-5

© Prof. dr. Dorine W. Swinkels, Nijmegen, 2009

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar worden gemaakt middels druk, fotokopie, microfilm, geluidsband of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de copyrighthouder.

*Mijnheer de rector magnificus
Zeer gewaardeerde toehoorders
Lieve familie, vriendinnen en vrienden*

Wist u dat er bijna geen patiënt het ziekenhuis verlaat zonder bloed- of urineonderzoek? Om u een indruk te geven: in het Radboudziekenhuis worden per jaar ongeveer 500.000 patiënten gezien, bij wie drie en een kwart miljoen laboratoriumbepalingen worden gedaan. Wat doen die medisch specialisten met al die uitslagen? Hoe beïnvloedt het hun beleid? En wat doet de klinisch chemicus en waarom is deze zo belangrijk voor de medisch specialist?

Ik wil dat uitleggen aan de hand van een jonge moeder als patiënte. De dokter bespreekt haar klachten en voert lichamelijk onderzoek uit. Zij maakt een lijst van mogelijke aandoeningen en gaat uit van de meest waarschijnlijke. Zij denkt aan bloedarmoede door ijzergebrek. Zij vraagt hemoglobine en een ijzerbepaling in bloed aan. Het bloed wordt in buisjes afgenomen en naar het laboratorium gebracht. De hemoglobinebepaling wordt gedaan op de hematologie-automaat en de ijzerbepaling op de chemie-automaat. De uitslag komt via het digitale laboratoriumsysteem in het digitale ziekenhuissysteem. Beide uitslagen blijken veel te laag. De arts gebruikt deze uitslagen om verder onderzoek naar de oorzaak van de bloedarmoede door ijzergebrek te doen of eventueel een behandeling met ijzertabletten in te stellen.

In dit proces is het de klinisch chemicus die ervoor verantwoordelijk is dat het bloed op de juiste wijze afgenomen en geanalyseerd wordt en dat er rapportage plaatsvindt. In speciale gevallen adviseert de klinisch chemicus de aanvragend arts ook nog bij het aanvragen en interpreteren van testuitslagen. Want het stellen van de goede indicatie en de juiste interpretatie van de testuitslag in het totale klinische beeld maken het verschil tussen een goede en slechte test. Ik kom hier nog op terug.

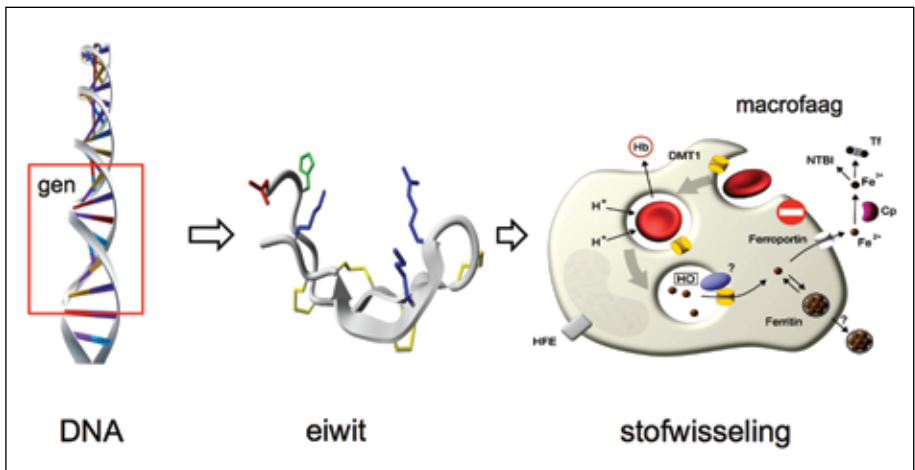
De *experimentele* klinische chemie is een proactieve vorm van klinische chemie. Hier handelt de klinisch chemicus niet op verzoek van de arts, maar is het de klinisch chemicus zelf die experimenteert met moderne technieken om nieuwe inzichten in de fundamentele wetenschappen toe te passen in de geneeskunde.

Ik wil u nu laten zien hoe wij een nieuwe test ontwikkelen, hoe wij deze vervolgens valideren en wat er zoal bij komt kijken om een test uiteindelijk te implementeren in de gezondheidszorg. Ik wil dat doen aan de hand van ons werk aan de ijzerstofwisseling. Met andere woorden, ik wil u laten zien hoe wij met ijzer bruggen bouwen tussen de fundamentele wetenschappen, het klinisch chemisch laboratorium en de kliniek. Ik wil beginnen met de brug tussen fundamenteel onderzoek en het klinisch chemisch laboratorium.

TESTONTWIKKELING EN VALIDATIE

Diagnostiek is van belang voor de patiëntenzorg. Daarvoor zijn betrouwbare testen nodig op grond waarvan artsen met zekerheid uitspraken kunnen doen. In ons laboratorium gebruiken wij fundamentele kennis en nieuwe technieken om nieuwe testen op te zetten.

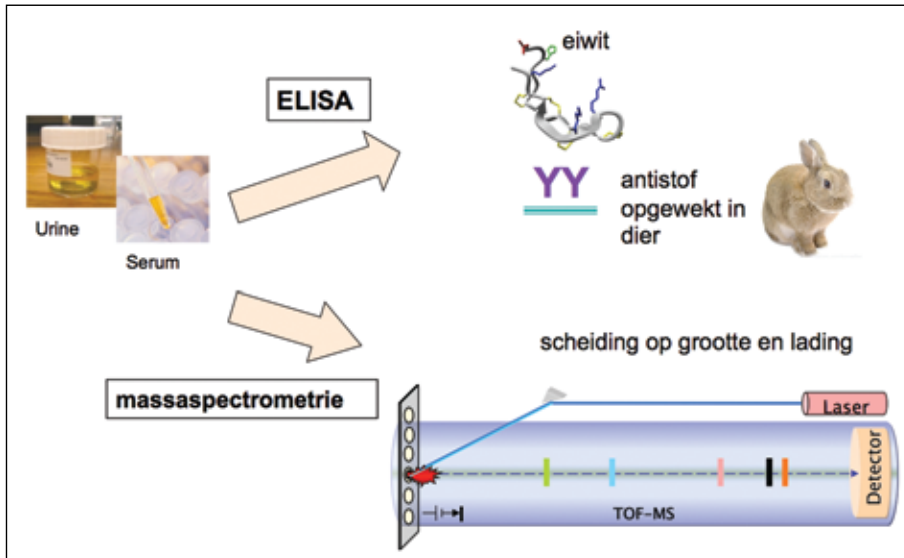
We weten uit het humane genoomproject dat het menselijk DNA 32.000 genen bevat. Van steeds meer genen weten we voor welke eiwit ze coderen en welke rol deze eiwitten spelen in de stofwisseling (figuur 1).



Figuur 1. Van gen, via eiwit naar proces. Ons erfelijk materiaal, het DNA, bevat circa 32.000 genen. Van steeds meer genen weten we voor welke eiwitten ze coderen en welke rol deze eiwitten spelen in de stofwisseling. In het voorbeeld van deze figuur codeert het gen voor het eiwit hepcidine dat de functie van ferroportine, een ijzerexporterend eiwit in de celwand van de opruimercel of macrofaag, remt.

Het meten van de concentratie van een nieuw ontdekt eiwit gebeurt doorgaans met een zogenaamde ELISA-test. ELISA is een afkorting voor een laboratoriumtest die is gebaseerd op de specifieke binding tussen een menselijk eiwit en antistoffen die daartegen zijn opgewekt bij een dier. De concentratie van een eiwit kan tegenwoordig ook gemeten worden met massaspectrometrie, waarbij eiwitten gescheiden worden op grootte en lading (figuur 2).

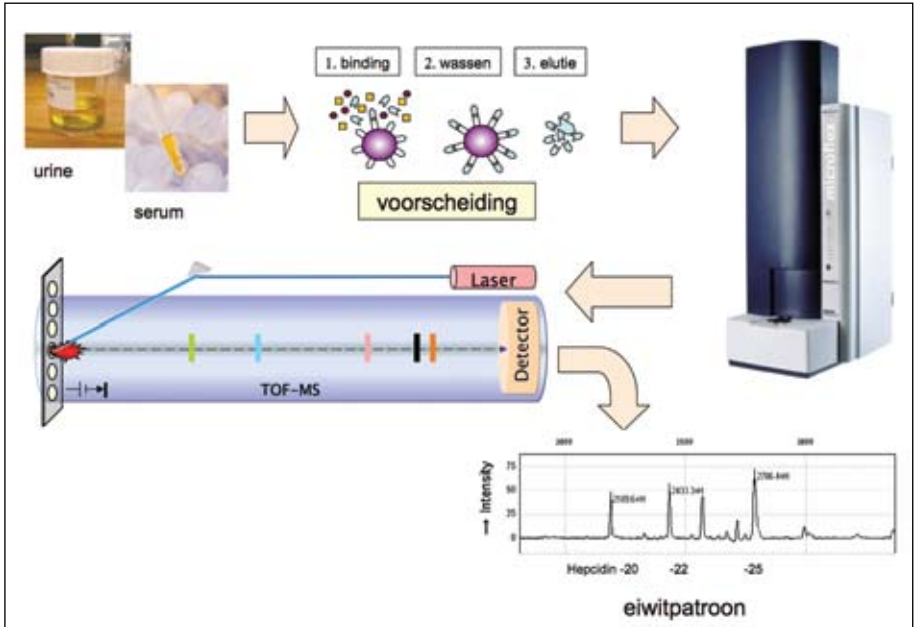
Massaspectrometrie is vooral geschikt voor de identificatie van macromoleculen, bijvoorbeeld eiwitten. Zoals gezegd blijkt dezelfde techniek echter ook in staat om de concentratie te meten van eiwitten in lichaamsvloeistoffen. Dit heeft met name meerwaarde als voor een bepaald eiwit de ELISA niet zo goed werkt. Een voorbeeld is het door de lever gemaakte eiwitje hepcidine, dat rond 2000 door fundamentele wetenschappers



Figuur 2. Principe van meting nieuw ontdekt eiwit in bloed en urine. Het meten van de concentratie van een nieuw ontdekt eiwit, gebeurt doorgaans met een ELISA. ELISA is een afkorting voor een test die is gebaseerd op de specifieke binding tussen een menselijk eiwit en antistoffen die daartegen zijn opgewekt bij een dier. De concentratie kan tegenwoordig ook gemeten worden met massaspectrometrie, waarbij eiwitten worden gescheiden op grootte en lading.

is ontdekt in muizen en mensen. In de jaren daarna werd duidelijk dat het een cruciale rol speelt in de regulatie van de ijzerhuishouding. Op ons laboratorium zijn we er in geslaagd een test voor hepcidine op te zetten met behulp van massaspectrometrie van urine en serum. We gebruiken daarvoor een *time of flight*-massaspectrometer, een methode waarbij, na een voorscheiding, met massaspectrometrie de eiwitpatronen in een monster zichtbaar worden gemaakt (figuur 3).

We hebben nog fors moeten sleutelen aan de bepaling om hem te maken zoals hij nu is: robuust, betrouwbaar, gevoelig en reproduceerbaar. Recent zijn we erin geslaagd, dankzij de expertise van de afdeling Chemische endocrinologie, om ook antistoffen tegen hepcidine in een konijn op te wekken en daarmee een RIA (Radio Immuno Assay) te ontwikkelen, een test die veel lijkt op een ELISA. We hebben nu dus in het UMC St Radboud twee verschillende methoden om hepcidine te meten. Ik kan u met gepaste trots zeggen dat dit uniek is in de wereld. Tot op het moment van vandaag meten we niet alleen voor onze eigen projecten maar via onze website www.hepcidanalysis.com inmiddels voor tientallen projecten uit de hele wereld.



Figuur 3. Hepcidine bepaling met massaspectrometrie. Allereerst wordt het urine- of serummonster verrijkt met hepcidine, door kleine bolletjes toe te voegen die specifiek de eiwitten met een zwak positieve lading (waaronder hepcidine) binden. Vervolgens worden deze eiwitten van de bolletjes gewassen en met behulp van massaspectrometrie gescheiden. Dit resulteert in een eiwitpatroon, waarin de drie vormen van hepcidine zichtbaar zijn.

Voordat een nieuwe bepaling gebruikt kan worden in de patiëntenzorg stroomt er heel wat water door de rivier. De brug tussen klinisch chemisch laboratorium en de kliniek moet dan immers nog worden aangelegd. Met andere woorden, de test moet nog worden gevalideerd. Dat wil zeggen dat de validiteit, het belang, en de toepasbaarheid van de test in de gezondheidszorg dan nog moeten worden vastgesteld.

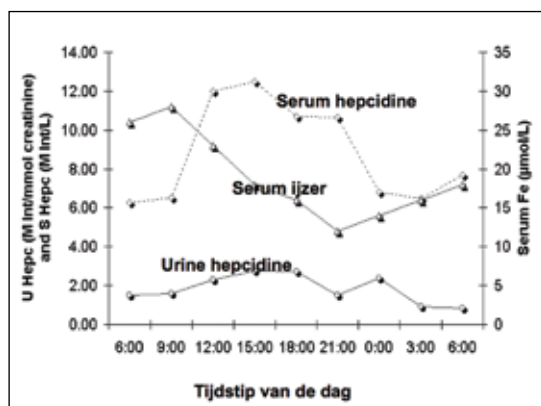
In ons validiteitsonderzoek werd aangetoond dat herhaalde hepcidinemeting van hetzelfde patiëntenmonster telkens nagenoeg dezelfde uitslag gaf. De test is dus reproduceerbaar. Hepcidine bleek daarnaast een dagelijks ritme te kennen met in de ochtend lagere waarden dan laat in de middag (figuur 4). De hepcidineconcentratie bij gezonde mensen werd vastgesteld: de zogenaamde referentiewaarden. We hebben ook een aantal monsters gestuurd naar andere laboratoria in de wereld met een hepcidinetest en verschillen gevonden. Dat belemmert de uitwisselbaarheid van de gegevens. Reden waarom ons laboratorium het voortouw gaat nemen om deze uitslagen wereldwijd te standaardiseren.

Het belang van een test wordt bepaald door zijn waarde voor het vaststellen of vervolgen van ziekten. Ik wil u dat uitleggen aan de hand van een voorbeeld van ons onderzoek in samenwerking met de afdeling Reumatologie. Reumapatiënten hebben vaak bloedarmoede. Dit komt omdat er te weinig ijzer beschikbaar is voor de aanmaak van rode bloedcellen. Daarvoor zijn twee belangrijke oorzaken. De eerste oorzaak is chronische ontsteking. De tweede oorzaak is een tekort aan ijzer in het lichaam. We vonden dat reumapatiënten met bloedarmoede door ijzertekort lagere hepcidinespiegels hadden in vergelijking met patiënten met bloedarmoede door ontstekingsactiviteit. Voor het kwantificeren van het diagnostisch onderscheidend vermogen van de test zijn verschillende parameters beschikbaar. Veel gebruikt zijn de sensitiviteit en de specificiteit van een test. In dit voorbeeld vonden we een sensitiviteit van 86 procent, dat wil zeggen dat 86 procent van de reumapatiënten met bloedarmoede door ijzergebrek ook daadwerkelijk een lage hepcidineuitslag had en dus door de hepcidinebepaling, terecht als 'ijzerdeficiënt' geïdentificeerd wordt. We vonden een specificiteit van 90 procent, dat wil zeggen dat 90 procent van de niet ijzerdeficiënte reumapatiënten inderdaad geen lage hepcidineuitslag had. Hepcidine zou volgens dit onderzoek dus een bruikbare parameter kunnen zijn voor het onderscheid tussen een bloedarmoede door alleen ijzergebrek, waarbij het hepcidine laag is, en bloedarmoede door ontsteking, waarbij het hepcidine relatief hoger is. Dus tussen patiënten die eenvoudig met ijzer behandeld kunnen worden en patiënten waarbij eerst de ontsteking bestreden moet worden.

Na de beoordeling van de validiteit en het belang van de test moet de toepasbaarheid nog in kaart worden gebracht. Hierbij wordt in de eerste plaats gekeken naar de meerwaarde van de nieuwe test ten opzichte van al bekende testen, maar ook naar kosten en

beschikbaarheid. Zo is de hepcidinetest op dit moment nog te duur en, omdat hij op slechts enkele plaatsen in de wereld wordt uitgevoerd, nog te weinig toegankelijk voor de clinicus practicus.

Ik heb u verteld dat de experimentele klinisch chemicus met fundamentele kennis en nieuwe technieken nieuwe testen op kan zetten. Ik heb u uitgelegd dat de validiteit, het belang en de toepasbaarheid van een nieuwe test voldoende onderbouwd moeten zijn voordat de test in de patiëntenzorg kan worden geïntroduceerd. In



Figuur 4. Dagelijks ritme van urine en serumhepcidine. De hepcidineconcentratie in urine en serum is 's morgens lager dan 's middags. De ijzerconcentratie in het serum daalt in de loop van de dag.

het volgende deel wil ik u laten zien hoe wij in ons experimenteel klinisch chemisch laboratorium het afgelopen decennium deze brug van het laboratorium naar de kliniek hebben gebouwd en wat onze verdere plannen zijn. Daarvoor is het nodig dat ik u eerst iets vertel over de ijzerstofwisseling en dat u kennis neemt van het 'ijzervocabulaire'.

BRUG VAN LABORATORIUM NAAR KLINIEK

Ijzerhuishouding

Elk levend organisme heeft ijzer nodig. Ijzer is onze vriend. Ijzer is nodig om zuurstof te vervoeren in de bloedbaan, voor vele chemische omzettingen van het lichaam, de deling van cellen, de energiestofwisseling en het doden van micro-organismen. Maar ijzer is ook onze vijand. Ijzer kan reageren met zuurstof waardoor het gemakkelijk met allerlei andere stoffen in het lichaam reageert en deze beschadigt. Om optimaal te profiteren van het ijzer zonder er schade van te ondervinden, is er een ingenieus samenspel van ijzertransport, -opslag en regelmechanismen: de ijzerhuishouding.

Het lichaam springt zuinig om met ijzer. De kringloop van ijzer is daarom vrijwel gesloten. Het menselijk lichaam bevat 3000-4000 milligram ijzer. Normaal gaat per dag slechts 1 milligram ijzer verloren. Dit verlies wordt aangevuld vanuit de darm, waar het uit het voedsel wordt opgenomen. Verreweg het meeste ijzer zit in het hemoglobine van de rode bloedcel en wordt gebruikt voor transport van zuurstof in het bloed. In het beenmerg wordt het ijzer ingebouwd in de rode bloedcel. Deze rode bloedcellen worden als ze ongeveer 120 dagen oud zijn door de opruimercellen of wel macrofagen in de milt en lever uit de bloedsomloop gehaald en afgebroken. Het ijzer wordt dan uit de rode bloedcellen vrijgemaakt. Het bereikt dan via de bloedsomloop weer het beenmerg, waar het opnieuw wordt ingebouwd in een jonge generatie rode bloedcellen (figuur 5).

Te veel vrij ijzer kan schadelijk zijn. Daarom wordt het vrije ijzer in de bloedbaan onmiddellijk gebonden aan het eiwit transferrine. Normaal is 15-40 procent van dit transferrine verzadigd met ijzer. In de weefsels wordt ijzer opgeslagen in het eiwit ferritine. Als de hoeveelheid ijzer in het lichaam toeneemt, dan neemt ook de hoeveelheid ferritine toe. Omdat de weefsels altijd wat lekken wordt het ferritine ook in het bloed gevonden. De hoeveelheid ferritine is meestal een goede maat voor de hoeveelheid ijzer in het lichaam.

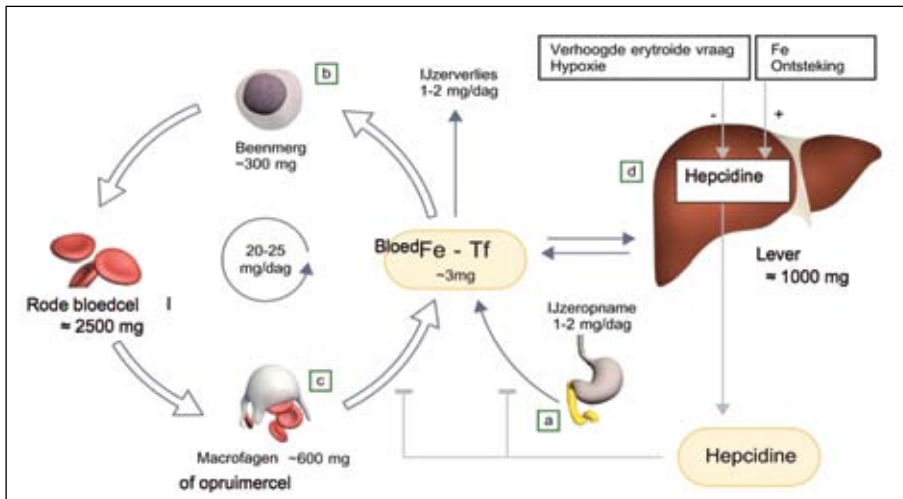
Bij het transport en opslag van ijzer zijn eiwitten betrokken, vele daarvan zijn pas de laatste jaren ontdekt. Volgens mij leven we dan ook in een nieuw ijzeren tijdperk. Een van deze recent ontdekte eiwitten, het hepcidine, blijkt nu een sleutelrol te spelen in de ijzerhuishouding. Het wordt vooral gemaakt in de lever en aan het bloed afgegeven. Het remt dan het eiwit ferroportine, de enige ijzeruitgang van de cel, en dan vooral die van de macrofagen en de darmcellen. Het gevolg is dat er minder ijzer in het bloed komt. Dus hoe *meer* hepcidine, hoe *minder* ijzer er uit de macrofagen en de darm het bloed in komt en dus hoe lager het bloedijzergehalte wordt.

Bij goed gevulde ijzervoorraden leidt meer hepcidine er dus toe dat er minder ijzer uit de voeding wordt opgenomen. Bij een ijzertekort of bij een sterk toegenomen behoefte

aan ijzer voor de bloedaanmaak zorgt een afname van het hepcidine er voor dat de opname van ijzer toeneemt. De ijzerresorptie in de darm wordt zo aangepast aan de behoefte van het lichaam.

Aandoeningen van de ijzerhuishouding

Ik heb u tot nu toe geschetst hoe het er normaal aan toe gaat in de ijzerhuishouding, maar er kan ook van alles misgaan, dan ontstaan er ziekten. Deze ziekten van de ijzerhuishouding kunnen grofweg in drie groepen worden onderverdeeld: 1. te weinig ijzer, 2. te veel ijzer en 3. een abnormale verdeling van het ijzer over het lichaam.



Figuur 5. De ijzerstofwisseling in grote lijnen.

De grootste verplaatsing van ijzer treedt op bij het hergebruik van ijzer uit verouderde rode bloedcellen vanuit de opruimercellen ofwel macrofagen naar inbouw in de voorlopers van de rode bloedcel. De waarden bij de verschillende weefsels en verplaatsingen zijn gemiddelden. In de lever en macrofagen vindt de meeste ijzeropslag plaats. Slechts 1-2 milligram ijzer wordt ieder dag geabsorbeerd en verloren. De totale hoeveelheid ijzer in het lichaam kan alleen door absorptie gereguleerd worden, terwijl ijzerverlies alleen passief optreedt door verlies via huid en slijmvliezen of door bloedverlies. Hepcidine, een eiwit afgescheiden door de lever, houdt de serumijzerconcentratie in evenwicht door de ijzerexport vanuit de darm en de macrofagen door het eiwit ferroportine te remmen. Als gevolg daarvan leidt een toename in de hepcidineproductie tot een afname in de serumijzerconcentratie. De hepcidineaanmaak neemt toe bij hogere voorraad van het lichaamsijzer (Fe) en door ontsteking en infectie en neemt af bij zuurstofgebrek (hypoxie) en een hogere aanmaak van rode bloedcellen (erytroïde vraag). A, B, C en D, staan voor respectievelijk darm, beenmerg, macrofagen en de lever. Fe, ijzer; Tf, het eiwit transferrine. In het bloed bindt ijzer aan het transferrine.

Bij een tekort aan ijzer ontstaat bloedarmoede ofwel anemie, net als bij de patiënte in de introductie van mijn verhaal. Het is de meest voorkomende gebreksziekte in de wereld en wordt vooral veroorzaakt door een tekort aan ijzer in de voeding en door chronisch bloedverlies. Een ontoereikende voeding komt het meeste voor bij jonge kinderen en pubers, en zwangeren en bij sociaal zwakkere bevolkingsgroepen, met name in de ontwikkelingslanden. Menstruerende vrouwen verliezen per maand ongeveer 30 milligram ijzer, waardoor per dag 1 milligram ijzer extra uit de voeding gehaald moet worden. Bij een heftige menstruatie leidt dit al snel tot een ijzergebreksanemie.

Onder de microscoop zijn de rode cellen nu wisselend van grootte, maar vooral kleiner. Ze zijn ook lichter van kleur doordat ze minder hemoglobine bevatten. De klachten en symptomen bij ijzergebrek zijn waarschijnlijk het gevolg van zuurstofnood in de weefsels en zijn niet erg specifiek: moeheid, gebrek aan energie, een bleke huidskleur en hoofdpijn. Het is aangetoond dat gebrek aan ijzer in de eerste jaren van het leven leidt tot een significante lagere intelligentie. U kunt zich voorstellen dat dit vooral voor de ontwikkelingslanden een groot probleem is.

Ijzergebrek is gemakkelijk te behandelen met ijzertabletten. Dus iedereen in Afrika maar extra ijzer geven en klaar is Kees? Het is helaas wat complexer, met name in gebieden waar veel malaria voorkomt. Het blijkt dat hier, door toediening van ijzer, meer infecties voorkomen en de totale ziektelast toeneemt. Malaria en ijzergebrek staan hoog op de agenda van de wereldgezondheidsorganisatie en sponsors zoals de Bill & Melinda Gates foundation.

Ons experimenteel klinisch chemisch laboratorium wil in de toekomst niet alleen bijdragen aan de oplossing van veel voorkomende ijzergebreksanemieën in de derde wereld, maar ook met behulp van onder andere hepcidineanalyses zeldzame oorzaken van ijzergebreksanemie ontrafelen die meestal binnen één familie voorkomen. Zo hebben we op ons laboratorium in het najaar van 2008, de oorzaak van ijzergebrek bij een Nederlandse patiënte kunnen verklaren door een weeffout te ontdekken in een gen *TMPRSS6* coderend voor het eiwit matriptase-2, waarvan pas net bekend is dat het een cruciale functie heeft in de ijzerstofwisseling. Deze familie weet nu beter waar ze aan toe is, en de dokter heeft een betere leidraad voor de behandeling.

Er is een aantal ziekten dat gepaard gaat met een *overmaat aan ijzer*: ijzerstapeling, ofwel hemochromatose. Teveel ijzer is toxisch en leidt tot uitval van vitale organen, zoals de lever en het hart. Hemochromatose kent 2 hoofdvormen: primaire en secundaire vormen. De primaire of wel erfelijke hemochromatose wordt veroorzaakt door defecten in genen die coderen voor eiwitten die direct betrokken zijn bij het handhaven van de ijzerbalans in de cellen en het lichaam. De secundaire vorm van hemochromatose kent meerdere oorzaken, zoals familiale stoornissen in de aanmaak van hemoglobine, waaronder de thalassemieën en sikkelcelanemie, waarbij vaak bloedtransfusies moeten worden gegeven. Er zijn ook verworven stoornissen in de aanmaak van rode bloedcellen die ijzer kunnen gaan stapelen. Ik wil hier met name het myelodysplastisch syndroom

noemen, een vaak kwaadaardige aandoening van het beenmerg van vooral de oudere mens. Samen met de afdeling Hematologie hebben we ambitieuze plannen gemaakt om de rol en de betekenis van ijzertoxiciteit bij de behandeling van het myelodysplastisch syndroom in kaart te brengen en de defecten in de ijzerstofwisseling van deze patiënten te ontrafelen. In de hoop dat het nieuwe strategieën oplevert voor diagnostiek en behandeling van deze patiënten.

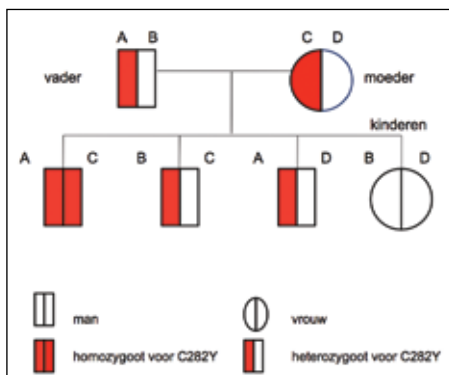
Ik wil nu verder ingaan op de primaire vorm van hemochromatose. Primaire hemochromatose is een erfelijke stoornis waarbij door een te laag hepcidine in de darm levenslang meer ijzer uit de voeding wordt opgenomen dan het lichaam nodig heeft. Het overtollige ijzer wordt gestapeld in organen en gewrichten. De functie van deze organen zal daardoor op den duur gestoord raken. Patiënten presenteren zich nogal eens met moeheid, gewrichtsklachten en soms ook met een leververgroting. Dit beeld is weinig specifiek en kan eenvoudig verward worden met veel voorkomende aandoeningen, waaronder bijvoorbeeld arthrose en alcoholmisbruik. Andere klachten treden pas op wanneer al aanzienlijke schade aan de organen is opgetreden. Deze zijn: suikerziekte, onvruchtbaarheid, een bruine verkleuring van de huid, hartritme stoornissen en hartzwakte. Indien er leververbindingweefseling of wel levercirrose is opgetreden, dan bestaat er een kans van 20 procent op leverkanker.

Hereditaire hemochromatose is in de westerse wereld een veel voorkomende erfelijke ziekte. In 1996 werd al beschreven dat bij meer dan 80 procent van de patiënten de ijzerstapeling veroorzaakt wordt door een weeffout of wel mutatie in het hemochromatose- ofwel *HFE*-gen, die leidt tot een verandering in het *HFE*-eiwit, de zogenoemde C282Y-mutatie. Later is gevonden dat in zeer zeldzame gevallen de ziekte ook kan worden toegeschreven aan mutaties in andere genen.

Eén op de 200 tot 400 personen van Noord-Europese afkomst heeft de C282Y mutatie in het *HFE*-gen van beide ouders gekregen (figuur 6). Zij zijn homozygoot en kunnen ijzer gaan stapelen en klachten en verschijnselen krijgen (figuur 7). Indien de diagnose hemochromatose bij hen in een vroeg stadium gesteld wordt, zijn praktisch alle complicaties te voorkomen met regelmatig aderlaten, waardoor het te veel aan ijzer met het afvoeren van de rode bloedcellen wordt genormaliseerd. In 2009 gaat het aderlaten wel wat minder ruig dan bij de chirurgijn van weleer (figuur 8). In feite is de procedure precies dezelfde als bij een bloeddonatie bij de bloedbank. Maar het



Figuur 6. Prevalentie van de C282Y mutatie in het hemochromatose (*HFE*)gen in de bevolking. 1 op de 200-400 personen van Noord-Europese afkomst is homozygoot voor de C282Y-mutatie, een weeffout in het hemochromatose (*HFE*-) gen. Zij hebben de mutatie zowel van hun moeder als van hun vader gekregen.



Figuur 7. Overerving van de C282Y mutatie in het hemochromatose (*HFE*)gen. Van elk gen zijn meerdere uitvoeringen mogelijk. In deze figuur zijn deze weergegeven als de allelen A,B,C en D. Als een individu voor een bepaald gen twee gelijke allelen heeft, dan noemt men hem of haar homozygoot voor dat allel. Als het individu twee verschillende allelen heeft, noemt men hem of haar heterozygoot. Als beide ouders heterozygoot zijn voor de C282-mutatie, is de kans dat zij een kind krijgen dat i) ook heterozygoot is 50 procent, ii) homozygoot is 25 procent en iii) de mutatie niet heeft 25 procent.

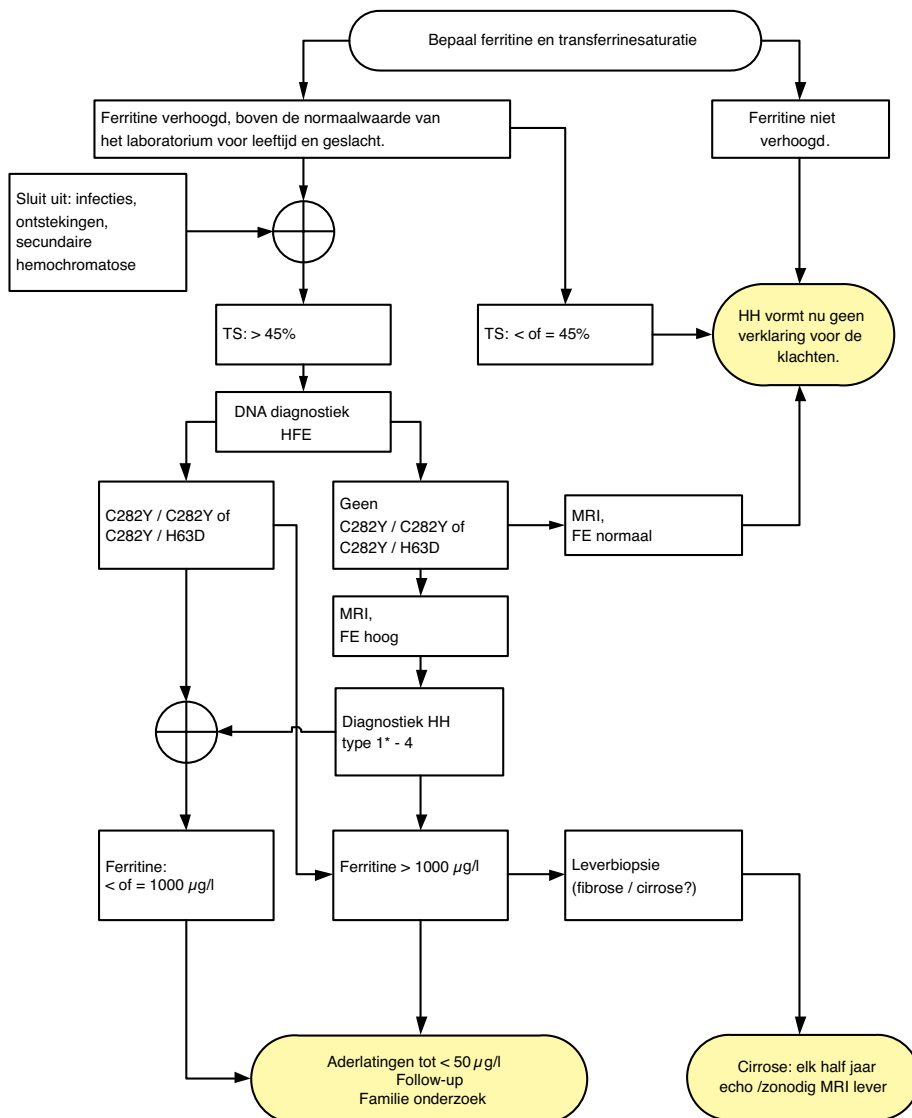
is nogal wat. Sommige patiënten hebben al zoveel ijzer gestapeld op moment van diagnose, dat ze een heel jaar lang elke week een halve liter bloed afgeven om weer een normaal ijzer te krijgen. Daarna hebben ze vaak nog levenslang enkele aderlatingen per jaar nodig om het ijzergehalte van het lichaam normaal te houden. Aderlaten is simpel, relatief goedkoop en heeft weinig bijwerkingen.

We hadden dus vlak na de ontdekking van het *HFE*-gen in 1996 te maken met een veel voorkomende erfelijke mutatie, waar je ziek van werd en zelfs aan kon overlijden, maar waarvan de eerste klachten vaak vaag zijn en dus lastig vroegtijdig te diagnosticeren bleken. Na 2002 werd langzaam duidelijk dat maar 1 tot 20 procent van de mensen met C282Y-homozygotie er ook ziek van werden. We noemen dat een erfelijke aandoening met een zeer wisselende penetrantie.

Tien jaar geleden hebben we op ons laboratorium een DNA-test opgezet om de C282Y-mutatie in het *HFE*-gen te detecteren. De validiteit en het belang van de test stonden niet ter discussie, de toepasbaarheid des te meer. De brug van laboratorium naar kliniek had te weinig fundament. Moest de test vooral ingezet worden bij patiënten met klachten die bij hemochromatose zouden kunnen passen? Of moest de hele bevolking gescreend worden op de C282Y-mutatie of alleen familieleden van patiënten waarbij de diagnose hemochromatose al was gesteld?



Figuur 8. Aderlaten in een chirurgijnwinkel. Aderlating door Egbert I of II van Heemskerck (1610-1680). Olieverf op Canvas, 45,7-51,4 cm. Ongedateerd en ongesigneerd. London: Wellcome Library. Collectienr.: V0017551



Figuur 9. Stroomdiagram voor de diagnostiek van erfelijke hemochromatose met daarin de plaats voor de C282Y-bepaling. Dit diagram maakt onderdeel uit van de multidisciplinaire richtlijnen 'Diagnose en behandeling van erfelijke hemochromatose' (mei 2007).

We hadden dus als laboratorium de verantwoordelijkheid om ervoor te zorgen dat de C282Y-bepaling de juiste plaats in het diagnostisch proces zou krijgen. Enerzijds moesten symptomatische patiënten die de aandoening erfelijke hemochromatose echt hebben tijdig worden gevonden en behandeld met aderlaten. Anderzijds moest worden voorkomen dat patiënten met soortgelijke klachten ten onrechte het label hemochromatose kregen opgeplakt.

Over de genetische complexiteit, de juiste diagnostische procedures en de behandeling van erfelijke hemochromatose hebben we gepubliceerd in nationale en internationale medische en klinisch chemische tijdschriften. In mei 2007 is tevens de landelijke richtlijn 'Diagnose en behandeling erfelijke hemochromatose' verschenen, gefinancierd door de Orde van Medisch Specialisten, geïnitieerd door de Verenigingen voor klinische chemici (NVKC) en de internisten (NIV) (figuur 9). Onder mijn voorzitterschap hebben vertegenwoordigers van dertien verschillende disciplines uit de geneeskunde hier ruim twee jaar aan gewerkt. Helaas omvatte het budget van de Orde geen gelden om het gebruik van de richtlijnen te bevorderen en te verspreiden onder de medisch specialisten, als gevolg van bezuiniging van het huidige kabinet Balkenende. Waar dit toe leidt? Op onze hemochromatose polikliniek hebben we patiënten als *second of third opinion* gezien waarbij eerder elders de diagnose hemochromatose gesteld is, die het echt niet hebben. Een groot deel van hen drinkt te veel alcohol, is te dik, of heeft suikerziekte. Deze aandoeningen gaan nogal eens gepaard met leverschade, waardoor soms wat te hoge serumijzerparameters worden gevonden, maar dan niet zo zeer door echte ijzerstapeling. Deze patiënten moeten dus in eerste instantie geen aderlating krijgen maar hun levensstijl veranderen, afvallen en stoppen met drinken.

De jaren na de ontdekking van het HFE-gen propageerden alle hemochromatosespecialisten bevolkingsscreening. Het was immers een veel voorkomende potentieel dodelijke aandoening die, indien tijdig ontdekt, goed behandeld kon worden. Toen echter later bleek dat maar een klein percentage van alle homozygoten ook daadwerkelijk ziek werd, ging de aandacht uit naar familiescreening als dé manier om individuen met de aandoening vroeg op te sporen. Dat was alleen nog niet echt aangetoond. Daarom zijn we gefinancierd door ZonMW, de HEmochromatose FAmilie Studie (HEFAS-studie) gestart, een studie op vijf plaatsen in Nederland onder 224 Nederlandse patiënten en hun 735 familieleden.

In dit onderzoek bleek inderdaad dat er in deze families meer aan hemochromatose gerelateerde aandoeningen voorkwamen dan in de algemene Nijmeegse bevolking. Ook vonden we dat de oudere C282Y-homozygote mannen uit de families van de indexpatiënt met de hoogste ijzerwaarden in het bloed, de grootste kans hadden om ijzer te stapelen en om verschijnselen van hemochromatose te krijgen. Zij vormen dus een risicogroep.

Een ander al eerder genoemd probleem in de vroegdiagnostiek bij hereditaire hemochromatose is de wisselende klinische penetrantie: gaat een individu met de erfelijke aanleg in de toekomst ook daadwerkelijk ijzer stapelen en klachten ontwikkelen? Daarom houden we nu iedereen die homozygoot is voor de C282Y- mutatie onder controle. De

komende jaren hopen we uit te zoeken of het hepcidinegehalte een goede voorspeller is voor het uiteindelijk optreden van ziekte bij deze patiënten.

Samengevat heeft ons experimenteel klinisch chemisch laboratorium op basis van nieuwe bevindingen in de fundamentele wetenschappen tien jaar geleden een nieuwe DNA-test in het laboratorium geïmplementeerd, en deze in Nederland een plaats gegeven in de gezondheidszorg. De komende jaren wil ik ook bijdragen aan internationalisering van de richtlijnen. Met HEFAS hebben we de factoren geïdentificeerd waarmee we binnen deze families de risicogroepen op kunnen sporen. Ik wil binnenkort met de Nederlandse hemochromatosedeskundigen, en de beleidsmakers om de tafel gaan zitten om naar voorbeeld van de Stichting Opsporing Erfelijke Hypercholesterolemie (de STOEH) een centrale familiescreening in ons land ook voor erfelijke hemochromatose vorm te geven.

Naast een tekort aan ijzer en een overmaat aan ijzer in het lichaam kan het ijzer ook niet goed verdeeld zijn binnen het lichaam. De laatste jaren is gevonden dat een verhoogde hepcidineproductie een belangrijke oorzaak is van deze verdelingsstoornis. Bij verhoogde hepcidinespiegels kan het ijzer immers niet goed uit de macrofagen worden vrijgemaakt, het ijzergehalte in het bloed is daardoor laag en er is weinig ijzer beschikbaar voor de aanmaak van rode bloedcellen. Er treedt daarom bloedarmoede of anemie op, zonder gebrek aan lichaamsijzer. We spreken van een anemie van de chronische ziekten. Dit treedt op bij enkele veel voorkomende aandoeningen, zoals chronische infecties en ontstekingen, reuma en nierziekten. Onze experimenten samen met de afdeling Intensive care toonden dit voor het eerst bij mensen aan. In dit onderzoek werden gezonde studenten ingespoten met een stof uit de celwand van bacteriën, namelijk LPS (lipopolysaccharide). We zagen de hepcidineproductie toenemen, gevolgd door een afname van het ijzer in het bloed. Dit jaar starten we samen verder onderzoek, waarbij we de invloed van infectie op de ijzerstofwisseling en omgekeerd op meer fundamenteel niveau verder gaan uitzoeken.

Recent vonden we in een samenwerking met de internist-infectiologen in een veldstudie in Tanzania dat kinderen met acute malaria ook hoge hepcidine- en lage ijzerspiegels hebben, die duidelijk normaliseerden na behandeling van de malaria. Dit laatste heeft ons geleerd dat het weinig zin heeft om ijzer te geven aan deze kinderen in de acute fase, ook al hebben ze bloedarmoede. Het ijzer komt toch niet in het bloed. Hepcidine kan dus een biomarker zijn om te bepalen welke kinderen wel en welke geen baat hebben bij een behandeling met ijzer. Meerdere subsidieaanvragen zijn en zullen worden ingediend, onder andere bij de Gates Foundation. Hierin willen we in multidisciplinair samenwerkingsverband enkele van onze veelbelovende resultaten verder gaan uitwerken. Dit betreft ook het mechanisme waarom patiënten met malaria extra gevoelig zijn voor sommige bacteriële infecties.

Ook bij nierziekten is een chronische ontsteking een belangrijke oorzaak van bloedarmoede. We vermoeden dat ook hier een te hoog hepcidine een rol speelt. Bovendien krijgen nierpatiënten met bloedarmoede nogal eens EPO toegediend om hun meestal lage

hemoglobine te verhogen. Er zijn echter aanwijzingen dat continu EPO geven zonder voldoende stijging van het hemoglobine kan leiden tot meer ziekte en zelfs sterfte. We gaan daarom onderzoeken of hepcidine een goede parameter is om te voorspellen welke patiënten baat hebben bij EPO en welke niet. Het zal u niet verbazen dat de EPO-producenten erg geïnteresseerd zijn.

In zijn zogenoemde ijzerhypothese stelde de Amerikaan Jerome Sullivan al in 1981 dat er een relatie is tussen een overmaat aan ijzer en hart- en vaatziekten. Ik vermoed dat een verkeerde verdeling van het ijzer verantwoordelijk is voor deze relatie. Zo zou mijns inziens fors overgewicht kunnen leiden tot een lichte maar chronische vorm van ontsteking, met als gevolg dat de macrofagen ijzer vasthouden. De met ijzer geladen macrofagen in de bloedbaan scheiden stoffen uit die aderverkalking bevorderen. Ik hoop dit in de nabije toekomst samen met de vasculaire geneeskunde uit te zoeken.

Als het goed is duizelt het u inmiddels. Dat is niet zo erg, als u maar onthoudt dat ik samen met mijn collegae al enkele ijzeren bruggen gebouwd heb, dat er veel in de steigers staan en er nog veel meer in de ontwerpfasen zijn.

Deze bruggen verbinden verschillende disciplines en onderzoeksinstituten. Ze gaan over grenzen. Daar liggen immers bij uitstek de mogelijkheden. Bestuurders worden soms wel wat onrustig van dit soort grensoverschrijdend onderzoek. Het is immers wat lastig in te delen en daarom ook moeilijker te besturen.

Ik wil nog twee belangrijke factoren noemen waarvan ik denk dat ze de ijzeren brug van laboratorium naar kliniek zullen versterken, te weten de biobank en de laboratorium-artsen.

DE BIOBANK

Wist u dat de bloed- en DNA-monsters in onze diepvriezers, van gezonde individuen en van patiënten met diverse aandoeningen, goud waard zijn om nieuwe testen te valideren? En dat klinisch chemische laboratoria veel ervaring hebben met afname, verwerking, opslag en geautomatiseerde administratie van lichaamsvochten?

Onze afdeling heeft in samenwerking met de afdelingen Epidemiologie, Endocrinologie en Antropogenetica fors geïnvesteerd in een dergelijke biobank, te weten de Nijmeegse Biomedische Studie (NBS). Voor deze studie hebben we 22.000 Nijmegenaren gevraagd een uitgebreide vragenlijst in te vullen en bloed te geven voor DNA en serum. Ook in het kader van de Europese studie POLYGENE hebben we de epidemiologen ondersteund bij het opslaan en administreren van het DNA van duizenden patiënten met verschillende vormen van kanker uit Nijmegen en omstreken. Het waren en zijn kunststukjes die nog al eens worden onderschat. Met deze verzamelingen hebben we bijgedragen aan de ontdekking van de samenhang van veranderingen op specifieke locaties van het chromosomale DNA met aanleg voor kanker van borst, prostaat en blaas, maar ook voor diabetes, oogkleur en lengte. De komende jaren proberen we voor nog veel meer aandoeningen de samenhang met ons erfelijke materiaal vast te stellen. We zoeken ook naar de samenhang met ijzerwaarden in het bloed.

In NBS hebben we verder gezien dat mensen met een combinatie van overgewicht, hoge bloeddruk en suikerziekte, verhoogde bloedgehalten hebben van hepcidine en sommige andere ijzerindices. Het belang van deze bevindingen voor de patiëntenzorg gaan we binnenkort verder onderzoeken.

MEER LABORATORIUMARTSEN

De klinische chemie wordt in Nederland uitgeoefend door laboratoriumartsen en klinisch chemici. De laboratoriumartsen hebben de geneeskundestudie als vooropleiding en de klinisch chemici hebben een natuurwetenschappelijke vooropleiding. Ikzelf sta zowel als klinisch chemicus als als laboratoriumarts geregistreerd, maar daarin ben ik een uitzondering.

De sluiting van het opleidingsregister van laboratoriumartsen in 2000 heeft tot gevolg dat binnenkort in de Nederlandse klinisch chemische laboratoria geen medisch specialist meer werkzaam zal zijn. U zult begrijpen dat ik dit een slechte zaak vind, want de stormachtige ontwikkelingen in de basale wetenschappen vragen om een discipline laboratoriumgeneeskunde die een brug kan slaan van het klinisch chemisch laboratorium naar de patiëntenzorg. Laboratoriumgeneeskunde dient daarom in mijn ogen beoefend te worden in teams, die bestaan uit zowel laboratoriumartsen als klinisch chemici. Daarbij spreekt de laboratoriumarts meer de taal van de kliniek, en de klinisch chemicus vaak beter de taal van de chemische analyse en de fundamentele wetenschappen. Laboratoriumartsen en klinisch chemici zijn dus complementair aan elkaar. Helaas bestaan er door de verhouding van één laboratoriumarts op tien klinische chemici nog maar weinig van deze teams.

Geachte toehoorders, ik heb u een kijkje achter de schermen van de experimentele klinische chemie willen geven aan de hand van de ijzerstofwisseling. Ik heb laten zien hoe wij nieuwe testen ontwikkelen, op basis van nieuwe ontdekkingen in de fundamentele wetenschappen. Hoe wij vervolgens deze testen valideren voor toepassing in de patiëntenzorg. Hoe wij bruggen hebben gebouwd met de kliniek, welke bruggen er in de steigers staan en dat er nog veel meer op de tekentafel liggen – want ijzer lijkt een rol te spelen bij veel meer aandoeningen dan alleen bij de bloedarmoede door ijzergebrek van de jonge patiënte aan het begin van deze rede.

DANKWOORD

Dames en heren, aan het einde van mijn rede gekomen, wil ik in de tijd die mij rest nog een aantal mensen bedanken. Immers, diverse mensen hebben bijgedragen aan mijn vorming en bijna alles wat ik doe en u vandaag verteld heb, is teamwerk. De beperkte tijd maakt het onmogelijk allen die hieraan hebben bijgedragen te noemen. Diegene die ik niet noem zal ik op een ander moment persoonlijk bedanken.

Op de eerste plaats gaat mijn dank uit naar het stichtingsbestuur en het college van bestuur van de Radboud Universiteit Nijmegen en naar de Raad van Bestuur van het umc St Radboud voor het in mij gestelde vertrouwen.

De basis van mijn carrière ligt in mijn promotieonderzoek, mijn studies scheikunde en geneeskunde en mijn opleiding tot arts klinisch chemicus. Hooggeleerde van 't Laar, Veerkamp, Stalenhoeve en zeer geleerde Demacker, dank voor het warme nest tijdens mijn promotieonderzoek op het lab interne geneeskunde. Deze tijd is voor mij een rijke voedingsbodem geweest voor het ontwikkelen en implementeren van klinische chemische testen in de jaren daarna.

Hooggeleerde Hilbers en Tesser, na een promotie met veel biochemie moest ik van de scheikundestudiecoördinator voor mijn doctoraalstage nu maar eens echte scheikunde bedrijven. Mede door jullie inspirerende begeleiding is me dat eigenlijk best goed bevallen. Inmiddels doen we NMR (Nuclear Magnetic Resonance spectroscopie) aan hepcidine en denken we na over de organische synthese van ijzerchelatoren om ijzer in de diverse celorganellen zichtbaar te maken.

Hooggeleerde Willems, beste Hans, dank voor alle ruimte, onmisbare steun en vertrouwen gedurende al mijn jaren op de afdeling klinische chemie om het onderzoek van de afdeling vorm te geven.

Hooggeleerde Marx, beste Jo, Jij hebt voor mij de deur geopend door mij in de internationale ijzerwereld geïntroduceerd. Dank je wel. Het is een eer om in jouw voetsporen te mogen treden als Nederlandse biomedische ijzerdeskundige.

Ik wil graag de medewerkers van de afdeling klinische chemie bedanken. Mijn collegae klinisch chemici, Beste Jacqueline en Edmée dank jullie voor het opvangen van de patiëntenzorg, waarmee jullie mij de ruimte hebben gegeven om onderzoek te doen.

Zeergeleerde Tjalsma, beste Harold, Jij bent mijn labmaatje in voor- en tegenspoed, mede dankzij jou hebben we met het kenniscentrum van de Afdeling Klinische Chemie (AKC) de laatste jaren forse slagen kunnen maken. Ik heb vandaag niet gesproken over onze tweede hobby, de relatie tussen bacteriële infecties en dikkedarmtumoren. Gelukkig heb je me beloofd daar jouw rede in 2019 aan te wijden.

De medewerkers van het kenniscentrum: van de grond af iets opbouwen is een lastige klus. Het is dankzij jullie dat dit ons toch gelukt is. Ik prijs me gelukkig dat ik zo'n mooi, divers en loyaal team mag aanvoeren.

Mijn collegae medisch specialisten, jullie enthousiasme voor de ijzerstofwisseling en inzet om de defecten hierin op te sporen bij jullie patiënten maakt de experimentele klinische chemie echt de moeite waard. Ik dank jullie voor de inspirerende samenwerking.

HEFAS-team, We hebben er samen hard aangewerkt sinds 2002 en dit project wordt nog mooier de komende jaren.

Mijn biobankcollega, ik zei het al eerder, we hebben met NBS en POLYGENE een kunststukje geleverd. Ik draag nu graag bij om ook het hoog hangend fruit te plukken.

De vele Radboudlaboratoria en -faciliteiten waar wij de afgelopen jaren te gast zijn geweest, dank voor jullie vaak onvoorwaardelijke gastvrijheid en ondersteuning.

Geachte studenten en oud-studenten en meer in het bijzonder de vrouwen onder u, en dan specifiek zij die reünist of lid zijn van het meisjesdispuut FIERA, jullie zijn hier

in groten getale aanwezig. Onder zoveel vrouwelijke academici is één hooggeleerde wat magertjes. Ik wil hierbij de wens uitspreken dat nummer twee zich snel aandient.

Lieve Pa en Ma, geweldig dat jullie hierbij zijn en hoe jullie altijd voor mij, mijn broers en ons gezin klaarstonden. Pa, het is goed dat je me destijds hebt weerhouden naar de sportacademie te gaan want deze pet past toch wel beter bij me. Ma, je had lang je bedenkingen bij mij als werkende moeder, maar wij weten samen inmiddels beter.

Lieve Roel, Floor en Lucas, jullie zijn mijn grootste goed. Jullie op te zien groeien geeft voldoening. Blijf je verwonderen en maak er iets moois van.

Liefste Oscar, jij was een van de weinige leuke studenten die destijds niet direct hard wegrende toen ik vertelde dat ik scheikunde studeerde. Je bent sindsdien mijn trouwste supporter. Dank je wel dat je naast je eigen ambities mij altijd veel ruimte hebt gegeven en een groot aandeel hebt genomen in het organiseren van het thuisfront en het begeleiden van de kinderen.

*Geachte toehoorders,
Ik dank u allen voor uw aandacht.
Ik heb gezegd.*

BIBLIOGRAFIE

Testontwikkeling en validatie

- *Inleiding in evidence-based medicine*. Redacteuren: Offringa, Assendelft, en Scholten. Bohn Stafleu van Loghum, 2e herziene druk 2006.
- Kemna E, Tjalsma H, Laarakkers C, Nemeth E, Willems H, Swinkels D. 'Novel urine hepcidin assay by mass spectrometry' *Blood* 2005;106:3268-70.
- Pan S, Aebersold R, Chen R, Rush J, Goodlett DR, McIntosh MW, Zhang J, Brentnall TA. 'Mass spectrometry based targeted protein quantification: methods and applications' *J Proteome Res* 2008, in druk.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. 'Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver' *J Biol Chem* 2001;276:7806-10.
- Rifai N, Gilette MA, Carr SA. 'Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility' *Nat Biotechnol* 2006;24:971-83.
- Tjalsma H, Schaeps RMJ, Swinkels DW. 'Immunoproteomics: from biomarker discovery to diagnostic applications' *Proteomics Clinical Applications* 2008;2:167-80.
- www.hepcidinanalysis.com
- Treacy M, Wiersema M. 'Customer intimacy and other value disciplines' *Harv Bus Rev* 1993;71:84-93.

Brug van laboratorium naar kliniek*IJzerhuishouding*

- Andrews NC. 'Forging a field: the golden age of iron biology' *Blood* 2008; 112: 219-30.
- Halliwell B, Gutteridge JM. 'Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease' *Biochem J* 1984;219:1-14.

Aandoeningen van de ijzerhuishouding

- Te weinig ijzer
- Finberg KE, Heeney MM, Campagna DR, Aydinok Y, Pearson HA, Hartman KR, Mayo MM, Samuel SM, Strouse JJ, Markianos K, Andrews NC, Fleming MD. 'Mutations in *TMPRSS6* cause iron-refractory iron deficiency anemia (*IRIDA*)' *Nat Genet* 2008;40:569-71.
- Sazawal S, Black RE, Ramsan M, Chwaya HM, Stoltzfus RJ, Dutta A, Dhingra U, Kabole I, Deb S, Othman MK, Kabole FM. 'Effects of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on admission to hospital and mortality in preschool children in a high malaria transmission setting: community-based, randomised, placebo-controlled trial' *Lancet* 2006; 367:133-43.
- Walker SP, Wachs TD, Gardner JM, Lozoff B, Wasserman GA, Pollitt E, Carter JA; 'International Child Development Steering Group. Child development risk factors for adverse outcomes in developing countries' *Lancet* 2007;369:145-57.
- Te veel ijzer
- Adams PC, Barton JC. Haemochromatosis. *Lancet* 2007;370:1855-60.
- Ahmad KA, Ahmann JR, Migas MC, Waheed A, Britton RS, Bacon BR, Sly WS, Fleming RE. 'Decreased liver hepcidin expression in the *Hfe* knockout mouse' *Blood Cells Mol Dis* 2002;29:361-6.

- Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. 'Penetrance of 845G--> A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA' *Lancet* 2002;359:211-8.
- College voor zorgverzekeringen: 'Invoering van een programma voor vroege opsporing van ijzerstapelingsziekte': 27 maart 2003; Publicatie 03/149.
- van Dijk BA, Laarakkers CM, Klaver SM, Jacobs EM, van Tits LJ, Janssen MC, Swinkels DW. 'Serum hepcidin levels are innately low in HFE-related haemochromatosis but differ between C282Y-homozygotes with elevated and normal ferritin levels' *Br J Haematol* 2008;142:979-85.
- Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F, Domingo R Jr, Ellis MC, Fullan A, Hinton LM, Jones NL, Kimmel BE, Kronmal GS, Lauer P, Lee VK, Loeb DB, Mapa FA, McClelland E, Meyer NC, Mintier GA, Moeller N, Moore T, Morikang E, Prass CE, Quintana L, Starnes SM, Schatzman RC, Brunke KJ, Drayna DT, Risch NJ, Bacon BR, Wolff RK. 'A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis' *Nat Genet* 1996;13:399-408.
- Gezondheidsraad : 'Vroege opsporing van ijzerstapelingsziekte' . Den Haag: gezondheidsraad, 1999; Publicatie 1999/21.
- Jacobs EMG. *On the early management of hereditary hemochromatosis*. Proefschrift. Nijmegen. 12 december 2007.
- Jehn M, Clark JM, Guallar E. 'Serum ferritin and risk of the metabolic syndrome in U.S. adults'. *Diabetes Care* 2004;27:2422-8.
- Keeman JN. 'Aderlaten; een verdwenen populair therapeutikum'. *Ned Tijdschr Geneesk* 2007;151:200-11.
- Richtlijn 'Diagnostiek en behandeling van hereditaire hemochromatose'. Mei 2007 (<http://www.nvkc.nl/kwaliteitsborging/richtlijnen.php>).
- Swinkels DW, Marx JJM. 'Diagnostiek en behandeling van hereditaire hemochromatose'. *Ned Tijdschr Geneesk* 1999;143:1404-8.
- Swinkels DW, Janssen MC, Bergmans J, Marx JJ. 'Hereditary hemochromatosis: genetic complexity and new diagnostic approaches'. *Clin Chem* 2006;52:950-68.
- Swinkels DW, Jorna ATM, Raymakers RAP. 'Synopsis of the Dutch multidisciplinary guideline for the diagnosis and treatment of hereditary hemochromatosis'. *Neth J Med* 2007;65:452-5.
- Umans-Eckenhausen MA, Defesche JC, Sijbrands EJ, Scheerder RL, Kastelein JJ. 'Review of first 5 years of screening for familial hypercholesterolaemia in the Netherlands'. *Lancet* 2001;357:165-8.
- Whitlock EP, Garlitz BA, Harris EL, Beil TL, Smith PR. 'Screening for hereditary hemochromatosis: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force' *Ann Intern Med* 2006;145:209-23.
 - Abnormale verdeling van het ijzer
- Collins HL. 'The role of iron in infections with intracellular bacteria'. *Immunol Lett* 2003;85:193-5.
- Fleming RE, Sly WS. 'Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease'. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:8160-2.
- Fleming RE. 'Iron and inflammation: cross-talk between pathways regulating hepcidin' *J Mol Med* 2008;86:491-4.
- de Mast Q, Nadjm B, Reyburn H, Kemna EH, Amos B, Laarakkers CM, Silalye S, Verhoef H, Sauerwein RW, Swinkels DW, van der Ven AJ. 'Assessment of urinary concentrations of hepcidin provides novel insight into disturbances in iron homeostasis during malarial infection'. *J Infect Dis* 2009;199:253-62.

- Swinkels DW, Wetzels JF. 'Hepcidin: a new tool in the management of anaemia in patients with chronic kidney disease?' *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:2450-3.
- Sullivan JL. 'Iron and the sex difference in heart disease risk' *Lancet* 1981;1:1293-4.
- Sullivan JL. 'Macrophage iron, hepcidin, and atherosclerotic plaque stability' *Exp Biol Med (Maywood)* 2007;232:1014-20.
- Weiss G. 'Iron metabolism in the anemia of chronic disease' *Biochim Biophys Acta* 2008, in druk.

Biobanking

- 'Een schat aan gegevens' *Medisch Contact* 2003;85:16: 628-31.
- Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW). *Multifactoriële aandoeningen in het genomics tijdperk*. Verkenningcommissie Multifactoriële aandoeningen Amsterdam 2006.
- van Ommen, G-J B. 'Gwas here, last year' *Eur J Hum Genet* 2008;16:1-4.
- Raad voor Gezondheidsonderzoek. *Van gegevens verzekerd. Kennis over de volksgezondheid in Nederland nu en in de toekomst*. Den Haag Gezondheidsraad, 2008; RGO nr. 58.

Meer laboratoriumartsen

- Besluit no 4-1999. 'Opheffing van het medisch specialisme klinische chemie' *Medisch Contact* 2000;55:598-9.
- Madden M. 'Klinische chemie als specialisme' *Medisch contact* 2005;45:1813.
- Rondeel JMM, Kuiper-Kramer PA, van de Leur JJCM. 'Open het register. Laboratoriumartsen dreigen uit te sterven' *Medisch Contact* 2005;37:1476-8.
- The Royal college of pathologists. *NHS Clinical Biochemistry 'A profession under siege'*, rapport, mei 2002.