

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie

Direktor: Prof. Dr. med. Gerhard Adam

und

Klinik und Poliklinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie

Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Reinhard Schneppenheim

BESTIMMUNG VON LEBER- UND MILZEISEN MIT QUANTITATIVER MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE UND BIOMAGNETISCHER SUSZEPTOMETRIE IN PATIENTEN MIT EISENÜBERLADUNG

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Jan Berg
aus Bremen

Hamburg 2013

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 10.01.2014

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Gerhard Adam

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Reinhard Schneppenheim

Prüfungsausschuss, dritter Gutachter: PD Dr. Peter Nielsen

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	V
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1. Einleitung	1
1.1. Problemstellung und Ziel der Arbeit	1
1.2. Problematik der Eisenüberladung	2
1.3. Die Thalassämie	4
1.3.1. Vorkommen und Häufigkeit.....	4
1.3.2. Die Pathophysiologie der β -Thalassämie major	5
1.3.3. Klinik und Therapie der β -Thalassämie major	6
1.4. Möglichkeiten zur Messung von Lebereisen	7
1.4.1. Das Serum-Ferritin als Überwachungsparameter	8
1.4.2. Nicht-invasive Diagnostik: Die Biomagnetische Lebersuszeptometrie (BLS)	9
1.4.3. Nicht-invasive Diagnostik: Die Magnetresonanztomographie.....	10
1.4.3.1. Möglichkeiten der Eisenquantifizierung durch MRT	11
1.4.3.2. Die Spin-Echo-Methode.....	12
1.4.3.3. Die Gradienten-Echo-Methode	13
1.4.3.4. Lebereisen durch MRT in der Vergangenheit	14
1.4.3.5. Durchbruch in der Bestimmung des Herzeisens durch MRT-T2*	16
2. Patienten und Methoden.....	17
2.1. Patientenkollektiv.....	17
2.2. Biomagnetische Lebersuszeptometrie	20
2.2.1. Grundlagen der Biosuszeptometrie.....	20
2.2.2. Aufbau des Biosuszeptometers	21

2.2.3.	Ablauf der Untersuchung	22
2.2.4.	Volumenbestimmung von Leber und Milz durch Sonographie	24
2.3.	MRT	25
2.3.1.	MRT-Protokoll.....	25
2.3.2.	Auswertung der MRT-Bilder.....	28
2.3.3.	Signaluntergrund (SI_{LO}).....	30
2.3.4.	EKG-Triggerung	32
2.3.5.	Zahl der Mittelungen	32
2.3.6.	Volumenbestimmung von Leber und Milz	32
2.4.	Statistische Methoden	32
3.	Ergebnisse	34
3.1.	Medizinische Ergebnisse	34
3.1.1.	Kalibrierung von $R2^*$ der Leber mittels BLS	34
3.1.2.	Kalibrierung von $R2^*$ der Milz mittels Biomagnetischer Milzsuszeptometrie (BSS).....	34
3.1.3.	LIC und $R2^*$ und der Zusammenhang mit Ferritin.....	38
3.1.4.	$R2^*$ und der Zusammenhang mit ALT	39
3.2.	Methodische Ergebnisse.....	40
3.2.1.	Vergleich der transversalen Relaxationsrate $R2^*$ aus den drei Leberregionen (ROIs)	40
3.2.2.	Vergleich der EKG-getriggerten Sequenz mit der ungetriggerten Sequenz	42
3.2.3.	Vergleich von Leber- $R2^*$ aus dem Leberfenster der kurzen Herzachse mit $R2^*$ des Auswahlfensters „Leberschicht“	42
3.3.	Volumina	43
3.3.1.	MR- und Ultraschall-Planimetrie von Leber und Milz.....	43
3.3.2.	Hepato- und Splenomegalie und der Zusammenhang zu $R2^*$	45
3.4.	Interobserver-Variabilität von $R2^*$ und Leber- und Milzvolumen.....	46
4.	Diskussion.....	48
4.1.	$R2^*$ der Leber und Milz als neuer Monitoring-Parameter?.....	48
4.2.	Die Wahl der geeigneten Sequenz: warum Gradienten-Echo?	49

4.3. Kritische Betrachtung der Kalibrierkurve	49
4.3.1. Vergleich mit der Kalibrierkurve von St Pierre et al. 2005	49
4.3.2. Einfluss von Hämosiderin- und Ferritin-Eisen auf R2*	50
4.3.3. Ausreißer in der Kalibrierkurve	50
4.3.4. Der Einfluss von TE	52
4.4. Variabilität von R2*	52
4.4.1. Extreme Signalamplituden für moderat Eisen-überladene Patienten	53
4.4.2. Die Rolle des Signaluntergrunds bei milder Eisenüberladung	55
4.5. Vergleich der Auswahlfenster (ROI)	56
4.6. Einfluss der EKG-Triggerung auf die Bestimmung von R2*	57
4.7. R2*, Lebervolumen, ALT-Erhöhung und Serum-Ferritin	57
5. Zusammenfassung	59
Literaturverzeichnis	60
Danksagung	71
Lebenslauf	72
Erklärung	73

Abbildungsverzeichnis

	<u>Seite</u>
Abbildung 1: Eisenhomöostase beim Erwachsenen..	2
Abbildung 2: Transversale Gradientenecho-Aufnahmen eines Patienten mit moderater Eisenüberladung	11
Abbildung 3: Prinzip der Spin-Echo-Sequenz	13
Abbildung 4: Das Gradienten-Echo.	14
Abbildung 5: Schematischer Aufbau des Biosuszeptometers	22
Abbildung 6: Aufbau der Messeinheit	24
Abbildung 7: MRT-Localizer	26
Abbildung 8: 12 Leberschichtaufnahmen der EKG-getriggerten Gradienten-Multiechosequenz	28
Abbildung 9: Darstellung der ROIs am Beispiel des Patienten 1	29
Abbildung 10: Patient 1: Signalintensität in Abhängigkeit von TE für ROI 1 und 2	31
Abbildung 11: Patient 1: Signalintensität in Abhängigkeit von TE für ROI 3 und 4 (Milz)	31
Abbildung 12: Nicht-lineare Beziehung von $R2^*$ als Funktion von LIC-BLS	35
Abbildung 13: Relativer Altman-Bland-Test	36
Abbildung 14: Darstellung der Streuung der $R2^*$ -Werte bei Patienten mit geringer und moderater Eisenüberladung	37
Abbildung 15: Korrelation zwischen LIC (BLS) und Serum-Ferritin	38
Abbildung 16: Korrelation zwischen $R2^*$ und Serum-Ferritin	39
Abbildung 17: Korrelation zwischen $R2^*$ und ALT	40
Abbildung 18: Vergleich der transversalen Relaxationsraten $R2^*$	41
Abbildung 19: Linearer Zusammenhang von MRI- $R2^*$ durch 3 Mittelungen ohne EKG-Triggerung im Vergleich zur Standardmethode mit EKG-Triggerung und 1 Mittelung nach gewichtetem Fit	42
Abbildung 20: Vergleich der Relaxationsraten auf Basis von transversalen Leberschnitten und kurzer Herzachse bei der Herzeisenmessung	43
Abbildung 21: Vergleich von MR-Planimetrie und Ultraschall für Leber- und Milzvolumina	44
Abbildung 22: Korrelation zwischen $R2^*$ (Rechts-ventral) und Lebervolumenindex	45
Abbildung 23: Gewichtete Regression mit Gegenüberstellung der Relaxationsrate für Leber und Milz von zwei unterschiedlichen Auswertern	46

Abbildung 24:	Volumina von Leber und Milz im Vergleich zwischen zwei Auswertern, Verfahren der MR-Planimetrie.....	47
Abbildung 25:	Kalibrierkurve mit fett markierten Ausreißern	51
Abbildung 26:	95%-Streuung der Signalamplitude bei einem moderat Eisen-überladenen Patienten.....	53
Abbildung 27:	Abhängigkeit des $R2^*$ von der Signalamplitude innerhalb des 95% CI.....	54
Abbildung 28:	Gegenseitige Abhängigkeit von $R2^*$ und SI_{LO} innerhalb des 95%-CI von $R2^*$	55

Tabellenverzeichnis

	<u>Seite</u>	
Tabelle 1:	Nebenwirkungen der Eisenchelatoren	7
Tabelle 2:	Patientenpopulation	19
Tabelle 3:	Parameter der EKG-getriggerten Gradienten-Multiechosequenz	27

Abkürzungsverzeichnis

ADP:	Adenosindiphosphat
ALT:	Alanin-Aminotransferase
AML:	Akute Myeloische Leukämie
BLS:	Biomagnetische Lebersuszeptometrie
BSS:	Biomagnetische Milzsuszeptometrie
CDA:	Kongenitale Dyserythropoetische Anämie
CI:	Konfidenzintervall
CV:	Variationskoeffizient (coefficient of variation)
DBA:	Diamond-Blackfan-Anämie
DFO:	Deferoxamin
DICOM:	Digital Imaging and Communications in Medicine
FDA:	Food and Drug Administration
FID:	Freier Induktionszerfall (free induction decay)
HASTE:	Half-Fourier Acquisition Single-Shot Turbo Spin-Echo
HbA ₂ :	Hämoglobin A ₂ , bestehend aus 2 α - und 2 β -Ketten
HbF:	Fetales Hämoglobin
LIC:	Lebereisenkonzentration (liver iron concentration)
LPI:	Labiles Plasmaeisen (labile plasma iron)
MDS:	Myelodysplastisches Syndrom
MRT:	Magnetresonanztomographie
NEX:	Zahl der Mittelungen (number of excitations)
NTBI:	Nicht-Transferrin gebundenes Eisen (non-transferrin bound iron)
RES:	Retikuloendotheliales System
ROI:	Auswerte-Fenster (region of interest)

r_s :	Spearman-Rang-Korrelationskoeffizient
SF:	Serum Ferritin
SI:	Signalintensität
SI_{LO} :	Signal-Untergrund (signal level offset)
SIR:	Signalintensitätsverhältnis (signal intensity ratio)
SQUID:	Superconducting Quantum Interference Device
TE:	Echozeit (time echo)
TR:	Repetitionszeit (time repetition)
χ_v^2 :	Reduziertes Chi-quadrat

1. Einleitung

1.1. Problemstellung und Ziel der Arbeit

Die regelmäßige Kontrolle der Eisenspeicher bei Kindern und Erwachsenen mit potentiell toxischer Eisenüberladung ist Voraussetzung, um eine Therapie an die jeweils vorliegende Menge des gespeicherten Eisens anpassen zu können. Der in der Praxis häufig verwendete Blutparameter Serum-Ferritin ist dafür nicht ausreichend genau geeignet. Als etablierte Methode steht dafür seit mehr als 20 Jahren die nicht-invasive Biosuszeptometrie zur Verfügung. Diese Methode ist in der klinischen Routine weltweit jedoch an nur 5 Standorten verfügbar (Hamburg, Oakland, New York, Turin, Genua). Daher liegt es nahe, nach allseits verfügbaren Alternativmethoden zu suchen. Ziel dieser Arbeit ist die Kalibrierung einer Sequenz für die Magnetresonanztomographie (MRT), die in der Lage ist, in Leber und Milz gespeichertes Eisen möglichst genau zu quantifizieren. Die Messergebnisse werden mit der Referenzmethode der Biosuszeptometrie verglichen und ausgewertet. Die Verfügbarkeit einer solchen Alternativmethode würde Patienten mit Eisenüberladung den Zugang zu einer nicht-invasiven Diagnostik erheblich erleichtern.

Um eine MR-Sequenz zu etablieren, die in der klinischen Routine einsetzbar ist, werden in dieser Arbeit verschiedene MR-Methoden genauer untersucht und untereinander verglichen. Neben dem Vergleich der MR-Methoden untereinander soll auch der Zusammenhang zu weiteren Aspekten des Krankheitsbildes der Eisenüberladung aufgezeigt werden. Dazu gehört der Zusammenhang der Relaxationsraten im MRT mit typischen Serum-Markern wie Ferritin und Alanin-Aminotransferase (ALT) sowie der Einfluss der Eisenüberladung auf Leber- und Milzgröße. Die Organgrößen können per Ultraschall oder im MRT bestimmt werden. Ob hierbei unterschiedliche Ergebnisse entstehen und ob die Ergebnisse von der individuell auswertenden Person abhängen ist eine weitere Frage, die in dieser Arbeit untersucht werden soll.

1.2. Problematik der Eisenüberladung

Eisen ist eines der häufigsten Spurenelemente im zellulären Metabolismus des Menschen und Teil wichtiger Proteine wie Hämoglobin und Myoglobin, darüber hinaus ein guter Elektronenüberträger im Zusammenhang mit Redoxreaktionen und als Bestandteil von Cytochromen und Eisen-Schwefelverbindungen maßgeblich in den Prozess der Atmungskette eingeschaltet. Die intestinale Eisenabsorption ist dabei strikt reguliert in der Art, dass die genau ausreichenden Mengen Eisen absorbiert werden (normal 1-2 mg/Tag, steigerbar im Eisenmangel auf 3-4 mg, pathologisch erhöht bei Hämochromatose (4-8 mg/Tag).

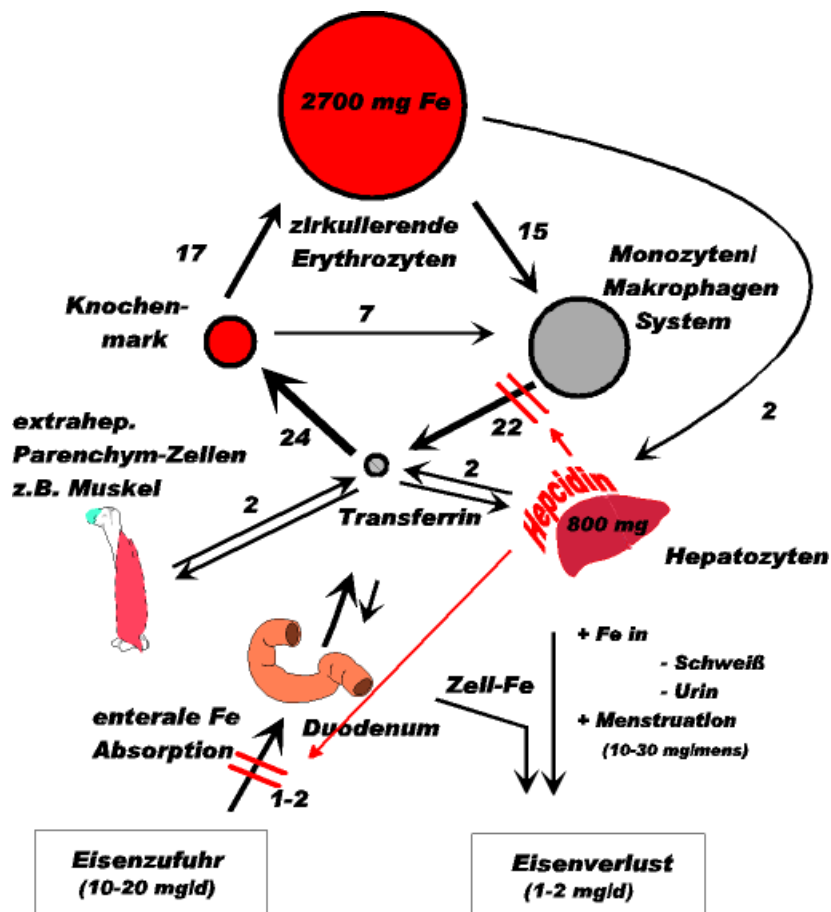


Abbildung 1: Eisenhomöostase beim Erwachsenen. Zahlenangaben in mg/Tag berechnet für einen 70-kg Mann. Ca. 20 mg Eisen zirkulieren täglich im Blut. Das Hormon Hepsidin wirkt als negativer Regulator des Eisenmetabolismus (modifiziert nach Nielsen et al. 1998).

Bei einigen Krankheiten wird diese ausgeglichene Eisenbilanz gestört und es entwickelt sich eine Eisenüberladung. Prominentestes Beispiel hierfür ist die hereditäre Hämochromatose, bei der es durch eine genetisch bedingte Störung der Hepcidinsynthese zu einer pathologisch erhöhten Eisenabsorption im Intestinum kommt (Abbildung 1). Darüber hinaus sind auch Patienten mit hyperplastischer und ineffektiver Erythropoese und Bedarf an Bluttransfusionen von der Eisenüberladung betroffen. Wichtige Vertreter der Krankheitsgruppe dieser sogenannten eisenladenden Anämien sind die Thalassämien, Pyruvatkinasemangel, kongenitale dyserythropoetische Anämie, Sphärozytose und sideroblastische Anämie (Nielsen und Gaedicke 2006). Bei Patienten mit Eisenüberladung erschöpft sich die Eisenbindungskapazität von Transferrin und es tritt zunehmend nicht Transferrin-gebundenes Eisen (NTBI) im Plasma auf (De Luca et al. 1999). Dieses freie Eisen kann zum Auftreten hochreaktiver Sauerstoffspezies, sogenannte freie Radikale (z.B. OH[·]-Radikal) führen. Als möglicher Mechanismus wird dabei in der Literatur die als Fenton- oder Haber-Weiss-Reaktion bezeichnete folgende Reaktion genannt (Imlay et al 1988):



Es wurde gezeigt, dass das Vorhandensein von NTBI zu einem reduzierten Antioxidantienstatus im Plasma führt und mit vermehrten Beiprodukten der Lipidperoxidation vergesellschaftet ist (De Luca et al. 1999, Cighetti et al. 2002). Labiles Plasmaeisen (LPI), eine redox-reaktive Unterform des NTBI, kann Transferrin-Rezeptor-unabhängig aufgenommen werden und im betroffenen Gewebe zu Zellschäden führen (Cabantchik et al. 2005). In der Leber kann die eiseninduzierte Zellschädigung zu Leberfibrose, Leberzirrhose und in schweren Fällen auch zum Leberzellkarzinom führen (Britton et al. 1990). Auch Veränderungen von Tumorsuppressorgenen wie p53 wurden beschrieben (Britton et al. 2002). Im Herzen führt eine Eisenüberladung zum Funktionsverlust von Enzymen der Atmungskette in der inneren Mitochondrienmembran. In vitro gelingt es, diese Enzym-Inhibierung durch Bindung des Überschuss-Eisens wieder aufzuheben (Link et al. 1998), was die Rolle des Eisens in der Pathophysiologie untermauert. Die Speicherung überschüssigen Eisens im Gewebe geschieht in Form von Ferritin und Hämosiderin. Ferritin kommt im Zytoplasma und Lysosomen vor, während Hämosiderin nur in Lysosomen vorkommt (Papakonstantinou et al. 1995). Beim Ferritin-Eisen handelt es sich um die lösliche, schnelle mobilisierbare Form des Speichereisens (Wu et al. 2010). Das ins Plasma

sezernierte Ferritin dient zudem als diagnostischer Marker bei Entzündungen und Eisenüberladung. Bei Eisenüberladung werden die Ferritinspeicher in der Zelle zunehmend erschöpft und es bilden sich Ferritinaggregate in Form von unlöslichen Hämosiderin-Komplexen, welche als Langzeit-Eisenreserve dienen (Jensen JH et al. 2010). Obwohl überschüssiges Eisen theoretisch in fast allen Geweben abgelagert werden kann, befindet sich der Großteil in zwei Zelltypen: den retikuloendothelialen Zellen in Milz, Knochenmark und Leber (Kupffer-Zellen) und den Parenchymzellen in Leber, Myocard und den endokrinen Organen. Im Gegensatz zu den retikuloendothelialen Zellen, bei denen Eisenüberladung als relativ harmlos betrachtet werden kann, führt die parenchymale Eisenüberladung potenziell zu schweren Organschäden (Hershko et al. 2005). Im Folgenden soll auf die Krankheit der Thalassämie näher eingegangen werden, da Thalassämie-Patienten den Hauptteil der Patientenpopulation dieser Arbeit bilden.

1.3. Die Thalassämie

1.3.1. Vorkommen und Häufigkeit

1925 beschrieben Thomas Cooley und Pearl Lee eine Form der schweren Anämie bei Kindern italienischer Herkunft, die mit charakteristischen Knochenveränderungen und Splenomegalie einherging (Cooley und Lee 1925). Die Thalassämie (griechisch: „thalassa“=Meer), aufgrund ihres regional gehäuften Auftretens auch Mittelmeeraanämie genannt, ist eine autosomal-rezessiv vererbte Hämoglobinopathie, bei der die Bildung einer Peptidkette des Hämoglobins aufgrund eines genetischen Defekts vermindert ist (Kulozik 2006). Je nachdem, welche Globinkette betroffen ist, spricht man von α -, beziehungsweise von β -Thalassämie. Die geografische Verteilung der Thalassämie stimmt nahezu mit den Malariagebieten überein, was sich durch einen Selektionsvorteil für Träger der heterozygoten Thalassämie-Variante erklären lässt (Weatherall und Clegg 2001). Diese klinisch unauffälligen Patienten sind durch die Thalassämie minor vor einem schweren Verlauf der Malaria geschützt. Weltweit gibt es etwa 80 Millionen Träger einer β -Thalassämischen Mutation und um die 60 000 Kinder mit einer Majorform der Thalassämie (Modell et al. 2001). Während die α -Thalassämie vor allem im südostasiatischen Raum verbreitet ist, gilt der Mittelmeerraum als Ursprungsort der β -Thalassämie. Nach ursprünglicher Endemie in den Tropen und subtropischen Gebieten haben Migrationsbewegungen dazu geführt, dass die Thalassämien zu einem wichtigen Teil der klinischen Praxis in den USA, Australien und Europa geworden ist. In

Deutschland hat die β -Thalassämie durch Einwanderung zunehmende Bedeutung erlangt. Hierzulande leiden etwa 300-400 Patienten unter der β -Thalassämie major, der homozygoten und schweren Form. Einwanderer aus der Türkei, Italien und Griechenland sind am häufigsten betroffen (Vetter et al. 1997).

Bei den β -Thalassämien unterscheidet man zwischen der Major-Form, die entweder homozygot oder gemischt-heterozygot (Compound-Heterozygotie) sein kann und sich durch Transfusionsabhängigkeit auszeichnet, und der heterozygoten Minor-Form, die zu einer milden Anämie führt und meist asymptomatisch bleibt. Zusätzlich gibt es noch die klinische Diagnose der β -Thalassämie intermedia, die genotypisch heterozygot oder homozygot sein kann aber meist keine Transfusionen erfordert.

1.3.2. Die Pathophysiologie der β -Thalassämie major

Bei der β -Thalassämie major kommt es zu aufgrund mangelnder oder fehlender Produktion der β -Ketten zu einer exzessiven Produktion von α -Ketten. Tetramere, die sich allein aus α -Ketten zusammensetzen, sind nicht fähig, ein normales Hämoglobinmolekül auszubilden und präzipitieren als Einschlusskörperchen in Erythrozyten-Vorläufern. Diese Vorläuferzellen werden teilweise noch im Knochenmark zerstört. Das Knochenmark kann etwa 5- bis 6-mal so viel erythropoetische Vorläuferzellen wie das Knochenmark gesunder Personen enthalten und etwa 15-mal so viele apoptotische Zellen (Centis et al. 2000). Es kommt zu einer ineffektiven Erythropoese, die sich durch die Ausprägung einer hypochromen, mikrozytären Anämie äußert. Im Blut zeigen die zirkulierenden Erythrozyten abnorme Formen (Anisozytose, Poikilozytose, Target-Zellen) und zeichnen sich durch eine verkürzte Lebensdauer von 7 bis 22 Tagen aus (Weatherall et al. 2001a). Durch das Defizit an β -Ketten ist, neben geringen Mengen an HbA₂, fetales Hämoglobin (HbF) die vorherrschende Hämoglobinform bei Patienten mit β -Thalassemia major. Die Anämie führt zwangsläufig zu einer Gewebshypoxie, welche durch die erhöhte Sauerstoffaffinität des HbF zusätzlich verstärkt wird. Es kommt konsekutiv zu einer erhöhten Erythropoetin-Ausschüttung in der Niere und zu einer Expansion des dyserythropoetischen Knochenmarks. Die intestinale Eisenabsorption ist als Reaktion auf die ineffektive Erythropoese erhöht, was zuerst zu einer Eisenansammlung in den Kupffer-Zellen der Leber sowie in den Retikuloendothelialen Zellen der Milz, später auch in den Parenchymzellen der Leber führt (Weatherall et al. 2001b).

1.3.3. Klinik und Therapie der β -Thalassämie major

Perinatal sind die betroffenen Patienten zunächst asymptomatisch, da hier die HbF-Produktion noch natürlicherweise erhöht ist. Die meisten Patienten mit β -Thalassämie werden zwischen dem 6. Lebensmonat und dem 2. Lebensjahr durch eine bestehende Anämie diagnostiziert, wenn die Umstellung von fetalem Hämoglobin (HbF) auf adultes Hämoglobin (HbA₁) erfolgt ist (Nielsen et al. 2006). Zu den klinischen Symptomen gehören Blässe, Ikterus, Gedeihstörung und Hepatosplenomegalie, weshalb nach Diagnosestellung unverzüglich mit der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten begonnen wird. Unbehandelt sind die Kinder unfähig, einen Hb von über 5g/dl zu erreichen. Ohne eine Therapie mit regelmäßigen Bluttransfusionen können sich Wachstumsretardierungen, Skelettdeformitäten und erhöhte Frakturgefahr, braune Hautpigmentierung und eine erhöhte Gefahr für Infektionen anschließen. Die Transfusionen zielen auf einen Hb von 9-11 g/dl, wodurch die Anämie abgemildert und in der Folge das Ausmaß der ineffektiven Erythropoese sowie die pathologisch erhöhte Eisenabsorption verringert werden. Oft ist zusätzlich eine Splenektomie notwendig, um die Transfusionshäufigkeit zu verringern. Dies ist dann gegeben, wenn die benötigte Blutmenge 200ml pro Kilogramm pro Jahr übersteigt (Weatherall et al. 2001c).

Durch den Bedarf an Bluttransfusionen entsteht eine weitere Eisenbelastung des Organismus (500 ml Erythrozytenkonzentrat enthalten etwa 250 mg Eisen) [Porter 2001]. Aufgrund der Eisenüberladung kommt es mit 10-11 Jahren zu hepatischen, kardialen und endokrinen Störungen kombiniert mit fehlendem Wachstumsschub und ausbleibender sexueller Reifung während der pubertären Phase (Weatherall et al. 2001a). Häufige Komplikationen wurden in einer nordamerikanischen Studie untersucht (Cunningham et al. 2004): Neben transfusionsbedingten Hepatitis-C-Expositionen (35% der getesteten Patienten) waren endokrine Störungen häufig: Hypogonadismus (35%), Diabetes mellitus (10%), Schilddrüsenerkrankungen (9%) und Hypoparathyreoidismus (4%). Eine Leberzirrhose bestand in 10-14% der Fälle. In einer italienischen Studie an 720 nach 1970 geborenen Patienten wurde Herzversagen mit über 50% als die häufigste Todesursache identifiziert (Borgna-Pignatti et al. 2004). Um die genannten Komplikationen zu minimieren, wird therapeutisch eine Eiseneliminationstherapie mittels Chelatoren angestrebt.

Ziel der Chelatortherapie ist es, Eisen in einer Größenordnung zu binden und auszuscheiden, die der Menge des Transfusionseisens entspricht (Erhaltungstherapie) oder noch höhere Mengen zu chelieren (Reduktionstherapie). Patienten, die optimal therapiert und compliant sind, können sich normal entwickeln, haben eine deutlich höhere

Lebenserwartung und können in einigen Fällen sogar selber Kinder bekommen (Weatherall et al. 2001 a). Zurzeit gibt es drei routinemäßig eingesetzte Eisenchelatoren: Deferoxamin, Deferipron und Deferasirox (Cario et al. 2010). Die Nebenwirkungen der Chelatoren sind in Tabelle 1 aufgelistet. Präzise Methoden zur Quantifizierung des Körpereisens sind daher essentiell für die Dosisfindung der Chelatortherapie, um einerseits Eisentoxizität zu vermeiden und andererseits unerwünschte Arzneimittelnebenwirkungen zu minimieren (Brittenham und Badman 2003).

Tabelle 1: Nebenwirkungen der Eisenchelatoren (modifiziert nach Nielsen et al. 2006)

	Deferoxamin (DFO)	Deferipron (L1)	Deferasirox (Exjade)
Nebenwirkungen	Ototoxizität, retinale Toxizität, Wachstumshemmung, lokale und systemische Allergien	Agranulozytose, Arthropathie, Zinkmangel, gastrointestinale Beschwerden	Übelkeit, Erbrechen, abdominale Schmerzen, Hautausschlag, Anstieg Serumkreatinin

Die einzige kurative Behandlungsmöglichkeit der β -Thalassämie besteht in der Transplantation hämatopoetischer Stammzellen. Bis zum heutigen Zeitpunkt wurde die Therapie der allogenen Stammzellentransplantation mehrere hundert Male erfolgreich angewandt, vorzugsweise unter Verwendung HLA-identischer Spender aus der eigenen Familie (Boncimino et al. 2010). Die Erfolgsrate ist unter anderem abhängig von Patientenalter, Lebergröße und Chelatortherapie und liegt je nach Risikogruppe zwischen 80 und 87% (Lucarelli und Gaziev 2008), grundsätzlich werden bei Patienten im Kindesalter deutlich bessere Ergebnisse als bei Erwachsene beobachtet. Die Erfolgsraten haben sich in letzter Zeit zunehmend verbessert und liegen bei Gesamtüberlebensraten von 65% (Gaziev et al. 2000) bzw. 69% (La Nasa et al. 2002).

1.4. Möglichkeiten zur Messung von Lebereisen

Die Eisenkonzentration verschiedener Gewebe stellt einen wichtigen Parameter für Behandlung und Prognose von Patienten mit Eisenüberladung dar. Hinsichtlich der Chelatortherapie bei Thalassämiepatienten gilt es, einerseits Organschäden durch to-

xische Eisenüberladung zu minimieren, andererseits aber auch Nebenwirkungen einer erhöhten Chelator dosis (siehe Tabelle 1) zu vermeiden. Es wird davon ausgegangen, dass sich etwa 70% des Gesamtspeichereisens in der Leber (Modell und Berdoukas 1984), bzw. 70-80% in Leber und Milz befinden (Summers et al. 1990). Somit dient die Leber als Surrogatorgan für die Abschätzung des Gesamtkörpereisens. Die Bestimmung der Eisenkonzentration der Leber kann entweder invasiv durch eine Leberbiopsie, durch Laborparameter wie das Serum-Ferritin oder nicht-invasiv durch die Ausnutzung der paramagnetischen Eigenschaften des Speichereisens erfolgen.

Die perkutane Leberbiopsie gilt nach wie vor als Goldstandard und wird als Referenzmethode verwendet, wenn es darum geht, neuere Methoden zu evaluieren (St Pierre et al. 2005, Wood et al. 2005a). Eine einzige Biopsieprobe wird in der Regel als repräsentativ für die gesamte Leber betrachtet. Der Variabilitätskoeffizient (CV) bei doppelter Messung wurde dabei mit 6,6% angegeben. (Barry und Sherlock 1971). Im fibrotischen oder zirrhotischen Zustand kommt es jedoch zu ungleicher Verteilung der LIC. Hierbei kann der individuelle CV der LIC von 11.3% bis 43.7% schwanken (Villeneuve et al. 1996). Angelucci et al. führten bei 501 Patienten 1184 perkutane Leberbiopsien ohne Ultraschall-Überwachung durch und beobachteten eine Komplikationsrate von 0,5% (Angelucci et al. 1995). Trotz der geringen Komplikationsrate dieser invasiven Methode bieten nicht-invasive Methoden Vorteile vor allem für Kinder und Patienten, die sonst mehrfach biopsiert werden müssten.

1.4.1. Das Serum-Ferritin als Überwachungsparameter

Die laborchemische Bestimmung des Serum-Ferritins (SF) ist weltweit verfügbar, standardisiert und kostengünstig. Dabei kann SF als wichtiger Baustein zur klinischen Entscheidungsfindung dienen. Bei Hämochromatose-Patienten wird beispielsweise die Indikation zur Leberbiopsie gestellt, wenn das SF Werte von $>1000 \mu\text{g/L}$ übersteigt (Morrison et al. 2003). Die Dosierung von Eisenchelatoren allein auf Basis von Laborwerten wie dem Serum-Ferritin ist jedoch nicht möglich, da Einschränkungen in der Beurteilbarkeit der Serum-Ferritin-Werte bei Entzündungsvorgängen (Borgna-Pignatti und Castriota-Scanderbeg 1991) und Ascorbinsäuremangel (Chapman et al. 1982) auftreten. Durch die zusätzliche Bestimmung der Lebereisenkonzentration (LIC) kann der Quotient aus SF und LIC gebildet werden, welcher für den individuellen Patienten als guter Überwachungsparameter dient unter der strengen Voraussetzung, dass keine Veränderungen in der Chelatortherapie vorgenommen wurden und die Compliance sich nicht verändert (Fischer und Harmatz 2009). Die Höhe des Serum-Ferritins allein

dient lediglich als zusätzlicher diagnostischer Marker, wenn es darum geht, die Tendenz der Eisenspeicherung zwischen Messungen der LIC abzuschätzen.

1.4.2. Nicht-invasive Diagnostik: Die Biomagnetische Lebersuszeptometrie (BLS)

Die biomagnetische Suszeptometrie ist heutzutage in der Lage, Eisen in Organen wie der Leber und der Milz zu quantifizieren und stellt eine schnelle, sichere und nicht-invasive Methode zur Messung des Leber- und Milzeisens dar (Sheth 2003). Je nach Organ werden die Begriffe Biomagnetische Lebersuszeptometrie (BLS) oder Biomagnetische Milzsuszeptometrie (BSS) verwendet.

1967 schlugen Bauman und Harris erstmalig vor, die paramagnetischen Eigenschaften von Ferritin- und Hämosiderin-Eisen zu nutzen, um das Körpereisen nicht-invasiv zu bestimmen. Mit Hilfe von Helium-gekühlten supraleitenden Magnetfeldspulen, sogenannten SQUID-Detektoren (SQUID = Superconducting Quantum Interference Device), gelang es ihnen, kleinste Magnetfeldänderungen aufgrund der paramagnetischen Eigenschaften von Ferritin- und Hämosiderin-Eisen zu messen (Bauman und Harris 1967). Nach Weiterentwicklung der Methode untersuchten Brittenham et al. 1982 erstmalig die magnetische Suszeptibilität der Leber bei Patienten und Normalpersonen und den Zusammenhang mit der LIC nach Leberbiopsie. Dabei wurde eine hohe Korrelation beobachtet ($r = 0,98$, $p < 10^{-5}$) und gezeigt, dass magnetische Messungen des Lebereisens zur Lebereisenbestimmung nach Biopsie quantitativ äquivalent sind (Brittenham et al. 1982). Seit 1989 werden Patienten auch am Hamburger Biosuszeptometer untersucht. Eine Validierungsstudie (Fischer et al. 1992) konnte auch hier eine hohe Korrelation ($r = 0,99$, $p < 10^{-4}$) zwischen LIC nach BLS und LIC nach Leberbiopsie aufzeigen und die Ergebnisse von Brittenham et al. stützen.

In weiteren Studien wurde die Methode der BLS außerdem verwendet, um Langzeitverläufe bei Patienten unter Chelatortherapie nachzuvollziehen (Brittenham et al. 1994) sowie Chelatortherapien untereinander zu vergleichen (Olivieri et al. 1998, Fischer et al. 2003). Durch BLS und zusätzliche Messung des Milzeisens (BSS) kann das Gesamtkörpereisen berechnet werden (Nielsen et al. 1995, Fischer et al. 1999), wodurch sich die Methode für die Verlaufskontrolle von Patienten mit Eisenüberladung eignet.

Limitierungen der Methode sind die weltweit begrenzte Anzahl an Geräten zur Durchführung der Messung und die Tatsache, dass die Menge des Herzeisens durch die biomagnetische Suszeptometrie nicht bestimmt werden kann (Brittenham und Badman 2003).

Eine Indikation zur BLS ist dann gegeben, wenn die 3 Labordaten Serumeisen, Transferrin-Sättigung und Serum-Ferritin erhöht sind (Verdacht auf hereditäre Hämochromatose), wenn die Zahl der Bluttransfusionen 20 im Jahr übersteigt (Transfusions-Siderosen) oder wenn der Hämoglobin-Wert bei Eisen-ladenden Anämien ständig unter 9 g/dl liegt (Nielsen et al. 2003).

1.4.3. Nicht-invasive Diagnostik: Die Magnetresonanztomographie

Die Magnetresonanztomographie nutzt die magnetischen Eigenschaften von Wasserstoffkernen (Protonen) des menschlichen Körpers, um 3-dimensionale Bilder herzustellen. Wasserstoffprotonen sind vor allem in Wassermolekülen und Lipiden zu finden und somit ein Hauptbestandteil menschlichen Gewebes. Durch supraleitende Drahtspulen wird in MR-Tomographen ein starkes, homogenes Magnetfeld erzeugt. Patienten legen sich in einen horizontalen Zylinder und werden dem Magnetfeld ausgesetzt. Normalerweise sind die Spins (Drehrichtung, Drall) der Wasserstoffprotonen zufällig ausgerichtet. Im Magnetfeld des MR-Scanners orientieren sich die Spins der Protonen jedoch in eine gemeinsame Richtung, parallel zum Magnetfeld. Appliziert eine RF(Radio-Frequenz)-Spule des MR-Tomographen einen Impuls (Spin-Echo) in einer bestimmten Frequenz, absorbieren die Wasserstoffprotonen die von der RF-Spule ausgesendete Energie und verändern die Richtung ihrer Spins. Wird der RF-Impuls ausgeschaltet, verlieren die Protonen ihre Energie und ihre Spins kehren in die Ausgangsposition zurück. Eine weitere RF-Spule erfasst das elektromagnetische Signal, welches in dem Moment von den Protonen ausgeht. Die Signalintensität kann dabei variieren.

In der longitudinalen Richtung kehren die Spins in einem bestimmten Intervall in ihre Ausgangsposition zurück. Dieses Intervall wird T1-Relaxationszeit genannt. In der transversalen Richtung wird beobachtet, dass die Spins nach einem bestimmten Intervall untereinander außer Phase geraten. Dieses wird als T2- Relaxationszeit bezeichnet.

Aufgrund des Komplikationsrisikos (0,5%ige Komplikationsrate gemäß Angelucci et al. 1995) und der Invasivität der Methode ist eine Leberbiopsie nicht immer vertretbar und steht daher nicht als Methode zur regelmäßigen Kontrolluntersuchung zur Verfügung. Die BLS ist nur an wenigen Orten verfügbar und kann nur einen geringen Teil des Bedarfs an regelmäßigen Untersuchungen bezüglich des Lebereisens decken. Die quantitative Lebereisenbestimmung durch MRT bietet trotz ihrer Komplexität Vorteile gegenüber anderen Methoden: Sie ist nicht-invasiv (im Gegensatz zur Leberbiopsie), bietet 3-dimensionale Bildgebung und schließt auch tief liegende Organregionen in die Messung mit ein (im Vergleich zur BLS).

1.4.3.1. Möglichkeiten der Eisenquantifizierung durch MRT

Die Magnetresonanztomographie stellt Eisen indirekt dar: Eisenspeicher werden magnetisiert und verursachen ihrerseits lokale Unregelmäßigkeiten im Magnetfeld, was dazu führt, dass Wasserstoffprotonen in der Nähe der Eisenspeicher ihre Phasenkohärenz verlieren. Dieser Effekt ist abhängig von der Eisenkonzentration (Anderson et al. 2001). Eisen führt zu einer Verkürzung der Relaxationszeit. Bei starker Eisenüberladung wird dieser Effekt schon bei Betrachten der MR- Bilder dadurch augenscheinlich, dass das betroffene Gewebe als Folge der niedrigen Signalintensität tiefschwarz erscheint (siehe Abbildung 2). Dieser Effekt verstärkt sich umso mehr, je länger die Echozeit (TE) gewählt wird.

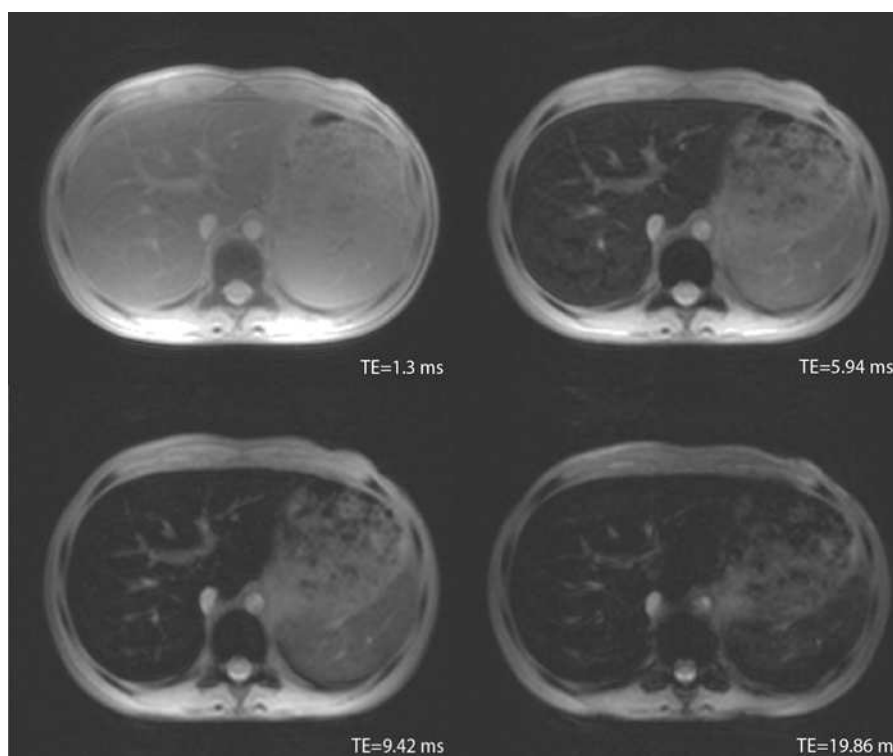


Abbildung 2: Transversale Gradientenecho-Aufnahmen eines Patienten mit moderater Eisenüberladung (620 $\mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht). Leber und Milz zeigen einen Abfall der Signalintensitäten in Abhängigkeit von den Echozeiten TE 1,3ms; 5,94ms; 9,42 ms und 19,86 ms.

Es gibt zwei grundlegende Methoden, um MR-Bilder für die Quantifizierung von Eisen zu erstellen (Wood und Ghugre 2008). Um ein Echo zu erhalten, müssen die desynchronisierten Wasserstoffprotonen rephasiert werden. Dies kann entweder durch einen Hochfrequenz (HF)-Puls (Spin-Echo) oder durch ein starkes zusätzliches Mag-

netfeld, einen Gradienten, erfolgen (Gradienten-Echo). Der Zeitpunkt des Echos wird durch Einstellungen am MR-Tomographen beeinflusst. Je länger die gewählte Echozeit, umso geringer wird die Signalintensität. Betrachtet man die Signalintensität, welche vom abgebildeten Gewebe bestimmt wird, über die länger werdenden Echozeiten, wird erkennbar, dass der Abfall in der Signalintensität einem radioaktiven Zerfall ähnelt. Der Eisen-vermittelte Abfall in der Signalintensität kann demnach durch eine Zeitkonstante ähnlich einer Halbwertszeit beschrieben werden. Wird eine Spin-Echo-Sequenz als Methode gewählt, heißt diese Relaxationszeit T2, bei einem Gradienten-Echo spricht man von T2*. Eisen verkürzt diese Relaxationszeiten (Wood et al. 2005a). Statt der Relaxationszeit wird oftmals der Begriff Relaxationsrate, R2 oder R2*, verwendet. Hierbei handelt es sich um die Reziproke der jeweiligen Zeitkonstante.

$$R2 = 1000/T2$$

$$R2^* = 1000/T2^*$$

Der Faktor 1000 wird eingefügt, da T2 und T2* in Millisekunden und R2 und R2* in reziproken Sekunden (s^{-1}) ausgedrückt werden. Die Verwendung von Relaxationsrate statt Relaxationszeit hat den Vorteil, dass eine erhöhte Relaxationsrate mit erhöhten Eisenkonzentrationen einhergeht. Es handelt sich also um eine positive Korrelation, was die Interpretation der Ergebnisse vereinfacht.

1.4.3.2. Die Spin-Echo-Methode

Nach einem initialen 90°-Puls entsteht eine rotierende Quermagnetisierung, die das MR-Signal erzeugt. Dieses Signal, der freie Induktionszerfall (FID), klingt exponentiell wieder ab, denn die Spins geraten nach Abschalten dieses Initialpulses wieder außer Phase. Dies ist der Prozess, der durch T2 charakterisiert wird: Nach der Zeit T2 ist die Phasenkohärenz per definitionem auf 37% gesunken. Grund sind Wechselwirkungen zwischen den Spins, weshalb man neben transversaler Relaxation auch von Spin-Spin-Relaxation spricht. T2 ist dabei abhängig von der Resonanzfrequenz der Spins (in Abhängigkeit von der Feldstärke), der Temperatur, der Mikroviskosität sowie der Gegenwart großer Moleküle oder paramagnetischer Ionen (Rinck 2003a). Um ein erneutes Echo zu erhalten wird ein 180°-Puls nachgeschaltet mit dem Effekt, dass die zuvor desynchronisierten Spins rephasieren und ein zweites Echo, das Spin-Echo, erzeugen (siehe Abbildung 3).

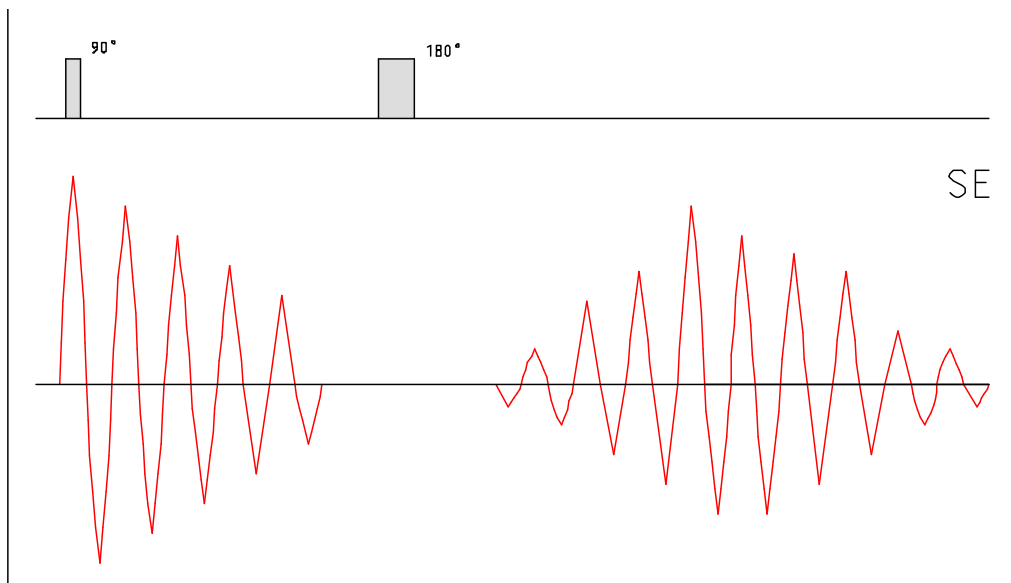


Abbildung 3: Prinzip der Spin-Echo-Sequenz. Das Echo wird durch einen rephasierenden 180°-Puls erzeugt. Die Zeit zwischen Applikation des 90°-Pulses und maximaler Amplitude des Echo-Signals wird Echozeit (TE) genannt (modifiziert nach Rinck 2003d).

1.4.3.3. Die Gradienten-Echo-Methode

Um ein Echo zu erhalten, ist nicht unbedingt ein 180°-Puls notwendig, stattdessen können auch Feld-Gradienten verwendet werden. Ein magnetischer Feldgradient ist eine Änderung des Magnetfeldes in einer bestimmten Richtung, die magnetische Feldstärke unterscheidet sich also an bestimmten Stellen. Die Gradienten-Echo-Sequenz beginnt wie die Spin-Echo-Sequenz mit einem initialen HF-Puls. Der Flipwinkel (FA) kann hier unter 90° betragen, da dadurch die zu erhaltene Signalstärke maximiert werden kann (Rinck 2003b). Nach dem vorausgegangenen HF-Puls werden die Spins durch einen Gradienten dephasiert. Wird dieser Gradient umgepolt, werden die Spins wieder in Phase gebracht, sie werden also rephasiert (Rinck 2003c). Es entsteht ein Echo des FID, das Gradienten-Echo (siehe Abbildung 4). Wichtig ist noch, dass lokale Magnetfeldinhomogenitäten zu einem noch schnelleren Verlust des Signals als durch die Zeit T_2 führen, dieser Effekt wird durch T_2^* beschrieben. Dadurch, dass das Signal schneller abfällt als bei T_2 , werden beim Gradienten-Echo kürzere Echozeiten (TE) und auch kürzere Repetitionszeiten (TR) benötigt, was zu einer kürzeren Messzeit führt (Rinck 2003d). Diese Methode hat vor allem in der Herzeisenmessung an Bedeutung gewonnen und wird hier bereits über Studien hinaus in der Routinediagnostik eingesetzt (Westwood et al. 2003).

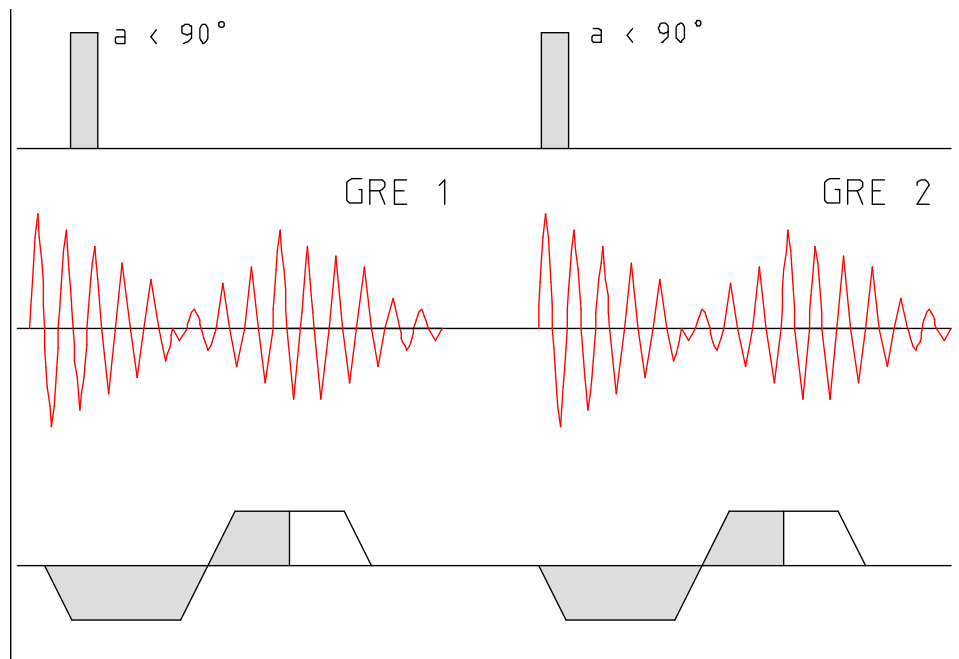


Abbildung 4: Das Gradienten-Echo. Es kann ein kleinerer Flip-Winkel (α) als 90° gewählt werden. Das Echo wird durch die Umpolung des Gradienten gebildet (modifiziert nach Rinck 2003d).

1.4.3.4. Lebereisen durch MRT in der Vergangenheit

MRT ist eine Methode die theoretisch dazu in der Lage ist, Eisen in allen Organen zu messen, die von Eisenüberladung betroffen sein können, beispielsweise Leber, Milz, Herz, Pankreas, Knochenmark und Hypophyse. Die optimale MRT-Methode würde sich durch höchste Präzision und Reproduzierbarkeit auszeichnen und müsste in der Lage sein, eine möglichst hohe Bandbreite bezüglich der Menge des nachweisbaren Eisens abzudecken. In der Vergangenheit hat es verschiedene methodische Ansätze dazu gegeben, darunter Spin-Echo-Sequenzen und Gradienten-Echo-Sequenzen. Zielorgan war vorzugsweise die Leber, vor allem weil hier die Leber-Biopsie als Referenzmethode zur Verfügung steht.

Nachdem Stark et al. 1985 gezeigt haben, dass eine eisenüberladene Leber zu einer moderaten Verkürzung der T1-Relaxationszeit sowie zu einer extremen Verkürzung der T2-Relaxationszeit führt (Stark et al. 1985), konzentrierten sich Kaltwasser et al. 1990 auf Messungen der T2-Relaxationszeit. Es zeigte sich eine hochsignifikante Korrelation von $1/T_2$ und LIC bei einer Magnetfeldstärke von 1.0 und 1.5 Tesla in einer Patientengruppe, deren LIC von 107 bis 1207 mmol/g (entspricht 5.67 bis 63.971 mg/g Lebertrockengewicht) reichte (Kaltwasser et al. 1990). Die Autoren demonstrierten, dass Lebereisen durch die Bestimmung der T2-Zeit durch eine Single Spin-Echo- Me-

thode im klinisch relevanten Bereich (bis zu 400 mmol/g Lebertrockengewicht) genau gemessen werden kann und führte dies auf die Verwendung von möglichst kurzen Echozeiten von $TE=10$ ms zurück. Engelhardt et al. 1994 erkannten die Problematik der zu langen Echozeiten und wählten ihrerseits die im Rahmen ihrer Möglichkeiten kürzeste Echozeit von $TE=20$ ms, um den Einfluss von Eisen auf menschliches Lebergewebe, das Lebergewebe von Ratten sowie wässrige Eisenlösungen, sogenannten Phantomen, mit einer Multi-Spin-Echo-Methode sowie einer Single-Spin-Echo-Methode zu untersuchen (Engelhardt et al. 1994).

Verglichen mit der Multi-Spin-Echo-Methode führte die Single-Spin-Echo-Sequenz zu präziseren $R1$ und $R2$ -Relaxationsraten bei den Phantomen. Es ergab sich ein linearer Zusammenhang zwischen Biopsie-Lebereisen und $R2$ -Relaxationsrate bei Ratten und Patienten. Nachteil der Studienergebnisse war allerdings, dass es ab einer LIC >2 mg/g Leberfeuchtgewicht zu höheren Messunsicherheiten kam (± 0.38 mg/g).

Gomori et al. benutzten 1991 erstmals eine Gradientenecho-Methode, um Speichereisen nachzuweisen. Jedoch konnte die Gruppe nur eine moderate Korrelation zwischen LIC und $R2^*$ beobachten (Gomori et al. 1991). Gandon et al. verfolgten 1994 einen anderen Ansatz: Statt der Berechnung einer Zeitkonstante bildeten Sie das sogenannte Signal Intensity Ratio (SIR), also das Verhältnis der Signalintensitäten von Lebergewebe zu Referenzgewebe (Muskel oder Fett). Als Methode verwendeten sie eine Gradientenecho-Sequenz mit $TE = 30$ msec. Es zeigte sich, dass das SIR in dieser Studie besser mit der LIC korrelierte als $1/T2 (=R2)$ (Gandon et al. 1994). Dies wird unterstützt durch Veröffentlichungen anderer Autoren (Hernandez et al. 1988, Bonkovsky et al. 1990 und 1999). Papakonstantinou et al. beobachteten 1995 jedoch das Gegenteil: In ihrem Patientenkollektiv korrelierte die Zeitkonstante $1/T2$ wesentlich besser mit der LIC als das Leber-zu-Muskel-SIR ($r = 0.97$ gegenüber $r = 0.76$). Sie verwendeten eine Feldstärke von 0.5 Tesla und konnten ein erstes Echo von $TE = 12$ ms für ihre Single Slice Multi-Echo-Sequenz festsetzen. Aufgrund dieser Ergebnisse kann noch nicht abschließend geklärt werden, ob $R2/R2^*$ zu genaueren Ergebnissen als das SIR führt oder umgekehrt.

Die größten Studien wurden in der letzten Zeit von St Pierre et al. und Wood et al. durchgeführt.

St Pierre et al. gelang es 2005, eine Spin-Echo-Methode zu entwickeln, die verlässliche Ergebnisse über die große Bandbreite der LIC liefert und zudem für die klinische Routine geeignet ist. Für die sogenannte FerriScan®-Methode besteht ein festge-

schriebenes Protokoll, um sicherzustellen dass alle teilnehmenden Kliniken dieselben MRT-Voreinstellungen verwenden. Die durch FerriScan® erhobenen MR-Daten werden elektronisch verschickt und an zentraler Stelle ausgewertet. Die Gruppe um St Pierre erstellte eine Kalibrierkurve für ihre Spin-Echo-Methode, indem die Messergebnisse von R2 gegen die Ergebnisse der LIC nach Leberbiopsie aufgetragen wurden (St Pierre et al. 2005). Es ergab sich ein hochsignifikanter kurvilinearere Zusammenhang ($r_s = 0.98$, $p < 10^{-4}$) für die gemessene Bandbreite von 0.3 bis 42.7 mg Eisen/ g Lebertrockengewicht. Die Variabilität zwischen einzelnen Messungen beim selben Patient fiel mit 7% vergleichsweise niedrig aus. Darüber hinaus wurde die Methode durch die Messung von Phantomen auf Manganchlorid-Basis auf 13 verschiedenen MR-Tomographen auf ihre Reproduzierbarkeit hin validiert. Diese Studie führte letztendlich zur Akzeptanz der FerriScan®-Methode durch die amerikanische FDA (Food and Drug Administration) und ist somit in den USA für die klinische Routine zugelassen.

Im selben Jahr veröffentlichten Wood et al. eine Arbeit, in der sie durch Berechnung von R2 und R2* die Kalibrierkurve von St Pierre et al. 2005 bestätigten (Wood et al. 2005a). Diese unabhängige Bestätigung gilt als Beweis, dass die MR-Technik auf verschiedenen Plattformen reproduzierbar ist (Wood und Ghugre 2008)

1.4.3.5. Durchbruch in der Bestimmung des Herzeisens durch MRT-T2*

Im Jahre 2001 gelang es, eine Gradientenecho-Methode zu entwickeln, deren resultierende Zeitkonstante T2* hochsignifikant ($r = 0.93$, $p < 10^{-4}$) mit der LIC sowie der Herzfunktion korrelierte (Anderson et al. 2001). Es zeigte sich ein inverser, kurvilinearere Zusammenhang von Leber-T2* mit LIC nach Biopsie. Zudem wurde ein Zusammenhang von niedrigem Herz-T2* und verringerter links-ventrikulärer Ejektionsfraktion, erhöhtem end-systolischem Volumen im linken Ventrikel sowie erhöhter links-ventrikulärer Masse festgestellt, was von besonderem Augenmerk ist, da Herzversagen als häufigste Todesursache bei Eisenüberladungserkrankungen wie der Thalassemia major identifiziert wurde (Borgna-Pignatti et al. 2004). Interessanterweise zeigte sich kein Zusammenhang von Leber- und Herz-T2* und auch kein Zusammenhang von Herz-T2* zu Serum-Ferritin, sodass sich aus den Resultaten ergibt, dass Leber und Herzparameter getrennt voneinander betrachtet werden müssen, um gefährdete Patienten frühzeitig zu erkennen.

2. Patienten und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Patienten, bei denen routinemäßig das Lebereisen mittels BLS gemessen und das Herzeisen durch MRT bestimmt wird, wurden im Zeitraum von Januar 2008 bis Juli 2010 zusätzlich im MRT bezüglich ihres Lebereisens gescannt. Die Anwendungsbeobachtung umfasst 69 Messungen bei 53 Patienten (23 Frauen, 30 Männer), medianes Alter zum ersten Untersuchungszeitpunkt betrug 30 Jahre (Bereich 7-79 Jahre). Einige Patienten wurden im Verlauf mehrfach gemessen (n=13), 10 Patienten im gegebenen Zeitraum 2-mal und 3 Patienten 3-mal. Bei 9 Patienten wurde zusätzlich das Milzeisen durch BSS und MRT untersucht. Alle teilnehmenden Personen gaben ihr schriftliches Einverständnis für die Untersuchungen. Eine detaillierte Auflistung der teilnehmenden Patienten und zugehörige Parameter befindet sich in Tabelle 2.

Ziel war es, mit den untersuchten Patienten eine große Bandbreite der Eisenkonzentration von Leber und Milz abzudecken, weshalb Patienten mit bekannter Eisenüberladung (n=48) und auch Normalpersonen (n=5) in die Population mit einbezogen wurden. Bei einer Normalperson ergab sich eine erhöhte LIC unbekannter Genese, daher wird diese zur Patientengruppe gezählt.

In der Patientengruppe stellen die Thalassämie-Syndrome die häufigste Gruppe: β -Thalassämie major (n=27), β -Thalassämie intermedia (n=3), α -Thalassämie major (n=1).

Eine weitere Gruppe stellen verschiedene Transfusionssiderosen (n=16): Diamond-Blackfan-Anämie (n=3), Knochenmarkstransplantation nach Akuter Myeloischer Leukämie (n=2), Knochenmarkstransplantation nach Hämophagozytischer Lymphohistiozytose (n=1), Sideroachrestische Anämie (n=1), Aplastische Anämie (n=1), hereditäre Hämochromatose (n=2), Kongenitale Dyserythropeotische Anämie (n=1), V.a. Myelodysplastisches Syndrom (n=3), Pyruvatkinasemangel (n=1), Zustand nach Wilms-Tumor (n=1) und zuletzt der Patient mit unklarer Eisenüberladung (n=1).

Die mediane LIC für alle 69 Messungen gemäß der Referenzmethode BLS betrug 1718 $\mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht (Bereich 57-9454 $\mu\text{g/g}$), der Zeitabstand zwischen den Messungen im Biosuszeptometer und MRT betrug 27,8 Tage (Bereich 0-178 Tage).

Von 53 teilnehmenden Personen waren 12 Patienten splenektomiert, davon 10 mit β -Thalassämie major, 1 Patient mit β -Thalassämie intermedia und 1 Patient mit

Pyruvatkinasemangel. Medianes Alter bei Splenektomie war 8,7 Jahre (3,9-29,7 Jahre).

Von den 53 Teilnehmern waren 39 unter Chelatortherapie, die Dauer der Therapie betrug im Median 17,2 Jahre (0,01-29,8 Jahre). 42 Patienten waren unter Transfusions-therapie, die Dauer betrug dabei im Median 20,8 Jahre (0,66-35,76 Jahre).

Bei 46 Teilnehmern wurde das Lebervolumen, welches im Median 1593 cm³ betrug (604-3216 cm³), sonographisch bestimmt. Bei 29 Patienten wurde auch das Milzvolu-men sonographisch gemessen, es betrug im Median 366 cm³ (50-930 cm³).

Folgende Laborparameter wurden routinemäßig im venösen Blut bestimmt: Serum-Ferritin (n=50) und ALT (n=26). Serum-Ferritin-Werte waren im Median 1703 µg/L (50-10529 µg/L), die ALT lag im Median bei 34 U/L (13-176 U/L).

Tabelle 2: Patientenpopulation. Werte sind entweder einzeln, als Bereich und/oder als Median angegeben. MDS= Myelodysplastisches Syndrom, HH= Hereditäre Hämochromatose, KMT n. AML= Knochenmarkstransplantation nach akuter myeloischer Leukämie, HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose, DBA= Diamond-Blackfan-Anämie, CDA= chronische dyserythropoetische Anämie, AA= aplastische Anämie, SA= Sideroachrestische Anämie

Parameter	n	w/m	Alter (Jahre)	LIC(BLS) (µg/g)	Splenektomie
β-Thal major	27	10/17	27 (7-36)	2159 (597-9454)	n=10
β-Thal intermedia	3	1/2	46 (42-50)	1600 (799-3242)	n=1
α-Thal major	1	-/1	12	952	-
V.a. MDS	3	1/2	63-78	1754-7681	-
HH	2	1/1	44-66	191-4435	-
KMT n. AML	2	1/1	17-19	2748-2856	-
KMT n. HLH	1	-/1	18	1409	-
DBA	3	2/1	16-32	583-6329	-
CDA	1	1/-	59	2271	-
AA	1	1/-	35	3062	-
SA	1	1/-	30	4327	-
Pyruvatkinasemangel	1	-/1	14	2707	n=1
Z.n. Wilms-Tumor	1	1/-	14	1479	-
Unklare Eisenüberladung	1	1/-	22	634	-
normal	5	2/3	22-65	57-377	-
Summe	53	23/30	n=53	n=53	n=12

2.2. Biomagnetische Lebersuszeptometrie

2.2.1. Grundlagen der Biosuszeptometrie

Die BLS beruht auf der physikalischen Theorie der Magnetostatik, welche das Verhalten von Materie in einem Magnetfeld B_0 (magnetische Flussdichte) beschreibt. Materie im externen Feld B_0 erfährt eine Magnetisierung M , woraus ein Gesamtfeld B resultiert (Gleichung 1). Dabei ist die Magnetisierung proportional zu B_0 , wobei die Proportionalitätskonstante (= magnetische Suszeptibilität χ) eine spezifische Materialeigenschaft darstellt.

$$B = M + B_0 = \chi \cdot B_0 + B_0 \quad (\text{Gleichung 1})$$

Je nach Substanz variiert die magnetische Suszeptibilität in der Stärke und in der Richtung relativ zum Magnetfeld und kann so diagnostisch genutzt werden. Ferromagnetische Substanzen wie Eisen, Kobalt und Nickel verursachen die stärkste positive Magnetisierung im Vergleich mit anderen Materialien. Im menschlichen Körper gibt es allerdings kein Gewebe mit ferromagnetischen Eigenschaften, sondern nur solche mit diamagnetischen (schwach negative Magnetisierung) und paramagnetischen (positive Magnetisierung) Eigenschaften. Paramagnetische Substanzen wie Hämosiderin- und Ferritin-Eisen verstärken das Magnetfeld, während diamagnetische Substanzen wie Wasser, Fett, Haut und Muskel das anliegende Magnetfeld abschwächen (Fischer und Farrell 2007). Bei der BLS wird die paramagnetische Suszeptibilität des in Hämosiderin und Ferritin gespeicherten Eisens im Vergleich zum diamagnetischen Untergrund, welcher hauptsächlich durch das über der Leber liegende Thoraxgewebe bestimmt wird, gemessen. Die paramagnetische Suszeptibilität der Eisenkomplexe ist dabei direkt proportional zur Lebereisenkonzentration (Brittenham et al. 1982). Wird ein Körper mit magnetischen Eigenschaften (z.B. eine Eisen-überladene Leber) in einem stabilen Magnetfeld bewegt, verändert sich das Magnetfeld. Diese Feldänderung induziert in einer geeigneten Detektorspule einen Strom, der einem bestimmten Spannungswert entspricht. Die Höhe der Spannungsänderung hängt vom Magnetisierungsgrad des Körpers und dem Abstand zur Detektorspule ab. Die Messung der magnetischen Suszeptibilität der Leber relativ zu einem Referenzmedium (Wasser), $\Delta\chi$, erlaubt die Berechnung der Lebereisenkonzentration, LIC (Gleichung 2) (Fischer und Farrell 2007):

$$\text{LIC} = \Delta\chi / \zeta_{\text{Hämosiderin/Ferritin}} \quad (\text{Gleichung 2})$$

wobei die spezifische magnetische Suszeptibilität von Hämosiderin- und Ferritin-Eisen, $\zeta_{\text{Hämosiderin/Ferritin}}$, mit $1,6 \cdot 10^{-3}$ SI - Einheiten bestimmt wurde (Williamson und Kaufman 1981).

Die Beiträge anderer paramagnetischer Materialien wie Sauerstoff, Desoxyhämoglobin und von einigen Spurenmetallen sind dabei so gering, dass die Messung als spezifisch für Ferritin- und Hämosiderineisen gilt (Brittenham et al. 1982).

Im Gegensatz zur Magnetresonanztomographie, bei der die atomare magnetische Suszeptibilität der Eisenkomplexe zu einem veränderten nuklearen Resonanzverhalten der Protonen führt, welche im MRT bei hoher Lebereisenkonzentration zu einem schnellen Signalabfall führt, wird die magnetische Suszeptibilität des Lebereisens bei der BLS direkt bestimmt.

2.2.2. Aufbau des Biosuszeptometers

Die Untersuchungen der Patienten, deren Ergebnisse Teil dieser Arbeit sind, wurden mit einem 2-Kanal-SQUID-Biosuszeptometer (Biomagnetic Technologies Inc., San Diego, USA) durchgeführt.

Das Hamburger Biosuszeptometer befindet sich in einem Raum aus Holz und eisenfreien Metallen mit geringer magnetischer Signatur, da schon kleinste Magnetfeldänderungen Einfluss auf die Messung haben. Das Gerät enthält zwei SQUID-Detektoren, die sehr sensitiv sind und bereits auf geringe Magnetfeldänderungen ($> 0,1 \mu\text{Tesla}$) reagieren. Die Patienten liegen unter einer Wasserkopplungsmembran (Wasserkissen) mit einem Durchmesser von 25 cm. Die Sensoreinheit besteht aus supraleitenden Magnetfeldspulen zur Erzeugung eines inhomogenen externen Magnetfeldes ($< 30 \text{ mTesla}$), 2 Gradiometern 2. Grades zur Detektion der Feldänderungen und 2 rf-SQUIDs, die über Flusstransformer an die Gradiometer gekoppelt sind (siehe Abbildung 5). Die Magnetfeldspulen arbeiten bei der Temperatur flüssigen Heliums ($4,2\text{K}$), welches sich in einem 20-Liter-Behälter befindet.

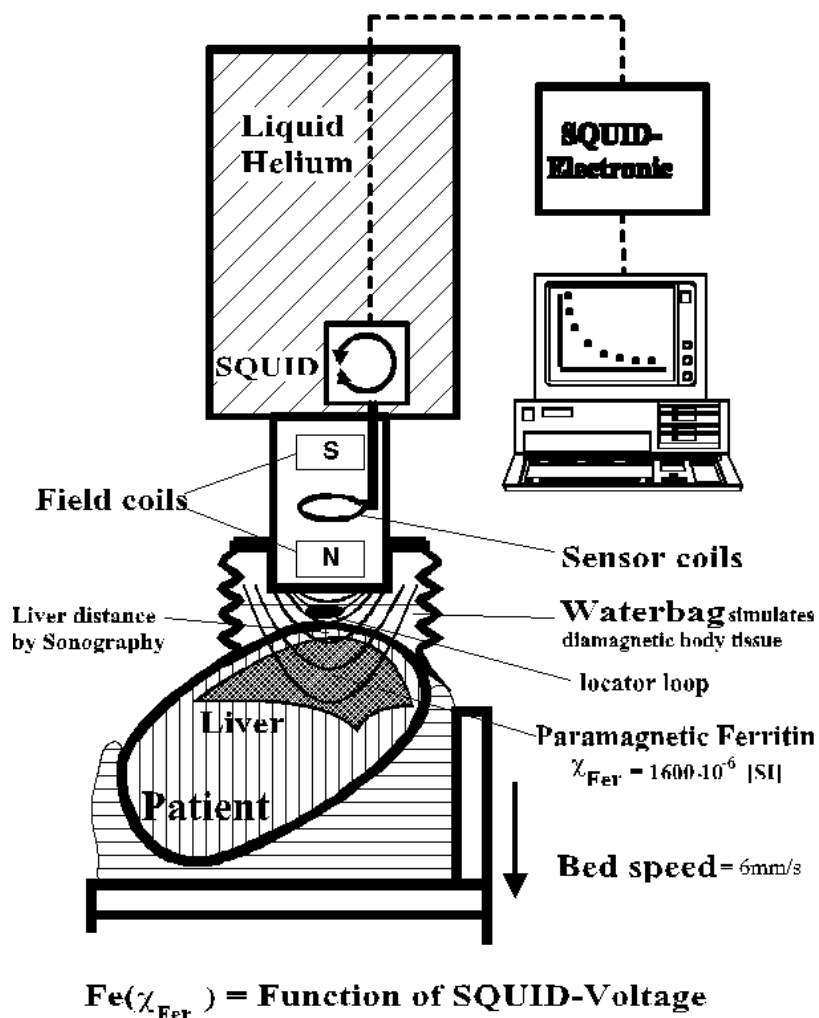


Abbildung 5: Schematischer Aufbau des Biosuszeptometers (Fischer 1998)

2.2.3. Ablauf der Untersuchung

Die folgende Beschreibung beschäftigt sich ausschließlich mit der Messung der Leber-eisenkonzentration (LIC). Die Messung der Konzentration des Milzeisens ist erst möglich, wenn das Volumen der Milz 400 cm^3 übersteigt (Zander 2002). Vor Beginn der Messung wird der individuelle Gewebebeitrag, welcher durch die Schicht über der Leber bedingt ist, anhand von Größe und Gewicht des Patienten ermittelt. Zusätzlich wird

der Torso-Radius beim liegenden Patienten mittels eines flexiblen Konturenstabs ausgemessen.

Der Patient wird in Rückenlage mit 30 - 45° rotierter Körperachse auf einer auf- und abwärts fahrbaren Liege positioniert, so dass die Leber unter dem Detektor zu liegen kommt. Der Abstand zwischen Hautoberfläche und Leber wird mit einem Ultraschallgerät (Typ CS 9500, Firma Hitachi-Picker) mit einem linearen Schallkopf (3,5 MHz, Länge 10 cm) auf weniger als 1 mm genau ausgemessen: Hierzu werden 4 Ultraschallbilder von definierten und Laser geführten transversalen, sagittalen und diagonalen Leberschnitten erstellt, anhand derer der Abstand zwischen Schallkopf und Leberoberfläche ausgemessen und gemittelt wird. Die Lebergeometrie wird als Ellipsoid durch transversale und sagittale Ultraschallbilder bestimmt. Der Patient wird mittels einer Vakuummatratze fixiert. Er wird mit der Liege unter die Detektorspulen des Biosuszeptometers verschoben und mit Hilfe einer Positionierungsspule für die Messung zentriert. Dieselbe Positionierungsspule auf der Hautoberfläche des Patienten bestimmt während der Messung den Abstand von der Hautoberfläche des Patienten zur untersten Detektorspule des Gerätes bis auf weniger als 0,5 mm genau. Während der Messung wird der liegende Patient in dem inhomogenen Magnetfeld in 13 Sekunden etwa 8 cm abwärts bewegt. Dabei wird die durch die SQUIDs digitalisierte Änderung des magnetischen Flusses in Form von analogen Spannungsänderungen als Funktion des Detektor-Haut-Abstandes gemessen. Da die Leber atemverschieblich ist, wird der Patient während der Messung aufgefordert, nach dem Ausatmen die Luft für etwa 13 Sekunden anzuhalten. So werden Bewegungen der Leber und Einflüsse der Lunge auf die Messergebnisse minimiert. Während der Messung wird die Wasserkopplungsmembran kontinuierlich mitgeführt, so dass diese zu jedem Zeitpunkt der Messung den Raum zwischen der Detektorspule und der Hautoberfläche des Patienten ausfüllt (siehe Abbildung 6). Da Wasser eine ähnliche magnetische Suszeptibilität wie das über der Leber liegende Gewebe besitzt, wird der magnetische Beitrag des Gewebes aufgehoben. Das gemessene Signal ist letztendlich proportional zur Differenz der Suszeptibilität zwischen dem Eisen in der Leber und Wasser (Sheth 2003).

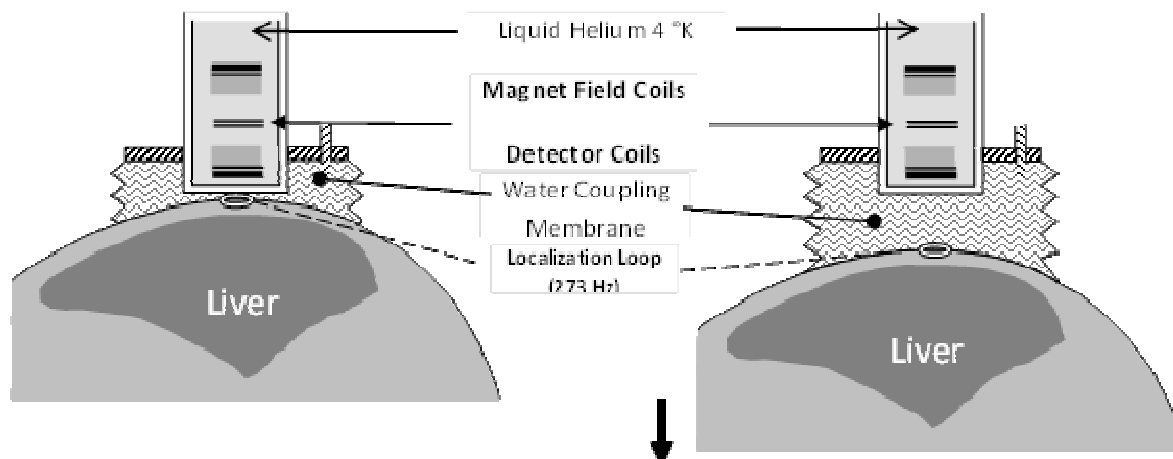


Abbildung 6: Aufbau der Messeinheit (mit freundlicher Genehmigung von Roland Fischer und Paul Harmatz)

Ausgehend von der Startposition (links in Abbildung 6) wird der Patient etwa 8 cm abwärts bewegt. Mit zunehmendem Abstand zu den Feldspulen verringert sich das Magnetfeld, welches die Leber umgibt, von anfangs 20-30 milliTesla bis auf 1 milliTesla. Während der gesamten Messung liegt die Wasserkopplungsmembran am Patienten an. Die Änderung des Magnetflusses wird als Funktion des Abstandes von den Detektorspulen registriert und von der SQUID-Elektronik digitalisiert.

Die Messung wird je nach Reproduzierbarkeit der Ergebnisse 3- bis 4-mal durchgeführt, um einen Mittelwert der gemessenen Lebereisenkonzentration zu erhalten. Der Untersucher erhält bereits während der Messung ein Online-Ergebnis über die LIC in $\mu\text{g/g}$ Lebergewicht, welches sich vom Endergebnis nach graphischer Auswertung der Daten nur geringfügig unterscheidet. Die Prozesssteuerung während der Messung, die Aufzeichnung der Messsignale und die online Analyse werden mit Hilfe eines Hewlett-Packard-Computers (HP 320) durchgeführt.

2.2.4. Volumenbestimmung von Leber und Milz durch Sonographie

(entnommen der Dissertation von Angela Kröhnke 2001)

Die Volumenbestimmung der beiden Organe dient der Berechnung der Gesamtkörper-eisenmenge sowie zusätzlich auch als Therapieüberwachung im Hinblick auf eventuelle Größenveränderungen von Leber und Milz und wird im Anschluss an die biosuszeptometrische Messung durchgeführt. Es wird das Verfahren der Planimetrie angewendet (Leung NW et al. 1986).

Dazu wird derselbe Ultraschallkopf wie oben verwendet. Zur Positionierung des Schallkopfes wird ein Laserkreuz auf die Haut projiziert und der Schallkopf parallel zur Körperachse und senkrecht zur Liegefläche ausgerichtet. Durch Verschieben der Liege in der Horizontalen und Vertikalen in Abständen von jeweils 2 cm werden Schnittbilder der beiden Organe aufgezeichnet. Anschließend umfährt der Untersucher die Organkonturen, um die Fläche mithilfe der Software des Sonographen zu berechnen. Durch Addition der Flächen erhält man das Leber- bzw. Milzvolumen.

Aus der gemessenen Lebereisenkonzentration und dem Lebervolumen sowie Milzeisenkonzentration und Milzvolumen kann schließlich das Gesamtkörpereisen mit einer Variabilität von $\pm 10\%$ (Fischer et al. 1999) berechnet werden.

2.3. MRT

2.3.1. MRT-Protokoll

Die MRT-Untersuchungen erfolgten an einem 1.5 Tesla Gerät (Magnetom Symphony®, Siemens AG, Erlangen) mit einer 4 Elemente Phased-Array Oberflächenspule.

Um Auskünfte über die Topographie von Herz, Leber und Milz zu erhalten, wurde zunächst eine Suchschicht (Localizer) in sagittaler, coronarer und transversaler Schichtführung angefertigt. Zur genaueren Organausdehnung und zur späteren Volumenbestimmung von Leber und Milz wurden zusätzlich T2-HASTE-Sequenzen und In/Opposed Phase-Sequenzen appliziert.

Daraufhin wurde unter Orientierung an der Wirbelkörpermitte eine Region für transversale Schnitte ausgewählt, die den größten Leber- und Milzdurchmesser umfasst (Abbildung 7).

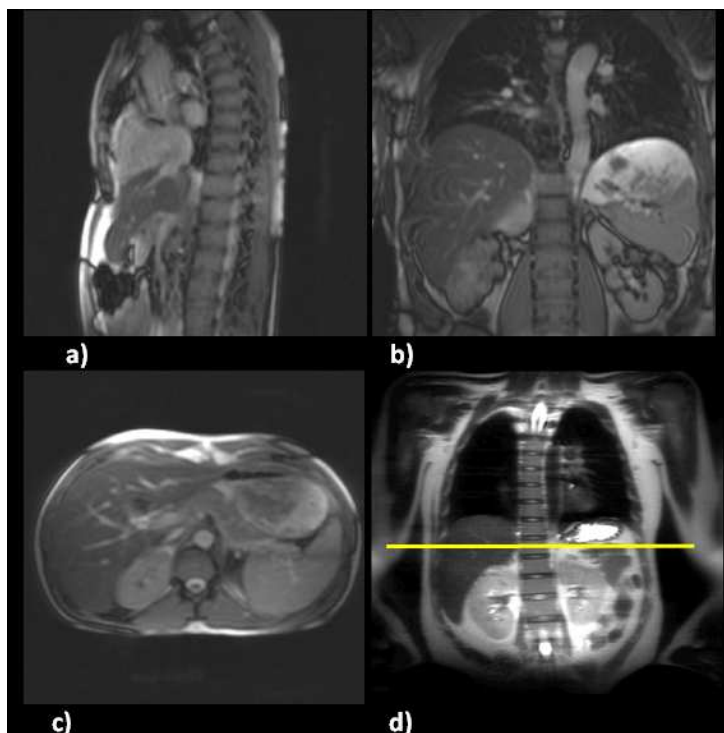


Abbildung 7: MRT-Localizer im a) sagittalen, b) coronaren und c) transversalen Schnitt und d) Auswahl der Schicht mit Leber und Milz im größtmöglichen Durchmesser

Durch eine EKG-getriggerte Gradienten-Multiechosequenz ($R2^*$) wurden auf dieser Höhe 12 transversale Schnitte von je 10 mm Schichtdicke zu verschiedenen Echozeiten angefertigt (siehe Abbildung 8), wobei die Atemanhaltezeit etwa 15 Sekunden betrug. Die Entscheidung für diese Sequenz als Standard-MR-Methode für die Leber- und Milzeisenmessung fiel aufgrund der am UKE bereits routinemäßig durchgeführten Herzeisenmessungen mit dieser Sequenz. Die wichtigsten Parameter sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Parameter der EKG-getriggerten Gradienten-Multiechosequenz (R2*)

Echozeit TE (ms)	1.3, 2.46, 3.62, 4.78, 5.94, 7.1, 8.26, 9.42, 11.74, 15.22, 19.86, 25.66
effektive Repetitionszeit TR	RR-Zyklus abhängig
Flipwinkel FA	20°
Schichtdicke	10 mm
Pixel-Bandbreite	1955 Hz/Pixel
Matrix (rows and columns)	208 x 256
Pixelgröße (mm ²)	(1.25 mm x 1.25 mm) = 2.25 mm ²
Zahl der Mittelungen	1 bzw. 3

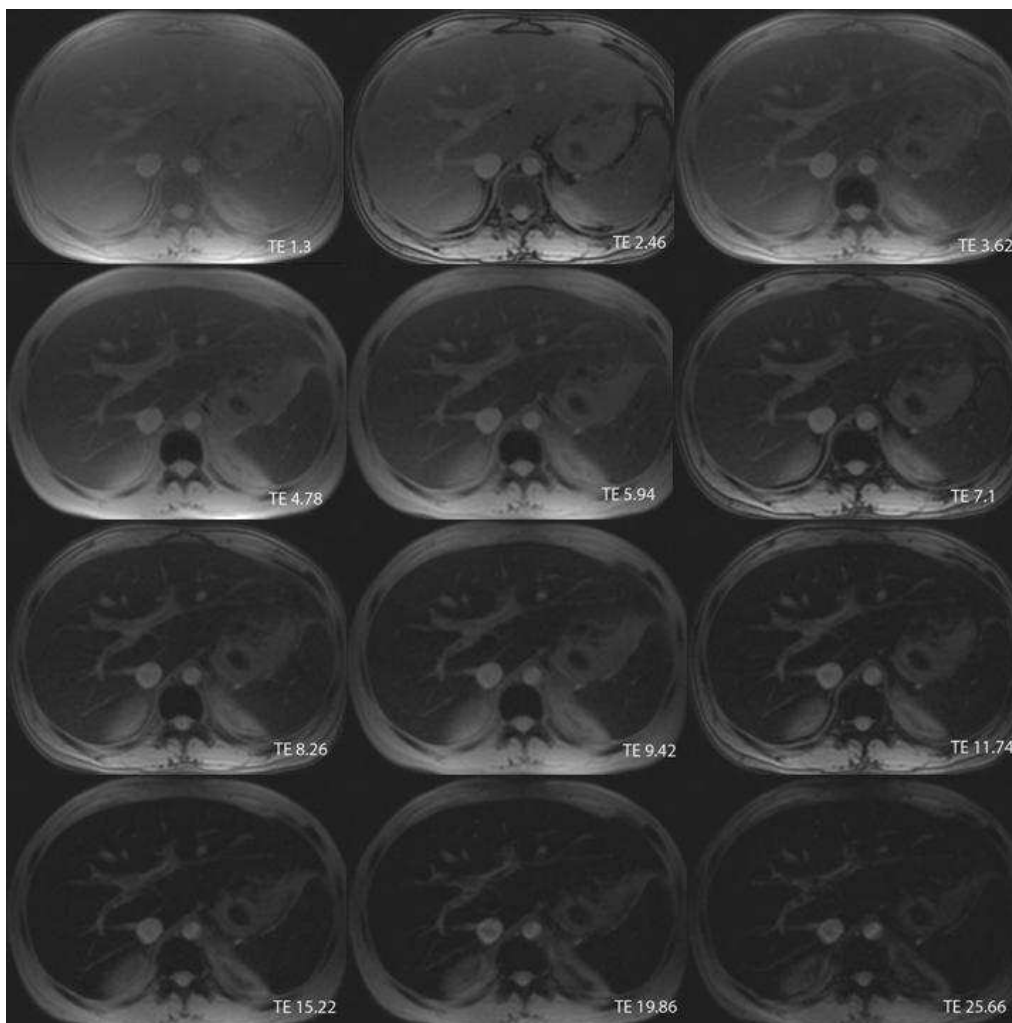


Abbildung 8: 12 Leberschichtaufnahmen der EKG-getriggerten Gradienten-Multiechosequenz bei einem 14-jährigen Patienten (Patient 1) mit β -Thalassämie major und Eisenüberladung (1718 $\mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht). Ein Abfall der Signalintensität in Leber und Milz bei zunehmender Echozeit (TE) wird deutlich.

2.3.2. Auswertung der MRT-Bilder

Die im DICOM-Format gespeicherten Bilder wurden an einem externen Computer mit einer Software (CMRtools®; Cardiovascular Imaging Solutions Ltd., London, UK) bearbeitet und ausgewertet. Erster Schritt bei der Auswertung der MR-Bilder ist das Setzen eines geeigneten Auswerte-Fensters (ROI). Zur Auswertung unserer R2*-Sequenz verwendeten wir für die Leber insgesamt 3 verschiedene ROIs, um diese untereinander zu vergleichen und eventuelle Unterschiede im Ergebnis zu erkennen. Die ROIs wurden mit 1) Leberschicht 2) Leberperipherie und 3) Rechts-ventral bezeichnet. Um die Relaxationsrate der Milz zu ermitteln, wurde hier eine zusätzliche ROI 4) Milz gesetzt (zu den ROIs siehe Abbildung 9).

Die erste ROI („Leberschicht“) wurde so gewählt, dass die gesamte Leberschicht unter Ausschluss von Gallengängen und Lebergefäßen repräsentiert wird. In „Peripherie“ stellt die Leberperipherie den Hauptanteil, während hilusnahe Gefäße nicht erfasst werden. In „Rechts-ventral“ wird der rechte ventrale Leberanteil gewählt unter der Annahme, dass diese ROI den bei der BLS-Methode erfassten Leberbereich am besten widerspiegelt. Zuletzt wurde noch die Milz in ihrer größten Ausdehnung erfasst. Der Ausschluss von Gefäßen aus den jeweiligen ROIs geschieht aufgrund der Tatsache, dass Gefäße in ihrem Signalverhalten eine längere Relaxationszeit zeigen, was zu einem falsch langen T2* (entspricht falsch niedrigem R2*) führt (McCarville et al. 2010).

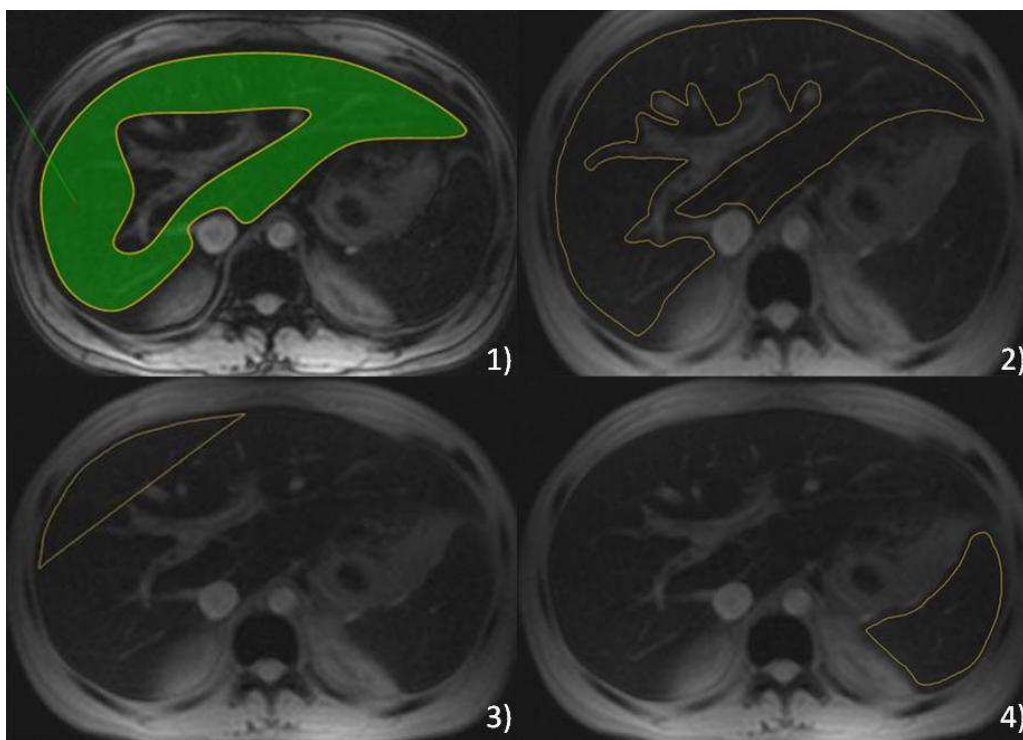


Abbildung 9: Darstellung der ROIs am Beispiel des Patienten 1.
1) Leberschicht, 2) Leberperipherie, 3) Rechts-ventral, 4) Milz

Für jede ROI wurden die mittleren Signalintensitäten in Abhängigkeit von TE sowie die Standardabweichungen (SD) ermittelt. Anschließend wurden die Daten in das Softwareprogramm Slide Write Plus 7.0 kopiert, um eine Modellkurve an diese anzupassen (= fitten). Hierbei wurde eine Gewichtung nach Standardabweichungen vorgenommen ($1/SD^2$), mit der Folge, dass Punkte mit einer geringeren SD den Kurvenverlauf in einem höheren Maße bestimmen (Methode der kleinsten Quadrate). Durch einen monoexponentiellen Fit erhält der Auswerter schließlich eine kurvilineare Funktion, die das Signalverhalten der jeweiligen ROI in Abhängigkeit von den Echozeiten beschreibt.

Bei Gradientenecho-Methoden kann die Signalintensität (SI) als eine Funktion der Echozeit (TE), der Repetitionszeit (TR) und des Flipwinkels α betrachtet werden plus eines Signaluntergrundes (SI_{LO}). Die longitudinale Relaxationsrate R_1 ($1/T_1$) und die transversale Relaxationsrate R_2^* ($1/T_2^*$) können gemäß Gleichung (3) bestimmt werden (Wismer et al. 1988).

$$SI(TE,TR) = SI(0) \exp(-TE \cdot R_2^*) [1 - \exp(-TR \cdot R_1)] \cdot \sin\alpha / [1 - \cos\alpha \cdot \exp(-TR \cdot R_1)] + SI_{LO}$$

(Gleichung 3)

Folgende Parameter sind als konstant gegeben, sodass Gleichung (3) zu Gleichung (4) reduziert werden kann:

$\alpha = 20^\circ = \text{konstant}$, $R_1(1/T_1) = \text{konstant}$, Siemens retrograde ECG trigger: $TR = TR_{\text{effective}} = \text{variabel mit dem Herzraten-Intervall (RR)}$

Demzufolge ergibt sich Gleichung (4):

$$SI(TE) = SI(0) \exp(-TE \cdot R_2^*) + SI_{LO}$$

(Gleichung 4)

Es ergibt sich somit ein monoexponentieller 3-Parameter-Fit mit den Parametern $SI(0)$, R_2^* und SI_{LO} .

Auf den folgenden Abbildungen 10 und 11 können die einzelnen Kurvenparameter anhand des Beispiels von Patient 1 demonstriert werden: $SI(TE)$ ist die von der jeweiligen TE abhängige Signalintensität, $SI(0)$ ist die maximale Amplitude der Signalintensität, also dort, wo die Kurve die y-Achse schneidet. TE ist gegeben und R_2^* die gesuchte Größe.

2.3.3. Signaluntergrund (SI_{LO})

Die Konstante SI_{LO} ist nötig, um Beiträge vom Hintergrundrauschen des MRT und darüber hinaus von Geweben (Blutgefäße, Gallengänge) mit längeren Relaxationszeiten zu unterdrücken (Wood et al. 2005a). Diese neigen dazu, den SI_{LO} zu vergrößern. Der SI_{LO} beschreibt daher das asymptotische Verhalten der Exponentialfunktion (Gleichung 4), wie man exemplarisch anhand der längeren Echozeiten (ab $TE=18$ ms) der Abbildungen 10 und 11 erkennen kann. Wenn der Fit für den SI_{LO} nicht zu einer realistischen Größe konvergiert, wird der SI_{LO} in erster Näherung aus der Signalintensität im Atmungsartefakt-freien Raum bestimmt (St Pierre et al. 2004).

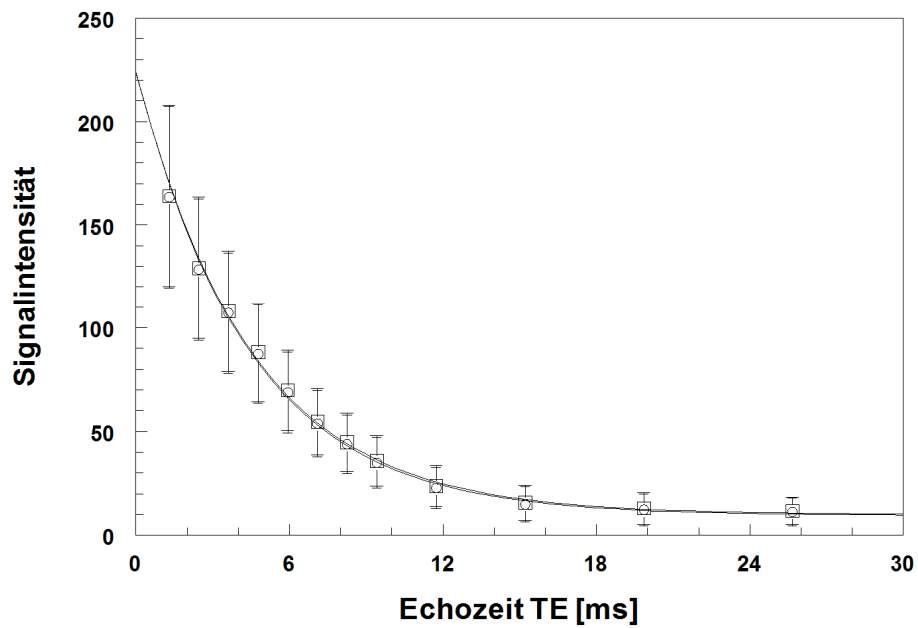


Abbildung 10: Darstellung der Signalintensität in Abhängigkeit von TE für Patient 1.
 ROI 1: Leberschicht (Kästchen) mit $R2^* = 223 \pm 8 \text{ s}^{-1}$ und $r^2 = 0,99$.
 ROI 2: Leberperipherie (Kreise) mit $R2^* = 225 \pm 8 \text{ s}^{-1}$ und $r^2 = 0,99$.
 Die Kurven sind nahezu deckungsgleich.

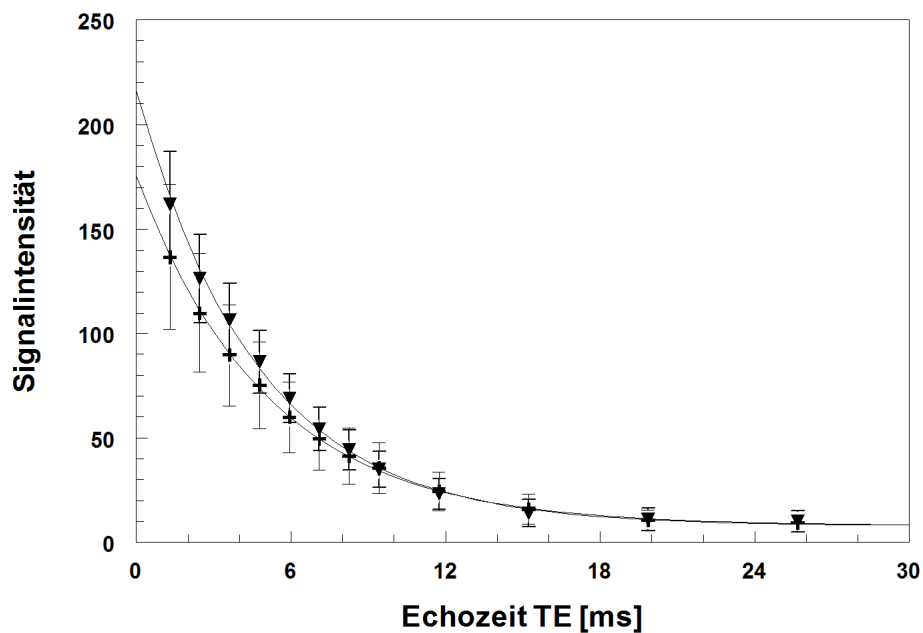


Abbildung 11: Darstellung der Signalintensität in Abhängigkeit von TE für Patient 1.
 ROI 3) Rechts-ventral (Dreiecke) mit $R2^* = 214 \pm 7 \text{ s}^{-1}$ und $r^2 = 0,99$.
 ROI 4) Milz (Kreuze) mit $R2^* = 197 \pm 4 \text{ s}^{-1}$ und $r^2 = 0,99$.

2.3.4. EKG-Triggerung

Das Prinzip der EKG-Triggerung stammt aus der kardialen Bildgebung, da hier Bewegungs- und Flußartefakte eine Problemquelle darstellen. Dies kommt daher, dass Protonen sich durch die Pulsabhängigkeit ihrer Lage in aufeinanderfolgenden Sequenzen nicht zu jedem Zeitpunkt an derselben Stelle befinden (Reubelt 2009). Schichtaufnahmen der Leber werden zwar nicht durch eine kardiale Rhythmik beeinflusst, dennoch können Pulswellenartefakte durch die anatomisch benachbarte Vena cava auftreten. Bei der EKG-Triggerung wird die R-Zacke, welche die Kontraktion der Ventrikel widerspiegelt, detektiert und die Sequenz R-Zacken-gesteuert ausschließlich im diastolischen Zustand und erschlafften Ventrikeln appliziert.

2.3.5. Zahl der Mittelungen

Die Zahl der Mittelungen (engl. NEX = number of excitations) ist mitbestimmend für die Bildqualität und die Aufnahmezeit. So stellt jeder Zyklus, in dem eine Sequenz appliziert wird, eine Mittelung dar, der Zyklus kann wiederholt werden, um das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu erhöhen. Allerdings vervielfacht sich auch die Aufnahmezeit um die Zahl der Mittelungen. In unserer Anwendungsbeobachtung arbeiteten wir durchgehend mit 1 Mittelung bei EKG-getriggter Sequenz. Als Vergleich verwendeten wir zusätzlich eine Sequenz mit 3 Mittelungen ohne EKG-Triggerung für ein kleineres Patientenkollektiv (n=21).

2.3.6. Volumenbestimmung von Leber und Milz

Neben der Volumenbestimmung durch die Sonographie werteten 2 Untersucher zusätzlich die Volumina von Leber und Milz anhand von MRT-Bildern aus. Dazu eignen sich die eingangs erwähnten T2 HASTE und die In/ Opposed Phase-Sequenzen. Schicht für Schicht werden hierfür die Flächen des jeweiligen Organs umfahren und die Flächen bestimmt. Aus der Summe der Flächen und dem Abstand zwischen den Schichten ergibt sich das Organvolumen.

2.4. Statistische Methoden

Die in dieser Arbeit verwendeten statistischen Methoden sollen im Folgenden zusammengefasst werden. Im Kapitel 2.3.2. wurde bereits beschrieben, dass die Modellkurven den mittleren Signalintensitäten in Abhängigkeit von TE nach Wichtung mit $1/SD^2$ angepasst wurden.

Für die Kalibrierkurve, $R2^* = \text{Funktion (LIC-BLS)}$, wird ein nicht-linearer Fit nach Wichtung mit den Standardfehlern von $R2^*$ und LIC-BLS ($1/SE^2$) durchgeführt. Zusätzlich wird für die Kalibrierkurve der relative Altman-Bland-Test als nicht-parametrischer

Test angewendet, um systematische Abweichungen der beiden Methoden R2* und LIC-BLS festzustellen. Bei allen Fits wird das reduzierte Chi-Quadrat (χ_v^2) mit angegeben. Korrelationen zwischen 2 verschiedenen Variablen werden in dieser Arbeit mit Hilfe des Spearman-Rang-Korrelationskoeffizienten (r_s) beschrieben. Bei dem Vergleich von 2 Variablen mit offensichtlichem Zusammenhang wurde das Bestimmtheitsmaß (r^2) als Gütekriterium verwendet.

3. Ergebnisse

3.1. Medizinische Ergebnisse

Kern dieser Arbeit ist die Kalibrierung einer MRI-R2*-Methode, wozu die BLS als Referenzmethode dient. Wir entschieden uns bei der Kalibrierung von MRI-R2* für das Auswahlfenster „Rechts-ventral“ unter der Annahme, dass die abgebildete Region topographisch am ehesten derjenigen Region entspricht, die bei der BLS (siehe Abbildung 6) gemessen wird.

3.1.1. Kalibrierung von R2* der Leber mittels BLS

Für den Erhalt der Kalibrierkurve wurden die Ergebnisse von 69 Messungen bei 53 Personen aufgetragen. Es handelt sich um einen gewichteten Fit mit Gewichtung der Standardfehler von R2* und den Standardfehlern von LIC-BLS. Es ergab sich eine empirische Beziehung $R2^* = R2_0 + a \cdot LIC^b$ für den Bereich zwischen 57 und 7681 $\mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht, wobei $R2_0 = 29 \text{ s}^{-1}$, $a = (4.8 \pm 2.5) \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}/(\mu\text{g/g})$ und $b = 1.44 \pm 0.06$. Es handelt sich um eine hochsignifikante Korrelation zwischen LIC-BLS und MRI-R2*: Der Spearman-Rang-Korrelationskoeffizient beträgt $r_s = 0.94$ ($p < 10^{-4}$). Für die Kalibrierkurve ergab sich außerdem ein Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0.95$ sowie ein reduziertes Chi-Quadrat von $\chi_v^2 = 0.3$.

3.1.2. Kalibrierung von R2* der Milz mittels Biomagnetischer Milzsuszeptometrie (BSS)

Wie in Abbildung 12 zu sehen, liegen die Relaxationsraten für die 9 ausgewerteten Milzen auf der gleichen Kalibrierkurve wie für die Leber. Damit ist nicht zu erwarten, dass die Milz ein anderes Relaxationsverhalten als die Leber zeigt.

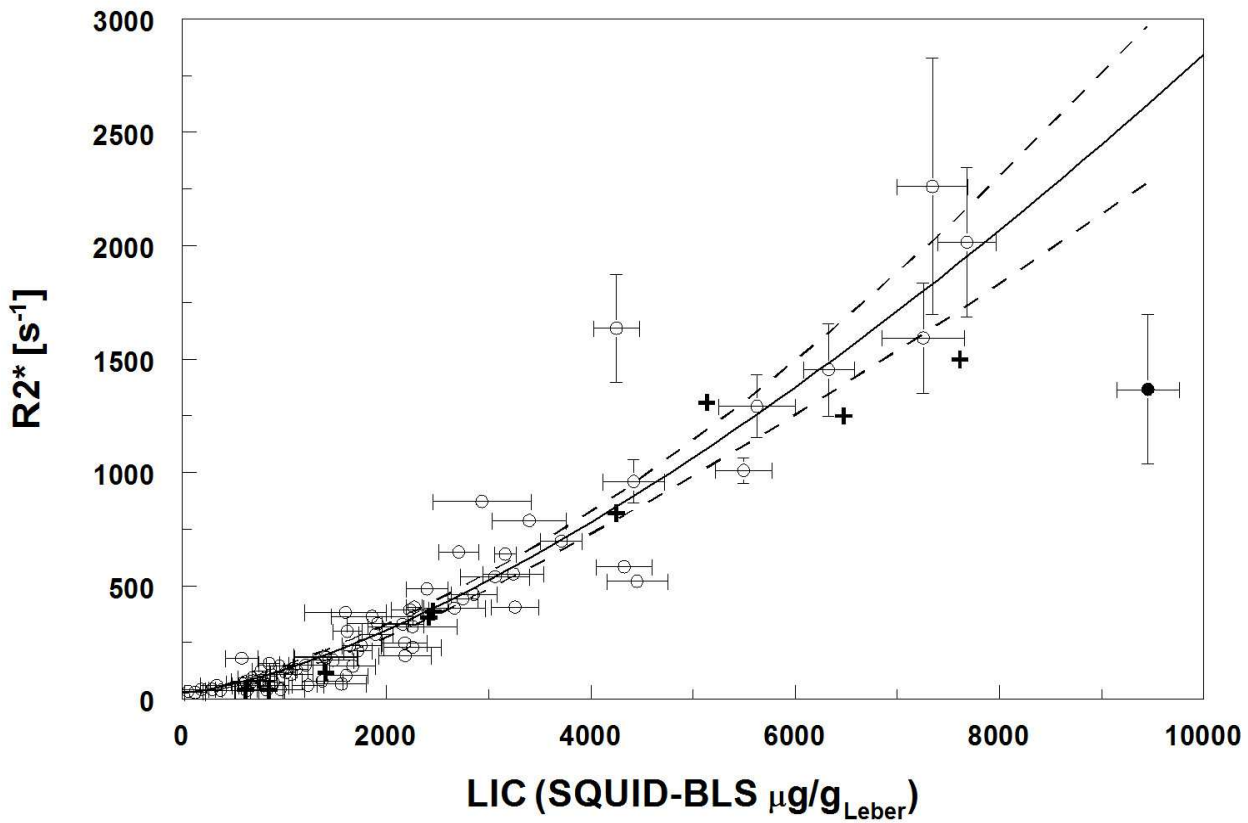


Abbildung 12: Nicht-lineare Beziehung von $R2^*$ als Funktion von LIC-BLS (durchgezogene Linie). Leber als offene Kreise, Milz als Kreuze dargestellt. 95%-Konfidenzintervall in gestrichelten Linien, Ausreißer als voller Kreis markiert.

Als robuster Test wurde das Verfahren von Altman-Bland angewandt (siehe Abbildung 13). Es zeigte sich, dass die Differenz der beiden Methoden LIC ($R2^*$) und LIC (BLS) nicht systematisch unterschiedlich von 0 ist (-4.3%). Das 95%-Konfidenzintervall reicht von -86.5% bis 77.9%.

Bei Betrachtung der Abbildung 13 wird zudem deutlich, dass das 95% Konfidenzintervall durch die Insensitivität in den unteren Bereichen der Lebereisenkonzentration festgelegt wird. Bei höheren Werten ist die Streuung hingegen niedriger.

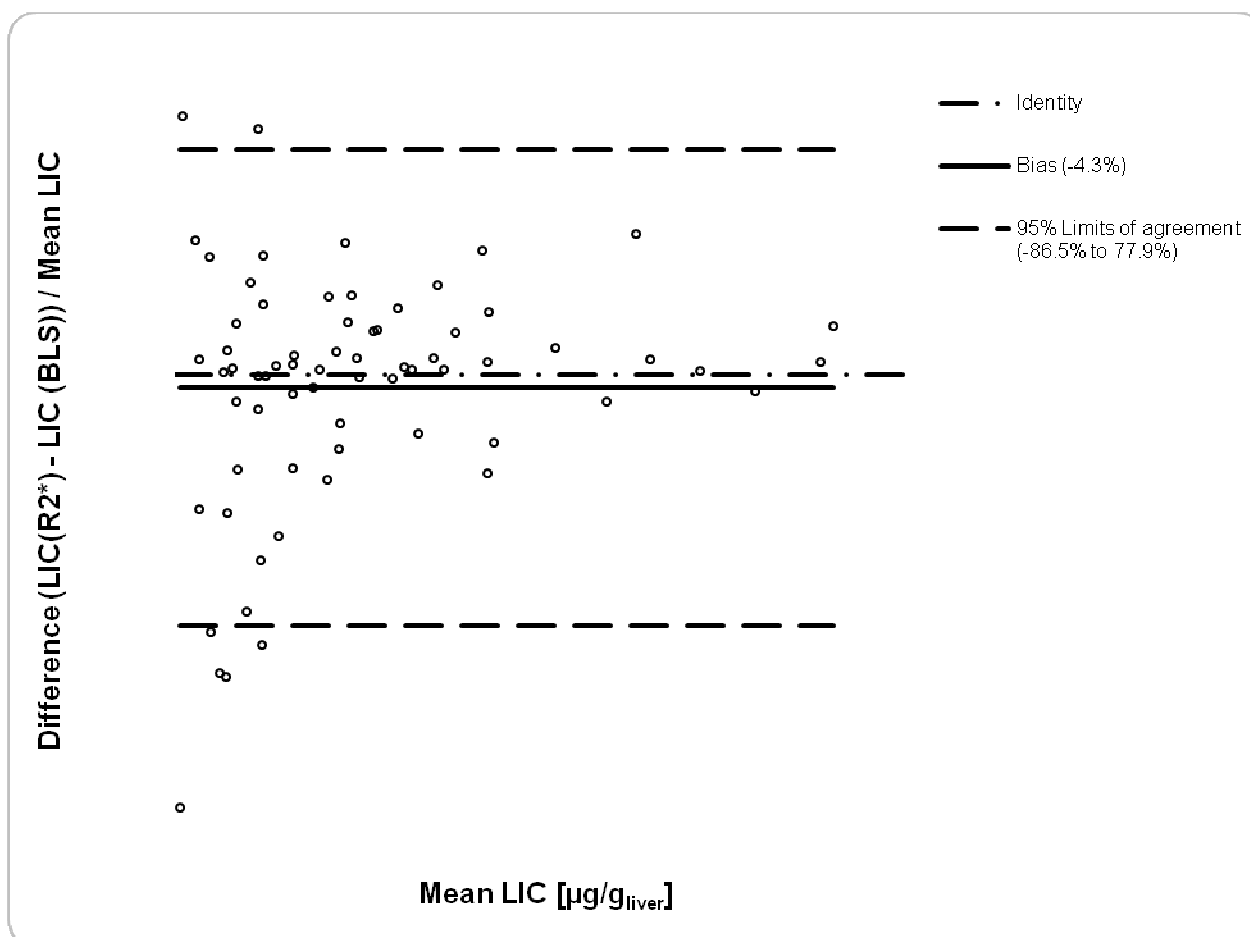


Abbildung 13: Relativer Altman-Bland-Test. Die Abbildung stellt die Differenz der Methoden der Magnetresonanztomografie und der Lebersuszeptometrie dividiert durch den Mittelwert beider Methoden dem Mittelwert der beiden Methoden gegenüber.

Die Konvergenz der Kalibrierkurve von Abbildung 12 wird ungenauer bei Werten $> 6000 \mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht, da die kürzeste Echozeit von $\text{TE}=1.3 \text{ ms}$ nicht geringer gewählt werden konnte. Von größerem Belang ist die Ungenauigkeit der $\text{R}2^*$ - Messungen bei $\text{LIC} < 2500 \mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht (siehe Abbildung 14).

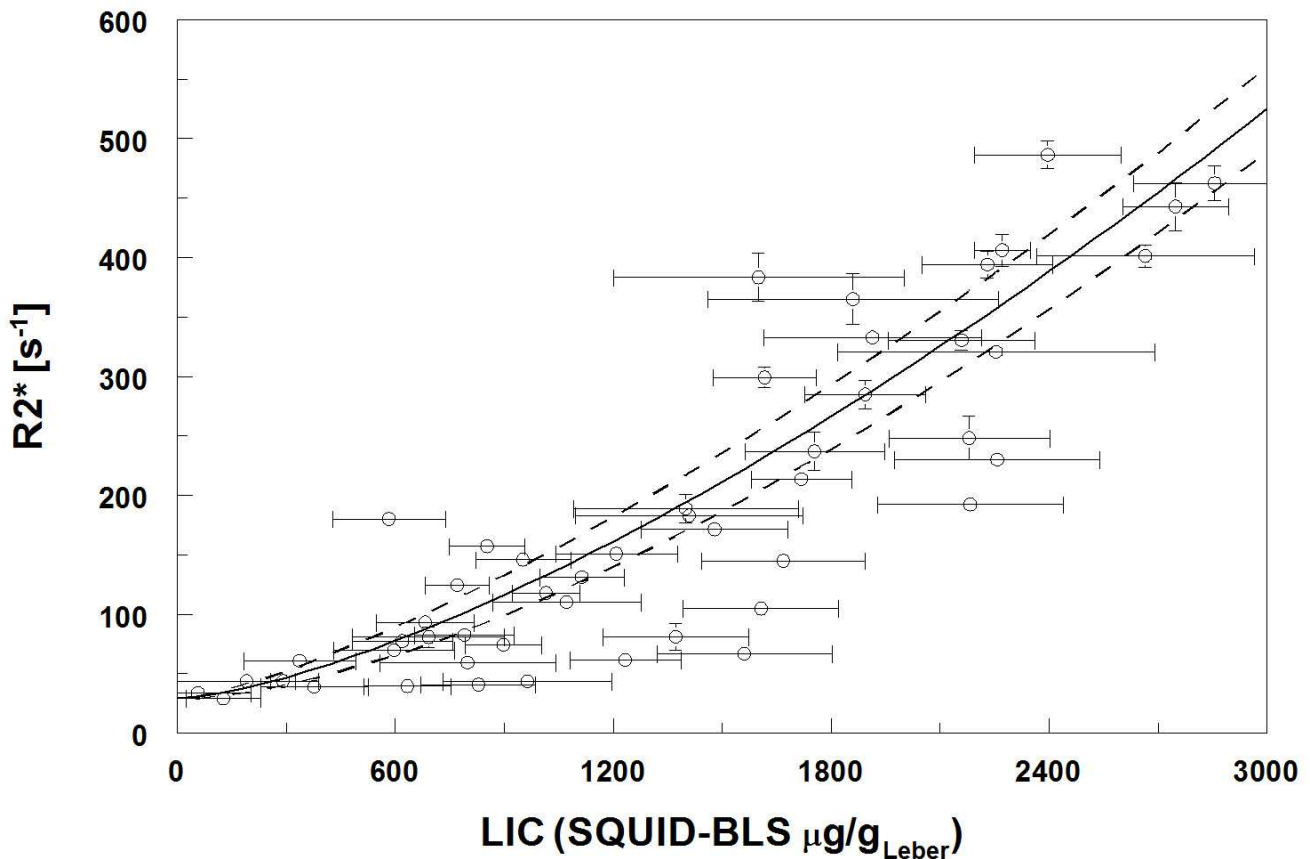


Abbildung 14: Darstellung der Streuung der $\text{R}2^*$ -Werte bei Patienten mit geringer und moderater Eisenüberladung $< 3000 \mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht. Zu beachten ist die hohe Streuung bei Werten $< 2500 \mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht. 95%- Konfidenzintervall in gestrichelten Linien.

3.1.3. LIC und R2* und der Zusammenhang mit Ferritin

In unserer Patientenpopulation ergab sich eine signifikante Korrelation

$r_s = 0,85$ ($p < 10^{-4}$) für Serum-Ferritin und Lebereisenkonzentration (LIC), welche durch die Referenzmethode BLS bestimmt wurde.

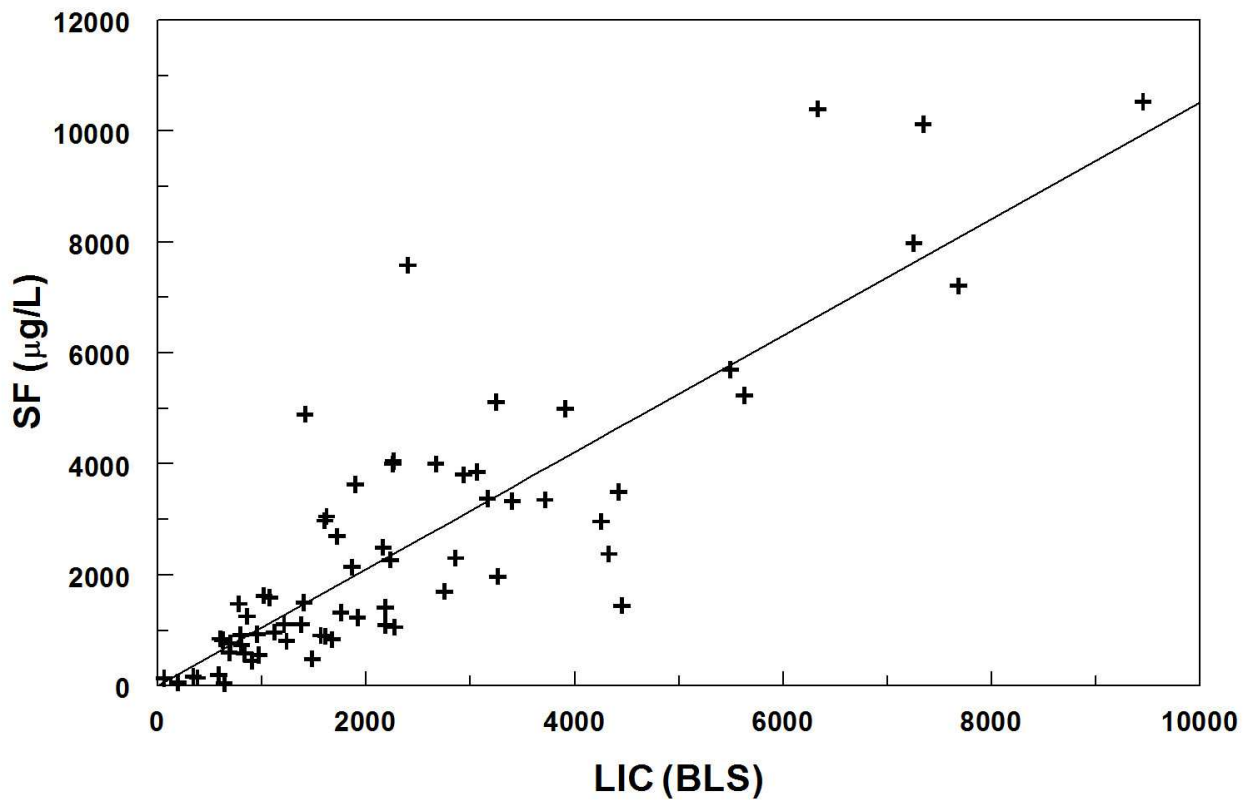


Abbildung 15: Korrelation zwischen LIC (BLS) ($\mu\text{g/g}$ Leberfeuchtgewicht) und Serum-Ferritin ($\mu\text{g/L}$). Spearman-Rang-Korrelationskoeffizient $r_s = 0,85$; $p < 10^{-4}$.

Ferner untersuchten wir den Zusammenhang von Serum-Ferritin und $R2^*$. Es ergab sich eine vergleichbar signifikante Korrelation von $r_s = 0,87$ ($p < 10^{-4}$).

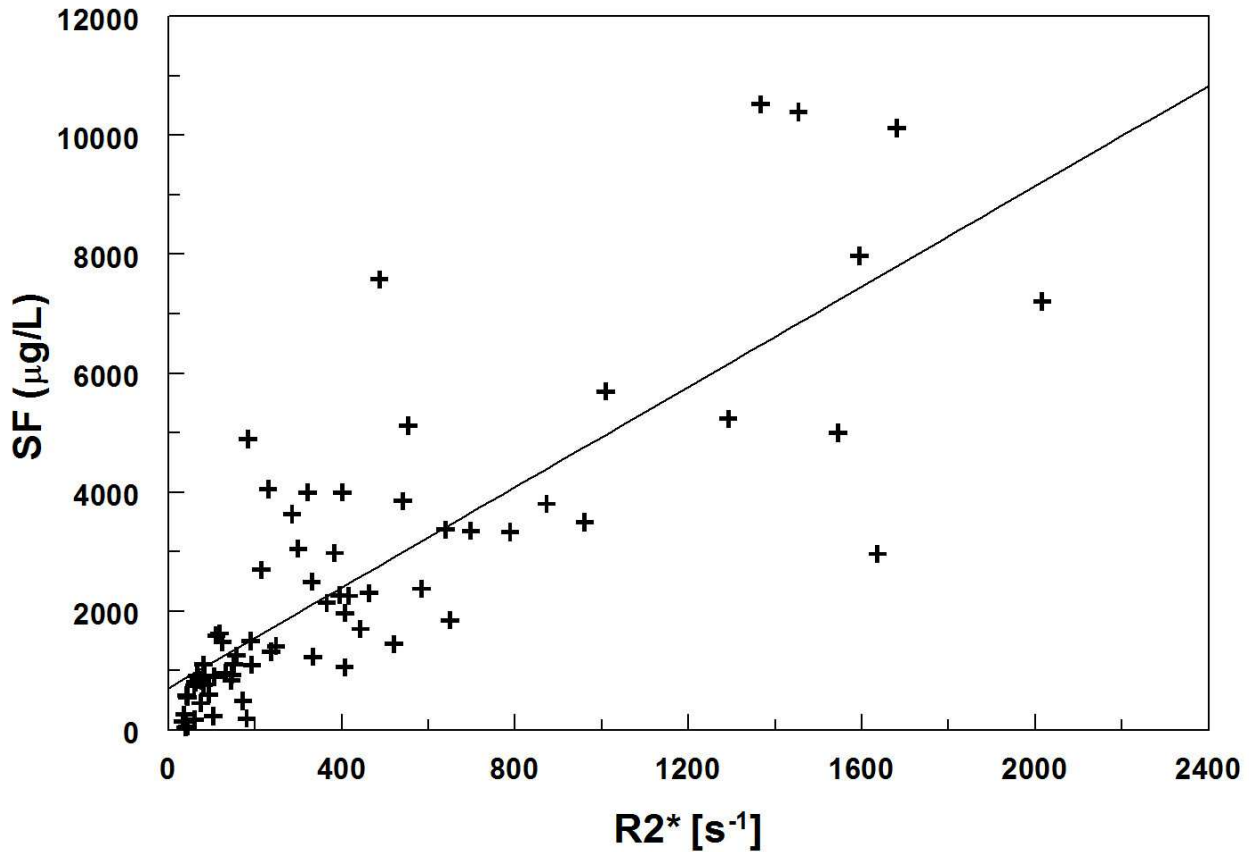


Abbildung 16: Korrelation zwischen $R2^*$ und Serum-Ferritin. Spearman Rang-Korrelationskoeffizient $r_s = 0,87$; $p < 10^{-4}$.

3.1.4. $R2^*$ und der Zusammenhang mit ALT

Die beiden Transaminasen (ALT, AST) stellen typische Leberfunktionsparameter dar. Die Korrelation zum kritisch zu betrachtenden Eisenparameter SF wurde in einer Publikation bestätigt (Worwood et al. 1980). Wir untersuchten einen möglichen Zusammenhang von $R2^*$ als Parameter des Lebereisens mit ALT. Es ergab sich eine signifikante Korrelation von $r_s = 0,44$ ($p < 10^{-3}$) zwischen Leber- $R2^*$ und ALT.

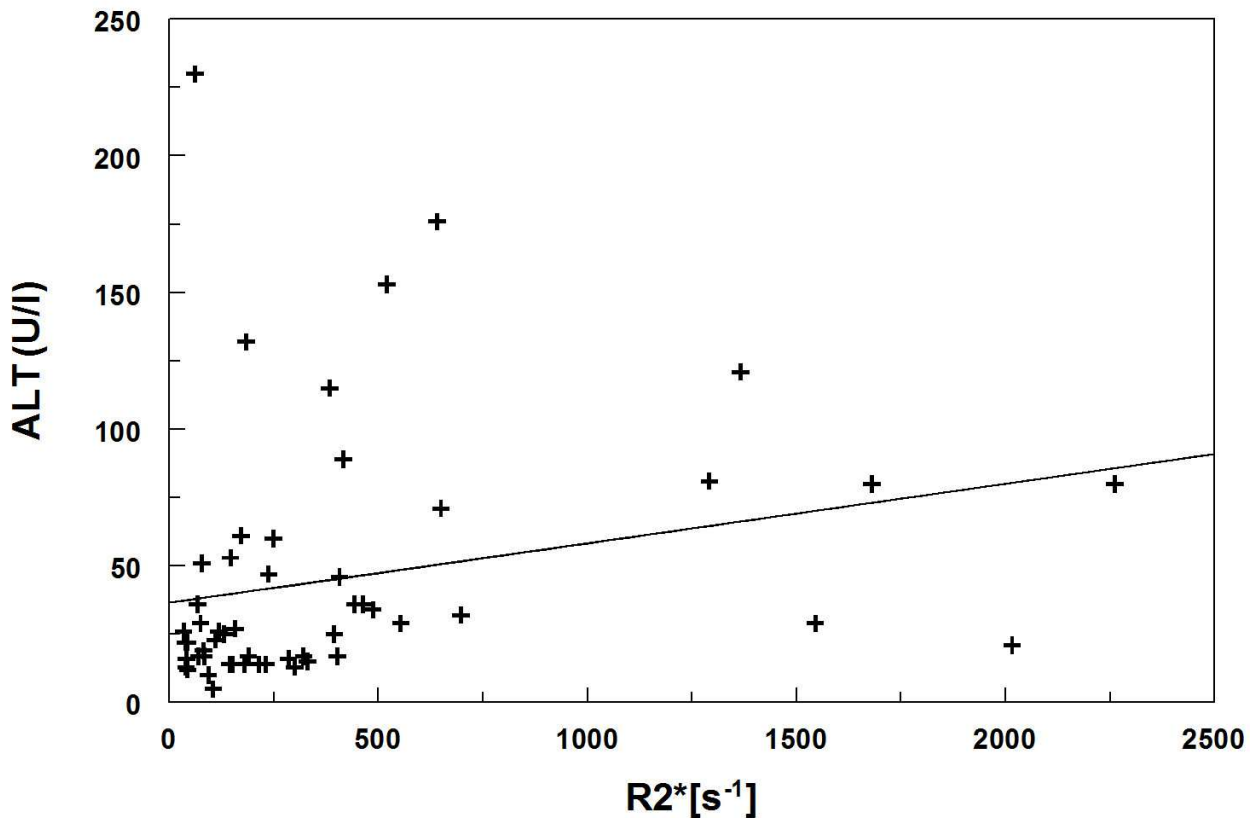


Abbildung 17: Korrelation zwischen R2* und ALT (Spearman Rang-Korrelationskoeffizient $r_s = 0,44$; $p < 10^{-3}$).

3.2. Methodische Ergebnisse

3.2.1. Vergleich der transversalen Relaxationsrate R2* aus den drei Leberregionen (ROIs)

Im Folgenden werden die Relaxationsraten R2* der 3 Leber-Auswertefenster („Leberschicht“, „Leberperipherie“ und „Rechts-ventral“) aus 72 Messungen verglichen, um Unterschiede zwischen den verschiedenen ROIs aufzudecken. Die Regressionsgeraden beruhen auf gewichteten Datenpunkten, d.h. Datenpunkte mit geringeren Standardfehlern (SE) haben einen größeren Einfluss auf den Verlauf der Gerade als Datenpunkte mit höheren Standardfehlern.

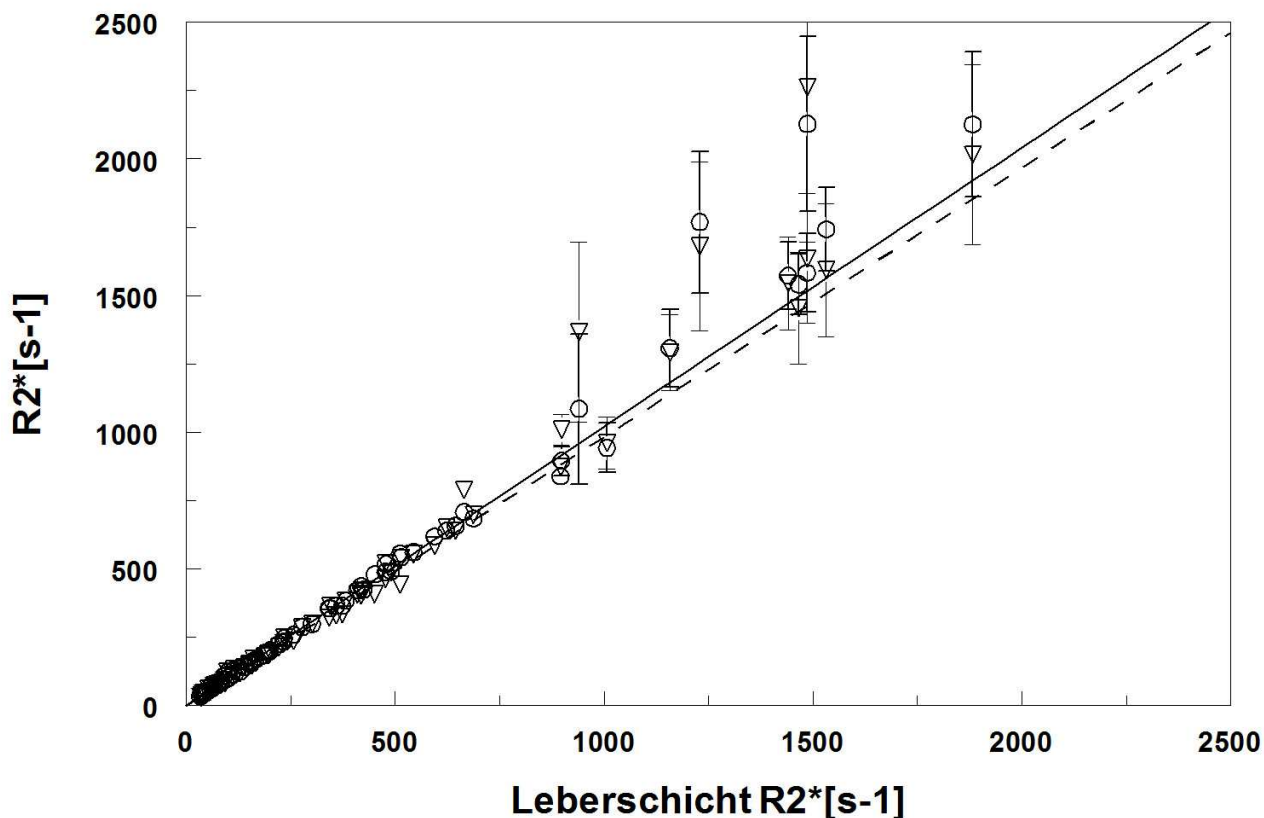


Abbildung 18: Vergleich der transversalen Relaxationsraten $R2^*$ von „Leberperipherie“ (Kreise, durchgezogene Linie) und „Rechts-ventral“ (Dreiecke, gestrichelte Linie) mit „Leberschicht“.

In Abbildung 18 dargestellt sind die Regressionsgerade zwischen Leberperipherie und Leberschicht mit einer Steigung von 1.021 ± 0.005 ($r^2 = 0.99$) sowie die Regressionsgerade zwischen Rechts-ventral und Leberschicht mit einer Steigung von 0.985 ± 0.008 ($r^2 = 0.99$).

Der Vergleich von $R2^*$ zwischen Leberperipherie gegen Leberschicht ergab einen signifikanten Unterschied ($p < 10^{-3}$) während das $R2^*$ von Rechts-ventral und Leberschicht keinen bedeutsamen Unterschied aufwies. Die lineare Anpassung für rechts-ventral ist mit $\chi_v^2 = 3.86$ etwas schlechter als die mit der peripheren Region ($\chi_v^2 = 1.43$).

Zusätzlich stellten wir noch die Relaxationsraten von Leberperipherie gegen rechts-ventral gegenüber. Dabei wurde eine Steigung von $m = 1.023 \pm 0.008$ und $\chi_v^2 = 1.83$ beobachtet.

3.2.2. Vergleich der EKG-getriggerten Sequenz mit der ungetriggerten Sequenz

Wir verglichen unsere Standardmethode, welche sich durch EKG-Triggerung sowie 1 Mittelung auszeichnet, mit einer nicht EKG-getriggerten Sequenz mit 3 Mittelungen bei 21 Patienten.

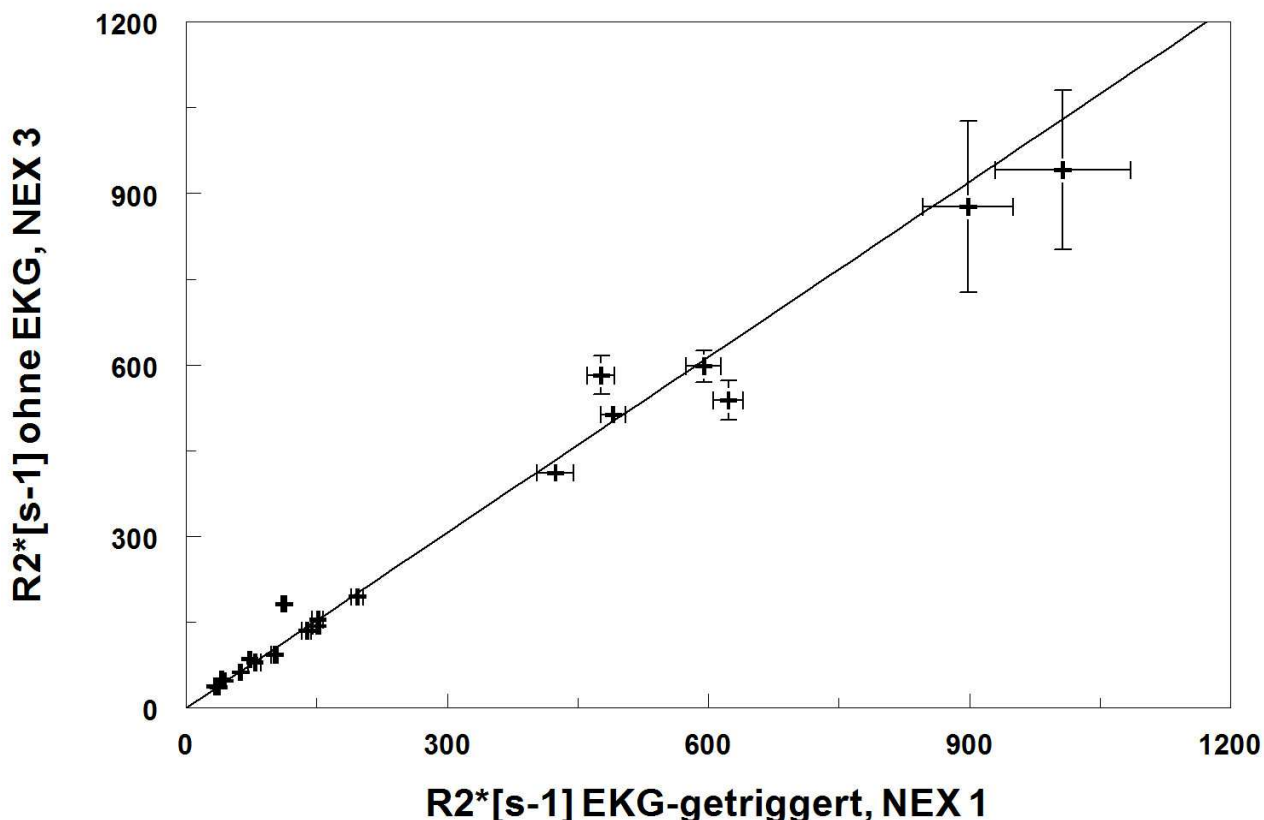


Abbildung 19: Linearer Zusammenhang von MRI-R2* durch 3 Mittelungen ohne EKG-Triggerung im Vergleich zur Standardmethode mit EKG-Triggerung und 1 Mittelung nach gewichtetem Fit.

Es ergab sich ein linearer Zusammenhang der beiden Methoden mit einem Regressionskoeffizienten von 0.98 ± 0.03 und einem Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0.99$. Die Gütekennzahl des gewichteten Fits beträgt $\chi_v^2 = 4,4$.

3.2.3. Vergleich von Leber-R2* aus dem Leberfenster der kurzen Herzachse mit R2* des Auswahlfensters „Leberschicht“

Bei Messungen von Herz-R2* (cardiovascular magnetic resonance, CMR) wird in der Schicht der kurzen Herzachse auch häufig ein kleines Leberfenster mit abgebildet. Wir

sind der Frage nachgegangen, ob die Relaxationsraten $R2^*$ dieses Leberfensters denen aus dem Auswahlfenster „Rechts-ventral“ entsprechen.

Es ergab sich ein Bestimmtheitsmaß ($r^2 = 0,99$) zwischen Leber- $R2^*$ aus der Herzmessung und Leber- $R2^*$ aus dem transversalen Leberscan „Rechts-ventral“ bei 19 untersuchten Patienten (siehe Abbildung 20).

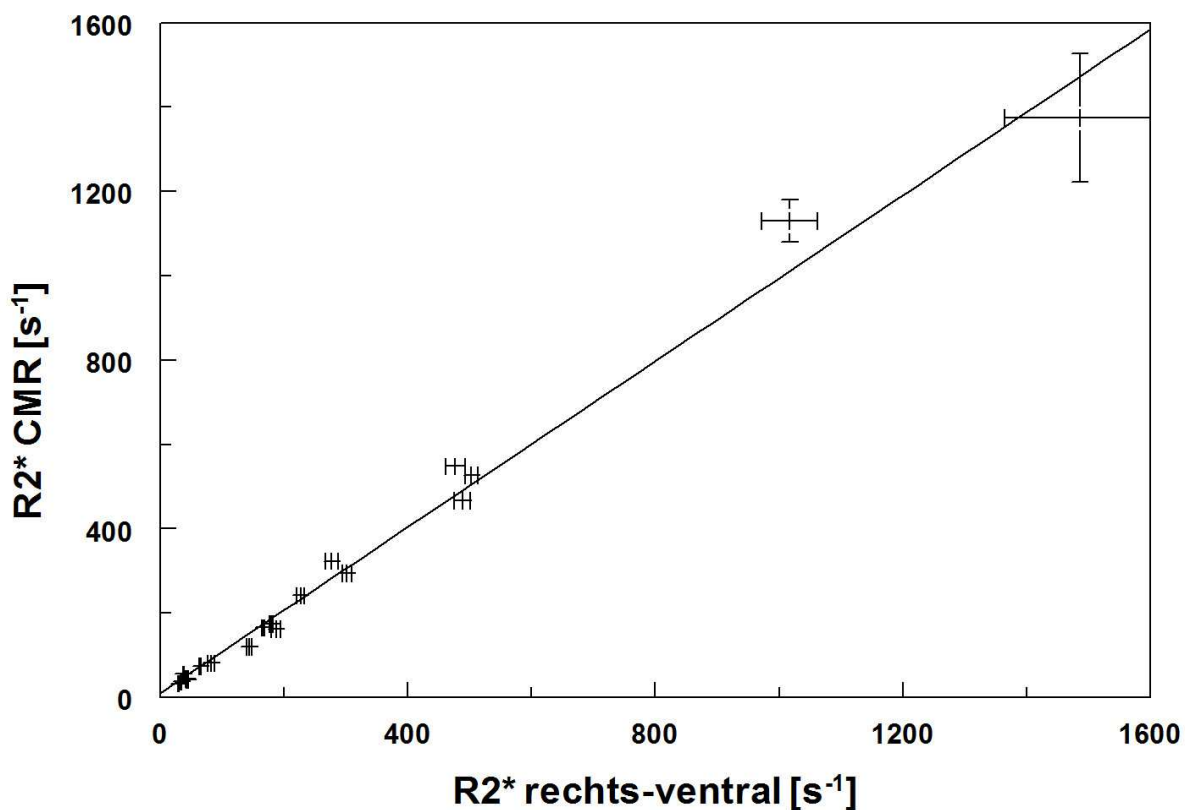


Abbildung 20: Vergleich der Relaxationsraten auf Basis von transversalen Leberschnitten (Rechts-ventral) und kurzer Herzachse bei der Herzeisenmessung (CMR).

3.3. Volumina

3.3.1. MR- und Ultraschall-Planimetrie von Leber und Milz

Zur Bestimmung des Gesamtkörpereisens werden Patienten in der Hamburger Eisenstoffwechselambulanz regelmäßig auch hinsichtlich ihres Leber- und Milzvolumens untersucht. Dies geschieht durch die Methode der Planimetrie (Leung NW et al. 1986). Die Volumenbestimmung von Organen ist auch anhand von MRT-Bildern möglich.

Wir verglichen die Methoden der Ultraschall- und MR-Planimetrie, indem wir die Volumina von Leber (n=81) und Milz (n=45) gegenüberstellten.

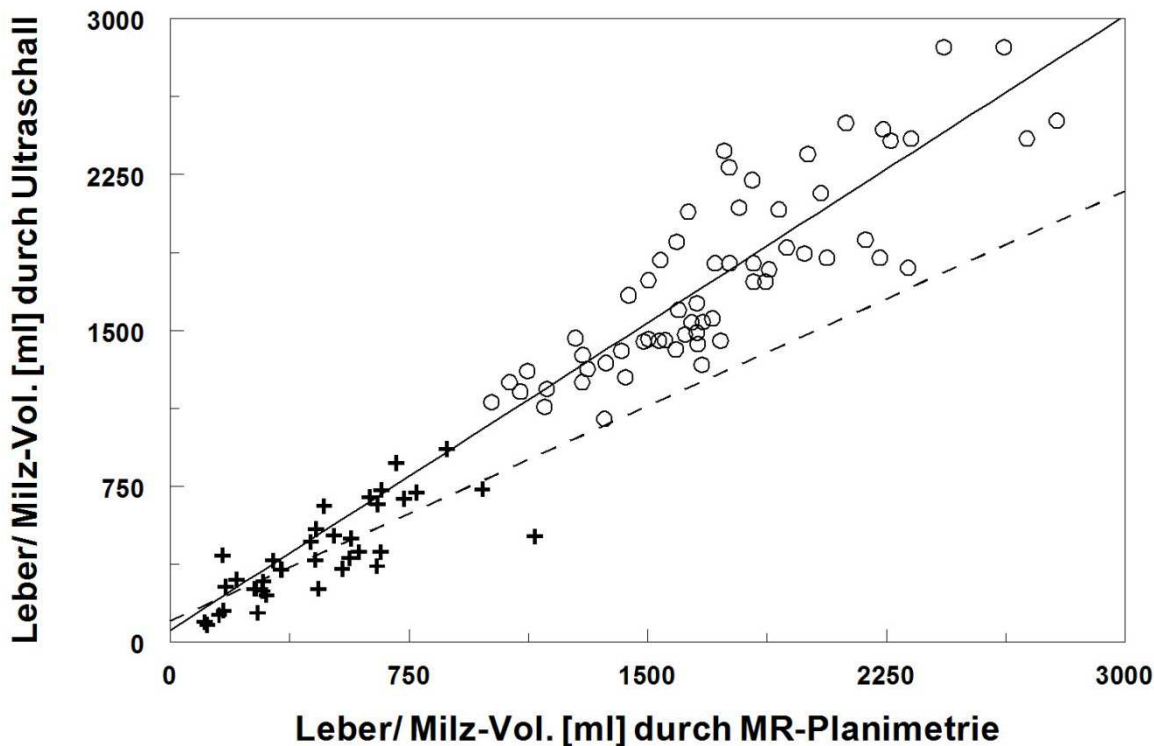


Abbildung 21: Vergleich von MR-Planimetrie und Ultraschall für Leber- und Milzvolumina. Leber = Kreise und durchgezogene Regressionsgerade, Milz = Kreuze und gestrichelte Regressionsgerade.

Für die Leber ergab sich eine hoch signifikante Übereinstimmung ($r_s = 0,85$; $p < 10^{-3}$) zwischen der Ultraschall- und der MR-Methodik. Es ergab sich zudem ein Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,8$.

Bei der Milz ist die Übereinstimmung beider Methoden ebenfalls hoch signifikant ($r_s = 0,88$; $p < 10^{-3}$), zudem ergab sich ein Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,62$. Es zeigt sich außerdem in der Grafik, dass die Milzvolumina durch Ultraschall-Planimetrie tendenziell geringer gemessen werden.

3.3.2. Hepato- und Splenomegalie und der Zusammenhang zu R2*

Wir gingen außerdem der Frage nach, ob ein Zusammenhang von Relaxationsrate R2* und Leber- und Milzgröße durch MR-Planimetrie besteht. Es ergab sich eine signifikante Korrelation von $r_s = 0,32$ ($p = 0,006$) von Lebervolumen-Index [Lebervolumen (ml) / Körpergewicht (kg)] und dem R2* von „Rechts-ventral“. Für Milzvolumen und Milz-R2* ergab sich keine Korrelation, gleiches gilt für Milzvolumen und Leber-R2*.

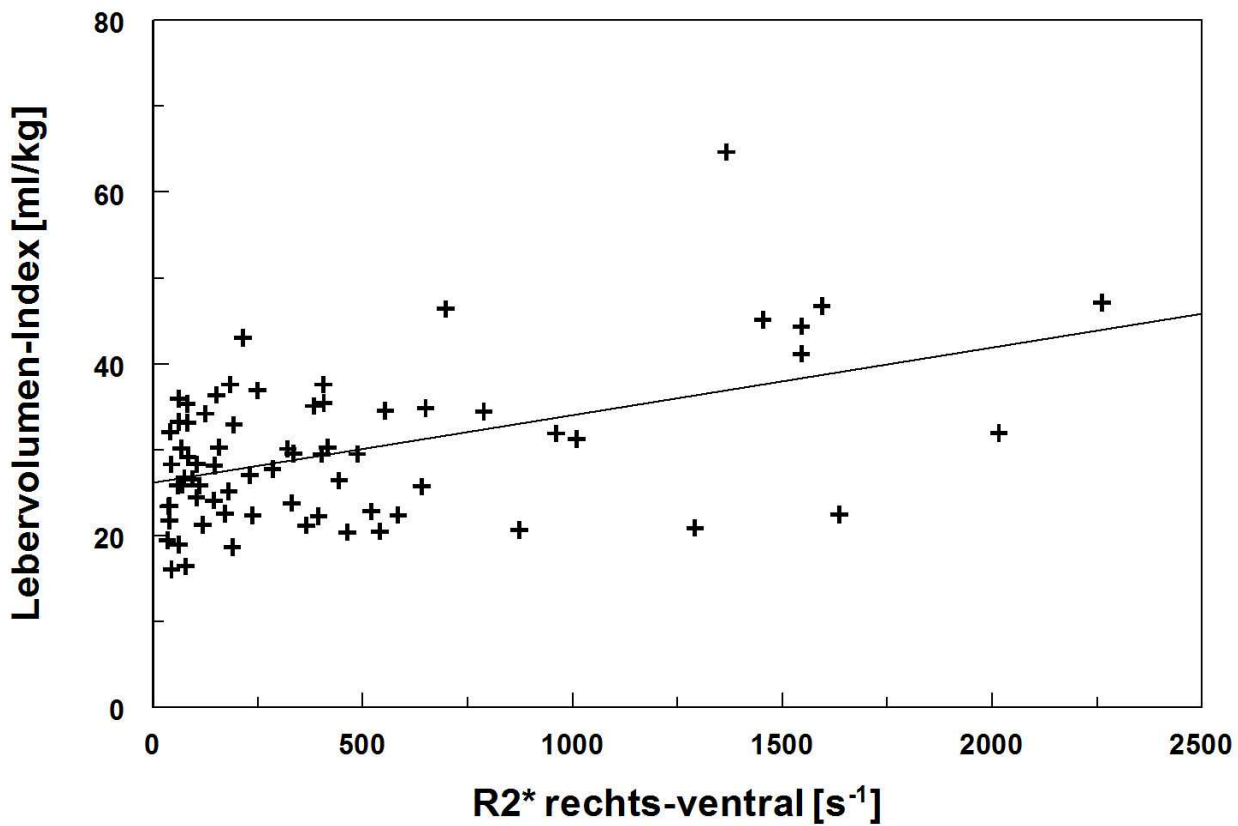


Abbildung 22: Korrelation zwischen R2* (Rechts-ventral) und Lebervolumenindex ($r_s = 0,32$; $p = 0,006$).

:

3.4. Interobserver-Variabilität von R2* und Leber- und Milzvolumen

Um die Reproduzierbarkeit unserer Methode zu untersuchen, sollen hier die Ergebnisse von zwei verschiedenen Auswertern miteinander verglichen werden. Die beiden Auswerter haben die transversalen Relaxationsraten R2* von Leber und Milz bei 26 Patienten unabhängig voneinander bestimmt. Es ergab sich eine hochsignifikante Übereinstimmung ($r^2 = 0,99$; $p < 0,001$) zwischen den Auswertungen (siehe Abbildung 23).

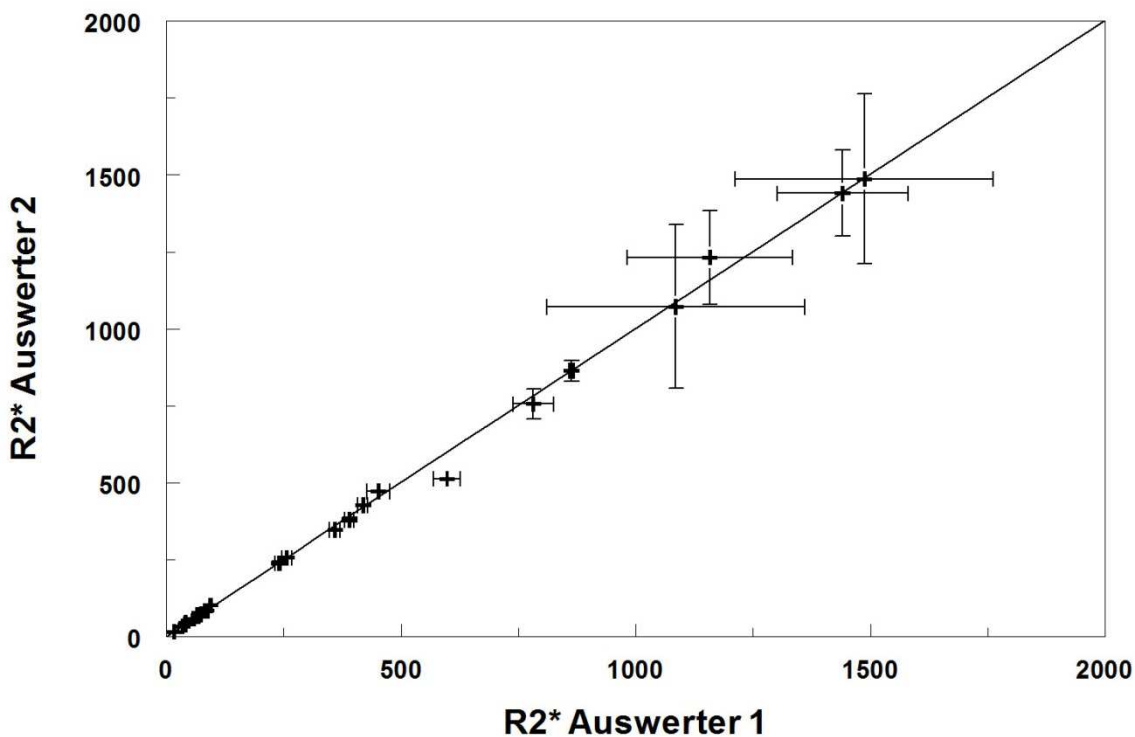


Abbildung 23: Gewichtete Regression mit Gegenüberstellung der Relaxationsrate für Leber und Milz von zwei unterschiedlichen Auswertern

Zusätzlich wurden auch die Volumina von Leber und Milz durch zwei unterschiedliche Auswerter mittels MR-Planimetrie bestimmt (siehe Abbildung 24). Es ergab sich eine hochsignifikante Übereinstimmung ($r^2 = 0,98$, $p < 0,001$) zwischen den Auswertern. Der Standardfehler der Volumenbestimmung mittels MR beträgt 145 ml.

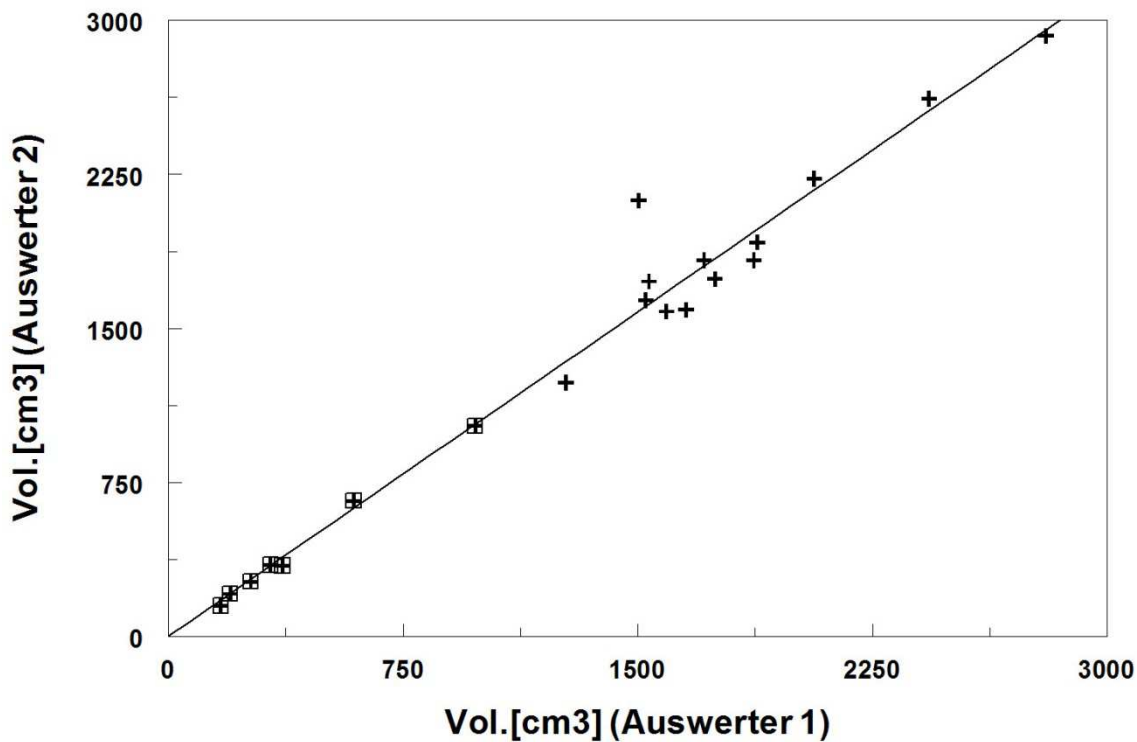


Abbildung 24: Volumina von Leber (Kreuze) und Milz (Kreuze mit Kästchen) im Vergleich zwischen zwei Auswertern, Verfahren der MR-Planimetrie

4. Diskussion

4.1. $R2^*$ der Leber und Milz als neuer Monitoring-Parameter?

Durch die Arbeiten von Anderson et al. hat sich die Relaxationsrate $R2^*$ für das Herz-eisen als Überwachungsparameter bereits etabliert (Anderson et al. 2001, 2002).

Das $R2^*$ der Leber als Parameter des Lebereisens könnte einen noch größeren diagnostischen Nutzen erlangen. Es wurde gezeigt, dass Lebereisen eng mit dem Gesamtkörpereisen korreliert (Angelucci et al. 2000) und einen prognostischen Indikator bei thalassämischen Patienten darstellt (Olivieri et al. 1994). Zwischen den Relaxationsraten von Herz- und Lebereisen konnte in einer Studie keine Korrelation gefunden werden (Leung AW et al. 2009), weshalb eine Beschränkung auf die Messung eines Organs nicht ausreicht, sondern die Messung von sowohl Herz- als auch Lebereisen für eine Therapieplanung notwendig ist.

Mit Hilfe der in Abbildung 12 gezeigten Kalibrierkurve kann in Zukunft dazu übergegangen werden, die LIC in Feuchtgewicht per $R2^*$, unabhängig von der Biosuszeptometrie, durch MRT zu bestimmen. Zentren, die nicht über die Technik der Biosuszeptometrie verfügen, könnten daher in der Zukunft die LIC bestimmen ohne auf eine Leberbiopsie zurückgreifen zu müssen.

Die zusätzliche Auswertung von 9 Milzen ergab Relaxationsraten, welche auf der gleichen Kalibrierkurve wie für die Leber lagen. Diese Erkenntnis wurde in der Literatur außer von Brewer et al. bisher noch nicht beschrieben (Brewer et al. 2009). Unsere Ergebnisse bestätigen die Arbeit von Brewer et al., sodass die Kalibrierkurve dieser Arbeit ebenfalls für die Bestimmung der Milzeisenkonzentration per $R2^*$ herangezogen werden kann.

4.2. Die Wahl der geeigneten Sequenz: warum Gradienten-Echo?

Es stehen Gradientenecho ($R2^*$) und Spinecho-Methoden ($R2$) zur Eisenquantifizierung zur Verfügung.

Dass $R2$ und $R2^*$ als gleichrangig in der Methodik der Eisenquantifizierung anzusehen sind, wiesen Wood et al. 2005a nach: Durch simultane $R2$ und $R2^*$ -Messungen war die Gruppe in der Lage, die Kalibrierkurve für $R2$ von St Pierre et al. 2005 zu reproduzieren. Während andere Autoren (Voskaridou et al. 2004, St Pierre et al. 2005) weiterhin $R2$ bevorzugten, entschieden wir uns für eine Gradientenecho-Sequenz.

Nachteil des Gradientenechos ist die Sensibilität für statische Magnetfeldinhomogenitäten gegenüber der Spinecho-Sequenz (Gomori et al. 1988). Die Vorteile des Gradientenechos liegen in einer kürzeren Messzeit (15 Sekunden), was die Applikation der Sequenz in einem einzigen Atemzug des Patienten möglich macht. Dies reduziert zusätzlich die Häufigkeit von Bewegungs- und Atemartefakten (Jensen PD 2004).

Am UKE werden bereits regelmäßig Herzeisenmessungen durch $R2^*$ durchgeführt, weshalb wir uns letztendlich für diese Methode entschieden haben.

4.3. Kritische Betrachtung der Kalibrierkurve

4.3.1. Vergleich mit der Kalibrierkurve von St Pierre et al. 2005

Bei der Betrachtung unserer Kalibrierkurve für die Gradientenecho-Sequenz (Abbildung 12 im Ergebnisteil) fällt vor allem der ansteigende Charakter der Kurve, gleichbedeutend schneller ansteigender $R2^*$ -Werte, im Bereich hoher Lebereisenkonzentrationen auf. Dies steht im Gegensatz zu den Beobachtungen von St Pierre et al. 2005 und der zugehörigen Kalibrierkurve der anerkannten und routinemäßig eingesetzten Spinecho-Methode FerriScan®. Hier kommt es zu einem langsameren Ansteigen von $R2$ bei hohen Lebereisenkonzentrationen. Dieser Unterschied muss in den unterschiedlichen Methoden (Gradientenecho/Spinecho) liegen.

Bei Betrachtung von Abbildung 13 und 14 fällt ein weiterer Unterschied zur Methode von St. Pierre et al. 2005 auf: In den unteren Bereichen der LIC ist unsere Methode ungenauer, was durch die breite Streuung der Datenpunkte in diesem Bereich augenscheinlich wird. Dafür werden unsere Datenpunkte in den höheren Bereichen sehr viel genauer. Bei St Pierre et al. 2005 zeigte sich hingegen beim Vergleich seiner Spin-

Echo-Sequenz mit der Leberbiopsie eine gleichmäßigere Verteilung der Extremwerte über die gesamte Breite der LIC. Hier könnte Hämosiderin-Einfluss eine Rolle spielen.

4.3.2. Einfluss von Hämosiderin- und Ferritin-Eisen auf $R2^*$

Die Unterschiede in Löslichkeit und intrazellulärer Verteilung von Ferritin- und Hämosiderin-Eisen bewirken unterschiedliche Effekte auf den im MRT gemessenen Signalabfall (Wu et al. 2010). Ferritin-Eisen wirkt auf den Signalabfall in erster Linie durch Spin-Spin-Relaxationsmechanismen (Gossuin et al. 2000, 2002), während Hämosiderin-Aggregate vorwiegend magnetische Feldinhomogenitäten verursachen, die zur Spin-Dephasierung führen (Allen et al. 2000, Brooks et al. 1998). Gradientenecho-Techniken sind anfälliger gegenüber Feldinhomogenitäten als Spin-Echo-Methoden (Gomori et al. 1988), was dafür spricht, dass Gradientenecho-Methoden sensitiver auf große Hämosiderin-Speicher zu reagieren scheinen (Jensen PD 2004). Die Relaxationsrate $R2^*$ hängt also im Wesentlichen von unlöslichem Hämosiderin-Eisen ab (Wu et al. 2010). Andere Autoren berichten, dass sich das Verhältnis von Hämosiderin- zu Ferritin-Eisen bei Thalassämie-Patienten bei höherer LIC zu Gunsten des Hämosiderins verschiebt (Fischer und Harmatz 2009).

4.3.3. Ausreißer in der Kalibrierkurve

Bei Betrachtung der Kurve fällt auf, dass einige Punkte weit außerhalb des 95%-Konfidenzintervalls liegen. Diesen Patienten gilt besonderes Augenmerk, da sich hier Erklärungsansätze für Messunsicherheiten bieten.

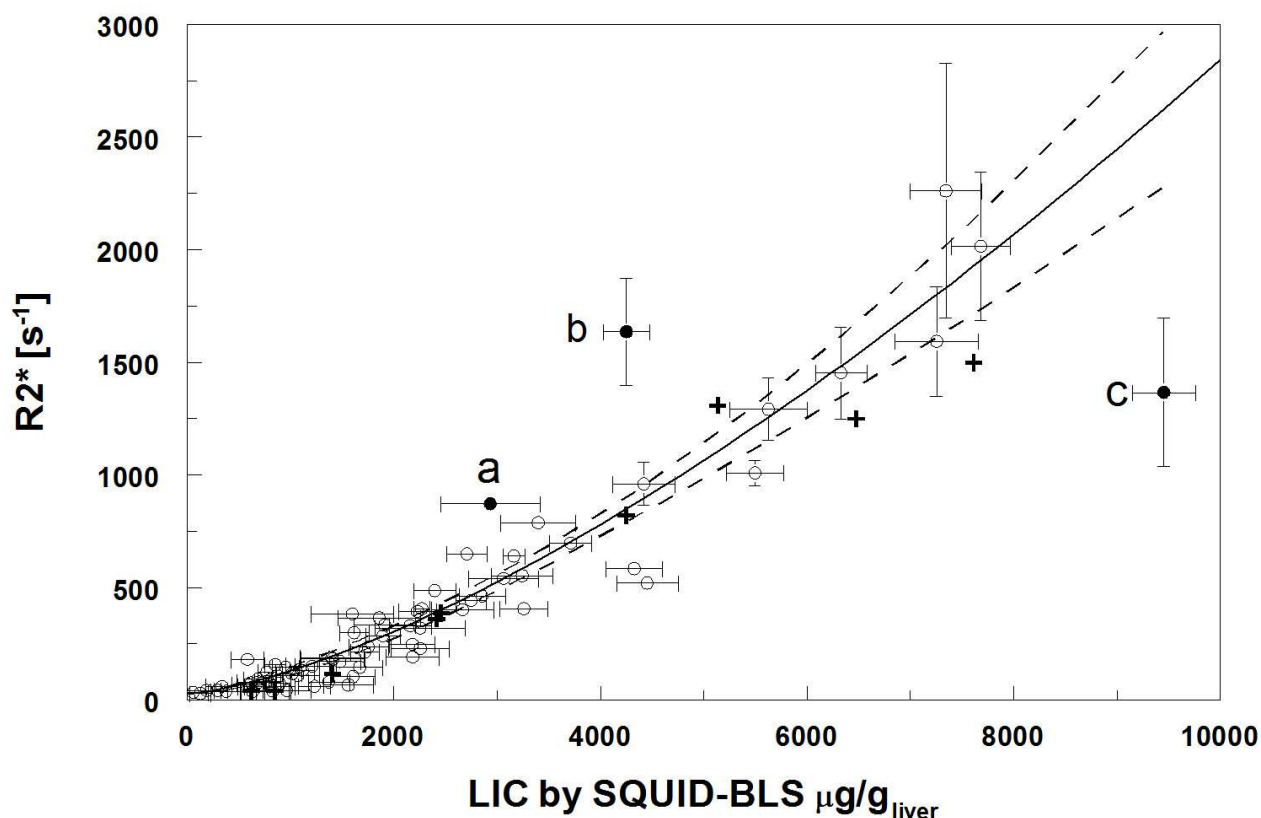


Abbildung 25: Kalibrierkurve mit fett markierten Ausreißern a, b und c.

Patient a weist ein zu hohes $R2^*$ im Vergleich zur LIC mittels BLS auf. Als Erklärungsansatz könnten die Eigenschaften der Leber des Patienten dienen, die in diesem Fall eine inhomogene Eisenverteilung aufweist. Darüber hinaus ist die MR-Messung von Atmungsartefakten gestört.

Patient b zeigt ebenfalls ein zu hohes $R2^*$. Dieser Patient hatte zum Messzeitpunkt im Vergleich zur Lebereisenkonzentration sehr niedrige Serum-Ferritin-Werte. Schließt man aus dem niedrigen Serum-Ferritin auf ein niedriges Leber-Ferritin, so könnte der größte Eisenanteil in Form von Hämosiderin vorliegen. Der nun vorliegende Befund könnte die These stützen wonach $R2^*$ vor allem auf Hämosiderin sensitiv reagiert (Jensen PD 2004, Wu et al. 2010).

Patient c zeigt ein niedriges $R2^*$ bei höchster LIC nach BLS in unserem Patientenkollektiv. In diesem Fall wurde das $R2^*$ unterschätzt aufgrund der zu langen ersten Echozeit von $TE = 1,3$ ms. Die Folge war ein unrealistischer Fit mit zu niedriger $R2^*$ -Rate.

4.3.4. Der Einfluss von TE

Der technische Fortschritt in der MR-Tomographie macht heutzutage immer kürzere Echozeiten möglich. Hatten Engelhardt et al. 1994 noch TE=20 ms als kürzeste Echozeit zur Verfügung (Engelhardt et al. 1994), konnten Wood et al 2005 schon auf ein erstes TE von 0.8 ms zurück greifen (Wood et al. 2005a). Mit einem ersten Echo von 1.3 ms wählten wir die kürzeste Echozeit, die für diese Methode am MRT (Magnetom Symphony®, 1.5 Tesla, Siemens AG, Erlangen) zur Verfügung stand.

Grund für die Wahl eines möglichst kurzen ersten TEs ist der hohe Abfall der Signalintensität bei zunehmenden Echozeiten, wodurch das Signal-zu-Rausch-Verhältnis abnimmt. Wird die das erste TE zu lang gewählt, gelangt man bei hoher Eisenüberladung schnell in den asymptotischen Bereich der Kurve; es kommt in der Folge zu hohen Fehlern in Bezug auf die kalkulierte Relaxationszeit (Engelhardt et al. 1994). Es besteht also die Gefahr, dass bei hoher Eisenüberladung und langem ersten TE ein großer Teil des MR-Signals schon verloren gegangen ist. Gleichzeitig kann es jedoch Gewebeanteile mit niedrigerer Eisenkonzentration geben, die noch ausreichend Signalintensität besitzen um ein Bild zu generieren, wodurch es zur Unterschätzung der tatsächlichen Eisenkonzentration kommen kann (Wood et al. 2005a). Dies konnte durch Messungen an Wüstenrennmäusen mit schwerer Eisenüberladung nachgewiesen werden (Wood et al. 2005b).

4.4. Variabilität von R2*

Wie gut lässt sich das R2* bestimmen und wie groß kann der theoretische Bereich sein, in dem sich die Ergebnisse bewegen? Diese Frage soll hier für Patienten mit milder, moderater und schwerer Eisenüberladung diskutiert werden. 500-1000 µg/g Leberfeuchtgewicht bedeuten dabei „milde“ Eisenüberladung, 1000-2122 µg „moderat“ und >2122 µg letztendlich „schwere“ Eisenüberladung (Olivieri und Brittenham 1997). R2* ist, wie oben erwähnt, abhängig von den Parametern Signalamplitude [SI(0)] und Signaluntergrund (SI_{LO}) (Gleichung 4). SI(0) und SI_{LO} können dabei in Abhängigkeit von der Patientengruppe im Rahmen der Fehler erheblich variieren.

4.4.1. Extreme Signalamplituden für moderat Eisen-überladene Patienten

Durch den raschen Signalabfall bei zunehmender TE spielt bei moderat und schwer Eisen-überladenen Patienten der Parameter $SI(0)$ eine herausragende Rolle für den Einfluss auf $R2^*$. Das folgende Beispiel zeigt den Fit mit extremen Signalamplituden für einen moderat Eisen-überladenen Patienten im Auswahlfenster „Rechts-ventral“ im Bereich des 95%- Konfidenzintervalls.

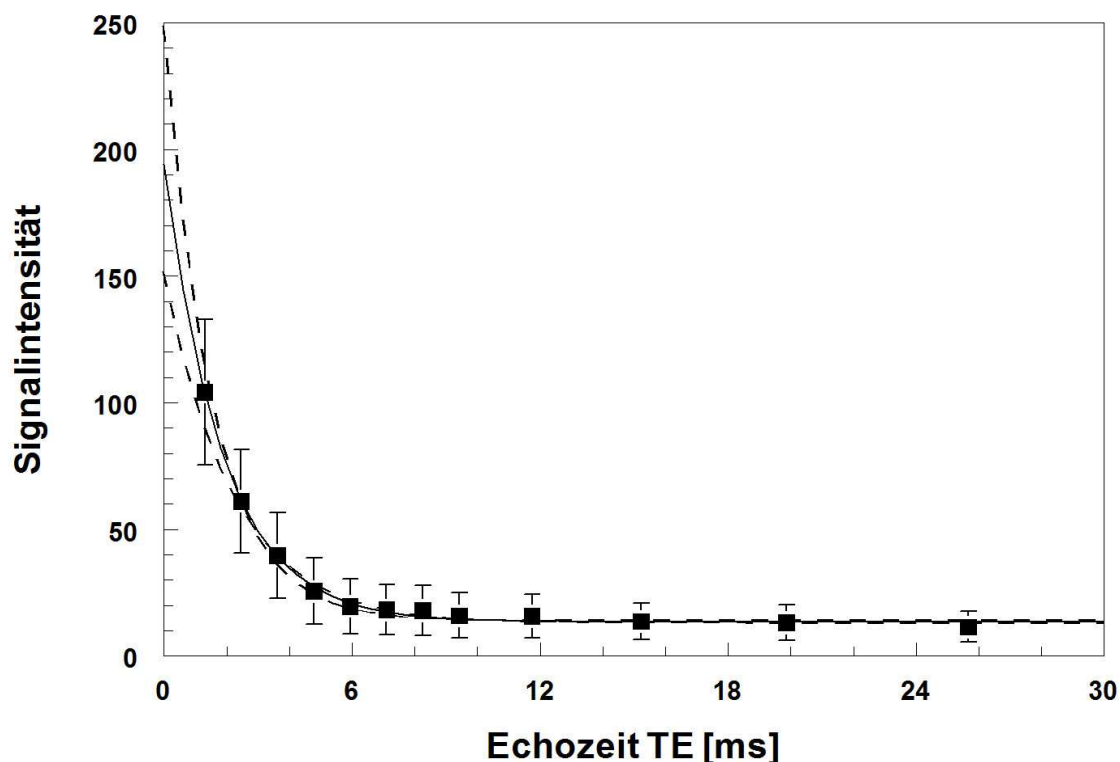


Abbildung 26: 95%-Streuung der Signalamplitude bei einem moderat Eisen-überladenen Patienten.

Wie in der Abbildung 26 zu sehen, kann $SI(0)$ also bereits bei moderater Eisenüberladung erheblich variieren. Die durchgezogene Linie stellt den optimalen Fit dar, die gestrichelten Linien die Extremwerte. Das resultierende $R2^*$ schwankt in diesem Fall theoretisch zwischen $447 [s^{-1}]$ und $647 [s^{-1}]$.

Die starke Abhängigkeit des $R2^*$ von der Signalamplitude wird in der folgenden Abbildung 27 vor allem beim schwer Eisen-überladenen Beispielpatienten deutlich. Im Bereich des 95%-Konfidenzintervalls ist hier eine Erhöhung der Signalamplitude von beinahe bis zu 500% möglich. Grund ist der bereits erwähnte schnelle Abfall der Signalintensität, sodass die tatsächlich mit dem ersten Echo gemessene Signalintensität möglicherweise eine unterschätzte Intensität darstellt.

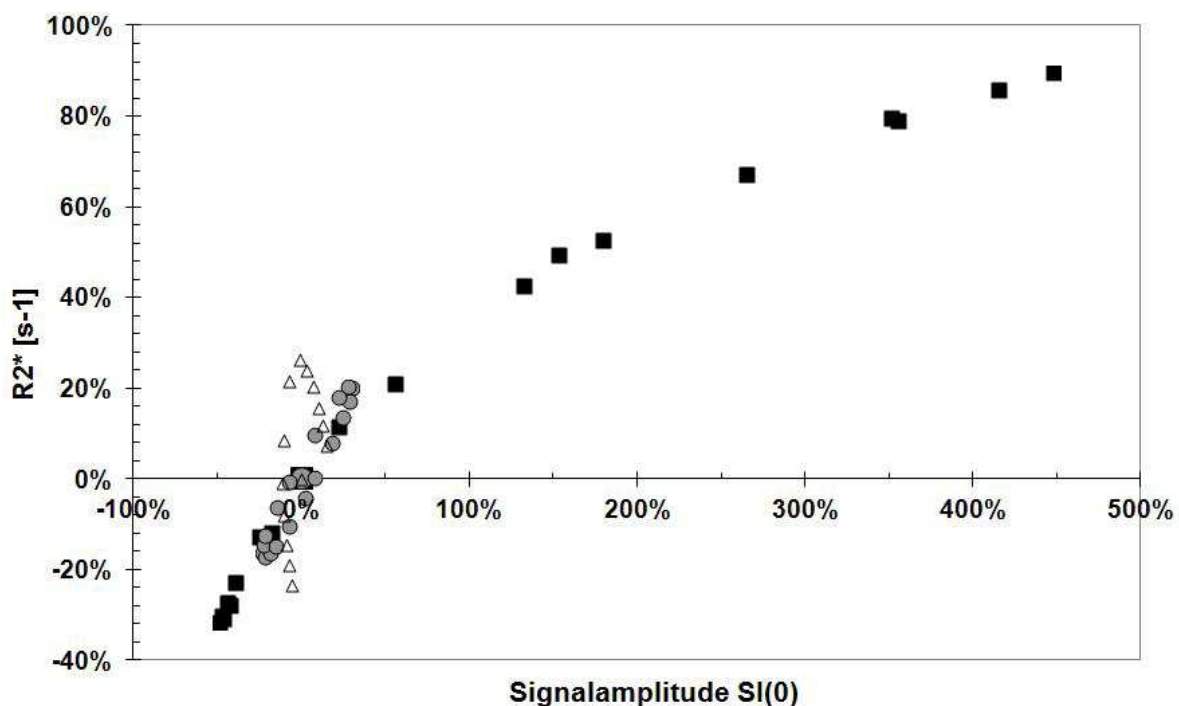


Abbildung 27: Abhängigkeit des $R2^*$ von der Signalamplitude innerhalb des 95% CI. Hervorzuheben sind die Werte bei schwerer Eisenüberladung (schwarze Quadrate).

4.4.2. Die Rolle des Signaluntergrunds (SI_{LO}) bei milder Eisenüberladung

Im Gegensatz zu moderat und schwer Eisen-überladenen Patienten stellt bei Patienten mit milder Eisenüberladung und bei Normalpersonen der Signaluntergrund (SI_{LO}) die einflussreichste Größe dar. In Abbildung 28 soll die gegenseitige Abhängigkeit von SI_{LO} und $R2^*$ betrachtet werden.

Hier wird die mögliche Diversität des SI_{LO} bei einem Patienten mit milder Eisenüberladung durch die breite Streuung im innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls von $R2^*$ deutlich. Bei moderater Eisenüberladung fällt die Streuung der Werte nicht annähernd so hoch aus.

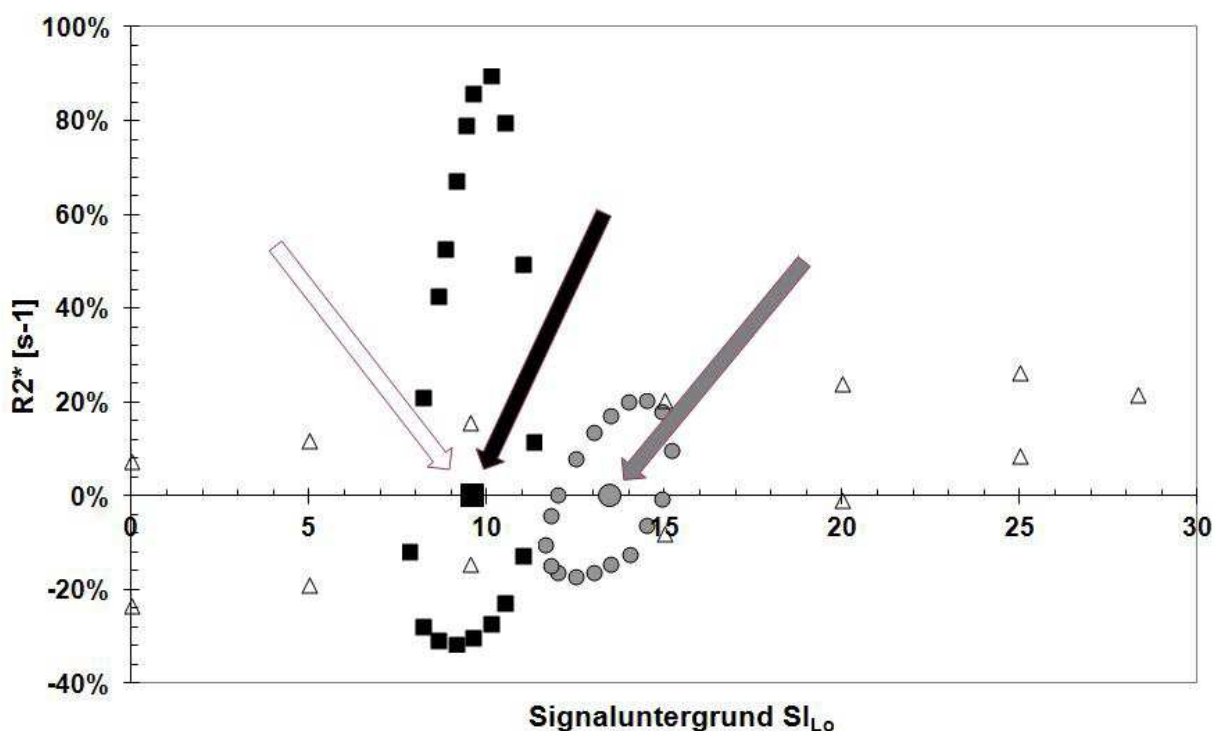


Abbildung 28: Gegenseitige Abhängigkeit von $R2^*$ und SI_{LO} innerhalb des 95%-CI von $R2^*$. Dreiecke = milde Eisenüberladung, graue Kreise = moderate Eisenüberladung, schwarze Quadrate = schwere Eisenüberladung. Weißer, grauer bzw. schwarzer Pfeil zeigen den tatsächlich gemessenen SI_{LO} des zugehörigen $R2^*$.

Außerdem zeigt Abbildung 28 für die schwere Eisenüberladung die Möglichkeit einer deutlichen Unter- vor allem aber Überschätzung des $R2^*$.

4.5. Vergleich der Auswahlfenster (ROI)

Werden Signalintensitäten basierend auf der Methode der ROI analysiert, erhält man den Mittelwert der Signalintensität aller Pixel der zugehörigen Region (Wood und Ghugre 2008). Im Ergebnisteil (Abbildung 18) wurden 3 verschiedene Leber-ROI miteinander verglichen mit dem Resultat, dass die zugehörigen Regressionsgeraden sich nicht signifikant von der Steigung $m=1$ unterscheiden. Die Auswahl der ROI hat also keinen signifikanten Einfluss auf das $R2^*$, womit die Relaxationsrate jeder unserer 3 ROI als repräsentativ für die gesamte Leberschicht angesehen werden kann. Man hätte annehmen können, dass in der Peripherie höhere Relaxationsraten erreicht werden, da hier die Menge der Lebergefäße möglicherweise geringer ist, wohingegen Gefäße, die nicht sichtbar ausgeschlossen werden können, zu einer Verringerung von $R2^*$ führen. Diese Hypothese hat sich durch unsere Untersuchungen allerdings nicht bestätigt.

Eine andere Herangehensweise als unsere ROI-Methode bietet das sogenannte Mapping: Dabei werden die Signalintensitäten aller zugehörigen Pixel bestimmt und zu einer Karte zusammen geführt. Hierbei lassen sich Extremwerte leichter erkennen und Artefakte und Pathologien möglicherweise leichter identifizieren (St Pierre et al. 2005, Wood et al. 2005a, Clark und St Pierre 2000). Im Vergleich von ROI und Mapping-Methode zeigte sich eine gute Übereinstimmung beider Methoden (Ghugre et al. 2006). Eine neuere Studie hat die beiden Methoden kombiniert. Dabei wurden ROIs verschiedener Größe von unterschiedlichen Untersuchern angefertigt und von den Pixeln in der Region ein Histogramm angefertigt. Es zeigte sich, dass Größe und Platzierung der ROI eine wichtige Rolle spielen, die Wahl einer kleinen ROI im Vergleich zu einer Gesamtleber-ROI zu einem leicht höheren $R2^*$ und höheren Standardfehlern (McCarville et al. 2010). Ferner zeigte sich in selbiger Studie eine starke Assoziation von $R2^*$ und LIC nach Leberbiopsie, die bei höheren Werten jedoch schwächer wird.

Es ist heute anzunehmen, dass die Eisenverteilung bei steigender LIC zunehmend heterogener wird (Kreeftenberg et al. 1984, van Deursen et al. 1988, Ambu et al. 1995, Emond et al. 1999), es sind also vorwiegend diejenigen Patienten betroffen, die mittels MRT auf ihr Lebereisen überwacht werden. Es lässt sich schlussfolgern, dass vor allem auf Grund dieser heterogenen Eisenverteilung auf große ROIs zurück gegriffen werden sollte. In unserer Anwendungsbeobachtung haben wir uns an diese Vorgabe

gehalten und zudem Gefäße aus der Leber-ROI ausgeschlossen, da diese ein anderes Signalverhalten als Lebergewebe zeigen (McCarville et al.2010).

Es ist nicht auszuschließen, dass Unterschiede in der Analyse-Methode (ROI mit Durchschnittswerten aller Pixel versus Mapping) für den Widerspruch in der Variabilität des $R2^*$ in dieser Arbeit und in den Ergebnissen anderer Autoren verantwortlich sind. Ein anderer Grund könnte in der MRT-Methode selbst liegen.

4.6. Einfluss der EKG-Triggerung auf die Bestimmung von $R2^*$

Zwar liefert die Methode mit 3 Mittelungen (NEX 3) durch die höhere Menge an Daten subjektiv bessere MRT-Bilder, doch sind diese auch einer erheblich längeren Messzeit gegenüber der EKG-getriggerten Sequenz (NEX 1) geschuldet. Da zur Messung von $R2^*$ sichtbare anatomische Details der Leber nicht zwangsläufig ausschlaggebend sind, kann die Messung des Lebereisens mit derselben Sequenz erfolgen, welche bereits für die Messung des Herzeisens benutzt wird.

4.7. $R2^*$, Serum-Ferritin, ALT-Erhöhung und Lebervolumen

In den Ergebnissen zeigt sich eine signifikante Korrelation von $R2^*$ und ALT. Die Erhöhung von ALT könnte demnach evtl. aus Hepatozytenzerfall aufgrund einer Entzündungsreaktion oder aufgrund von Nebenwirkungen der Chelatortherapie entstanden sein. Letzteres wird für Exjade beschrieben (Vichinsky 2008), Prabhu et al. sprechen von Fluktuationen in den Leberenzymen als Nebenwirkung von Deferipron (Prabhu et al. 2009).

Mehrere Studien haben den Zusammenhang von Eisenüberladung und der Serum-Ferritin-Konzentration bei Patienten mit Eisenüberladung untersucht. In einer Studie war Ferritin für 57% der LIC-Variationen verantwortlich (Brittenham et al. 1993), andere Ergebnisse handeln von einer moderaten Pearson-Korrelation von $r = 0,7$ (Nielsen et al. 1995). Eine Studie fand keinen signifikanten Zusammenhang von Ferritin und LIC (Harmatz et al. 2000). In dieser Arbeit konnte hingegen eine signifikante Korrelation von $r_s = 0,87$ ($p < 10^{-4}$) gefunden werden.

In den Ergebnissen dieser Arbeit zeigt sich außerdem eine signifikante Korrelation von $R2^*$ und Lebervolumen-Index ($r_s = 0,27$; $p = 0,025$). Woher kommt diese Volumenvergrößerung bei erhöhter Relaxationsrate? Eine Möglichkeit wäre, dass es im Sinne einer Entzündungsreaktion zu einem Anschwellen der Hepatozyten kommen könnte.

Chan et al. untersuchten 2005 den Zusammenhang von Körpergewicht, SF und Leberfunktion mit dem Lebervolumen, dabei wurde eine signifikante Korrelation zwischen ALT und Lebervolumen-Index gefunden (Chan et al. 2005). Dies könnte auch den gefundenen Zusammenhang der in dieser Arbeit gefundenen Korrelation von R2* und Lebervolumenindex erklären.

5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde durch Messungen bei 53 Personen eine Gradienten-Multiechosequenz (MRI-R2*) mit Hilfe der Standardmethode der biomagnetischen Suszeptometrie für Leber und Milz kalibriert und die Vergleichbarkeit beider Methoden gezeigt. Es zeigte sich außerdem eine Korrelation des Serum-Ferritins sowohl mit LIC(BLS) als auch mit Leber-R2*. Auch das Lebervolumen korrelierte mit Leber-R2*, während sich keine Korrelation für Milzvolumen und Milz-R2* ergab. Die Volumenbestimmung von Leber und Milz nach MR-Planimetrie und Ultraschall-Planimetrie lieferte vergleichbare Ergebnisse, wobei gezeigt wurde, dass das Milzvolumen durch die Ultraschall-Planimetrie tendenziell unterschätzt wird.

Durch die erfolgte Kalibrierung kann das Leber- und Milzeisen in Zukunft in gleicher Sitzung mit der Herzeisenmessung MR-technisch bestimmt werden. Auch in Zentren, die nicht über die Technik der biomagnetischen Suszeptometrie verfügen, kann die Eisenquantifizierung damit zur klinischen Routine werden. Vor allem die Möglichkeit, Lebereisen durch Auswertung des Leberfensters in der kurzen Herzachse bei der Herzeisenmessung durch MRI-R2* zu bestimmen, gibt Hoffnung auf eine Vereinfachung der regelmäßigen Überwachung bei Eisen-überladenen Patienten.

Es müssen aber auch die Limitierungen unserer Methode deutlich gemacht werden: vor allem im therapeutisch wichtigen Bereich der LIC bei Normalpersonen und Patienten mit milder Eisenüberladung gibt es eine Streuung der Datenpunkte in unserer Kalibrierkurve und somit eine erhebliche Ungenauigkeit in diesem Bereich.

Weitere Arbeiten müssen zeigen, welche MR-Methodik vorzuziehen ist und inwieweit sich R2 oder R2* durchsetzen werden.

Literaturverzeichnis

Allen PD, St Pierre TG, Chua-anusorn W, Strom V, Rao KV (2000). Low-frequency low-field magnetic susceptibility of ferritin and hemosiderin. *Biochim. Biophys. Acta* 1500(2):186-196.

Ambu R, Crisponi G, Sciò R, Van Eyken P, Parodo G, Ianelli S, Marongiu F, Silvagni R, Nurchi V, Costa V, Faa G, Desmet VJ (1995). Uneven hepatic iron and phosphorus distribution in beta-thalassemia. *J Hepatol* 23(5):544-549.

Angelucci E, Baronciani D, Lucarelli G, Baldassarri M, Galimberti M, Giardini C, Martinelli F, Polchi P, Polizzi V, Ripalti M, Muretto P (1995). Needle liver biopsy in thalassaemia: analyses of diagnostic accuracy and safety in 1184 consecutive biopsies. *Br J Haematol* 89(4):757-761.

Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE, Ripalti M, Baronciani D, Giardini C, Galimberti M, Polchi P, Lucarelli G (2000). Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med* 343(5):327-31.

Anderson LJ, Holden S, Davis B, Prescott E, Charrier CC, Bunce NH, Firmin DN, Wonke B, Porter J, Walker JM, Pennell DJ (2001). Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J* 22(23):2171-2179.

Anderson LJ, Wonke B, Prescott E, Holden S, Walker JM, Pennell DJ (2002). Comparison of effects of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentrations and ventricular function in beta-thalassaemia. *Lancet* 360:516-520.

Barry M, Sherlock S (1971). Measurement of liver-iron concentration in needle biopsy specimens. *Lancet* 1(7690):100-103.

Bauman JH, Harris JW (1967). Estimation of hepatic iron stores by in vivo measurement of magnetic susceptibility. *J Lab Clin Med* 70(2):246-257.

Boncimino A, Bertaina A, Locatelli F (2010). Cord blood transplantation in patients with hemoglobinopathies. *Transfus Apheresis Sci.* 42(3):277-281.

Bonkovsky HL, Slaker DP, Bills EB, Wolf DC (1990). Usefulness and limitations of laboratory and hepatic imaging studies in iron-storage disease. *Gastroenterology* 99(4):1079-1091.

- Bonkovsky HL, Rubin RB, Cable EE, Davidoff A, Rijcken TH, Stark DD (1999) Hepatic iron concentration: noninvasive estimation by means of MR imaging techniques. *Radiology* 212(1):227-234.
- Borgna-Pignatti C, Castriota-Scanderbeg A (1991). Methods for evaluating iron stores and efficacy of chelation in transfusional hemosiderosis. *Haematologica* 76(5):409-413.
- Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano P, Zao H, Cappellini MD, Del Vecchio GC, Romeo MA, Forni GL, Gamberini MR, Ghilardi R, Piga A, Cnaan A (2004). Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica* 89(10):1187-93.
- Borgna-Pignatti C, Cappellini MD, De Stefano P, Del Vecchio GC, Forni GL, Gamberini MR, Ghilardi R, Piga A, Romeo MA, Zhao H, Cnaan A (2006). Cardiac morbidity and mortality in deferoxamine- or deferiprone-treated patients with thalassemia major. *Blood* 107(9):3733-3737.
- Brewer CJ, Coates TD, Wood JC (2009). Spleen R2 and R2* in iron-overloaded patients with sickle cell disease and thalassemia major. *J Magn Reson Imaging* 29(2): 357-64.
- Brittenham GM, Farrell DE, Harris JW, Feldman ES, Danish EH, Muir WA, Tripp JH, Bellon EM (1982). Magnetic-susceptibility measurement of human iron stores. *N Engl J Med* 307(27):1671-75.
- Brittenham GM, Cohen AR, McLaren CE, Martin MB, Griffith PM, Nienhuis AW, Young NS, Allen CJ, Farrell DE, Harris JW (1993). Hepatic iron stores and plasma ferritin concentration in patients with sickle cell anemia and thalassemia major. *Am J Hematol* 42(1):81-85.
- Brittenham GM, Griffith PM, Nienhuis AW, McLaren CE, Young NS, Tucker EE, Allen CJ, Farrell DE, Harris JW (1994). Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major. *N Engl J Med* 331(9):567-73.
- Brittenham GM, Badman DG (2003). Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood* 101(1):15-19.

- Britton RS, Ferrali M, Magiera CJ, Recknagel RO, Bacon BR (1990). Increased prooxidant action of hepatic cytosolic low-molecular-weight iron in experimental iron overload. *Hepatology* 11(6):1038-43.
- Britton RS, Leicester KL, Bacon BR (2002). Iron toxicity and chelation therapy. *Int J Hematol* 76(3):219-28.
- Brooks RA, Vymazal J, Goldfarb RB et al. (1998). Relaxometry and magnetometry of ferritin. *Magn. Reson. Med.* 40(2):227-235.
- Cabantchik ZI, Breuer W, Zanninelli G, Cianciulli P (2005). LPI-labile plasma iron in iron overload. *Best Pract Res Clin Haematol* 18(2):277-87.
- Cappellini MD, Bejaoui M, Agaoglu L, Porter J, Coates T, Jeng M, Lai ME, Mangiagli A, Strauss G, Girot R, Watman N, Ferster A, Loggetto S, Abish S, Cario H, Zoumbos N, Vichinsky E, Opitz H, Ressayre-Djaffer C, Abetz L, Rofail D, Baladi JF (2007). Prospective evaluation of patient-reported outcomes during treatment with deferasirox or deferoxamine for iron overload in patients with beta-thalassemia. *Clin Ther* 29(5):909-917.
- Cario H, Grosse R, Janßen G, Jarisch A, Meerpohl J, Strauss G (2010). S2-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der sekundären Eisenüberladung bei Patienten mit angeborenen Anämien. *Klin Padiatr* 222:399-406.
- Centis F, Tabellini L, Lucarelli G, Buffi O, Tonucci P, Persini B, Annibali M, Emiliani R, Iliescu A, Rapa S, Rossi R, Angelucci E, Schrier SL (2000). The importance of erythroid expansion in determining the extend of apoptosis in erythroid precursors in patients with beta-thalassemia major. *Blood* 96(10):3624-3629.
- Chan YL, Li CK, Chik KW, Law MY, Howard R (2005). Liver volume in thalassemia major: relationship with body weight, serum ferritin, and liver function. *Pediatr Radiol* 35(2):165-8.
- Chapman RW, Hussain MA, Gorman A, Laulicht M, Politis D, Flynn DM, Sherlock S, Hoffbrand AV (1982). Effect of ascorbic acid deficiency on serum ferritin concentration in patients with beta-thalassemia major and iron overload. *J Clin Pathol* 35(5):487-491.

- Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini MD (2002). Oxidative status and malondialdehyde in beta-thalassaemia patients. *Eur J Clin Invest*, 32 (Suppl 1):55-60.
- Clark PR, St Pierre TG (2000). Quantitative mapping of transverse relaxivity ($1/T(2)$) in hepatic iron overload: a single spin-echo imaging methodology. *Magn Reson Imaging* 18(4):431-438.
- Cohen AR, Galanello R, Piga A, DiPalma A, Vullo C, Tricta F (2000). Safety profile of the oral iron chelator deferiprone: a multicentre study. *Br J Haematol*. 108(2):305-312.
- Cooley TB, Lee PA (1925). A series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. *Trans Am Pediatr Soc*. 1925;37:29-30.
- Cunningham MJ, Macklin EA, Neufeld EJ, Cohen AR, Thalassemia Clinical Research Network (2004). Complications in beta-thalassemia major in North America. *Blood* 104(1):34-39.
- De Luca C, Filosa A, Grandinetti M, Maggio F, Lamba M, Passi S (1999). Blood antioxidant status and urinary levels of catecholamine metabolites in beta-thalassemia. *Free Radic Res*. 30(6):453-62.
- Emond MJ, Bronner MP, Carlson TH, Lin M, Labbe RF, Kowdley KV (1999). Quantitative study of the variability of hepatic iron concentrations. *Clin Chem*. 45(3):340-346.
- Engelhardt R, Langkowski JH, Fischer R, Nielsen P, Kooijman H, Heinrich HC, Bücheler E (1994). Liver iron quantification: Studies in aqueous iron solutions, iron overloaded rats, and patients with hereditary hemochromatosis. *Magn Reson Imaging* 12(7):999-1007.
- Fischer R, Engelhardt R, Nielsen P, Gabbe EE, Heinrich HC, Schmiegel WH, Wurbs D (1992). Liver iron quantification in the diagnosis and therapy control of iron overload patients. In: *Advances in Biomagnetism: Clinical Aspects*. Hoke M, Erné SN, Okada YC, Romani GL (Hrg.) Elsevier, Amsterdam: 585-88
- Fischer R (1998). Liver iron susceptometry. In: *Magnetism in Medicine*. Andrae M, Nowak H (Hrg.), Wiley-VCH, Berlin, 286-301.

Fischer R, Tiemann CD, Engelhardt R, Nielsen P, Dürken M, Gabbe EE, Jan-ka GE (1999). Assessment of iron stores in children with transfusion siderosis by biomagnetic liver susceptometry. *Am J Hematol* 60(4):289-299.

Fischer R, Longo F, Nielsen P, Engelhardt R, Hider RC, Piga A (2003). Monitoring long-term efficacy of iron chelation therapy by deferiprone and desferrioxamine in patients with beta-thalassemia major: application of SQUID biomagnetic liver susceptometry. *Br J Haematol.* 121(6):938-948.

Fischer R, Farrell D (2007). Liver iron susceptometry. In: *Magnetism in Medicine: A Handbook, Completely Revised and Extended Edition.* Andrae M, Nowak H (Hrg.), Wiley-VCH, Berlin, 529-549.

Fischer R, Harmatz PR (2009). Non-invasive assessment of tissue iron overload. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009:215-21.

Gandon Y, Guyader D, Heautot JF, Reda MI, Yaouang J, Buhe T, Brissot P, Carsin M, Deugnier Y (1994). Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient-echo MR imaging. *Radiology* 193(2):533-38.

Gaziev D, Galimberti M, Lucarelli G, Polchi P, Giardini C, Angelucci E, Baronciani D, Sodani P, Erer B, Biagi MD, Andreani M, Agostinelli F, Donati M, Nesci S, Talevi N (2000). Bone marrow transplantation from alternative donors for thalassemia: HLA-phenotypically identical relative and HLA nonidentical sibling or parent transplants. *Bone Marrow Transplant* 25(8):815-21.

Ghugre NR, Enriquez CM, Coates TD, Nelson MD Jr, Wood JC (2006). Improved R2* measurements in myocardial iron overload. *J Magn Reson Imaging* 23(1): 9-16.

Gomori JM, Grossman RI, Drott HR (1988). MR relaxation times and iron content of thalassemic spleens: an in vitro study. *Am J Roentgenol* 150(3): 567-69.

Gomori JM, Horev G, Tamary H, Zandback J, Kornreich L, Zaizov R, Freud E, Krief O, Ben-Meir J, Rotem H, Kuspel M, Rosen P, Rachmilewitz EA, Loewenthal E, Gorodetsky R (1991). Hepatic iron overload: quantitative MR imaging. *Radiology* 179(2):367-369.

Gossuin Y, Roch A, Muller RN, Gillis P (2000). Relaxation induced by ferritin and ferritin-like magnetic particles: the role of proton exchange. *Magn Reson Med* 43(2):237-243.

Gossuin Y, Roch A, Muller RN, Gillis P, Lo Bue F (2002). Anomalous nuclear magnetic relaxation of aqueous solutions of ferritin: an unprecedented first-order mechanism. *Magn Reson Med* 48(6):959-964.

Harmatz P, Butensky E, Quirolo K, Williams R, Ferrell L, Moyer T, Golden D, Neumayr L, Vichinsky E (2000). Severity of iron overload in patients with sickle cell disease receiving chronic red blood cell transfusion therapy. *Blood* 96(1):76-79.

Hernandez RJ, Sarnaik SA, Lande I, Aisen AM, Glazer GM, Chenevert T, Martel W (1988). MR evaluation of liver iron overload. *J Comput Assist Tomogr* 12(1):91-94.

Hershko C, Link G, Konijn AM, Cabantschik ZI (2005). Objectives and Mechanism of Iron Chelation Therapy. *Ann N Y Acad Sci* 1054:124-135.

Imlay JA, Chin SM, Linn S (1988). Toxic DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction in vivo and in vitro. *Science* 240(4852):640-642.

Jensen JH, Tang H, Tosti CL, Swaminathan SV, Nunez A, Hultman K, Szulc KV, Wu EX, Kim D, Sheth S, Brown TR, Brittenham GM (2010). Separate MRI quantification of dispersed (ferritin-like) and aggregated (hemosiderin-like) storage iron. *Magn Reson Med* 63(5):1201-1209

Jensen PD (2004). Evaluation of iron overload. *Br J Haematol* 124(6):697-711.

Kaltwasser JP, Gottschalk R, Schalk KP, Hartl W (1990). Non-invasive quantitation of liver iron-overload by magnetic resonance imaging. *Br J Haematol* 74(3):360-363.

Kreeftenberg HG, Koopman BJ, Huizenga JR, van Vilsteren T, Wolthers BG, Gips CH (1984). Measurement of iron in liver biopsies—a comparison of three analytical methods. *Clin Chim Acta* 144:255-262

Kröhnke A (2001). Wirksamkeit der Behandlung mit dem Eisenchelator Deferiprone in stark eisenüberladenen Patienten mit β -Thalassämia major. Med. Dissertation, Universität Hamburg, Seite 21.

Kulozik AE (2006). Thalassämien. In: Pädiatrische Hämatologie und Onkologie. Gadner H, Gaedicke G, Niemeyer C, Ritter J (Hrg). Springer Medizin Verlag Heidelberg, 169-178.

La Nasa G, Giardini C, Argioli F, Locatelli F, Arras M, De Stefano P, Ledda A, Pizzati A, Sanna MA, Vacca A, Lucarelli G, Contu L (2002). Unrelated donor bone marrow transplantation for thalassemia: the effect of extended haplotypes. *Blood* 99(12):4350-6.

Leung NW, Farrant P, Peters TJ (1986). Liver volume measurement by ultrasonography in normal subjects and alcoholic patients. *J Hepatol* 2(2):157-164.

Leung AW, Chu WC, Lam WW, Lee V, Li CK (2009). Magnetic resonance imaging assessment of cardiac and liver iron load in transfusion dependent patients. *Pediatr Blood Cancer* 53(6):1054-9.

Link G, Saada A, Pinson A, Konijn AM, Hershko C (1998). Mitochondrial respiratory enzymes are a major target of iron toxicity in rat heart cells. *J Lab Clin Med* 131(5): 466-474.

Lucarelli G, Gaziev J (2008). Advances in the allogeneic transplantation for thalassemia. *Blood Reviews* 22(2):53-63.

McCarville MB, Hillenbrand CM, Loeffler RB, Smeltzer MP, Song R, Li CS, Hankins JS (2010). Comparison of whole liver and small region-of-interest measurements of MRI liver R2* in children with iron overload. *Pediatr Radiol* 40(8):1360-7.

Modell B, Berdoukas V (1984). *The clinical Approach to Thalassemia*. Grune and Stratton, London, 163-169.

Modell B, Khan M, Darlison M, King A, Layton M, Old J, Petrou M, Varnavides L (2001). A national register for surveillance of inherited disorders: beta thalassaemia in the United Kingdom. *Bull World Health Organ* 79(11):1006–13.

Morrison ED, Brandhagen DJ, Phatak PD, Barton JC, Krawitt EL, El-Serag HB, Gordon SC, Galan MV, Tung BY, Ioannou GN, Kowdley KV (2003). Serum ferritin level predicts advanced hepatic fibrosis among U.S. patients with phenotypic hemochromatosis. *Ann Intern Med* 138:627-633.

Nielsen P, Fischer R, Engelhardt R, Tondüry P, Gabbe EE, Janka GE (1995). Liver iron stores in patients with secondary haemochromatosis under iron chelation therapy with deferoxamine or deferiprone. *Br J Haematol* 91(4):827-833.

Nielsen P, Fischer R, Engelhardt R, Dresow B, Gabbe EE (1998). Neue Möglichkeiten in der Diagnose der Hereditären Hämochromatose. *Deutsches Ärzteblatt* 95: 2915-2921.

Nielsen P, Fischer R, Engelhardt R, Buggisch P, Janka GE, Greten H (2003). Exposé: Nicht-invasive Eisenbestimmung durch biomagnetische Lebersuszeptometrie [Online im Internet.] URL: http://www.eiseninfo.de/exposee_Squid.pdf [Stand 28.01.2013, 17:15]

Nielsen P, Dürken M, Janka G (2006). Therapie der sekundären Eisenüberladung. In: Therapieoptionen bei Eisenüberladungserkrankungen. Nielsen P (Hrg.), 1. Auflage, UNI-MED SCIENCE, Bremen, 74-84.

Nielsen P, Gaedicke G (2006). Physiologie und Pathophysiologie des Eisenstoffwechsels. In: Pädiatrische Hämatologie und Onkologie. Gadner H, Gaedicke G, Niemeyer C, Ritter J (Hrg.). Springer Medizin Verlag Heidelberg, 101-110.

Olivieri NF, Nathan DG, MacMillan JH, Wayne AS, Liu PP, McGee A, Martin M, Koren G, Cohen AR (1994). Survival in medically treated patients with homozygous beta-thalassemia. *N Engl J Med* 331(9):574-78.

Olivieri NF, Brittenham GM (1997). Iron-chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood* 89(3):739-761.

Olivieri NF, Brittenham GM, McLaren CE, Templeton DM, Cameron RG, McClelland RA, Burt AD, Fleming KA (1998). Long-term safety and effectiveness of iron-chelation therapy with deferiprone for thalassemia major. *N Engl J Med* 339(7):417-423.

Papakonstantinou OG, Maris TG, Kostaridou V, Gouliamos AD, Koutoulas GK, Kalovidouris A, Papavassiliou GB, Kordas G, Kattamis C, Vlahos LJ, Papavassiliou CG (1995). Assessment of liver iron overload by T2-quantitative magnetic resonance imaging: correlation of T2-QMRI measurements with serum ferritin concentration and histologic grading of siderosis. *Magn Res Imag* 13(7):967-977.

- Porter JB (2001). Practical management of iron overload. *Br J Haematol* 115(2):239-252.
- Prabhu R, Prabhu V, Prabhu RS (2009). Iron overload in beta thalassemia – a review. *J Biosci Tech* 1(1):20-31.
- Reubelt J (2009). Darstellung und Quantifizierung von liquorflussabhängigen Bewegungen intrakranieller Strukturen mittels MRT. *Med. Dissertation. Universität Ulm. Seite 3-4.*
- Rinck PA (2003a). Kapitel 4: Relaxationszeiten und grundlegende Pulssequenzen. In: *Magnetresonanz in der Medizin: Lehrbuch des European Magnetic Resonance Forum*, 5. Auflage. Rinck PA (Hrg.), ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 33-51.
- Rinck PA (2003b). Chapter 8: Rapid Imaging. In: *Magnetic Resonance in Medicine: The Basic Textbook of the European Magnetic Resonance Forum*, 5th revised edition. Rinck PA (Hrg.), ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 89-98.
- Rinck PA (2003c). Chapter 6: Image Formation. In: *Magnetic Resonance in Medicine: The Basic Textbook of the European Magnetic Resonance Forum*, 5th revised edition. Rinck PA (Hrg.), ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 67-82.
- Rinck PA (2003d). Chapter 8: Rapid Imaging. In: *Magnetic Resonance in Medicine: The Basic Textbook of the European Magnetic Resonance Forum*, 5th revised edition. Rinck PA (Hrg.), ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 89-98.
- Sheth S (2003). SQUID biosusceptometry in the measurement of hepatic iron. *Pediatr Radiol* 33:373-377.
- Stark DD, Moseley ME, Bacon BR, Moss AA, Goldberg HI, Bass NM, James TL (1985). Magnetic resonance imaging and spectroscopy of hepatic iron overload. *Radiology* 154(1):137-142.
- St Pierre TG, Clark PR, Chua-Anusorn W (2004). Single spin-echo proton transverse relaxometry of iron-loaded liver. *NMR Biomed* 17(7):446-458.
- St Pierre TG, Clark PR, Chua-Anusorn W, Fleming AJ, Jeffrey GP, Olynyk JK, Pootrakul P, Robins E, Lindeman R (2005). Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood* 105(2):855-861.

van Deursen C, de Metz M, Koudstaal J, Brombacher P (1988). Accumulation of iron and iron compounds in liver tissue. A comparative study of the histological and chemical estimation of liver iron. *J Clin Chem Clin Biochem* 26(10):617-622.

Vetter B, Schwarz C, Kohne E, Kulozik AE (1997). Beta-thalassaemia in the immigrant and non-immigrant German populations. *Br J Haematol* 97(2):266-272.

Vichinsky E (2008). Clinical application of deferasirox: practical patient management. *Am J Hematol* 83(5):398-402.

Villeneuve JP, Bilodeau M, Lepage R, Côté J, Lefebvre M (1996). Variability in hepatic iron concentration measurement from needle-biopsy specimens. *J Hepatol* 25(2):172-177.

Voskaridou E, Douskou M, Terpos E, Papassotiriou I, Stamoulakatou A, Ourailidis A, Loutradi A, Loukopoulos D (2004). Magnetic resonance imaging in the evaluation of iron overload in patients with beta thalassaemia and sickle cell disease. *Br J Haematol* 126(5):736–742.

Weatherall DJ, Clegg JB (2001). Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ* 79(8):704-712.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG (2001a). The Hemoglobinopathies. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th Edition. Scriver CR (Hrg.), McGraw-Hill, New York, 4571-4636. Seite 4615.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG (2001b). The Hemoglobinopathies. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th Edition. Scriver CR (Hrg.), McGraw-Hill, New York, 4571-4636. Seite 4599.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG (2001c). The Hemoglobinopathies. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th Edition. Scriver CR (Hrg.), McGraw-Hill, New York, 4571-4636. Seite 4626.

Westwood M, Anderson LJ, Firmin DN, Gatehouse PD, Charrier CC, Wonke B, Pennell DJ (2003). A single breath-hold multiecho T2* cardiovascular mag-

netic resonance technique for diagnosis of myocardial iron overload. *J Magn Reson Imaging* 18(1):33-39.

Williamson SJ, Kaufman L (1981). Biomagnetism. *J Magn Magn Mat* 22:129-202.

Wisner GL, Buxton RB, Rosen BR, Fisel CR, Oot Rf, Brady TJ, Davis KR (1988). Susceptibility induced MR line broadening: applications to brain iron mapping. *J Comp Ass Tomography* 12:259-265.

Wood JC, Enriquez C, Ghugre N, Tyzka JM, Carson S, Nelson MD, Coates TD (2005a). MRI R2 and R2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood* 106(4):1460-1465.

Wood JC, Otto-Duessel M, Aguilar M, Nick H, Nelson MD, Coates TD, Pollack H, Moats R (2005b). Cardiac iron determines cardiac T2*, T2, and T1 in the gerbil model of iron cardiomyopathy. *Circulation* 112(4):535-543.

Wood JC, Ghugre N (2008). Magnetic resonance imaging assessment of excess iron in thalassemia, sickle cell disease and other iron overload diseases. *Hemoglobin* 32(1-2): 85-96.

Worwood M, Cragg SJ, Jacobs A, McLaren C, Ricketts C, Economidou J (1980). Binding of serum ferritin to concanavalin A: patients with homozygous beta thalassaemia and transfusional iron overload. *Br J Haematol* 46(3):409-416.

Wu EX, Kim D, Tosti CL, Tang H, Jensen JH, Cheung JS, Feng L, Au WY, Ha SY, Sheth SS, Brown TR, Brittenham GM (2010). Magnetic resonance assessment of iron overload by separate measurement of tissue ferritin and hemosiderin iron. *Ann N Y Acad Sci* 1202:115-122.

Zander N (2002). Bestimmung der Milzeisenkonzentration im Patienten mit Thalassämia major mit SQUID-Biosuszeptometrie. Med. Dissertation, Universität Hamburg, Seite 65.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Gerhard Adam und Prof. Dr. rer. nat. Reinhard Schneppenheim danke ich herzlich für die Überlassung des Themas. Darüber hinaus bedanke ich mich für die außerordentliche Betreuung und Zusammenarbeit mit Dr. Roland Fischer und PD Dr. Jin Yamamura. Bei PD Dr. Dr. Peter Nielsen bedanke ich mich für die interessante und aufschlussreiche Zeit in der Eisenstoffwechselambulanz. Für die grafischen Ratschläge möchte ich mich bei Christoph Seletzky bedanken. Als guten Ratgeber für alle Fragen bezüglich des Layouts bedanke ich mich außerdem bei Berkin Güler.

Lebenslauf

- 30.06.1986 Geburt in Bremen
- 1992-1996 Grundschule in der Vahr, Bremen
- 1996-2002 Gymnasium am Schulzentrum Julius-Brecht Allee, Bremen
- 2002-2005 Gymnasium an der Hermann-Böse-Straße, Bremen
- 2005 Abitur
- 2005-2006 Zivildienst im Klinikum Bremen-Mitte
- 2006-2012 Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg
- 2008 1. Staatsexamen
- 2011 Auslandssemester an der Université de Bordeaux, Frankreich
- 2012 2. Staatsexamen
- 01.03.2013 Assistenzarzt in der Kardiologie, AK St. Georg, Hamburg

Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift