

Exposée

„NICHT-INVASIVE EISENBESTIMMUNG DURCH BIOMAGNETISCHE LEBER-SUSZEPTOMETRIE“

Roland Fischer, Peter Nielsen*, Rainer Engelhardt, Peter Buggisch,
Gritta E. Janka, Heiner Greten

Hamburg, 26.05.03

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Zusammenfassung	2
2. Einführung	3
3. Bisherige Entwicklung	3
3.1. Instrumentelle Entwicklung	
3.2. Methode der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie	4
3.3. Patientenentwicklung bei der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie	5
4. Anwendungen und deren Nutzen	6
4.1. Hämochromatose	6
4.2. Transfusions-Siderose	12
4.3. Indikationen für die nicht-invasive Eisenbestimmung durch Biomagnetische Leber-Suszeptometrie bei Eisenüberladung	16
4.4. Alternative Methoden	17
5. Ethische und Wirtschaftlichkeitsüberlegungen	18
6. Apparative Anforderungen	21
7. Qualifikation und Qualitätssicherung	21
8. Zukünftige Entwicklung	21
9. Literatur-Verzeichnis	22
10. ANLAGEN: SOP-BLS, ausgewählte Originalarbeiten	29

* korrespondierender Autor

PD Dr. Dr. Peter Nielsen

„Interdisziplinäre Klinische Gruppe Eisenstoffwechsel“

Zentrum für Frauen- und Kindermedizin

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Martinistr. 52, Haus N41, Biomagnetometergebäude

20246 Hamburg

Tel. 040-42803-3389/2389

Fax. 040-42803-4797; e-mail: nielsen@uke.uni-hamburg.de

1. Zusammenfassung

Bei der vorliegenden Methode zur nichtinvasiven Bestimmung der Eisenkonzentration handelt es sich um ein erprobtes Verfahren, das an spezielle apparative Voraussetzung gebunden ist (speziell für diesen Zweck hergestellter Biosuszeptometer mit Flüssigheliumkühlung; weltweit gibt es 3 Maschinen dieser Art). Eine weitverbreitete Anwendung dieser Methode in anderen Krankenhäusern bzw. in Praxen niedergelassener Ärzte steht daher zukünftig nicht zur Diskussion. Auch ist mit diesem Gerät kein allgemeines Screening in der Bevölkerung sinnvoll und beabsichtigt. Es geht allein darum, eine Referenzmethode für außergewöhnliche Fälle mit Eisenüberladung (geschätzter Bedarf und Kapazität: 300-max. 500 Untersuchungen/Jahr) vorzuhalten. Voruntersuchte Patienten aus ganz Deutschland kommen mit klar begrenzter Fragestellung:

Indikationen

- Erstdiagnose bzw. Ausschluss einer Eisenüberladung bei Verdacht auf hereditäre Hämochromatose mit negativer HFE-Analytik (C282Y, H63D-Mutation), aber unklar erhöhten Werten für Serum-Ferritin und Serum-Eisen/Transferrin-Fe-Sättigung
- Quantitative Erfassung der individuell vorhandenen Eisenüberladung bei bekannter C282Y-positiver hered. Hämochromatose. Erbringt Aussage über die Anzahl der notwendigen Aderlässe und über die Prognose. Insbesondere bei Kindern und Jugendlichen kann über einen Therapiebeginn vor dem 18. Lebensjahr entschieden werden.
- Therapiekontrolle bei sekundärer Eisenüberladung unter Eisenchelatortherapie Erfassung der Unter- und Überdosierung von Deferoxamin bzw. Deferipron. Bei Kindern kann der Therapiebeginn (meist im Alter von 3-4 Jahren) festgelegt werden. Zu früher Beginn beeinträchtigt das Körperwachstum.
- Therapienotwendigkeit bei β -Thalassämia intermedia, Zustand vor und nach Knochenmarktransplantation mit potentiell bestehender Eisenüberladung.

Wie in zahlreichen Veröffentlichungen gezeigt und in diesem Manuskript beschrieben wird, ist für die meisten Fälle die nichtinvasive Messung der Lebereisenkonzentration mit dem Biosuszeptometer sowohl für die erbliche Eisenspeicherkrankheit als auch für Transfusions siderosen besser geeignet (quantitative, repräsentative Aussage), kostengünstiger (Vergleich zur Leberbiopsie bei halbstationärer Aufnahme), schmerzfrei und wesentlich sicherer. Ein alternatives preiswerteres Verfahren ist zur Zeit nicht in Sicht. Da mit der Biomagnetometer-Untersuchung eine nicht-invasive und für diesen Zweck in der Regel bessere Alternative zur Verfügung steht, sollte bei Eisenüberladung die invasive Leberbiopsie nicht länger bevorzugt durchgeführt werden.

Momentan ist die Situation dadurch gekennzeichnet, dass das Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf eine Versorgungsleistung für die Bundesrepublik Deutschland erbringt, deren Kosten jedoch nicht ausreichend abgedeckt werden.

2. Einführung

Die nichtinvasive Bestimmung der Eisenkonzentration in Leber und Milz, in denen 70-90 % des Speichereisens in Form von Hämosiderin- und Ferritin-Eisen gespeichert sind, ist ein alter diagnostischer Wunsch bei Krankheitszuständen mit Eisenüberladung (*Bauman & Harris, 1967*).

Insbesondere Patienten mit erblicher Hämochromatose, bei denen die Indikation zur traditionellen Leberpunktion oft zu spät gestellt wurde und noch wird, sowie alle Patienten mit eisenladenden Anämien mit und ohne chronische Bluttransfusionen (z. B. erbliche Mittelmeer-Anämie, myeloproliferative Anämien, Sichelzell-Anämien) würden von dieser Methode profitieren. Diese Patienten erleiden durch die toxische Wirkung hoher Eisenkonzentrationen in der Leber und in anderen Organen (Herz, Milz, Skelettsystem, hormonbildende Drüsen) im Einzelfall irreversible Langzeit-Schäden, wenn therapeutisch nicht rechtzeitig eingegriffen wird.

3. Bisherige Entwicklung

3.1. Instrumentelle Entwicklung

Während die ersten Versuche einer Eisenbestimmung auf magnetischem Wege an der mangelnden Sensitivität konventioneller Magnetometer scheiterten, konnte eine Arbeitsgruppe in Cleveland erstmals 1980 mit einem Suszeptometer, das auf SQUID-Sensoren (= Superconducting QUantum Interference Device) basierte, die erfolgreiche Messung der Lebereisen-Konzentration vom Normalbereich bis hin zu starker Eisenüberladung demonstrieren (*Farrell et al, 1980; Brittenham et al, 1982, 1988*). Heutzutage wird die Biomagnetische Leber-Suszeptometrie (BLS) jährlich an Hunderten von Patienten angewandt, wobei Instrumente benutzt werden, die von kommerziellen Firmen hergestellt werden (*Paulson et al, 1991; Starr et al, 2001*).

Daneben gab es zahlreiche Versuche und Studien, um mittels Röntgenstrahlungs-Computer-Tomographie, Gamma-Kernresonanzstreuung und Magnet-Resonanz-Tomographie (MRI) eine nichtinvasive Eisenbestimmung in der Leber zu ermöglichen (*Fischer, 1998*). Lediglich das quantitative MRI ist als annähernd alternative Methode davon übrig geblieben (*Kaltwasser et al, 1990; Engelhardt et al, 1994; Clark & StPierre, 2000*). Während es für das Verhalten paramagnetischer Substanzen wie Hämosiderin- und Ferritin-Eisen im Magnetfeld eine exakte physikalische Theorie gibt (Magnetostatik), ist dies für die Wechselwirkung des Elektron-Paramagnetismus (Ferritin-Eisen) mit dem Kern-Paramagnetismus (Protonen-Resonanz) nicht exakt bekannt. Die Komplexität dieser Wechselwirkung machen die bisher benutzten quantitativen MRI-Verfahren zu einer indirekteren Methode.

Am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf wurde im Rahmen eines BMFT-Projekts zum Biomagnetismus (Förderkennzeichen: 01VF8603) in den Jahren 1988-92 ein SQUID-Biomagnetometer zur Lebereisenbestimmung (Ferritometer[®], BTi Inc., San Diego) installiert, kalibriert (*Paulson et al, 1991*), und mittels Leberbiopsien validiert (*Fischer et al, 1992*). In der Folgezeit wurde die Methode in zahlreichen Studien angewendet und evaluiert (*Brittenham et al, 1993; Benn et al, 1994; Olivieri et al, 1995; Nielsen et al, 1995a, 1995b; Nachtigall et al, 1996; Nielsen et al, 1998a, 1998b; Fischer et al, 1999a; Del Vecchio et al, 2000; Janka et al, 2001; Fischer et al, 2001; Nielsen et al, 2002abc*).

Seit 1993 wurden regelmäßig Thalassämie-Patienten aus der Schweiz und Italien in Hamburg gemessen. Dies führte an dem Thalassämie-Zentrum des Ospedale Infantile Regina Margherita in Turin (Dr. Antonio Piga) zu Überlegungen ein eigenes Biomagnetometer in enger Kooperation mit der Hamburger Biomagnetismus-Gruppe zu projektieren. Das Instrument

wurde auf der Basis des Hamburger Biosuszeptometers und der dortigen Erfahrungen von der Firma Tristan Technologies (San Diego) entwickelt und gefertigt. In der Folge wurde ein weiteres Gerät für das Children's Hospital Oakland gebaut, das im Herbst 2002 installiert und mit der Hamburger Arbeitsgruppe in Betrieb genommen wird.

Für die neue Gerätegeneration in Turin und Oakland ist eine CE-Zertifizierung erfolgt (nach Klasse I) und ein Registrierungsverfahren durch die FDA wird gegenwärtig vorbereitet (nach 510k). Letzteres erfolgt unter Heranziehung der klinischen Ergebnisse aus Cleveland und Hamburg, wobei das Hamburger Biosuszeptometer als Referenz-Zentrum dient.

3.2. Methode der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie

Die Methode der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie (BLS) und einzelne Messdetails sind in zahlreichen Publikationen dargestellt worden (*Farrell et al, 1980; Brittenham et al, 1982; 1988; Paulson et al, 1991; Fischer et al, 1992; 1998; 2002; Engelhardt et al, 1989; Starr et al, 2000*).

Im Wesentlichen besteht die Methode darin, die paramagnetische Suszeptibilität des Hämosiderin-Ferritin-Eisenkomplexes in Gegenwart des diamagnetischen Untergrundes, der hauptsächlich durch das über der Leber liegenden Thorax-Gewebe bestimmt wird, zu messen. Der Patient wird dabei auf einem speziellen Patientenbett mit niedrigem magnetischen Untergrund unter Kontrolle von Ultraschall und Kreuzebenen-Laser hinsichtlich einer optimalen Messgeometrie positioniert. Dabei werden die Lebergeometriedaten (Haut-Leber-Abstand und Kontur der anterioren Leberkapsel) mittels Ultraschall-Scanner bestimmt. Der Patient wird dann in der optimalen Messposition auf dem Bett unter die Sensoreinheit des Instruments gefahren. Die Sensoreinheit besteht aus supraleitenden Magnetfeldspulen (Gradiometer 1. Ordnung) und 2 Detektorspulen (Gradiometer 2. Ordnung), die an die SQUIDs gekoppelt sind. Der Patient wird dann in dem inhomogenen Magnetfeld ($B_{\max} \leq 0.03$ Tesla, MRI zum Vergleich $B = 1.5$ Tesla) in 13 Sekunden ca. 8 cm abgesenkt. Dabei wird die durch die SQUIDs digitalisierte Änderung des magnetischen Flusses in Form von analogen Spannungsänderungen als Funktion des Detektor-Haut-Abstandes gemessen. Mit Hilfe eines aufgelegten Wasserballons kann die Messgeometrie in 1. Näherung als eisenbeladene Leber in einer diamagnetischen Wasserumgebung (Wasserballon und biologisches Körpergewebe) dargestellt werden. Die Theorie der Magnetostatik liefert einen exakt beschreibbaren Zusammenhang zwischen dem Messsignal und dem magnetischen Flussintegral. In 1. Näherung wird dieser lineare Zusammenhang durch die magnetische Volumen-Suszeptibilität bestimmt, woraus sich bei bekannter spezifischer Suszeptibilität des Hämosiderin-Ferritin-Eisenkomplexes von $1600 \cdot 10^{-6}$ SI-units $\cdot g_{Fe}/g_{Leber}$ die Lebereisen-Konzentration berechnen lässt. In 2. Näherung muss zusätzlich die Abweichung der magnetischen Suszeptibilität von der Wasser-Referenz berücksichtigt werden (*Fischer, 1998*).

Da die Magnetostatik die Verhältnisse hinreichend genau beschreibt ist eine Kalibrierung mittels chemischer Eisenbestimmung in Leberbiopsien nicht notwendig, sondern es reicht aus eine Messung an einem homogenen Objekt mit bekannter Geometrie und Suszeptibilität durchzuführen. Dennoch wurde zur Validierung der Methode die chemische Eisenbestimmung mit der magnetischen verglichen (*Brittenham et al, 1982; Fischer et al, 1992*). Dabei ist zu beachten, dass eine quantitative Leberbiopsie (ca. 10 mg) ein Volumen von 0.01 cm^3 erfasst, während bei der „magnetischen Biopsie“ das Volumen durch die Konfiguration der Sensoreinheit zu $20-60 \text{ cm}^3$ bestimmt wird.

Weitere Einzelheiten zur Methodik, der Analyse und zur Variabilität sind in dem internen Bericht 25.2 „SOP: Liver (Spleen) Iron Susceptometry in Patients with the Hamburg SQUID Biomagnetometer Facility“ dokumentiert (ANLAGE A).

3.3. Patientenentwicklung bei der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie

Im Zeitraum von 1989 bis 2001 wurden in der Eisenstoffwechselambulanz des UKE ca. 1100 Patienten mit Transfusions-Siderosen mittels SQUID-Biosuszeptometrie hinsichtlich ihrer Eisenüberladung untersucht, zusätzlich 1000 Patienten mit Verdacht auf hereditäre Hämochromatose. Insgesamt wurden 3700 Messungen an Patienten hauptsächlich aus Deutschland, Griechenland, Italien und der Schweiz durchgeführt (*Janka et al, 2001*).

In den Hauptdiagnosegruppen wurden folgende Patienten gemessen:

Patienten mit bestätigter hereditärer Hämochromatose (n=478), Patienten mit Verdacht auf Eisenüberladung bzw. mit Eisenüberladung infolge anderer Erkrankungen wie Lebererkrankung (n=368), β -Thalassämie major (n=804), β -Thalassämie intermedia (n=52), β -Thalassämie minor (n=13), β -Sichelzellularthalassämie (n=21), Lepore- β -Thalassämie (n=5), α -Thalassämie major (n=7), ex-Thalassämie nach Knochenmarks-Transplantation (KMT_ex-Thal: n=31), Sichelzell-Krankheit (n=28), aplastische Anämie (n=22), hämolytische Anämie (n=5), kongenitale dyserythropoetische Anämie (CDA: n=11), Blackfan-Diamond-Anämie (n=20), myelodysplastisches Syndrom (MDS: n=10), seltene Anämien wie z. B. Fanconi-Anämie (n=15) und ex-Leukämien nach Knochenmarks- bzw. Stammzell-Transplantation (KMT_ex-Leuk: n=84).

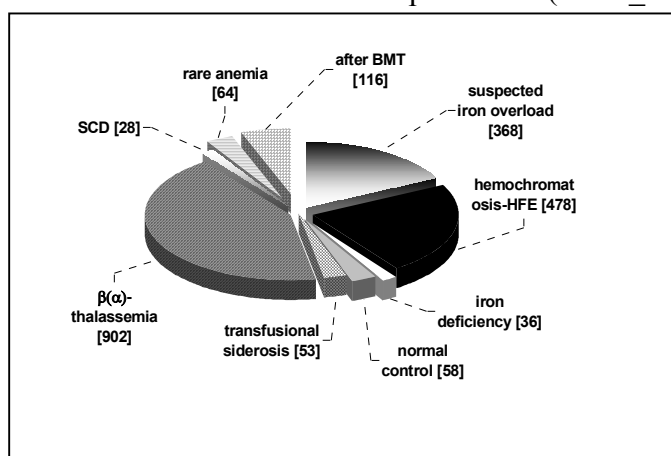


Abb. 1 Hauptdiagnosegruppen bei Patienten, die im Zeitraum von 1989-2001 mit dem Hamburger SQUID Biomagnetometer untersucht wurden.

Mit dem experimentellen SQUID-Biosuszeptometer in Cleveland (jetzt New York) wurden von 1982-2001 mehrere hundert Patienten aus den USA, aus Kanada und Europa gemessen. Am Thalassämie-Zentrum in Turin wurden mit dem neuen SQUID-System für klinische Zwecke im Zeitraum von Juni 2000 bis Dezember 2001 1173 Patientenmessungen unter klinischer Fragestellung durchgeführt.

Von 1989-93 wurden die Patienten am Hamburger Biosuszeptometer hauptsächlich im Rahmen universitärer Forschungsprogramme zur Evaluation der Methode rekrutiert. Ab 1993 erfolgte dies zunehmend unter klinischen Fragestellungen. Seit 1998 erfolgen die Messungen nur noch aus der klinischen Indikation heraus, mit der Ausnahme von multizentrischen Patienten-Studien zur Wirksamkeit von Eisenkomplexbildnern (Chelatoren) bei Transfusions siderosen.

Seit 1993 werden die Patienten mit klinischer Indikation mit den reinen Nettokosten dieser Methode gemäß des Leistungskatalogs des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf belastet. Dies erfolgt in einem Einzelantragsverfahren der Patienten bei ihren jeweiligen Krankenkassen unter Beteiligung der Medizinischen Dienste (MDK). Da dieses Verfahren vielen Ärzten als zu mühsam erscheint, erhalten viele Patienten trotz Indikation diese Untersuchung nicht bzw. bekommen sie wegen unzureichender Begründung nicht genehmigt. Seit Mai/Juni 2002 hat sich die Begutachtungsanleitungen seitens der Medizinischen Dienste

der Krankenversicherungen verschärft. Es gilt momentan, dass eine Leistungsentscheidung der Krankenkasse ohne eine Einschaltung der Gerichtsbarkeit nur möglich ist, wenn eine „akut lebensbedrohliche Situation“ oder „schwere irreversible Schäden“ drohen und daher die Entscheidung eines Sozialgerichtes nicht abgewartet werden kann.

Trotzdem bleibt aus unserer Sicht das Argument, dass die Biomagnetermessung eine anerkannte nichtinvasive Alternative zur akzeptierten Leberbiopsie darstellt und das aus ethischen Gründen Patienten Anspruch auf diese Alternative haben sollten.

4. Anwendungen und deren Nutzen

Die nicht-invasive Eisenbestimmung durch Biomagnetische Leber-Suszeptometrie dient zur Diagnose und zur Therapiekontrolle bei primärer (hereditärer Hämochromatose) und sekundären Eisenüberladungserkrankungen („iron-loading anaemias“, Posttransfusions-siderosen).

4.1. Hämochromatose

Die hereditäre Hämochromatose ist eine autosomal rezessiv vererbte Krankheit, die mit einer ständig zunehmenden, schweren Überladung mit Eisen einhergeht. Die Krankheit wird verursacht durch eine ständige Hochregulation der Nahrungseisen-Aufnahme im Dünndarm. Das überschüssig aufgenommene Eisen wird nicht benötigt, kann aber auch nicht ausgeschieden werden und muss deshalb in verschiedene Gewebe, vorwiegend in die Leber, aber auch in Muskulatur, Knochenmark bzw. Pankreas abgelagert werden. Der Gendefekt, der in Nordeuropa, USA, Australien vorherrschenden, wichtigsten Form der Hämochromatose ist 1996 gefunden worden (*Feder et al, 1996*). Es handelt sich dabei um eine Punktmutation (C282Y) in einem Gen (HFE-Gen) auf dem kurzen Arm von Chromosom 6. Offenbar reguliert das normale HFE-Genprodukt die Affinität des Transferrinrezeptors für Transferrin. Eine wichtige Rolle bei dem Mechanismus der Fehlregulation der intestinalen Eisenabsorption spielt offenbar auch das vor kurzem entdeckte Hepcidin, das eine Art Sensor für Speichereisen darstellen könnte (*Nicholas et al, 2001*). Inzwischen sind weitere Formen einer genetischen Hämochromatose bekannt (HFE2, juvenile Hämochromatose, Gen unbekannt, Genlokus 1q; HFE3, Defekt im Transferrin Rezeptor 2-Gen; HFE4, autosomal dominante Form, Gendefekt im Ferroportin-Gen), die aber bei nordeuropäischen Patienten sehr selten vorkommen.

Die Symptomatik ist anfangs uncharakteristisch und beginnt mit abdominalen Beschwerden, frühzeitiger Impotenz bzw. Amenorrhoe und rheumatoider Arthritis (*Powell, 1994*). Meist erst jenseits des 45. Lebensjahres kommt es zu eiseninduzierten Organschäden wie Leberzirrhose, Diabetes mellitus, dilatativer Kardiomyopathie. Die Summe dieser Komplikationen kann zu einer erheblichen Verkürzung der Lebenserwartung führen (*Niederau et al, 1985, 1996*).

4.1.1. Gendiagnostik

Die Gendiagnostik erlaubt den Nachweis der bekannten HFE-Mutationen unabhängig vom Stadium der Eisenspeicherkrankheit. Fast alle Patienten mit Hämochromatose in Nordeuropa sind homozygot für die C282Y-Mutation (*Feder et al, 1996; Gottschalk et al, 1998; Nielsen et al, 1998b*). In einigen Fällen liegt diese Mutation nur in heterozygoter Form vor (in 6 von 104 Patienten in einer Studie aus Hamburg). Die „compound-Heterozygotie“ (C282Y- und H63D-Mutation auf verschiedenen Allelen) kann im Einzelfall auch zu einer schweren Eisenüberladung führen, während die homozygote H63D-Mutation meist nur zu einer leichtgradigen Eisenüberladung führt.

In südeuropäischen Ländern (z.B. Italien, Südfrankreich) gibt es relativ häufig (ca. 30-50%?) eindeutig eisenüberladene Patienten, die negativ für die C282Y-Mutation sind. Hier liegen offensichtlich noch weitere, bisher unbekannte Mutationen vor (*Piperno et al, 1998*).

Eine wichtige Frage ist der phänotypische Ausprägungsgrad der Hämochromatose bei genetisch betroffenen Personen. Nach derzeitigem Kenntnisstand bildet nur ein Teil der genetisch Betroffenen mit homozygoter C282Y-Mutation die bekannten schweren Organschäden aus. Im eigenen Patientengut sind dies 10-20% der Fälle. Neueste Studien in unselektierten Kollektiven zeigen sogar eine noch geringere Penetranz von ca. 1% (*Beutler et al, 2002*). Der überwiegende Teil C282Y-Homozygoten ist aber eindeutig eisenüberladen und befinden sich somit in einem Vorstadium (*Adams et al, 1997; Nielsen 2002b,c*). Bei diesen ist eine Diagnosestellung und eine vorsorgliche Eisenentzugstherapie wichtig, um der Ausbildung von schweren Organschäden sicher vorzubeugen. Eine kleine Fraktion (bei uns 10-20%) der C282Y-Homozygoten zeigen leicht veränderte Blutwerte (z.B. hohes Serum-Eisen), eine klinisch relevante Eisenüberladung der Leber, gemessen mit dem SQUID-Biomagnetometer, liegt aber nicht vor.

Insgesamt ergibt sich damit z.Zt. das Bild, dass die HFE-Genanalytik im Einzelfall nicht definitiv ist. Obwohl durch den Gentest gegenüber der früher üblichen HLA-Typisierung die Fähigkeit, prädisponierte Personen für Hämochromatose genetisch erfassen zu können, enorm verbessert wurde, ist durch die HFE-Analytik auch Konfusion entstanden über die weiter notwendigen diagnostischen Schritte, die im Einzelfall eine Aussage über den individuell vorliegenden Schweregrad der Eisenüberladung und die klinische Symptomatik bringen können (*Bassett 2001*). Daher bleibt weiterhin die übliche Diagnostik wichtig. Als bester Parameter hat sich die Leber-Eisenkonzentration bewährt, die eine zuverlässige Aussage über die individuell vorliegende Eisenüberladung liefert (*Powell 1994*).

4.1.2. klassische Diagnostik bei Eisenüberladung

Hämochromatose ist begleitet von charakteristischen Veränderungen der Blutparameter des Eisenstoffwechsels, wie erhöhten Werten für Serum-Eisen und Transferrin-Eisensättigung, Serum-Ferritin bei gleichzeitig verminderter Transferrinkonzentration. Diese Veränderungen sind jedoch nicht spezifisch und erlauben für sich allein genommen keine sichere diagnostische Einordnung. Relativ häufig kommt eine sekundäre Hyperferritinämie vor, die z.B. verursacht wird durch eine Freisetzung von Ferritin aus nekrotisierenden Leberzellen.

Die eindeutige Diagnose einer Eisenüberladung kann nur gestellt werden durch den Nachweis einer pathologischen Eisenspeicherung in der Leber oder durch die Messung einer erhöhten Leber-Eisenkonzentration. Dazu kann der histochemische Nachweis semiquantitativ ausgewertet, und/oder die Eisenkonzentration quantitativ durch Atomabsorptionsspektroskopie in einer Leberbiopsie direkt gemessen werden. In der Praxis erfolgt meist nur die qualitative Beschreibung der Eisenspeicherung in dem histologischen Schnitt, die zwar eine überschüssige Eisenspeicherung erkennt, aber keine zuverlässige Abschätzung des vorhandenen Eisenmasse in der Leber zulässt.

Der Ausprägungsgrad der Eisenüberladung ist in Fällen mit bekannter genetischer Homozygotie für die C282Y-Mutation sehr variabel. Ein großer Teil der betroffenen Patienten (bis zu 80%?) entwickelt offenbar nicht die schwere Form der Hämochromatose, sondern verbleibt in einem Vorstadium mit einer leicht-mittelgradigen Eisenüberladung, bzw. zeigt zum Teil auch keinerlei Anzeichen einer Eisenüberladung. Die Ursache für diese relativ großen phänotypischen Unterschiede ist bisher nicht bekannt. Es erscheint zweifelhaft, ob allein unterschiedliche äußere Faktoren (individuelle Nahrungsgewohnheiten, Alkoholkonsum) eine Rolle spielen. Möglicherweise gibt es weitere modifizierende genetische Veränderungen, die nichts mit dem HFE-Gen zu tun haben.

Durch die Gendiagnostik werden im Rahmen von Familienuntersuchungen auch zunehmend Kinder- und Jugendliche mit homozygoter C282Y-Mutation, oder „compound Heterozygotie“ C282Y/H63D gefunden. In vielen Fällen liegen leicht erhöhte Blutwerte vor (Serum-Ferritin/Serum-Eisen). Ein Problem ist die Entscheidung über die Notwendigkeit zum Beginn einer Aderlasstherapie vor dem 18. Lebensjahr. Dies ist sicher nur in Ausnahmefällen notwendig. Um diese Ausnahme-Fälle zu erfassen ist in der Regel keine invasive Leberbiopsie indiziert. Hier kann jedoch die nichtinvasive Messung der Lebereisenkonzentration mit BLS zeigen, ob im Einzelfall bereits eine klinisch relevante Eisenüberladung vorliegt bzw. ob das Leber-Eisen im Verlauf schnell ansteigt.

4.1.3. Therapie und Prognose

Die hereditäre Hämochromatose wird durch die Entfernung des überschüssig eingelagerten Eisens in der Regel durch Aderlässe behandelt (Crosby 1963). Durch einen frühzeitigen Beginn der Therapie können irreversible Organschäden vermieden und die Lebenserwartung normalisiert werden (Niederau et al, 1985; 1996). Patienten mit bereits vorhandenen Organschäden wie Leberzirrhose oder Diabetes haben eine deutlich verkürzte Lebenserwartung. Deshalb ist eine Frühdiagnose der Hämochromatose besonders wichtig. Durch die nichtinvasive Messung der Lebereisenkonzentration vor oder während der initialen Aderlasserie kann eine zuverlässige Schätzung der notwendigen Anzahl von Aderlässen erfolgen, was erfahrungsgemäß für Patient und behandelnden Arzt eine wichtige Information darstellt.

4.1.4. Evaluation der BLS bei Patienten mit hereditärer Hämochromatose

Die nicht-invasive Eisenbestimmung durch Biomagnetische Leber-Suszeptometrie stellt in solchen Fällen eine Alternative zur klassischen Leberbiopsie dar. Die klinische Evaluierung dieser Methode in der Primärdiagnostik der hereditären Hämochromatose ist in den letzten Jahren (1990-2002) an ca. 1000 Patienten mit V.a. Eisenüberladung erfolgt.

➤ Validierung durch Leberbiopsien

Eine Studie zeigte eine gute Korrelation zwischen invasiver (Biopsie-Fe) und nichtinvasiver (SQUID-Fe) Lebereisenquantifizierung an 33 Patienten mit Eisenüberladung (Fischer et al, 1992; Nielsen et al, 1998a).

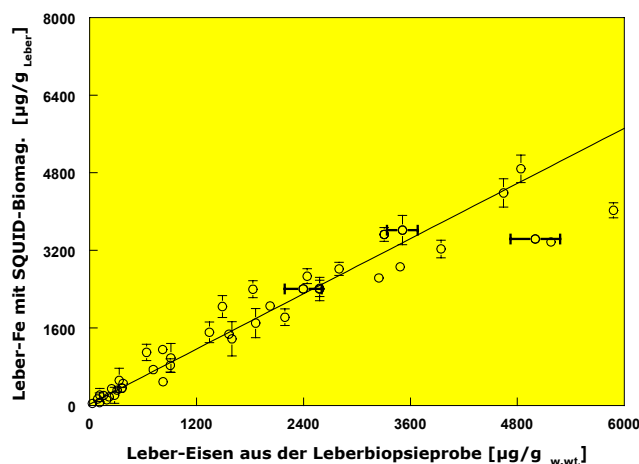


Abb. 2 Vergleich Leber-Fe aus der invasiven Biopsie mit dem Wert aus dem Biomagnetometer

Die Korrelation zwischen invasiver und nichtinvasiver Leber-Eisen-Quantifizierung ist im Bereich niedriger bis mittelgradig erhöhter Lebereisenkonzentration sehr gut. Bei Patienten mit schwerster Eisenüberladung zeigten sich mehr oder weniger deutliche Abweichungen. Wir gehen davon aus, dass hier die mehr integral messende (ca. 100 ml Messvolumen) Biomagnetometer-Methode zuverlässiger ist als die evtl. bei schwerem Leberschaden nichtrepräsentative invasive Leberbiopsie (Probenvolumen ca. 10 mg Gewebe).

➤ **Validierung durch „biologische Modelle“**

In Tabelle 1 werden die Ergebnisse der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie an 60 gesunden Probanden gezeigt (Nielsen et al, 2002a). Die gefundenen Lebereisenkonzentrationen stimmen mit Literaturwerten, die mit Leberbiopsien ermittelt wurden, gut überein (Brittenham et al, 1982).

Tabelle 1. Medianwerte der Lebereisenkonzentration (LIC) in Normalpersonen und in Patienten mit Eisenmangel

Alter [Jahre]	n	LIC [µg/g _{Leber}]	LIC (2.5 – 97.5 %)
a.) Eisenmangel			
16.0 – 66.3	27	97	49 - 335
b.) Normalpersonen			
9.8 – 17.4	18	183	77 - 368
18.2 – 64.4	42	240	93 - 481

Eine Studie an Langstreckenläufern mit ursprünglich vorhandenem Eisenmangel hat gezeigt, dass die Wirkung einer oralen Eisentherapie mit 100 mg Eisen(II)/Tag über 3 Monate die Lebereisenkonzentration signifikant ansteigen lässt, und dass dieser Anstieg mit dem SQUID Biomagnetometer erfassbar ist (Nachtigall et al, 1996) (Abb. 2).

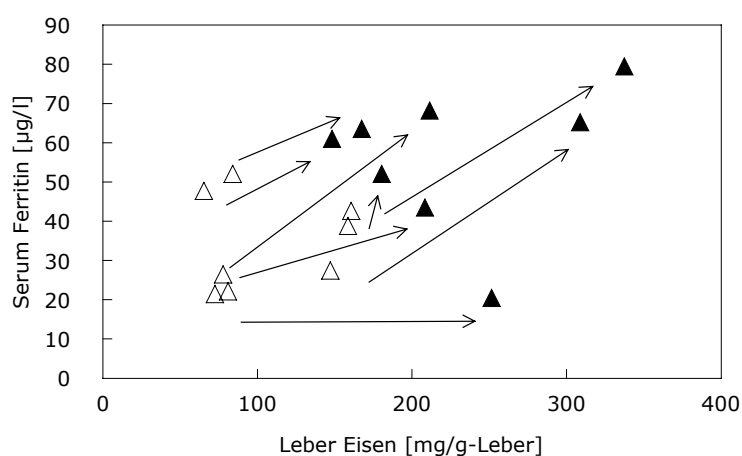


Abb. 3 Erhöhung der Lebereisenkonzentration und des Serum-Ferritins bei Langstreckenläufern nach Gabe von oralem Eisen (3 Monate, 100 mg Eisen(II)/Tag).

Eine weitere „biologische Validierung“ des SQUID-Biomagnetometers stellt die Messung der Lebereisenkonzentration unter der erschöpfenden Aderlasstherapie bei hereditärer Hämochromatose dar. Abb. 3 zeigt den typischen Verlauf bei einem Patienten mit hereditärer Hämochromatose unter Aderlasstherapie. Aus der entzogenen Blutmenge kann die Eisenmenge berechnet werden, die zwischen zwei Biomagnetometermessungen mobilisiert wurde.

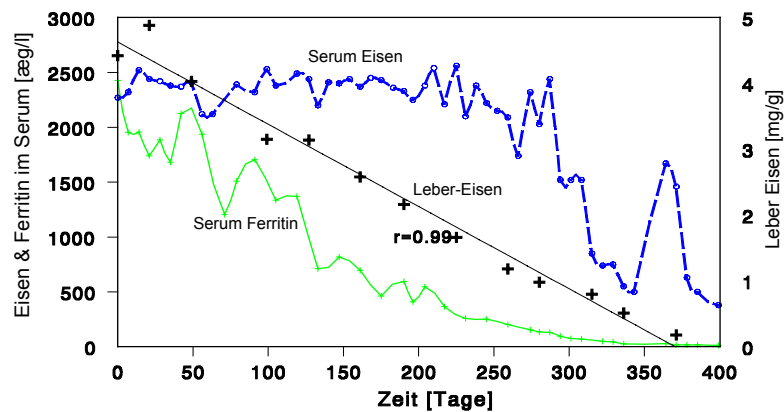


Abb. 4 Linearer Abfall der Lebereisenkonzentration bei einem Patienten mit hereditärer Hämochromatose unter der Aderlasstherapie

➤ Hämochromatose-Screening bei Erstblutspendern

Im Zeitraum vom Jan. 1992 bis Oktober 1994 wurden alle Blutspendekandidaten (n=2812) der Abteilung für Transfusionsmedizin des Universitätskrankenhauses Eppendorf im Rahmen der obligatorischen Erstblutspenderuntersuchung auf die Eisenstoffwechselfparameter Hämoglobin, Serum-Eisen und Serum-Ferritin untersucht. 200 der untersuchten Personen waren im ersten Untersuchungsfilter (Serum-Ferritin > 200 µg/l in Männern, > 100 µg/l bei Frauen oder Serum-Eisen > 180 µg/dl) auffällig. Ein zweiter Bluttest wurde bei diesen Probanden am Ende der ersten Blutspende durchgeführt, um zusätzlich die Transferrin-Eisen-Sättigung (Filter 2: > 50 % oder das Erythrozyten-Ferritin (Filter 2: > 50 ag/cell) zu messen. 60 Personen zeigten auch im Filter 2 erhöhte Werte und bei diesen Personen wurde als 3. diagnostisches Kriterium die nichtinvasive Leber-Eisen-Konzentration mit dem Hamburger SQUID-Biomagnetometer gemessen (Benn et al, 1994; Nielsen et al, 1995c).

Ein entscheidendes Problem bei solchen Screeninguntersuchungen ist das Setzen der geeigneten Filterkriterien. Niedrig gesetzte Schwellenwerte erzeugen eine hohe Zahl von falsch-positiven Ergebnissen, bei hohen Schwellenwerten werden dagegen einige Homozygote evtl. nicht erfasst. Bei unserer Untersuchung konnte die als vergleichsweise spezifisch und empfindlich bekannte Transferrin-Eisen-Sättigung aus organisatorischen Gründen nicht bereits in die erste Filterstufe eingebaut werden. Der Schwellenwert im 2. Filter von > 50 % stellt eher eine niedrige Stufe dar (Studien in der Literatur: Transferrin-Fe-

Sättigung 48-70 %). Die dadurch entstehende hohe Zahl von falsch positiven Befunden konnte dadurch akzeptiert werden, dass die Indikation für eine Leber-Eisenquantifizierung sehr weit gefasst werden konnte, da es sich hierbei um eine vollkommen nichtinvasive Methode handelt.

Als letztendliches Resultat dieser Screeningstudie wurden 7 Personen ermittelt, bei denen die diagnostischen Kriterien für eine bestehende homozygote hered. Hämochromatose erfüllt waren (Tabelle 2).

Tabelle 2. Eisenstoffwechselfparameter in 7 Erstblutspendern mit diagnostizierter hereditärer Hämochromatose.

Proband (Sex/Alter)	Transf. Fe-Sät. (20-52 %)	Serum Ferritin (30-235 µg/l)	Leber- Eisen [mg/g ww]t (0.1-0.5)	⁵⁹ Fe- Absorpt. (< 50 %)	HLA-Typ (A,B Locus)	HFE (Mutation C282Y)	Anzahl Aderlässe
R.W. m, 24	100	814	2.0	54	A1A3B7B8	+/+	> 31
R.N. m, 40	80	650	1.1	51	A3A29B35 B44	+/- ¹	>18
H.Z. m, 26	100	760	1.5	61	A2B7B38	+/+	33
G.F. m, 39	96	296	0.9	89	A2A3B7B44	+/+	20
U.B. m, 28	97	370	0.7	74	n.D.	+/- ¹	>22
T.F. m, 34	98	562	0.6	51	A2A3B7	n.d.	-
S.C. f, 32	84	275	1.0	78	A3A25B8B18	+/+	10

¹ heterozygot auch für H63D

Keiner der ermittelten Probanden zeigte die klinischen Symptome einer fortgeschrittenen Eisenüberladung. Trotzdem wurde bei allen eine erschöpfende Aderlasstherapie empfohlen und in 6 Fällen auch durchgeführt, um der Ausbildung von Organschäden vorzubeugen und die Eisenstoffwechselfparameter zu normalisieren.

Die ermittelte Prävalenz von 7/2812 = 1:402 entspricht der in der Literatur bekannten Prävalenz der hereditären Hämochromatose in der kaukasischen Bevölkerung.

Es ist natürlich zu fragen, ob ein Kollektiv junger Blutspendekandidaten einen repräsentativen Querschnitt durch die Bevölkerung im Norddeutschen Raum darstellt. Denkbar erscheint auch, dass eine Reihe von jungen Probanden mit homozygoter hereditärer Hämochromatose nicht erfasst werden konnten, weil in diesem Lebensalter in manchen Fällen einfach noch keine repräsentative Eisenüberladung vorliegt. Dafür spricht, dass das Durchschnittsalter der gefundenen Homozygoten (31.8 Jahre) höher liegt als das Durchschnittsalter aller untersuchten Blutspender (26 Jahre). Diese einschränkenden Effekte würden aber zu einer Unterschätzung der Zahl von Homozygoten führen und nicht zu einer Überschätzung.

Diese Studie zeigt, dass die hier angewendete Kombination von Serum-Eisen und Serum-Ferritin im ersten Filter und der abschließenden nichtinvasiven Leber-Eisen-Quantifizierung in der Lage ist, aus einem vergleichsweise großen Kollektiv von Testpersonen einige Patienten mit homozygoter hereditärer Hämochromatose zu erkennen.

➤ **Die klinische Relevanz von Serum-Ferritin-Eisen als neuer diagnostischer Marker bei Eisenüberladung**

Kürzlich wurde die Messung des Eisengehaltes in Serum-Ferritin als neuer diagnostischer Parameter propagiert, der unabhängig von diesen sekundären Faktoren sein soll (*Herbert et al, 1997*). In diesen Arbeiten wurde Serum-Ferritin-Fe mit den üblichen Blutparametern bei Eisenüberladung korreliert.

Mit immobilisierten Antikörpern aus einem kommerziellem Ferritin-IRMA wurde Serum-Ferritin präzipitiert und sein Eisengehalt mit Atomabsorption bestimmt. Es wurde der Eisengehalt in Serum-Ferritin aus 250 Blutproben von Patienten mit erhöhtem Serum-Ferritin analysiert.

In einer eigenen Studie konnte die kürzlich beschriebene sehr hohe Eisensättigung des Serum-Ferritins nicht bestätigt werden. Bei dem im Plasma zirkulierten Ferritin handelt es sich vielmehr um ein eisenarmes Ferritin mit relativ konstantem Eisenanteil. Bei Patienten mit Leberzellschaden war aufgrund der Freisetzung von eisenreichem Leberferritin die Serum-Ferritineisensättigung signifikant (T-Test: $p < 0.01$) höher als bei Eisenüberladung.

Bei Patienten mit Eisenüberladung korrelierte das Serum-Ferritin-Eisen nur schwach mit dem individuellen Leber-Eisengehalt, der mit dem SQUID-Biomagnetometer gemessen wurde (Nielsen *et al.*, 2000a). Eine Unterscheidung zwischen primärer und sekundärer Eisenüberladung war nicht möglich. Ein diagnostischer Vorteil gegenüber der herkömmlichen Messung des Serum-Ferritin-Proteins ergibt sich somit nicht

➤ **Lebereisen in Abhängigkeit von der HFE-Gendiagnostik**

Der nichtinvasive Charakter der SQUID-Biomagnetometrie erlaubt die Messung der Lebereisenkonzentration auch bei sehr jungen und alten Patienten mit hereditärer Hämochromatose (Abb. 5).

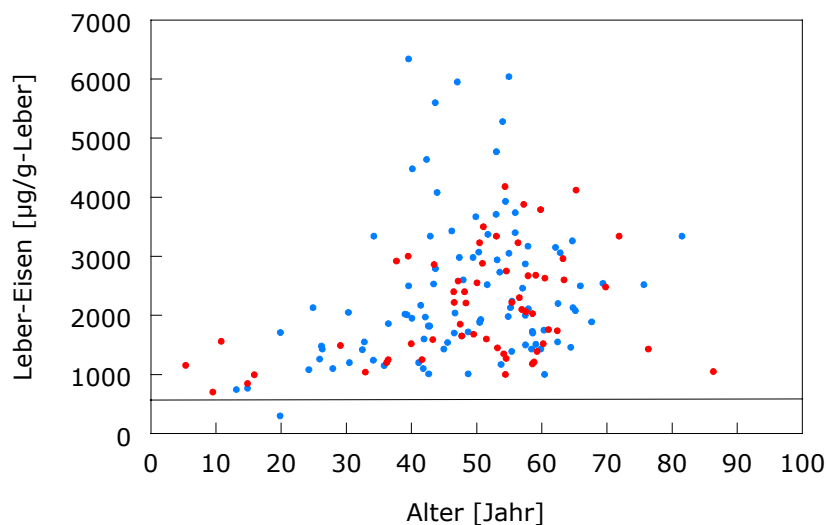


Abb. 5 Lebereisen bei Erstdiagnose der homozygoten hereditären Hämochromatose (n=157) im Vergleich zum Lebensalter (Frauen, Männer)

4.2. Transfusions-Siderose

Bei sekundärer Eisenüberladung entwickelt sich eine Eisenüberladung überwiegend durch chronische Bluttransfusionen (Posttransfusionssiderosen) oder durch eine von der Anämie hervorgerufene erhöhte Absorption von Eisen aus der Nahrung („iron-loading anaemia“). Da es für Eisen keinen natürlichen Ausscheidungsweg gibt, muss das Eisen aus abgebauten roten

Blutzellen (Erythrozyten) in verschiedenen Organen, vorwiegend der Leber, abgelagert werden. Bei bestimmten Anämien liegt zusätzlich noch eine Hyperplasie einer ineffektiven Erythropoese vor, die eine gesteigerte Nahrungseisenaufnahme bewirkt.

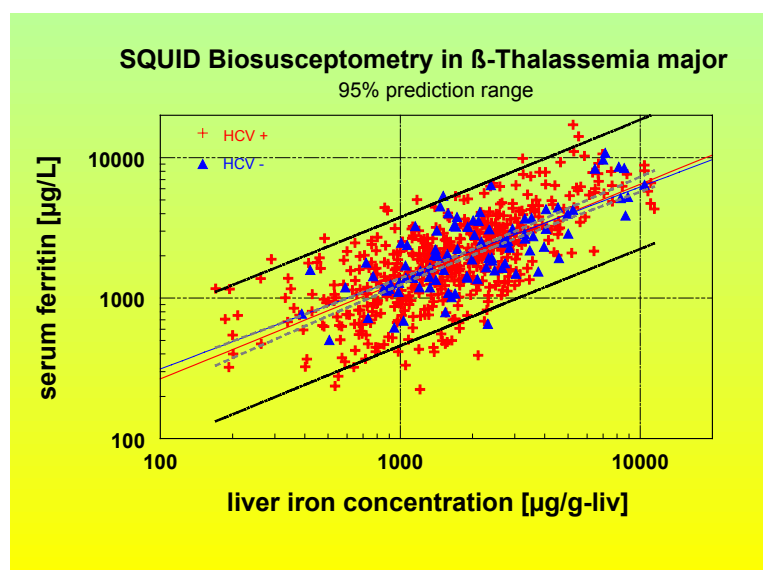
Eine schwere Eisenüberladung kann zu einer chronischen Organschädigung von Leber, Pankreas, und Herz führen und ist für die Langzeitprognose entsprechender Patienten von entscheidender Bedeutung. Ohne eine Eisenchelator-Therapie versterben die Patienten meist im jungen Erwachsenenalter (*Borgna-Pignatti et al, 1998*). Einer rechtzeitigen und gut angepassten Eisenentzugstherapie mit Deferoxamin (DFO, Desferal®) oder neuerdings mit dem oral zu verwendenden Deferipron (DFP, Ferriprox®) kommt deshalb eine besondere Bedeutung zu. Für das seit 30 Jahren bekannte DFO ist eine deutliche Lebensverlängerung bei Thalassämiepatienten bekannt (*Gabutti & Piga, 1996*). Durch die langjährige Anwendung dieser Medikamente werden aber auch Nebenwirkungen von Eisenchelatoren zunehmend bedeutsam wie Wachstumsverzögerung und „short trunk“, Seh- und Hörverlust, Osteoporose (*Porter et al, 1989; Garofalo et al, 1998*). Diese sind zumindestens teilweise begründet durch eine relative Überdosierung des Eisenchelators, so dass dann nicht nur überschüssiges Speichereisen entfernt wird, sondern evtl. auch Funktionseisen aus Enzymen bzw. andere Spurenelemente wie Zink zur Ausscheidung gelangen.

Grundlage für eine optimal angepasste Eisenentzugstherapie sind geeignete diagnostische Parameter, die das Ausmaß der individuell vorliegenden Eisenüberladung und den Verlauf unter Therapie hinreichend genau beschreiben.

4.2.1. Monitoring der Eisenüberladung bei sekundären Siderosen

Das Serum-Eisen und die Transferrin-Eisen-Sättigung sind bei Patienten mit sekundären Siderosen meist ständig erhöht und lassen keine Aussage über den Grad der Eisenüberladung zu. Für das Monitoring von Transfusions-Siderosen wurde bisher hauptsächlich die Serum-Ferritin-Konzentration herangezogen. Die Bestimmung der Eisenkonzentration in Leberbiopsien wird dagegen nur selten durchgeführt, da sie für die meist jugendlichen Patienten besonders belastend ist und stets ein Komplikationsrisiko birgt und Schmerzen verursacht. Auch wenn in vielen Studien signifikante Korrelationen des Serum-Ferritins mit der Lebereisenkonzentration (LIC) beobachtet worden sind, lässt dies keinen Rückschluss auf die quantitative Aussagekraft des Ferritins im Einzelfall zu (Bestimmtheitsmaß, $R^2 = 0.57 - 0.78$). Im Rahmen von Kollaborationen mit italienischen Thalassämie-Zentren wurden an mehreren hundert Patienten mit β -Thalassämie major die Korrelation des Ferritins mit der Lebereisen-Konzentration bestimmt (*Fischer et al, 1999b; Fischer et al, 2000*).

Abb. 6 Ferritin und Leber-Eisen-Konzentration in Patienten mit β -Thalassämie major (Hepatitis C positiv und negativ).



Anhand eigener Daten wurde für eine typische Ferritin-Konzentration von 3000 µg/l bei Patienten mit β-Thalassämie major 95%-Vorhersagebereiche der Lebereisen-Konzentration von 8000 (Brittenham et al, 1993) bzw. 4000 µg/g_{Leber} (Fischer et al, 1999a) gefunden. Darüberhinaus müssen unterschiedliche Ferritin-Konzentrationen bei gleicher mittlerer Lebereisen-Konzentration für Patienten mit β-Thalassämie intermedia (oder hereditäre Hämochromatose), mit β-Thalassämie major und für Patienten nach Stammzell-Transplantation beachtet werden (Nielsen et al, 2000b). Insgesamt gilt die Feststellung, dass die in der Literatur häufig verwendete semiquantitative Beziehung, 1 µg/l Serum-Ferritin = 8 mg Speicher-Fe, nur im Bereich Eisenmangel/normale Eisenreserven brauchbare Ergebnisse liefert. Im Bereich Eisenüberladung ist das Serum-Ferritin nur ein grobes Maß für das individuell vorhandene überschüssige, potentiell toxische Speicher-Eisen.

Die nichtinvasive Bestimmung des Lebereisens mittels SQUID-Biosuszeptometrie ist dagegen sehr genau und repräsentativ (s. Kap. 3.1.4). Für die Güte der Korrelation mit bioptisch bestimmten Leber-Fe gilt das Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0.96, 0.98$ (Brittenham et al, 1982; Fischer et al, 1992). Die Untersuchung ist für den Patienten völlig risikolos und deshalb beliebig oft wiederholbar.

4.2.2. Evaluation der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie (BLS) bei Patienten mit Transfusions-Siderose

➤ BLS an Kindern und Jugendlichen

Da unter den Patienten mit Transfusions-Siderosen viele Kinder sind, wurde 1990-92 in einer prospektiven Studie (Tiemann et al, 1993; Engelhardt et al 1995) der Einfluss der kleineren Lebergeometrie untersucht. Dazu wurde auch ein Normalkollektiv von Kindern (Alter: 7–18 Jahre) mit dem Biomagnetometer gemessen. An einem 9-Jahre alten Thalassämiepatienten konnte die Reproduzierbarkeit der Methode in einem Zeitraum von 14 Tagen engmaschig verfolgt werden. Bei einer Lebereisenkonzentration von 5000 µg/g_{Leber} zeigte sich der zu erwartende Fehler von ± 250 µg/g, der im Wesentlichen aus der Ungenauigkeit des mittels Sonographie bestimmten Haut-Leberabstandes herrührt (Fischer et al, 1999a). Zusammenfassend lassen sich keine Störeinflüsse benachbarter Organe (Lunge, Dünndarm) feststellen (Fischer et al, 1999a). Bei eisenüberladenen Patienten werden die Messungen mit dem Biomagnetometer häufig dadurch technisch erleichtert, dass viele Kinder mit transfusionsbedürftigen hämatologischen Erkrankungen eine vergrößerte Leber (und Milz) besitzen, sodass relativ leicht ein optimaler Messbereich gefunden wird.

➤ BLS-Compliance bei kleinen Kindern

Die gute Compliance von Kindern im Alter von 2-12 Jahren mit der Messmethode ist im Laufe der Jahre immer wieder beobachtet worden. Auf eine Sedierung konnte bei den meisten Kindern < 4 Jahre verzichtet werden (Engelhardt et al, 2002). Dies ist auf die offene Geräte-Architektur zurückzuführen, die es den Eltern z.B. erlaubt, während der Messung die Hand ihres Kindes zu halten.

➤ Einleitung einer Chelator-Therapie

Bei 11 Thalassämie-Patienten (Alter: 1.9–6.3 y) konnte die Lebereisenkonzentration (LIC) vor Einleitung einer Chelator-Therapie bestimmt werden (LIC: 870-8150 µg/g_{Leber}). Die LIC-Werte korrelierten signifikant mit dem Alter ($R=0.79$), Körpergewicht ($R=0.88$) und dem transfundierten Eisen ($R=0.97$). Definiert man den Beginn einer Chelator-Therapie mit einer Lebereisen-Konzentration unterhalb der empfohlenen Schwelle von 2100 µg/g_{Leber}, so

resultiert daraus eine Transfusionsmenge von ca. 4 g Eisen oder von äquivalenten 22 Erythrozyten-Konzentraten (*Dürken et al, 2001*).

Bei Patienten mit β -Thalassämie intermedia, die oft nicht transfusionsbedürftig sind, ist die Methode der BLS besonders geeignet um erhebliche Folgeschäden durch eine nicht-erkannte Eisenüberladung zu vermeiden. Die Serum-Ferritin-Konzentration kann bei diesen Patienten oft im Normalbereich liegen (*Nielsen et al, 2000b*).

➤ **Eisen- und Desferal-Toxizität**

Die Eisenakkumulation in den verschiedenen Organen, Geweben und Drüsen führt bekanntermaßen zu den bereits erwähnten Langzeitschäden (Kap. 3.1, 3.2). Die Lebereisenkonzentration in Verbindung mit dem nicht-Transferrin-gebundenen Eisen (NTBI) wird heute als Richtparameter für den Einsatz einer Eisenzugstherapie (in der Regel eine Chelator-Therapie mit Deferoxamin bzw. Deferipron) angesehen. In einer umfangreichen Untersuchung haben Olivieri und Brittenham (*1997*) einen optimalen Bereich von 1000 bis 2100 $\mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$ für die Lebereisenkonzentration bei Thalassämie-Patienten ermittelt. Dieser Bereich stellt einen Kompromiss zwischen einer zu hohen Chelator dosis und einer zu hohen Eisenkonzentration dar. In einer eigenen Untersuchung des Zusammenhangs zwischen NTBI und der Lebereisenkonzentration fanden wir oberhalb von 2100 $\mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$ stets erhöhte NTBI-Werte im Serum (*Reller et al, 1998*). Oberhalb eines Wertes von 4-5000 $\mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$ ist mit ernststen irreversiblen Schäden zu rechnen (Kardiotoxizität, Diabetes), was kürzlich auch für ex-Thalassämie-Patienten nach Knochenmarkstransplantation beschrieben wurde (*Angelucci et al, 2002*).

Aus den Eisen-Konzentrationen und den Volumina kann das Ganzkörperspeichereisen, U, berechnet werden unter der Annahme, dass 80 % des Eisens in den beiden Hauptspeicherorganen akkumuliert sind (*Nielsen et al, 1995a; Fischer et al, 1999a*). Ein anderer Ansatz ist der von Angelucci et al (*2000*) bei ex-Thalassämie-Patienten nach Knochenmarkstransplantation ermittelte direkte Zusammenhang des spezifischen Speichereisens mit der Lebereisenkonzentration. Allerdings ist fraglich, ob dieser Zusammenhang auf alle anderen Patienten mit Eisenüberladung übertragen werden kann.

Wird die mittlere Deferoxamin-Chelator dosis (DFO) in Relation zu den Eisenspeichern gesetzt, so kann daraus eine Risiko-Schwelle bestimmt werden, oberhalb der es zu gehäuften Nebenwirkungen durch diesen Chelator kommt. Es wurde ein Schwellwert von 1.2 mmol DFO pro Tag und pro g Speichereisen ermittelt als korrespondierender Wert zu dem von Porter et al (*1989*) definierten Therapeutischen Index von 0.025 (mg DFO/kg/d)/($\mu\text{g/l}$), der auf der ungenaueren Bestimmung des Serumferritins ($\mu\text{g/l}$) als Speichereisenparameter beruht (*Fischer 2001b; Nielsen et al, 2002a*).

Insbesondere Patienten mit einem in Bezug auf das Speichereisen relativ zu hohem Serum-Ferritin sind durch die Nebenwirkungen von Deferoxamin (Hör- und Sehverlust) gefährdet. Bei jugendlichen Patienten kann eine dem tatsächlichen Speichereisen nicht angepasste Dosis zu einer irreversiblen Beeinträchtigung des Wachstums führen (*Porter et al, 1989; 1998*).

➤ **Patienten vor und nach Knochenmarks- oder Stammzell-Transplantation**

Für den Erfolg einer Knochenmarks- oder Stammzell-Transplantation (KMT) ist u.a. die Eisenüberladung, die der Patient durch vorangegangene Bluttransfusionen erhalten hat, ausschlaggebend, wenn man die Erkenntnisse von den Thalassämie-Patienten auf andere hämatologische Erkrankungen übertragen darf (*Lucarelli et al, 1993*). Prospektive Studien in dieser Richtung fehlen bisher. Wir konnten in zwei Thalassämie-Patienten vor und nach KMT den Verlauf der Lebereisen-Speicher in Relation zu den gegebenen Bluttransfusionen beobachten. Dabei scheint es in den ersten zwei Jahren nach KMT zu signifikanten Umverteilungsprozessen zu kommen (*Fischer et al, 1997*).

In retrospektiven Studien zur Eisenüberladung in Leukämie-Patienten nach KMT wurde in 37% der Patienten eine therapiebedürftige Lebereisenkonzentration $> 1000 \mu\text{g}/\text{g}_{\text{Leber}}$ (range: 50 – 4430 $\mu\text{g}/\text{g}$) gefunden (*Dürken et al, 1999; Engelhardt et al, 2001*).

➤ **Patienten mit hämatologischen Erkrankungen**

In Patienten mit hämatologischen Erkrankungen wie Leukämie, aplastischer Anämie, hämolytische Anämie, kongenitale dyserythropoetische Anämie, Blackfan-Diamond-Anämie, myelodysplastisches Syndrom (MDS), und andere seltene Anämien (z. B. Fanconi-Anämie) kommt es infolge Bluttransfusionen zu einer erheblichen Eisenüberladung, die im Mittel zu einer Lebereisenkonzentration von $> 2100 \mu\text{g}/\text{g}_{\text{Leber}}$ führt (*Janka et al, 2001; Nielsen et al, 2002a*). Das Serumferritin als Indikator für die Einleitung einer Eisen-Chelator-Therapie ist gerade in diesen oft von entzündlichen Prozessen begleiteten Erkrankungen ungeeignet.

Gerade die große Zahl von MDS-Patienten könnte von einer geeigneten, rechtzeitig eingeleiteten Eisentzugs-Therapie profitieren. In einer Studie hat sich gezeigt, dass in über der Hälfte der Patienten die Transfusionsbedürftigkeit abnahm (bzw. nicht mehr gegeben war) und die Zytopenie sich verbesserte (*Jensen et al, 1996*).

➤ **Untersuchungen zur Effektivität von Chelatoren**

Ein signifikante Korrelation zwischen der Compliance mit der Chelator-Therapie und der Lebereisen-Konzentration konnte an einer großen Zahl von Thalassämie-Patienten gezeigt werden (*Fischer et al, 2000*). Darüber hinaus lässt sich die Effektivität eines Chelators in einem Zeitintervall mit Hilfe der BLS durch Messungen am Anfang und am Ende des Intervalls genau bestimmen (*Nielsen et al, 1995a; Tondüry et al, 1998; Fischer et al, 1999a; 2001a; Del Vecchio et al, 2000*) und eventuell vorhersagen (*Fischer et al, 2002*).

4.3. Indikationen für die nicht-invasive Eisenbestimmung durch Biomagnetische Lebersuszeptometrie bei Eisenüberladung

Die Indikation zur Biomagnetischen Lebersuszeptometrie ist immer dann gegeben, wenn die 3 Labordaten Serumeisen, Transferrin-Sättigung und Serum-Ferritin (bei hereditärer Hämochromatose), wenn die Zahl der Bluttransfusionen > 20 (Transfusions-Siderosen) oder wenn der Hämoglobin-Wert ständig $< 9 \text{ g}/\text{dl}$ („iron-loading“ Anämien) ist. Einzelne isolierte Serumeisen-Werte machen keinen Sinn, genauso wenig wie eine HFE-Gendiagnostik ohne jede Absicherung durch Labordaten sinnvoll ist.

Für die hereditäre Hämochromatose gehen wir im wesentlichen von den Empfehlungen der Internationalen Konsensus Konferenz über Hämochromatose aus (*EASL-ICCH, 2000*) bzw. folgen den Empfehlungen von Camaschella et al (2000). Die Konsensus Konferenz geht allerdings von der weltweiten Verfügbarkeit von nichtinvasiven Messmethoden aus und hat wegen der schlechten Erfahrungen mit der quantitativen MRI (s. Kap. 3.4) eine zögerliche Haltung dazu. Die Konsensus Konferenz geht davon aus, dass die hereditäre Hämochromatose über den Phänotyp und nicht über den Genotyp zu definieren ist.

Bei der Thalassämie und den Transfusion-Siderosen folgen wir den Empfehlungen der Internationalen Thalassämie Federation (TIF) bzw. den Anforderungen der international führenden Thalassämie-Zentren (*Olivieri & Brittenham, 1997; Piga et al, 2002*).

In Tabelle 3 haben wir aus unserer über 10-jährigen Erfahrung die Indikationen zur Biomagnetischen Lebersuszeptometrie zusammengefasst, wie sie im folgenden dargestellt sind.

- Erstdiagnose bzw. Ausschluss einer Eisenüberladung bei Verdacht auf hereditäre Hämochromatose mit negativer HFE-Analytik (C282Y, H63D-Mutation), aber unklar erhöhten Werten für Serum-Ferritin und Serum-Eisen/Transferrin-Fe-Sättigung
- Quantitative Erfassung der individuell vorhandenen Eisenüberladung bei bekannter C282Y-positiver hered. Hämochromatose. Erbringt Aussage über die Anzahl der notwendigen Aderlässe und über die Prognose. Insbesondere bei Kindern und Jugendlichen kann über einen Therapiebeginn vor dem 18. Lebensjahr entschieden werden.
- Therapiekontrolle bei sekundärer Eisenüberladung unter Eisenchelatortherapie Erfassung der Unter- und Überdosierung von Deferoxamin bzw. Deferipron. Bei Kindern kann der Therapiebeginn (meist im Alter von 3-4 Jahren) festgelegt werden. Zu früher Beginn beeinträchtigt das Körperwachstum.
- Therapienotwendigkeit bei β -Thalassämia intermedia, Zustand vor und nach Knochenmarktransplantation mit potentiell bestehender Eisenüberladung.

Tabelle 3. Labor-Parameter zur Indikation der Biomagnetischen Lebersuszeptometrie

Diagnose (Normalwerte)	HFE - Typ	Serum-Eisen (< 31 $\mu\text{mol/l}$)	Tfs ($<25/<40\%$)	Serum-Ferritin (F/M: $<150 / <235$ $\mu\text{g/l}$)	BLS ^{§)}	
					$<18\text{y}$ ($< 0.5 \text{ mg/g}_{\text{w.w.}}$)	$>18\text{y}$
Eisenüberladung	neg., fehlt	↑↑	$> 45 \%$	F/M: $> 200/300 \mu\text{g/l}$	1* vor Therapie	
Hämochromatose	positiv	↑↑	↑↑	normal oder ↑↑	1* & 1/5y	
Bluttransf.						
Monitoring	ständig	↑↑	↑↑	↑↑ oder normal	1-2/y	1-2/2y
Start Chelator-Behdlg.	> 20	↑↑	↑↑	↑↑	1-2/y	1-2/2y
Thalassämia intermed. vor KMT#)	sporadisch	↑↑	↑↑	normal oder ↑↑	1/y	1/3y
nach KMT	> 20	-	-	↑↑	1*	
	> 10	normal	normal	↑↑	1 – 2*	

^{§)} Die Häufigkeit der BLS-Messungen wird auch von dem Grad der Eisenüberladung und dem Therapieverhalten des Patienten abhängen.

^{#)} KMT=Knochenmarktransplantation

^{*)} Anzahl BLS-Messungen

4.4. Alternative Methoden

Neben der Eisenbestimmung durch Biomagnetische Leber-Suszeptometrie bei Eisenüberladung, um die es in diesem Antrag geht, sind mit der Computertomographie (CT) und der Kernresonanztomographie (MRI) zwei weitere nichtinvasive Techniken am Patienten mit Eisenüberladung erprobt worden.

Im CT korreliert die elektronische Leberdichte in Hounsfield Einheiten mit der Leber-Eisenkonzentration (Z-Abhängigkeit des Photoeffekts). Allerdings ist die Sensitivität im diagnostisch relevanten Bereich recht gering und die Spezifität wird durch den Fettgehalt der

Leber erheblich beeinflusst. So ist es nicht möglich, eine leichte Eisenüberladung, z.B. bei chronischem Ethanolabusus, von einer hereditären Hämochromatose zu unterscheiden (Guyader et al, 1989; Nielsen et al, 1992). Eine „dual energy“-Technik wäre theoretisch besser geeignet zur Lebereisenquantifizierung, ist aber bisher am Patienten für diese Fragestellung nie eingesetzt worden.

Es sind eine ganze Reihe von Studien mit MRI durchgeführt worden, von denen einige zu dem falschen Schluss gekommen sind, dass man mit MRI am Patienten prinzipiell keine hinreichend genauen Messungen bezüglich Lebereisen machen könnte (Bonkovsky et al, 1990; Angelucci et al, 1997). Kaltwasser und Mitarbeiter (Kaltwasser et al, 1990) konnten zeigen, dass eine spezielle MRI-Technik mit kurzen Echozeiten in der Lage ist, Lebereisen bei Hämochromatosepatienten hinreichend genau zu quantifizieren. Dieses Verfahren wurde von anderen fortgeführt (Engelhardt et al, 1994; Jensen et al 1994; Papakonstantinou et al, 1995; Clark & StPierre, 2000). Der Vorteil einer praktisch einsetzbaren MRI-Technik ist, dass in fast jeder größeren Stadt ein entsprechendes MRI-Gerät zur Verfügung steht. Das Problem bei der MRI-Technik ist aber, dass die verwendeten Sequenzen außerhalb der üblichen Messroutine liegen und dass spezielle Kenntnisse der Maschine und der Software erforderlich sind. Außerdem ist eine maschinenbezogene Kalibrierung mit Leberbiopsieproben in einer Gruppe von eisenüberladenen Patienten notwendig. Eine Übertragung auf andere Geräte ist z.Zt. nicht möglich. Bei kleineren Kindern ist die praktische Durchführung der Messung (fast geschlossene Röhre, starke Geräusentwicklung, lange Messsequenzen) deutlich problematischer als bei der Biomagnetometermethode.

Diese Schwierigkeiten haben bisher insgesamt verhindert, dass eine quantitative MRI-Messung außerhalb von Studien routinemäßig am Patienten eingesetzt werden konnte.

5. Ethische und Wirtschaftlichkeitsüberlegungen

Hereditäre Hämochromatose. Eine frühe Erkennung und eine vorsorgliche Therapie mit regelmäßigen Aderlässen ist notwendig, um bei hereditärer Hämochromatose im Einzelfall schwere irreversible Organschäden zu verhindern. Eine ganze Reihe von Studien sowohl in Normalpersonen, potentiellen Blutspendern, oder auch unselektierte Krankenhauspatienten haben gezeigt, dass ein phänotypisches Screening unter Verwendung von Serum-Eisen, Transferrin-Sättigung und Serum-Ferritin im 1. bzw. 2. Filter sowie eine Leberbiopsie im 3. Filter auch unter Kostenaspekten effektiv ist (Balan et al. 1994, Buffone and Beck 1994, Phatak 1994). Dabei spielt die Prävalenz, die Wahrscheinlichkeit klinische Symptome auszubilden, und die betreffenden Screeningkosten die entscheidende Rolle. Unklar ist z.Zt. die Penetranz der hered. Hämochromatose. Phatak et al. haben jedoch in ihren Modellberechnungen einen weiten Bereich von Annahmen, z.B. Anteil von klinischen relevanten Organschäden bei Homozygoten zwischen 10 und 90 %, zugrunde gelegt. In jedem Fall war ein Screening kosteneffektiv. Auch neuere Arbeiten unter Einbeziehung des seit 1996 verfügbaren, z. Zt. noch recht teuren Gentests, kommen zum gleichen Ergebnis (Beutler et. al. 2002, Asberg et al. 2002). Ein Screening unter Verwendung von SQUID-Biosuszeptometrie der Leber anstelle der Leberbiopsie als 3. Filter, wie wir es bereits an Erstblutspendern durchgeführt haben (Nielsen et al. 1995) wird ebenfalls kosteneffektiv sein.

Sekundäre Siderose. Durch eine bessere Abstimmung der Chelator-Therapie auf die tatsächlich vorliegende Eisenüberladung lassen sich irreversible Schäden durch Eisentoxizität (Unterdosierung) oder Chelator-Toxizität (Überdosierung) vermeiden und somit Kosten

einsparen. Dies ist auch vor dem Hintergrund der hohen jährlichen Investitionen in diese Patienten zu sehen. In Tabelle 4 sind die durchschnittlichen jährlichen Kosten für Patienten mit β -Thalassämie major abgeschätzt, wobei die Ambulanz-Kosten nur für einen Minimal-Qualitätsstandard angesetzt wurden und keine Krankheitskosten erfassen, zusätzlich kommen noch Arbeits-Ausfallkosten von 1.5 Tagen pro Transfusions-Termin (ca. 26 Arbeitstage) dazu.

Tabelle 4. Minimale durchschnittliche jährliche Kosten einer Chelator-Behandlung mit Desferal[®] von Patienten mit β -Thalassämie major.

Gewicht [kg]	anteilige ¹⁾ Investitionen	Transfusionen ²⁾ [250 ml/kg/y]	Ambulanz ³⁾	Desferal ⁴⁾ [40 mg/kg]	Hilfsmittel ⁵⁾	Summe [€]
20	€372	€2120	€1145	€8510	€3380	€15527
50	€372	€5300	€1145	€21274	€3380	€31471
70	€372	€7420	€1145	€29784	€3380	€42101

¹⁾ Investitionen: Infusionspumpe (Cané Microjet: € 1860), Amortisation 5 Jahre

²⁾ Bluttransfusionen: gefilterte Blutkonserve a 250 ml ca. € 86 (spezielles Antigenmuster: € 127 – 205), Verträglichkeitstest € 20.

³⁾ Ambulanz: ärztl. Leistung Transfusion und Blutbild alle 3 Wochen; Untersuchung, Blutabnahme, Klin. Chemie, Ferritin alle 3 Monate; Spezielle Laboruntersuchungen (Zink, etc.) alle 6 Monate; jährliche Untersuchungen: Kardiologie, Hör- und Seh-Test, Knochen-Dichtemessung, Arztbrief.

⁴⁾ Desferal: 40 mg/kg an 5 Tagen pro Woche, € 204.03 pro 5 g Desferal

⁵⁾ Hilfsmittel: Schläuche, Kanülen, Spritzen, Pflaster, etc

Vor dem Hintergrund dieser Kosten in Tabelle 4 sind die Kosten einer nicht-invasiven Leber (und Milz)-Eisenbestimmung mittels BLS zu sehen wie sie in Tabelle 5 dargestellt sind. Die Preisgestaltung in Tabelle 5 wird durch die unterschiedlichen Gesundheitssysteme und durch das Lohnniveau in den einzelnen Ländern bestimmt. In die Kostenermittlung für das Hamburger Biomagnetometer sind bei einem angenommenen Patientendurchsatz von 400 Patienten pro Jahr anteilige Personalkosten (MTA, Physiker, Arzt: 69 %), Flüssigheliumverbrauch (13 %), sowie kleinere Sachmittel, Reparaturen, Gebäude- und Energiekosten (18 %). Nicht enthalten sind Amortisation (Neuwert des Systems € 500 000) und der vergleichsweise hohe Verwaltungsaufwand des Einzelantragsverfahrens. Tatsächlich wird zur Zeit nur ein Patientendurchsatz von 200 Patienten pro Jahr erreicht, wobei viele Patienten aufgrund klinischer und ethischer Indikation auch ohne rechtzeitige oder positive Kostenübernahme-Erklärung gemessen werden müssen. Unter diesen Bedingungen muss entweder der Preis pro Messung verdoppelt werden oder die Patienten müssen in Zukunft nach Turin überwiesen werden.

Bei den Transfusions-Siderosen wird man die Patienten in 1-2 jährigem Rhythmus messen wollen; in Ausnahmefällen bei Wechsel eines Therapieschemas vielleicht sogar halbjährlich. Die Vorteile der Kenntnis der Eisenspeicher ergeben sich vor allem daraus, dass die Chelator-Therapie jederzeit dem aktuellen Eisenstatus angepasst werden kann bzw. rechtzeitig eingeleitet werden kann. Dadurch wird sowohl eine Über- als auch Unterdosierung mit allen sich daraus ergebenden Folgekosten vermieden. Langfristig werden die hohen Investitionen in diesen Krankheitsbereich damit auch gesichert. Dies gilt auch für möglicherweise eisenüberladene Patienten bei denen ein Knochenmarkstransplantation ansteht bzw. eine solche (auch Chemotherapie mit vermehrten Bluttransfusionen) durchgeführt worden ist.

Tabelle 5. Internationaler Kostenvergleich der nicht-invasiven Eisenbestimmung an den 3 SQUID Biomagnetometer-Zentren in Deutschland, Italien und den USA.

Patientenart	Hamburg UKE	Turin Centro-Microcitemie	Oakland Childr. Hospital
Patient ¹⁾	€ 383 / 435 ²⁾	€ 375	\$ 500
Privat-Patient	€ 383 / 435 ²⁾	€ 375	\$ 500
Studien-Patient (pharm. Industr.)	€ 500 / 600 ³⁾	€ 375	\$ 1000

¹⁾ Patient des jeweiligen öffentlichen Gesundheits-Systems

²⁾ Lebereisenbestimmung (& evtl. Volumen): € 383, zusätzliche Milzeisenbestimmung & Volumen bei vergrößerter Milz: + € 52

³⁾ Patienten in klinischen Versuchen erfordern einen höheren Mess- und Analyse-Aufwand

In Tabelle 6 werden die Kosten der nicht-invasiven Lebereisenbestimmung mittels SQUID-Biomagnetometrie mit den Kosten der traditionellen Eisenbestimmung (chemische Aufbereitung, Atom-Absorptions-Spektroskopie) durch die invasive Leberbiopsie verglichen. Die Kosten können oft höher ausfallen, da noch ein stationärer Krankenhaus-Aufenthalt dazukommt. Hinzu kommt, das oft nur eine histologische Untersuchung des Lebergewebes von dem hauseigenen Pathologen durchgeführt wird. Eine quantitative Eisenbestimmung im Lebergewebe wird wegen der höheren Anforderungen von der Kostenseite her nicht abgedeckt. Sie ist nur noch an wenigen Stellen in Deutschland möglich mit der Konsequenz, das viele Leberbiopsien hinsichtlich der Eisenbestimmung nur noch unzureichend durchgeführt werden.

Bei Patienten mit Transfusions-Siderose verbietet sich die häufige Wiederholung einer Leberpunktion, die stets mit einem Komplikationsrisiko und mit Schmerzen verbunden ist, quasi von selbst.

Bei Patienten mit Verdacht auf Eisenüberladung infolge einer hereditären Hämochromatose ist die Indikationsstellung für eine blutige Leberbiopsie oft nicht hart genug. Andererseits kann die Indikation nicht früh genug gestellt werden, um die Folgekosten einer Eisenüberladung zu vermeiden. Gerade mit den neuen Möglichkeiten der HFE-Gendiagnostik werden viele Patienten mit nicht therapiebedürftigen Eisenspeichern diagnostiziert. In diesem Bereich (Serum Ferritin < 1000 µg/l) liegt der Anwendungsbereich der nicht-invasiven BLS (*Camaschella et al, 2000*). Aber auch bei Patienten mit Laborparametern, die auf eine höhere Eisenüberladung hinweisen, ist die Kenntnis der Histologie oft nur von dokumentarischem Wert und ohne therapeutische Konsequenz für den Patienten. Die genaue Kenntnis der Lebereisenkonzentration ist jedoch wichtiger, aber die ist gerade bei diesen Patienten auf der Grundlage einer Leberbiopsie oft zweifelhaft (*Villeneuve et al, 1996*)

Tabelle 6. Internationaler Kostenvergleich einer Leberbiopsie mit quantitativer Eisenbestimmung an Universitätskliniken.

Leistungsart	Hamburg UKE ¹⁾	Turin Centro-Microcitemie	Oakland Childr. Hospital
Tagessatz (Ultraschall, OP 1h)	€ 367 / 507	€ 900	\$ 2200
Personal	incl.	€ 200	\$ 1000
Verbrauchsmittel	incl.	€ 100	\$ 300
Laborkosten	incl.	€ 120	\$ 1000

¹⁾ Erwachsene Halbstationär (8 h): € 367, Kinderchirurgie 1 von 2-3 Tagen: € 507 (Abteilungspflegesatz + Basispflegesatz)

Insgesamt ist die Situation dadurch gekennzeichnet, dass das Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf eine Versorgungsleistung für die Bundesrepublik Deutschland erbringt, deren Kosten jedoch nicht ausreichend abgedeckt werden. Ein alternatives preiswerteres Verfahren ist zur Zeit nicht in Sicht. Da mit der Biomagnetometer-Untersuchung ein nicht-invasives und (bei Eisenüberladung) bessere Alternative zur Verfügung steht, sollte für diese Indikation die invasive Leberbiopsie nicht länger bevorzugt durchgeführt werden.

6. Apparative und sonstige Anforderungen

Das relativ komplexe System eines SQUID-Biomagnetometers erfordert hohe Anforderungen an die Umgebung und das Gebäude hinsichtlich elektromagnetischen Rauschens und Vibrationsarmut. Eine Abschirmkammer ist für das System in Hamburg nicht nötig und wäre auch unsinnig. Die spezielle Konstruktion des Gebäudes (Holz, NE-Metalle) macht sehr empfindliche Messungen zu jeder Tageszeit möglich. Im Vergleich zu den anderen bisher installierten Systemen ist der Standort ideal.

Das Alter des Systems (seit 1988 im Betrieb) verlangt langfristig den Ersatz einiger Komponenten (Prozesskontrolle und Datenerfassung, Ultraschallgerät) oder die Beschaffung eines Systems der neuen Generation.

Da sich die Etablierung eines nicht-invasiven Verfahrens zur Eisenbestimmung in der Leber und in anderen Organen für ein relativ geringes Patientenaufkommen in der Bundesrepublik Deutschland von maximal ca. 500 Patienten pro Jahr nur an einer Stelle in Deutschland lohnt, sollte der Aufstellungsort gut erreichbar sein. Dies trifft für Hamburg in jeder Hinsicht zu.

7. Qualifikation und Qualitätssicherung

Der Betrieb einer Biomagnetometer-Anlage und die Messungen damit verlangen spezielle technische (Kryotechnik), mathematisch-physikalische (Magnetostatik, Datenerfassung und Auswertung) und anatomische (abdominaler Ultraschall) Kenntnisse und ein ca. 3-monatiges Training wie es zur Zeit nur am Hamburg Biosuszeptometer-Referenzzentrum vermittelt wird (s. Anlage A).

Um einen gleichen Qualitätsstandard an den Zentren in Hamburg, Turin und Oakland zu gewährleisten, wird zur Zeit ein Ringversuch vorbereitet, bei dem Patienten an allen drei Zentren von verschiedenen Operateuren gemessen werden (Forderung der FDA an die neue Gerätegeneration). Darüber hinaus, werden i. R. eines wissenschaftlichen Austauschs die Zentren in Turin (bereits seit 2000) und Oakland (ab 2003) von Hamburg aus trainiert und beraten. Die Analyse-Software ist für alle 3 Zentren mit minimalen Abweichungen einheitlich entwickelt worden (siehe SOP-BLS, Anlage A).

8. Zukünftige Entwicklung

Die aktuelle Entwicklung auf dem Gebiet der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie ist durch universitäre Entwicklung von SQUID-Systemen mit großen Magnetfeldspulen aber empfindlichen Detektoren gekennzeichnet (Chieti/Catania, Sao Paulo), bzw. durch kommerzielle Entwicklungen von Systemen, die bei höheren Temperaturen arbeiten (Quantum Magnetics, San Diego; NIH-Projekt zur Entwicklung eines HTc-Suszeptometers, US-Konsortium) (siehe hierzu: *Nowak et al, 2002*).

Im Rahmen der Errichtung eines SQUID-Biosuszeptometers am Children's Hospital Oakland (USA) zur Lebereisenbestimmung bei Patienten mit Transfusions-Siderosen (Thalassämien, Sichelzellerkrankheit) und hereditärer Hämochromatose läuft gegenwärtig ein im Wesentlichen auf die klinischen Evaluations-Ergebnisse aus Hamburg und Cleveland.

9. Literatur-Verzeichnis

Ausgewählte Kopien (s. Anlage) von Sonderdrucken befinden sich in der Anlage B.

Adams PC, Deugnier Y, Moirand R, Brissot P: The relationship between iron overload, clinical symptoms, and age in 410 patients with genetic hemochromatosis. *Hepatology* 1997; 25: 162-166.

Ambu R, Crisponi G, Sciot R, VanEyken P, Parodo G, Iannelli S, Marongiu F, Silvagni R, Nurchi V, Cost V, Faa G, Desmet VJ. Uneven hepatic iron and phosphorous distribution in β -thalassemia. *J Hepatol* 1995; 23: 544-549.

Angelucci E, Giovagnoni A, Valeri G, Paci E, Ripalti M, Muretto P, McLaren C, Brittenham GM, Lucarelli G. Limitations of magnetic resonance imaging in measurement of hepatic iron. *Blood* 1997; 90: 4736-42.

Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE, Ripalti M, Baronciani D, Giardini C, Lucarelli G. Hepatic iron concentration and mobilizable body iron in thalassemia major. *New Engl J Med* 2000; 343: 327-31.

Angelucci E, Muretto P, Nicolucci A, Baronciani D, Erer B, Gaziev J, Ripalti M, Sodani P, Tomassoni S, Visani G, Lucarelli G. Effects of iron overload and hepatitis C virus positivity in determining progression of liver fibrosis in thalassemia following bone marrow transplantation. *Blood* 2002; 100: 17-21.

Asberg A, Hveem K, Thorstensen K, Ellekjer E, Kannelonning K, Fjosne U, Halvorsen TB, Smethurst HB, Sagen E, Bjerve KS: Screening for hemochromatosis: high prevalence and low morbidity in an unselected population of 65,238 persons. *Scand J Gastroenterol* 2001;36(10):1108-1115.

Balan V, Baldus W, Fairbanks V, Michels V, Burritt M, Klee G. Screening for hemochromatosis: a cost-effectiveness study based on 12.258 patients. *Gastroenterology* 1994; 107:453-459.

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

Bassett ML. Hämochromatosis: Iron still matters. *Intern Med J* 2001; 31: 237-242.

Benn HP, Nielsen P, Fischer R, Schwarz D, Engelhardt R, Darda C, Dittmer R, Knödler B, Gabbe EE, Kühnl P. Screening for hereditary hemochromatosis in prospective blood donors. *Infus Ther Contrib Transf Med* 1994; 32: 314-316.

Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho JN, Gelbart T: Penetrance of 845G*A (C282Y) *HFE* hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002;359:211-18.

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

Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano P, Piga A, Di Gregorio F, Gamberini MR, Sabato V, Melevendi C, Cappellini MD, Verlato G. Survival and disease complications in thalassemia major. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 227-231.

Brittenham GM, Farrell DE, Harris JW, Feldman ES, Danish EH, Muir WA, Tripp JH, Bellon EM. Magnetic-susceptibility measurement of human iron stores, *New Engl J Med* 1982; 307: 1671-1675 (s. Anlage).

Brittenham GM. Noninvasive methods for the early detection of hereditary hemochromatosis. *Ann N Y Acad Sci* 1988; 526: 199-208.

Brittenham GN, Cohen AR, McLaren CE, Martin MB, Griffith PM, Nienhus AW, Young NS, Allen CJ, Farrell DE, Harris JW. Hepatic iron stores and plasma ferritin concentration in patients with sickle cell anemia and thalassemia major. *Am J Hematol* 1993; 42: 81-85.

Buffone GJ, Beck JR. Cost-effectiveness analysis for evaluation of screening programs: hereditary hemochromatosis. *Clin Chem* 1994; 40:1631-1636.

Camaschella C, De Gobbi M, Roetto A. Hereditary Hemochromatosis: progress and perspectives. *Rev Clin Exp Hematol* 2000; 4 (4): 302-321 (s. Anlage).

Clark PR, St. Pierre TG. Quantitative mapping of transverse relaxivity (1/T₂) in hepatic iron overload: a single spin-echo imaging methodology. *Magn Reson Imaging* 2000; 18: 431-438.

Crosby WH. Treatment of hämochromatosis by energetic phlebotomy. One patients's response to the letting of 55 litres of blood in 11 months. *Brit J Hämatol* 1958; 4: 82-88.

Del Vecchio GC, Crollo E, Schettini F, Schettini F, Fischer R, De Mattia D. Factors influencing effectiveness of deferiprone (L1) in a thalassämia major clinical setting. *Acta Hämatol* 2000; 104: 99-102.

Dürken M, Neubauer F, Engelhardt R, Nielsen P, Hiller J, Kröger N, Renges H, Zander AR, Fischer R. Iron overload in longterm survivors after bone marrow transplantation. *Proc Bioiron 99, Sorrento, 1999*; p 110(abstract).

Dürken M, Engelhardt R, Fischer R, Janka GE, Kordes UR, Nielsen P. Liver iron stores in β -thalassemia: the 10 years of Hamburg experience with SQUID biosusceptometry. *Proc 11th Conf Oral Iron Chel, Athens 2001*, p 161 (abstract).

EASL International Consensus Conference on Hämochromatosis. *J Hepatol* 2000; 33: 485-504.

Engelhardt R, Lankowski JH, Fischer R, Nielsen P, Kooijman H, Heinrich HC, Bücheler E. Liver Iron Quantification: Studies in Aqueous Iron Solutions, Iron overloaded Rats, and Patients with Hereditary Hämochromatosis. *Magn Res Imaging, 1994*; 12: 999-1007.

Engelhardt R, Dürken M, Nielsen P, Neubauer F, Haberhausen M, Hiller J, Renges H, Zander AR, Fischer R. Biomagnetic liver susceptometry in long-term survivors after bone marrow or stem cell transplantation. *In: Biomag 2000: Proceedings 12th Int Conf Biomagnetism* (eds J Nenonen, RJ Ilmoniemi, T Katila). Helsinki: University of Technology 2001; pp 986-989.

Farrell DE, Tripp JH, Zanzucchi PE, Harris JW, Brittenham GM, Muir WA. Magnetic measurement of human iron stores. *IEEE Trans Magnetics* 1980; 16: 818-823.

Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F, Domingo RJr, Ellis MC, Fullan A, Hinton LM, Jones NL, Kimmel BE, Kronmal GS, Lauer P, Lee VK, Loeb DB, Mapa FA, McClelland E, Meyer NC, Mintier GA, Moeller N, Moore T, Morikang E, Prass CE, Qiuntana L, Starnes SM, Schatzmann RC, Brunke KJ, Drauna DT, Risch NJ, Bacon BR, Wolff RK. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hämochromatosis. *Nature Genetics* 1996; 13: 399-408.

Fischer R, Engelhardt R, Nielsen P, Gabbe EE, Heinrich HC, Schmiegel WH, Wurbs D. Liver iron quantification in the diagnosis and therapy control of iron overload patients. *In: Biomagnetism: Clinical aspects* (eds M Hoke, SN Ern , YC Okada, GL Romani). Elsevier Science, Amsterdam 1992; pp 585-589 (s. Anlage).

Fischer R, Nielsen P, Dürken M, Engelhardt R, Garofalo F, Gamberini MR, Zander A, Janka GE, Gabbe EE, Piga A. The method of biomagnetic liver susceptometry in the follow-up of thalassemic patients after BMT. *Bone Marr Trans* 1997; 19: 136-138.

Fischer R. Liver iron susceptometry. *In: Magnetism in Medicine* (eds W André, H Nowak). Wiley-VCH, Berlin 1998; pp 286-301 (s. Anlage).

Fischer R, Tiemann C, Engelhardt R, Nielsen P, Dürken M, Gabbe EE, Janka G. Assessment of iron stores in children with transfusion siderosis by biomagnetic liver susceptometry. *Am J Hematol* 1999a; 60: 289-299 (s. Anlage).

Fischer R, Piga A, De Sanctis V, Galanello R, Capra M, Di Gregorio F, Politis C, Brittenham GM, T ndury P, Engelhardt R, Longo F, Nielsen P, Dürken M, Gabbe EE. Large-scale study in thalassemia using biomagnetic liver susceptometry. *In: Recent Advances in Biomagnetism* (eds T Yoshimoto, M Kotani, S Kuriki, H Karibe, N Nakasato). Tohoku University Press, Sendai, Japan 1999b; pp 1102 - 1105.

Fischer R, Piga A, Tricta F, Nielsen P, Engelhardt R, Garofalo F, Di Palma A, Vullo C. The use of biomagnetic liver susceptometry in the Ferrara-Hamburg-Turin study on thalassemia. *In: BIOMAG96: Advances in Biomagnetic Research* (eds CJ Aine, YC Okada, G Stroink, SJ Swithenby, CC Wood). Springer, New York 2000; pp 651 – 654.

Fischer R, Longo F, Engelhardt R, Piga A, Nielsen P. Long-term monitoring iron chelation therapy by deferiprone in patients with β -thalass mia major monitored by SQUID biomagnetometry. *Biom Environ* 2001a; 4 (suppl 1): 22-25.

Fischer R. SQUID biomagnetic liver susceptometry in the adjustment of chelation treatment. *SO.S.T.E. Notizario* 2001b; 2: 50-54.

Fischer R, Engelhardt R, Nielsen P. The influence of thorax tissue in biomagnetic liver susceptometry (BLS). *In: Biomag 2002: Proc 13th Int Conf Biomagnetism*. (eds H Nowak, J Haueisen, F Giessler, R Huonker). VDE Verlag, Berlin 2002; pp. 1063-1065.

- Fischer R, Longo F, Nielsen P, Engelhardt R, Hider RC, Piga A. Monitoring long-term efficacy of iron chelation therapy by deferprone and desferrioxamine in patients with β -thalassaemia major: application of SQUID biomagnetic liver susceptometry. *Brit J Hämatol* 2002; pp (in press).
- Gabutti V, Piga A. Results from long-term iron chelating therapy. *Acta Hämatol* 1996; 95: 26-36.
- Garofalo F, Piga A, Lala R, Chiabotto S, Di Stefano M, Isaia G. Bone metabolism in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 475-478.
- Gottschalk R, Seidl C, Löffler T, Seifried E, Hoelzer D, Kaltwasser JP. HFE codon 63/282 (H63D/C282Y) dimorphism in German patients with genetic hemochromatosis. *Tissü Antigens* 1998; 51: 270-275.
- Guyader D, Gandon Y, Deugnier Y, et al.: Evaluation of computed tomography in the assessment of liver iron overload. A study of 46 cases of idiopathic hemochromatosis. *Gastroenterol* 1989; 97: 737-734.
- Hartmann W, Schneider L, Wirth A, Dördelmann M, Zinser D, Elias H, Languth W, Ludwig W, Kleihauer E. Liver susceptometry for the follow up of transfusional iron overload. *In: Biomagnetism: Clinical aspects* (eds M Hoke, SN Ern , YC Okada, GL Romani). Elsevier Science, Amsterdam 1992; pp 590-593.
- Herbert V, Jayatilleke E, Shaw S, Rosman AS, Giardina P, Grady RW, Bowman B, Gunter EW. Serum ferritin iron, a new test, measures human body iron stores unconfounded by inflammation. *Stem Cells* 1997; 15: 291-296.
- Janka GE, Agus A, Batzella MG, Capra M, Caruso V, De Mattia D, De Sanctis V, Di Gregorio F, Dürken M, Fischer R, Forni GK, Fortini M, Galanello R, Graubner UB, Janssen G, Kattamis A, Lombardo T, Longo F, Magnano C, Meo A, Nielsen P, Niemeyer C, Piga A, Politis C, Toendury P, Zander AR. SQUID biosusceptometry in hematological diseases. *Blood* 2001; 98 (11): 469a.
- Jensen PD, Jensen FT, Christensen T, Ellegard J. Non-invasive assessment of tissü iron overload in the liver by magnetic resonance imaging. *Brit J Hämatol* 1994; 87: 171-184.
- Jensen PD, Heickendorff L, Pedersen B, Bendix-Hansen K, Jensen FT, Christensen T, Boesen AM, Ellegaard J. The effect of iron chelation on hämopoiesis in MDS patients with transfusional iron overload. *Br J Hämatol* 1996; 94: 288-299.
- Kaltwasser JP, Gottschalk R, Schalk KP, Hartl W. Non-invasive quantitation of liver iron-overload by magnetic resonance imaging. *Brit J Hämatol* 1990; 74: 360-363.
- Lucarelli G, Angelucci E, Giardini C, Baronciani D, Galimberti M, Polchi P, Bartolucci M, Muretto P, Albertini F. Fate of iron stores in thalassaemia after bone-marrow transplantation. *Lancet* 1993; 342: 1388-1391.

Nachtigall D, Nielsen P, Fischer R, Engelhardt R, Gabbe EE. Iron deficiency in distance runners. A reinvestigation using ⁵⁹Fe-labelling and non-invasive liver iron quantification. *Int J Sports Med* 1996; 17: 473-479.

Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, Vaulont S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Nat Acad Sci USA* 2001; 98: 8780-8785.

Niederrau C, Fischer R, Sonnenberg A, Stremmel W, Trampisch HJ, Strohmeyer G. Survival and causes of death in cirrhotic and non-cirrhotic patients with primary hemochromatosis. *N Engl J Med* 1985; 313: 1256-1262.

Niederrau C, Fischer R, Pürschel A, Stremmel W, Häussinger D, Strohmeyer G. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996; 110: 1107-1119.

Nielsen P, Engelhardt R, Fischer R, Heinrich HC, Bücheler E, Langkowski JH. Noninvasive Liver-Iron Quantification by Computed Tomography in Iron-Overloaded Rats. *Invest Radiol* 1992; 27: 312-317.

Nielsen P, Fischer R, Engelhardt R, Tondury P, Gabbe EE, Janka GE. Liver iron stores in patients with secondary hemosiderosis under iron chelation therapy with deferoxamine or deferiprone. *Brit J Hämatol* 1995a; 91: 827-833 (s. Anlage).

Nielsen P, Fischer R, Engelhardt R, Dresow B, Gabbe EE. Umfassende, nichtinvasive Diagnostik von Eisenstoffwechselstörungen. *Hamb Ärztebl* 1995b; 49: 347-352.

Nielsen P, Benn HP, Peters C, Fischer R, Darda C, Knoedler B, Gabbe EE, Kühnl P. Iron Status in Prospective Blood Donors. *Infusionsther Transfusionsmed* 1995c; 22: 142-144.

Nielsen P, Fischer R, Engelhardt R, Dresow B, Gabbe EE. Neue Möglichkeiten in der Diagnose der genetischen Hämochromatose. HFE-Mutations-Diagnostik und nichtinvasive Leber-Eisen-Quantifizierung mit einem SQUID-Biosuszeptometer. *Deut Ärztl* 1998a; 95: 2915-2921 (s. Anlage).

Nielsen P, Carpinteiro S, Fischer R, Cabeda JM, Porto G, Gabbe EE. Prevalence of the C282Y- and the H63D-mutation in the HFE-gene in patients with hereditary hemochromatosis and in control subjects from northern Germany. *Brit J Hämatol* 1998b; 103: 842-845.

Nielsen P, Günther U, Dürken M, Fischer R, Düllmann J. Serum ferritin iron in iron overload and liver damage: correlation to body iron stores and diagnostic relevance. *J Lab Clin Med* 2000a; 135: 413-418.

Nielsen P, Engelhardt R, Dürken M, Janka G, Fischer R. Using SQUID biomagnetic liver susceptometry in the treatment of thalassemia. *Transf Sci* 2000b; 23: 257-258.

Nielsen P, Kordes U, Fischer R, Engelhardt R, Janka GE. SQUID-Biosuszeptometrie bei Eisenüberladungskrankheiten in der Hämatologie. *Klin Pädiatr* 2002a; 214: 218-222 (s. Anlage).

Nielsen P, Fischer R, Düllmann J. Diagnosis of hereditary hämochromatosis using non-invasive methods. *Transfusion Medicine*, 2002b, in press

Nielsen P, Engelhardt R, , Düllmann J, Fischer R. Non-invasive liver iron quantification by SQUID-biosusceptometry and serum ferritin iron as new diagnostic parameters in hereditary Hämochromatosis. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2002c; 29(3): 451-458.

Nowak H, Haueisen J, Giessler F, Huonker R (eds). Noninvasive measurements of iron. *In: Biomag 2002: Proc 13th Int Conf Biomagnetism*. VDE Verlag, Berlin 2002; pp. 1052-1078.

Olivieri NF, Brittenham GM, Matsui D, Berkovitch M, Blendis LM, Cameron RG, McClelland RA, Liu PP, Templeton DM, Koren G. Iron-chelation therapy with oral deferiprone in patients with thalassemia major. *N Eng J Med* 1995; 332: 918-922.

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

Papakonstantinou OG, Maris TG, Kostaridou V, Gouliamos AD, Koutoulas GK, Kalovidouris Ä, Papavassiliou GB, Kordas G, Kattamis C, Vlahos LJ, Papavassiliou CG. 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* 1995; 13: 967-977.

Paulson DN, Fagaly RL, Toussaint RM, Fischer R. Biomagnetic susceptometer with SQUID instrumentation. *IEEE Trans Magn* 1991; 27: 3249-3252.

Piga A, Donato G, Monasterolo S, Lupo G, Longo F. Clinical need for measurements of tissü iron. *In: Biomag 2002: Proc 13th Int Conf Biomagnetism*. (eds H Nowak, J Haueisen, F Giessler, R Huonker). VDE Verlag, Berlin 2002; pp. 1052-1054.

Piperno A, Sampietro M, Pietrangelo A, Arosio C, Lupica L, Montosi G, Veregani A, Fraquilli M, Girelli D, Pasquero P, Roetto A, Gasparini P, Fargion S, Conte D, Camaschella C. Heterogeneity of hemochromatosis in Italy. *Gastroenterology* 1998; 114: 996-1002.

Phatak PD, Guzman G, Woll JE, Robeson A, Phelps CE. Cost-effectiveness of screening for hereditary hemochromatosis. *Arch Intern Med* 1994; 154:769-776.

Porter JB, Jaswon MS, Hühns ER. Desferrioxamine ototoxicity: evaluation of risk factors in thalassämic patients and guidelines for safe dosage. *Br J Hämatol* 1989; 73: 403-409.

Porter JB, Faherty A, Stallibrass L, Brookman L, Hassan I, Howes C. A trial to investigate the relationship between DFO pharmacokinetics and metabolism and DFO-related toxicity. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 483-487.

Powell LW. Primary iron overload. *In: Iron metabolism in health and disease* (eds JH Brock, JW Halliday, MJ Pippard, LW Powell). Saunders, London 1994; pp 227-270.

Reller K, Dresow B, Collell M, Fischer R, Engelhardt R, Nielsen P, Dürken M, Politis C, Piga A. Iron overload and antioxidant status in patients with beta-thalassemia major. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 466-468.

Starr TN, Fischer R, Ewing T, Longo F, Engelhardt R, Trevisiol E, Fagaly RL, Paulson DN, Piga A. A new generation SQUID biosusceptometer. *In: Biomag 2000: Proceedings 12th Int Conf Biomagnetism* (eds J Nenonen, RJ Ilmoniemi, T Katila). Helsinki University of Technology 2001; pp 986-989.

Toendury P, Zimmermann A, Nielsen P, Hirt A. Liver iron and fibrosis during long-term treatment with deferiprone in Swiss thalassaemic patients. *Br J Hämatol* 1998; 101: 413-415.

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

10. ANLAGEN

Anlage A

SOP: Liver (Spleen) Iron Susceptometry in Patients with the Hamburg SQUID Biomagnetometer Facility.

Anlage B

Ausgewählte Originalarbeiten.