

SQUID-Biosuszeptometrie bei Eisenüberladungs-krankheiten in der Hämatologie

P. Nielsen²
U. Kordes¹
R. Fischer^{1, 2}
R. Engelhardt²
G. E. Janka¹

SQUID-biosusceptometry in iron overloaded patients with hematologic diseases

Zusammenfassung

Hintergrund: Für die Langzeitprognose von eisenüberladenen Patienten ist eine rechtzeitige und gut angepasste Therapie mit Eisenchelatoren gerade im Kindesalter von entscheidender Bedeutung. Grundlage für eine adäquate Behandlung sind geeignete diagnostische Parameter, die den Grad der Eisenüberladung hinreichend genau anzeigen. **Patienten:** In Zeitraum von 1989–2001 wurde der Eisenstatus bei 1112 meist jungen Patienten mit Transfusions-Siderosen untersucht. **Methode:** Mittels SQUID-Biosuszeptometrie wurde die Leber- und Milz-Eisen-Konzentration nicht-invasiv gemessen und daraus die individuell vorhandenen Gesamtkörper-Eisenspeicher errechnet. **Ergebnisse:** An einer großen Zahl von Patienten mit sekundärer Eisenüberladung wurde retrospektiv die klinische Wertigkeit der nicht-invasiven Leber-Eisen-Quantifizierung mittels SQUID-Biosuszeptometrie untersucht und nachgewiesen. Bei Patienten unter Therapie mit dem Eisenchelator Deferoxamin wurde mittels der gemessenen Leber-Eisen-Konzentration ein DFO-Index definiert, der das Risiko einer Desferalüberdosierung genauer anzeigt als der in der Literatur bekannte, Serum-Ferritin-bezogene Index.

Schlüsselwörter

SQUID-Biosuszeptometrie · Eisenüberladung · Lebereisen · DFO-Index

Abstract

Background: For the long-term survival of iron-loaded patients, early and well adjusted treatment with iron chelators is of crucial importance, especially in children. Basis of the adequate treatment are appropriate diagnostic parameters which are capable to monitor the range of the individual iron burden. **Patients:** In the time period between 1989 and 2001, the status of iron loading was investigated in 1112 patients with post transfusion siderosis. **Methods:** The iron concentration in liver and spleen was quantified by SQUID-biosusceptometry. Using these values, the whole body iron stores were calculated. **Results and discussion:** Based on a large number of patients with secondary siderosis, the benefit of SQUID-biosusceptometry for non-invasive liver iron quantification was evaluated retrospectively. In patients under treatment with deferoxamin, a new therapeutic DFO-index was defined which respects liver iron concentration instead of serum ferritin. This results in a more reliable information about DFO overdosing in a given patient.

Key words

SQUID-biosusceptometry · Iron overload · Liver iron · DFO-index

Institutsangaben

¹ Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

² Institut Med. Biochemie und Molekularbiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Korrespondenzadresse

Priv.-Doz. Dr. med. Dr. rer. nat. Peter Nielsen · Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie · Martinistraße 52 · 20246 Hamburg · Tel. + 49-40-42803-2389 · Fax + 49-40-42803-4797 · E-mail: nielsen@uke.uni-hamburg.de

Bibliografie

Klin Pädiatr 2002; 214: 218–222 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0300-8630

Einleitung

Die klinisch relevante Eisenüberladung im Kindes- und Jugendalter stellt sich im Wesentlichen als sekundäre Form wie Posttransfusionssiderose oder „iron-loading anemia“ dar. Die genetisch häufige primäre Eisenüberladung, hereditäre Hämochromatose, wird meist erst im fortgeschrittenen Erwachsenenalter manifest und muss im Kindesalter in der Regel nicht behandelt werden. Eine schwere Eisenüberladung kann zu einer chronischen Organschädigung von Leber, Pankreas und Herz führen und ist für die Langzeitprognose entsprechender Patienten von entscheidender Bedeutung. Einer rechtzeitigen und gut angepassten Eisenentzugstherapie mit Deferoxamin (DFO, Desferal®) oder dem oral zu verwendenden Deferipron (DFP, Ferriprox®) kommt deshalb eine besondere Bedeutung zu. Dies gilt auch vor dem Hintergrund der bekannten Nebenwirkungen von Eisenchelatoren [1,14]. Diese sind zumindestens teilweise begündet 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 (Tab. 1).

Tab. 1 Direkte und indirekte diagnostische Parameter bei Eisenüberladung.

| indirekte Methoden | direkte Methoden |
|--|-----------------------------|
| Serum-Eisen | a) invasiv |
| Transferrin-Fe-Sättigung | Leberbiopsie: |
| Totale-Fe-Bindungskapazität, Transferrin | – histol. Eisenverteilung |
| | – Leber-Fe-Konzentration |
| Serum-Ferritin | b) nichtinvasiv |
| | Leber-Eisen: |
| | – SQUID-Biomagnetometrie |
| | – Magnetresonanztomographie |

Das Serum-Eisen und die Transferrin-Eisen-Sättigung sind empfindliche Parameter, die sehr schnell eine überschüssige Eisenspeicherung anzeigen. Diese Werte 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 Patienten im Kindesalter besonders belastend ist und stets ein Komplikationsrisiko birgt. Auch wenn in vielen Studien signifikante Korrelationen des Serum-Ferritins mit der Leber-Eisen-Konzentration (LIC) beobachtet worden sind, lässt dies keinen Rückschluss auf die quantitative Aussagekraft des Ferritins im Einzelfall zu (Bestimmtheitsmaß, $R^2 = 0,57 - 0,78$). Für eine typische Ferritin-Konzentration von 3000 µg/l wurden bei Patienten mit β-Thalassämie major 95%-Vorhersagebereiche der Leber-Eisen-Konzentration von 8000 [3] bzw. 4000 µg/g_{Leber} [8] gefunden. Darüber hinaus müssen un-

terschiedliche Serum-Ferritin-Konzentrationen bei gleicher mittlerer Leber-Eisen-Konzentration für Patienten mit β-Thalassämie intermedia (oder hereditäre Hämochromatose), mit β-Thalassämie major und für Patienten nach Stammzell-Transplantation beachtet werden [12]. 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, potenziell toxische Speichereisen.

Die nichtinvasive Bestimmung des Lebereisens mittels SQUID-Biosuszeptometrie ist dagegen sehr genau und repräsentativ. Für die Güte der Korrelation mit biotisch bestimmten Leber-Fe gilt das Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,96, 0,98$ [2,7,11]. Die Untersuchung ist für den Patienten völlig risikolos und deshalb beliebig oft wiederholbar. Auch wenn die SQUID-Biomagnetische Leber-Suszeptometrie seit mehr als 20 Jahren bekannt ist [6], war ihre Anwendung auf Eisenüberladungskrankheiten wie hereditäre Hämochromatose, β-Thalassämie major und andere Anämien in der Vergangenheit jedoch auf wenige Zentren begrenzt (Cleveland, Ulm, Hamburg). Alternativ kann auch mittels Magnetresonanztomographie nichtinvasiv Leber-Eisen quantifiziert werden, doch ist dies z. Z. nur in Studien möglich [4,5,10]. Eine unerlässliche Bedingung ist die Kalibrierung des individuellen MRT-Gerätes mit Leberbiopsie-Resultaten aus einem entsprechenden Patientenkollektiv.

Patienten und Methoden

Im Zeitraum von 1989 – 2001 wurden in unserer Eisenstoffwechselambulanz 1112 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. In den Hauptdiagnosegruppen wurden folgende Patienten gemessen: β-Thalassämie major (n = 799), β-Thalassämie intermedia (n = 51), β-Thalassämie minor (n = 13), β-Sichelzellenthalassämie (n = 23), Lepore-β-Thalassämie (n = 5), α-Thalassämie major (n = 8), 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 = 8), Blackfan-Diamond-Anämie (n = 19), myelodysplastisches Syndrom (MDS: n = 10), seltene Anämien wie z. B. Fanconi-Anämie (n = 5) und ex-Leukämien nach Knochenmark- bzw. Stammzell-Transplantation (KMT_ex-Leuk: n = 85). Leber-Eisen (LIC)- und Milz-Eisen (SIC)-Konzentrationen wurden zusammen mit dem sonographisch gemessenen Organvolumen ($V_{\text{Leber}}, V_{\text{Milz}}$) jährlich bzw. alle zwei Jahre am Hamburger Biosuszeptometer bestimmt [13]. Hämatologische und klinische Parameter wurden an den jeweiligen Zentren dokumentiert. Aus den Eisenkonzentrationen und den Volumina kann das Ganzkörperspeichereisen, U, berechnet werden unter der Annahme, dass 80% des Eisens in den beiden Hauptspeicher-Organen akkumuliert sind [8]:

$$U = (LIC \times V_{\text{Leber}} + SIC \times V_{\text{Milz}}) / 0,8.$$

Die effektive Chelator-Dosis-Rate, K_{ch} , in (mMol/Tag) wird aus der Tagesdosis des Chelators (mg/kg), der Compliance (=Chelator-Tage pro Woche/7) und dem wirksamen Molgewicht M_w des Chelators (DFO:Fe = 1 : 1-Komplex, $M_w = 564$; DFP : Fe = 3 : 1-Komplex, $M_w = 139 \times 3 = 417$): $K_{ch} = \text{Tagesdosis} \times \text{Compliance} / M_w$ bewertet.

Aus K_{ch} und dem Ganzkörperspeichereisen U wird die spezifische Chelator-Dosis-Rate, C_{ch} , bestimmt: $C_{ch} \text{ (mMol d}^{-1} \text{g}^{-1}) = K_{ch} / U$.

Ergebnisse und Diskussionen

Durch die Messung der magnetischen Suszeptibilität der Leber mit einem SQUID-Biosuszeptometer (SQUID = „superconducting quantum interference device“) kann die Leber-Eisen-Konzentration in vivo und nichtinvasiv am Patienten gemessen werden. Eine Kalibrierung mittels Leberbiopsien von entsprechenden eisenüberladenen Patienten ist vom Prinzip her nicht notwendig, bestätigt aber die Richtigkeit der magnetischen Biospie. Eine frühere Studie zeigte eine gute Korrelation zwischen invasiver (Biopsie-Fe) und nichtinvasiver (SQUID-Fe) Lebereisenquantifizierung an 33 Patienten mit Eisenüberladung [11].

In Tab. 2 werden die Ergebnisse der Biomagnetischen Leber-Suszeptometrie an 60 gesunden Probanden gezeigt. Die gefundenen Lebereisenkonzentrationen stimmen mit Literaturwerten, die mit Leberbiopsien ermittelt wurden, gut überein [2]. In Abb. 1 wird der Bereich der gemessenen LIC-Werte (Min – Max, $n = 2073$) für die Hauptdiagnose-Gruppen der Patienten mit Transfusions-Siderose zusammen mit dem Median-Wert und den 25%- bzw. 75%-Perzentilen dargestellt.

Bei den Thalassämien weisen, abgesehen von den Patienten mit β -Thalassämie major, besonders die Sichelzellenthalassämien hohe LIC-Werte auf. Bei den Anämien verdienen die aplastischen und hämolytischen Anämien besondere Beachtung, aber auch Patienten mit Blackfan-Diamond-Anämie und MDS. Besonders bei MDS-Patienten steht in der momentanen klinischen Praxis

Tab. 2 Medianwerte der Leber-Eisen-Konzentration (LIC) in Normalpersonen und in Patienten mit Eisenmangel.

| Alter (Jahre) | n | LIC ($\mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$) | 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 |

die Behandlung der Eisenüberladung nicht im Vordergrund, so dass eine Chelator-Therapie oft sehr spät erfolgt.

β -Thalassämie major

Die Ferritin-Konzentration im Serum erlaubt weder interindividuell noch intraindividuell eine quantitative Bestimmung der Eisenspeicher ($R^2 = 0,48$). Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen fand sich eine reziproke Korrelation der Herzfunktion mit der LIC. In 11 Kindern mit Thalassämia major (1,9 – 6,3 y) konnten die Eisenspeicher als Funktion des transfundierten Eisens vor Beginn einer Chelator-Behandlung bestimmt werden ($R^2 = 0,94$). Aus der empfohlenen $LIC \leq 2120 \mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$ leitet sich der Beginn einer Chelator-Behandlung bei 4 g transfundiertem Eisen ab (ca. 22 Erythrozytenkonzentrate).

β -Thalassämie intermedia

Das Serum-Ferritin/LIC-Verhältnis ist mit 0,66, ähnlich wie bei der hereditären Hämochromatose, relativ niedrig (zum Vergleich Thalassämia major: 1,13). Aus diesem Grund wird bei vielen Patienten der Grad der Eisenüberladung wahrscheinlich unterschätzt.

ex-Leukämie nach KMT

Bei 37% der Patienten wurde $LIC > 1000 \mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$ gefunden (Bereich: 50 – 4430), wobei sich die Frage einer Eisenentzugs-Behandlung stellt. Bei Patienten nach Knochenmark- bzw. Stamm-

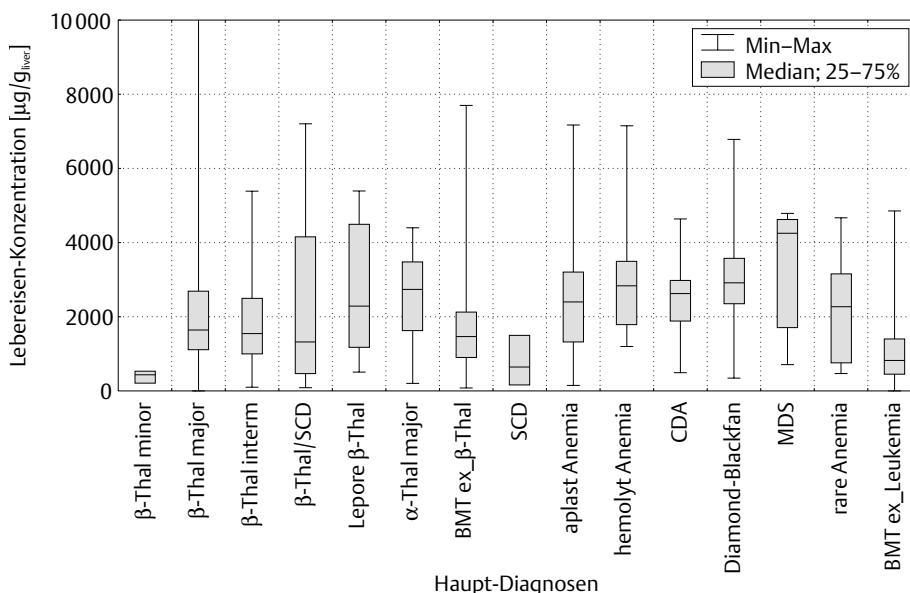


Abb. 1 Biomagnetisch in vivo bestimmte Leber-Eisen-Konzentration für die Hauptdiagnose-Gruppen bei Transfusions-Siderose. SCD, Sichelzellkrankheit; CDA, kongenitale dyserythropoetische Anämie; MDS, Myelodysplastisches Syndrom.

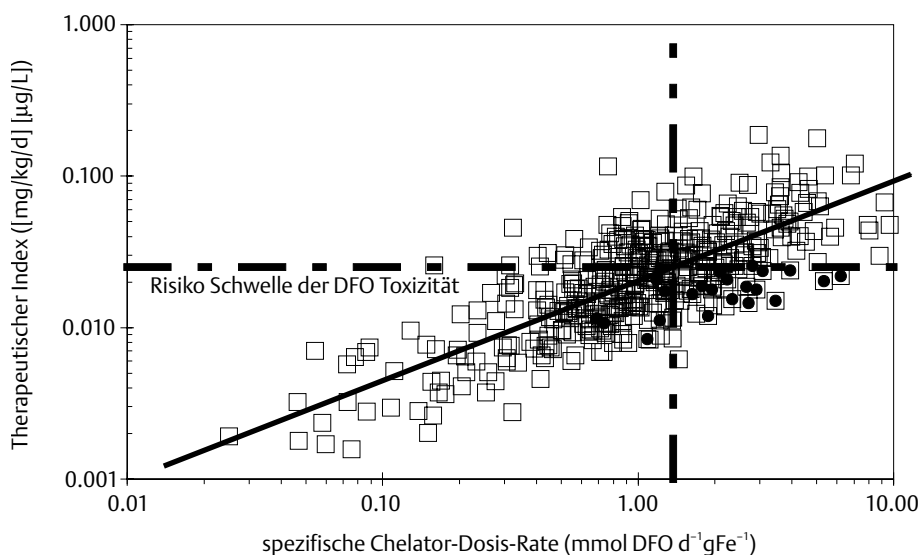


Abb. 2 Vergleich zwischen dem Therapeutischen Index (TI, und dem DFO-Index der spezifischen Chelator-Dosis-Rate in Patienten mit β -Thalassämie major ($R^2 = 0,61$, $n = 482$). Patienten mit $LIC < 1000 \mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$ und $SF/LIC > 2,0$ sind durch volle Kreise gekennzeichnet.

zellen-Transplantation erfolgt ein natürlicher Abbau der Eisenspeicher nur sehr langsam, da die biologische Halbwertszeit von Eisen ca. 5,4 Jahre beträgt. Angesichts der hohen Investitionskosten einer Transplantation sollten mögliche Sekundärschäden durch eine Eisenüberladung nicht riskiert werden und frühzeitig an eine Eisentzugs-Behandlung mittels Aderlasstherapie gedacht werden.

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. Aus dem Verhältnis der spezifischen Deferoxamin-Dosis (mg/kg/d) und dem Serum-Ferritin ($\mu\text{g/l}$) haben Porter et al. [14] den Therapeutischen Index, TI, abgeleitet, ($TI = [\text{Chelator-dosis in mg/kg} \times \text{Tag}] / [\text{Serum-Ferritin}]$) wobei sie für $TI > 0,025 (\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}) / (\mu\text{g l}^{-1})$ ein erhöhtes Risiko für eine durch DFO hervorgerufene Toxizität beobachtet haben. In dem von uns untersuchten Kollektiv der Patienten mit β -Thalassämie wurde dieser Therapeutische Index mit der Leber-Eisen-Konzentration verglichen [8]. Dabei zeigte sich, dass 11% der Patienten ($50\% < 18 \text{ y}$) mit $TI < 0,025 (\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}) / (\mu\text{g l}^{-1})$ und $LIC < 1000 \mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$ ein Verhältnis SF/LIC von 1,1 – 6,5 aufweisen. Bei diesen Patienten ist die DFO-Dosis nicht an die tatsächlichen Eisenspeicher angepasst. Als Konsequenz daraus haben wir den Therapeutischen Index an die neuen Möglichkeiten der SQUID-Biosuszeptometrie angepasst. Dieser DFO-Index ist durch die spezifische Chelator-Dosis-Rate C_{ch} definiert (siehe Methoden), wobei die Schwelle für ein erhöhtes DFO-Toxizitäts-Risiko von $TI = 0,025 (\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}) / (\mu\text{g l}^{-1})$ mit dem DFO-Index von $C_{\text{ch}} = 1,4 \text{ mmol d}^{-1} \text{ g}^{-1}$ korrespondiert (Abb. 2). Für eine endgültige Bewertung des DFO-Index steht allerdings noch eine eigene Risiko-Analyse aus.

Exemplarisch werden die Probleme einer nicht angepassten Chelator-Behandlung mit DFO an einem 17-jährigen Patienten (m, 152 cm, 41 kg) mit β -Thalassämie major sichtbar. Bei einem Ferritin-Wert von $829 \mu\text{g/l}$ und einer mittleren DFO-Dosis von 40 mg/kg/d wird ein TI von $0,048 (\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}) / (\mu\text{g l}^{-1})$ berechnet, wobei die Ferritin-Werte früher auch deutlich höher ausfi-

len. Die SQUID-Biosuszeptometrie zeigte mit $LIC = 203 \pm 76 \mu\text{g/g}_{\text{Leber}}$ jedoch normale Eisenkonzentrations-Werte, woraus sich mit einem Lebertypen von 1400 ml das Gesamtspeichereisen $U = 355 \text{ mg}$ errechnet. Damit ergibt sich der DFO-Index zu $C_{\text{ch}} = 8,2 \text{ mmol d}^{-1} \text{ g}^{-1}$, der weit über dem Risiko-Index von 1,4 liegt. Dazu passt ein linksseitiger Hörverlust.

Darüber hinaus zeigt eine Reihe weiterer Untersuchungen, z.B. zur Effektivität des oralen Chelators Deferipron, zur Initiierung einer Chelator-Therapie bei Blackfan Diamond oder zur Bestimmung der Eisenspeicher vor einer geplanten KMT, den hohen diagnostischen Nutzen der SQUID-Biosuszeptometrie in der Behandlung von hämatologischen Erkrankungen auf. Im Zuge der neuen und geplanten Biomagnetometer-Installationen in Turin [15], Oakland und Catania werden zukünftig eine höhere Anzahl von Patienten von dieser nicht invasiven Methode profitieren.

Literatur

- Balfour JA, Foster RH. Deferiprone. A review of its clinical potential in iron overload in β -thalassaemia major and other transfusion-dependent diseases. *Drugs* 1999; 59: 553 – 578
- Brittenham GM, Farrell DE, Harris JW, Feldman ES, Danish EH, Muir WA, Tripp JH, Bellon EM. Magnetic susceptibility measurement of human iron stores. *N Engl J Med* 1982; 307: 1671 – 1675
- 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
- Clark PR, St. Pierre TG. Quantitative mapping of transverse relaxivity ($1/T$) in hepatic iron overload: a single spin-echo imaging methodology. *Magn Reson Imaging* 2000; 18: 431 – 438
- Engelhardt R, Langkowski 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 hemochromatosis. *Magn Reson Imaging* 1994; 12: 999 – 1007
- Farrell DE, Tripp JH, Zanzucchi PE, Brittenham GE, Muir WA. Magnetic measurements of human iron stores. *IEEE Trans Magn MAG* 1980; 16: 818 – 823
- 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: Hoke M, Erné SN, Okada YC, Romani GL (eds). *Biomagnetism: Clinical Aspects*. Amsterdam: Elsevier, 1992: 585 – 588

- ⁸ Fischer R, Tiemann C, Engelhardt R, Nielsen P, Dürken M, Gabbe EE, Janka GE. Assessment of iron stones in children with transfusion siderosis by biomagnetic liver susceptometry. *Am J Hematol* 1999; 60: 289–299
- ⁹ Fischer R. SQUID biomagnetic liver susceptometry in the adjustment of chelation treatment. *SO.S.T.E. Notizario* 2001; 2 (1): 50–54
- ¹⁰ Kaltwasser JP, Gottschalk R, Schalk KP, Hartl W. Non-invasive quantification of liver iron-overload by magnetic resonance imaging. *Br J Haematol* 1990; 74: 360–363
- ¹¹ Nielsen P, Fischer R, Engelhardt R, Dresow B, Gabbe EE. Neue Möglichkeiten in der Diagnose der hereditären Hämochromatose. *Dtsch Arztebl* 1998; 95:A: 2912–2921
- ¹² Nielsen P, Engelhardt R, Dürken M, Janka GE, Fischer R. Using SQUID biomagnetic liver susceptometry in the treatment of thalassemia. *Trans Sci* 2000; 23: 257–258
- ¹³ Paulson DN, Fagaly RL, Toussaint RM, Fischer R. Biomagnetic susceptometer with SQUID instrumentation. *IEEE Trans Magn* 1991; 27: 3249–3252
- ¹⁴ Porter JB, Jaswon MS, Huehns ER. Desferrioxamine ototoxicity: evaluation of risk factors in thalassaemic patients and guidelines for safe dosage. *Br J Haematol* 1989; 73: 403–409
- ¹⁵ Starr TN, Fischer R, Ewing T, Longo F, Engelhardt R, Trevisiol E, Fragaly RL, Paulson J, Piga A. A new generation SQUID biosusceptometer. In: Nenonen J, Ilmoniemi RJ, Katila T (eds). *Biomag 2000: Proceedings 12th Int Conf Biomagnetism*. Helsinki: University of Technology, 2001: 986–989