

Eisenquantifizierung mittels MRT bei Eisenüberladung

Iron Quantification in Iron Overload Disease Using MRI

Autoren

B. P. Schönengel¹, R. Fischer², P. Nielsen³, R. Grosse², G. Adam¹, J. Yamamura¹

Institute

¹ Klinik und Poliklinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg
² Klinik und Poliklinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg
³ Institut für Biochemie und Molekulare Zellbiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg

Key words

- ◉ MR-functional imaging
- ◉ iron overload
- ◉ iron quantification
- ◉ relaxometry

Zusammenfassung

▼
 Eisen ist als essenzielles Spurenelement in viele Stoffwechselaktivitäten involviert. Wie wichtig eine optimale Eisenversorgung ist zeigt, dass nach WHO Angaben ca. 30% der Weltbevölkerung an einer eisenmangelbedingten Anämie leidet. Dagegen ist die hereditäre Hämochromatose die häufigste monogen vererbte Erkrankung (Prävalenz homozygoter Merkmalsträger in Deutschland 1:200–300). Während die Diagnostik und Therapie einer Eisenmangelanämie einem relativ einfachen Prozedere unterliegen, stellen die Diagnose und insbesondere die Quantifizierung der Organeisenüberladung eine ungleich schwerere Herausforderung dar. Dies ist von großer klinischer Bedeutung, da die Gesamtkonzentration des Körper- bzw. Organeisens der ausschlaggebende Parameter für die Prognose bei Eisenüberladungen ist. So wurde 2001 auf dem Internationalen Workshop des NIDDK (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases) dokumentiert, dass ein klarer klinischer Nutzen für die nicht invasive, quantitative, sichere und akkurate Bestimmung des Körpereisengehalts zur Verbesserung der Diagnose und Therapie bei Eisenüberladungskrankheiten besteht.

Abstract

▼
 Iron as an essential nutrient is involved in multiple metabolic activities. The importance of a sufficient iron supply is stressed by the fact that, according to WHO data, about 30% of the global population suffers from iron deficiency and resulting anemia. In contrast, hereditary hemochromatosis is the most common monogenic inherited disease (prevalence of homozygous genotype 1:200–300 in Germany). While iron-induced anemia can be handled by relatively simple diagnostic and therapeutic management, the diagnosis and quantification of organ iron overload is far more challenging. This is of great clinical impact, as the overall body and organ iron concentration is the crucial prognostic parameter in iron overload disease. In 2001 the international workshop of NIDDK (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases) concluded that a quantitative, noninvasive, safe, and accurate approach for the assessment of body iron storage is needed to improve the diagnosis and management of patients with iron overload.

eingereicht 20.8.2012
akzeptiert 17.1.2013

Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1330721>
 Online-Publikation: 28.2.2013
 Fortschr Röntgenstr 2013; 185: 621–627 © Georg Thieme
 Verlag KG Stuttgart · New York ·
 ISSN 1438-9029

Korrespondenzadresse

Herr Dr. Björn P. Schönengel
 Klinik und Poliklinik für
 Diagnostische und
 Interventionelle Radiologie,
 Universitätsklinikum Hamburg-
 Eppendorf
 Martinistr. 52
 20246 Hamburg
 Tel.: ++49/1 52/22 81 72 70
 Fax: ++49/40/7 41 05 38 02
 b.schoennengel@uke.de

Physiologie des Eisenstoffwechsels

▼
 Die Eisenhomöostase ist ein sehr komplexes System (◉ **Abb. 1**), welches den durchschnittlichen Gesamtkörpereisengehalt von 3–5 g über die intestinale Absorption reguliert [1]. Zentraler Regulator der intestinalen Eisenabsorption ist das Protein Hepcidin. Dieses bewirkt eine reduzierte intestinale Eisenaufnahme, wodurch die Absorption auf den jeweiligen Körpereisenbestand angepasst wird [2].

Nach Absorption in die Dünndarm-Enterozyten erfolgen die Oxidierung des zweiwertigen Eisens und der proteingebundene Transport im Blut via Transferrin. Ferritin und Hämosiderin stellen die intrazellulären Speicherformen des Eisens, welche ca. 20% des Gesamtkörpereisens ausmachen, dar; das übrige Eisen liegt hauptsächlich in Form von Hämoglobin/Myoglobin, zum kleineren Teil auch enzymgebunden vor. Diese Speicherformen sind essenziell, da sie die Zellen vor der toxischen, ionisierten Form des Eisens schützen.

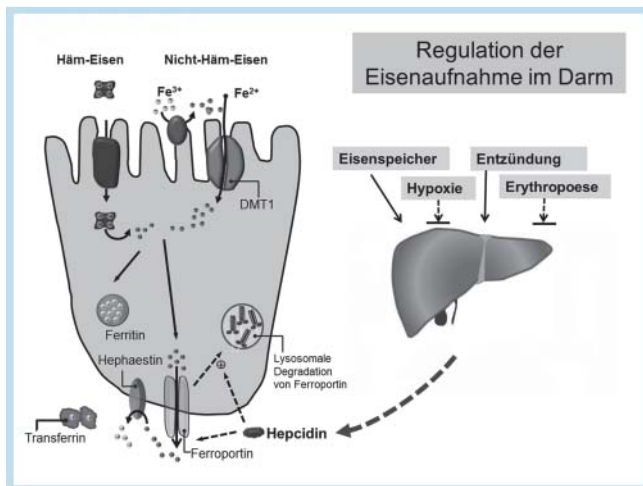


Abb. 1 Eisen wird aktiv vorwiegend als zweiwertiges Eisen (via DMT1) bzw. direkt als Häm-Eisen in der Darmzelle absorbiert und kann als Ferritin-Eisen gespeichert werden oder bei Bedarf an Eisen über Ferroportin ins Blut ausgeschleust werden. Die membrangebundene Ferrooxidase Hephaestin wandelt das zweiwertige Eisen (Fe^{2+}) in dreiwertiges Eisen (Fe^{3+}) um. An Transferrin gebunden kann es zu Zellen mit hohem Eisenbedarf transportiert werden. Die Eisenhomöostase wird wesentlich durch das in der Leber gebildete Hormon Hepcidin reguliert (bei Eisenmangel und hereditärer Hämochromatose erniedrigt), indem es den Eisenexporter Ferroportin mehr oder weniger blockiert.

Pathophysiologie der Eisenüberladung

Eisen kann nicht aktiv ausgeschieden werden. Bei einer länger andauernden positiven Eisenbilanz kommt es daher zu einer exzessiven Eisenspeicherung; zunächst vorwiegend in der Leber und später auch in anderen Organen. Bei einer hereditären Hämochromatose (Typ 1–3) sind anfangs vor allem die Hepatozyten betroffen, bei einer transfusionsbedingten Hämosiderose kommt es dagegen zu einer Eisenakkumulation primär in den Kupferschen Zellen. Durch Herunterregeln der Transferrinsynthese in der Leber bei Eisenüberladung kommt es relativ rasch zur Bildung von „Nicht-Transferrin-gebundenem Eisen“ im Blut (NTBI, non-transferrin bound iron). Diese Eisenfraktion wird unreguliert in Zellen aufgenommen und ist an der Bildung von freien Radikalen beteiligt (Haber-Weiss-Reaktion), die zu einer Zellschädigung führen [3].

Formen der Eisenüberladung

Die systemische Eisenüberladung wird unterteilt in die primäre (hereditäre) Siderose und in die sekundäre (erworbene) Siderose, die sich durch den Pathomechanismus der Eisenüberladung unterscheiden [4].

Primäre Eisenüberladung – Hereditäre Hämochromatose (HHC)

Die hereditäre Hämochromatose (HHC) ist die häufigste autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung der Bevölkerung nordeuropäischen Ursprungs und durch eine überhöhte Eisenabsorption charakterisiert. Der klassische Gendefekt (80% d. Fälle) führt zur Mutation des HFE1-Gens auf Chromosom 6 und einer Hemmung der Hepcidinexpression mit der Folge übermäßiger Eisenabsorption [5].

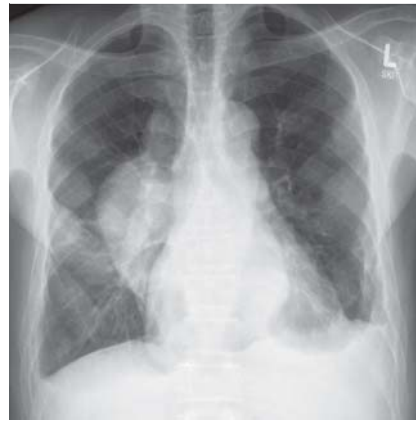


Abb. 2 Röntgen-Thorax Aufnahme eines 52-jährigen Thalassämia-intermedia-Patienten mit inadäquater Bluttransfusion ($\text{Hb} = 8,8 \text{ g/dl}$). Paravertebrale Weichteilmassen im Rahmen einer extramedullären Hämatopoese.

Tab. 1 Formen der sekundären Hämosiderose.

Anämien mit und ohne Transfusion	andere
Thalassämie	nutritive Eisenüberladung
kongenitale dyserythropoetische Anämie	intravenöse Eisentherapie
sideroblastische Anämie	chronische Lebererkrankung
aplastische Anämie	African iron overload
Diamond-Blackfan-Anämie	
myelodysplastisches Syndrom	
Sichelzellanämie	

Die Leber ist dabei von zentraler Bedeutung. Die Lebereisenkonzentration erlaubt Rückschlüsse auf die individuelle Eisenspeicherung [6]. Typische Symptome bei HHC sind die Ausbildung einer Leberzirrhose und endokrine Funktionsstörungen (Diabetes, Hypogonadismus) durch Eisenüberladung der jeweiligen Organe [7, 8]. Die erschöpfende Aderlasstherapie stellt die (symptomatische) Therapie der Wahl dar.

Sekundäre Eisenüberladung

Die sekundären Siderosen sind eine heterogene Gruppe meist genetisch bedingter Erkrankungen des erythropoetischen Systems, wobei die Thalassämie-Syndrome die häufigste Ursache einer Eisenüberladung sind (► Tab. 1).

Diese insbesondere in Äquatornähe auftretende Erkrankung wird aufgrund von Migrationsbewegungen auch in Deutschland an Bedeutung gewinnen [9].

Kennzeichnend für die sekundären Siderosen ist die fortschreitende Eisenüberladung verschiedener Organe, die durch chronische Bluttransfusionen oder eine überhöhte Eisenabsorption bei ineffektiver Blutbildung induziert wird (sog. iron-loading anaemias).

Typisch für bestimmte Thalassämieformen ist die kompensatorisch gesteigerte extramedulläre Hämatopoese mit Ausbildung paravertebral lokalisierter Weichteiltumoren (► Abb. 2).

Die Organbeteiligung bei sekundären Siderosen ist prinzipiell nicht spezifisch. Das typischerweise von einer Eisenüberladung betroffene Organ ist die Leber. Von größter klinischer Bedeutung ist jedoch die Myokardsiderose mit Entwicklung einer Kardiomyopathie und Herzinsuffizienz, die die Haupttodesursachen polytransfundierter Patienten sind [10]. Weitere eiseninduzierte Organschädigungen betreffen das endokrine System und das Knochenmark.

Durch Einführung der Transfusionstherapie zur Behandlung der oft kritischen Anämie konnte die Lebenserwartung von Patienten wesentlich angehoben werden. Im Gegenzug werden aber mit jeder Transfusion erhebliche Mengen Eisen zugeführt. Dieser Komplikation lässt sich mithilfe von Eisen-Chelatoren entgegenwirken, die sowohl freies als auch Speichereisen zu entfernen vermögen.

Quantitative Diagnostik der Eisenüberladung

Die Ganzkörper- bzw. die Lebereisenkonzentration (LIC) ist ein wichtiger Parameter, welcher die Prognose bei Patienten mit Eisenüberladung bestimmt [1]. Es ist daher nicht die alleinige Diagnose einer systemischen Eisenüberladung von Bedeutung. Vielmehr stellt die exakte Quantifizierung der Organeisenkonzentration die entscheidende Größe dar, weil sich die Dosierung der Eisen-Chelator-Therapie an der Gewebeeisenkonzentration orientiert. Andererseits wird durch die Eisenquantifizierung gleichzeitig eine Überdosierung des mit z.T. schwerwiegenden Nebenwirkungen (Agranulozytose, akutes Nierenversagen) behafteten Medikaments vermieden.

Unterschieden wird grundsätzlich zwischen einer indirekten (Blutparameter) und einer direkten (Biopsie, Suszeptometrie, MRT) Quantifizierung der Eisenspeicher.

Blutparameter

Das Serum-Ferritin (SF) erlaubt es, die Größe der zellulären Eisenspeicher abzuschätzen. Das Verhältnis von SF und Eisenspeichern ist jedoch nicht konstant, sondern hängt von der zugrunde liegenden Erkrankung ab und kann z.B. durch Infektionen verfälscht werden [11, 12]. Die Transferrin-Sättigung zeigt empfindlich das Bestehen einer systemischen Eisenüberladung an und ist ein Screeningparameter für HHC, aber kein quantitatives Maß für eine Eisenüberladung [13].

Invasive Eisenquantifizierung mittels Biopsie

Die Zuverlässigkeit der invasiven Leberbiopsie als eisenspezifische Referenzmethode zur Kalibrierung von In-vivo-Eisenkonzentrationen mittels nicht invasiver Techniken bleibt eine Kontroverse, da z.B. unterschiedliche Aufarbeitungstechniken (Paraffin-Block, Trocknungsmethoden) eine Varianz aufweisen [14]. Eine wichtige Limitation ist die inhomogene Verteilung des Lebereisens mit deutlichen intraindividuellen Abweichungen von bis zu 30% zwischen benachbarten Proben [14]. Zudem sind Schmerzen (häufig) und Komplikationen wie Blutungen oder Organverletzungen (selbst nach CT-gesteuerter Biopsie) möglich [15], und jährlich wiederkehrende Biopsien i.R. eines Monitorings sind den Patienten nicht zuzumuten.

Die biopsische Gewebsgewinnung anderer relevanter Organe (z. B. Herz, Pankreas, Hypophyse) ist nur bedingt oder gar nicht möglich.

Nicht invasive Eisenquantifizierung mittels magnetischer Methoden

Die direkte, aber eisenunspezifische Quantifizierung mittels magnetischer Methoden beruht auf den paramagnetischen bzw. superparamagnetischen Eigenschaften der Speichereisenkomplexe Ferritin und Hämosiderin. Parallel zur Richtung eines externen Magnetfelds werden dabei die ungepaarten Elektronenspins der Eisen-Atome (Fe^{3+}) bzw. -Moleküle ausgerichtet, was zu einer Magnetisierung des umgebenden Gewebes, und damit

zu lokalen Magnetfeld-Inhomogenitäten führt. Dieser gewebe-spezifische Elektronen-Magnetismus wird durch die magnetische Suszeptibilität (χ) charakterisiert, die proportional zur Eisenkonzentration ist (Suszeptibilität = spezifische Suszeptibilität \times Dichte). Magnetische Eigenschaften können nur dynamisch erfasst werden; entweder direkt als magnetische Suszeptibilität durch Änderung der Magnetisierung eines Objekts (z.B. durch Bewegung in einem inhomogenen Magnetfeld) oder indirekt durch die Wechselwirkung der Magnetfeld-Inhomogenitäten mit benachbarten Protonenspins. Ersteres wird bei der Methode der biomagnetischen (Leber-)Suszeptometrie ([SQUID]-BLS) ausgenutzt [13]. Letzteres kommt z.B. bei der Bestimmung der transversalen Relaxationsrate (R_2 oder R_2^*) mittels MRT zum Einsatz. Um in einem Messvolumen vom Detektor-Signal zur Eisenkonzentration ($[\text{Fe}]$) zu gelangen, muss das Ansprechvermögen der Detektorspule (in Form eines magnetischen Flussintegrals) sowohl für die BLS als auch für die MRT berechnet werden. Unter Annahme einiger Näherungen kann das magnetische Flussintegral für die BLS analytisch gelöst werden und aus der Suszeptibilität χ die Eisenkonzentration, $[\text{Fe}] = \chi / \xi_{\text{Fe}}$, mittels der bekannten spezifischen magnetischen Volumensuszeptibilität des Ferritin/Hämosiderin-Eisenkomplexes ξ_{Fe} (1600×10^{-6} , Zahlenwert für SI-Einheiten) [16] bestimmt werden. Für die MRT, insbesondere für die Relaxometrie, muss die Lösung des Integrals durch eine Kalibrierung mittels chemischer Eisenbestimmung in Biopsieproben ersetzt werden. Eine invasive Eisenbestimmung zur Kalibrierung einer neuen, nicht invasiven Methode lässt sich angesichts der Verfügbarkeit von etablierten Eisenquantifizierungsmethoden nur noch sehr eingeschränkt rechtfertigen. An einigen Zentren kann die Kalibrierung mittels Biopsie durch die In-vivo-BLS ersetzt werden, wobei ein Vergleich mit der In-vitro-LIC bezogen auf das Trockengewicht nicht trivial ist [17]. Eine der BLS verwandte Methode stellt die Suszeptometrie mittels MRT dar, bei der neben der Signalintensität auch die komplementäre Phase bestimmt wird. Unter bestimmten Bedingungen (benachbarte Gewebekompartimente mit einer unbekanntenen Suszeptibilität χ und einer Referenzsuszeptibilität χ_0) lässt sich aus der Phasendifferenz $\Delta\phi$ über eine Grenzfläche hinweg die magnetische Suszeptibilitätsdifferenz $\Delta\chi = \chi - \chi_0$, und damit die Eisenkonzentration, direkt bestimmen [18, 19].

Das Potenzial der MRT zur Detektion einer erhöhten Lebereisenkonzentration wurde bereits 1983 durch Stark und Mitarbeiter beschrieben [20], dennoch ist die routinemäßige Anwendung erst durch technische Entwicklungen (schnelle Gradientenfelder, kurze Echozeiten) in jüngerer Zeit adäquat möglich. Entscheidende Vorteile sind die fehlende Invasivität der Messmethoden, die 3-dimensionale Lokalisation von Geweben und die gute Verfügbarkeit in den entwickelten Industrienationen [21]. Zusätzlich birgt die MRT das Potenzial, zumindest indirekt den Eisengehalt aller Organe und Gewebe des Körpers zu erfassen [22].

Relaxometrie

Die von den Speichereisenmolekülen verursachten Magnetfeld-Inhomogenitäten haben eine Dephasierung der in der Nähe befindlichen Protonenspins zur Folge. Dies führt bei der Spin-Echo (SE)- bzw. Gradienten-Echo-Methode (GRE) zu einer beschleunigten transversalen Relaxation (R_2 und R_2^*) mit Signalintensitäten (SI), die als Funktion der Echozeit (TE) abnehmen. Bei der SE-Methode werden durch einen 90° -HF-Anregungspuls die Spins in die transversale Ebene gekippt. Anschließend (nach $\text{TE}/2$) werden die inzwischen dephasierten Spins durch einen 180° -Rephasierungspuls zu einem Echo bei TE refokussiert, des-

	SIR	SE (R2)	GRE (R2*)
Aquisitionszeit	kurz (< 20 s)	lang (~ 20 min)	kurz (< 20 s)
Suszeptibilitätsartefakte	gering	gering	vermehrt
max. LIC – Messbereich (mg/g Trockenmasse)	5,7/20,9 ¹ [37]	42,7 [33]	32,9 [34]
Bestimmtheitsmaß r ²	0,85 / 0,76	0,96	0,94
Breath-hold-Technik	ja	nein	ja
Anwendungs-Limitation	Myokard	Myokard	
Verfügbarkeit	kostenloses Auswertetool	kommerziell (Ferriscan®)	kein standardisiertes Tool, aber kommerzielle Software

¹ Angewendet wurden eine stark T2-gewichtete (erstgenannt) und eine T1-gewichtete (letztgenannt) Sequenz.

Tab. 2 Vergleich der MR-Relaxometrie mittels SIR-, SE- und GRE-Methoden: Lebereisenkonzentration (LIC).

sen Signalintensität jedoch durch irreversible Spin-Spin-Wechselwirkungen vermindert ist. Nachteilig sind die Atem- und Bewegungsartefakte aufgrund längerer Aquisitionszeiten, insbesondere bei längeren Repetitionszeiten (TR) zur Vermeidung von direkten T1-Effekten.

Demgegenüber werden bei Gradienten-Echos durch den Frequenzkodiergradienten die transversalen Spins zunächst schnell dephasiert und dann durch die Umkehrung der Gradientenrichtung wieder rephasiert, sodass bei TE ein Gradienten-Echo entsteht. Diese Methode ist durch einen HF-Anregungspuls mit typischerweise kleineren Flipwinkel (10–30°) gekennzeichnet. Daraus resultiert eine schnellere Verfügbarkeit von longitudinaler Magnetisierung für die nächste Anregung, was kürzere Repetitionszeiten erlaubt. Gleichzeitig sind sehr kurze Echozeiten möglich.

Damit ist die Methode weniger anfällig für Atem- und Bewegungsartefakte, was insbesondere bei der myokardialen Eisenbestimmung von Bedeutung ist [23]. Hinzu kommt, dass bei höheren Eisenkonzentrationen die Länge der ersten Echozeit essenziell ist, da eine Eisenüberladung sonst systematisch unterschätzt wird [24, 25].

Neben der dephasierenden, intrinsischen (HF-irreversiblen) Spin-Spin-Wechselwirkung (R2) kommen noch dephasierende, extrinsische (HF-reversible) Effekte durch lokale Magnetfeld-Inhomogenitäten (ΔB) hinzu, sodass die transversale Magnetisierung schneller zerfällt ($T2^*$) [26] (siehe Gleichung 1).

$$(1) R2^* = R2 + \gamma \Delta B = R2 + R2' \text{ (transversale Relaxationsrate } R2^*)$$

Die GRE-Methode wird von der extrinsischen Komponente $R2'$ dominiert, was die Sensitivität der Methode für die Eisenquantifizierung erhöht, sie aber andererseits empfindlich gegenüber Suszeptibilitätsartefakten, z. B. nahe von Luft/Gewebe-Grenzen, macht [21]. In erster Näherung sind die Relaxationsraten $R2$ ($= 1/T2$) und $R2^*$ ($= 1/T2^*$) proportional zur Eisenkonzentration [24, 27]. Darüber hinaus scheint es systematische Unterschiede zwischen $R2$ (sensitiv auf Ferritin-Eisen) und $R2^*$ (sensitiv auf Hämosiderin-Eisen) zu geben [28].

Die einfachste Möglichkeit der Eisenquantifizierung i. R. der Relaxometrie ist der Vergleich von Signalintensitäten in $T2^*$ -gewichteten GRE-Sequenzen (signal intensity ratio, SIR) von Leber und einem Referenz-Gewebe (z. B. Muskel). Die SIR-Methode ist bei relativ langen Echozeiten äußerst sensitiv und gilt als valide Methode zur Abschätzung des Lebereisengehalts. Zudem wird diese Methode in Form von MRT-Sequenzen und Auswertalgorithmen durch die Universität Rennes kostenlos zur Verfügung gestellt [29]. Bei schwerer Eisenüberladung ist diese Methode nur eingeschränkt anwendbar und scheint zudem den Lebereisengehalt im Vergleich zu $R2$ -Bestimmung mittels SE-Sequenzen zu überschätzen

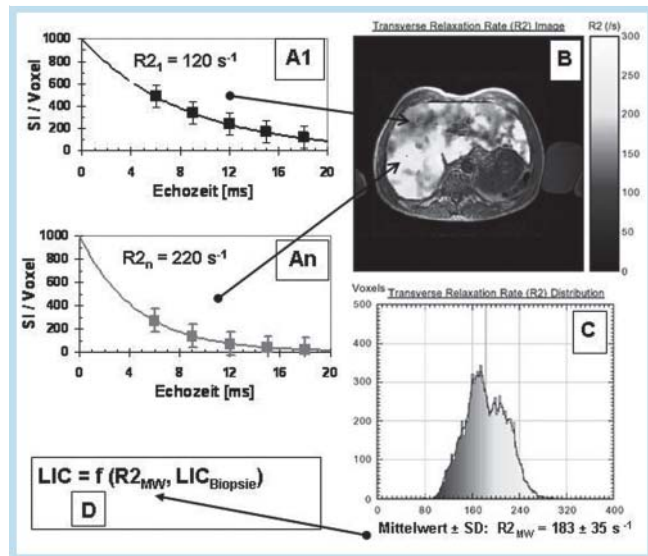


Abb. 3 Bestimmung der transversalen Relaxationsrate $R2$ in einer Leberschicht eines Thalassämie-Patienten (29) (Ferriscan®), wobei $R2$ pro Volumenelement und somit die Eisenverteilung von 6,0–30,5 mg/g Trockenmasse (TM) (hell: $92 \text{ s}^{-1} \leq R2 \leq$ dunkel: 280 s^{-1}) variiert. Die exponentielle Modell-Funktion (Gleichung 2) wird an die gemittelten Signalintensitäten (SI) pro Voxel (Volumen ca. 125 mm^3) in Abhängigkeit von den Echozeiten ($TE = 6, 9, 12, 15, 18 \text{ ms}$) angepasst ($R2$ -Relaxationskurven **A1** bis **An** für n Voxel). Daraus wird dann für eine repräsentative Leberschicht das $R2$ -Bild berechnet **B**. Aus dem Mittelwert aller $R2$ -Raten (**C** $R2$ -Histogramm) wird mittels nicht-linearer empirischer Kalibrierkurve (**D** $f[R2, LIC_{BIOPSIE}]$), die aus gefriergetrockneten Leberbiopsien von 105 Patienten mit Thalassämie, hereditärer Hämochromatose und von HCV-infizierten Patienten erstellt worden ist [33], die mittlere Lebereisenkonzentration zu $18,6 \text{ mg/g TM}$ berechnet.

zen [30] (Tab. 2). Das Problem der MRT-Geräte abhängigen Messvariabilitäten könnte dagegen durch Phantomkalibrierungen gelöst werden, um standardisierte Resultate zu gewährleisten [31]. Eine exaktere Möglichkeit der Eisenquantifizierung ist die Bestimmung der Relaxationsraten $R2$ oder $R2^*$ mittels einer Anpassung (Fit) der Gleichung 2 an die gemessenen Echozeit-abhängigen Signalintensitäten (Abb. 3). Darin muss neben $R2$ oder $R2^*$ auch die Signalamplitude $SI_0 = SI(T_E = 0, TR, T1)$ und der asymptotische Signal-Offset $SI_\infty = S(T_E \rightarrow \infty)$ bestimmt werden.

$$(2) SI(T_E) = SI_0 \cdot \text{EXP}(-T_E \cdot R2) + SI_\infty \text{ (transversale Relaxation)}$$

Diese Methode der Relaxometrie ($R2$ - oder $R2^*$ -Bestimmung) stellt z. Zt. die am weitesten verbreitete Methode der Eisenquantifizierung dar, wobei es Unterschiede im Fit-Algorithmus, in der

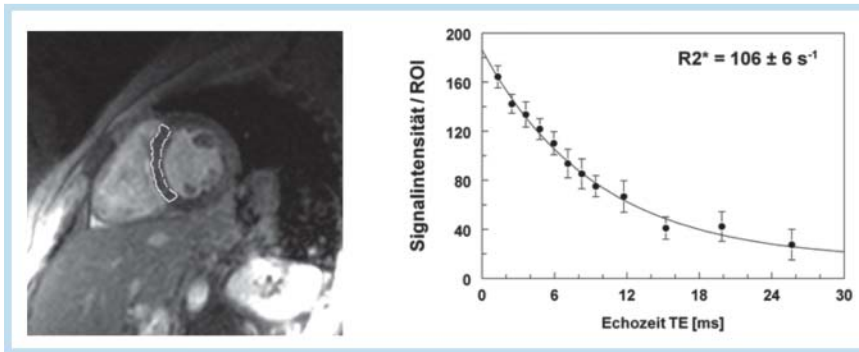


Abb. 4 Kurz-Achsen-Schicht (TE = 8,3 ms) einer EKG getriggerten $R2^*$ -Sequenz bei einem Thalassämie-Patienten (33 J) (single breath-hold multi-echo method, 1,5 T). Mittels Setzen einer Region of Interest (ROI) im myokardialen Septum wird die mittlere Signalintensität \pm SD pro Echo ermittelt. Der anschließende Exponential-Fit analog Gleichung 2 liefert eine erhöhte kardiale Relaxationsrate $R2^* = 106 \text{ s}^{-1}$ ($T2^* = 9,4 \text{ ms}$). Die Lebereisen-Konzentration bei diesem Patienten ist vergleichsweise niedrig (LIC (BLS) = $900 \pm 105 \mu\text{g/g}$ Leber).

Signal-Offset-Subtraktion und in der Selektion der Signal-Auswertefenster (ROI, Voxel, Pixel) gibt [21].

Erste Validierungen der MR-Relaxometrie durch Vergleich der Geweberelaxation mit den bioptisch bestimmten Lebereisenkonzentrationen erfolgten bereits Anfang der 90er-Jahre [24, 29, 32] und wurden durch aktuellere Studien bestätigt [23, 33, 34]. Insbesondere die kommerziell angebotene $R2$ -Bestimmung (Ferriscan®) von St. Pierre et al. fand große Verbreitung und erhielt eine Zulassung durch die FDA (Food and Drug Administration) zur Lebereisenquantifizierung (Abb. 3).

Klinische Anwendungsgebiete der Relaxometriemethode



Quantifizierung von Lebereisen

Bei Patienten mit sekundärer Siderose befinden sich 70 – 90 % der Gesamtkörper-Eisenspeicher (Ferritin- und Hämosiderin-Eisen) intrahepatisch, weshalb die Lebereisenkonzentration gut den Gesamtkörper-Eisenbestand reflektiert [35]. Die Möglichkeit der MRT zur Bestimmung der Lebereisenkonzentration (LIC) wurde in den letzten 20 Jahren bei Patienten mit sekundärer Siderose evaluiert [34] und hat sich aufgrund ihrer Präzision als Verfahren der Wahl zur Eisenquantifizierung etabliert. Als nicht invasive Methode der Eisenkonzentrationsbestimmung ermöglicht sie das Therapie-Monitoring und -Management von Patienten mit Hämoglobinopathien [36]. Ein Vergleich von $R2$ - und $R2^*$ -Methoden zur Bestimmung der LIC offenbarte eine vergleichbare Präzision der beiden Messverfahren, so dass beide als exakte Methoden zur Bestimmung der LIC im relevanten Bereich der Eisenkonzentrationen anzusehen sind [34].

Nur wenige Studien liegen zur hepatischen Eisenquantifizierung mittels MRT bei HHC vor, die aber ebenfalls über eine starke Korrelation von Relaxometrie-Messung ($R2$ -Bestimmung) und bioptisch bestimmter LIC berichten [32, 33]. Eine exakte Eisenquantifizierung auch bei milden Eisenüberladungen gelingt dabei nachweislich auch mit der SIR-Methode und wird an einzelnen Zentren praktiziert [37].

Die direkte Methode der Suszeptibilitätsbestimmung mittels MRT aus der Phasendifferenz $\Delta\chi$ ($\Delta\phi$) über der rechten abdominalen Muskel/Leber-Grenzschicht korreliert hochsignifikant mit der $R2^*$ -Methode. Darüber hinaus liefert der Vergleich dieser Methoden einen Konversionsfaktor zwischen in vitro ($R2^*$) und in vivo ($\Delta\chi$) basierter LIC von ca. 9 mg/g Trockengewicht pro mg/g In-vivo-Leber, da $R2^*$ mittels LIC von hitzetrockneten Leberbiopsien kalibriert wurde [18].

Der Vollständigkeit halber ist zu erwähnen, dass eine nähere Charakterisierung des Lebergewebes grundsätzlich auch mittels Computertomografie möglich erscheint [38, 39].

Quantifizierung von Herzeisen

Im Unterschied zu den Methoden der MR-Relaxometrie speziell der Leber erfordert die myokardiale Relaxometrie schnelle EKG getriggerte multi-GRE $R2^*$ -Methoden, die robust gegenüber Bewegungs- und Atem-Artefakten sind. Aufgrund von Suszeptibilitätsartefakten von benachbarten Gewebegrenzschichten (Lunge, Leber) sollte die Signalintensitätsbestimmung im Septum erfolgen [40] (Abb. 4).

Normalwerte für die myokardiale Relaxationsrate werden mit $R2^* < 50 \text{ s}^{-1}$ bzw. $T2^* > 20 \text{ ms}$ angegeben; Patienten mit $R2^* > 100 \text{ s}^{-1}$ ($T2^* < 10 \text{ ms}$) haben ein signifikant erhöhtes Risiko einer kardialen Dekompensation und verlangen eine intensiviertere Chelatortherapie [41].

Insbesondere bei der sekundären Siderose ist auch das Myokard von einer Eisenüberladung betroffen. Dies ist von großer klinischer Relevanz, da 60 % aller Todesfälle von Thalassämie-Patienten durch eine eiseninduzierte Kardiomyopathie mit Herzinsuffizienz bedingt sind [42]. Erhöhte Herzeisen-Konzentrationen sind der früheste Indikator einer sich entwickelnden Kardiomyopathie, noch bevor klinische Symptome auftreten oder die Herzfunktion beeinträchtigt ist [23]. Demgegenüber spielt die Herzerkrankung als Todesursache bei der HHC nur eine untergeordnete Rolle.

Bei sekundärer Siderose kann die Effektivität einer Eisen-Chelatortherapie am empfindlichsten in den Leber-Eisenspeichern bestimmt werden, da es bislang keinen organspezifischen Eisen-Chelator gibt. Daneben muss auch das Herzeisen überwacht werden, da die Lebereisen- nicht mit der Herzeisen-Konzentration korreliert und sich das kardiale Therapie-Management auch an der individuellen myokardialen Eisenkonzentration orientieren sollte [23]. Bei gleichzeitiger Verbesserung von Herzfunktion und myokardialen $R2^*$ -Werten unter Eisen-Chelatortherapie finden $R2^*$ -Methoden zunehmend Anwendung bei der Evaluation neuer Eisen-Chelatoren, die das klinisch wichtige Herzeisen unterschiedlich reduzieren [43]. Myokardiale $R2^*$ -Bestimmungen werden bereits ab dem 9. Lebensjahr bei Thalassämie-Patienten empfohlen.

Leider werden mittels MRT- $R2^*$ -Darstellung bestimmte Änderungen des Herzeisens zeitlich verzögert gegenüber Änderungen des Lebereisens angezeigt. Dies führte zur Entwicklung einer Kombinationsmethode, die einerseits den mono-exponentiellen Abfall der Signalintensität (Gleichung 2) erfasst, wie er durch das dispersive Ferritin-Eisen ($R2$, Spin-Spin-Wechselwirkung) verursacht wird, aber andererseits auch Abweichungen von die-

sem exponentiellen Abfall quantifiziert, wie sie durch Diffusion der Protonenspins durch die inhomogenen lokalen Magnetfelder größerer Eisencluster (Hämosiderin) entstehen [28]. So können Änderungen des mobileren Ferritin-Eisens im Herzen bereits nach einer Woche durch eine spezielle, aber noch nicht routinemäßig angewandte Messgröße (reduzierte Relaxationsrate), angezeigt werden [44].

Die erst vor Kurzem erfolgte Validierung der myokardialen Relaxometrie durch die chemische Eisenbestimmung in postmortalen Herzen ist als Meilenstein der nicht invasiven Quantifizierung der Herzeisenkonzentration zu sehen [45]. Bis zu diesem Zeitpunkt basierte die Auswertung von Messergebnissen nur auf tierexperimentellen- und Einzelfallstudien.

Andere Organe mit Eisenüberladung

Auch wenn bisher nur die nicht invasive Eisenquantifizierung in Leber und Herz mittels MRT Eingang in die klinische Versorgung fand, hat die fehlende Korrelation von Leber- und Herz-Eisenkonzentration gezeigt, dass die Lebereisenkonzentration als alleiniger Indikator einer globalen Eisenüberladung nicht zuverlässig ist und atypische Eisenverteilungsmuster nicht selten sind [46]. So können auch in anderen Organen schon bei geringer Eisenakkumulation relevante toxische Effekte beobachtet werden.

Die anteriore Hypophyse scheint sehr sensitiv bereits auf geringe Eisenüberladungen zu reagieren. Im Speziellen besitzen das Gonadotropin- und Wachstumshormon-sezernierende Zellsystem eine hohe Affinität zu Eisen, weshalb ein hypogonadotroper Hypogonadismus und Wachstumsstörungen die häufigsten endokrinen Funktionsstörungen darstellen [42, 47, 48]. Relaxometrie-Messungen der Hypophyse sind bisher nur in einzelnen Studien zur Anwendung gekommen, hier korreliert der hypophysäre Signalintensitätsabfall mit der Eisenüberladung und der hypophysären Funktion [49]. Aufgrund der geringen Organgröße (200 ± 100 mm³) und der anatomischen Lagebeziehung zum pneumatisierten Sinus sphenoidalis wird die zukünftige Anwendung von SE-Sequenzen gegenüber GRE-Sequenzen von Vorteil sein [21].

Eine primäre oder sekundäre Siderose betrifft häufig das Pankreas, was im Verlauf in ca. 30% der Fälle zu einer gestörten Glukosetoleranz bzw. einem Diabetes mellitus führt [50]. Wie auch im Herzen korreliert die Eisenakkumulation im Pankreas, die durch R2-Messung bestimmt wurde, nicht mit der Lebereisenkonzentration [51]. Dagegen besteht eine Korrelation zwischen pankreatischem und kardialem R2*, was durch die in beiden Organen vorhandenen Calciumkanäle begründet wird [52]. So scheinen eine pankreatische Eisenüberladung (R2* > 100 s⁻¹) und die exokrine Pankreasfunktion ein früher Indikator für eine sich entwickelnde myokardiale Eisenüberladung zu sein [53]. Analog zum Herzen kann auch die Pankreas-Relaxometrie (R2*-Bestimmung) eine präsymptomatische Organschädigung diagnostizieren, was von entscheidender Bedeutung für die Eskalation einer Chelatortherapie wäre [54].

Abgesehen von Einzelfallberichten ist die Eisenüberladung der Schilddrüse bisher wenig untersucht, doch ist eine Hypothyreose bei sekundärer Siderose in bis zu 20% der Fälle zu beobachten [55]. Anders als das Gonadotropin- und Wachstumshormon-sezernierende Zellsystem ist das hypophysär-thyreotrope Zellsystem weniger sensitiv für eine eiseninduzierte Toxizität, die Schädigung betrifft hier primär das Endorgan Schilddrüse selbst und nicht die Hypophyse [47].

Die kortikale Eisenüberladung der Niere spielt offenbar eine Rolle bei hämolytischen Anämien wie der Sichelzellanämie [56]. Ob dies ein früher Indikator für vasculäre Komplikationen (wie z. B.

ein erhöhtes Infarktisiko) ist, bleibt noch zu klären. Die Anwendbarkeit von Multi-Echo-GRE-Sequenzen (zur Evaluierung der Organfunktion) wurde bereits bei nierentransplantierten Patienten demonstriert [57].

Die Eisenüberladung des Knochenmarks ist offenbar ein Indikator insbesondere für eine ineffektive Erythropoese [58]. Bisher gibt es nur indirekte Hinweise auf eine eisentoxische Wirkung in den Gonaden, die für die in Thalassämie-Patienten beobachtete, verzögerte Pubertät verantwortlich gemacht wird [59].

Zusammenfassung

Die MRT-Relaxometrie ist eine nicht invasive, sichere und sensitive Methode zur Quantifizierung der Eisenkonzentration in verschiedenen Organen bei einem breiten Spektrum genetischer und hämatologischer Erkrankungen. Die meisten Studien liegen für Thalassämie-Patienten mit transfusionsabhängiger Eisenüberladung vor, bei denen die Eisenquantifizierung mittels MRT ein immer wichtigeres Instrument für das Therapiemonitoring darstellt. Aufgrund fehlender Korrelationen der Eisenkonzentrationen zwischen den Organen werden zum jetzigen Zeitpunkt zumindest die Untersuchung von Leber und Herz empfohlen. Das Potenzial zur Detektion einer Organeisenüberladung im noch präsymptomatischen Stadium ermöglicht die optimale Anpassung der medikamentösen Therapie und kann so eine irreversible Organschädigung verhindern. Da nach wie vor die eiseninduzierte Kardiomyopathie mit nachfolgender Herzinsuffizienz die Haupttodesursache dieser auch in Deutschland wachsenden Patientengruppe darstellt, wäre bei regelmäßiger Eisenquantifizierung mittels MRT mit einer weiter steigenden Lebenserwartung der betroffenen Patienten zu rechnen.

Literatur

- 1 Brittenham GM, Badman DG. Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood* 2003; 101: 15–19
- 2 Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JJ et al. Hepcidin in iron overload disorders. *Blood* 2005; 105: 4103–4105
- 3 Hershko C, Link G, Cabantchik I. Pathophysiology of iron overload. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 191–201
- 4 Siddique A, Kowdley KV. Review article: the iron overload syndromes. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 876–893
- 5 Feder JN, Gnirke A, Thomas W et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996; 13: 399–408
- 6 Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis – a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 2383–2397
- 7 Strohmeyer G, Niederau C, Stremmel W. Survival and causes of death in hemochromatosis. Observations in 163 patients. *Ann N Y Acad Sci* 1988; 526: 245–257
- 8 Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763: 700–710
- 9 Cario H, Stahnke K, Sander S et al. Epidemiological situation and treatment of patients with thalassemia major in Germany: results of the German multicenter beta-thalassemia study. *Ann Hematol* 2000; 79: 7–12
- 10 Seldrum S, Pierard S, Moniotte S et al. Iron overload in polytransfused patients without heart failure is associated with subclinical alterations of systolic left ventricular function using cardiovascular magnetic resonance tagging. *J Cardiovasc Magn Reson* 2011; 13: 23
- 11 Pakbaz Z, Fischer R, Fung E et al. Serum ferritin underestimates liver iron concentration in transfusion independent thalassemia patients as compared to regularly transfused thalassemia and sickle cell patients. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 49: 329–332

- 12 Harmatz P, Butensky E, Quirolo K et al. Severity of iron overload in patients with sickle cell disease receiving chronic red blood cell transfusion therapy. *Blood* 2000; 96: 76–79
- 13 Nielsen P, Engelhardt R, Dullmann J et al. Non-invasive liver iron quantification by SQUID-biosusceptometry and serum ferritin iron as new diagnostic parameters in hereditary hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29: 451–458
- 14 Butensky E, Fischer R, Hudes M et al. Variability in hepatic iron concentration in percutaneous needle biopsy specimens from patients with transfusional hemosiderosis. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 146–152
- 15 de Bucourt M, Busse R, Zada O et al. CT-guided biopsies: quality, complications and impact on treatment: a retrospective initial quality control. *Fortschr Röntgenstr* 2011; 183: 842–848
- 16 Marinelli M, Cuneo S, Gianesin B et al. Non-invasive measurement of iron overload in the human body. *IEEE* 2006; 16: 1513–1518
- 17 Fischer R, Harmatz P, Nielsen P. Does liver biopsy overestimate liver iron concentration? *Blood* 2006; 108: 1775–1776; author reply 1776
- 18 Taylor BA, Loeffler RB, Song R et al. Simultaneous field and R2 mapping to quantify liver iron content using autoregressive moving average modeling. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35: 1125–1132
- 19 Wang ZJ, Fischer R, Chu Z et al. Assessment of cardiac iron by MRI susceptibility and R2* in patients with thalassemia. *Magn Reson Imaging* 2010; 28: 363–371
- 20 Stark DD, Bass NM, Moss AA et al. Nuclear magnetic resonance imaging of experimentally induced liver disease. *Radiology* 1983; 148: 743–751
- 21 Wood JC, Ghugre N. Magnetic resonance imaging assessment of excess iron in thalassemia, sickle cell disease and other iron overload diseases. *Hemoglobin* 2008; 32: 85–96
- 22 Ghugre NR, Coates TD, Nelson MD et al. Mechanisms of tissue-iron relaxivity: nuclear magnetic resonance studies of human liver biopsy specimens. *Magn Reson Med* 2005; 54: 1185–1193
- 23 Anderson LJ, Holden S, Davis B et al. Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J* 2001; 22: 2171–2179
- 24 Engelhardt R, Langkowski JH, Fischer R et al. Liver iron quantification: studies in aqueous iron solutions, iron overloaded rats, and patients with hereditary hemochromatosis. *Magn Reson Imaging* 1994; 12: 999–1007
- 25 Wood JC, Otto-Duessel M, Aguilar M et al. Cardiac iron determines cardiac T2*, T2, and T1 in the gerbil model of iron cardiomyopathy. *Circulation* 2005; 112: 535–543
- 26 Chavhan GB, Babyn PS, Thomas B et al. Principles, techniques, and applications of T2*-based MR imaging and its special applications. *Radiographics* 2009; 29: 1433–1449
- 27 Stark DD, Moseley ME, Bacon BR et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy of hepatic iron overload. *Radiology* 1985; 154: 137–142
- 28 Jensen JH, Tang H, Tosti CL et al. Separate MRI quantification of dispersed (ferritin-like) and aggregated (hemosiderin-like) storage iron. *Magn Reson Med* 2010; 63: 1201–1209
- 29 Gandon Y, Guyader D, Heautot JF et al. Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient-echo MR imaging. *Radiology* 1994; 193: 533–538
- 30 Sheth S, Tang H, Jensen JH et al. Methods for noninvasive measurement of tissue iron in Cooley's anemia. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1054: 358–372
- 31 Alustiza JM, Artetxe J, Castiella A et al. MR quantification of hepatic iron concentration. *Radiology* 2004; 230: 479–484
- 32 Kaltwasser JP, Gottschalk R, Schalk KP et al. Non-invasive quantitation of liver iron-overload by magnetic resonance imaging. *Br J Haematol* 1990; 74: 360–363
- 33 St Pierre TG, Clark PR, Chua-anusorn W et al. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood* 2005; 105: 855–861
- 34 Wood JC, Enriquez C, Ghugre N et al. MRI R2 and R2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood* 2005; 106: 1460–1465
- 35 Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE et al. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med* 2000; 343: 327–331
- 36 Angelucci E, Barosi G, Camaschella C et al. Italian Society of Hematology practice guidelines for the management of iron overload in thalassemia major and related disorders. *Haematologica* 2008; 93: 741–752
- 37 Gandon Y, Olivie D, Guyader D et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004; 363: 357–362
- 38 Fischer MA, Reiner CS, Raptis D et al. Quantification of liver iron content with CT-added value of dual-energy. *Eur Radiol* 2011; 21: 1727–1732
- 39 Korkusuz H, Abbas Raschidi B, Keese D et al. Diagnosing and Quantification of Acute Alcohol Intoxication – Comparison of Dual-Energy CT with Biochemical Analysis: Initial Experience. *Fortschr Röntgenstr* 2012; 184: 1126–1130
- 40 Yamamura J, Grosse R, Graessner J et al. Distribution of cardiac iron measured by magnetic resonance imaging (MRI)-R2*. *J Magn Reson Imaging* 2010; 32: 1104–1109
- 41 Patton N, Brown G, Leung M et al. Observational study of iron overload as assessed by magnetic resonance imaging in an adult population of transfusion-dependent patients with beta thalassaemia: significant association between low cardiac T2* < 10 ms and cardiac events. *Intern Med J* 2010; 40: 419–426
- 42 Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano P et al. Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica* 2004; 89: 1187–1193
- 43 Tanner MA, Galanello R, Dessi C et al. Combined chelation therapy in thalassemia major for the treatment of severe myocardial siderosis with left ventricular dysfunction. *J Cardiovasc Magn Reson* 2008; 10: 12
- 44 Kim D, Jensen JH, Wu EX et al. Rapid monitoring of iron-chelating therapy in thalassemia major by a new cardiovascular MR measure: the reduced transverse relaxation rate. *NMR Biomed* 2011; 24: 771–777
- 45 Carpenter JP, He T, Kirk P et al. On T2* magnetic resonance and cardiac iron. *Circulation* 2011; 123: 1519–1528
- 46 Papakonstantinou O, Alexopoulou E, Economopoulos N et al. Assessment of iron distribution between liver, spleen, pancreas, bone marrow, and myocardium by means of R2 relaxometry with MRI in patients with beta-thalassemia major. *J Magn Reson Imaging* 2009; 29: 853–859
- 47 Roth C, Pekrun A, Bartz M et al. Short stature and failure of pubertal development in thalassaemia major: evidence for hypothalamic neurosecretory dysfunction of growth hormone secretion and defective pituitary gonadotropin secretion. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 777–783
- 48 Christoforidis A, Haritandi A, Perifanis V et al. MRI for the determination of pituitary iron overload in children and young adults with beta-thalassaemia major. *Eur J Radiol* 2007; 62: 138–142
- 49 Argyropoulou MI, Metafratzi Z, Kiortsis DN et al. T2 relaxation rate as an index of pituitary iron overload in patients with beta-thalassemia major. *Am J Roentgenol* 2000; 175: 1567–1569
- 50 Au WY, Lam WW, Chu W et al. A T2* magnetic resonance imaging study of pancreatic iron overload in thalassemia major. *Haematologica* 2008; 93: 116–119
- 51 Papakonstantinou O, Ladis V, Kostaridou S et al. The pancreas in beta-thalassemia major: MR imaging features and correlation with iron stores and glucose disturbances. *Eur Radiol* 2007; 17: 1535–1543
- 52 Noetzli LJ, Papudesi J, Coates TD et al. Pancreatic iron loading predicts cardiac iron loading in thalassemia major. *Blood* 2009; 114: 4021–4026
- 53 Yamamura J, Grosse R, Jarisch A et al. Pancreatic exocrine function and cardiac iron in patients with iron overload and with thalassemia. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 57: 674–676
- 54 Noetzli LJ, Mittelman SD, Watanabe RM et al. Pancreatic iron and glucose dysregulation in thalassemia major. *Am J Hematol* 2012; 87: 155–160
- 55 De Sanctis V, De Sanctis E, Ricchieri P et al. Mild subclinical hypothyroidism in thalassaemia major: prevalence, multigated radionuclide test, clinical and laboratory long-term follow-up study. *Pediatr Endocrinol Rev* 2008; 6: 174–180
- 56 Schein A, Enriquez C, Coates TD et al. Magnetic resonance detection of kidney iron deposition in sickle cell disease: a marker of chronic hemolysis. *J Magn Reson Imaging* 2008; 28: 698–704
- 57 Mathys C, Blondin D, Wittsack HJ et al. T2' Imaging of Native Kidneys and Renal Allografts – a Feasibility Study. *Fortschr Röntgenstr* 2011; 183: 112–119
- 58 Papakonstantinou O, Foufa K, Benekos O et al. Use of fat suppression in R(2) relaxometry with MRI for the quantification of tissue iron overload in beta-thalassemic patients. *Magn Reson Imaging* 2012; 30: 926–933
- 59 Soliman AT, Nasr I, Thabet A et al. Human chorionic gonadotropin therapy in adolescent boys with constitutional delayed puberty vs. those with beta-thalassemia major. *Metabolism* 2005; 54: 15–23