

Εργαστήριο Ιατρικής Απεικόνισης  
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης

**Εναπόθεση Σιδήρου σε Ενδοκοιλιακά Όργανα και  
Μυελό Οστών Ασθενών με β-Μεσογειακή Αναιμία:  
Μελέτη με Τεχνικές Ποσοτικής Απεικόνισης  
Μαγνητικού Συντονισμού**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΔΡΑΚΩΝΑΚΗ ΕΛΕΝΗ**

Ιατρός Ακτινολόγος

Ηράκλειο 2008

**Ημερομηνία Έναρξης Διατριβής:** 16/12/2005

**Ημερομηνία Υποστήριξης Διατριβής:** 18/12/2008

**Τριμελής Επιτροπή:**

Επιβλέπων: Καραντάνας Απόστολος, Αναπληρωτής Καθηγητή Ακτινοδιαγνωστικής

Μέλη: Μαρής Θωμάς, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής

Αλεξανδράκης Μιχαήλ, Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογίας

**Επταμελής Επιτροπή:**

Καραντάνας Απόστολος, Αναπληρωτής Καθηγητή Ακτινοδιαγνωστικής

Μαρής Θωμάς, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής

Αλεξανδράκης Μιχαήλ, Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογίας

Μαργιωρής Ανδρέας, Καθηγητής Κλινικής Χημείας-Βιοχημείας

Γραβάνης Αχιλλέας, Καθηγητής Φαρμακολογίας

Καρκαβίτσας Νικόλαος, Καθηγητής Πυρηνικής Ιατρικής

Στειακάκη Ευτυχία, Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδοαιματολογίας

**Δημοσίευση βασισόμενη στα αποτελέσματα της μελέτης:**

Drakonaki EE, Maris TG, Papadakis A, Karantanas AH. Bone Marrow Changes in Beta-Thalassemia Major: Quantitative MR Imaging Findings and Correlation with Iron Stores. Eur Radiol. 2007;17:2079-87 (*impact factor 3.405*)

*Στον σύζυγό μου Στάθη  
και στα παιδιά μας Άννα, Μάρια και Θεοχάρη,  
για την ενθάρρυνση και την συμπαράσταση*

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ερευνητική αυτή εργασία έγινε στα πλαίσια εκπόνησης διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Κρήτης. Το πειραματικό μέρος της διατριβής ολοκληρώθηκε στο Ακτινολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου κατά την διάρκεια της ειδίκευσής μου στην Ακτινολογία στο διάστημα από Δεκέμβριο 2005 ως Φεβρουάριο 2008. Για την πραγματοποίηση της μελέτης συνεργαστήκαμε με τη Μονάδα Μεσογειακής Αναιμίας του Βενιζέλειου Νοσοκομείου Ηρακλείου, από όπου προέρχονταν οι περισσότεροι από τους ασθενείς.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Ακτινολογίας κ. Νικόλαο Γκουρτσογιάννη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση αυτής της διδακτορικής διατριβής και για την εν γένει συμβολή του στην ακτινολογική μου παιδεία. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον Επίκουρο Καθηγητή Ιατρικής Φυσικής κ. Θωμά Μαρή για την κατάστροψη του πρωτοκόλλου, την πραγματοποίηση των εξετάσεων και τις υποδείξεις του πάνω σε θέματα Μαγνητικού Συντονισμού. Ευχαριστώ επίσης τον Διευθυντή της Μονάδας Μεσογειακής Αναιμίας του Βενιζέλειου νοσοκομείου κ. Αλέξανδρο Παπαδάκη και την Αιματολόγο Επιμελήτρια κ. Στέλλα Μαραγκάκη για την άψογη συνεργασία στην παραπομπή των ασθενών και στην παροχή κλινικών πληροφοριών καθώς και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Αιματολογίας κ. Μιχάλη Αλεξανδράκη για την συμπαράσταση κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την κ. Ολυμπία Παπακωνσταντίνου, Λέκτορα Ακτινολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών, από την οποία γνώρισα το αντικείμενο της Μεσογειακής Αναιμίας. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον δάσκαλό μου και επιβλέποντα της διδακτορικής διατριβής, Αναπληρωτή Καθηγητή Ακτινολογίας κ. Απόστολο Καραντάνα, για το συνεχές και αμείωτο ενδιαφέρον και την ενεργό συμμετοχή του στη διεξαγωγή της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας.

# **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ-ABSTRACT**

### **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

#### **I. ΤΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ**

- 1.1 Ορισμοί-Παθογένεση-Γενετική Συνδρόμων Μεσογειακής Αναιμίας
- 1.2 Παθοφυσιολογία της β-Μεσογειακής Αναιμίας
- 1.3 Κλινική Εικόνα της β-Μεσογειακής Αναιμίας
- 1.4 Απεικονιστικά Ευρήματα στην β-Μεσογειακή Αναιμία
- 1.5 Θεραπεία β-Μεσογειακής Αναιμίας

#### **II. ΥΠΕΡΦΟΡΤΩΣΗ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΣΕ ΣΙΔΗΡΟ**

- 2.1 Μεταβολισμός Σιδήρου
- 2.2 Παθολογικές καταστάσεις σχετιζόμενες με την υπερφόρτωση σε σίδηρο
- 2.3 Μέθοδοι προσδιορισμού σιδήρου

#### **III. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΙΔΗΡΟΥ ΜΕ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟ**

- 3.1 Βασικές Αρχές Απεικόνισης με ΜΣ
- 3.2 Βιολογικές Παραμαγνητικές Ουσίες
- 3.3 Μεθοδολογία ποσοτικού προσδιορισμού σιδήρου με ΜΣ
  - 3.3.1 Τεχνικές Μέτρησης Χρόνου T2 (T2 relaxometry)
  - 3.3.2 Τεχνικές Μέτρησης Χρόνου T2\* (T2\* relaxometry)
  - 3.3.3 Υβριδικές Μέθοδοι
  - 3.3.4 Τεχνικές Μέτρησης Εντάσεων Σήματος (Signal Intensity Ratios-SIR)
  - 3.3.5 Σύγκριση μεθόδων

### **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

#### **I. ΣΚΟΠΟΣ**

#### **II. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

#### **III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

#### **IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

#### **V. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ**

#### **VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### **ΑΝΑΤΥΠΟ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗΣ**

### **ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Σε μεταγγιζόμενους ασθενείς με β-Μεσογειακή Αναιμία (βΜΑ) παρατηρείται δευτεροπαθής εναπόθεση σιδήρου στα κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (ΔΕΣ) του ήπατος, σπλήνα και οστικού μυελού και ακολούθως σε παρεγχυματικά κύτταρα οργάνων όπως το ήπαρ. Για την αντιμετώπιση των βλαβερών συνεπειών της δευτεροπαθούς αιμοσιδήρωσης, χορηγείται θεραπεία αποσιδήρωσης. Για την παρακολούθηση της πορείας της νόσου και την προσαρμογή της θεραπείας είναι απαραίτητος ο τακτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης σιδήρου στον οργανισμό. Ο Μαγνητικός Συντονισμός (ΜΣ) έχει μεγάλη ακρίβεια στην ανάδειξη και ποσοτικοποίηση της σιδήρωσης, λόγω παραμαγνητικών ιδιοτήτων του ενδοκυττάρου σιδήρου.

**Σκοπός:** Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η χρήση ΜΣ: α) για διερεύνηση του βαθμού σιδήρωσης των όργων του ΔΕΣ και συσχετίσή του με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους (φερριτίνη, παρουσία ηπατίτιδας) β) για μελέτη των προτύπων κατανομής του σιδήρου μεταξύ των διαφορετικών οργάνων του ΔΕΣ και γ) για παρακολούθηση των ασθενών και διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των πρωτοκόλλων αποσιδήρωσης.

**Υλικό-Μέθοδος:** Διενεργήθηκαν 106 εξετάσεις ΜΣ κοιλίας σε 72 μεταγγιζόμενους και αποσιδηρούμενους ασθενείς με ομόζυγη βΜΑ (μέσης ηλικίας  $27 \pm 8,7$  ετών) και σε 17 εθελοντές. Το πρωτόκολλο ΜΤ περιελάμβανε 4 ακολουθίες ΜΣ: T1GRE (TR/TE/FA:120/4/90°), PdGRE (TR/TE/FA:120/4/20°), T2\*GRE (TR/TE/FA:120/9/20°), T1TSE (TR/TE/FA:700/6,5/90°) και μέτρηση του χρόνου αποκατάστασης T2 και T2\*. Σε καθεμιά από τις ακολουθίες υπολογίστηκαν οι λόγοι των μέσων τιμών έντασης σήματος (SI) του ήπατος (L), του σπληνός (S) και του οστικού μυελού (B) προς τη μέση τιμή SI των παρασπονδυλικών μυών (M) (λόγοι B/M, L/M, και S/M αντίστοιχα), που εκφράζουν το

βαθμό σιδήρωσης των αντίστοιχων οργάνων. Υπολογίστηκαν ακόμη οι λόγοι των μέσων τιμών των χρόνων T2 και T2\* των αντίστοιχων οργάνων και καταγράφηκαν οι πρόσφατες τιμές φερριτίνης του ορού. Σε 34/72 ασθενείς διενεργήθηκαν δύο διαδοχικές εξετάσεις ΜΣ με το ίδιο πρωτόκολλο σε διάστημα 340-734 ημερών (μέση τιμή 614,35 ημέρες) και έγινε υπολογισμός της εκατοστιαίας μεταβολής των τιμών της φερριτίνης και των λόγων L/M, S/M και B/M στην T1 TSE ακολουθία [πηλίκιο  $\Delta\% = (\text{Αρχική} - \text{Τελική} / \text{Αρχική τιμή}) \times 100\%$ ]. Για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι στατιστικές δοκιμασίες της κλασικής στατιστικής (SPSS 8.0, Windows, Chicago, Ill, USA) και ως όριο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε η πιθανότητα λάθους  $<5\%$  ( $p < 0.05$ ).

**Αποτελέσματα:** Τα πηλικά L/M, B/M και S/M και ο χρόνος T2 του ήπατος, οστικού μυελού και σπληνός και T2\* του σπληνός και οστικού μυελού συσχετίστηκαν αρνητικά με την τιμή της φερριτίνης ορού (Pearson's  $r > 0,371$ ,  $p \sim 0$ ). Μεταξύ α) B/M και L/M και β) S/M και L/M αναδείχθηκε συσχέτιση μόνο στην ακολουθία T1-w TSE ( $r = 0,471$ ,  $p = 0,05$  και  $r = 0,434$ ,  $p = 0,05$  αντίστοιχα), η οποία ήταν ισχυρότερη στους HCV (-) από ότι στους HCV (+) ασθενείς ( $r > 0,591$ ,  $p < 0,001$  και  $r > 0,412$ ,  $p < 0,05$  αντίστοιχα). Αντίθετα, τα πηλικά B/M και S/M συσχετίστηκαν σε όλες τις ακολουθίες ( $p > 0,01$ ). Δεν αναδείχθηκε συσχέτιση όσον αφορά τους χρόνους αποκατάστασης T2 και T2\* ήπατος, οστικού μυελού και σπληνός. Με κριτήριο τις τιμές L/M, B/M και S/M των ασθενών σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των φυσιολογικών εθελοντών, προέκυψαν 5 διαφορετικά πρότυπα σιδήρωσης των οργάνων του ΔΕΣ. *Πρότυπο 1.* Χαμηλή ένταση σήματος ήπατος, οστικού μυελού και σπληνός (71/106, 67%) *Πρότυπο 2.* Φυσιολογική ένταση σήματος ήπατος, οστικού μυελού και σπληνός (8/106, 7,5%) *Πρότυπο 3.* Φυσιολογική ένταση σήματος οστικού μυελού και σπληνός και χαμηλή ένταση σήματος ήπατος (14/106, 13,2%) *Πρότυπο 4.* Φυσιολογική ένταση σήματος σπληνός και χαμηλή ένταση σήματος ήπατος και οστικού μυελού (10/106, 9,4%) *Πρότυπο 5.* Φυσιολογική ένταση σήματος ήπατος και σπληνός και χαμηλή ένταση σήματος οστικού μυελού (3/106, 2,8%). Στους ασθενείς που αποσιδηρώθηκαν, η μέση τιμή της μεταβολής

$\Delta(\text{SI})\%$  ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς υπό συνδυασμένη αγωγή με διφεριπρόνη και δεφεροξαμίνη (DFX) από αυτούς σε μονοθεραπεία (t-test,  $p < 0,05$ ). Στους ασθενείς όπου η σιδήρωση των οργάνων αυξήθηκε, η μέση τιμή της μεταβολής  $\Delta(\text{SI})\%$  ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς υπό μονοθεραπεία με DFX από αυτούς υπό συνδυασμένη αγωγή ( $p < 0,05$ ). Επίσης, η πτώση της τιμής της φεριττίνης ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς υπό συνδυασμένη αγωγή από αυτούς υπό μονοθεραπεία ( $p = 0,03$ ).

**Συμπεράσματα:** Σε πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς με βΜΑ, ο βαθμός σιδήρωσης του σπληνός και του οστικού μυελού, παρότι συσχετίζονται μεταξύ τους, δεν ακολουθούν αυτόν του ήπατος, ενώ παρατηρείται επίσης ένα άτυπο πρότυπο κατανομής του σιδήρου, το οποίο χαρακτηριστικά περιγράφεται σε συγγενή αιμοχρωμάτωση. Συνεπώς, η εναπόθεση σιδήρου στους μεταγγιζόμενους ασθενείς με ομόζυγη βΜΑ εξελίσσεται σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητα μεταξύ των οργάνων του ΔΕΣ, οδηγώντας σε μια ποικιλία προτύπων κατανομής σιδήρου. Η συνδυασμένη θεραπεία πλεονεκτεί έναντι της μονοθεραπείας με DFX, αφού παρέχει μεγαλύτερο βαθμό αποσιδήρωσης και των τριών οργάνων, εύρημα που συνηγορεί υπέρ της εφαρμογής της στην κλινική πράξη.



## ABSTRACT

**Purpose:** To investigate the relation among bone marrow, liver and spleen siderosis in beta-thalassemia major, to describe the MR imaging patterns of reticuloendothelial system (RES) iron distribution and to assess the effectiveness of chelation protocols.

**Materials and Methods:** Liver, spleen and spinal bone marrow iron stores were prospectively assessed on 106 abdominal MR studies of 72 transfused beta-thalassemic patients and 17 controls using T1-w, Pd, T2\*-w Gradient Echo (GRE) and T1-w Turbo Spin Echo (TSE) sequences and T2 and T2\* relaxometry. Signal intensity (SI) ratios of liver, spleen and bone marrow to paraspinous muscles (L/M, S/M, B/M respectively) and the respective T2 and T2\* relaxation times were calculated. Serum ferritin levels and chelation protocols were recorded. In 34/72 patients two MR studies were performed within a mean period of 614,4 days. The changes in L/M, S/M and B/M and ferritin values were calculated using T1-wTSE sequence according to the formula:  $[D\%=(2^{nd}value-1^{st}value/1^{st}value)\times 100\%]$ .

**Results:** L/M, B/M, S/M, T2 relaxation time of all three organs and T2\* relaxation times of spleen and bone marrow correlated with ferritin values (Pearson's  $r > 0,371$ ,  $p \sim 0$ ). Significant correlation was found between a) B/M and L/M and b) S/M and L/M only in T1-w TSE sequence ( $r > 0,434$ ,  $p = 0,05$ ). B/M correlated with S/M in all sequences ( $p > 0,01$ ). No significant correlation was found between T2 and T2\* relaxation times of liver, spleen and bone marrow. According to the SI of liver, spleen and bone marrow in T1-w TSE sequence, five patterns of RES iron distribution were discriminated. In 13,2% of patients the spleen exhibited normal SI in coexistence with a low SI liver. Patients on combined chelation therapy with deferiprone and deferrioxamine exhibited greater reduction of ferritin, liver, spleen and bone marrow iron stores than the patients on deferrioxamine alone (t-test,  $p < 0,05$ ).

**Conclusion:** In transfused beta-thalassemic patients bone marrow siderosis correlates to splenic siderosis and ferritin levels but not to liver siderosis. Although spleen is usually

hypointense, it may occasionally display normal signal intensity coexisting with liver hypointensity, a pattern typical of primary hemochromatosis. Combined therapy is found to be more effective than deferrioxamine alone.

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# I. ΤΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

## 1.1 Ορισμοί, Παθογένεση και Γενετική Συνδρόμων Μεσογειακής Αναιμίας

Τα σύνδρομα Μεσογειακής Αναιμίας (ΜΑ) είναι μια ετερογενής ομάδα συνδρόμων που χαρακτηρίζονται από διαταραχή στη σύνθεση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων των αιμοσφαιρινών (Weatherall & Clegg 2001, Rund & Rachmilewitz 2005, Birgens & Ljung 2007). Τα σύνδρομα ΜΑ αποτελούν τη συχνότερη κληρονομική διαταραχή που οφείλεται σε ένα μεμονωμένο γονίδιο και απαντώνται σε 4.83% του πληθυσμού (Urbinati et al 2006). Υπολογίζεται ότι σήμερα υπάρχουν περίπου 100.000 εν ζωή πάσχοντες από ΜΑ στον κόσμο. Η ταξινόμηση των συνδρόμων αυτών γίνεται με βάση την πολυπεπτιδική αλυσίδα της οποίας η σύνθεση υπολείπεται και θεωρητικά υπάρχουν τόσοι τύποι όσες και οι αλυσίδες (α, β, αβ, δβ, γδβ και δ ΜΑ) (Forget 1993, Panigrahi & Marwaha 2006, Urbinati et al 2006). Από αυτούς τους τύπους κλινικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν η α και β ΜΑ, οι οποίες διαχωρίζονται στη συνέχεια σε α0 και β0 (πλήρη καταστολή σύνθεσης των αντίστοιχων αλυσίδων) και α και β (ελαττωμένη παραγωγή αντίστοιχων αλυσίδων), με περαιτέρω διαφοροποιήσεις ανάλογα με την γονιδιακή διαταραχή (Panigrahi & Marwaha 2006, Urbinati et al 2006). Αν και η νόσος οφείλεται σε αυτοσωμικό υπολειπόμενο γονίδιο (στο χρωμόσωμα 11 για τις αλυσίδες β και 16 για τις αλυσίδες α), ο τρόπος κληρονομικότητάς της χαρακτηρίζεται ως «συνεπικρατής» (*codominant gene*), γιατί και η παρουσία ετεροζυγωτίας είναι δυνατόν να συνδυάζεται με ήπιες κλινικές διαταραχές (Forget 1993, Panigrahi & Marwaha 2006). Επειδή τα γονίδια για την σύνθεση των α και β αλυσίδων βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα, είναι δυνατόν οι μεταλλάξεις τους να συγκληρονομούνται, με αποτέλεσμα να απαντώνται καταστάσεις μεικτής ετεροζυγωτίας (α- και β- θαλασσαιμία) (Forget 1993, Panigrahi & Marwaha 2006, Urbinati et al 2006).

Στην κλινική πράξη τα σύνδρομα MA περιλαμβάνουν την μείζονα, ελάσσονα και ενδιάμεση MA. Η μείζων MA αντιστοιχεί σε βαριά ομόζυγο κατάσταση, ενώ η ελάσσονα MA (στίγμα) αντιστοιχεί στην ετερόζυγη κατάσταση. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ενδιάμεση μεσογειακή αναιμία, η οποία είναι μια ασαφώς οριζόμενη ετερογενής ομάδα συνδρόμων, αντιστοιχούσα σε καταστάσεις ομοζυγωτίας ήπιων μορφών ( $\beta^{++}$ ) ή διπλή ετεροζυγωτία δύο διαφορετικών γονιδίων ( $\beta^0/\delta\beta$ ) ή συνδυασμό  $\beta^-$  και  $\alpha$ -MA (Weatherall & Clegg 2001, Rund & Rachmilewitz 2005).

## **1.2 Παθοφυσιολογία της $\beta$ -Μεσογειακής Αναιμίας**

Σε όλες τις περιπτώσεις συνδρόμων Μεσογειακής Αναιμίας η γενετικά κληρονομούμενη διαταραχή συνεπάγεται μείωση της παραγωγής των πολυπεπτιδικών αλυσίδων, οι οποίες όμως είναι δομικά φυσιολογικές, σε αντίθεση με άλλες αιμοσφαιρινοπάθειες όπου υπάρχει διαταραχή στη δομή των αλυσίδων (HbS, HbC, HbE), ή διαταραχή στη διαδικασία μετάπτωσης (switch) από την μια μορφή αιμοσφαιρίνης στην άλλη κατά την ανάπτυξη (παραμονή HbF) (Urbinati et al 2006, Rund & Rachmilewitz 2005).

Στη  $\beta$ MA, η μειωμένη σύνθεση των  $\beta$  αλυσίδων οδηγεί σε περίσσεια των  $\alpha$  αλυσίδων. Ένα μέρος από τις  $\alpha$  αλυσίδες συνδέονται με τις αλυσίδες  $\gamma$  και  $\delta$  σχηματίζοντας αυξημένες ποσότητες από αιμοσφαιρίνη HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) και HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ). Δεδομένου ότι εξακολουθεί να υπάρχει περίσσεια  $\alpha$  αλυσίδων, αυτές ενώνονται σχηματίζοντας ασταθή τετραμερή ( $\alpha_4$ ), τα οποία κατακρημνίζονται με τη μορφή αδιάλυτων εγκλείστων κυρίως μέσα στις άωρες μορφές ερυθρών αιμοσφαιρίων. Στην ετερόζυγο μορφή  $\beta$ MA η περίσσεια των  $\alpha$  αλυσίδων πρωτεολύεται και έτσι η σύνθεση των αλυσίδων είναι σχετικά ισόρροπη, σε αντίθεση με την ομόζυγο μορφή, όπου περίσσεια των αλυσίδων είναι μεγάλη, τα πρωτεολυτικά συστήματα δεν επαρκούν και έτσι το μεγαλύτερο μέρος των  $\alpha$  αλυσίδων καθιζάνει στη μορφή εγκλείστων (Fessas 1963, Chalevelakis et al 1984, Pootrakul et al 2000).

Η έλλειψη β αλυσίδων και περίσσεια α αλυσίδων οδηγούν σε μειωμένη ποσότητα αιμοσφαιρίνης στα ερυθρά, με αποτέλεσμα διαταραχή τόσο στην ωρίμανση των ερυθρών αιμοσφαιρίων στον μυελό όσο και στην επιβίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην περιφέρεια. Ο χρόνος ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων μειώνεται, με καταστροφή (απόπτωση) των ερυθροβλαστών στον μυελό των οστών (αναποτελεσματική ερυθροποίηση) και των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα (ΔΕΣ) του σπλήνα (αιμόλυση) (Forget 1993, Pootrakul et al 2000, Rund & Rachmilewitz 2005). Συνεπώς η MA προκύπτει από συνδυασμό δυσερυθροποιητικής και αιμολυτικής αναιμίας, ενώ η σπληνομεγαλία προκαλεί λίμναση αίματος στο σπλήνα και επιδείνωση της αναιμίας (Fessas 1963, Chalevelakis et al 1984, Forget 1993). Η αντιρροπιστική παραγωγή HbF δεν βελτιώνει την υποξία, αφού η HbF δεν απελευθερώνει εύκολα το οξυγόνο. Η αναποτελεσματική αιμοποίηση και η υποξία αποτελούν ερέθισμα:

α. για παραγωγή ερυθροποιητίνης, που προκαλεί αρχικά υπερπλασία του μυελού των οστών με διεύρυνση των μυελοχώρων (μυελική αιμοποίηση) και ακολούθως υπερπλασία αιμοποιητικού ιστού σε εξωμυελικές θέσεις (εξωμυελική αιμοποίηση σε ήπαρ, σπλήνα, και παρασπονδυλικό χώρο).

β. για αυξημένη απορρόφηση σιδήρου από το έντερο, που σε συνδυασμό με τις μεταγίσεις αίματος, συμβάλει στην συσσώρευση σιδήρου στον οργανισμό (Pootrakul et al 2000, Rund & Rachmilewitz 2005, Urbinati et al 2006, Birgens & Ljung 2007).

### **1.3 Κλινική Εικόνα της β-Μεσογειακής Αναιμίας**

Η *ομόζυγη βΜΑ* καθίσταται εμφανής με εκδηλώσεις σοβαρής αναιμίας ήδη από την ηλικία των 3 μηνών. Τα πρώτα συμπτώματα περιλαμβάνουν μειωμένη δραστηριότητα, καθυστέρηση ανάπτυξης, προοδευτικά αυξανόμενη ωχρότητα και διόγκωση κοιλίας. Η κλινική εξέταση αποκαλύπτει αναιμία και ηπατοσπληνομεγαλία και η διάγνωση τεκμηριώνεται με ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης που αναδεικνύει υψηλές τιμές HbF

(Weatherall & Clegg 2001, Panigrahi & Marwaha 2006). Ένδειξη για μεταγγίσεις έχουν οι ασθενείς όταν η αιμοσφαιρίνη είναι  $<7$  g/dL και στόχος είναι η διατήρηση της τιμής της αιμοσφαιρίνης σε ικανοποιητικά επίπεδα (9-12 g/dL) (Rund & Rachmilewitz 2005, Panigrahi & Marwaha 2006).

Εφόσον οι ασθενείς δεν ακολουθήσουν συστηματικό σχήμα μεταγγίσεων, αποκτούν προοδευτικά τα χαρακτηριστικά της νόσου του Cooley, δηλαδή καθυστέρηση της ανάπτυξης, ηπατοσπληνομεγαλία, το τυπικό μογγολοειδές προσωπίο, οστικές παραμορφώσεις, αυτόματα κατάγματα και παρασπονδυλικές μάζες (Cooley & Lee 1925). Τα τελευταία χρόνια, η παραπάνω τυπική εικόνα έχει περιοριστεί σημαντικά λόγω της αποτελεσματικής αντιμετώπισης της αναιμίας με μεταγγίσεις. Παράλληλα όμως αναπτύσσονται οι κλινικές εκδηλώσεις της υπερφόρτωσης με σίδηρο των παρεγχυματικών οργάνων, σαν αποτέλεσμα κυρίως των μεταγγίσεων αλλά και της αυξημένης απορρόφησης σιδήρου από το έντερο (Weatherall & Clegg 2001, Birgens & Ljung 2007). Έτσι, μετά την πρώτη δεκαετία της ζωής είναι δυνατόν να παρουσιαστεί καρδιακή ανεπάρκεια, ηπατική δυσλειτουργία, υπογοναδισμός, υποθυρεοειδισμός, υποπαραθυρεοειδισμός και σακχαρώδης διαβήτης (Rund & Rachmilewitz 2005, Panigrahi & Marwaha 2006, Birgens & Ljung 2007). Για την αντιμετώπιση των βλαβερών συνεπειών της σιδήρωσης, οι ασθενείς υποβάλλονται σε αγωγή αποσιδήρωσης με χρήση χυλικών παραγόντων, που με τη σειρά τους, προκαλούν μια σειρά από παρενέργειες (Barton 2007). Συνεπώς σε ένα πολυμεταγγιζόμενο ασθενή, η κλινική εικόνα κυριαρχείται από τις εκδηλώσεις της εναπόθεσης σιδήρου στα όργανα και τις παρενέργειες τις θεραπειάς αποσιδήρωσης.

Η *ενδιάμεση MA* χαρακτηρίζεται από ήπιες κλινικές εκδηλώσεις και τιμή αιμοσφαιρίνης 7-9mg/dl. Η HbF στο περιφερικό αίμα κυμαίνεται μεταξύ 20-100% και καθορίζει την κλινική εικόνα. Η ασθενείς αυτοί έχουν μακρά επιβίωση και μόνο περιστασιακά έχουν ανάγκη από μεταγγίσεις (Birgens & Ljung 2007).

Η ελάσσωσ *MA* (ετερόζυγη ή στίγμα) χαρακτηρίζεται από μικρό βαθμό αναιμίας (επίπεδα Hb κατά 15% χαμηλότερα από άτομα ίδιου φύλου και ηλικίας) και ενίοτε ήπια σπληνομεγαλία. Είναι δυνατόν να συνυπάρχουν ήπιες μορφολογικές αλλοιώσεις ερυθρών και μικρότερου βαθμού διαταραχή στην αναλογία των αιμοσφαιρινών (Birgens & Ljung 2007).

#### **1.4 Απεικονιστικά Ευρήματα στην β-Μεσογειακή Αναιμία**

Τα απεικονιστικά ευρήματα στην βΜΑ περιλαμβάνουν ευρήματα από τον σκελετό και τα συμπαγή όργανα καθώς και ευρήματα εξωμυελικής αιμοποίησης. Η παρουσία και η έκταση των αλλοιώσεων αυτών εξαρτάται από την χορήγηση και αποτελεσματικότητα θεραπείας μεταγγίσεων και αποσιδήρωσης.

##### **1.4.1 Οστικές αλλοιώσεις σε ασθενείς με ομόζυγη βΜΑ**

Σε μη θεραπευόμενους ή υποθεραπευόμενους ασθενείς με ομόζυγη βΜΑ, οι περισσότερες από τις ακτινολογικές εκδηλώσεις της νόσου οφείλονται στην υπερπλασία του οστικού μυελού, που μπορεί να αυξηθεί μέχρι 15-30 φορές σε σχέση με το φυσιολογικό. Οι αλλοιώσεις εμφανίζονται μετά το πρώτο έτος της ζωής, αφορούν σε όλο το σκελετό και περιλαμβάνουν τη λέπτυνση του φλοιού και την μείωση και εκτράχυνση των οστικών δοκίδων, που προκαλούν χαρακτηριστικές παραμορφώσεις των οστών (Tunaci et al 1999, Karantanas 2008).

Η απεικόνιση του οστικού μυελού στη ΜΤ εξαρτάται από το επίπεδο μεταγγίσεων και αποσιδήρωσης του ασθενούς (Levin et al 1995). Σε μη μεταγγιζόμενους ασθενείς, ερυθρός μυελός με υψηλή ένταση σήματος σε T2 βαρύτητας ακολουθεί σε σχέση με τους μύες αναγνωρίζεται σε όλη την έκταση του κεντρικού και περιφερικού σκελετού μέχρι τις εγγύς επιφύσεις του μηριαίου (Levin et al 1995). Στους υπερμεταγγιζόμενους ασθενείς που δεν λαμβάνουν επαρκή αγωγή αποσιδήρωσης, παρατηρείται εναπόθεση σιδήρου στον μυελό του



κεντρικού και περιφερικού σκελετού με αποτέλεσμα χαμηλή ένταση σήματος του μυελού σε όλες τις ακολουθίες ΜΤ. Σε επαρκώς μεταγγιζόμενους ασθενείς, η υπερπλασία του οστικού μυελού είναι περιορισμένη. Σε ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με δεφεροξαμίνη, στη ΜΤ απεικονίζονται δυσπλαστικές αλλοιώσεις σε μεγαλύτερη συχνότητα από αυτή στις α/α και αφορούν κυρίως σε διεύρυνση, ασαφοποίηση και υψηλή ένταση σήματος του συζευκτικού χόνδρου σε T2 ακολουθίες (Karantanas 2008).

#### **1.4.2 Αλλοιώσεις στα συμπαγή όργανα**

Η ηπατοσπληνομεγαλία είναι τυπικό εύρημα στους θαλασσαιμικούς ασθενείς και διαπιστώνεται με όλες τις απεικονιστικές μεθόδους. Με υπερηχογράφημα έχει διαπιστωθεί αύξηση διαστάσεων ήπατος και σπληνός σε ποσοστό 70.5% και 48.6% αντίστοιχα (Papadaki et al 2003). Σε παλαιότερη μελέτη του εργαστηρίου απεικόνισης του Πανεπιστημίου Κρήτης με χρήση ΜΤ έχει βρεθεί σπληνομεγαλία στο 74% των ασθενών με ομόζυγη βΜΑ (Papakonstantinou et al 2006). Στην ίδια μελέτη, βρέθηκε ότι το μέγεθος του σπληνός είναι ανεξάρτητο από το βαθμό σιδήρωσής του, ενώ σχετίζεται με το συνολικό φορτίο σιδήρου του οργανισμού και τα επίπεδα σιδήρωσης του ήπατος (Papakonstantinou et al 2006). Στους ασθενείς με βΜΑ αναδεικνύεται χολολιθίαση λόγω αιμόλυσης σε συχνότητα 20% και αυξημένες διαστάσεις χοληδόχου κύστης ακόμα και σε απουσία χολολίθων (Papadaki et al 2003). Με το υπερηχογράφημα γίνεται ακόμα παρακολούθηση μήτρας και ωοθηκών σε περιπτώσεις υπογοναδισμού.

Η εναπόθεση σιδήρου στα συμπαγή όργανα είναι δυνατόν να ανιχνευτεί με όλες τις απεικονιστικές μεθόδους. Υπερηχογραφικά ανιχνεύεται διάχυτη αύξηση της ηχογένειας του ήπατος, του σπληνός και του παγκρέατος, η οποία δεν σχετίζεται απαραίτητα με κλινικά έκδηλο διαβήτη (Papadaki et al 2003, Theochari et al 2000). Στην υπολογιστική τομογραφία (ΥΤ), η παρουσία σιδήρου στο παρέγχυμα των συμπαγών οργάνων προκαλεί αύξηση του συντελεστή εξασθένησης με επακόλουθη αύξηση της πυκνότητας, ο βαθμός της οποίας

συσχετίζεται με την φεριττίνη του ορού (Long et al 1980, Babiker et al 1987, Mitnick et al 1981). Έχουν γίνει προσπάθειες ποσοτικού προσδιορισμού σιδήρου ήπατος με χρήση ΥΤ, αλλά η τεχνική δεν είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη και έτσι ο ρόλος της περιορίζεται στην ανάδειξη και όχι στην ποσοτικοποίηση του σιδήρου (Babiker et al 1987, Mitnick et al 1981).

Η ΜΤ είναι η πλέον ευαίσθητη και η μέθοδος εκλογής για την ανάδειξη και ποσοτικοποίηση του σιδήρου στα παρεγχυματικά όργανα (Gandon et al 1994, 2004, Drakonaki et al 2005, Midiri et al 1999, Papakonstantinou et al 2006, 2007). Στη ΜΤ η παρουσία σιδήρου προκαλεί χαμηλή ένταση σήματος σε όλες τις ακολουθίες, ιδίως τις ακολουθίες βαθμιδωτής ηχούς, λόγω παραμαγνητικής δράσης του σιδήρου (Gandon et al 2004).

## **1.5 Θεραπεία β-Μεσογειακής Αναιμίας**

Οι στόχοι της θεραπείας στη βΜΑ συνίστανται σε αντιμετώπιση της αναιμίας με μεταγγίσεις αίματος, του υπερσπληνισμού με σπληνεκτομή, της υπερφόρτισης των οργάνων σε σίδηρο με χορήγηση θεραπείας αποσιδήρωσης, της αναποτελεσματικής ερυθροποίησης με μεταμόσχευση μυελού των οστών και στη διόρθωση του γενετικού σφάλματος με γονιδιακή θεραπεία.

### *Μεταγγίσεις αίματος*

Το σχήμα των μεταγγίσεων εξαρτάται από τον γενετικό τύπο της βΜΑ και τη βαρύτητα της αναιμίας του ασθενούς. Ένδειξη για μεταγγίσεις έχουν οι ασθενείς όταν η αιμοσφαιρίνη είναι <7 g/dL και στόχος είναι η διατήρηση της τιμής της αιμοσφαιρίνης σε ικανοποιητικά επίπεδα (9-12 g/dL) (Rund & Rachmilewitz 2005, Panigrahi & Marwaha 2006). Υψηλότερα επίπεδα αιμοσφαιρίνης (>14g/dL) συσχετίζονται με κίνδυνο θρομβωτικών επεισοδίων και απαιτούν εντατικότερη θεραπεία αποσιδήρωσης (Rund & Rachmilewitz 2005, Panigrahi & Marwaha 2006). Όταν η αιμοσφαιρίνη πέσει <5 g/dL,

απαιτούνται μεταγγίσεις συμπυκνωμένων ερυθρών, σε δόση 5 mL/kg με συνοδό χορήγηση διουρητικού (Panigrahi & Marwaha 2006).

Τα παραπάνω επίπεδα αιμοσφαιρίνης συνήθως εξασφαλίζονται με ένα σχήμα μεταγγίσεων που περιλαμβάνει 1-2 μονάδες συμβατού αίματος/2-4 εβδομάδες. Το αίμα που χρησιμοποιείται είναι συνήθως συμπυκνωμένα ερυθρά (PRBC), πλυμένα και φιλτραρισμένα για αποφυγή αλλεργικών αντιδράσεων. Έτσι, ένα παιδί 40 kg απαιτεί περίπου 400 ml αίματος (10 mL/kg) και συνεπώς 2 μονάδες PRBC (1 μονάδα PRBC περιέχει περίπου 250 mL ερυθρά αιμοσφαίρια) (Panigrahi & Marwaha 2006).

Οι ασθενείς που μεταγγίζονται με αυτό το σχήμα παρουσιάζουν ελάχιστες κλινικές εκδηλώσεις μέχρι την εφηβεία, ενώ τα συμπτώματα σιδήρωσης αναπτύσσονται λίγο πριν τη 2<sup>η</sup> δεκαετία (Panigrahi & Marwaha 2006). Εκτός από την υπερφόρτιση σε σίδηρο, επιπλοκή των μεταγγίσεων είναι και η μετάδοση λοιμωδών νοσημάτων, κυρίως ιογενούς ηπατίτιδας Β C και AIDS.

#### *Θεραπεία Αποσιδήρωσης*

Με τις επαναλαμβανόμενες μεταγγίσεις αίματος προκαλείται συσσώρευση μεγάλης ποσότητας σιδήρου στον οργανισμό. Έτσι, σε ένα ασθενή που ακολουθεί το σύνηθες σχήμα μεταγγίσεων (10 mL/kg PRBC κάθε 2-3 βδομάδες), η ποσότητα σιδήρου στον οργανισμό από τις μεταγγίσεις αντιστοιχεί περίπου σε 120 mg σιδήρου/kg/έτος, η οποία αντιστοιχεί σε 3-4 φορές περισσότερο σίδηρο από το φυσιολογικό (Panigrahi & Marwaha 2006). Η θεραπεία αποσιδήρωσης στοχεύει στην απομάκρυνση του πλεονάσματος του σιδήρου από τον οργανισμό και προτείνεται να ξεκινάει μετά από μεταγγίσεις 10 μονάδων PRBC ή όταν η φερριτίνη ορού ξεπεράσει τα 1000 ng/ml (Thalassemia International Federation, [www.thalassaemia.org.cy](http://www.thalassaemia.org.cy)).

Τα χρησιμοποιούμενα στην κλινική πράξη σχήματα αποσιδήρωσης περιλαμβάνουν τη μονοθεραπεία, είτε με την υποδόρια χορηγούμενη Δεφερροξαμίνη (DFO, *Desferal*<sup>TM</sup> Novartis) είτε με την από του στόματος χορηγούμενη Διφεριπρόνη (L1, *Kelfer*<sup>TM</sup>, Cipla)

καθώς και τη συνδυασμένη θεραπεία (χορήγηση και των δύο φαρμάκων) (Cohen 2004, Neufeld 2006, Barton 2007, Kolnagou et al 2006 & 2008). Τα τελευταία χρόνια, έχουν αναπτυχθεί νέα από του στόματος χορηγούμενοι σκευάσματα, με σημαντικότερο το ICL 670 (Deferasirox-DFX, *Exjade<sup>TM</sup>* Novartis), το οποίο χρησιμοποιείται στα πλαίσια κλινικών μελετών (Cohen 2004).

#### *Σπληνεκτομή*

Σπληνεκτομή συστήνεται α) όταν οι απαιτήσεις σε μεταγγίσεις αίματος υπερβαίνουν τα 220 mL/kg/έτος (Cohen et al 1980) β) όταν υπάρχουν ενδείξεις υπερσπληνισμού (λευκοπενία, θρομβοπενία, μειωμένος χρόνος ζωής των ερυθρών) και γ) σε συνθήκες εκσεσημασμένης σπληνομεγαλίας. Λόγω αυξημένης συχνότητας λοιμώξεων, οι ασθενείς εμβολιάζονται προληπτικά έναντι του πνευμονιόκοκκου τουλάχιστον 4 εβδομάδες προ της σπληνεκτομής (Panigrahi & Marwaha 2006).

#### *Μεταμόσχευση μυελού των οστών*

Η μεταμόσχευση πολυδύναμων κυττάρων μυελού των οστών γίνεται σε επιλεγμένους ασθενείς με ήπια σιδήρωση. Γίνεται νωρίς στην παιδική ηλικία, παρέχει ίαση σε 80-87% και, αν επιτύχει, επιτρέπει την φυσιολογική ανάπτυξη του παιδιού (Lucarelli & Gaziev 2008, Panigrahi & Marwaha 2006). Προϋποθέτει, ωστόσο, δότη συμβατό ως προς το σύστημα ιστοσυμβατότητας HLA, κάτι που εξασφαλίζεται μόνο στο 30% των παιδιών με βΜΑ (Panigrahi & Marwaha 2006).

#### *Γονιδιακή θεραπεία*

Η γονιδιακή θεραπεία συνίσταται σε αντικατάσταση του τμήματος του DNA που φέρει τη βλάβη από άλλο με φυσιολογική αλληλουχία βάσεων, το οποίο εισάγεται με τεχνικές γενετικής μηχανικής (πλασμίδια ιών). Παρότι η μέθοδος είναι σε ερευνητικό στάδιο, τα

αποτελέσματα των πρόσφατων μελετών είναι ενθαρρυντικά (Quek & Thein 2007, Bank 2008).

## **II. ΥΠΕΡΦΟΡΤΙΣΗ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΣΕ ΣΙΔΗΡΟ**

### **2.1 Ο Μεταβολισμός του Σιδήρου στον οργανισμό**

Ο σίδηρος παίζει θεμελιώδη ρόλο στο μεταβολισμό των ευκαριωτικών οργανισμών. Εκτός από τη σύνθεση αιμοσφαιρίνης, είναι απαραίτητος για την επιβίωση και πολλαπλασιασμό των κυττάρων συμμετέχοντας στη σύνθεση DNA, RNA, ενζύμων και πρωτεϊνών (Percy et al 1998, Woods et al 1990, Lieu et al 2001, Hertz et al 2004).

Η απορρόφηση σιδήρου γίνεται στο 12δάκτυλο και την εγγύς νηστικά, από όπου ο σίδηρος μεταφέρεται στο πλάσμα μέσω της πρωτεΐνης φερροπορτίνης. Στο πλάσμα ο σίδηρος μετατρέπεται ξανά σε δισθενή μορφή και συνδέεται με την πρωτεΐνη τρανσφερρίνη (Gunshin et al 2001, Ganz 2007). Η τρανσφερρίνη εξασφαλίζει μεταφορά του σιδήρου στα όργανα χρησιμοποίησης και αποθήκευσης του σιδήρου, δηλαδή στο μυελό των οστών και το ήπαρ. Στα φυσιολογικά άτομα η τρανσφερρίνη είναι κορεσμένη κατά 30-40% (Huebers & Finch 1984). Το μεγαλύτερο μέρος του σιδήρου της τρανσφερρίνης καταλήγει στον ερυθρό μυελό, όπου εισέρχεται στα μιτοχόνδρια για να σχηματίσει την αίμη των ερυθρών αιμοσφαιρίων, ενώ ένα πολύ μικρότερο ποσό καταλήγει στα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος, για να αποθηκευτεί ως φερριτίνη και αιμοσιδηρίνη (Woods et al 1990, Ganz 2007). Ο σίδηρος της τρανσφερρίνης προέρχεται κατά ένα μέρος από απορρόφηση από το έντερο, αλλά κυρίως από την καταστροφή των γερασμένων ή ανώμαλων ερυθρών αιμοσφαιρίων στα όργανα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (ΔΕΣ), δηλ. στο ήπαρ, σπλήνα και οστικό μυελό (Brittenham 2005, Woods et al 1990). Τα μακροφάγα του ΔΕΣ δεν μπορούν να προσλάβουν σίδηρο από την τρανσφερρίνη, επομένως ο σίδηρος στα μακροφάγα του σπλήνα, μυελού και στα κύτταρα Kupffer ήπατος προέρχεται αποκλειστικά από την

αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, σε αντίθεση με τον σίδηρο των ηπατοκυττάρων, που προέρχεται από την τρανσφερρίνη (Brittenham 2005, Woods et al 1990). Έτσι, στις αιμολυτικές αναιμίες (όπως η βΜΑ) ο σίδηρος συσσωρεύεται αρχικά στο ΔΕΣ σαν αποτέλεσμα αυξημένης αιμόλυσης, και όταν αυτό κορεσθεί κατανέμεται στα παρεγγυματικά κύτταρα. Στην πρωτοπαθή (συγγενή) αιμοχρωμάτωση, αντίθετα, όπου ο σίδηρος προέρχεται από αυξημένη απορρόφηση από το έντερο και μεταφέρεται με την τρανσφερρίνη, η αποθήκευσή του γίνεται εξαρχής στα ηπατοκύτταρα.

Η φερριτίνη είναι μια πρωτεΐνη που προκύπτει από την ένωση του τρισθενούς σιδήρου με την πρωτεΐνη αποφερριτίνη. Η αποφερριτίνη σχηματίζει ένα σφαιρικό πρωτεϊνικό κάλυμμα με μοριακό βάρος 500 kDa που αποτελείται από 24 υπομονάδες με ποικίλο αριθμό από βαριές H (21 kDa) και ελαφρές L (19 kDa) αλυσίδες (Koorts & Viljoen 2007, Orino & Watanabe 2007). Οι αλυσίδες αυτές σχηματίζουν μια σφαίρα στο κέντρο της οποίας βρίσκεται ένας κρύσταλλος με άτομα σιδήρου. Η φερριτίνη είναι δυνατόν να περιέχει έως 4500 άτομα σιδήρου, δηλ το 50% του μοριακού της βάρους να οφείλεται σε σίδηρο (Koorts & Viljoen 2007, Orino & Watanabe 2007). Ανάλογα με το ποσό των H και L αλυσίδων, σχηματίζεται μεγάλος αριθμός ισοτύπων φερριτίνης με διαφορετική χημική συγγένεια με το σίδηρο. Οι φερριτίνες πλούσιες σε L αλυσίδες συγκεντρώνουν ευκολότερα και αποδεσμεύουν δυσκολότερα το σίδηρο από ό,τι οι φερριτίνες πλούσιες σε H αλυσίδες, με αποτέλεσμα οι πρώτες να κυριαρχούν στα κύτταρα που αποθηκεύουν σίδηρο (Koorts & Viljoen 2007). Οι μηχανισμοί με τους οποίους ο σίδηρος συνδέεται με τη φερριτίνη δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητοί, φαίνεται όμως ότι περιλαμβάνουν τη μετατροπή του τοξικών ιόντων δισθενούς σιδήρου  $Fe^{2+}$  σε ακίνδυνα ιόντα τρισθενούς σιδήρου  $Fe^{3+}$ . Συνεπώς η φερριτίνη παίζει διπλό ρόλο, τόσο αποθηκευτικό όσο και κυτταροπροστατευτικό (Orino & Watanabe 2007).

Υπάρχουν δύο βασικές δεξαμενές φερριτίνης στον οργανισμό: Η ενδοκυττάρια δεξαμενή φερριτίνης του ήπατος, σπληνός και οστικού μυελού και η εξωκυττάρια δεξαμενή του

πλάσματος (Orino & Watanabe 2007). Σε περίπτωση αύξησης του ενδοκυττάριου σιδήρου αρχικά παρατηρείται αύξηση της ελεύθερης στο κυτταρόπλασμα φερριτίνης και ακολούθως της φερριτίνης των λυσοσωμάτων. Όταν η αποθηκευτική ικανότητα του κυτταροπλάσματος σε σίδηρο κορεσθεί, αρχίζει η παραγωγή αιμοσιδηρίνης μέσα στα λυσοσώματα (Jacobs 1985, Woods et al 1990). Η αιμοσιδηρίνη είναι μια άμορφη υδατοδιαλυτή ουσία, προϊόν αποδόμησης της φερριτίνης που παράγεται από μερική πρωτεόλυσης της αποφερριτίνης στα λυσοσώματα και απελευθέρωση σωματιδίων σιδήρου, τα οποία συσσωρεύονται σχηματίζοντας αδιάλυτα συγκρίματα (Jacobs 1985). Έτσι, σε αντίθεση με τη φερριτίνη που βρίσκεται τόσο μέσα στο κυτταρόπλασμα όσο και τα λυσοσώματα, η αιμοσιδηρίνη βρίσκεται μόνο μέσα στα λυσοσώματα. Σε περαιτέρω αύξηση της ποσότητας του σιδήρου, η ελεύθερη κυτταροπλασματική φερριτίνη αυξάνει μέχρι ενός σημείου και μετά σταθεροποιείται σχηματίζοντας επίπεδο (plateau). Το plateau της ενδοκυττάριας φερριτίνης είναι πιο υψηλό στα κύτταρα Kupffer του ΔΕΣ από ό,τι στα ηπατοκύτταρα. Αντίθετα, τα λυσοσώματα αυξάνουν σε μέγεθος και αριθμό, έτσι ώστε σε μεγάλη σιδήρωση το κύτταρο γεμίζει λυσοσώματα με αποτέλεσμα να μην διακρίνονται τα λοιπά ενδοκυττάρια οργανίδια (Cavill et al 1975, Iancu et al 1977).

#### *Τοξικότητα σιδήρου*

Ο σίδηρος που δεν είναι σταθερά συνδεδεμένος με τις πρωτεΐνες τρανσφερρίνη ή φερριτίνη είναι δυνητικά τοξικός, λόγω συμμετοχής σε αντιδράσεις σχηματισμού τοξικών ελεύθερων ριζών. Υπάρχουν δύο δεξαμενές τοξικού σιδήρου: Αυτή του μη συνδεδεμένου με τρανσφερρίνη σιδήρου (Non-transferrin-bound iron, NTBI) και αυτή του ενδοκυττάριου ασταθούς σιδήρου (Labile iron pool, LIP) (Rothmann et al 1992, Porter et al 2002, Chaston & Richardson 2003, Kohgo et al 2008). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο εξωκυττάριος σίδηρος που απελευθερώνεται από τα μακροφάγα συνδέεται κατά το πλείστον με την τρανσφερρίνη. Μια μικρότερη ποσότητα εξωκυττάριου σιδήρου (που αποτελεί τη δεξαμενή NTBI) συνδέεται με κιτρικό και αλβουμίνη, δημιουργώντας ασταθή σύμπλοκα, που δυνατόν

να συμμετάσχουν ως καταλύτες σε αντιδράσεις δημιουργίας τοξικών ελευθέρων ριζών. Η δεύτερη δεξαμενή τοξικού σιδήρου (αυτή του ενδοκυττάριου ασταθούς σιδήρου LIP), σχηματίζεται όταν ο σίδηρος της τρανσφερρίνης εισέρχεται μέσω ειδικών υποδοχέων του κυτταρικού τοιχώματος μέσα στο κυτταρόπλασμα (Rothman et al 1992, Breurer et al 2008). Ο ενδοκυττάριος σίδηρος που δεν χρησιμοποιείται άμεσα αποθηκεύεται στη μορφή της φερριτίνης και, όταν η αποθηκευτική δυνατότητα της φερριτίνης κορεσθεί, η περίσσεια σχηματίζει ασταθή σίδηρο LIP και αιμοσιδηρίνη (Chaston et al 2003, Roy & Enns 2000, Breurer et al 2008). Η δεξαμενή LIP περιέχει τόσο τρισθενή όσο και δισθενή σίδηρο. Ο σίδηρος λειτουργεί ως καταλύτης σε αντιδράσεις παραγωγής υδροξυλίου ( $H_2O_2 + O_2 \xrightarrow{Fe^{2+}} OH^{\bullet} + OH + O_2$ ) και αντιδρά με υπεροξειδία λιπιδίων και υδρογόνου κατά την αντίδραση Fenton ( $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{-1} + HO$ ), σχηματίζοντας ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου που καταστρέφουν τα το DNA και τις κυτταρικές μεμβράνες και οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο (Kohgo et al 2008). Υπάρχει λοιπόν μια ευαίσθητη ισορροπία ανάμεσα στον σίδηρο της φερριτίνης και στον τοξικό σίδηρο της LIP. Οι χυλικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται για την εξουδετέρωση του τοξικού σιδήρου διαθέτουν βιοδιαθεσιμότητα στις δεξαμενές τοξικού σιδήρου και χημική συγγένεια με τον σίδηρο, έτσι ώστε να δημιουργούν σταθερά και ταχέως αποβαλλόμενα σύμπλοκα (Kuschner et al 2001, Beutler et al 2003, Porter et al 2005).

## **2.2 Παθολογικές καταστάσεις σχετιζόμενες με την υπερφόρτωση σε σίδηρο**

Η απόλυτη αύξηση των αποθεμάτων σιδήρου στον οργανισμό ανεξαρτήτως μηχανισμού πρόκλησής της περιγράφεται με τον γενικό όρο «*υπερφόρτωση με σίδηρο*» (iron overload) ή απλά «*σιδήρωση*» (siderosis). Οι όροι *αιμοχρωμάτωση* (hemochromatosis) και *αιμοσιδήρωση* (hemosiderosis) χρησιμοποιούνται στην βιβλιογραφία για να περιγράψουν καταστάσεις που



χαρακτηρίζονται από παθολογικά αυξημένη εναπόθεση σιδήρου στον οργανισμό. Παρότι συχνά χρησιμοποιούνται σαν ταυτόσημες έννοιες, κατά τον παραδοσιακό ορισμό το κριτήριο διαφοροποίησής τους είναι η παρουσία ιστικής βλάβης (Finch & Finch 1955, Bacon 1989). Σύμφωνα με αυτό το κριτήριο, ο όρος *αιμοσιδήρωση* αναφέρεται στην εναπόθεση αιμοσιδηρίνης στους ιστούς χωρίς την ύπαρξη ιστικής βλάβης (πχ το 5-20% των χρόνιων αλκοολικών παρουσιάζουν αιμοσιδήρωση ήπατος χωρίς την παρουσία κίρρωσης) (Deugnier & Turlin 2007). Η χρήση του όρου δεν σημαίνει κατ'ανάγκην αύξηση των συνολικών αποθεμάτων σιδήρου του οργανισμού. Αιμοσιδήρωση μπορεί να εντοπίζεται και σε όργανα εκτός του ήπατος, όπως στους πνεύμονες (σε ιδιοπαθή πνευμονική αιμοσιδήρωση) και στους νεφρούς (σε νυκτερινή παροξυσμική αιμοσφαιρινουρία). Ο όρος *αιμοχρωμάτωση* αφορά την εναπόθεση σιδήρου στα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος και άλλων οργάνων (καρδιά, πάγκρεας, υπόφυση, επινεφρίδια) με επακόλουθη ιστική βλάβη (κίρρωση, ίνωση) και λειτουργική ανεπάρκεια.

Ως προς την αιτιολογία της, η υπερφόρτωση σε σίδηρο διακρίνεται σε πρωτοπαθή (συγγενή) και δευτεροπαθή (επίκτητη), όπως φαίνεται στον πίνακα 1 (Beutler 2007, Brandhagen et al 2002, Deugnier & Turlin 2007).

Η συχνότερη αιτία πρωτοπαθούς αιμοχρωμάτωσης είναι η ιδιοπαθής (συγγενής) αιμοχρωμάτωση, όπου ο σίδηρος προέρχεται από αυξημένη απορρόφηση από το εντερικό βλεννογόνο λόγω γονιδιακής βλάβης. Η δευτεροπαθής αιμοχρωμάτωση περιλαμβάνει α) περιπτώσεις πολυμεταγγιζόμενων ασθενών, όπου ο σίδηρος προέρχεται από καταστροφή των χορηγούμενων ερυθρών αιμοσφαιρίων στο ΔΕΣ β) περιπτώσεις αναποτελεσματικής ερυθροποίησης και δυσερυθροποίησης σε χρόνιες αναιμίες, όπου η περίσσεια σιδήρου προέρχεται από αυξημένη καταστροφή ανώμαλων ερυθρών στο ερυθρό μυελό αλλά και αυξημένη απορρόφηση σιδήρου από το έντερο λόγω αυξημένων αναγκών γ) περιπτώσεις χρόνιας ηπατικής νόσου (κυρίως αλκοολισμού και κίρρωσης), όπου υπάρχει εναπόθεση σιδήρου στο παρέγχυμα του ήπατος λόγω άμεσης τοξικότητας του αλκοόλ και ιστικής

καταστροφής. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το Δυσμεταβολικό σύνδρομο σιδήρωσης (*Dysmetabolic iron overload syndrome, DIOS*), μια διαταραχή ανεξήγητης ηπατικής σιδήρωσης με φυσιολογικό κορεσμό τρανσφερίνης (Deugnier & Turlin 2007).

Ως προς την κατανομή του σιδήρου στα κύτταρα, η αιμοχρωμάτωση/αιμοσιδήρωση διακρίνεται σε *παρεγχυματική* (στα παρεγχυματικά κύτταρα οργάνων), *μεσεγγχυματική* (στα κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος, ΔΕΣ) και *μεικτή* (Deugnier & Turlin 2007). Στην *παρεγχυματική* μορφή, ο σίδηρος προέρχεται από αυξημένη απορρόφηση από το έντερο και μέσω της πυλαίας φλέβας μεταφέρεται στο ήπαρ, όπου κατανέμεται στη μορφή κοκκίων στα ηπατοκύτταρα σε όλη την έκταση του δευτερογενούς λοβίου με βαθμιαία μειούμενη συγκέντρωση από την περιπυλαία προς την κεντρολοβιδιακή περιοχή. Σε αυτή την μορφή, τυπικά ο σίδηρος ανευρίσκεται μόνο στα ηπατοκύτταρα και μόνο σπάνια σε συνθήκες νέκρωσης των παρεγχυματικών κυττάρων είναι δυνατόν να εμφανιστούν κοκκία σιδήρου και σε μεσεγγχυματικά κύτταρα Kupffer. Στη *μεσεγγχυματική* μορφή, η περίσσεια σιδήρου προέρχεται από καταστροφή ερυθρών αιμοσφαιρίων στο ΔΕΣ και συνεπώς ο σίδηρος εναποτίθεται στα μακροφάγα του σπλήνα, του οστικού μυελού, στα κύτταρα Kupffer και στα πυλαία μακροφάγα του ήπατος. Τα σιδηροφόρα κύτταρα ανευρίσκονται είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες χωρίς συστηματική κατανομή. Σε προχωρημένα στάδια μαζικής σιδήρωσης, όταν οι αποθήκες του ΔΕΣ κορεσθούν, κοκκία σιδήρου εναποτίθενται και σε παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος και άλλων οργάνων με άτακτο και ανομοιογενή τρόπο. Η *μεικτή* μορφή περιέχει ιστολογικά χαρακτηριστικά και των δύο τύπων και απαντάται σε καταστάσεις μαζικής σιδήρωσης (Deugnier & Turlin 2007).

Η παρεγχυματική υπερφόρτωση σε σίδηρο χαρακτηριστικά απαντάται σε ιδιοπαθή αιμοχρωμάτωση, ενώ η υπερφόρτωση του ΔΕΣ σε μεταγγιζόμενους ασθενείς. Μεικτή σιδήρωση απαντάται σε ασθενείς με αναποτελεσματική ερυθροποίηση που μεταγγίζονται (πχ πολυμεταγγιζόμενοι θαλασσαιμικοί ασθενείς) αλλά και σε χρόνια ηπατική νόσο (Deugnier & Turlin 2007).

**Πίνακας 1. Μορφές υπερφόρτωσης σε σίδηρο**

<b>Υπερφόρτωση σε σίδηρο</b>	
<b>Συγγενής (Πρωτοπαθής)</b>	<b>Επίκτητη (Δευτεροπαθής)</b>
<b>Αυτοσωμική επικρατής</b> Αφρικανική (Bantu) αιμοχρωμάτωση Μεταλλάξεις της φερροπορτίνης <b>Αυτοσωμική υπολειπόμενη</b> Ιδιοπαθής Αιμοχρωμάτωση σχετιζόμενη με το γονίδιο <i>HFE</i> Ιδιοπαθής Αιμοχρωμάτωση μη σχετιζόμενη με το γονίδιο <i>HFE</i> Νεανική αιμοχρωμάτωση Νεογνική αιμοχρωμάτωση Συγγενής ατρανσφεριναίμια Συγγενής ασερουλοπλασμιναιμία	<b>Χρόνια αναιμία</b> Μεσογειακή αναιμία Δρεπανοκυτταρική αναιμία Σιδηροβλαστική αναιμία Δυσερυθροποιητική αναιμία Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα <b>Εξωγενής χορήγηση σιδήρου</b> Μεταγγίσεις αίματος Ενέσεις δεξτράνης <b>Ηπατική νόσος</b> Αλκοολική, Μη αλκοολική ηπατίτιδα Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα Πορφυρία Πυλαισυστηματική αναστόμωση Δυσμεταβολικό σύνδρομο σιδήρωσης( <i>DIOS</i> )

### **2.3 Μέθοδοι προσδιορισμού σιδήρου**

Ο τακτικός και ακριβής υπολογισμός του φορτίου σιδήρου του οργανισμού είναι απαραίτητος για την αποτελεσματική παρακολούθηση των μεταγγιζόμενων ασθενών με βΜΑ, ώστε να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της θεραπείας αποσιδήρωσης και να εξατομικευτεί το θεραπευτικό σχήμα. Διάφορες μέθοδοι έχουν προταθεί για την μέτρηση των αποθεμάτων σιδήρου του οργανισμού σε μεταγγιζόμενους ασθενείς (Jensen 2004, Brittenham & Badman 2003).

#### ***Βιοψία Ήπατος***

Η βιοψία ήπατος με άμεσο βιοχημικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης του αποθηκευμένου σιδήρου του ήπατος (Liver Iron Concentration, *LIC*) θεωρείται ο πιο ακριβής τρόπος μέτρησης του φορτίου σιδήρου και η μέθοδος αναφοράς για σύγκριση με άλλες τεχνικές (Pirrpard 1989). Έχει άλλωστε αποδειχθεί ότι η συγκέντρωση σιδήρου του ήπατος συσχετίζεται στενά με το συνολικό φορτίο σιδήρου του οργανισμού, όπως

υπολογίζεται από φλεβοτομή (συνολικό φορτίο σιδήρου σε mg/kg σωματικού βάρους = 10.6 x συγκέντρωση σιδήρου ήπατος σε mg/gr ξηρού βάρους ήπατος) (Brissot et al 1981). Η διαδερμική βιοψία ήπατος δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μέθοδος ρουτίνας για την παρακολούθηση των μεταγγιζόμενων ασθενών, αφού, ως επεμβατική μέθοδος, εκτός από δυσφορία είναι δυνατόν να προκαλέσει και ένα αριθμό επιπλοκών. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι ένα μόνο δείγμα ηπατικού ιστού μπορεί να είναι ανακριβές, ιδίως σε περιπτώσεις κίρρωσης, λόγω ανομοιογενούς κατανομής του σιδήρου (Ambu et al 1995). Έτσι, είναι προτιμότερη η χρήση μη επεμβατικών μεθόδων ποσοτικού προσδιορισμού σιδήρου.

### ***Φερριτίνη ορού***

Η φερριτίνη είναι ο συχνότερα χρησιμοποιούμενος ορολογικός δείκτης μέτρησης του φορτίου σιδήρου του οργανισμού. Τιμές κάτω από 20 ng/ml υποδηλώνουν σιδηροπενία, ενώ πάνω από 100 ng/ml για τις γυναίκες και 250 ng/ml για τους άνδρες αντιστοιχούν σε αύξηση του σιδήρου του οργανισμού. Τιμές πάνω από 7000 ng/ml συσχετίζονται με αναστολή της ανάπτυξης (Finch et al 1986). Το ποσό της φερριτίνης που εκκρίνεται από τα κύτταρα στον ορό είναι ανάλογο του συνολικού ποσού φερριτίνης του σώματος (Finch et al 1986). Έχει αποδειχθεί ότι τα επίπεδα φερριτίνης του ορού συσχετίζονται στενά το ποσό του μεταγγιζόμενου αίματος (για μεταγγίσεις ως 100 μονάδες αίματος) καθώς και με τη συγκέντρωση σιδήρου του ήπατος LIC (Jensen 2004, Brittenham & Badman 2003).

Η φερριτίνη, ως πρωτεΐνη οξείας φάσεως, αυξάνεται σε καταστάσεις φλεγμονής (Baynes et al 1986), αιμόλυσης (Cavill 1999), κακοήθειας (Kew et al 1978) και ηπατικής δυσλειτουργίας (Orino & Watanabe 2007). Στους μεταγγιζόμενους ασθενείς με βΜΑ οι παραπάνω καταστάσεις συχνά συνυπάρχουν, με αποτέλεσμα η μέτρηση της φερριτίνης να μη είναι πάντα αξιόπιστος δείκτης αιμοσιδήρωσης (Mazza et al 1995, Jensen 2004). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι σε ασθενείς που μεταγγίστηκαν με περισσότερες από 100 μονάδες αίματος ή σε ασθενείς με φερριτίνη πάνω από 7000 ng/ml, τα επίπεδα της φερριτίνης ορού δεν

αντιπροσωπεύουν την συγκέντρωση σιδήρου του ήπατος (Jensen 2004, Worwood et al 1980).

### ***Υπολογιστική Τομογραφία***

Η Υπολογιστική Τομογραφία (ΥΤ) είναι δυνατόν να ανιχνεύσει την παρουσία σιδήρου στο ήπαρ, το οποίο απεικονίζεται υπέρπυκνο, λόγω αύξησης του γραμμικού συντελεστή εξασθένησης δέσμης, όταν διέρχεται διαμέσου ενός στοιχείου με υψηλό ατομικό αριθμό όπως ο σίδηρος (Long et al 1980, Guyader et al 1989). Ως μέτρο των αποθεμάτων σιδήρου χρησιμοποιήθηκε η πυκνότητα σε μονάδες Housefield που έχει βρεθεί ότι συσχετίζεται με την συγκέντρωση σιδήρου του ήπατος (LIC) με συντελεστή συσχέτισης που κυμαίνεται  $r=0.6-0.99$  (Houang et al 1979, Goldberg et al 1982, Bambiker et al 1987, Guyader et al 1989). Ωστόσο, η μέθοδος δεν έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη στην κλινική πράξη λόγω επίδρασης στην πυκνότητα του ήπατος άλλων διάχυτων παθήσεων εκτός της σιδήρωσης (πχ ίνωση, λιπώδης διήθηση) (Mitnick et al 1981, Guyader et al 1989, Oelckers & Graeff 1999) και λόγω χαμηλής ευαισθησίας σε ασθενείς με μικρού βαθμού σιδήρωση (Nielsen et al 2002, Guyader et al 1989).

### ***Μέτρηση Μαγνητικής Επιδεκτικότητας με μέθοδο SQUID***

Η εφαρμογή του μαγνητικού συντονισμού για μέτρηση του φορτίου σιδήρου βασίζεται στην ιδιότητα του αποθηκευμένου σιδήρου, ως παραμαγνητικής ουσίας, να προκαλεί δραματική πτώση του χρόνου T2. Η ιδιότητα αυτή είναι δυνατόν να μετρηθεί τόσο σε συσκευές μαγνητικού συντονισμού ιατρικής απεικόνισης (MRI) όσο και σε συσκευές SQUID (superconducting quantum interference device).

Η τελευταία τεχνική αναπτύχθηκε το 1967 και βασίζεται στη μέτρηση της δύναμης της παραμαγνητικής απάντησης του σιδήρου της φερριτίνης και αιμοσιδηρίνης υπό την επίδραση ενός σταθερού μαγνητικού πεδίου με χρήση ενός μαγνητόμετρου υπεραγωγιμότητας (Bauman & Harris 1967, Nielsen et al 2002). Η τεχνική αποδείχθηκε πολύ αξιόπιστη και έχει χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη σε μελέτες μέτρησης της

αποτελεσματικότητας της θεραπείας αποσιδήρωσης (Brittenham et al 1994, Olivieri et al 1998, Brittenham & Badman 2003), για υπολογισμό του συνολικού φορτίου σιδήρου ήπατος και σπληνός (Fischer et al 1999, Nielsen et al 1995) και για διερεύνηση της σχέσης φερριτίνης και LIC (Fischer et al 1999).

Η μέθοδος έχει σοβαρούς περιορισμούς, που περιλαμβάνουν την περιορισμένη διαθεσιμότητα (λιγότερες από 5 συσκευές σε όλον τον κόσμο), την αδυναμία μέτρησης σιδήρου του μυοκαρδίου και το υψηλό κόστος (λόγω απαίτησης υγρού ηλίου ως ψυχραντικού μέσου της συσκευής υπεραγωγιμότητας) (Brittenham & Badman 2003).

### **III. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΙΔΗΡΟΥ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (ΜΣ)**

#### ***3.1 Βασικές Αρχές Απεικόνισης με ΜΣ***

Η απεικόνιση με μαγνητικό συντονισμό (ΜΣ) χρησιμοποιεί τις μαγνητικές ιδιότητες του ανθρώπινου σώματος για να δημιουργήσει τρισδιάστατες εικόνες των οργάνων και ιστών. Οι πυρήνες υδρογόνου (πρωτόνια) του νερού στο σώμα αντιστοιχούν σε φορτισμένα σωματίδια που περιστρέφονται γύρω από τον άξονά τους και γύρω από το κατακόρυφο επίπεδο εκτελώντας ταυτόχρονα ιδιοπεριστροφική (spin) και μεταπτωτική (precession) κίνηση. Τα κινούμενα φορτία παράγουν γύρω τους μαγνητικό πεδίο ανάλογο ενός μαγνήτη. Ο άξονας της ιδιοπεριστροφικής κίνησης περιγράφεται από ένα βέλος και ονομάζεται μαγνητικός άξονας. Όταν δεν εφαρμόζεται εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, οι άξονες περιστροφής των πρωτονίων των ιστών είναι τυχαία προσανατολισμένοι στο χώρο (Καραντάνας 2003, Reimer et al 2003, Armstrong & Keevil 1991).

Τα συστήματα μαγνητικής τομογραφίας δημιουργούν ένα δυνατό μαγνητικό πεδίο με διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος μέσα από σωληνωτά πηνία υπεραγωγιμότητας. Όταν ο ασθενής τοποθετηθεί σε ισχυρό εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, ο άξονας περιστροφής των

πρωτονίων προσανατολίζεται παράλληλα με τις δυναμικές γραμμές του πεδίου και η συχνότητα περιστροφής τους εξαρτάται από την ένταση του πεδίου. Σε κατάσταση ισορροπίας μέσα σε ένα στατικό μαγνητικό πεδίο, τα πρωτόνια δεν περιστρέφονται ταυτόχρονα, παρόλο που έχουν την ίδια συχνότητα περιστροφής (Καραντάνας 2003, Reimer et al 2003, Armstrong & Keevil 1991). Στη συνέχεια, ο μαγνητικός τομογράφος εκπέμπει ηλεκτρομαγνητικό κύμα με συγκεκριμένη ραδιοσυχνότητα (RF pulse) και κατεύθυνση κάθετη προς το στατικό μαγνητικό πεδίο (RF  $90^0$ ). Τα ραδιοκύματα επιδρούν με δύο τρόπους στα πρωτόνια, τα οποία: α) απορροφούν την ενέργεια του ραδιοπαλμού και διεγείρονται (μεταπηδούν σε μεγαλύτερη ενεργειακή κατάσταση) και β) έρχονται σε «φάση» (κινούνται με ίδια γωνία περιστροφής), ώστε η περιστροφή τους εκτρέπεται κατά το εγκάρσιο επίπεδο (επίπεδο κάθετο προς τον επιμήκη άξονα του συστήματος) και δημιουργεί την εγκάρσια μαγνήτιση (transverse magnetization). Η εγκάρσια μαγνήτιση παράγει τάση που ανιχνεύεται στα πηνία-δέκτες των ραδιοκυμάτων με τη μορφή ηλεκτρομαγνητικού σήματος (εξ'έπαγωγής σήμα) (Καραντάνας 2003, Reimer et al 2003, Armstrong & Keevil 1991).

Αμέσως μετά την παύση του ραδιοπαλμού RF: α) τα πρωτόνια επανέρχονται σε παράλληλη με το πεδίο θέση αποδίδοντας την ενέργεια που είχαν αποκτήσει στο περιβάλλον και β) τα πρωτόνια σταδιακά σταματούν να είναι σε φάση. Αναλύοντας τη συχνότητα των σημάτων που εκπέμπονται από τα πρωτόνια σχηματίζεται η εικόνα. Χρησιμοποιώντας βαθμιθωτά μαγνητικά πεδία (gradients) που μεταβάλλονται γραμμικά στο χώρο δημιουργούνται μεταβολές του μαγνητικού πεδίου που μεταβάλλουν την περιστροφική συχνότητα των πρωτονίων. Εφαρμόζοντας βαθμιθωτά πηνία κατά μήκος των 3 αξόνων στο χώρο είναι δυνατόν να προσδιοριστεί η ακριβής θέση του πρωτονίου στο χώρο και παράγονται εγκάσιες, οβελιαίες και στεφανιαίες εικόνες (Καραντάνας 2003, Reimer et al 2003).

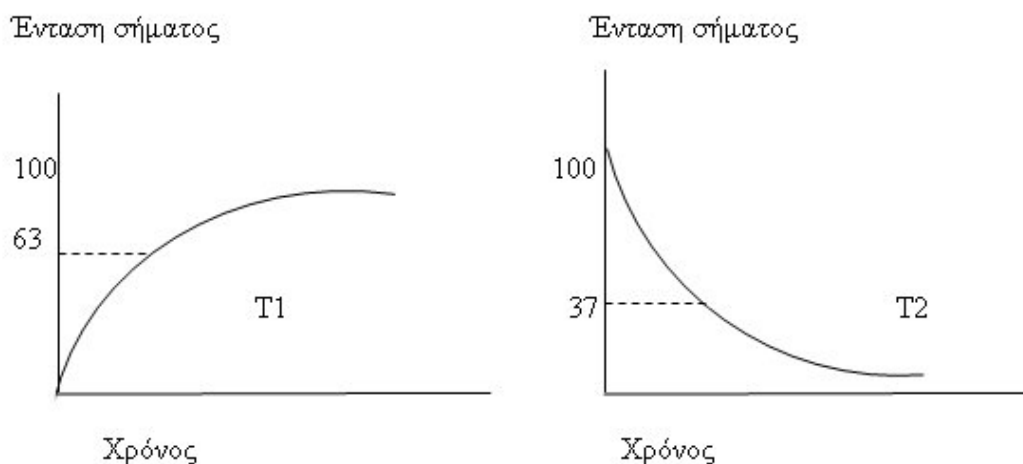
### ***Χρόνοι αποκατάστασης T1 και T2 και χρόνος T2\****

Αποκατάσταση (relaxation) είναι η διαδικασία απελευθέρωσης της ενέργειας από τα πρωτόνια και η επαναφορά τους στην προηγούμενη κατάσταση. Ο χρόνος αποκατάστασης είναι ο χρόνος που απαιτείται για μείωση της μαγνήτισης στο εγκάρσιο επίπεδο και επαναφορά της στον κάθετο άξονα (Pykett et al 1982, Armstrong & Keevil 1991, Καραντάνας 2003). Οι χρόνοι αποκατάστασης δεν αφορούν το κάθε μονήρες πρωτόνιο αλλά ολόκληρο τον ιστό και αντιστοιχούν στην μέση τιμή όλων των μετρήσεων. Ο χρόνος αποκατάστασης χαρακτηρίζεται από δύο χρονικές σταθερές α) την παράμετρο T1 ή επιμήκη χρόνο αποκατάστασης (longitudinal relaxation time) που αντιστοιχεί στο χρονικό διάστημα που χρειάζονται οι διεγερμένοι πυρήνες για να μεταφέρουν σε μόρια του περιβάλλοντος την ενέργεια που απορρόφησαν από τον παλμό RF β) την παράμετρο T2 ή εγκάρσιο χρόνο αποκατάστασης (transverse relaxation time) που αντιστοιχεί στο χρονικό διάστημα αποκατάστασης των πρωτονίων κατά το εγκάρσιο επίπεδο από τη στιγμή της διακοπής του παλμού RF μέχρι το μηδενισμό της εγκάρσιας μαγνήτισης. Επειδή η χαλάρωση ακολουθεί εκθετική συμπεριφορά, ως χρόνος T1 (σε ms) ορίζεται ως το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την αποκατάσταση του 63% της αρχικής διαμήκουσ μαγνήτισης και ως χρόνος T2 ο χρόνος που απαιτείται για να μειωθεί η εγκάρσια μαγνήτιση στο 37% της αρχικής της τιμής (Καραντάνας 2003) (Σχήμα 1).

Ο χρόνος T1 επηρεάζεται από την ταχύτητα με την οποία αποδίδεται ενέργεια στο περιβάλλον μοριακό πλέγμα (γι' αυτό και ονομάζεται και χρόνος αποκατάστασης πλέγματος πρωτονίων, spin-lattice relaxation time). Ο χρόνος T2 εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις των πρωτονίων και την ταχύτητα της μοριακής κίνησης και γι' αυτό ονομάζεται και χρόνος αποκατάστασης πρωτονίων-πρωτονίων (spin-spin relaxation time). Ο χρόνος T1 είναι πάντα μεγαλύτερος του χρόνου T2 ή το πολύ ίσος, όπως στο νερό (Καραντάνας 2003).



**Σχήμα 1. Οι καμπύλες χρόνου αποκατάστασης T1 και T2**



Οι παράμετροι T1 και T2 επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, οι σημαντικότεροι από τους οποίους όσον αφορά στην απεικόνιση βιολογικών συστημάτων είναι η ένταση του μαγνητικού πεδίου, η θερμοκρασία και η περιεκτικότητα σε νερό (Pykett et al 1982). Σε στερεά και σε χαμηλές θερμοκρασίες η κίνηση των μορίων είναι περιορισμένη και έτσι ο χρόνος T1 είναι μεγάλος (της τάξεως των sec) και ο χρόνος T2 μικρός (της τάξεως των msec). Στα υγρά και σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες οι χρόνοι T1 και T2 είναι περίπου ίσοι (2 sec στο νερό). Αν ο λόγος T2/T1 πλησιάζει το 1, τότε ο ιστός είναι σχετικά υδαρής, ενώ αν το πηλίκο είναι μικρό είναι συμπαγέστερος και με μικρότερη περιεκτικότητα σε νερό (Pykett et al 1982, Armstrong & Keevil 1991, Καραντάνας 2003).

Είναι γνωστό ότι τα στατικά μαγνητικά πεδία παρουσιάζουν ανομοιογένεια που προέρχεται από 3 πηγές: από ατέλειες του κατασκευαστή, από διαφορές στο βαθμό μαγνήτισης των ιστών (πχ οστό, αέρας) που παραμορφώνουν το τοπικό πεδίο πλησίον των περιοχών αυτών και από την παρουσία βαθμιδωτών πεδίων (Καραντάνας 2003). Ο χρόνος T2\* είναι μια χρονική σταθερά που περιγράφει την απώλεια της συμφασικότητας των πυρήνων που είναι προσανατολισμένοι σε μια γωνία ως προς το πεδίο λόγω των αλληλεπιδράσεων spin-spin μεταξύ των πρωτονίων (όπως και στον χρόνο T2) αλλά και λόγω

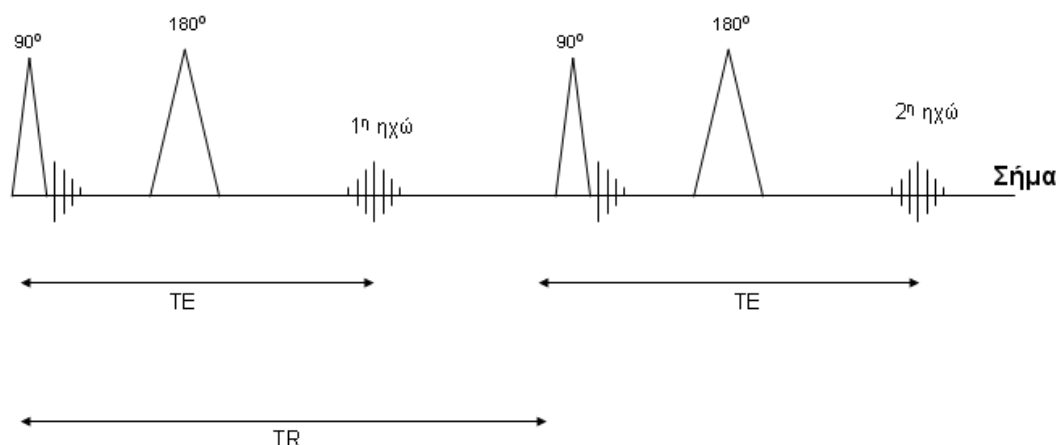
των ανομοιογενειών του στατικού μαγνητικού πεδίου. Ο χρόνος  $T2^*$  είναι μικρότερος από τον χρόνο  $T2$ , επειδή στον πρώτο συμμετέχει και το κλάσμα εξασθένησης από τις τοπικές ανομοιογένειες του πεδίου ( $1/T2^*=1/T2$  ανομοιογένεια +  $1/T2$  χημικό περιβάλλον). Η επίδραση των τοπικών ανομοιογενειών του πεδίου περιορίζεται με την εφαρμογή ενός RF παλμού  $180^\circ$  μετά τον  $90^\circ$  RF παλμό στην spin-echo ακολουθία (Καραντάνας 2003).

### ***Ακολουθίες παλμών***

Ακολουθία παλμών (pulse sequence) είναι ο συνδυασμός βαθμιδωτών πεδίων, παλμών RF, χρονικών διαστημάτων δειγματοληψίας σήματος και χρονικών μεσοδιαστημάτων όλων των παραπάνω, με σκοπό τη δημιουργία μιας εικόνας μαγνητικής τομογραφίας (Καραντάνας 2003). Μια ακολουθία παλμών αποτελείται από σειρά διαδοχικών παλμών ( $90^\circ$ ,  $180^\circ$ , γενικότερα  $\theta^\circ$ ) μεταξύ των οποίων παρεμβάλλεται χρονικό διάστημα καθυστέρησης TR (Time to Repeat) και οι οποίοι εφαρμόζονται για διάστημα TE (Time to Echo). Κάθε ακολουθία παλμών είναι συνεπώς μια εξίσωση που εκφράζει την ένταση του σήματος ως συνάρτηση της πυκνότητας πρωτονίων και των παραμέτρων TR, TE, T1, T2 και  $\theta^\circ$ .

Η ακολουθία παλμών *spin-echo* (SE) είναι η συχνότερα χρησιμοποιούμενη ακολουθία παλμών. Η βασική της σύνθεση περιλαμβάνει ένα παλμό  $90^\circ$  και έναν ή περισσότερους παλμούς επανεστίασης  $180^\circ$  για τη δημιουργία της ηχούς (Σχ 2). Αν μετά την εκπομπή του παλμού  $90^\circ$  εκπέμπεται δεύτερος παλμός  $180^\circ$ , τα πρωτόνια που έχουν ήδη αρχίσει να περιστρέφονται με διαφορετικές συχνότητες στρέφονται κατά  $180^\circ$  σε σχέση με τον άξονα περιστροφής τους τη δεδομένη στιγμή. Όταν ο παλμός  $180^\circ$  διακοπεί, τα πρωτόνια κινούνται αντίθετα από προηγουμένως. Ο παλμός  $180^\circ$  δρα ως κάτοπτρο, έτσι ώστε να προκαλεί εξάλειψη της επίδρασης της ανομοιογένειας του πεδίου. Η εξάλειψη αυτή πραγματοποιείται στο μέσον μεταξύ δύο διαδοχικών παλμών  $180^\circ$  και οδηγεί στην εκπομπή σήματος που ονομάζεται σήμα ηχούς (spin echo signal). Ο χρόνος μεταξύ διέγερσης και

μέγιστης τιμής σήματος είναι ο χρόνος TE. Ο χρόνος μεταξύ του ενός παλμού  $90^\circ$  και του επόμενου είναι ο χρόνος TR (Σχ 2) (Καραντάνας 2003).



**Σχήμα 2. Ακολουθία παλμών spin-echo (SE)**

Στην κλινική πράξη πολλές SE ακολουθίες προστίθενται με σκοπό την αύξηση του σήματος. Τρεις τύποι ακολουθιών spin echo χρησιμοποιούνται (Καραντάνας 2003):

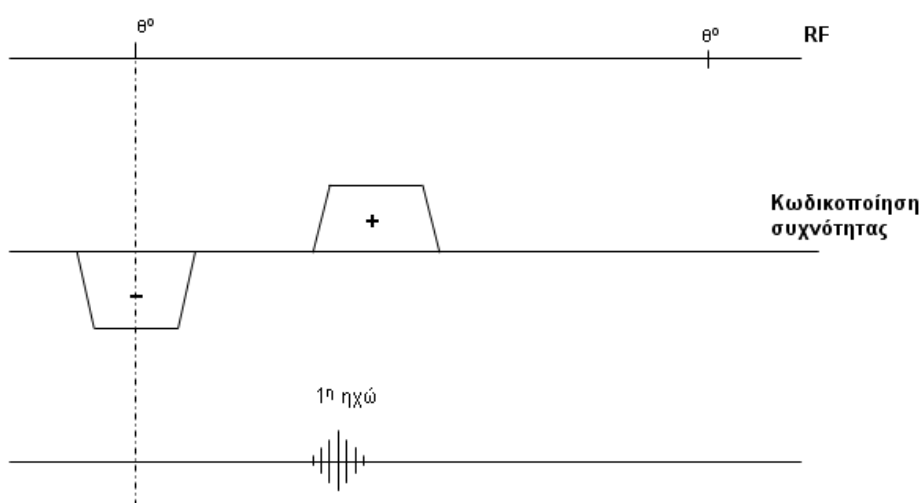
A) Η τυπική spin echo. Εφαρμόζεται για δημιουργία T1 προσανατολισμού εικόνας. Κάθε ηχώ μετράται με τον ίδιο χρόνο TE αλλά με διαφορετική ένταση του βαθμιδωτού πεδίου

B) Η τυπική multi echo. Για κάθε επιπλέον ηχώ εφαρμόζεται ένας παλμός  $180^\circ$ . Η ακολουθία εφαρμόζεται για την δημιουργία εικόνων πυκνότητας πρωτονίων με βραχύ χρόνο TE και εικόνων T2 προσανατολισμού με μεγάλο χρόνο TE

Γ) Η γρήγορη Fast ή Turbo spin-echo. Η εφαρμογή βαθμιδωτών πεδίων και μικρών γωνιών απόκλισης έχει σκοπό τη μείωση του χρόνου των συμβατικών ακολουθιών παλμών. Στις ακολουθίες TSE αντί για την εφαρμογή ενός βαθμιδωτού πεδίου κωδικοποίησης φάσης μετά από κάθε παλμό  $90^\circ$  εφαρμόζεται ένα νέο πεδίο κωδικοποίησης φάσης πριν από τη λήψη κάθε σήματος spin echo.

Οι ακολουθίες παλμών βαθμιδωτής ηχούς *Gradient Echo (GRE)* έχουν την ίδια βασική τεχνική με τις spin-echo αλλά λείπει ο παλμός  $180^\circ$ . Όπως φαίνεται στο σχήμα 3,

εφαρμόζουμε ένα μονήρη παλμό γωνίας  $\theta$  με ταυτόχρονη ενεργοποίηση ενός βαθμιδωτού πεδίου επιλογής. Μετά τη διέγερση των πρωτονίων της τομής που επιλέχθηκε, ένα από τα βαθμιδωτά πεδία γίνεται αρνητικό, προκαλώντας σκόπιμη απώλεια φάσεως των πρωτονίων στο επίπεδο του βαθμιδωτού πεδίου. Ακολουθεί αναστροφή του ίδιου πεδίου (σε διπλάσιο χρονικό διάστημα) που επαναφέρει τα πρωτόνια σε φάση και προκαλεί την παραγωγή ηχούς (gradient echo).



**Σχήμα 3. Ακολουθία παλμών gradient echo (GRE)**

Η βασική διαφορά μεταξύ GRE και SE είναι ότι στην πρώτη περίπτωση η επανεστίαση των σημάτων από το βαθμιδωτό πεδίο διορθώνει μόνο τις απώλειες φάσης που προκύπτουν από το ίδιο το βαθμιδωτό πεδίο και όχι από ανομοιογένειες του πεδίου και φαινόμενα επιδεκτικότητας βιολογικών ουσιών, όπως συμβαίνει στην περίπτωση ακολουθιών SE. Ο χρόνος εγκάρσιας μαγνήτισης χωρίς την παρουσία του παλμού επαναφοράς  $180^\circ$  είναι ο χρόνος  $T2^*$ , που αντανακλά τόσο το αληθές  $T2$  όσο και τις ανομοιογένειες του πεδίου και τα φαινόμενα μαγνητικής επιδεκτικότητας. Αυτή η αυξημένη ευαισθησία των ακολουθιών GRE σε φαινόμενα μαγνητικής επιδεκτικότητας είναι χρήσιμη στην απεικόνιση παραμαγνητικών βιολογικών ουσιών, όπως σε περιπτώσεις αιμορραγικών

βλαβών και αιμοσιδήρωσης. Οι ακολουθίες GRE είναι επίσης ταχύτερες από τις SE, επιτρέποντας την λήψη των εικόνων σε διάστημα μιας αναπνοής, μειώνοντας έτσι τα τεχνικά σφάλματα λόγω αναπνευστικών κινήσεων (Καραντάνας 2003, Reimer 2003).

### **3.2 Βιολογικές Παραμαγνητικές Ουσίες**

Ως *μαγνητική επιδεκτικότητα (susceptibility)* χαρακτηρίζεται η ιδιότητα ενός υλικού να μαγνητίζεται από το στατικό μαγνητικό πεδίο. Με βάση την συμπεριφορά τους όταν τοποθετούνται μέσα σε ένα στατικό μαγνητικό πεδίο, οι ουσίες διακρίνονται σε διαμαγνητικές, παραμαγνητικές, υπερπαραμαγνητικές και σιδηρομαγνητικές (πίνακας 2). (Brittenham and Badman 2003, Καραντάνας 2003).

Οι *διαμαγνητικές (diamagnetic)* ουσίες δημιουργούν γύρω τους ένα πεδίο μικρής έντασης και αντίθετης κατεύθυνσης από το στατικό μαγνητικό πεδίο και έτσι προκαλούν μείωση του εφαρμοζόμενου πεδίου. Το 99% των ανθρώπινων ιστών ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία. Οι *σιδηρομαγνητικές (ferromagnetic)* ουσίες είναι ουσίες σε συμπαγή ή κρυσταλλική μορφή (σίδηρος, κοβάλτιο, νικέλιο) που μετά την έκθεσή τους σε στατικό μαγνητικό πεδίο δημιουργούν ισχυρό και ίδιας διεύθυνσης μαγνητικό πεδίο και μαγνητίζονται μόνιμα (μετατρέπονται, δηλαδή, σε μαγνήτες). Καμία βιολογική ουσία δεν ανήκει σε αυτήν την κατηγορία.

*Παραμαγνητικές (paramagnetic)* ονομάζονται οι ουσίες που ο μαγνητικός τους άξονας είναι ομόρροπος και παράλληλος με αυτόν του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου αλλά ο προσανατολισμός αυτός χάνεται όταν απομακρυνθούν από το εξωτερικό πεδίο. Οι ουσίες αυτές αυξάνουν την ένταση του εφαρμοζόμενου πεδίου, γιατί περιέχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια των οποίων τα μαγνητικά ανύσματα ευθυγραμμίζονται με το εξωτερικό πεδίο και το ενισχύουν. Παραδείγματα παραμαγνητικών ουσιών είναι οι ελεύθερες οργανικές ρίζες, το μοριακό O<sub>2</sub>, το μαγγάνιο, οι ελεύθερες ρίζες αζώτου και άλλα. Οι

υπερπαραμαγνητικές ενισχύουν ακόμη περισσότερο το εξωτερικό μαγνητικό πεδίο. Στην κατηγορία αυτή ανήκει η αιμοσιδηρίνη. Τα μαγνητικά πεδία των ασύζευκτων ηλεκτρονίων των παραμαγνητικών ουσιών μειώνουν δραστικά τον χρόνο αποκατάστασης T1 και T2 των πρωτονίων του περιβάλλοντος. Το φαινόμενο ονομάζεται «ενίσχυση αποκατάστασης πρωτονίων» (proton relaxation enhancement) (Καραντάνας 2003).

**Πίνακας 2. Οι μαγνητικές επιδεκτικότητες και η επίδραση των ουσιών στο μαγνητικό πεδίο**

ΟΥΣΙΕΣ	Μαγνητική Επιδεκτικότητα	Επίδραση στο πεδίο
Διαμαγνητικές	$\sim 10^{-6}$	Μείωση
Παραμαγνητικές	$\sim 10^{-2} - 10^{-4}$	Αύξηση
Υπερπαραμαγνητικές	$\geq 1$	Αύξηση
Σίδηρομαγνητικές	$\geq 1$	Αύξηση

Η μαγνητική επιδεκτικότητα προκαλεί τεχνικά σφάλματα (artifacts) λόγω ανομοιογένειας του πεδίου. Επειδή οι ανομοιογένειες είναι στατικές, το τεχνικό σφάλμα διορθώνεται με τον παλμό  $180^\circ$  στις SE ακολουθίες, αλλά στις ακολουθίες GRE επιτείνεται με απώλεια σήματος λόγω φαινομένων T2\*. Συνεπώς, οι GRE ακολουθίες έχουν τη μεγαλύτερη ευαισθησία στα φαινόμενα μαγνητικής επιδεκτικότητας, ενώ οι TSE ακολουθίες διαθέτουν τη μικρότερη ευαισθησία, λόγω εφαρμογής πολλών παλμών  $180^\circ$  (Καραντάνας 2003).

Από τα πρώτα χρόνια της εφαρμογής της Μαγνητικής Τομογραφίας παρατηρήθηκε ότι η εναπόθεση σιδήρου στο ήπαρ προκαλούσε μείωση της έντασης σήματος σε T1 και T2 ακολουθίες λόγω των παραμαγνητικών ιδιοτήτων του αποθηκευμένου σιδήρου στη μορφή της φεριτίνης και αιμοσιδηρίνης (Doyle et al 1982, Bernardino et al 1983, Runge et al 1983,

Stark et al 1983, Brown et al 1985, Stark 1985, Vymazal et al 1992 & 2000, Gossuin et al 2004). Ένα σύνολο παραγόντων που αφορούν τις χημικές ιδιότητες των παραπάνω ουσιών (διαλυτότητα στο νερό, μέγεθος συμπλεγμάτων, το φορτίο σιδήρου) καθώς και τεχνικοί παράγοντες (ένταση του μαγνητικού πεδίου, εφαρμοζόμενες ακολουθίες) ευθύνονται για τα παραπάνω φαινόμενα (Jensen 2004).

### **3.3 Μεθοδολογία ποσοτικού προσδιορισμού σιδήρου με ΜΣ**

Οι μεθοδολογία για την ποσοτική μέτρηση του σιδήρου με χρήση ΜΣ περιλαμβάνει τεχνικές μέτρησης λόγω έντασης σήματος σε T2 SE και T2\* GRE προσανατολισμού ακολουθίες καθώς και τεχνικές μέτρησης παραμέτρων αποκατάστασης (χρόνοι T2 και T2\*, λόγοι R1, R2).

#### **3.3.1 Τεχνικές Μέτρησης Χρόνου T2 (T2 relaxometry)**

Ο υπολογισμός του χρόνου T2 γίνεται με διάφορες τεχνικές, εκ των οποίων η συχνότερα απαντούμενη στην κλινική πράξη είναι η τεχνική Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG). Πρόκειται για μια SE ακολουθία που χρησιμοποιεί πολλαπλούς (2-32) παλμούς επαναφοράς 180° ισοκατανεμημένους στο χρόνο, καθένας από τους οποίους ακολουθείται από μια ηχώ (Carr & Purcell 1954, Meiboom & Gill 1958). Μετά τη λήψη του σήματος, δημιουργούνται αυτόματα χάρτες χρόνων T2 με χρήση ενός γραμμικού λογαριθμικού μοντέλου αντιστοίχισης του κάθε στοιχείου της εικόνας (pixel). Οι τιμές των εντάσεων σήματος μετρούμενες με την τεχνική επιλογής περιοχών ενδιαφέροντος (ROI) αντιστοιχούν στην μέση τιμή του χρόνου T2 της περιοχής εντός του ROI (In den Kleef & Cuppen 1987). Για την αποφυγή τεχνικών σφαλμάτων κίνησης γίνεται χρονισμός με την αναπνοή, ώστε να γίνει η λήψη των δεδομένων στην τελοεκπνευστική φάση. Με την χρήση κωδικοποιημένων χαρτών τιμών T2 επιτυγχάνεται επίσης η απεικόνιση της ανομοιογένειας στην κατανομή σιδήρου στο ήπαρ (Clark & St Pierre 2000).

Μια δεύτερη μέθοδος που πρόσφατα πήρε έγκριση για χρήση στην κλινική πράξη χρησιμοποιεί πολλαπλές SE ακολουθίες T2 προσανατολισμού με διαφορετικά TE που λαμβάνονται με την τεχνική half-Fourier (St Pierre et al 2005). Οι τιμές R2 που λαμβάνονται σε συνδυασμό με τις τιμές συγκέντρωσης σιδήρου από βιοψίες ήπατος (LIC) χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό καμπύλων με βάση τις οποίες γίνεται ρύθμιση των συστημάτων ΜΣ (calibration).

Η μέτρηση του χρόνου αποκατάστασης T2 και του λόγου αποκατάστασης R2 (1/T2) είναι μια από τις πρώτες τεχνικές ποσοτικής εκτίμησης της σιδήρωσης του ήπατος που εφαρμόστηκαν. Αρχικά παρατηρήθηκε μικρού βαθμού συσχέτιση τιμών T2 και τιμών LIC ήπατος (Rocchi et al 1993), ενώ μεταγενέστερες μελέτες με χρήση ακολουθιών μικρότερων TE κατέληξαν σε ισχυρότερες συσχετίσεις και επέτρεψαν την ποσοτικοποίηση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων LIC (Engelhardt et al 1994, Parakonstantinou et al 1995). Ωστόσο, τιμές LIC > 300 μmol/gr δεν είναι δυνατόν να ποσοτικοποιηθούν, λόγω πολύ μεγάλης πτώσης του σήματος που πλησιάζει αυτό του κενού.

### **3.3.2 Τεχνικές Μέτρησης Χρόνου T2\* (T2\* relaxometry)**

Οι τεχνικές αυτές υπολογίζουν το χρόνο αποκατάστασης T2\* και το λόγο αποκατάστασης R2\* (1/T2\*) με χρήση πολλαπλών ακολουθιών GRE με διαφορετικά TE. Για τον υπολογισμό των τιμών T2\*, η καμπύλη πτώσης του σήματος (signal decay curve) προσαρμόζεται σε ένα εκθετικό μοντέλο που περιγράφεται από τον τύπο:  $S = S_0 e^{-TE/T2^*}$ , όπου η S=μέση τιμή έντασης σήματος στην εικόνα και S<sub>0</sub>=σταθερά. (Anderson et al 2001). Οι τεχνικές αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως στον υπολογισμό της σιδήρωσης του μυοκαρδίου (Anderson et al 2001, Wood et al 2004, Westwood et al 2003, Pepe et al 2006). Όσον αφορά το ηπατικό φορτίο σιδήρου, οι πρώτες μελέτες έδειξαν μέτριου βαθμού συσχέτιση μεταξύ LIC και τιμών T2\* (Gandon et al 1994, Ernst et al 1997) σε συστήματα 0.5T, αλλά μεταγενέστερη μελέτη σε σύστημα 1.5T κατέληξε σε ισχυρότερη συσχέτιση μεταξύ logT2\*



και logLIC για τιμές μέχρι 400  $\mu\text{mol}/\text{gr}$  και λιγότερο ισχυρή σε ασθενείς με ηπατική ίνωση (Anderson et al 2001). Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί βελτιωμένες τεχνικές, με χρήση ενός μοντέλου ανάλυσης εικόνας μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή για συνολικό προσδιορισμό του χρόνου  $T2^*$  ήπατος, ώστε να περιοριστούν τα λάθη δειγματοληψίας με την τεχνική των ROI (Positano et al 2008) καθώς επίσης και μια νεότερη ακολουθία με αναπνευστικό χρονισμό, που επιτρέπει τον ταυτόχρονο υπολογισμό  $T2$  και  $T2^*$  χωρίς πολλαπλές αναπνευστικές προσπάθειες (Song et al 2007).

### **3.3.3 Υβριδικές Μέθοδοι**

Για τον προσδιορισμό σιδήρου σε εγκεφαλικό ιστό έχει χρησιμοποιηθεί συνδυασμός χρόνων  $T2$  και  $T2^*$  σε συστήματα ΜΣ υψηλής έντασης (3T) για τον υπολογισμό του παράγοντα ανομοιογένειας  $R2'$ , που αντιστοιχεί στην διαφορά  $R2' = R2^* - R2$  (Gorell et al 1995, Ordidge et al 1994, Song et al 2007). Η μέθοδος δεν έχει εφαρμοστεί για τα ενδοκοιλιακά όργανα.

### **3.3.4 Τεχνική Μέτρησης Λόγων Εντάσεων Σήματος (SI)**

Η τεχνική αυτή αναπτύχθηκε λόγω προβλημάτων στον υπολογισμό των χρόνων αποκατάστασης σε υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου LIC (Johnston et al 1989) και έκτοτε έχει χρησιμοποιηθεί για την μελέτη της σιδήρωσης του ήπατος αλλά και άλλων οργάνων όπως του σπλήνα, του παγκρέατος, της υπόφυσης και των ενδοκοιλιακών λεμφαδένων (Bonkovsky et al 1990, Gandon et al 1994 & 2004, Ernst et al 1997, Alustiza et al 2004, Argyropoulou et al 2003, Papakonstantinou et al 2005, Papakonstantinou et al 2006). Σύμφωνα με την τεχνική αυτή, η ένταση σήματος του ιστού ενδιαφέροντος διαιρείται προς την ένταση σήματος ενός ιστού αναφοράς ή του θορύβου. Ο συχνότερα χρησιμοποιούμενος ιστός αναφοράς είναι οι παρασπονδυλικοί μύες, όπου έχει αποδειχθεί ότι η συγκέντρωση σιδήρου δεν είναι στατιστικά σημαντική (συγκριτικά με φυσιολογικούς εθελοντές) για συγκεντρώσεις LIC μέχρι  $600\mu\text{mol}/\text{gr}$  (Jensen et al 1994). Έχει επίσης διερευνηθεί η χρήση

άλλων ιστών αναφοράς όπως το λίπος και η μέτρηση του θορύβου γύρω από τον ασθενή, χωρίς όμως αύξηση της αξιοπιστίας της μεθόδου (Gandon et al 1994, Fenzi et al 2003).

Πρόσφατα συγκροτήθηκε ένας αλγόριθμος από τους Gandon και συνεργάτες που παρέχει εύκολα, αναπαραγώγιμα και με ακρίβεια ποσοτική εκτίμηση της συγκέντρωσης σιδήρου στο ήπαρ σε συστήματα μαγνητικού συντονισμού 0.5-1.5T. Ο τεχνική βασίστηκε σε μια πολυκεντρική μελέτη 510 ασθενών που επέτρεψε την ανάπτυξη ενός απλού αλγόριθμου που συνδέει τους λόγους εντάσεων σήματος του ήπατος/παρασπονδυλικούς μύες σε 3 συγκεκριμένες ακολουθίες GRE με διαφορετικά TE με δεδομένα από βιοψίες ήπατος και παρέχει τη δυνατότητα υπολογισμού του LIC μέχρι και 21mg σιδήρου/gr ξηρού ηπατικού ιστού (300 μmol σιδήρου/gr ηπατικού ιστού) με ευαισθησία και ειδικότητα παρόμοια με της βιοψίας ήπατος (Gandon et al 2004). Ο αλγόριθμος αυτός είναι διαθέσιμος δωρεάν (με ελεύθερη πρόσβαση) σε οποιοδήποτε ενδιαφερόμενο εργαστήριο μέσω του δικτυακού τόπου του πανεπιστημίου της Rennes στη Γαλλία ([www.radio.univ-rennes1.fr](http://www.radio.univ-rennes1.fr)) (εικόνα 1).

**Liver iron quantification by MRI (1.5 Tesla)**

**Patient:**

Type in the mean values of MR signal given by ROIs, up to three for the liver and one or two for the paraspinal muscles. Do not put decimal values, measure is not so precise !

TR / TE / PA°	Liver (1)	Liver (2)	Liver (3)	Muscle (1)	Muscle (2)
T1 : GRE 120 / 4 / 90°	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>
PD : GRE 120 / 4 / 20°	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>
T2 : GRE 120 / 9 / 20°	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>
T2+ : GRE 120 / 14 / 20°	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>
T2++ : GRE 120 / 21 / 20°	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 50px; height: 20px;" type="text"/>

Use Internet Explorer if this function is not working with your web browser

**Εικόνα 1.**

Ο αλγόριθμος υπολογισμού του LIC κατά Gandon et al (2004), όπως διατίθεται στον διαδικτυακό τόπο του πανεπιστημίου της Rennes ([www.radio.univ-rennes1.fr](http://www.radio.univ-rennes1.fr)).

Η ακολουθία T1 GRE (120/4/90°) χρησιμοποιείται για μελέτη της ανατομίας και μορφολογίας του ήπατος, ενώ οι υπόλοιπες ακολουθίες (T2, Pd και T2\*) για υπολογισμό του LIC. Η όλη εξέταση διαρκεί περίπου 15 min. Ο αλγόριθμος υπολογίζει τις τιμές LIC από καθεμιά από τις χρησιμοποιούμενες ακολουθίες και ακολούθως επιλέγεται η πιο αξιόπιστη ακολουθία ανάλογα με την βαρύτητα της σιδήρωσης. Συνήθως οι τιμές LIC είναι παρεμφερείς. Σε περιπτώσεις ήπιας σιδήρωσης (40-100  $\mu\text{mol}/\text{gr}$ ) επιλέγονται αυτόματα οι πιο ευαίσθητες ακολουθίες (T2, T2\*). Σε μέτρια και βαριά σιδήρωση (100-300  $\mu\text{mol}/\text{gr}$ ), οι πλέον ευαίσθητες ακολουθίες (T2, T2\*) υφίστανται «κορεσμό» και υποεκτιμούν τη σιδήρωση, ενώ οι λιγότερο ευαίσθητες (Pd, T1) είναι πιο ακριβείς. Σε πολύ βαριά σιδήρωση (>300  $\mu\text{mol}/\text{gr}$ ) όλες οι ακολουθίες υφίστανται κορεσμό λόγω πολύ μεγάλης πτώσης του σήματος και η ποσοτικοποίηση δεν είναι πλέον δυνατή. Για το λόγο αυτό έχει προταθεί η προσθήκη στο παραπάνω πρωτόκολλο επιπλέον ακολουθιών GRE με μικρότερο TE, που παρέχουν τη δυνατότητα ποσοτικοποίησης του σιδήρου σε ασθενείς με βαριά σιδήρωση ήπατος (>300  $\mu\text{mol}/\text{gr}$ ) (Rose et al 2006).

### **3.3.5 Σύγκριση μεθόδων**

Οι τεχνικές μέτρησης των χρόνων αποκατάστασης είναι πολύ πιο χρονοβόρες από τις τεχνικές μέτρησης λόγων έντασης σήματος, τόσο όσον αφορά στην λήψη των εικόνων όσο και την μετέπειτα επεξεργασία των δεδομένων. Συγκριτικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι λόγοι έντασης σήματος (ήπατος/μύες και ήπατος/θόρυβο) παρέχουν ισχυρότερη συσχέτιση με το LIC από ότι η χρήση των χρόνων αποκατάστασης T2 (Bonkovsky et al 1990, 1999, Gandon et al 1994, Fenzi et al 2003), με μία μόνο εξαίρεση (Papakonstantinou et al 1999), πιθανώς λόγω του ιδιαίτερου τρόπου υπολογισμού της τιμής του χρόνου T2 μέσω μιας μη γραμμικής τεχνικής προσαρμογής των σημάτων ως προς τις τιμές TE (μέθοδος Marquardt) (Papakonstantinou et al 1995). Οι ισχυρότερες συσχετίσεις σε συνδυασμό με τη μικρότερη διάρκεια της διαδικασίας και την ύπαρξη καθιερωμένου αλγόριθμου (Gandon et al 2004)

καθιστούν τη χρήση λόγων έντασης σήματος την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική στην κλινική πράξη για ποσοτικό προσδιορισμό του σιδήρου σε μεταγγιζόμενους ασθενείς (Alustiza et al 2004, Argyropoulou et al 2003, Papakonstantinou et al 2005 & 2006, Christoforidis et al 2006, Rose et al 2007). Άλλοι ερευνητές, αντίθετα, προτιμούν τεχνικές καμπύλων χρόνων αποκατάστασης για τη χαρτογράφηση των χρόνων T2 του ήπατος αναφέροντας ισχυρότατες συσχετίσεις με το LIC (Clark & St Pierre 2000, St Pierre et al 2005, Gotsis 2008). Γενικά δεν υπάρχει συμφωνία μεταξύ των ερευνητών για το ποια τεχνική ΜΣ εξασφαλίζει την μεγαλύτερη ακρίβεια για ποσοτικοποίηση του σιδήρου και αυτό εν μέρει οφείλεται και σε δυσκολίες στην ρύθμιση των συστημάτων ΜΣ, ώστε τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα και αναπαραγώγιμα μεταξύ διαφορετικών ιατρικών κέντρων (Anderson et al 2001, Westwood et al 2003, Westwood et al 2005, Wood 2007).

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## I. ΣΚΟΠΟΣ

Ενώ η σιδήρωση του ήπατος έχει εκτενώς μελετηθεί με ΜΣ, περιορισμένα είναι τα δεδομένα για τη σιδήρωση των λοιπών οργάνων του ΔΕΣ (σπλήνα και οστικού μυελού). Επίσης δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με το πρότυπο κατανομής σιδήρου μεταξύ των οργάνων ΔΕΣ και περιορισμένες είναι οι αναφορές σχετικά με την ανταπόκριση των διαφόρων οργάνων του ΔΕΣ στη θεραπεία αποσιδήρωσης.

Οι στόχοι της παρούσας μελέτης είναι:

1. Η μελέτη με ποσοτικό ΜΣ του βαθμού σιδήρωσης των οργάνων του ΔΕΣ. Συγκεκριμένα εστιαστήκαμε στα όργανα του ΔΕΣ (ήπαρ, σπλήνας και μυελός οστών), γιατί αυτά είναι οι πρωταρχικές αποθήκες σιδήρου. Προσπαθήσαμε να εκτιμήσουμε ποσοτικά με ΜΣ το βαθμό σιδήρωσης σε καθένα από αυτά και τη σχέση του με την καθιερωμένη στην κλινική πράξη μέθοδο μέτρησης σιδήρου (φερριτίνη) καθώς και κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών (ηπατίτιδα C, σπληνεκομή). Η ποσοτική εκτίμηση της σιδήρωσης των οργάνων του ΔΕΣ έγινε τόσο με χρήση πηλίκων έντασης σήματος (SI) όσο και παραμέτρων χρόνου (χρόνοι αποκατάστασης T2 και T2\*), για συγκριτική αξιολόγησή τους.

2. Η μελέτη των προτύπων κατανομής του σιδήρου μεταξύ των διαφορετικών οργάνων του ΔΕΣ με χρήση ΜΣ. Η πιθανή παρουσία διαφορετικών μοντέλων κατανομής σιδήρου μέσα στο ΔΕΣ υποστηρίζεται από ιστολογικές μελέτες που δείχνουν ότι ο σίδηρος δεν κατανέμεται ομοιογενώς μέσα στο ήπαρ. Δεν υπάρχει βιβλιογραφία σχετικά με την ομοιογενή ή όχι ποσοτική κατανομή μεταξύ των οργάνων του ΔΕΣ. Τα αποτελέσματα μια τέτοιας προσπάθειας ενδεχομένως να ρίξουν περισσότερο φως στο μηχανισμό

αποθήκευσης του σιδήρου και έμμεσα στην λειτουργία του ΔΕΣ στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία.

3. Η παρακολούθηση των ασθενών με διαδοχικές εξετάσεις ΜΣ για διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των πρωτοκόλλων αποσιδήρωσης και για αναζήτηση της πιθανής συσχέτισης απεικονιστικών παραμέτρων με το πρωτόκολλο θεραπείας αποσιδήρωσης. Η αξιολόγηση των δεδομένων των διαδοχικών εξετάσεων follow up έχει ως σκοπό τον προσδιορισμό της μακροχρόνιας αποτελεσματικότητας των πρωτοκόλλων θεραπευτικής αγωγής και της πιθανής εκλετικότητάς τους προς συγκεκριμένα όργανα. Αυτός ο στόχος έχει μεγάλη κλινική σημασία, αφού η αποτελεσματική αποσιδήρωση είναι η παράμετρος που μειώνει τις επιπλοκές της νόσου, βελτιώνει την ποιότητα ζωής και εξασφαλίζει μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης.

## **II. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1. Οι ομάδες μελέτης και ελέγχου**

Στα πλαίσια της μελέτης διενεργήθηκαν 106 εξετάσεις ΜΣ κοιλίας (**ομάδα μελέτης**) σε διάστημα 31 μηνών (Οκτώβριο 2005 ως Φεβρουάριο 2008) σε 72 ασθενείς με ομόζυγη β-ΜΑ (30 άνδρες και 42 γυναίκες, με μέση ηλικία  $27 \pm 8,7$  έτη, ηλικιακό εύρος 19-44 έτη) που προσήλθαν στο τμήμα ΜΣ με σκοπό την ποσοτική εκτίμηση της σιδήρωσης του ήπατος. Στους 34/72 (47,2%) ασθενείς διενεργήθηκαν δύο διαδοχικές εξετάσεις ΜΣ κοιλίας στα πλαίσια παρακολούθησης (follow up), ενώ σε 38 (52,8%) ασθενείς πραγματοποιήθηκε μία μόνο εξέταση ΜΣ. Σε κάθε εξέταση ΜΣ γινόταν καταγραφή της πρόσφατης τιμής φερριτίνης ορού (ληφθείσας 1-2 εβδομάδες προ της εξέτασης ΜΣ), και στοιχείων του ιστορικού (παρουσία σπληνεκτομής και ηπατίτιδας C) .

Όλοι οι ασθενείς ελάμβαναν συστηματικές μεταγγίσεις ερυθρών (10-15 ml συμπηκνωμένων ερυθρών/kg βάρους σώματος κάθε 14-21 ημέρες) και δεν υπήρξαν αξιολογες μεταβολές στο σχήμα μεταγγίσεων κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Οι ασθενείς βρίσκονταν υπό αγωγή αποσιδήρωσης με 4 διαφορετικά πρωτόκολλα αποσιδήρωσης:

α) Μονοθεραπεία με Δεφεροξαμίνη (DFO) (30-50 mg/kg/ημέρα για τουλάχιστον 5 ημέρες/εβδομάδα σε αργή υποδόρια έγχυση για 8-10 ώρες)

β) Μονοθεραπεία με από του στόματος Διφεριπρόνη (L1) (75mg/kg/ημέρα σε δύο δόσεις, 7 ημέρες/εβδομάδα).

γ) Συνδυασμένη θεραπεία με υποδόρια Δεφεροξαμίνη (DFO) (30-50 mg/kg/ημέρα για 2-3 φορές/εβδομάδα) και από του στόματος Διφεριπρόνη (L1) (25mg/kg/ημέρα σε δύο δόσεις, 7 ημέρες/εβδομάδα).

δ) Μονοθεραπεία με από του στόματος Deferasirox (Exjade).

Το σχήμα της αποσιδήρωσης είχε επιλεγεί εξατομικευμένα για τον κάθε ασθενή από τον κλινικό γιατρό με βάση το βαθμό συμμόρφωσης και την ύπαρξη παρενεργειών. Τα παραπάνω θεραπευτικά πρωτόκολλα ακολουθούνταν χωρίς αξιολογες μεταβολές για τουλάχιστον 12 μήνες προ της εξέτασης ΜΣ.

Τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών της ομάδας μελέτης στο σύνολο των 106 εξετάσεων ΜΣ άνω κοιλίας φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 3.



**Πίνακας 3.** Κλινικά χαρακτηριστικά ομάδας μελέτης

<b>ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ</b>	
<b>ΟΜΑΔΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ</b>	
<b>(σύνολο 106 εξετάσεων ΜΣ άνω κοιλίας)</b>	
<b>ΗΛΙΚΙΑ (έτη)</b>	
M±SD	27±8,7
εύρος τιμών	19-44
<b>ΦΥΛΟ</b>	
Άνδρες	52/106 (49,1%)
Γυναίκες	54/106 (50,9%)
<b>ΦΕΡΡΙΤΙΝΗ (ng/ml)</b>	
M±SD	1947±1559
εύρος τιμών	171-7551
φυσιολογική τιμή	20-200
<b>LIC (μmol/gr)</b>	
M±SD	222,18±95,5
εύρος τιμών	22,5-300
<b>ΣΠΛΗΝΕΚΤΟΜΗ</b>	
Όχι	82/106 (77,4%)
Ναι	24/106 (22,6%)
<b>ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C</b>	
Ναι	36/106 (34%)
Όχι	70/106 (66%)
<b>ΘΕΡΑΠΕΙΑ</b>	
DFO	55/106 (51,8%)
L1	12/106 (11,3%)
DFO & L1	36/106 (34%)
Exjade	3/106 (2,8%)

Συντομογραφίες: M=Μέση Τιμή, SD=Σταθερή Απόκλιση, DFO=Δεφεροξαμίνη, L1= Διφεριπρόνη, LIC=Συγκέντρωση σιδήρου ήπατος υπολογισμένη βάσει του αλγορίθμου κατά Gandon et al 2004 ([www.radio.univ-rennes1.fr](http://www.radio.univ-rennes1.fr))

Η ομάδα ελέγχου περιλάμβανε συνολικά 17 εθελοντές (ηλικίας  $32,2 \pm 12,7$  έτη, εύρος 19-50 έτη):

α) 12 φυσιολογικούς εθελοντές (6 άνδρες και 9 γυναίκες,) που δεν ελάμβαναν μεταγγίσεις και δεν έπασχαν από ομόζυγη ή ετερόζυγη βΜΑ ή άλλες διάχυτες ή εστιακές παθήσεις των ενδοκοιλιακών οργάνων και του μυελού των οστών.

β) 5 εθελοντές (3 άνδρες και 2 γυναίκες) με ετερόζυγη βΜΑ (στίγμα) που δεν ελάμβαναν μεταγγίσεις αίματος και είχαν ικανοποιητικό επίπεδο αιμοσφαιρίνης (μέση τιμή  $11,3 \pm 1,2$  gr/dl).

Οι εθελοντές επιλέχθηκαν σύμφωνα με τα παραπάνω κριτήρια από τους ασθενείς που προσέρχονταν στο τμήμα ΜΣ για εξέταση άλλων περιοχών του σώματος πλην της άνω κοιλίας, μετά από ενημέρωση και λήψη προφορικής και γραπτής συγκατάθεσης. Τόσο για την ομάδα μελέτης όσο και για την ομάδα ελέγχου διενεργήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο ΜΣ και ακολουθήθηκε η ίδια επεξεργασία των δεδομένων, όπως περιγράφεται παρακάτω.

## **2.2 Πρωτόκολλο εξετάσεων ΜΣ**

Όλες οι εξετάσεις ΜΣ διενεργήθηκαν σε σύστημα Μαγνητικού Συντονισμού έντασης 1.5 T ( Μοντέλο *Vision Sonata, Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany*) με χρήση πηνίου σώματος. Οι ακολουθίες που εφαρμόστηκαν είναι οι εξής:

T1 προσανατολισμού FLASH GRE (*T1-w GRE, TR/TE/FA:120/4/90°*),

Πυκνότητας πρωτονίων FLASH GRE (*Pd-w GRE, TR/TE/FA:120/4/20°*),

T2\* προσανατολισμού GRE (*T2\* -w GRE, TR/TE/FA:120/9/20°*)

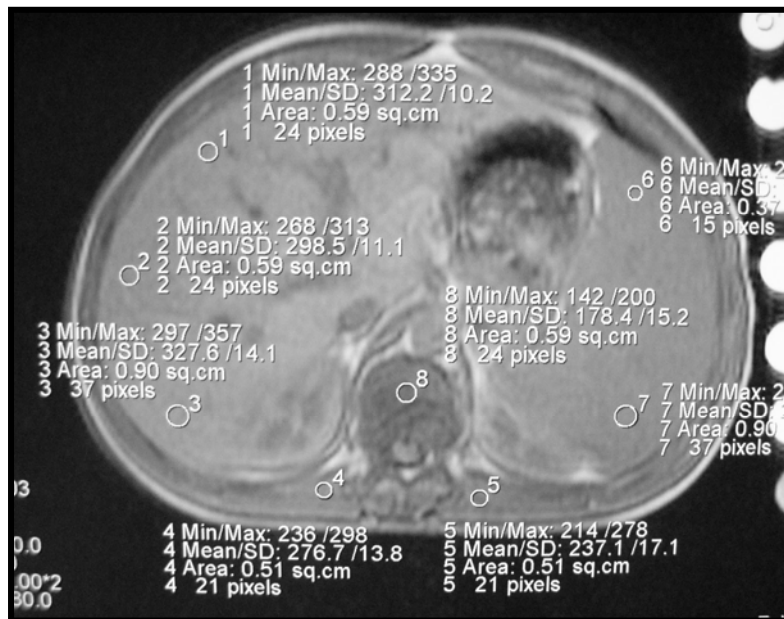
T1 προσανατολισμού με τεχνική turbo SE (*T1-w TSE, TR/TE/FA:700/6,5/90°*)

Σε κάθε ακολουθία λαμβάνονταν εγκάρσιες τομές με πάχος τομής 8-10mm, μήτρα 256\*192, και πεδίο (FOV) 400-500 mm.

Για τον υπολογισμό του χρόνου αποκατάστασης T2 χρησιμοποιήθηκε μια δυσδιάστατη ακολουθία SE με αναπνευστικό χρονισμό (2D single slice Multi Echo Spin Echo, *MESE* sequence) αποτελούμενη από 32 συμμετρικά επαναλαμβανόμενους ραδιοπαλμούς (TR/TE1/TE32/FA:2000-2500ms/6.7ms/214.4ms/90°) με χρονική απόσταση μεταξύ της κάθε ηχούς 6.7 ms, που καταλήγουν σε μια μονήρη τομή σε εγκάρσιο επίπεδο (Graumann et al 1986). Για τον υπολογισμό του χρόνου αποκατάστασης T2\* χρησιμοποιήθηκε μια δυσδιάστατη ακολουθία GRE μονήρους αναπνοής (breath-hold 2D single-slice multiecho gradient-echo, *MEGRE* sequence) αποτελούμενη από 16 συμμετρικά επαναλαμβανόμενους ραδιοπαλμούς (TR/TE1/TE16/FA = 160/2.7/37.65 ms/25°), που καταλήγουν σε μια μια μονήρη τομή σε εγκάρσιο επίπεδο (Maris et al 2007). Η συνολική διάρκεια της εξέτασης ήταν 30-40 min περίπου.

### **2.3 Επεξεργασία Δεδομένων Εικόνας ΜΣ**

Σε όλες τις εξετάσεις ΜΣ έγινε μέτρηση της έντασης σήματος (SI) του ήπατος, σπλήνα, οστικού μυελού και παρασπονδυλικών μυών άμφω σε κάθε μία από τις εφαρμοζόμενες ακολουθίες παλμών. Η μέτρηση του SI έγινε στην τομή όπου διακρίνεται η μεγαλύτερη επιφάνεια του οργάνου ενδιαφέροντος με χρήση κυκλικής περιοχής ενδιαφέροντος (ROI) εμβαδού 0,5-1 cm<sup>2</sup> που τοποθετήθηκε σε 3 σημεία στο ήπαρ, σε 2 σημεία στο σπλήνα και σε 1 σημείο στον οστικό μυελό και παρασπονδυλικούς μύς, καταλήγοντας σε ισάριθμες μετρήσεις SI. Τα ROI τοποθετήθηκαν σε διαφορετικές θέσεις στην περιφέρεια του δεξιού λοβού του ήπατος και στον σπλήνα μακριά από αγγεία ή περιοχές ψευδενδείξεων (artifacts). Για την μέτρηση του SI του οστικού μυελού και των παρασπονδυλικών μυών, το ROI τοποθετήθηκε στο πρόσθιο τμήμα του σώματος του πρώτου ή δεύτερου οσφυϊκού σπονδύλου και στο μέσον του κάθε παρασπονδυλικού μύς αντίστοιχα. Όλες οι μετρήσεις έγιναν στην ίδια εγκάρσια τομή (εικόνα 2).



**Εικόνα 2. Μεθοδολογία μέτρησης της έντασης σήματος (SI).**

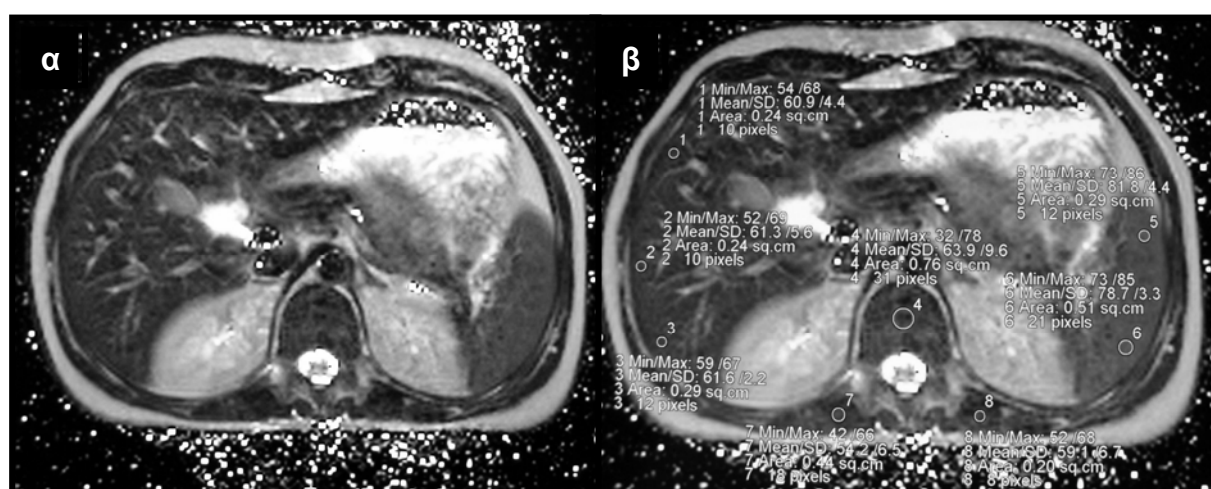
Η μέτρηση του SI έγινε στην τομή όπου διακρίνεται η μεγαλύτερη επιφάνεια του οργάνου ενδιαφέροντος με χρήση κυκλικής περιοχής ενδιαφέροντος (ROI) εμβαδού  $0.3-1 \text{ cm}^2$  που τοποθετήθηκε σε 3 σημεία στο ήπαρ, σε 2 σημεία στο σπλήνα και σε 1 σημείο στον οστικό μυελό και παρασπονδυλικούς μύες. Για κάθε δειγματοληψία αναγράφονται η μέγιστη, η ελάχιστη, η μέση τιμή και η σταθερή απόκλιση (SD) του SI καθώς και το εμβαδόν του ROI.

Ακολούθως υπολογίστηκαν αρχικά οι μέσες τιμές SI για κάθε ένα από τα παραπάνω όργανα στόχους και μετά οι λόγοι των μέσων τιμών SI του ήπατος (L), σπλήνα (S) και οστικού μυελού (B) προς τη μέση τιμή SI των παρασπονδυλικών μυών (M) (λόγος B/M, L/M, και S/M αντίστοιχα), που εκφράζουν το βαθμό σιδήρωσης των αντίστοιχων οργάνων.

Το ήπαρ, ο σπλήνας και ο μυελός των θαλασσαιμικών ασθενών χαρακτηρίστηκαν ως χαμηλής έντασης σήματος, όταν ο λόγος L/M, S/M και B/M αντίστοιχα ήταν μικρότερος από την μέση τιμή (M) μείον 2 σταθερές αποκλίσεις (SD) ( $M-2SD$ ) της αντίστοιχης τιμής των φυσιολογικών εθελοντών για το συγκεκριμένο όργανο σε τουλάχιστον την ακολουθία T2\*GRE (που είναι η πιο ευαίσθητη σε φαινόμενα μαγνητικής επιδεκτικότητας) και ως

φυσιολογικής έντασης σήματος, όταν ο λόγος L/M, S/M και B/M ήταν μεγαλύτερος από την τιμή M-2SD των υγιών εθελοντών σε τουλάχιστον την ακολουθία T2\*GRE.

Για την μέτρηση των τιμών των χρόνων μαγνητικής αποκατάστασης T2 του ήπατος, του σπληνός και του οστικού μυελού έγινε μέτρηση για κάθε στοιχείο όγκου εικόνας (voxel) με προσαρμογή απλής εκθετικής συνάρτησης στα ανακτηθέντα σήματα από τις 32 εικόνες της στίβας προς τις τιμές της παραμέτρου TE (καμπύλη απόσβεσης T2 ανα στοιχείο όγκου εικόνας). Στην συνέχεια υπολογίστηκε ο αντίστοιχος δυσδιάστατος πίνακας τιμών T2 για κάθε στοιχείο όγκου εικόνας της στίβας (παραμετρικός χάρτης T2, Εικόνα 3).



**Εικόνα 3.**

(α) Παραμετρικός χάρτης τιμών χρόνων αποκατάστασης T2 και (β) μέτρηση της τιμής του χρόνου T2 με την μέθοδο της δειγματοληψίας περιοχών ενδιαφέροντος (ROI)

Όλες οι καμπύλες απόσβεσης T2 μελετήθηκαν θεωρώντας μονο-εκθετική συνεισφορά των σημάτων στην καμπύλη απόσβεσης με σύγχρονη παρουσία σήματος υποστρώματος (Bg) (πρώτη εξίσωση). Τα σήματα απόσβεσης T2 για κάθε στοιχείο όγκου εικόνας προσαρμόστηκαν στην δεύτερη εξίσωση χρησιμοποιώντας μια συμβατική τεχνική γραμμικής προσαρμογής μέσω απλής λογαρίθμησης.

$$S(TE_i)_{xyz} = Bg + M_0(T1,\rho)_{xyz} \cdot e^{-(TE_i/T2)_{xyz}} \Leftrightarrow$$

$$\ln[S(TE_i)_{xyz} - Bg] = \ln M_0(T1,\rho)_{xyz} - (1/T2_{xyz}) \cdot TE_i$$

Η παράμετρος (i) αποτελεί έναν δείκτη που αντιστοιχεί στην με αριθμό (i) εικόνα της στοιβάδας. Η παράμετρος  $\ln[S(TE_i)_{xyz} - Bg]$  στην δεύτερη εξίσωση είναι η καθαρή λογαριθμημένη τιμή έντασης σήματος (SI) του εν λόγω στοιχείου όγκου εικόνας. Η παράμετρος  $M_0(T1,\rho)_{xyz}$  είναι ένας καθαρός αριθμός που αντιπροσωπεύει το ποσοστό κορεσμού του μετρούμενου σήματος (pseudodensity) για το συγκεκριμένο στοιχείο όγκου. Η παράμετρος Bg αντιπροσωπεύει την συνολική ποσοτική εκτίμηση του σήματος υποστρώματος για όλη την στίβα των εικόνων. Για όλες τις παραπάνω εφαρμογές ο συντελεστής συσχέτισης ( $r^2$ ) ήταν μεγαλύτερος από 0.85.

Η παράμετρος (Bg) στις παραπάνω εξισώσεις υπολογίστηκε από μια μη σηματοφόρο περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) έξω από την απεικονιζόμενη ανατομική περιοχή αποφεύγοντας εμφανή τεχνικά σφάλματα. Για την ποσοτική της εκτίμηση χρησιμοποιήθηκε η μέση τιμή εντάσεων σήματος από τις 5 τελευταίες εικόνες των 32 εικόνων βάσης.

Για την μέτρηση των τιμών των χρόνων μαγνητικής αποκατάστασης  $T2^*$  του ήπατος, του σπληνός και του οστικού μυελού έγινε μέτρηση για κάθε στοιχείο όγκου εικόνας με προσαρμογή απλής εκθετικής συνάρτησης στα ανακτηθέντα σήματα από τις 12 εικόνες της στοιβάδας προς τις τιμές της παραμέτρου TE (καμπύλη απόσβεσης  $T2^*$  ανά στοιχείο όγκου εικόνας). Στην συνέχεια υπολογίστηκε ο αντίστοιχος δυσδιάστατος πίνακας τιμών  $T2^*$  για κάθε στοιχείο όγκου εικόνας της στοιβάδας (παραμετρικός χάρτης  $T2^*$ ). Όλες οι καμπύλες απόσβεσης  $T2^*$  μελετήθηκαν θεωρώντας μονο-εκθετική συνεισφορά των σημάτων στην καμπύλη απόσβεσης με σύγχρονη παρουσία σήματος υποστρώματος (Bg) (πρώτη εξίσωση). Τα σήματα απόσβεσης  $T2^*$  για κάθε στοιχείο όγκου εικόνας προσαρμόστηκαν στην δεύτερη εξίσωση χρησιμοποιώντας μια συμβατική τεχνική γραμμικής προσαρμογής μέσω απλής λογαρίθμησης (δεύτερη εξίσωση).

$$S(TE_i)_{xyz} = Bg + M_0(T1, \rho)_{xyz} \cdot e^{-(TE_i/T2^*)_{xyz}} \Leftrightarrow$$

$$\ln[S(TE_i)_{xyz} - Bg] = \ln M_0(T1, \rho)_{xyz} - (1/T2^*_{xyz}) \cdot TE_i$$

Η παράμετρος (i) αποτελεί έναν δείκτη που αντιστοιχεί στην με αριθμό (i) εικόνα της στοίβας. Η παράμετρος  $\ln[S(TE_i)_{xyz} - Bg]$  είναι η καθαρή λογαριθμημένη τιμή έντασης σήματος (SI) του εν λόγω στοιχείου όγκου εικόνας. Η παράμετρος  $M_0(T1, \rho)_{xyz}$  είναι ένας καθαρός αριθμός που αντιπροσωπεύει το ποσοστό κορεσμού του μετρούμενου σήματος (pseudodensity) για το συγκεκριμένο στοιχείο όγκου. Η παράμετρος Bg αντιπροσωπεύει την συνολική ποσοτική εκτίμηση του σήματος υποστρώματος για όλη την στοίβα των εικόνων. Για όλες τις παραπάνω εφαρμογές ο συντελεστής συσχέτισης ( $r^2$ ) ήταν μεγαλύτερος από 0.85.

Η παράμετρος (Bg) στις παραπάνω εξισώσεις υπολογίσθηκε από μια μη σηματοφόρο περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) έξω από την απεικονιζόμενη ανατομική περιοχή αποφεύγοντας εμφανή τεχνικά σφάλματα. Για την ποσοτική της εκτίμηση χρησιμοποιήθηκε η μέση τιμή εντάσεων σήματος από τις 5 τελευταίες εικόνες της στοίβας των 16 εικόνων βάσης.

Η μελέτη κι η αξιολόγηση των απεικονιστικών ευρημάτων έγιναν από 2 ερευνητές σε συμφωνία (by consensus).

## **2.5 Παρακολούθηση ασθενών (follow up)**

Σε 34/72 ασθενείς (20 άνδρες και 14 γυναίκες, μέση ηλικία κατά τον πρώτο έλεγχο  $25 \pm 7$  έτη) διενεργήθηκαν δύο διαδοχικές εξετάσεις ΜΣ με το ίδιο πρωτόκολλο όπως περιγράφεται παραπάνω μέσα σε διάστημα 340-734 ημερών (μέση τιμή 614,35 ημέρες, σταθερή απόκλιση 89 ημέρες) στα πλαίσια παρακολούθησης. Οι 21/34 (61,7%) ασθενείς ήταν υπό συνδυασμένη αγωγή με DFX & L1, ενώ 13/34 ελάμβαναν μόνο DFX. Για την ποσοτικοποίηση των μεταβολών μεταξύ των διαδοχικών εξετάσεων, έγινε υπολογισμός της μεταβολής των τιμών της φερριτίνης και των λόγων L/M, S/M και B/M στην T1 TSE

ακολουθία μεταξύ των διαδοχικών εξετάσεων ως την τιμή  $\Delta T = \text{Αρχική τιμή} - \text{Τελική τιμή}$ . Ακολούθως υπολογίστηκε η εκατοστιαία μεταβολή των παραπάνω παραμέτρων (φερριτίνης και των λόγων L/M, S/M και B/M) ως το πηλίκο  $\Delta\% = (\Delta T / \text{Αρχική τιμή}) \times 100\%$ . Ο υπολογισμός του πηλίκου μεταβολής  $\Delta\%$  έγινε με δεδομένα από την T1 TSE ακολουθία, η οποία έχει αποδειχθεί ότι παρέχει ισχυρότερες συσχετίσεις τιμών SI και LIC από ότι οι GRE ακολουθίες, λόγω καλύτερης αναλογίας σήματος προς θόρυβο (Jensen 2004, Ooi et al 2004).

Αρνητική τιμή εκατοστιαίας μεταβολής  $\Delta\%$  των πηλίκων L/M, S/M και B/M οφείλεται σε αύξηση της έντασης σήματος και είναι ενδεικτική αποσιδήρωσης του αντίστοιχου οργάνου, ενώ θετική τιμή είναι ενδεικτική πτώσης του σήματος και αύξησης του βαθμού σιδήρωσης. Θετική τιμή εκατοστιαίας μεταβολής  $\Delta\%$  της φερριτίνης είναι ενδεικτική μείωσης της τιμής της, ενώ αρνητική τιμή υποδηλώνει αύξηση των τιμών φερριτίνης μεταξύ των εξετάσεων. Κατά το διάστημα μεταξύ των διαδοχικών εξετάσεων MΣ δεν υπήρξαν μεταβολές στο σχήμα μεταγγίσεων και στην αγωγή αποσιδήρωσης.

## **2.6 Στατιστική επεξεργασία**

Για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι στατιστικές δοκιμασίες της κλασικής στατιστικής, με χρήση του προγράμματος SPSS 8.0, Windows, Chicago, Ill, USA. Ως στατιστικά σημαντική θεωρήθηκε η δοκιμασία όταν η πιθανότητα λάθους ήταν μικρότερη του 5% ( $p < 0.05$ ).

Η παράμετρος συσχέτισης Pearson's correlation coefficient (Pearson's  $r$ ) χρησιμοποιήθηκε για τη συσχέτιση ανάμεσα σε διάφορες παραμέτρους (B/M, L/M, S/M ratios, χρόνος T2 και T2\*, φερριτίνη). Η δοκιμασία t-test κατά ζεύγη (paired t-test) και one way ANOVA (Analysis of Variance) χρησιμοποιήθηκε για σύγκριση μέσω τιμών ποσοτικών μεγεθών (φερριτίνης, χρόνου T2 και T2\*, εκατοστιαίας μεταβολής  $\Delta\%$ ) μεταξύ υποομάδων ασθενών και εθελοντών.



### III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 Σύγκριση τιμών B/M, L/M, S/M μεταξύ ασθενών με βΜΑ και εθελοντών

##### (υγιών και με στίγμα βΜΑ)

Δεν αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών SI (L/M, B/M και S/M) σε όλες τις ακολουθίες μεταξύ εθελοντών με στίγμα και υγιών εθελοντών ( t-test,  $p>0,109$ ). Αντίθετα, οι ασθενείς με βΜΑ είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές λόγων SI (L/M, B/M και S/M) σε όλες τις ακολουθίες σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές και τους εθελοντές με στίγμα βΜΑ (t-test,  $p< 0,05$ ) (Πίνακας 4).

##### Πίνακας 4.

Τιμές πηλίκων SI ήπατος, μυελού και σπληνός στις ομάδες μελέτης και ελέγχου.

ΠΗΛΙΚΟ SI (M±SD)		ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ			
		T1- wGRE	Pd- wGRE	T2*wGRE	T1-w TSE
Υγιείς εθελοντές	L/M	1±0,15	0,7±0,1	0,7±0,27	0,9±0,15
	S/M	0,6±0,1	0,7±0,1	0,8±0,1	0,87±0,1
	B/M	0,9±0,2	0,6±0,07	0,5±0,2	1,2±0,2
Εθελοντές με στίγμα βΜΑ	L/M	0,99±0,1	0,68±0,1	0,7±0,1	0,9±0,3
	S/M	0,7±0,1	0,6±0,3	0,76±0,09	0,8±0,12
	B/M	0,9±0,1	0,6±0,1	0,52±0,3	1±0,24
Ασθενείς με βΜΑ	L/M	0,57±0,5	0,51±0,42	0,31±0,4	0,7±0,25
	S/M	0,6±0,4	0,62±0,3	0,6±0,55	0,6±0,12
	B/M	0,7±0,4	0,6±0,4	0,3±0,3	0,8±0,4

Συνοτομογραφίες: SI=Ένταση σήματος, M=Μέση Τιμή, SD=Σταθερή Απόκλιση, T1-w GRE=T1 προσανατολισμού FLASH GRE, Pd-w GRE=Πυκνότητας πρωτονίων FLASH GRE, T2\*-w GRE=T2\* προσανατολισμού GRE και T1-w TSE=T1 προσανατολισμού με τεχνική turbo SE

### **3.2 Συσχέτιση λόγων B/M, L/M, S/M, χρόνων T2 και T2\* και φερριτίνης ορού ασθενών**

Τα πηλίκα SI (L/M, B/M και S/M) σε όλες τις ακολουθίες καθώς και η τιμή του χρόνου αποκατάστασης T2 του ήπατος, οστικού μυελού και σπληνός και T2\* του σπληνός και οστικού μυελού συσχετίστηκαν αρνητικά σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με την τιμή της φερριτίνης ορού (Pearson's  $r > 0,371$ ,  $p \sim 0$ ) (Πίνακας 5) (Εικόνες 4, 5, 6).

Μεταξύ των πηλίκων έντασης σήματος α) οστικού μυελού (B/M) και ήπατος (L/M) και β) σπληνός (S/M) και ήπατος (L/M) αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μόνο στην ακολουθία T1-w TSE ( $r=0,471$ ,  $p=0,05$  και  $r=0,434$ ,  $p=0,05$  αντίστοιχα) (Πίνακας 6, Εικόνα 7). Η συσχέτιση αυτή είναι ισχυρότερη στους HCV (-) από ότι στους HCV (+) ασθενείς ( $r > 0,591$ ,  $p < 0,001$  και  $r > 0,412$ ,  $p < 0,05$  αντίστοιχα).

Αντίθετα, τα πηλίκα B/M και S/M συσχετίστηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε όλες τις ακολουθίες ( $p < 0,01$ ), με την ισχυρότερη συσχέτιση στην ακολουθία T1-w TSE ( $p=0,001$ ) (Εικόνες 8, 9, Πίνακας 6). Δεν αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση όσον αφορά τους χρόνους αποκατάστασης T2 και T2\* ήπατος, οστικού μυελού και σπληνός (Πίνακας 6).

Πίνακας 5. Συσχέτιση παραμέτρων ΜΣ με τιμές φερριτίνης ορού

Συσχέτιση*				
Παραμέτρων ΜΣ με Φερριτίνη ορού				
		ΗΠΑΡ	ΜΥΕΛΟΣ	ΣΠΛΗΝΑΣ
Πηλίο SI (L/M, S/M, B/M)	T1-wGRE	r=-0,567, p~0	r=-0,625, p~0	r=-0,596, p~0
	Pd-wGRE	r=-0,567, p~0	r=-0,640, p~0	r=-0,549, p~0
	T2*wGRE	r=-0,511, p~0	r=-0,520, p~0	r=-0,570, p~0
	T1-w TSE	r=-0,515, p~0	r=-0,573, p~0	r=-0,526, p~0
	Χρόνος T2	r=-0,371, p=0,001	r=-0,455, p=0,04	r=-0,484, p=0,03
Χρόνος T2*	r=-0,146, p=0,123	r=-0,455, p=0,05	r=-0,248, p=0,05	

\*Pearson's correlation

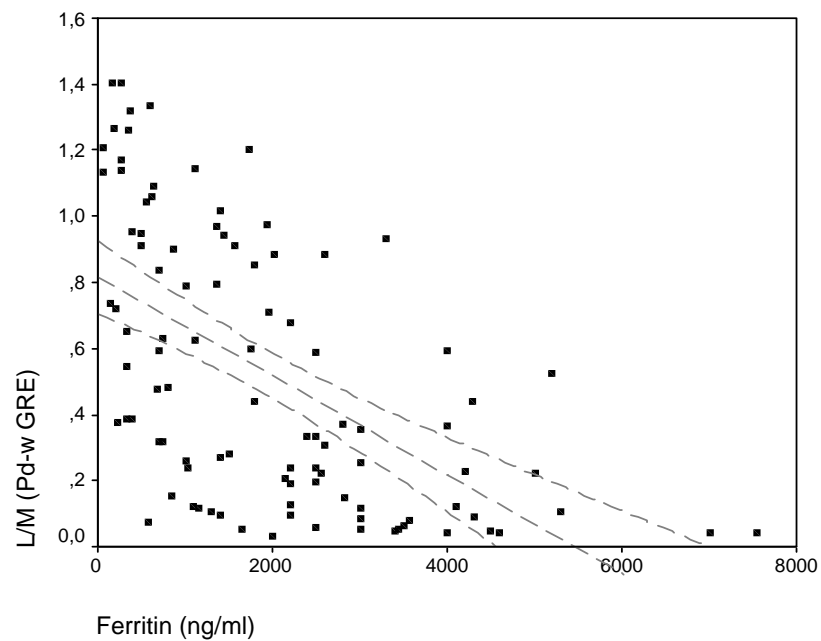
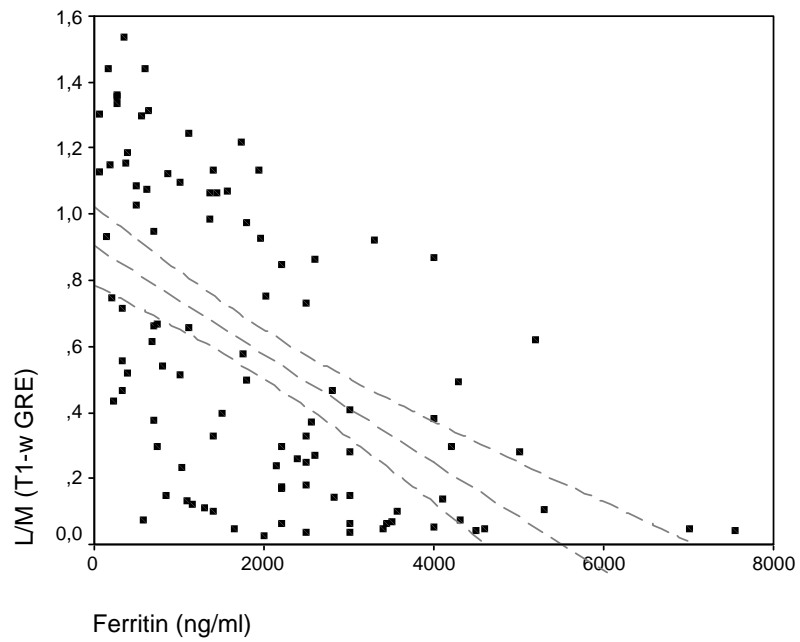
Συντομογραφίες: SI=Ένταση σήματος, T1-w GRE=T1 προσανατολισμού FLASH GRE, Pd-w GRE=Πυκνότητας πρωτονίων FLASH GRE, T2\*-w GRE=T2\* προσανατολισμού GRE και T1-w TSE=T1 προσανατολισμού με τεχνική turbo SE, r=παράγοντας συσχέτισης Pearson's

Πίνακας 6. Συσχέτιση παραμέτρων ΜΣ ήπατος, σπληνός και οστικού μυελού

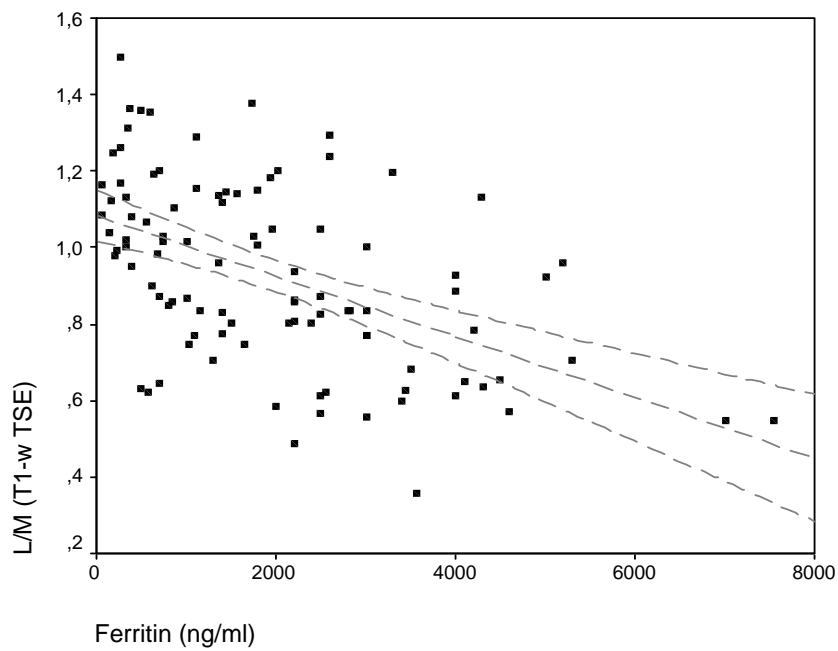
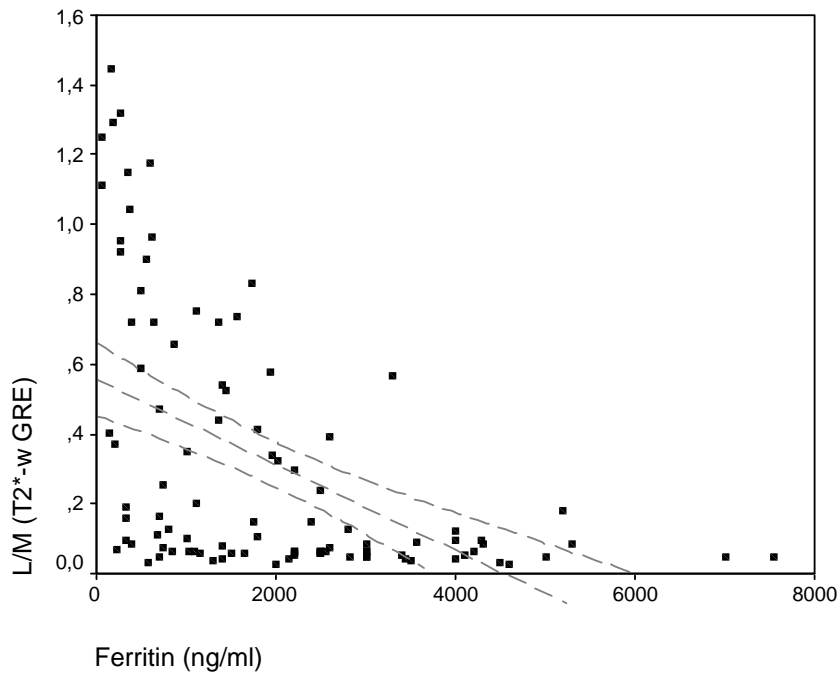
Συσχέτιση* Παραμέτρων ΜΣ				
Πηλίκο SI		ΉΠΑΡ - ΣΠΛΗΝΑΣ	ΉΠΑΡ - ΜΥΕΛΟΣ	ΜΥΕΛΟΣ - ΣΠΛΗΝΑΣ
	<b>T1-wGRE</b>	r=0,180, p=0,112	r=0,823, p=0,131	r= 0,664, <b>p=0,01</b>
	<b>Pd-wGRE</b>	r=0,174, p=0,123	r=0,240, p=0,112	r= 0,736, <b>p=0,01</b>
	<b>T2*wGRE</b>	r=0,251, p=0,10	r=0,550, p=0,1	r= 0, 489, <b>p=0,006</b>
	<b>T1-w TSE</b>	r=0,434, <b>p=0,05</b>	r=0,471, <b>p=0,05</b>	r= 0,630, <b>p=0,001</b>
<b>Χρόνος T2</b>	r=0,346, p=0,12	r=0,345, p=0,06	r=0,192, p=0,07	
<b>Χρόνος T2*</b>	r=0,142, p=0,186	r=0,188, p=0,09	r=0,228, p=0,08	

*\*Pearson's correlation*

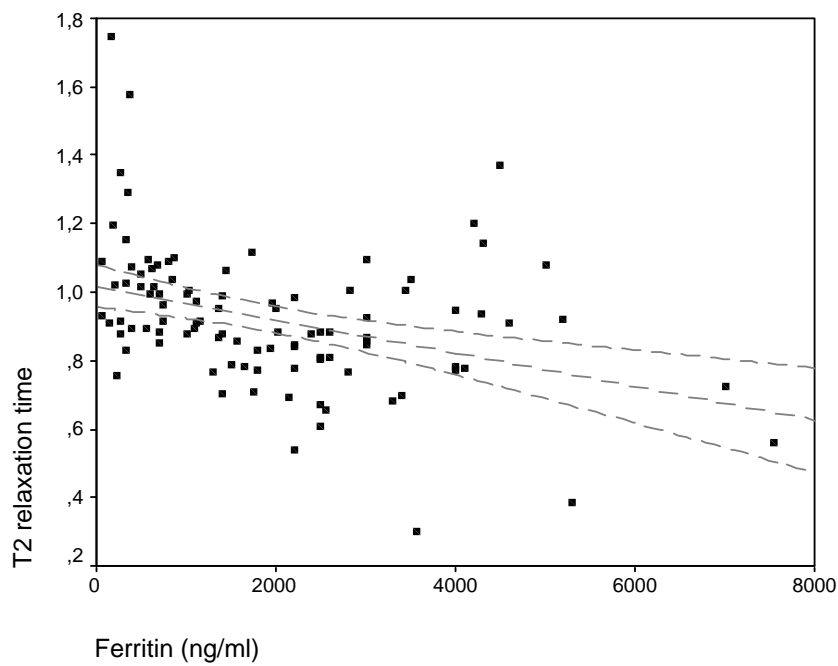
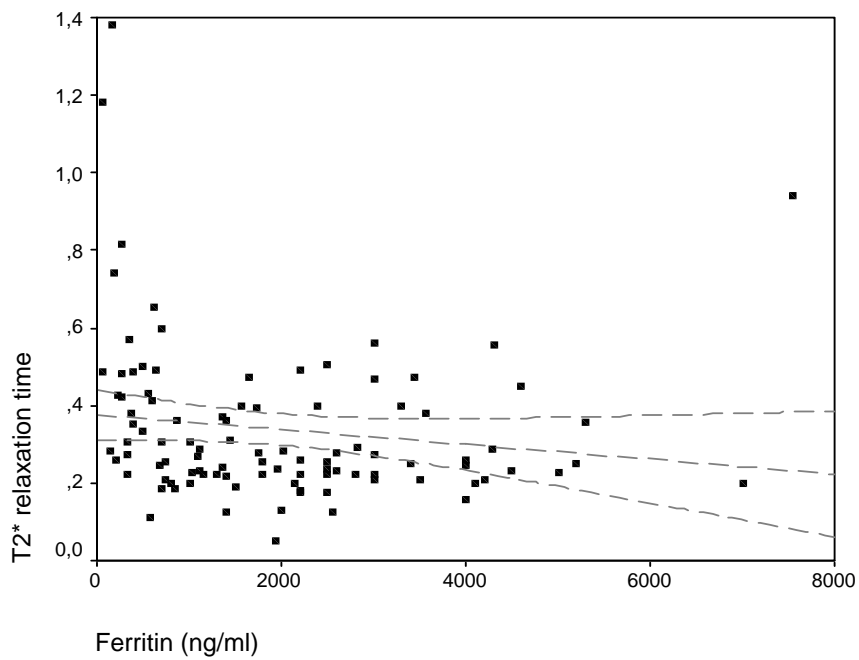
Συντομογραφίες: SI=Ένταση σήματος, T1-w GRE=T1 προσανατολισμού FLASH GRE, Pd-w GRE=Πυκνότητας πρωτονίων FLASH GRE, T2\*-w GRE=T2\* προσανατολισμού GRE και T1-w TSE=T1 προσανατολισμού με τεχνική turbo SE, r=παραγοντας συσχέτισης Pearson's



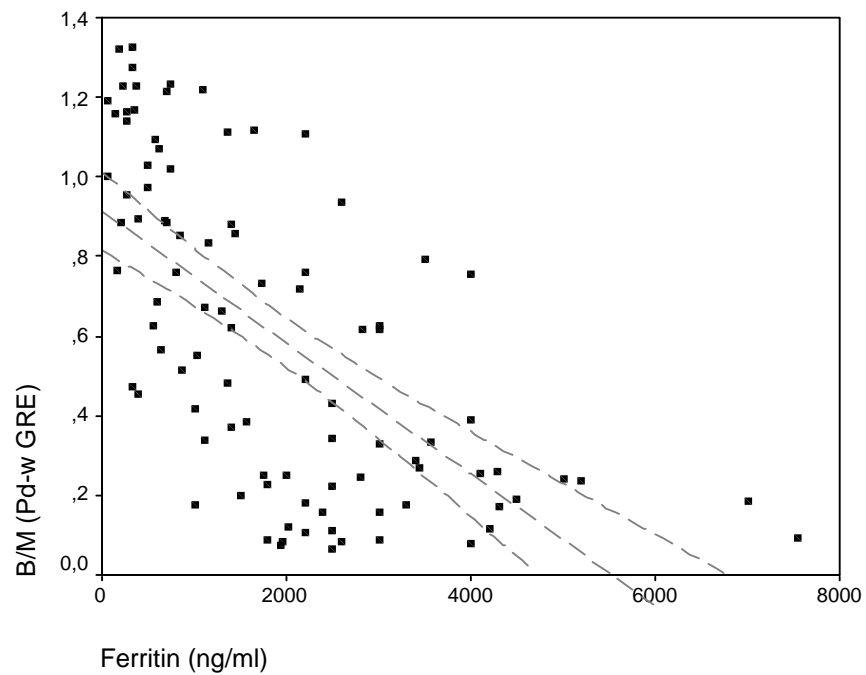
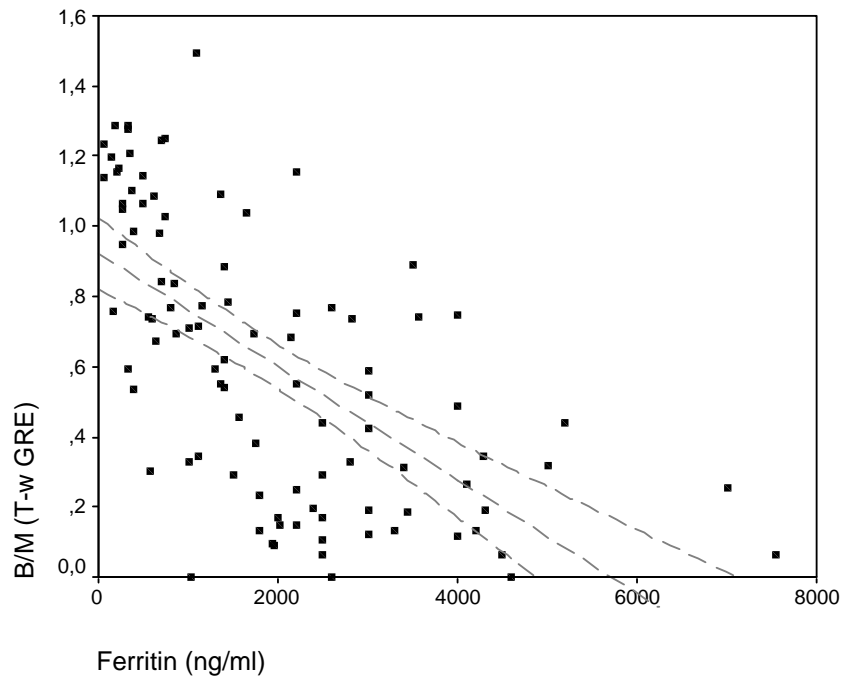
**Εικόνα 4α.** Γραφική παράσταση κατανομής τιμών λόγων έντασης σήματος για το ήπαρ σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού (στις T1GRE και PdGRE ακολουθίες). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



**Εικόνα 4β.** Γραφική παράσταση κατανομής τιμών λόγων έντασης σήματος για το ήπαρ σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού (στις T1TSE και T2\*GRE ακολουθίες). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.

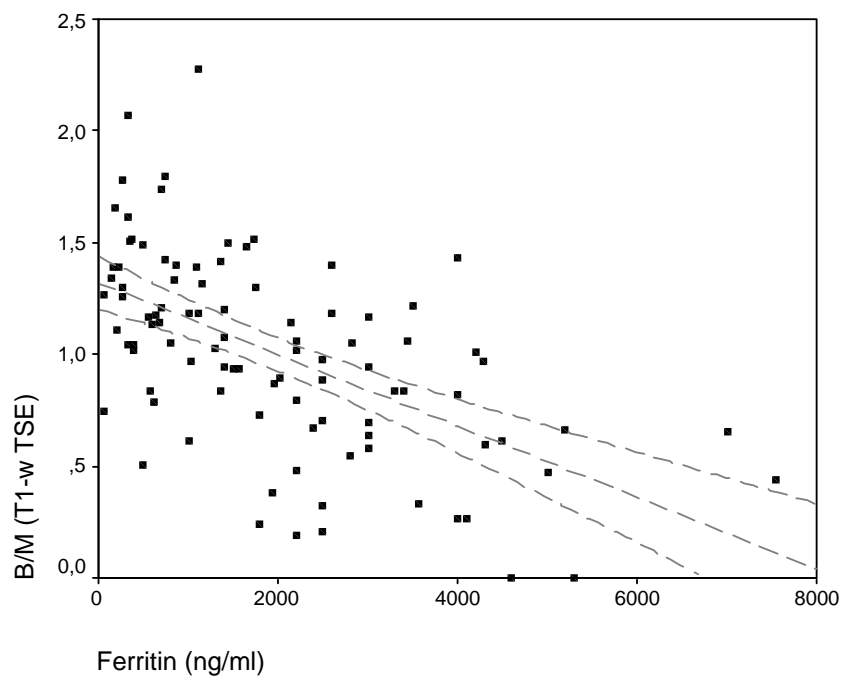
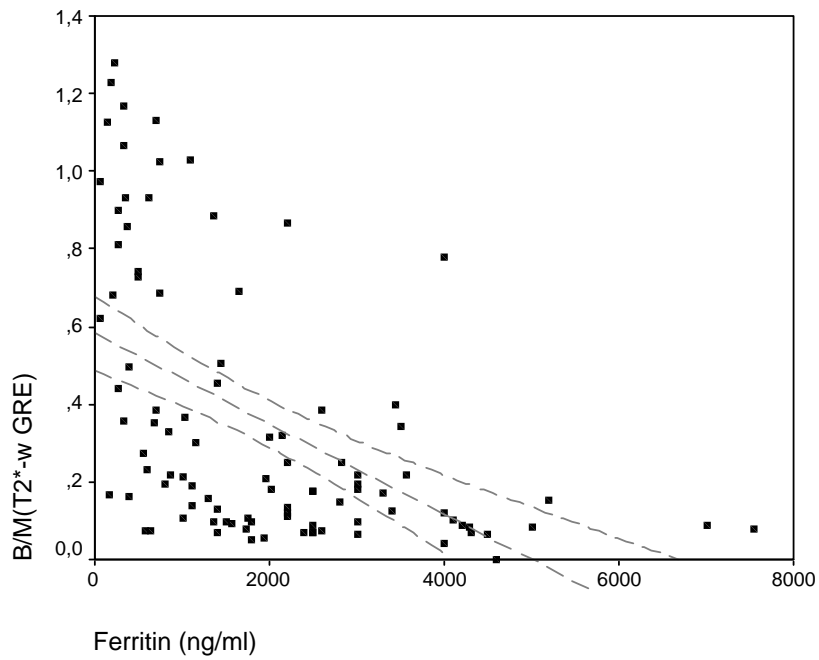


**Εικόνα 4γ.** Γραφική παράσταση κατανομής των ηλικίων των χρόνων T2 και T2\* για το ήπαρ (T2, T2\* ήπατος/μυς) σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού. Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.

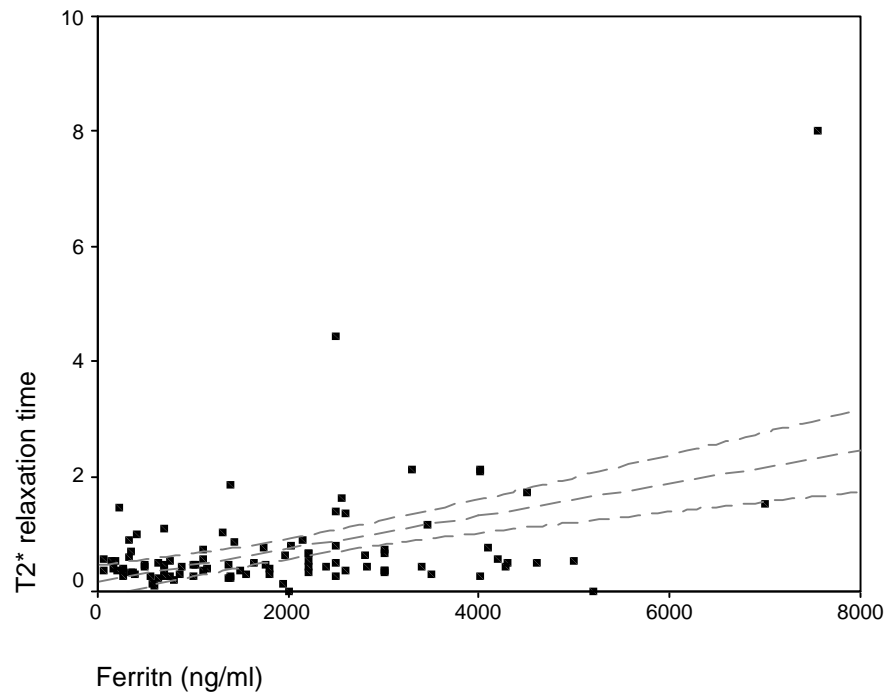
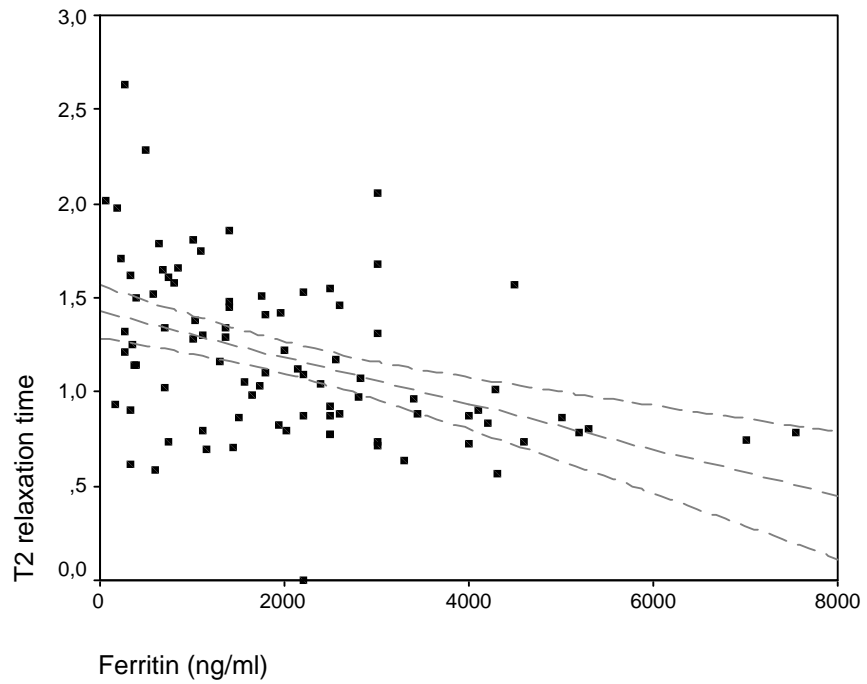


**Εικόνα 5α.** Γραφική παράσταση κατανομής τιμών λόγων έντασης σήματος για το μυελό σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού (στις T1GRE και PdGRE ακολουθίες). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.

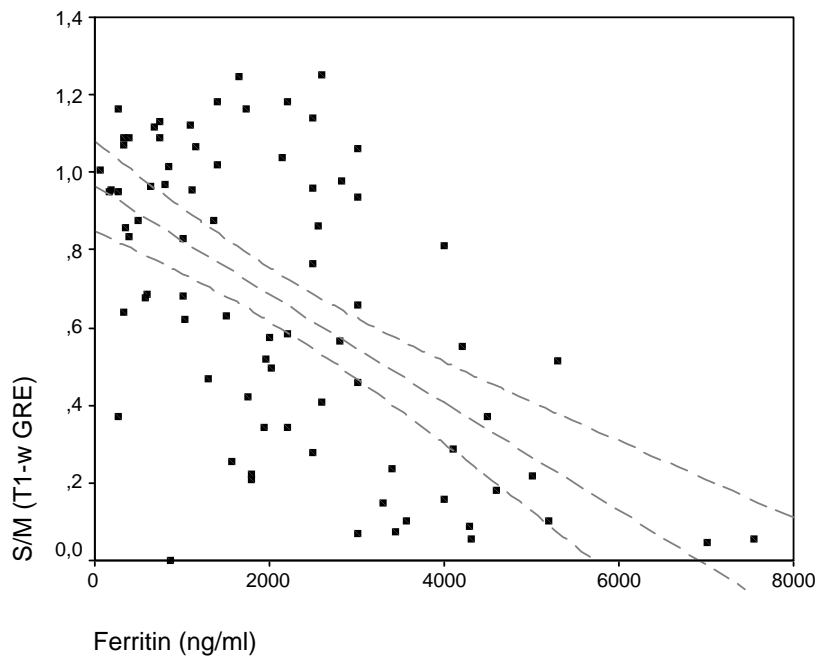
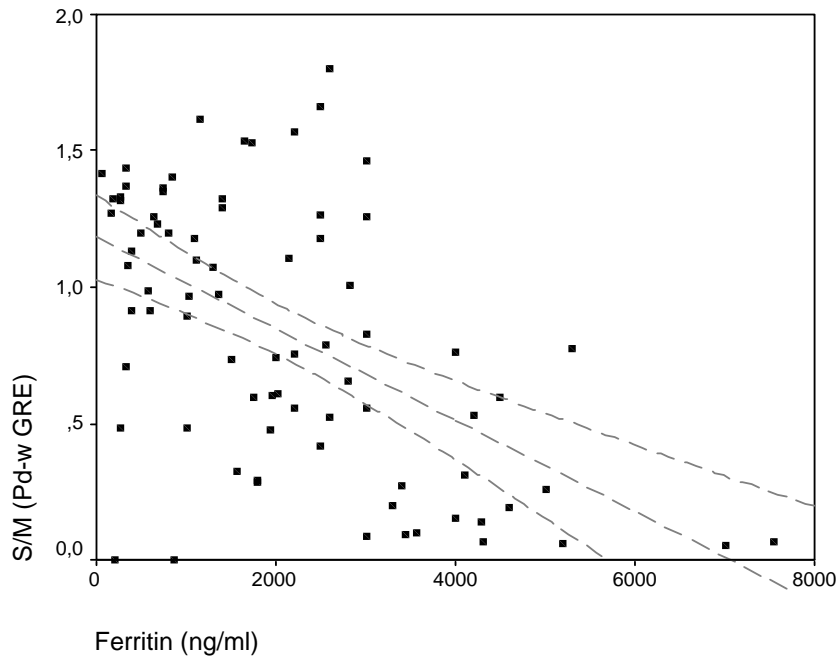




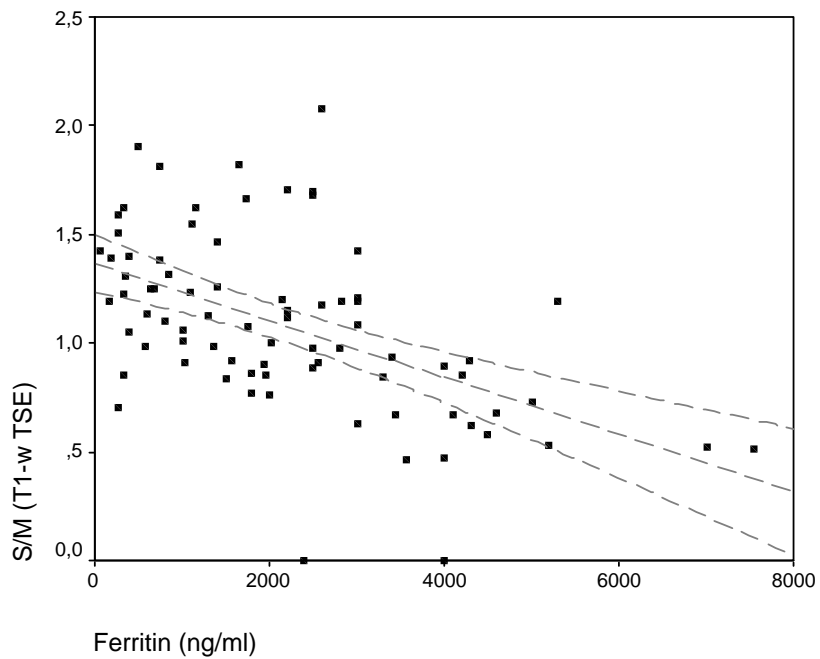
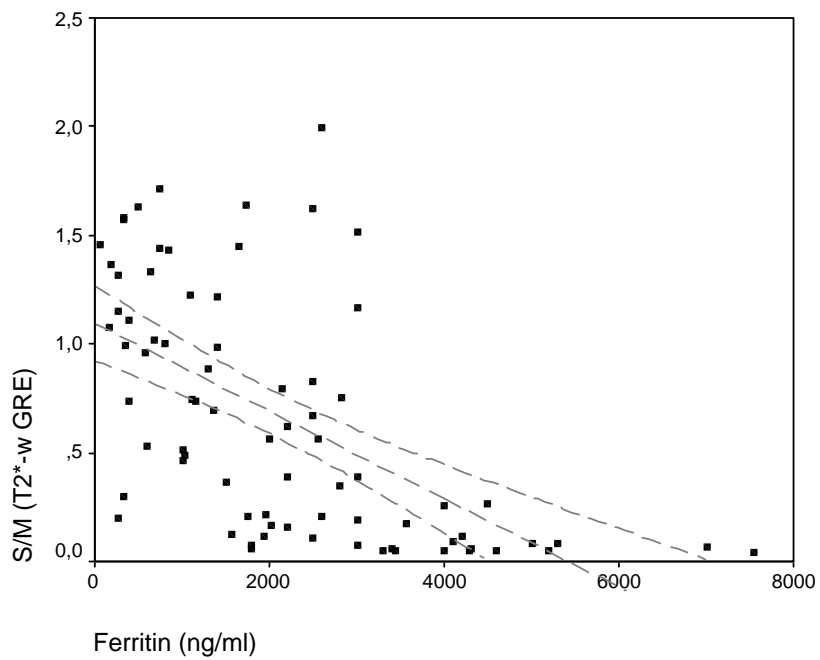
**Εικόνα 5β.** Γραφική παράσταση κατανομής τιμών λόγων έντασης σήματος για το μυελό σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού (στις T1TSE και T2\*GRE ακολουθίες). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



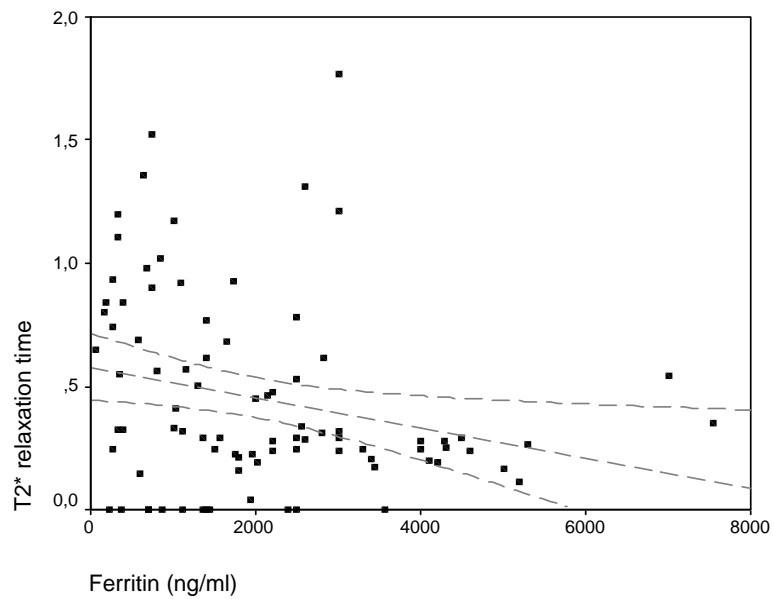
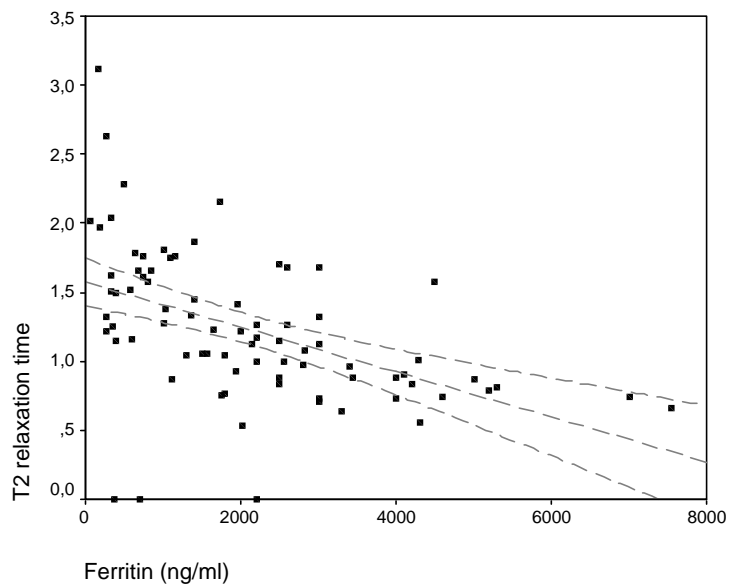
**Εικόνα 5γ.** Γραφική παράσταση κατανομής των ηλικίων των χρόνων T2 και T2\* για το μυελό (T2, T2\* μυελού/μυς) σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού. Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



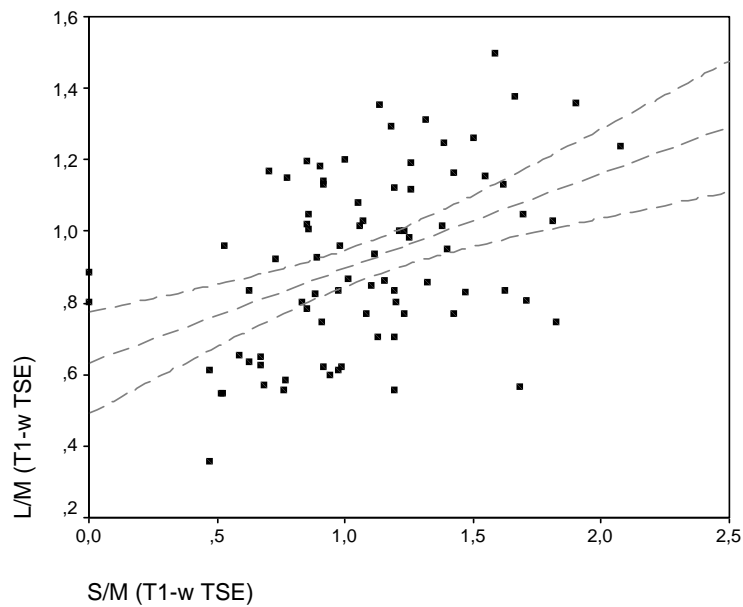
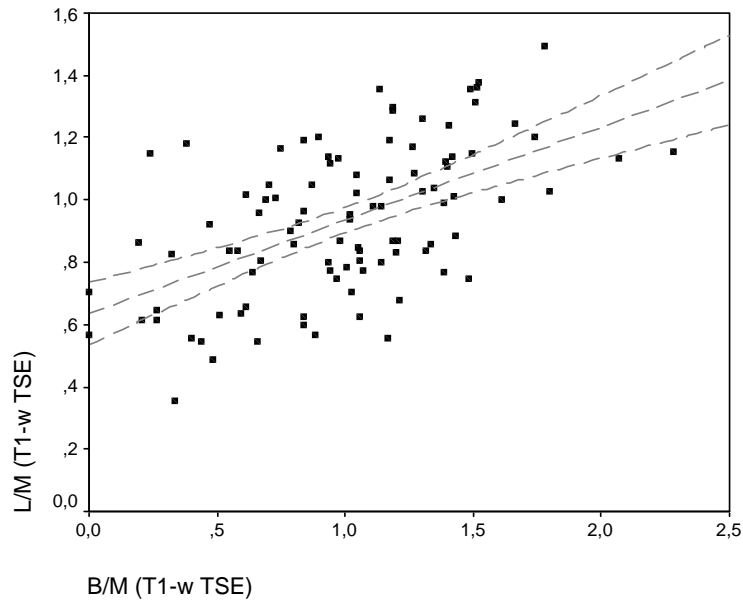
**Εικόνα 6α.** Γραφική παράσταση κατανομής τιμών λόγων έντασης σήματος για το σπλήνα σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού (στις T1GRE και PdGRE ακολουθίες). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



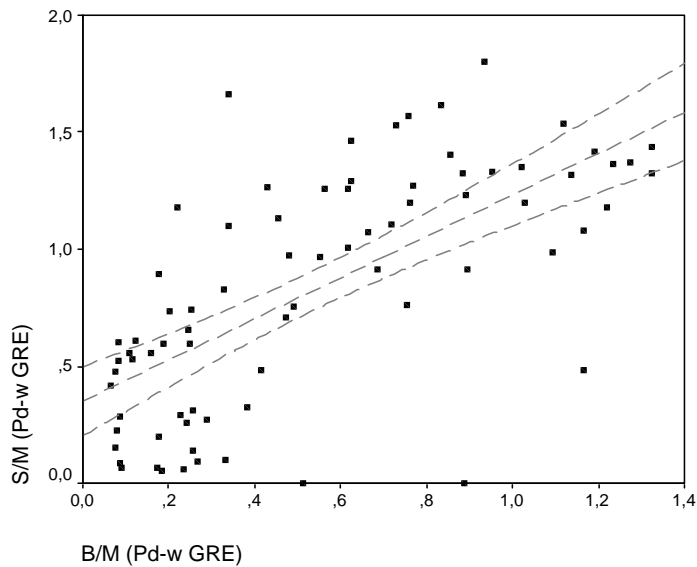
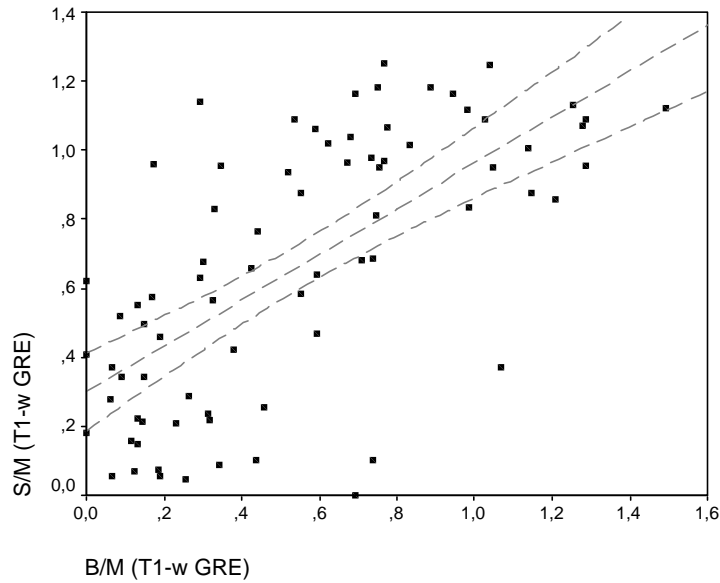
**Εικόνα 6β.** Γραφική παράσταση κατανομής τιμών λόγων έντασης σήματος για το σπλήνα σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού (στις T1TSE και T2\*GRE ακολουθίες). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



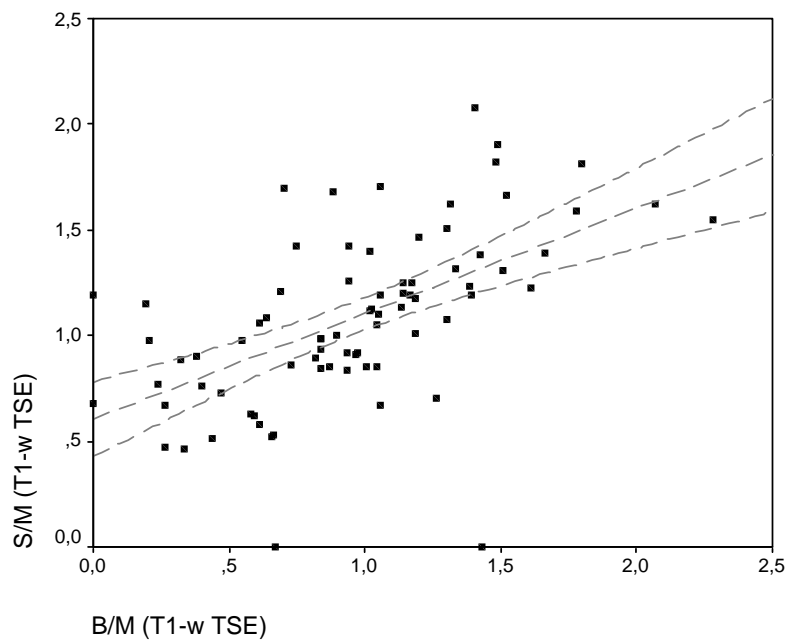
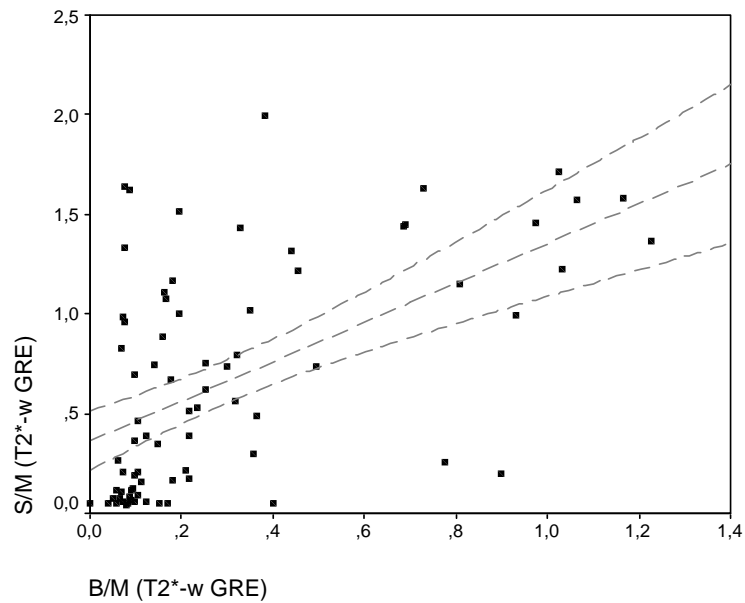
**Εικόνα 6γ.** Γραφική παράσταση κατανομής των ηλικικών των χρόνων T2 και T2\* για το σπλήνα (T2, T2\* σπληνός/μυς) σε σχέση με τις τιμές φερριτίνης ορού. Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



**Εικόνα 7.** Γραφήματα κατανομής των τιμών των πηλίκων έντασης σήματος σπληνός (S/M) και του οστικού μυελού (B/M) σε σχέση με τις τιμές του ήπατος (L/M) στην T1 TSE ακολουθία (Pearson's correlation  $r=0,471$ ,  $p=0,05$  και  $r=0,434$ ,  $p=0,05$  αντίστοιχα). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



**Εικόνα 8.** Γραφήματα κατανομής των τιμών των πηλίκων έντασης σήματος σπληνός (S/M) και οστικού μυελού (B/M) στην T1 GRE και Pd GRE ακολουθίες, (Pearson's correlation,  $r=0,664$ ,  $p=0,01$  και  $r=0,736$ ,  $p=0,01$  αντίστοιχα). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



**Εικόνα 9.** Γραφήματα κατανομής των τιμών των πηλίκων έντασης σήματος σπληνός (S/M) και οστικού μυελού (B/M) στην T2\* GRE και T1 TSE ακολουθίες (Pearson's correlation,  $r=0,489$ ,  $p=0,006$ ,  $r=0,630$ ,  $p=0,001$  αντίστοιχα). Η ευθεία και οι καμπύλες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τάση της μέσης τιμής και των 95% ορίων ασφάλειας αντίστοιχα.



### **3.3 Πρότυπα κατανομής σιδήρου μεταξύ οργάνων ΔΕΣ**

Με κριτήριο τις τιμές των λόγων SI του ήπατος (L/M), του οστικού μυελού (B/M) και του σπληνός (S/M) σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των φυσιολογικών εθελοντών, σε τουλάχιστον την πιο ευαίσθητη στον σίδηρο ακολουθία (T2\*-wGRE) προέκυψαν 5 διαφορετικά πρότυπα σιδήρωσης των οργάνων του ΔΕΣ (Πίνακας 7).

*Πρότυπο 1.* Χαμηλή ένταση σήματος ήπατος, οστικού μυελού και σπληνός (όταν υπήρχε) (Εικόνα 10). Στην κατηγορία αυτή ανήκαν 71/106 (67 %) των εξετάσεων ΜΣ

*Πρότυπο 2.* Φυσιολογική ένταση σήματος ήπατος, οστικού μυελού και σπληνός (όταν υπήρχε) (Εικόνα 11). Στην κατηγορία αυτή ανήκαν 8/106 ( 7,5%) των εξετάσεων ΜΣ

*Πρότυπο 3.* Φυσιολογική ένταση σήματος οστικού μυελού (και σπληνός, όταν υπήρχε) και χαμηλή ένταση σήματος ήπατος (Εικόνα 12) Στην κατηγορία αυτή ανήκαν (14/106, 13,2%) των εξετάσεων ΜΣ

*Πρότυπο 4.* Φυσιολογική ένταση σήματος σπληνός και χαμηλή ένταση σήματος ήπατος και οστικού μυελού (Εικόνα 13). Εδώ ανήκαν 10/106 (9,4%) των εξετάσεων ΜΣ.

*Πρότυπο 5.* Φυσιολογική ένταση σήματος ήπατος και σπληνός και χαμηλή ένταση σήματος οστικού μυελού (Εικόνα 14). Εδώ ανήκαν 3/106 (2,8%) των εξετάσεων ΜΣ.

Στα πρότυπα 1,2,3 (συνολικά 93/106, 87,7%), ο σπλήνας και ο οστικός μυελός παρουσιάζουν αντιστοιχία έντασης σήματος ενώ στα πρότυπα 4 και 5 (13/106, 12,3%) σημειώθηκε αναντιστοιχία.

Οι ασθενείς με το πρότυπο σιδήρωσης 1 είχαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεγαλύτερη τιμή φερριτίνης από τους ασθενείς με το πρότυπο 2, 3, 5 (post hoc ANOVA,  $p < 0,002$ ) (Πίνακας 8).

**Πίνακας 7.**

*Τα πρότυπα κατανομής σιδήρου στα όργανα του ΔΕΣ*

<b>Πρότυπο Σιδήρωσης</b>	<b>Αριθμός ατόμων (n)</b>	<b>Φερριτίνη Μέση Τιμή (SD) (ng/ml)</b>
<b>1</b>	71/106 (67 %)	2789 (1512)
<b>2</b>	8/106 ( 7,5%	335,5 (229)
<b>3</b>	14/106 (13,2%)	815 (500)
<b>4</b>	10/106 (9,4%)	1473 (879)
<b>5</b>	3/106 (2,8%)	324 (122)

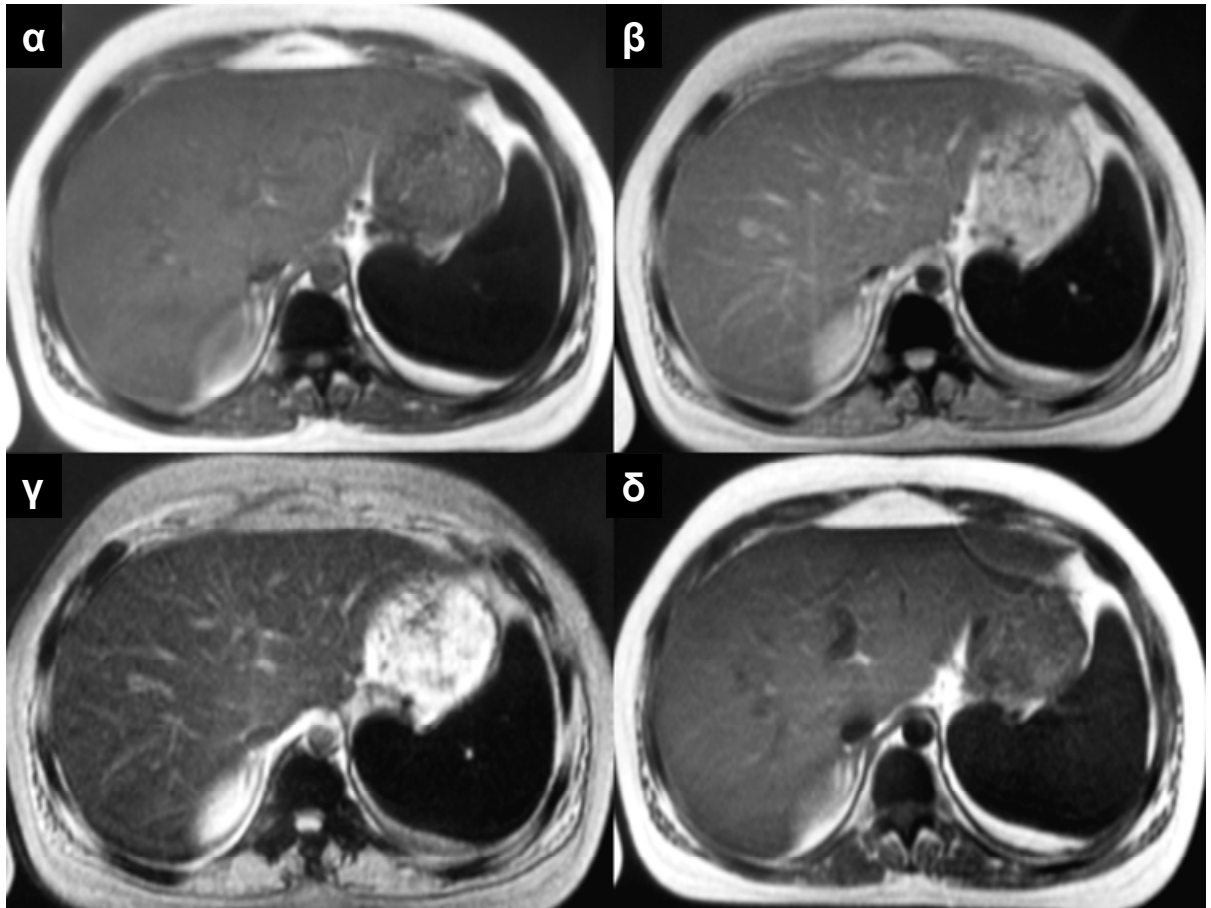
*Συντομογραφίες: M=Μέση Τιμή, SD=Σταθερή Απόκλιση*

**Πίνακας 8.**

*Συγκριση μέσων τιμών φερριτίνης ορού μεταξύ των ασθενών με διαφορετικό πρότυπο κατανομής σιδήρου στα όργανα του ΔΕΣ*

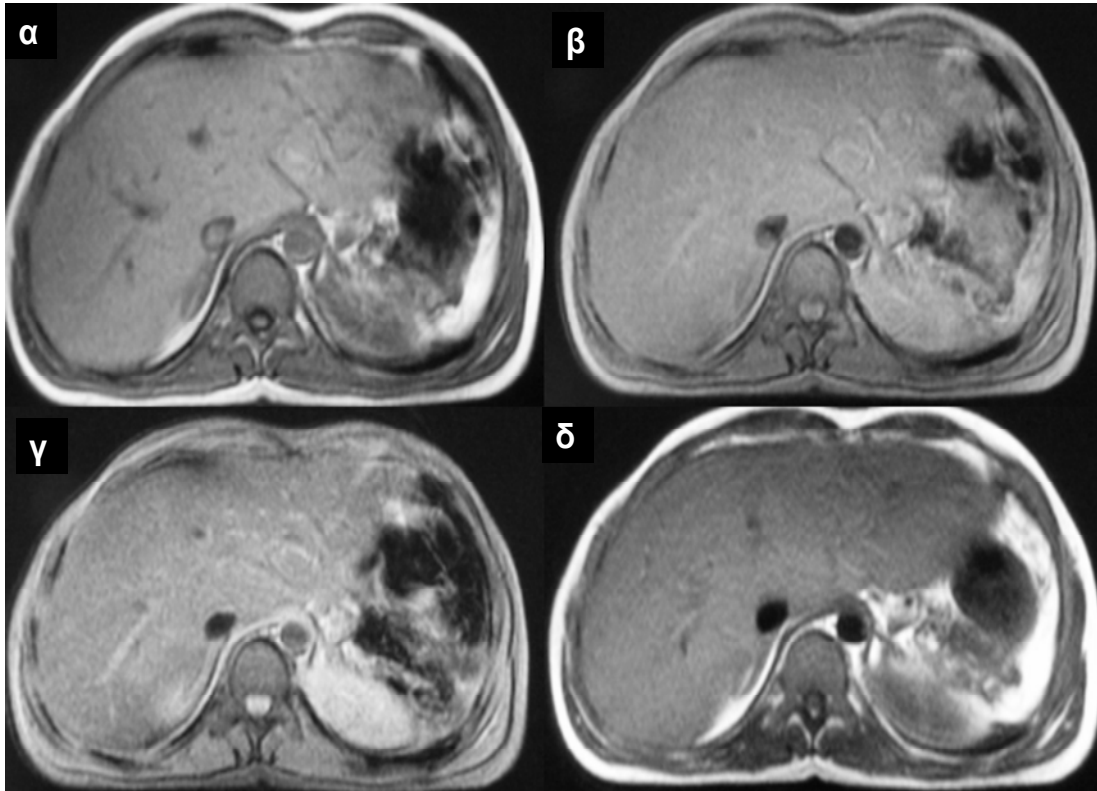
<b>ANOVA Φερριτίνη –Πρότυπα σιδήρωσης</b>	<b>Post Hoc ANOVA (Tukey test)</b>	<b>Ομάδες ασθενών</b>
F=10,436, p~0,000	p~0,000	<b>Πρότυπο 1 –Πρότυπο 2</b>
	p=0,006	<b>Πρότυπο 1- Πρότυπο 3</b>
	p=0,0001	<b>Πρότυπο 1- Πρότυπο 5</b>

*Συντομογραφίες: ANOVA=one way Analysis of Variance*



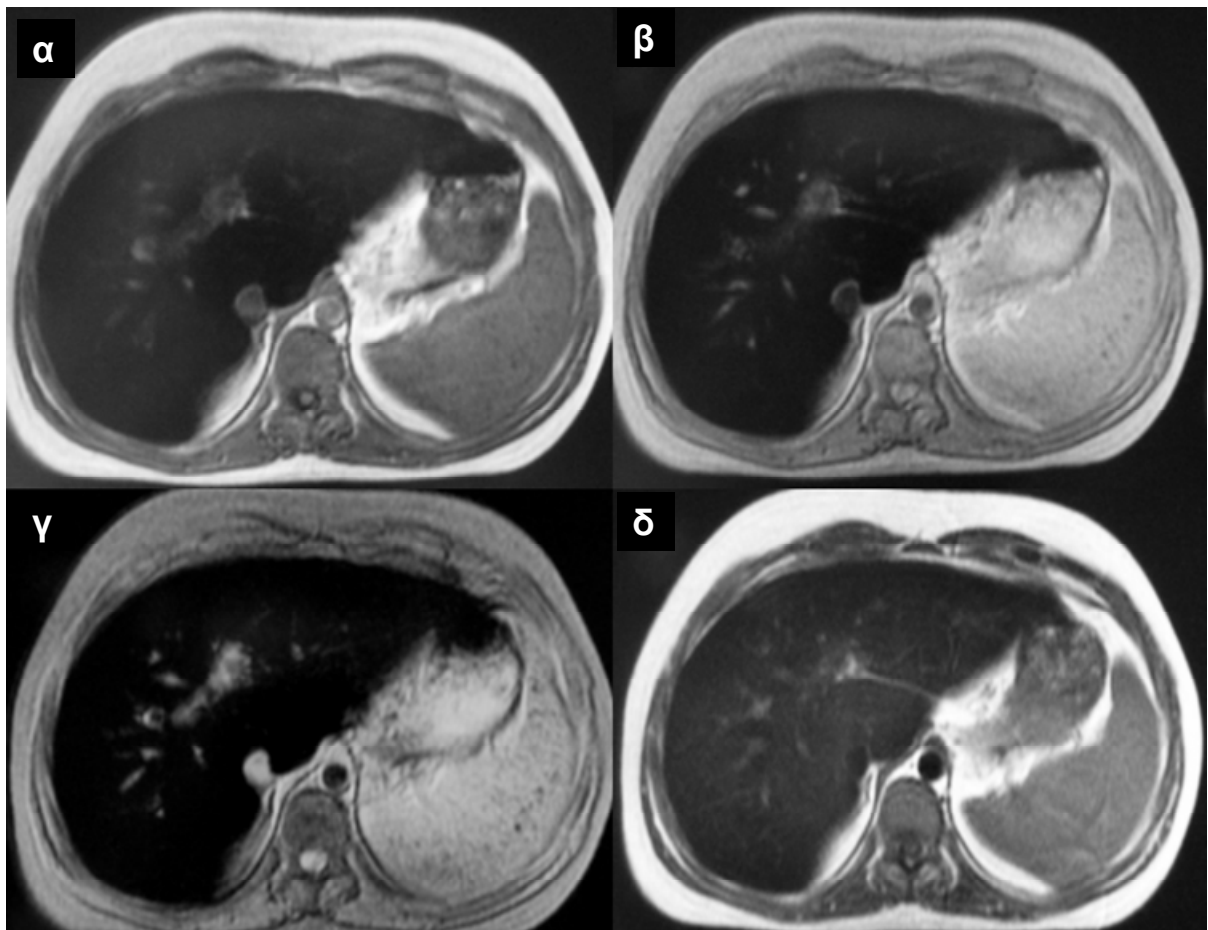
**Εικόνα 10.**

Εικόνες ΜΣ α) T1-w GRE β) Pd-w GRE γ) T2\*-w GRE και δ) T1-w TSE προσανατολισμού σε εγκάρσιο επίπεδο μιας 30χρονης πάσχουσας από ομόζυγη βΜΑ με τιμή φερριτίνης ορού 1800 ng/ml. Σημειώνεται με χαμηλή ένταση σήματος σπληνός και οστικού μυελού σε όλες τις ακολουθίες ενδεικτική μεγάλου βαθμού σιδήρωσης. Το ήπαρ παρουσιάζει χαμηλή ένταση σήματος μόνο στην T2\*-w GRE ακολουθία που είναι η πλέον ευαίσθητη, εύρημα ενδεικτικό χαμηλού φορτίου σιδήρου (**Πρότυπο 1**). Στην κατηγορία αυτή ανήκε 71/106 (67%) των εξετάσεων ΜΣ.



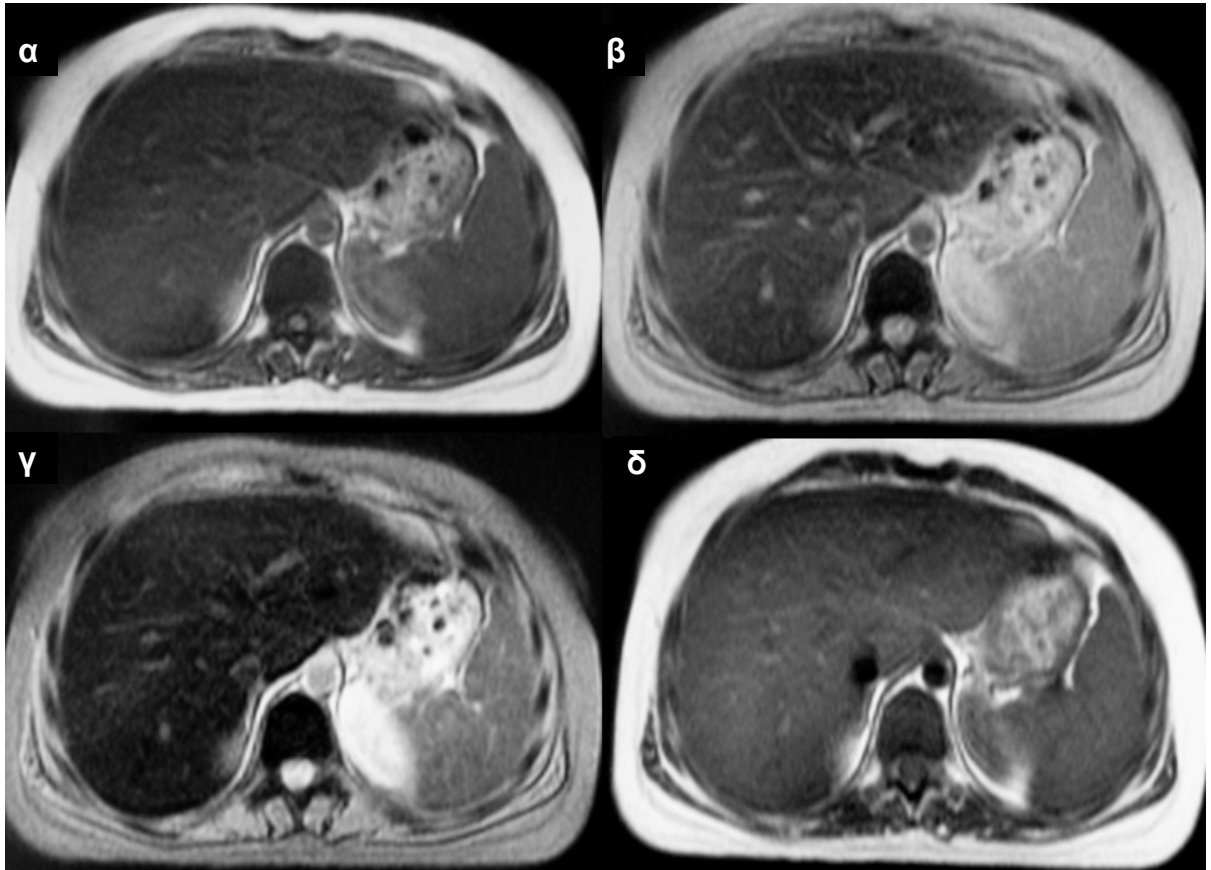
**Εικόνα 11.**

Εικόνες ΜΣ α) T1-w GRE β) Pd-w GRE γ) T2\*-w GRE και δ) T1-w TSE προσανατολισμού σε εγκάρσιο επίπεδο μιας 34χρονης σπληνεκτομηθείσας ασθενούς με ομόζυγη βΜΑ με τιμή φερριτίνης ορού 210 ng/ml. Σημειώνεται με φυσιολογική ένταση σήματος ήπατος και οστικού μυελού σε όλες τις ακολουθίες (**Πρότυπο 2**). Στην κατηγορία αυτή ανήκε 8/106 (7,5%) των εξετάσεων ΜΣ.



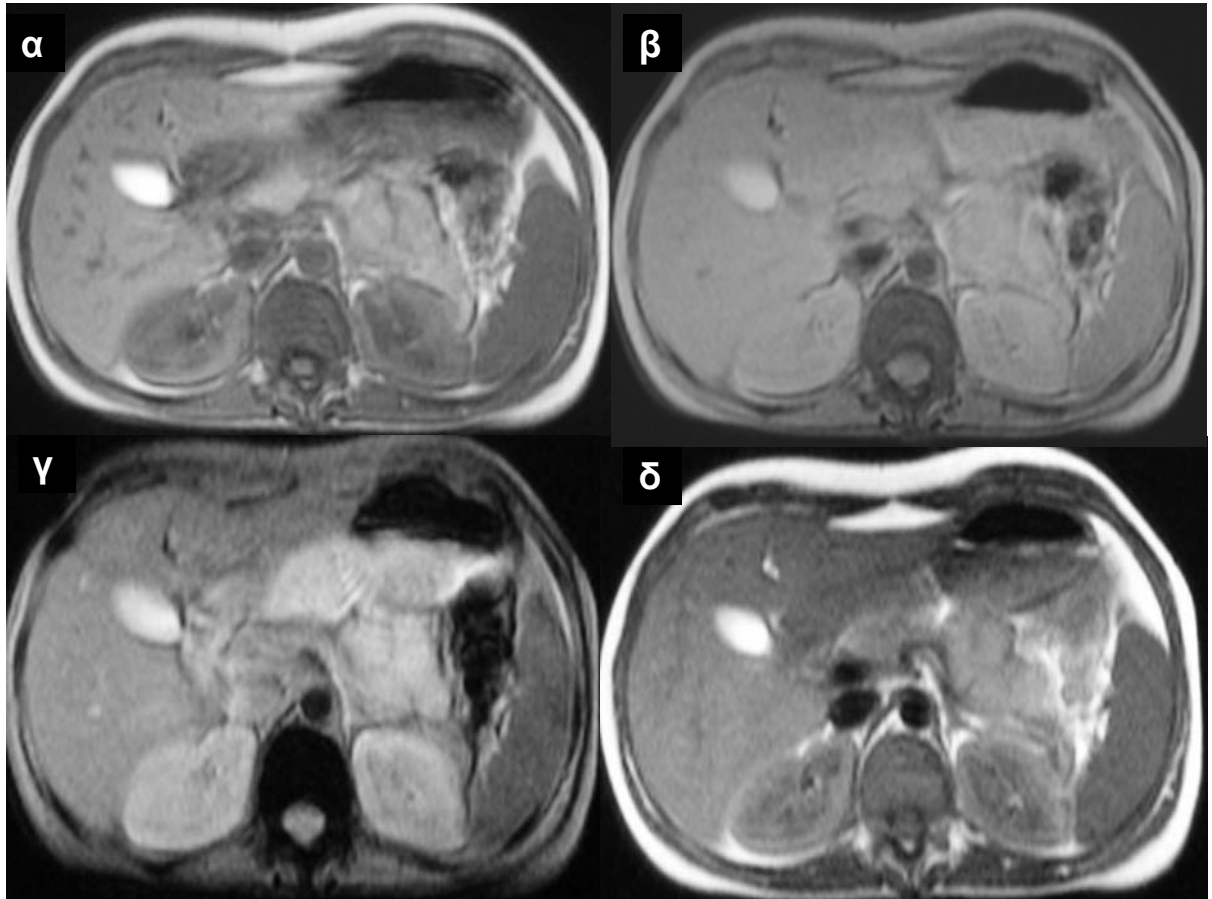
**Εικόνα 12.**

Εικόνες ΜΣ α) T1-w GRE β) Pd-w GRE γ) T2\*-w GRE και δ) T1-w TSE προσανατολισμού σε εγκάρσιο επίπεδο ενός 25χρονου πάσχοντος από ομόζυγη βΜΑ με τιμή φερριτίνης ορού 780 ng/ml. Σημειώνεται φυσιολογική ένταση σήματος οστικού μυελού και σπληνός και πολύ χαμηλή ένταση σήματος ήπατος σε όλες τις ακολουθίες (Πρότυπο 3). Στην κατηγορία αυτή ανήκαν 14/106, (13,2%) των εξετάσεων ΜΣ



**Εικόνα 13.**

Εικόνες ΜΣ α) T1-w GRE β) Pd-w GRE γ)T2\*-w GRE και δ)T1-w TSE προσανατολισμού σε εγκάρσιο επίπεδο μιας 38χρονης πάσχουσας από ομόζυγη βΜΑ με τιμή φερριτίνης ορού 832 ng/ml. Σημειώνεται φυσιολογική ένταση σήματος σπληνός και χαμηλή ένταση σήματος ήπατος και οστικού μυελού σε όλες τις ακολουθίες (**Πρότυπο 4**). Τα ευρήματα είναι πλέον έντονα στην T2\* GRE ακολουθία, λόγω αυξημένης ευαισθησίας σε ανομοιογένειες πεδίου. Στην κατηγορία αυτή ανήκαν 10/106 (9,4%) των εξετάσεων ΜΣ.



**Εικόνα 14.**

Εικόνες ΜΣ α) T1-w GRE β) Pd-w GRE γ) T2\*-w GRE και δ) T1-w TSE προσανατολισμού σε εγκάρσιο επίπεδο ενός 29χρονου ασθενούς με ομόζυγη βΜΑ με τιμή φερριτίνης ορού 371 ng/ml. Σημειώνεται φυσιολογική ένταση σήματος ήπατος και σπληνός σε όλες τις ακολουθίες και χαμηλή ένταση σήματος οστικού μυελού (**Πρότυπο 5**). Στην προκειμένη περίπτωση, η χαμηλή ένταση σήματος του οστικού μυελού αναγνωρίζεται μόνο στην T2\* GRE ακολουθία, που είναι η πλέον ευαίσθητη στις παραμαγνητικές ιδιότητες του σιδήρου. Στην κατηγορία αυτή ανήκαν 3/106 (2,8%) των εξετάσεων ΜΣ.

### **3.4 Σχέση σπληνεκτομής και ηπατίτιδας C με τη φερριτίνη ορού και τις παραμέτρους ΜΣ**

Δεν αναγνωρίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ θετικών και αρνητικών για ηπατίτιδα C ασθενών ως προς τις τιμές της φερριτίνης ορού, τους χρόνους T2 και T2\* ήπατος, σπληνός και οστικού μυελού και τις τιμές B/M, L/M και S/M σε όλες τις ακολουθίες (t-test,  $t \geq 1.325$ ,  $p \geq 0.123$ ).

Η μέση τιμή της φερριτίνης ορού στους ασθενείς με σπληνεκτομή ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή φερριτίνης στους μη σπληνεκτομηθέντες ασθενείς ( $2143 \pm 1607,9$  ng/ml έναντι  $1202,9 \pm 1095$  ng/ml, t-test,  $t=1,453$ ,  $p=0.05$ ). Δεν αναγνωρίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ σπληνεκτομηθέντων και μη ασθενών ως προς τις τιμές των χρόνων T2 και T2\* και τις τιμές λόγων έντασης σήματος ήπατος και οστικού μυελού σε όλες τις ακολουθίες.

### **3.5 Αποτελέσματα δεδομένων από διαδοχικές εξετάσεις ΜΣ και συσχέτιση των μεταβολών B/M, L/M, S/M και φερριτίνης με πρωτόκολλα αποσιδήρωσης**

#### **3.4.1 Ηπαρ (μεταβολή λόγων B/M σε T1-w TSE ακολουθία σε διαδοχικές εξετάσεις)**

Αρνητική τιμή εκατοστιαίας μεταβολής του λόγου L/M,  $\Delta(L/M)\%$ , ενδεικτική αποσιδήρωσης του ήπατος, παρατηρήθηκε σε 14/34 (41,17%) ασθενείς, οι περισσότεροι εκ των οποίων (11/14, 78,6%) ήταν σε αγωγή με συνδυασμένη θεραπεία (DFX & L1), ενώ μόνο 3/14 (21,4%) ελάμβαναν μονοθεραπεία με DFX.

Θετική τιμή  $\Delta(L/M)\%$ , ενδεικτική αύξησης της σιδήρωσης του ήπατος, παρατηρήθηκε σε 20/34 (58,8%) ασθενείς, από τους οποίους 10/20 (50%) ήταν σε συνδυασμένη θεραπεία και 10/20 (50%) σε μονοθεραπεία με DFX.



### **3.4.2 Σπλήνας** (μεταβολή λόγων S/M σε T1-w TSE ακολουθία σε διαδοχικές εξετάσεις)

Οι 13/34 (38,3%) ασθενείς είχαν υποστεί σπληνεκτομή. Η εκατοστιαία μεταβολή του λόγου S/M,  $\Delta(S/M)\%$ , υπολογίστηκε σε 21/34 (61,7%) ασθενείς. *Αρνητική* τιμή ενδεικτική αποσιδήρωσης του σπληνός, παρατηρήθηκε σε 7/21 (%) ασθενείς, οι 4/7 (33,3%) υπό συνδυασμένη θεραπεία (DFX &L1), και οι 3/7 (42,8%) υπό μονοθεραπεία με DFX.

*Θετική* τιμή  $\Delta(B/M)\%$ , ενδεικτική αύξησης της σιδήρωσης του ήπατος, παρατηρήθηκε σε 14/21 (66,6%) ασθενείς, από τους οποίους 6/14 (42,8%) ήταν σε συνδυασμένη θεραπεία και 8/14 (57,1%) σε μονοθεραπεία με DFX.

### **3.4.4 Οστικός Μυελός** (μεταβολή λόγων B/M σε T1-w TSE ακολουθία)

*Αρνητική* τιμή εκατοστιαίας μεταβολής του λόγου B/M,  $\Delta(B/M)\%$ , ενδεικτική αποσιδήρωσης του οστικού μυελού, παρατηρήθηκε σε 14/34 (41,2%) ασθενείς, οι περισσότεροι εκ των οποίων 10/14 (71,4%) ήταν σε αγωγή με συνδυασμένη θεραπεία (DFX &L1), ενώ μόνο 4/14 (28,5%) ελάμβαναν μονοθεραπεία με DFX.

*Θετική* τιμή  $\Delta(B/M)\%$ , ενδεικτική αύξησης της σιδήρωσης του οστικού μυελού, παρατηρήθηκε σε 20/34 (58,8%) ασθενείς, από τους οποίους ήταν 11/20 (55%) σε συνδυασμένη θεραπεία και 9/20 (45%) σε μονοθεραπεία με DFX.

### **3.4.5 Φεριττίνη** (μεταβολή τιμών σε διαδοχικές εξετάσεις)

*Θετική* τιμή  $\Delta\Phi\%$ , ενδεικτική μείωσης της τιμής της φερριτίνης ορού, παρατηρήθηκε σε 22/34 (95,6%) ασθενείς, οι 15/23 (65,2%) υπό συνδυασμένη θεραπεία (DFX &L1), και 7/23 (30,4%) υπό μονοθεραπεία με DFX.

*Αρνητική* τιμή ενδεικτική αύξησης της τιμής της φερριτίνης ορού, παρατηρήθηκε σε 12/34 (35,3%) ασθενείς, από τους οποίους 6/12 (50%) ήταν σε συνδυασμένη θεραπεία και 6/12 (50%) σε μονοθεραπεία με DFX.

Στους ασθενείς που αποσιδηρώθηκαν, η μέση τιμή της μεταβολής Δ(SI)% (που εκφράζει το βαθμός αποσιδήρωσης του αντίστοιχου οργάνου) ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς υπό συνδυασμένη αγωγή από τους ασθενείς σε μονοθεραπεία (t-test,  $p<0,05$ ). Στους ασθενείς όπου η σιδήρωση των οργάνων αυξήθηκε, η μέση τιμή της μεταβολής Δ(SI)% (που εκφράζει το βαθμό αύξησης της σιδήρωσης) ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς υπό μονοθεραπεία με DFX από αυτούς υπό συνδυασμένη αγωγή ( $p<0,05$ ) (Πίνακας 9). Επίσης, η πτώση της τιμής της φερριτίνης ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς υπό συνδυασμένη αγωγή από αυτούς υπό μονοθεραπεία ( $p=0,03$ ) (Πίνακας 9).

### Πίνακας 9.

*Συσχέτιση της τιμής εκατοστιαίας μεταβολής των πηλίκων έντασης σήματος ήπατος, μυελού και σπληνός και της φερριτίνης ορού με το θεραπευτικό σχήμα αποσιδήρωσης*

	Θεραπεία	Μέση Τιμή Δ(L/M)%	Μέση Τιμή Δ(B/M)%	Μέση Τιμή Δ(S/M)%	Μέση Τιμή ΔΦ%
<b>Αρνητικό Δ%</b>	<b>DFX</b>	1,467±1,8	23,64±18,4	6,2±4,13	15,6±6,9
	<b>DFX &amp; L1</b>	28,569±41	41,9±27,4	39,72±12,5	6,9±8
	t-test	t=2,198 <b>p=0,05</b>	t=5,085 <b>p~0</b>	t=2,899 <b>p=0,03</b>	t=1,879 <b>p=0,05</b>
<b>Θετικό Δ%</b>	<b>DFX</b>	14,83±12,5	31,4 ±18,5	42±12,2	28,6±18
	<b>DFX &amp; L1</b>	9,48±7,8	21,7±13,1	30,1±11,1	39±26
	t-test	t=3,608 <b>p=0,006</b>	t=4,758 <b>p=0,001</b>	t=1,131 <b>p=0,05</b>	t=3,646 <b>p=0,03</b>

Συντομογραφίες:

Δ%= εκατοστιαία μεταβολή της παραμέτρου ενδιαφέροντος μεταξύ των διαδοχικών εξετάσεων, οριζόμενη ως  $\Delta\% = [(Αρχική\ τιμή - Τελική\ τιμή) / Αρχική\ τιμή] \times 100\%$ , Φ=φερριτίνη ορού, L/M, S/M και B/M= πηλικά έντασης σήματος ήπατος, σπληνός και μυελού στην T1 TSE ακολουθία, DFX= Δεφεροξαμίνη, L1=Διφεριπρόνη

## IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο ακριβής υπολογισμός των αποθεμάτων σιδήρου αποτελεί τη βάση για την παρακολούθηση των πολυμεταγγιζόμενων ασθενών με βΜΑ και την προσαρμογή της θεραπείας αποσιδήρωσης (Jensen 2004, Rund & Rachmilewitz 2005, Panigrahi & Marwaha 2006, Urbinati et al 2006). Δεδομένου ότι η τιμές της φερριτίνης ορού επηρεάζονται και από άλλους παράγοντες πλην του φορτίου σιδήρου (Mazza et al 1995) και η βιοψία ήπατος διαβελόνης είναι επεμβατική μέθοδος, ο ποσοτικός ΜΣ έχει πλέον καθιερωθεί στην κλινική πράξη για τον αναίμακτο και αξιόπιστο ποσοτικό προσδιορισμό σιδήρου στα όργανα των ασθενών με βΜΑ (Gandon et al 1994, Gandon et al 2004, Jensen 2004, Argyropoulou & Astrakas 2007).

Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η σιδήρωση των οργάνων του ΔΕΣ με χρήση παραμέτρων ΜΣ. Εστιαστήκαμε στα όργανα που περιέχουν κύτταρα ΔΕΣ, παρότι η σιδήρωσή του από μόνη της δεν προκαλεί συμπτώματα στον οργανισμό. Ωστόσο, το ΔΕΣ αποτελεί την πρώτη θέση εναπόθεσης σιδήρου σε δευτεροπαθή αιμοσιδήρωση και τόσο τα αποθέματά του όσο και η αποσιδήρωσή του καθορίζουν την ανάπτυξη περαιτέρω παρεγχυματικής και κλινικά έκδηλης σιδήρωσης.

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η εναπόθεση και η απομάκρυνση του σιδήρου παρουσιάζει σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των οργάνων. Κλινικοαπεικονιστικές μελέτες έχουν δείξει ότι η εναπόθεση σιδήρου και η αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών σχημάτων αποσιδήρωσης είναι διαφορετικές μεταξύ ήπατος και μυοκαρδίου (Pennell et al 2006, Galanello et al 2006, Tanner et al 2007, Maggio et al 2002, Christoforidis et al 2007). Θα ήταν συνεπώς σκόπιμη η μελέτη του κάθε οργάνου ενδιαφέροντος τόσο ξεχωριστά όσο και σε συνδυασμό μεταξύ τους.

Η μελέτη οργανώθηκε σε δύο επίπεδα. Καταρχάς έγινε προσπάθεια προσέγγισης της παθοφυσιολογίας της σιδήρωσης στους πολυμεταγγιζόμενους θαλασσαιμικούς υπό αγωγή αποσιδήρωσης με τη βοήθεια του ΜΣ. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν τα επίπεδα σιδήρου

στα όργανα, η σχέση τους με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους (φερριτίνη, ηπατίτιδα C, σπληνεκτομή), τα πρότυπα κατανομής σιδήρου και η συσχέτιση του βαθμού σιδήρωσης μεταξύ των οργάνων ενδιαφέροντος. Σε ένα δεύτερο επίπεδο, μελετήθηκε το κλινικά σημαντικό ερώτημα της αποτελεσματικότητας της αγωγής αποσιδήρωσης, με προσδιορισμό της μεταβολής των επιπέδων σιδήρου των οργάνων ενδιαφέροντος σε διαδοχικές εξετάσεις ΜΣ και συσχέτιση των μεταβολών με το θεραπευτικό σχήμα.

#### **4.1 Ποσοτική εκτίμηση σιδήρωσης οργάνων ΔΕΣ με χρήση ΜΣ και συσχέτιση με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους**

##### ***A. Ήπαρ***

Στην παρούσα μελέτη επιβεβαιώνεται ότι οι πολυμεταγγιζόμενοι ασθενείς με βΜΑ έχουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό χαμηλότερη ένταση σήματος ήπατος σε σχέση τόσο με τους υγιείς εθελοντές όσο και με τους εθελοντές με στίγμα βΜΑ. Χαμηλή ένταση σήματος σε T1 και T2 προσανατολισμού ακολουθίες είναι δυνατόν να οφείλεται σε παραμαγνητικά υλικά (σίδηρο) (Stark et al 1983) ή σε ινώδη ιστό (ίνωση) (Mortele & Ros 2002). Επίσης, πτώση στην ένταση σήματος του ήπατος σε T2 προσανατολισμού ακολουθίες είναι δυνατόν να προκληθεί και από την παρουσία λίπους (στεάτωση).

Από τα πρώτα χρόνια της εφαρμογής της Μαγνητικής Τομογραφίας παρατηρήθηκε ότι η εναπόθεση σιδήρου στο ήπαρ προκαλούσε μείωση της έντασης σήματος σε T1 και T2 ακολουθίες (Doyle et al 1982, Bernardino et al 1983, Runge et al 1983, Stark et al 1983, Brown et al 1985). Σύντομα έγινε αντιληπτό ότι υπεύθυνες για την ελάττωση του σήματος είναι οι παραμαγνητικές ιδιότητες του αποθηκευμένου σιδήρου στη μορφή της φερριτίνης και αιμοσιδηρίνης (Stark 1985, Vymazal et al 1992 & 2000, Gossuin et al 2004). Η φερριτίνη προκαλεί μείωση των χρόνων T1 και T2 και πτώση του σήματος σε T1 και T2 προσανατολισμού ακολουθίες, σε αντίθεση με την αιμοσιδηρίνη που επιδρά μόνο στο χρόνο

T2 και προκαλεί χαμηλό σήμα μόνο σε T2 βαρύτητας ακολουθίες (Jensen 2004). Η εναπόθεση σιδήρου στο ήπαρ των μεταγγιζόμενων ασθενών με βΜΑ είναι απότοκη κυρίως των μεταγγίσεων που οδηγούν σε εξωαγγειακή αιμόλυση στον σπλήνα, ενώ σε μικρότερο βαθμό είναι δυνατόν να συμμετέχει μικρού βαθμού απορρόφηση σιδήρου από το εντερικό αυλό λόγω αναιμίας (Siegelman et al 1991 & 1996, Brasch et al 1984, Yoon et al 1994).

Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε ότι οι εθελοντές με στίγμα βΜΑ, οι οποίοι ήταν ασυμπτωματικοί και δεν είχαν ποτέ μεταγγιστεί, είχαν σημαντικά υψηλότερη ένταση σήματος ήπατος σε σχέση με τους μεταγγιζόμενους ασθενείς με ομόζυγη μορφή της νόσου και δεν διέφεραν σημαντικά σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές. Το εύρημα αυτό είναι αναμενόμενο, αφού στα άτομα με στίγμα βΜΑ, η ήπια αναιμία προκαλεί σε κάποιο βαθμό αύξηση της απορρόφησης σιδήρου από το έντερο, ο σίδηρος όμως αυτός εναποτίθεται μόνο στα κύτταρα ΔΕΣ του ήπατος (Kupffer) που είναι πολύ λιγότερα σε σχέση με τα ηπατοκύτταρα και αφορά σε μικρές ποσότητες (Cohen et al 2004). Αντίθετα, σε άτομα με συνύπαρξη στίγματος βΜΑ και HbE, η κλινική εικόνα μπορεί να κυμαίνεται από εντελώς ασυμπτωματική έως σημαντική αναιμία που είναι δυνατόν να συνοδεύεται από σημαντική εναπόθεση σιδήρου στο ΔΕΣ ακόμη και χωρίς μεταγγίσεις (Cohen et al 2004).

Η παρουσία λίπους (στεάτωση) έχει βρεθεί ότι δεν επηρεάζει ουσιαστικά την αξιοπιστία της ποσοτικοποίησης σιδήρου με ΜΣ (Gandon et al 2004). Αυτό οφείλεται στο ότι το λίπος αποδίδει υψηλή ένταση σήματος σε T1 και χαμηλότερη ένταση σήματος σε T2 προσανατολισμού ακολουθίες. Είναι γνωστό ότι η παρουσία νερού και λίπους στο ίδιο pixel στις ακολουθίες αντίθεσης φάσεως (out-of-phase) οδηγεί σε απώλεια σήματος, που θα μπορούσε να επηρεάσει τις μετρήσεις για ποσοτικοποίηση σιδήρου. Γι' αυτό στις ακολουθίες που χρησιμοποιήσαμε, όλα τα TE είχαν επιλεγεί ώστε να είναι σε συμφωνία φάσεως (in phase), ώστε η παρουσία λίπους να μην επηρεάζει την πτώση του σήματος. Συνεπώς η παρουσία σιδήρου ήταν ο κύριος καθοριστικός παράγοντας της πτώσης της έντασης σήματος σε T1 και T2 ακολουθίες στους ασθενείς που μελετήθηκαν.

Ενδοκυττάριος ηπατικός σίδηρος είναι δυνατόν να συσσωρευτεί και σε περιπτώσεις κίρρωσης σε ποσοστό ως και 50%, ανεξάρτητα από την ύπαρξη αιμοσφαιρινοπάθειας ή μεταγγίσεων (Williams et al 1967). Στις περιπτώσεις κίρρωσης η ποσότητα του ενδοκυττάριου σιδήρου είναι μικρή και σπάνια ξεπερνά το διπλάσιο του φυσιολογικού, ενώ έχει αποδειχθεί ότι η πτώση της έντασης σήματος που προκαλείται είναι πολύ μικρή, δεν φτάνει ποτέ στα επίπεδα του θορύβου και δεν επηρεάζει σημαντικά τις μετρήσεις των λόγων έντασης σήματος (Siegelman et al 1999, Alustiza et al 2004, Bonkovsky 1999). Επιπλέον, η παρουσία σιδηρωμένων αναγεννητικών όζων σε κίρρωτικό ήπαρ καταλήγει σε ανομοιογενή κατανομή του σιδήρου και χαρακτηριστική οζώδη απεικόνιση στις εγκάρσιες τομές ΜΣ (Villeneuve et al 1996). Σε κίρρωτικό ήπαρ, η παρουσία ινώδους ιστού, θα μπορούσε επίσης να συμμετέχει στην χαμηλή ένταση σήματος σε T1 και T2 ακολουθίες. Παρότι αναφέρεται ότι ο χρόνος T2 του ήπατος σε θαλασσαιμικούς ασθενείς σχετίζεται με την βαρύτητα ηπατικής ίνωσης (Alexoroulou et al 2006) και αυξάνει το εύρος διακύμανσης των μετρήσεων (Angellucci et al 1997), άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι η επίδρασή της στην ένταση σήματος δεν είναι σημαντική και δεν επηρεάζει την ακρίβεια των μετρήσεων (Gandon et al 2004). Στην παρούσα μελέτη κανένας ασθενής δεν παρουσίαζε κλινικά ή απεικονιστικά σημεία κίρρωσης.

Είναι γνωστό ότι η συσσώρευση σιδήρου στο ήπαρ ευνοεί την ηπατική φλεγμονή και ίνωση και αντίστροφα, η παρουσία φλεγμονής ενισχύει την τοξική δράση του σιδήρου (Masera et al 1980, Basset et al 1986, Ridson et al 1973, Prati et al 2004). Η ηπατική φλεγμονή και ίνωση λόγω χρόνιας ηπατίτιδας C θα μπορούσαν να επηρεάσουν τις παραμέτρους ΜΣ του ήπατος. Στην παρούσα μελέτη, ηπατίτιδα C καταγράφηκε σε ποσοστό 34% των ασθενών, δεν βρέθηκαν όμως στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς τις τιμές της φερριτίνης ορού και τις παραμέτρους ΜΣ μεταξύ ασθενών θετικών και αρνητικών για ηπατίτιδα C. Το εύρημα αυτό υποδεικνύει ότι η παρουσία ηπατικής φλεγμονής και ίνωσης δεν επιδρά σημαντικά στις παραμέτρους ΜΣ και δεν συσχετίζεται με αύξηση του φορτίου

σιδήρου του οργανισμού. Τα ευρήματά μας συμφωνούν με προγενέστερες μελέτες με χρήση ΜΣ που έχουν δείξει ότι οι τιμές του χρόνου T2 του ήπατος των HCV (+) ασθενών με θαλασσαιμία είναι ανεξάρτητες από τη βαρύτητα της ιστολογικής βλάβης από τη φλεγμονή (HAI score) και από τον τύπο της ηπατίτιδας (χρόνια ενεργό ή χρόνια επιμένουσα) και δεν διαφέρουν από αυτές των HCV (-) θαλασσαιμικών ασθενών (Papakonstantinou et al 1995 & 1999, Chen et al 2006). Σχετικά με την επίδραση της ηπατίτιδας C στην τιμή της φερριτίνης ορού και κατ'έκταση στο συνολικό φορτίο σιδήρου, τα ευρήματα σε διάφορες μελέτες ποικίλουν. Στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στο φορτίο σιδήρου του οργανισμού μεταξύ HCV (+) και HCV (-) θαλασσαιμικών ασθενών, σε συμφωνία με προγενέστερες μελέτες (Wanachiwanawin et al 2003, Chen et al 2006). Αντίθετα, αρκετές μελέτες αναφέρουν υψηλότερες τιμές φερριτίνης ορού σε HCV (+) σε σχέση με HCV (-) θαλασσαιμικούς ασθενείς, ευνοώντας την υπόθεση ότι η παρουσία ηπατικής φλεγμονής προδιαθέτει σε αυξημένη εναπόθεση σιδήρου στο ήπαρ και ευνοεί την εξέλιξη της ηπατικής ίνωσης (Aldouri et al 1987, Papakonstantinou et al 1999, Walker and Walker 2000, Mirmomen et al 2006, Anwar et al 2006, Valenti et al 2007). Εντούτοις, δεν είναι σαφές, αν στις περιπτώσεις αυτές η τιμή της φερριτίνης αντανακλά μόνο τον αποθηκευμένο σιδήρο ή αν, ως πρωτεΐνη οξείας φάσεως, σχετίζεται και με την παρουσία ενεργού φλεγμονής από τον ιό HCV.

Στην μελέτη αυτή προέκυψε επίσης ότι η τιμή της φερριτίνης ορού σε ασθενείς με ομοζυγη βΜΑ είναι υψηλότερη από ό,τι σε εθελοντές με στίγμα και υγιείς εθελοντές. Αυτό επιβεβαιώνεται και στη βιβλιογραφία (Voskaridou et al 2004, Ooi et al 2004) και προφανώς αντανακλά τα υψηλότερα επίπεδα αποθηκευμένου σιδήρου στα άτομα αυτά. Επίσης η τιμή φερριτίνης ορού των θαλασσαιμικών ασθενών βρέθηκε ότι συσχετίζεται σημαντικά με το ηλικίο έντασης σήματος σε όλες τις ακολουθίες και την τιμή του χρόνου αποκατάστασης T2 του ήπατος. Η σχέση μεταξύ φερριτίνης ορού και τιμών παραμέτρων ΜΣ ποικίλει στις διάφορες μελέτες. Οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν με τα ευρήματά μας και

αναφέρουν ισχυρή συσχέτιση τιμής φερριτίνης ορού, τόσο με το χρόνο T2 ήπατος (Voskaridou et al 2004, Papakonstantinou et al 1999, Kaltwasser et al 1990, Mazza et al 1995, Christoforidis et al 2007), όσο και με τις τιμές λόγων έντασης σήματος ήπατος προς ιστό αναφοράς (Papakonstantinou et al 1999, Ooi et al 2004, Drakonaki et al 2005, Papakonstantinou et al 2006, Maris et al 2007, Argyropoulou et al 2003), με λίγες εξαιρέσεις, που καταγράφουν συσχέτιση τιμών φερριτίνης μόνο με την τιμή του λόγου έντασης σήματος και όχι με το χρόνο T2 του ήπατος (Argyropoulou et al 2003, 2007). Ωστόσο, σε όλες οι μελέτες συμφωνούν ότι οι παράμετροι MΣ (χρόνος T2 και λόγοι εντάσεων σήματος) συσχετίζονται ισχυρότερα με το LIC παρά με την τιμή φερριτίνης ορού (Kaltwasser et al 1990, Gomori et al 1991, Mazza et al 1995, Papakonstantinou et al 1999, Anderson et al 2001, Wood et al 2005, St Pierre et al 2005, Christoforidis et al 2006). Αυτό πιθανότατα οφείλεται στην παρουσία παραγόντων που επηρεάζουν την τιμή της φερριτίνης, εκτός του φορτίου σιδήρου (ηπατική φλεγμονή, κίρρωση) και επιβεβαιώνει ότι οι παράμετροι MΣ αποτελούν πιο αξιόπιστο δείκτη ποσοτικής εκτίμησης σιδήρου από ότι η φερριτίνη ορού.

Η παρούσα μελέτη συμπεριέλαβε υπολογισμό τόσο των χρόνων αποκατάστασης T2 και T2\* όσο και πηλίκων έντασης σήματος σε ακολουθίες TSE όσο και GRE. Οι τιμές των πηλίκων έντασης σήματος οδήγησαν σε στατιστικά ισχυρότερες συσχετίσεις με τη φερριτίνη ορού από ό,τι η χρήση του χρόνου T2, ενώ η σχέση μεταξύ σιδήρωσης ήπατος, σπληνός και μυελού οστών αναδείχθηκε μόνο με χρήση των πηλίκων έντασης σήματος. Το παραπάνω αποτέλεσμα συμφωνεί με την βιβλιογραφία που αναφέρει ότι οι λόγοι έντασης σήματος του ήπατος προς ένα ιστό αναφοράς παρέχουν ισχυρότερη συσχέτιση με το LIC από ό,τι η χρήση των χρόνων αποκατάστασης T2 (Israel et al 1989, Bonkovsky et al 1990, Gandon et al 1994, Fenzi et al 2003). Τα ευρήματα έχουν αποδοθεί σε στατιστικά σημαντική διαφορά στο πειραματικό σφάλμα μεταξύ διαδοχικών μετρήσεων, το οποίο υπολογίστηκε στο 7,5% για τη μέτρηση χρόνων T2 και 3,5% για τις μετρήσεις εντάσεων σήματος (Fenzi et al 2003). Εκτός όμως από την μεγαλύτερη ακρίβεια στις μετρήσεις, η χρήση εντάσεων σήματος πλεονεκτεί



στην κλινική πράξη έναντι των χρόνων αποκατάστασης και λόγω ταχύτερης και απλούστερης λήψης και επεξεργασίας εικόνων. Στα μειονεκτήματα της τεχνικής περιλαμβάνεται η εξάρτηση των μετρήσεων από τις παραμέτρους της χρησιμοποιούμενης ακολουθίας και την ένταση του πεδίου, παράμετροι που δεν επηρεάζουν τις τιμές των χρόνων αποκατάστασης (Fenzi et al 2003).

Από τις ακολουθίες που χρησιμοποιήθηκαν, στην T1-w TSE ακολουθία καταγράφηκαν ισχυρότερες συσχετίσεις από ό,τι με τις GRE ακολουθίες. Η βασική διαφορά μεταξύ GRE και SE ακολουθιών είναι ότι στην πρώτη περίπτωση η επανεστίαση των σημάτων από το βαθμιδωτό πεδίο διορθώνει μόνο τις απώλειες φάσης που προκύπτουν από το ίδιο το βαθμιδωτό πεδίο και όχι από ανομοιογένειες του πεδίου και φαινόμενα επιδεκτικότητας βιολογικών ουσιών, όπως συμβαίνει στην περίπτωση ακολουθιών SE. Έτσι, οι ακολουθίες GRE έχουν αυξημένη ευαισθησία σε παραμαγνητικές ουσίες όπως ο σίδηρος. Έχει αποδειχθεί ότι σε περιπτώσεις μικρής και μέτριας σιδήρωσης, οι GRE με μικρής διάρκειας TR και TE διαθέτουν μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα και παρέχουν ισχυρότερες συσχετίσεις με το LIC από ό,τι οι SE (Ernst et al 1997, Bonkovsky et al 1999, Gandon et al 1999, 2000). Τα παραπάνω ευρήματα σε συνδυασμό με τη μικρή διάρκεια εξέτασης και την καλύτερη αντίθεση ανάμεσα σε ήπαρ και παρασπονδυλικούς μυς καθιστούν τις GRE ακολουθίες πλεονεκτικότερες των SE σε μικρές συγκεντρώσεις σιδήρου. Αντίθετα σε υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου (>300  $\mu\text{mol}/\text{gr}$  ή 15mg/gr ξηρού βάρους), σε GRE ακολουθίες υπάρχει εκθετική πτώση του σήματος που πλησιάζει το σήμα του θορύβου οδηγώντας σε ανακρίβεια στις μετρήσεις (Kaltwasser et al 1990, Guyader et al 1992, Gandon et al 1999, 2004). Συγκεκριμένα, παλαιότερες μελέτες με χρήση T1SE ακολουθιών αναφέρουν ευαισθησία, ειδικότητα και ακρίβεια των πηλίκων έντασης σήματος για τις παραπάνω υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου που κυμαίνονται από 86-100%, 87-100% και 88% αντίστοιχα, και χαμηλότερες τιμές (69%, 88%, 78% αντίστοιχα) για μικρές συγκεντρώσεις σιδήρου (<7mg/gr ξηρού βάρους) (Ooi et al 2004, Chan et al 2001). Επίσης

έχει βρεθεί ότι σε υψηλά φορτία σιδήρου η συσχέτιση των πηλίκων έντασης σήματος με το LIC είναι ισχυρότερη σε T1SE από ό,τι σε T2GRE ακολουθίες (Ooi et al 2004). Έτσι, σε περιπτώσεις βαριάς σιδήρωσης, πλεονεκτεί η χρήση των λιγότερο ευαίσθητων ακολουθιών SE με μικρό TE λόγω υψηλότερου λόγου σήματος προς θόρυβο (Kaltwasser et al 1990, Chan et al 2001, Alustiza et al 2004, Ooi et al 2004). Στην παρούσα μελέτη, οι ισχυρότερες συσχετίσεις που προέκυψαν σε TSE ακολουθίες πιθανότατα οφείλονται στο υψηλό φορτίο σιδήρου ήπατος των ασθενών μας, το μέσο LIC των ασθενών μας ήταν αρκετά υψηλό (222  $\mu\text{mol/gr}$ , υπολογισμένο με τον αλγόριθμο κατά Gandon).

### ***B. Οστικός Μυελός***

Στην ομόζυγη βMA η αιμόλυση και αναποτελεσματική ερυθροποίηση επάγει την υπερπλασία του ερυθρού οστικού μυελού και την εξωμυελική αιμοποίηση (Weatherall & Clegg 2001). Στους θαλασσαιμικούς ασθενείς η κατανομή του ερυθρού μυελού και η παρουσία σιδήρου σε αυτόν καθορίζεται από την ηλικία και την θεραπεία μεταγγίσεων και αποσιδήρωσης (Levin et al 1994 & 1995). Σε μη μεταγγιζόμενους θαλασσαιμικούς ασθενείς το πρότυπο κατανομής ερυθρού-λιπώδους μυελού προσομοιάζει εκείνο του νεογνού και η υπερπλασία του ερυθρού μυελού είναι έντονη τόσο στον περιφερικό όσο και στον αξονικό σκελετό με διεύρυνση των μυελοχώρων (Levin et al 1994 & 1995). Η θεραπεία με μεταγγίσεις αίματος αλλάζει την φυσική εξέλιξη της νόσου, αφού με διατήρηση της  $\text{Hb} > 9-10 \text{ g/dl}$  καταστέλλεται η υπερπλασία του οστικού μυελού και περιορίζεται η διεύρυνση των μυελοχώρων ((Levin et al 1994 & 1995), προκαλείται όμως δευτεροπαθής υπερφόρτωση του οργανισμού σε σίδηρο (Siegelman et al 1991, Yoon et al 1996), ο οποίος εναποτίθεται στις θέσεις ερυθρού μυελού (Levin et al 1995). Έτσι σε νεαρούς μεταγγιζόμενους αλλά όχι ακόμη αποσιδηρούμενους ασθενείς, ερυθρός μυελός με αποθηκευμένο σίδηρο αναγνωρίζεται στον αξονικό και εγγύς περιφερικό μυελό (Levin et al 1994 & 1995). Σε μεταγγιζόμενους ασθενείς υπό αγωγή αποσιδήρωσης, η σπονδυλική στήλη και η πύελος περιέχουν κυρίως

ερυθρό μυελό με παρουσία σιδήρου, ενώ στα μακρά οστά υπάρχει κυρίως λιπώδης μυελός με διάσπαρτες περιορισμένης έκτασης εστίες σιδηρωμένου ερυθρού μυελού (Levin et al 1994 & 1995).

Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια ποσοτικής αξιολόγησης του σιδήρου στον οστικό μυελό οσφυϊκών σπονδύλων πολυμεταγγιζόμενων θαλασσαιμικών ασθενών υπό αγωγή αποσιδήρωσης με χρήση ΜΣ. Τα απεικονιστικά χαρακτηριστικά με ΜΣ του οστικού μυελού είναι αποτέλεσμα της επίδρασης των ποικίλων συστατικών του: λίπους (από τον περιεχόμενο σε λιπώδη μυελό), πρωτεΐνης και νερού (από τον ερυθρό μυελό), οστίτη ιστού (από τις οστικές δοκίδες) και σιδήρου (Sebag et al 1990, Kaneko et al 1993, Levin et al 1995).

Παρότι η αλληλεπίδραση των συστατικών προκαλεί δυσκολία στην αξιολόγηση του σήματός του, το λιπώδες στοιχείο του μυελού εύκολα διακρίνεται με ΜΣ λόγω υψηλής έντασης σήματος σε T1 προσανατολισμού ακολουθίες. Ο φυσιολογικός ερυθρός μυελός, αντίθετα, αποδίδει ενδιάμεσο σήμα σε T1 και σχετικά αυξημένο σήμα σε T2 προσανατολισμού ακολουθίες, λόγω αυξημένης περιεκτικότητας σε νερό (Kaneko et al 1993). Η παρουσία σιδήρου στον ερυθρό μυελό έχει την ίδια επίδραση με αυτήν στο ήπαρ και σπλήνα, προκαλώντας πτώση του σήματος σε όλες τις ακολουθίες λόγω παραμαγνητικής δράσης του αποθηκευμένου σιδήρου στην μορφή της αιμοσιδηρίνης και φερριτίνης (Kaneko et al 1993, Brasch et al 1985, Stark et al 1985). Εκτός από τον σίδηρο, το συμπαγές οστόν και ο ινώδης ιστός αποδίδουν χαμηλό σήμα σε T1 και T2 προσανατολισμού ακολουθίες και θα μπορούσαν να συμβάλλουν μαζί με το σίδηρο στην πτώση του σήματος (Sebag et al 1990, Kaneko et al 1993, Ueda et al 1994). Παρόλα αυτά, ινώδης ιστός στον οστικό μυελό παρατηρείται σε δρεπανοκυτταρική αναιμία και μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, ενώ δεν αναφέρεται παρουσία του σε μυελό θαλασσαιμικών ασθενών (Ueda et al 1994, Mancini et al 2004).

Η μεγαλύτερη δυσκολία στην αξιολόγηση με ΜΣ του χαμηλού σήματος του οστικού μυελού προκύπτει από την παρουσία των οστικών δοκίδων που περιέχουν άλατα ασβεστίου, τα οποία, όπως και ο σίδηρος, προκαλούν μικροσκοπικές ετερογένειες στο πεδίο και βράχυνση του χρόνου T2 (Ishijima et al 1997). Παρότι ο ΜΣ διαθέτει χαμηλή ακρίβεια στον ποσοτικό προσδιορισμό του συμπαγούς οστού, με επιλογή κατάλληλων τεχνικών παραμέτρων το πρόβλημα είναι δυνατόν να περιοριστεί (Techawiboonwong et al 2005, Majumdar et al 1991, Majumdar et al 1995). Έχει βρεθεί ότι φαινόμενα μαγνητικής επιδεκτικότητας και ψευδοκαταχωρήσεις (artifact) σε GRE ακολουθίες προκαλούν ψευδή πάχυνση των οστικών δοκίδων, ενώ τα φαινόμενα αυτά περιορίζονται σε SE ακολουθίες (Rosenthal et al 1990, Majumdar et al 1995, Techawiboonwong et al 2005). Επίσης έχει βρεθεί ότι σε SE ακολουθίες ο χρόνος T2 του φυσιολογικού οστικού μυελού επηρεάζεται κυρίως από την περιεκτικότητά του σε νερό και λιπίδια, ενώ η επίδραση των δοκίδων δεν είναι σημαντική (Majumdar et al 1991, Ishijima et al 1997). Για τους παραπάνω λόγους στην παρούσα μελέτη συμπεριλήφθηκε ακολουθία TSE. Επιπλέον, μελέτες υπολογιστικής τομογραφίας σε θαλασσαιμικούς ασθενείς έχουν δείξει την παρουσία ενός χαρακτηριστικού προτύπου δοκίδωσης με διεύρυνση των μυελοχώρων και μείωση του αριθμού των οστικών δοκίδων, ευρήματα απότοκα της υπερπλασίας του ερυθρού μυελού (Long et al 1980). Συνεπώς οι θαλασσαιμικοί ασθενείς έχουν λιγότερες οστικές δοκίδες από τους υγιείς εθελοντές και έτσι η συμμετοχή των οστικών δοκίδων στο χαμηλό σήμα ΜΣ, παρότι δεν μπορεί με ασφάλεια να αποκλεισθεί, είναι πιθανότατα περιορισμένη.

Παρότι ο οστικός μυελός παίζει κομβικό ρόλο στην παθοφυσιολογία των αιμοσφαιρινοπαθειών, υπάρχουν περιορισμένες μόνο αναφορές στην βιβλιογραφία που αναφέρονται στην μελέτη του οστικού μυελού με χρήση ΜΣ σε ασθενείς με βΜΑ (Brasch et al 1985, Levin et al 1994, Isokawa et al 1997) και δρεπανοκυτταρική αναιμία (Kaneko et al 1993, Levin et al 1995). Οι παραπάνω μελέτες περιγράφουν χαμηλή ένταση σήματος μυελού σε T1 και T2 προσανατολισμού ακολουθίες, που αποδίδεται σε αποθήκευση σιδήρου

(Brasch et al 1985, Levin et al 1995, Isokawa et al 1997, Kaneko et al 1993, Levin et al 1995).

Στην παρούσα μελέτη βρήκαμε ότι οι πολυμεταγγιζόμενοι θαλασσαιμικοί ασθενείς υπό αγωγή αποσιδήρωσης είχαν χαμηλότερη ένταση σήματος στον οστικό μυελό οσφυϊκών σπονδύλων σε όλες τις ακολουθίες από τους υγιείς και τους εθελοντές με στίγμα βΜΑ, εύρημα που αποδίδεται στην παρουσία σιδήρου. Ο σίδηρος του οστικού μυελού συμπεριλαμβάνει τόσο τον σίδηρο της αιμοσφαιρίνης των αιμοποιητικών ιστών (heme iron), όσο και τον αποθηκευμένο σίδηρο σε συνθήκες αιμοχρωμάτωσης στην μορφή της φερριτίνης και αιμοσιδηρίνης (storage iron) (Isokawa et al 1997). Μελέτες συσχέτισης παραμέτρων ΜΣ (1/T2) με τις ιστολογικά μετρούμενες συγκέντρωσεις σιδήρου στον μυελό ασθενών με διάφορες αιματολογικές νόσους έχουν δείξει συσχέτιση του χρόνου T2 τόσο με την συνολική ποσότητα σιδήρου στον μυελό όσο και με την συγκέντρωση αιμοσιδηρίνης σε ασθενείς με χαμηλό συνολικό φορτίο σιδήρου (<400μgr/ml) (Isokawa et al 1997). Από όλες τις μορφές σιδήρου στον μυελό, η φερριτίνη λόγω εντόπισης στο κυτταρόπλασμα, θεωρείται ότι έχει μεγαλύτερη επίδραση στον χρόνο T2 από ό,τι οι αιμοσφαιρίνες και η αιμοσιδηρίνη που εντοπίζονται στα μιτοχόνδρια και στα λυσοσώματα αντίστοιχα (Isokawa et al 1997, Cavill et al 1975, Iancu et al 1977).

Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της τιμής της φερριτίνης ορού με την τιμή των παραμέτρων ΜΣ του οστικού μυελού, υποδηλώνοντας ότι η φερριτίνη ορού αποτελεί δείκτη του βαθμού σιδήρωσης του οστικού μυελού. Έχει βρεθεί ότι σε φυσιολογικά άτομα η φερριτίνη του ορού συσχετίζεται με το χρόνο T2 του οστικού μυελού και η συσχέτιση αυτή αφορά τον επιμέρους χρόνο T2 του νερού και όχι του λίπους (Ishijima et al 1997). Ιστολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η τιμή της φερριτίνης ορού είναι ανάλογη με τα μετρούμενα επίπεδα του αποθηκευμένου σιδήρου στον μυελό, εκτός από τις περιπτώσεις συνύπαρξης φλεγμονής, χρόνιας ηπατικής νόσου ή κακοήθειας (Lipschitz et al 1974, Harju et al 1984, Krauze et al 1980, Ishijima et al 1997, Isokawa et al 1997) και αυτή η

σχέση είναι εντονότερη σε υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου μυελού (>400μg/ml) (Isokawa et al 1997). Σε μεταγενέστερη της παρούσας μελέτη από άλλο εργαστήριο δεν επιβεβαιώθηκε ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ φερριτίνης και χρόνου T2 οστικού μυελού, πιθανώς λόγω χαμηλότερων φορτίων σιδήρου ή λόγω συνύπαρξης ηπατικής φλεγμονής ή ίνωσης στους ασθενείς που μελετήθηκαν (Argyropoulou et al 2007).

### ***Γ. Σπλήνας***

Παρότι ο σπλήνας, ως όργανο του ΔΕΣ, αποτελεί μια από τις πρώτες θέσεις εναπόθεσης σιδήρου σε δευτεροπαθή σιδήρωση (Siegelman et al 1991, 1996), δεν έχει μελετηθεί όσο το ήπαρ. Αυτό πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι η εναπόθεση σιδήρου στο ΔΕΣ δεν προκαλεί από μόνη της κλινικά σημαντικές επιπτώσεις όπως συμβαίνει με την ηπατική σιδήρωση. Οι αναφορές στην βιβλιογραφία για μελέτη της σπληνικής σιδήρωσης με χρήση ΜΣ είναι περιορισμένες (Adler et al 1986, Gomori et al 1988, Arrive et al 1990, Ooi et al 2004, Parakonstantinou et al 2005 & 2006).

Ήδη από τις πρώτες μελέτες της σπληνικής σιδήρωσης με χρήση ΜΣ παρατηρήθηκε γενικευμένη πτώση του σήματος του σπληνός σε μεταγγιζόμενους ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία (Adler et al 1986). Η χαμηλή ένταση σήματος του σπληνός σε T1 και T2 προσανατολισμού SE και GRE ακολουθίες σε μεταγγιζόμενους ασθενείς ποικίλης αιτιολογίας (αιμολυτικές αναιμίες, αναποτελεσματική ερυθροποίηση, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα) έχει αποδοθεί σε εναπόθεση σιδήρου στα κύτταρα ΔΕΣ του σπληνός στα πλαίσια δευτεροπαθούς σιδήρωσης από τις μεταγγίσεις (Arrive et al 1990, Yoon et al 1994, Siegelman et al 1991, 1996). Επιπλέον, σε περιπτώσεις ραβδομυόλυσης, η μυοσφαιρίνη, μια πρωτεΐνη που περιέχει σίδηρο, μεταβολίζεται στο ήπαρ και το σπλήνα προκαλώντας εναπόθεση σιδήρου στα όργανα αυτά (Siegelman et al 1991). Σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία, στο σπληνικό παρέγχυμα, εκτός από σίδηρο λόγω μεταγγίσεων, συνυπάρχουν μικροσκοπικές περιαγγειακές αποτιτανώσεις και ίνωση λόγω των αγγειακών

εμφράκτων (Siegelman et al 1991, Madani et al 2007). Το ασβέστιο και ο ινώδης ιστός πιθανότατα συμβάλλουν στην πτώση του σήματος του σπληνός (Adler et al 1986). Στους θαλασσαιμικούς ασθενείς, όμως, δεν αναφέρεται ανάπτυξη ίνωσης ή αποτιτανώσεων στον σπλήνα και συνεπώς η πτώση του σήματος οφείλεται αποκλειστικά στην παρουσία σιδήρου.

Οι Gomori και συν (1988) μελέτησαν *in vitro* σπληνικό ιστό ασθενών με βΜΑ με χρήση συστημάτων MT έντασης από 0,19-1,18T και βρήκαν στενή συσχέτιση ανάμεσα στον χρόνο αποκατάστασης T2 και στην συγκέντρωση σιδήρου στον σπληνικό ιστό. Οι πρώτες *in vivo* μελέτες σε ασθενείς με σιδήρωση σπληνός ποικίλης αιτιολογίας έδειξαν πτώση του σήματος σε T1 και T2 SE και GRE ακολουθίες, η οποία είναι στατιστικά σημαντική μόνο σε περιπτώσεις μεγάλου φορτίου σιδήρου (Arrive et al 1990, Ooi et al 2004). Τα ευρήματα συμφωνούν με την παρούσα μελέτη, στην οποία βρέθηκε ότι οι πολυμεταγγιζόμενοι ασθενείς με βΜΑ έχουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό χαμηλότερη ένταση σήματος σπληνός σε σχέση τόσο με τους υγιείς εθελοντές όσο και με τους εθελοντές με στίγμα βΜΑ.

Βρήκαμε επίσης ότι βαθμός σιδήρωσης του σπληνός (όπως αυτός εκφράζεται από τα πηλικά έντασης σήματος και από τον χρόνο αποκατάστασης T2) συσχετίζεται με την τιμή της φερριτίνης ορού. Συνεπώς η χρήση MΣ μπορεί να αναδείξει και να ποσοτικοποιήσει το φορτίο σιδήρου του σπληνός και η φερριτίνη αποτελεί δείκτη τόσο της ηπατικής όσο και της σπληνικής σιδήρωσης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με παλιότερη μελέτη που αναφέρει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ σπληνικής σιδήρωσης (μετρούμενης με το πηλίκιο έντασης σήματος σε T2 GRE ακολουθία) και φερριτίνης ορού (Ooi et al 2004). Στην ίδια μελέτη, η συσχέτιση φερριτίνης-σιδήρωσης του ήπατος ήταν πιο ισχυρή από εκείνη μεταξύ φερριτίνης-σπληνός (Ooi et al 2004). Αυτό είχε αποδοθεί στο ότι ο σίδηρος που εναποτίθεται στο ΔΕΣ βρίσκεται κυρίως με την μορφή αιμοσιδηρίνης, ενώ ο παρεγχυματικός σίδηρος του ήπατος με τη μορφή της φερριτίνης (Ooi et al 2004, Matsuno et al 1985). Το εύρημα δεν επιβεβαιώνεται την μελέτη μας. Ανάλογα ευρήματα είχαμε επίσης σε παλαιότερες μελέτες που διενεργήθηκαν στο εργαστήριο μας (Papakonstantinou et al

2005 & 2006), όπου βρέθηκε επιπλέον ότι η παρουσία σπληνομεγαλίας συσχετίζεται με το βαθμό σιδήρωσης του ήπατος και την φερριτίνη ορού αλλά όχι με αυτόν του σπληνός (Papakonstantinou et al 2006).

Η εξωμυελική αιμοποίηση είναι μια επιπλοκή απότοκη της αναποτελεσματικής ερυθροποίησης σε μη μεταγγιζόμενους ή ανεπαρκώς μεταγγιζόμενους ασθενείς με βΜΑ και άλλες αιμοσφαιρινοπάθειες (Katz et al 1999, Gabata et al 2000). Ο σπλήνας είναι δυνατόν να αποτελέσει θέση εξωμυελικής αιμοποίησης, η οποία μπορεί να αφορά είτε σε διάχυτη μικροσκοπική διήθηση του σπληνός ή σε μακροσκοπικά εμφανείς εστίες (μάζες) με υψηλή ένταση σήματος σε T2 προσανατολισμού ακολουθίες και έντονη αντίθεση (αν πρόκειται για μάζες) με το λοιπό χαμηλής έντασης σήματος (σιδηρωμένο) σπληνικό παρέγχυμα (Katz et al 1999, Gabata et al 2000). Εστιακές αλλοιώσεις στον σπλήνα δεν παρατηρήθηκαν σε κανέναν από τους ασθενείς μας.

Στην παρούσα μελέτη οι 24/106 (22,6%) ασθενείς είχαν υποστεί σπληνεκτομή σε παιδική ηλικία. Στους σπληνεκτομηθέντες ασθενείς η μέση τιμή της φερριτίνης ορού βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή φερριτίνης στους μη σπληνεκτομηθέντες ασθενείς. Αντίθετα, δεν αναγνωρίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ σπληνεκτομηθέντων και μη ασθενών ως προς τις παραμέτρους ΜΣ του ήπατος, και του οστικού μυελού, εύρημα που καταρχάς φαίνεται παράδοξο, αφού η φερριτίνη ορού και οι παράμετροι ΜΣ ήπατος σχετίζονται στενά. Τα ευρήματα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι μετά σπληνεκτομή προκαλείται αύξηση του φορτίου σιδήρου του οργανισμού, αλλά αυτή η αύξηση πιθανώς αφορά σε μικρότερο βαθμό τον σίδηρο του ήπατος και οστικού μυελού και περισσότερο τις άλλες δεξαμενές σιδήρου στον οργανισμό. Η παραπάνω υπόθεση ενισχύεται από προηγούμενες βιοχημικές και ιστολογικές μελέτες που αναφέρουν αύξηση της ποσότητας σιδήρου του οργανισμού μετά σπληνεκτομή, μετρούμενη ως αύξηση των τιμών της φερριτίνης ορού και ερυθρών, του σιδήρου ορού, του κορεσμού της τρανσφερρίνης και της συγκέντρωσης αιμοσιδηρίνης στα κύτταρα Kupffer και



ηπατοκύτταρα (Pootrakul et al 1981, Anuwatanakulchai et al 1984, Fiorelli et al 1990, Kudriavtseva et al 1993, Thakerngpol et al 1996). Επίσης αναφέρεται αύξηση της δεξαμενής τοξικού «ελεύθερου» σιδήρου (non transferrin bound iron-NTBI) στο πλάσμα ασθενών μετά σπληνεκτομή (Anuwatanakulchai et al 1984, Kudriavtseva et al 1993). Ο παθογενετικός μηχανισμός που οδηγεί σε αύξηση του φορτίου σιδήρου του οργανισμού μετά σπληνεκτομή δεν είναι διευκρινισμένος, όμως οι παραπάνω παρατηρήσεις επιβεβαιώνουν τον κομβικό ρόλο του σπλήνα στην ομοιόσταση και στην τοξικότητα του σιδήρου στους θαλασσαιμικούς ασθενείς.

#### **4.2 Συσχέτιση βαθμού σιδήρωσης όργανων ΔΕΣ και πρότυπα κατανομής σιδήρου στο ΔΕΣ**

Η συγκέντρωση σιδήρου στο ήπαρ (LIC) θεωρείται ως ο ακριβέστερος δείκτης εκτίμησης του συνολικού φορτίου σιδήρου του οργανισμού, δεδομένου ότι το 70% του σιδήρου του οργανισμού αποθηκεύεται στο ήπαρ (Papakonstantinou et al 1995, Gandon et al 1999, 2004). Σε συνθήκες δευτεροπαθούς σιδήρωσης όμως, σίδηρος εναποτίθεται σε όλα τα όργανα του ΔΕΣ (κύτταρα Kupffer ήπατος, σπλήνα και οστικό μυελό) και ο τρόπος κατανομής του στα όργανα αυτά δεν είναι απολύτως διευκρινισμένος (Siegelman et al 1991 & 1996, Yoon et al 1994). Βασιζόμενοι στην ισχυρή συσχέτιση μεταξύ παραμέτρων ΜΣ ήπατος και LIC προσπαθήσαμε να διερευνήσουμε τη σχέση μεταξύ ηπατικού, σπληνικού και μυελικού φορτίου σιδήρου, όπως αυτά εκφράζονται από τις αντίστοιχες παραμέτρους ΜΣ.

Στην παρούσα εργασία αναδείχθηκε ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στο βαθμό σιδήρωσης του σπλήνα και του οστικού μυελού, όπως αυτός εκφράζεται με τα πηλικά εντάσεων σήματος B/M και S/M. Αντίθετα, η συσχέτιση μεταξύ βαθμού σιδήρωσης ήπατος-

σπληνός και ήπατος-οστικού μυελού βρέθηκε λιγότερο ισχυρή, αφού αναδείχθηκε μόνο σε μια ακολουθία, την T1 TSE ακολουθία.

Ανάλογα ευρήματα έχουν προκύψει και για το βαθμό σιδήρωσης σε άλλα όργανα εκτός του ΔΕΣ. Μελέτες με χρήση ΜΣ έχουν δείξει ότι, ενώ ο βαθμός σιδήρωσης του ήπατος σε μεταγγιζόμενους θαλασσαιμικούς ασθενείς συσχετίζεται με αυτόν των επινεφριδίων (Drakonaki et al 2005) και των ενδοκοιλιακών λεμφαδένων (Papakonstantinou et al 2005), είναι ανεξάρτητος από το βαθμό σιδήρωσης του μυοκαρδίου (Anderson et al 2004, Chacko et al 2007, Maris et al 2007, Noetzli et al 2008, Deborah Chirnomas et al 2008), του παγκρέατος (Argyropoulou et al 2007, Papakonstantinou et al 2007) και της υπόφυσης (Argyropoulou et al 2003 & 2007). Συγκεκριμένα, για το μυοκάρδιο οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι ο βαθμός σιδήρωσής του συσχετίζεται της με αυτόν του ήπατος μόνο σε υψηλά φορτία σιδήρου (Jensen et al 2001, Alexopoulou et al 2006, Voskaridou et al 2004, Christoforidis et al 2006). Αντίστοιχα για την σιδήρωση της υπόφυσης έχει βρεθεί ήπια (Christoforidis et al 2006) ή καθόλου συσχέτιση (Argyropoulou et al 2003 & 2007) με το φορτίο σιδήρου ήπατος.

Σε αντίθεση με τα παραπάνω όργανα-στόχους σιδήρωσης, τα όργανα τους ΔΕΣ δεν είχαν ως τώρα επαρκώς μελετηθεί όσον αφορά τον τρόπο κατανομής και την συσχέτιση της σιδήρωσής τους. Η έλλειψη συσχέτισης μεταξύ σιδήρωσης ήπατος και σπληνός αναφέρθηκε για πρώτη φορά σε μελέτη με χρήση ΜΣ από το εργαστήριό μας (Papakonstantinou et al 2006), ενώ για την σχέση σιδήρωσης ήπατος και οστικού μυελού δεν υπήρχε μέχρι πρόσφατα σχετική αναφορά στην βιβλιογραφία. Επακόλουθη της δική μας μελέτη από άλλο εργαστήριο επιβεβαίωσε τα αποτελέσματά μας, δείχνοντας έλλειψη συσχέτισης μεταξύ χρόνων αποκατάσταση T2 ήπατος και οστικού μυελού (Argyropoulou et al 2007).

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το φορτίο σιδήρου του σπληνός και του οστικού μυελού, παρότι συσχετίζονται μεταξύ τους, δεν ακολουθούν το

βαθμό σιδήρωσης του ήπατος, υποδηλώνοντας ότι η διαδικασία αποθήκευσης ή απομάκρυνσης του σιδήρου λειτουργεί ανεξάρτητα στο κάθε όργανο.

Οι ακριβείς μηχανισμοί που διέπουν τα παραπάνω φαινόμενα και ερμηνεύουν τις παρατηρήσεις μας δεν είναι απολύτως διευκρινισμένοι. Η στενή συσχέτιση μεταξύ σιδήρωσης σπληνός-μυελού και η ασθενέστερη συσχέτισή τους με τη σιδήρωση του ήπατος θα μπορούσαν να οφείλονται στο γεγονός ότι ο σπλήνας και ο οστικός μυελός περιέχουν μόνο κύτταρα ΔΕΣ, σε αντίθεση με το ήπαρ που περιέχει τόσο ηπατοκύτταρα όσο και κύτταρα ΔΕΣ (Kupffer). Πιθανόν επίσης η παραπάνω παρατήρηση να σχετίζεται με διαφορετική συμπεριφορά ως προς την αποθήκευση σιδήρου των κυττάρων ΔΕΣ μεταξύ των οργάνων. Έχει παρατηρηθεί ότι για την ίδια ποσότητα σιδήρου, η τιμή του χρόνου T2 και τα φαινόμενα μαγνητικής επιδεκτικότητας διαφέρουν μεταξύ ήπατος και σπληνός, πιθανόν λόγω διαφορών στην κατανομή και στο μέγεθος των σωματιδίων του σιδήρου μεταξύ των δύο οργάνων (Gomori et al 1991, Hackett et al 2007). Η υπόθεση αυτή ενισχύεται από την παρατήρηση ότι μετά χορήγηση υπερπαραμαγνητικών οξειδίων του σιδήρου (SPIO) ως σκιαγραφικών μέσων, τα σωματίδια σιδήρου που δημιουργούνται διαφέρουν σε μέγεθος μεταξύ των οργάνων του ΔΕΣ, με αποτέλεσμα διαφορετικού βαθμού πτώση στην ένταση σήματος ανάλογα με το όργανο (Hundt et al 2000, Tanimoto et al 2001, Metz et al 2006). Διαφορές μεταξύ των οργάνων έχουν εντοπιστεί και σε βιοχημικό-μοριακό επίπεδο, και αφορούν το μέγεθος και τη κρυσταλλική δομή του κεντρικού πυρήνα της φερριτίνης, τους ισότυπους της φερριτίνης, την κατανομή των υποδοχέων της τρανσφερρίνης και το σχηματισμό φερριοξαμίνης, ενός προϊόντος της DFX στα κύτταρα (Powell et al 1975, Gatter et al 1983, St Pierre et al 1991, Porter 2002). Πρόσφατη μελέτη αποδίδει την έλλειψη συσχέτισης μεταξύ φορτίου σιδήρου ήπατος και μυοκαρδίου σε καθυστερημένη πρόσληψη σιδήρου από τα κύτταρα του μυοκαρδίου σε σχέση με τα ηπατοκύτταρα (Noetzli et al 2008). Συνεπώς είναι πιθανόν και τα ευρήματά μας να συσχετίζονται με διαφορές στη μορφή του σιδήρου και στους μηχανισμούς αποθήκευσής του στους διάφορους ιστούς.

Ένας άλλος παράγοντας που θα μπορούσε να δικαιολογήσει την έλλειψη συσχέτισης μεταξύ σιδήρωσης ήπατος και άλλων οργάνων είναι η παρουσία ηπατικής φλεγμονής ή ίνωσης, που θα μπορούσε να επιδρά στις μετρήσεις των παραμέτρων ΜΣ του ήπατος αφήνοντας ανεπηρέαστες τις μετρήσεις για τα άλλα όργανα. Η υπόθεση αυτή στηρίζεται στην παρατήρηση ότι η συσχέτιση που αναδείχθηκε μεταξύ σιδήρωσης ήπατος-σπληνός και ήπατος-μυελού στην T1-W TSE ακολουθία είναι ισχυρότερη στους HCV(-) από ό,τι στους HCV (+) ασθενείς.

Η έλλειψη συσχέτισης όσον αφορά στην βαρύτητα της σιδήρωσης μεταξύ των οργάνων του ΔΕΣ θα μπορούσε επίσης να αντανakλά διαφορές στην αποτελεσματικότητα των διαφόρων πρωτοκόλλων αποσιδήρωσης ή στους μηχανισμούς απομάκρυνσης σιδήρου από τον οργανισμό. Συγκεκριμένα έχει αποδειχθεί η αυξημένη αποτελεσματικότητα της από τους στόματος διφεριπρόνης για την αποσιδήρωση του μυοκαρδίου και της συνδυασμένης θεραπείας για την αποσιδήρωση του ήπατος, ευρήματα που ερμηνεύονται από την φαρμακοδυναμική των δραστικών τους ουσιών (Anderson et al 2002, Pennell et al 2006, Galanello et al 2006, Tanner et al 2007, Maggio et al 2002, Christoforidis et al 2007). Επιπλέον υπάρχουν ενδείξεις ότι η απομάκρυνση του σιδήρου είναι ταχύτερη στα κύτταρα του μυοκαρδίου από ότι στα ηπατοκύτταρα (Noetzli et al 2008). Κατ'αντιστοιχία, ανάλογες διαφορές στην αποτελεσματικότητα της θεραπευτικής αγωγής θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν τις διαφορές στα φορτία σιδήρου μεταξύ των οργάνων του ΔΕΣ.

Είναι γνωστό ότι στη συγγενή αιμοχρωμάτωση η αυξημένη απορρόφηση σιδήρου από το έντερο οδηγεί σε εναπόθεσή του μόνο σε παρεγχυματικά κύτταρα ήπατος και άλλων οργάνων και όχι στα κύτταρα του ΔΕΣ. Αντίθετα, σε δευτεροπαθή υπερφόρτωση σε σίδηρο μετά από μεταγγίσεις αίματος, το φορτίο του σιδήρου κατανέμεται καταρχάς στα κύτταρα του ΔΕΣ (σπλήνας, οστικός μυελός και Chuffer ήπατος) και όταν αυτά κορεσθούν στα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος και άλλων οργάνων (Macarena et al 1984, Fillet et al 1989). Ήδη από τη δεκαετία του '90 έγινε φανερό ότι με χρήση ΜΣ σε ασθενείς με

υπερφόρτωση σε σίδηρο είναι δυνατόν να χαρτογραφηθεί η κατανομή σιδήρου και να διαφοροδιαγνωστεί αν πρόκειται για πρωτοπαθή ή δευτεροπαθή μορφή (Siegelman et al 1991 & 1996, Yoon et al 1994). Έτσι, μελέτες με ΜΣ σε ασθενείς με συγγενή αιμοχρωμάτωση έδειξαν χαμηλή ένταση σήματος του ήπατος σε συνδυασμό με φυσιολογική ένταση σήματος σπληνός σε όλες τις ακολουθίες, ευρήματα συμβατά με την παρουσία σιδήρου μόνο στα ηπατοκύτταρα (Siegelman et al 1991 & 1996, Yoon et al 1994). Αντίθετα, σε ασθενείς με δευτεροπαθή αιμοχρωμάτωση από μεταγγίσεις ή ραβδομύλυση με ΜΣ αναδεικνύεται χαμηλή ένταση σήματος τόσο στο ήπαρ και όσο και στο σπλήνα, απότοκη της αντίστοιχης κατανομής σιδήρου στα κύτταρα του ΔΕΣ (Siegelman et al 1991 & 1996, Yoon et al 1994).

Στην παρούσα μελέτη, εξετάζοντας τα πρότυπα κατανομής σιδήρου μεταξύ των 3 οργάνων του ΔΕΣ, παρατηρήσαμε ότι οι περισσότεροι ασθενείς (67%) παρουσίαζαν χαμηλό σήμα ενδεικτικό εναπόθεσης σιδήρου και στα 3 όργανα (Πρότυπο 1). Το πρότυπο αυτό είναι το αναμενόμενο σε δευτεροπαθή υπερφόρτωση σε σίδηρο, αφού αναπαριστά την παρουσία σιδήρου στα κύτταρα ΔΕΣ και στα ηπατοκύτταρα. Με χρήση ΜΣ δεν είναι δυνατόν να διαφοροδιαγνωστεί αν το χαμηλό σήμα του ήπατος αποδίδεται σε σίδηρο στα ηπατοκύτταρα, στα κύτταρα Kupffer ή και στα δύο. Παρά τον σχετικά μικρό αριθμό κυττάρων Kupffer, έχει αποδειχθεί ότι παρουσία σιδήρου μόνο σε αυτά αρκεί για να προκαλέσει εμφανή πτώση του σήματος (Siegelman et al 1991). Σε 7,5% των ασθενών μας αναγνωρίστηκε φυσιολογική ένταση σήματος και στα τρία όργανα ενδιαφέροντος (Πρότυπο 2). Δεδομένου ότι τα άτομα αυτά μεταγγίζονταν από την παιδική ηλικία, η απουσία σιδήρου πιθανότατα είναι αποτέλεσμα επιτυχούς θεραπείας αποσιδήρωσης.

Σε 24/106 (22,6%) ασθενείς παρατηρήθηκε χαμηλή ένταση σήματος στο ήπαρ, εύρημα ενδεικτικό σιδήρωσής του, ενώ ο σπλήνας είχε ένταση σήματος εντός του φυσιολογικού σε όλες τις ακολουθίες, ακόμη και στην T2\* GRE ακολουθία (Πρότυπα 3 και 4), εύρημα που είναι συμβατό με φυσιολογική ή σχεδόν φυσιολογική συγκέντρωση σιδήρου

στο σπλήνα (< 60μmol/gr ξηρού βάρους), δεδομένου ότι η συγκεκριμένη ακολουθία είναι η πλέον ευαίσθητη στις παραμαγνητικές ιδιότητες του σιδήρου (Ooi et al 2004, Gandon et al 1999, 2004). Η παρουσία σιδηρωμένου ήπατος με φυσιολογικό σπλήνα περιγράφεται τυπικά σε συγγενή αιμοχρωμάτωση (Siegelman et al 1991, 1996) και καταστάσεις δυσερυθροποίησης με αυξημένη απορρόφηση σιδήρου από το έντερο (Yoon et al 1994). Το αντίστροφο, δηλαδή χαμηλή ένταση σήματος (παρουσία σιδήρου) στον σπλήνα σε ασθενείς με πρωτοπαθή αιμοχρωμάτωση, έχει περιγραφεί σποραδικά, με παθογενετικό μηχανισμό που παραμένει άγνωστος (Johnston et al 1989, Siegelman et al 1991). Το παράδοξο αυτό πρότυπο κατανομής σιδήρου που θυμίζει συγγενή αιμοχρωμάτωση δεν αναφέρεται στη σχετική με ΜΣ βιβλιογραφία, η παρουσία του όμως επιβεβαιώνεται από ιστολογικές μελέτες ηπατικής σιδήρωσης (Prati et al 2004). Έχει βρεθεί ότι σε μεταγγιζόμενους σε ασθενείς με βΜΑ συχνά η κατανομή του σιδήρου στα ηπατοκύτταρα είναι ενδεικτική απορρόφησης του σιδήρου από το έντερο, όπως στην συγγενή αιμοχρωμάτωση και σε αναποτελεσματική ερυθροποίηση (δηλ. βαθμιαία μειούμενη συγκέντρωση από την περιπυλαία προς την κεντρολοβιδιακή περιοχή, λόγω μεταφοράς στο ήπαρ μέσω της πυλαίας φλέβας), σε αντίθεση με την αναμενόμενη ιστολογικά κατανομή σε συνθήκες υπερμεταγγίσεων (άτακτη και ανομοιογενής κατανομή) (Prati et al 2004).

Η αιτία του απροσδόκητου αυτού προτύπου που θυμίζει συγγενή αιμοχρωμάτωση σε μεταγγιζόμενους ασθενείς δεν είναι γνωστή. Μια ερμηνεία αφορά στο ενδεχόμενο δυσλειτουργίας των κυττάρων ΔΕΣ του σπληνός, που σχετίζεται με φυσιολογική πρόσληψη σιδήρου αλλά ταχύτερη αποβολή της φερριτίνης, με αποτέλεσμα τα κύτταρα αυτά τελικά να μην κατακρατούν σίδηρο (Fillet et al 1989, Yoon et al 1994). Οι Prati et al (2004) προτείνουν μια διαφορετική πιθανή εξήγηση. Αναφέρουν ότι η μείωση στην ουδό μετάγγισης από 11 σε 9,5gr/dl αιμοσφαιρίνης που υιοθετήθηκε στην δεκαετία του 1990 στους ασθενείς με βΜΑ είχε σαν αποτέλεσμα να κινητοποιήσει αναποτελεσματική ερυθροποίηση και απορρόφηση σιδήρου από το έντερο. Δεδομένου ότι η αποθήκευση

σιδήρου στο ήπαρ αναπτύσσεται πολύ νωρίς (μετά 2 έτη μεταγίσεων) (Cohen 1987), η απομάκρυνση του σιδήρου είναι αργή διαδικασία και η αποσιδήρωση στην παιδική ηλικία δίνεται σε μικρές μόνο δόσεις (Porter & Davis 2002), είναι πιθανόν το πρότυπο αυτό να αναπαριστά σίδηρο που αποθηκεύτηκε σε νεαρά ηλικία υπό τις προαναφερθείσες συνθήκες (Prati et al 2004). Η παραπάνω υπόθεση θα μπορούσε να ερμηνεύσει και τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, αφού οι ασθενείς είναι ενήλικες με μέση ηλικία 27 περίπου έτη μεταγγιζόμενοι από την παιδική ηλικία.

Εναλλακτικά, το παράδοξο πρότυπο εναπόθεσης σιδήρου που παραπέμπει σε συγγενή αιμοχρωμάτωση θα μπορούσε να σχετίζεται με μεταλλάξεις σε γονιδιακούς τόπους συγγενούς αιμοχρωμάτωσης που αυξάνουν την απορρόφηση σιδήρου από το έντερο, με τη δράση της θεραπείας αποσιδήρωσης ή με παρουσία στοιχείων εξωμυελικής αιμοποίησης στον σπλήνα. Παρότι καταγράφεται αυξημένη συχνότητα μεταλλάξεων του γονιδίου αιμοχρωμάτωσης (HFE) σε άτομα με ετερόζυγη ή ομόζυγη βΜΑ, ο ρόλος τους στον καθορισμό των επιπέδων σιδήρου και στην παθογένεση της νόσου παραμένει άγνωστος (Longo et al 1999, Kaur et al 2003, Politou et al 2004). Μελέτες με τεχνικές μοριακής βιολογίας έχουν καταλήξει σε ποικιλία αποτελεσμάτων όσον αφορά την επίδραση των μεταλλάξεων του γονιδίου HFE και φερροπορτίνης στα επίπεδα σιδήρου του πλάσματος (Longo et al 1999, Politou et al 2004, Melis et al 2002, Martins et al 2004), ενώ μελέτες με χρήση ΜΣ στα άτομα αυτά δεν αναφέρονται. Παρότι δεν υπάρχει ακόμα συμφωνία, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις για αυξημένα επίπεδα αποθεμάτων σιδήρου (φερριτίνης, κορεσμού τρανσφερίνης και σιδήρου ορού) σε άτομα με συνύπαρξη στίγματος βΜΑ και ετεροζυγωτίας για μεταλλάξεις του γονιδίου HFE (Melis et al 2002, Martins et al 2004).

Πέραν του γενετικού υπόβαθρου, η θεραπεία αποσιδήρωσης είναι μια παράμετρος που θα μπορούσε να επηρεάσει την κατανομή σιδήρου στα κύτταρα, προκαλώντας είτε εκλεκτική αποσιδήρωση συγκεκριμένων κύτταρων στόχων, είτε ανακατανομή στο ηπατικό παρέγχυμα του σιδήρου που κινητοποιείται από τους αποσιδηρούμενους ιστούς. Παρότι δεν

υπάρχουν σαφείς ενδείξεις στην συγκεκριμένη μελέτη (δεν αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των θεραπευτικών σκευασμάτων στους ασθενείς με το άτυπο πρότυπο), τα παραπάνω ενδεχόμενα δεν είναι δυνατόν να αποκλεισθούν. Το φυσιολογικό σήμα του σπλήνα πιθανόν επίσης να σχετίζεται με παρουσία εξωμυελικής αιμοποίησης που προκαλεί εστιακή ή διάχυτη αύξηση της έντασης σήματός σε T2 προσανατολισμού ακολουθίες. Το ενδεχόμενο αυτό δεν μπορεί να αποκλεισθεί στους ασθενείς μας, κρίνεται όμως απίθανο αφού η εξωμυελική αιμοποίηση συνήθως παρατηρείται σε μη μεταγγιζόμενους ασθενείς με χαμηλό αιματοκρίτη.

Σε ένα μικρό αριθμό ασθενών (3/106) παρατηρήθηκε χαμηλή ένταση σήματος μόνο του οστικού μυελού (Πρότυπο 5). Δεν είναι σαφές αν το πρότυπο αυτό οφείλεται σε φαινόμενα μαγνητικής επιδεκτικότητας από προβάλλουσες οστικές δοκίδες ή αν αναπαριστά κατανομή σιδήρου απότοκη της θεραπείας αποσιδήρωσης. Λόγω του μικρού αριθμού των ασθενών αυτής της υποομάδας και της μειωμένης ακρίβειας του ΜΣ στην ποσοτικοποίηση των οστικών δοκίδων, τα παραπάνω ενδεχόμενα δεν είναι δυνατόν να διερευνηθούν περαιτέρω.

#### **4.3 Αποτελεσματικότητα θεραπείας αποσιδήρωσης**

Κομβικό ρόλο στην πρόληψη της τοξικότητας από το σίδηρο και στη βελτίωση της πρόγνωσης των πολυμεταγγιζόμενων ασθενών με βΜΑ κατέχει η χορήγηση αποτελεσματικής αγωγής αποσιδήρωσης. Στόχος της θεραπείας αποσιδήρωσης είναι (Kushner et al 2001): α) η εξουδετέρωση της τοξικής δράσης του σιδήρου β) η μείωση των επιπέδων σιδήρου του οργανισμού και γ) η επίτευξη των παραπάνω στόχων σε θεραπευτικά επίπεδα που είναι ασφαλή για τον οργανισμό.

Ο πρώτος στόχος της θεραπείας αποσιδήρωσης, που εξασφαλίζεται γρηγορότερα από ό,τι ο δεύτερος, είναι η μετατροπή του σιδήρου σε λιγότερο τοξική μορφή (Kushner et al



2001). Ο τρισθενής σίδηρος έχει 6 θέσεις δέσμευσης στο άτομο του, οι οποίες πρέπει να δεσμευθούν πλήρως ώστε να αποτραπεί η συμμετοχή τους σε αντιδράσεις παραγωγής ελευθέρων ριζών. Οι εξασθενείς χυλικοί παράγοντες (όπως η διφεριπρόνη *L1*) συνδέονται και με τις έξι θέσεις του ατόμου του σιδήρου και δημιουργούν πιο σταθερά σύμπλοκα, από ό,τι οι δισθενείς χυλικοί παράγοντες (όπως η Δεφεροξαμίνη *DFO*) που απαιτούν περισσότερα από ένα μόριο χυλικής ουσίας για την πλήρη εξουδετέρωση του σιδήρου (Kushner et al 2001).

Η επίτευξη του δεύτερου στόχου δεν είναι εύκολη. Με τα υπάρχοντα θεραπευτικά σχήματα η πλήρης αποσιδήρωση μπορεί να διαρκέσει μήνες ή χρόνια, ενώ τα ασφαλή επίπεδα σιδήρου δεν είναι τα ίδια για όλους τους ιστούς, αφού σε ασθενείς με μυοκαρδιοπάθεια το φορτίο σιδήρου στο μυοκάρδιο είναι πολύ λιγότερο από αυτό του ήπατος (Kushner et al 2001). Για να επιτευχθεί ισοζύγιο σιδήρου (0.4-0.5 mg/kg αποβαλλόμενου σιδήρου ημερησίως σε ένα μεταγγιζόμενο ασθενή) απαιτείται πρόσβαση των παραγόντων αποσιδήρωσης στις δύο βασικές δεξαμενές τοξικού σιδήρου του οργανισμού: στην δεξαμενή του ενδοκυττάριου σιδήρου (LIP) και του ελεύθερου από τρανσφερρίνη σιδήρου (NTBI) (Kushner et al 2001, Beutler 2003, Chaston & Richardson 2003, Porter et al 2005). Επειδή η μεγαλύτερη ποσότητα ενδοκυττάριου σιδήρου LIP βρίσκεται στα ηπατοκύτταρα, το ήπαρ είναι βασικός στόχος της θεραπείας αποσιδήρωσης και ο αποβαλλόμενος με τα κόπρανα σίδηρος στους ασθενείς υπό DFO προέρχεται από αυτή τη δεξαμενή (Kushner et al 2001). Η δεύτερη θέση δράσης των χυλικών παραγόντων είναι ο σίδηρος από τον καταβολισμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων στα μακροφάγα του ΔΕΣ. Ο σίδηρος αυτός απελευθερώνεται στο πλάσμα κυρίως ως ελεύθερος σίδηρος NTBI, αφού η δεσμευτική ικανότητα της τρανσφερρίνης έχει ήδη κορεστεί λόγω μεγάλου φορτίου σιδήρου. Στους ασθενείς υπό DFO, ο σίδηρος από τη δεξαμενή αυτή αποβάλλεται με τα ούρα (Kushner et al 2001).

Στον δεύτερο στόχο της θεραπείας αποσιδήρωσης εστιαστήκαμε στην παρούσα μελέτη και διερευνήσαμε το βαθμό μείωσης των επιπέδων του σιδήρου στα όργανα του ΔΕΣ (ήπαρ, σπλήνα και οστικό μυελό) σε διαδοχικές εξετάσεις ΜΣ σε συνάρτηση με το σχήμα αποσιδήρωσης που περιλάμβανε είτε μονοθεραπεία με υποδόρια δεφεροξαμίνη είτε συνδυασμένη θεραπεία με δεφεροξαμίνη και διφεριπρόνη. Η δεφεροξαμίνη (*deferoxamine B mesylate*, DFO, Desferal®, Novartis) είναι ο χυλικός παράγοντας που χορηγείται εδώ και 40 περίπου έτη. Είναι εξασθενής χυλικός παράγοντας και λόγω μεγάλου μοριακού βάρους, δεν απορροφάται από το έντερο. Η DFO αρχικά χορηγούνταν ενδοφλέβια ή ενδομυϊκά, ενώ σήμερα ο συνήθης τρόπος χορήγησης είναι με αργή υποδόρια έγχυση με αντλία για 5-12 ώρες και σε δόσεις 25-50 mg/kg/μέρα. Το βασικό μειονέκτημα της DFO αφορά στην παρεντερική της χορήγηση με αποτέλεσμα την πλημμελή συμμόρφωση των ασθενών (Brittenham et al 1994, Wonke 2001).

Η Διφεριπρόνη (*1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one*, L1, Ferriprox®, Apotex, Kelfer®, Cipla) είναι ένας νεότερος χυλικός παράγοντας που εμφανίστηκε σε κλινικές μελέτες το 1987 και σήμερα χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη σε περισσότερες από 25 χώρες. Είναι δισθενής ουσία, λιπόφιλη και με μικρότερο μοριακό βάρος από την DFO, με αποτέλεσμα να απορροφάται από τον εντερικό βλεννογόνο. Το φάρμακο χορηγείται από του στόματος σε δόσεις 50-75 mg/kg/ημέρα 3 φορές ημερησίως (Kushner et al 2001, Beutler et al 2003). Σημαντικό πλεονέκτημα της διφεριπρόνης είναι εξασφάλιση καλύτερης συμμόρφωση των ασθενών, λόγω της από του στόματος χορήγησης. Ωστόσο, η διφεριπρόνη παραμένει δεύτερης γραμμής θεραπεία λόγω των παρενεργειών της, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται η ακκοκιοκυτταραιμία, ουδετεροπενία, αρθραλγίες, ανεπάρκεια ψευδαργύρου και ηπατική ίνωση (Kushner et al 2001, Beutler et al 2003, Angelucci et al 2008).

Στην βιβλιογραφία υπάρχει πληθώρα μελετών σχετικά με την αποτελεσματικότητα των διαφόρων χυλικών παραγόντων για την αποσιδήρωση των δύο κύριων οργάνων στόχων, του ήπατος και του μυοκαρδίου. Η DFO έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στην αποσιδήρωση του

ήπατος και του μυοκαρδίου και στην βελτίωση της επιβίωσης των θαλασσαιμικών ασθενών (Brittenham et al 1994, Olivieri et al 1994, Wolfe et al 1985). Η διφεριπρόνη παρουσιάζει αυξημένη αποτελεσματικότητα έναντι της DFO στην αποσιδήρωση του μυοκαρδίου (Anderson et al 2002, St Pierre et al 2005, Pennell et al 2006, Tanner et al 2007), ενώ συγκριτικές μελέτες για την αποσιδήρωση του ήπατος δείχνουν ίδια ή μικρότερη αποτελεσματικότητα σε σχέση με την DFO (Pennell et al 2006, Galanello et al 2006, Tanner et al 2007, Maggio et al 2002, Christoforidis et al 2007). Η συνδυασμένη θεραπεία με ταυτόχρονη χορήγηση και των δύο φαρμάκων σε δόσεις 80–110 mg/kg/ημέρα διφεριπρόνη και 40–60 mg/kg/ημέρα DFO τουλάχιστον 3 ημέρες/εβδομάδα (*International Committee on Chelation combination protocol*) έχει αποδειχθεί αποτελεσματικότερη της μονοθεραπείας για ταχεία αποσιδήρωση τόσο του ήπατος όσο και του μυοκαρδίου (Mourad et al 2003, Tanner et al 2007, Christoforidis et al 2007, El-Beshlawy et al 2008, Angelluci et al 2008).

Στην παρούσα μελέτη, από την παρακολούθηση (follow up) των ασθενών προκύπτει ότι οι ασθενείς που ελάμβαναν συνδυασμένη θεραπεία παρουσίασαν μεγαλύτερου βαθμού αποσιδήρωση του ήπατος, του οστικού μυελού και του σπληνός από ό,τι οι ασθενείς σε μονοθεραπεία με DFO (μετρούμενη με βάση τη μεταβολή των παραμέτρων ΜΣ και της φερριτίνης). Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με την βιβλιογραφία όσον αφορά στην αποσιδήρωση του ήπατος, ενώ δεν αναφέρονται ανάλογα δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών σχημάτων για την αποσιδήρωση του σπληνός ή του οστικού μυελού.

Η μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα της ταυτόχρονης χορήγησης και των δύο φαρμάκων θα μπορούσε να σχετίζεται με ποικίλους παράγοντες. Καταρχάς, είναι πιθανό η συγχορήγηση των δύο φαρμάκων να οδηγεί σε συνεργιστική δράση τους («shuttle effect») (Kontoghiorghes et al 2003, Piga et al 2003, Mourad et al 2003). Έχει αποδειχθεί ότι οι δύο χυλικοί παράγοντες έχουν διαφορετική φαρμακοδυναμική με αποτέλεσμα διαφορετική προσβασιμότητα σε διαφορετικές δεξαμενές σιδήρου και ιστούς (Kushner et al 2001). Η

DFO αποσιδηρώνει κυρίως το σίδηρο NTBI και μόνο ένα μικρό ποσοστό του σιδήρου LIP (Kushner et al 2001). Η Διφεριπρόνη κινητοποιεί το σίδηρο της ενδοκυττάριας (LIP) και εξωκυττάριας (NTBI) δεξαμενής, της τρανσφερρίνης, της φερριτίνης, της αιμοσιδηρίνης ακόμη και το σίδηρο από τα ακέραια ερυθρά αιμοσφαίρια (Beutler et al 2003, Pootrakul et al 2003). Επιπλέον, η DFO είναι ένωση υδρόφιλη και μεγάλου μοριακού βάρους, με αποτέλεσμα αργή είσοδο μέσα στα κύτταρα, με εξαίρεση τα ηπατοκύτταρα όπου η πρόσληψη επιταχύνεται λόγω ειδικών υποδοχέων μεμβράνης (Kushner et al 2001). Η Διφεριπρόνη λόγω μικρού μεγέθους, λιποφιλικότητας και ουδέτερου φορτίου διαπερνά γρηγορότερα τις κυτταρικές μεμβράνες κινητοποιώντας το σίδηρο από τους ιστούς (Kushner et al 2001). Σε περιπτώσεις ταυτόχρονης χορήγησης των δύο φαρμάκων, ο κινητοποιημένος από τη διφεριπρόνη σίδηρος μεταφέρεται στο πλάσμα, όπου συνδέεται με την DFO (ως φερριοξαμίνη) και αποβάλλεται στα κόπρανα και ούρα («shuttle effect») (Grady et al 2002, Breuer et al 2001). Έτσι επιτυγχάνεται, αφενός γρηγορότερη δράση, αφετέρου πρόσβαση σε περισσότερες δεξαμενές σιδήρου. Η υπόθεση της συνεργιστικής δράσης υποστηρίζεται τόσο σε πειράματα με πειραματόζωα, όπου παρατηρήθηκε αθροιστική αποβολή σιδήρου ευθέως ανάλογη της δόσης της διφεριπρόνης (Link et al 2001), καθώς και σε κλινικές μελέτες όπου παρατηρήθηκε αύξηση της αποβολής σιδήρου στα ούρα (Kattamis et al 2003 & 2005). Ωστόσο, είναι πιθανό ότι η ανταπόκριση στην διφεριπρόνη δεν είναι η ίδια σε όλους τους ασθενείς, αφού ο ρυθμός μεταβολισμού της σε αδρανές γλυκουρονίδιο είναι γενετικά καθοριζόμενος και διαφέρει μεταξύ των ασθενών (Kushner et al 2001). Έτσι, η αποτελεσματικότητα της συνδυασμένης θεραπείας ενδέχεται να επηρεάζεται από ιδιοσυστασιακούς παράγοντες, υπόθεση που ενισχύει την ανάγκη για εξατομίκευση της θεραπείας.

Έχει επίσης βρεθεί ότι σε ανθεκτική στην DFO σιδήρωση, η αύξηση της δόσης του φαρμάκου δεν οδηγεί σε περαιτέρω μείωση του σιδήρου αλλά αντίθετα, μετά τη διακοπή της χορήγησης, προκαλεί με μηχανισμό ανάδρασης αύξηση του NTBI σιδήρου (Porter et al

2005). Γι'αυτό είναι πλεονεκτικότερες οι μικρές δόσεις DFO, όπως αυτές που χρησιμοποιούνται σε πρωτόκολλα συνδυασμένης αγωγής, παρά οι υψηλές δόσεις του φαρμάκου σε περιπτώσεις μονοθεραπείας. Στην αποτελεσματικότερη δράση της συνδυασμένης θεραπείας αποσιδήρωσης θα μπορούσε ενδεχομένως να συμβάλλει και η καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών στην συνδυασμένη αγωγή λόγω από του στόματος χορήγησης της διφεριπρόνης, γεγονός που έχει αποδειχθεί με προηγούμενες μελέτες (Zahed et al 2002, Daar & Pathare 2006).

Μειονέκτημα της συνδυασμένης θεραπείας είναι οι παρενέργειες από τη χρήση διφεριπρόνης, με σοβαρότερη την ακοκκιοκυτταραιμία (Kushner et al 2001). Αναφέρεται υψηλότερη συχνότητα ακοκκιοκυτταραιμίας σε συνδυασμένη θεραπεία από ό,τι σε μονοθεραπεία με διφεριπρόνη, εύρημα που πιθανόν σχετίζεται με αθροιστική καταστολή του ερυθροποιητικού μυελού και από τα δύο φάρμακα, που καθιστά αναγκαία τη στενότερη κλινική παρακολούθηση των ασθενών σε συνδυασμένη αγωγή (Kattamis et al 2006).

#### **4.4 Περιορισμοί της μελέτης.**

Ο κυριότερος περιορισμός της μελέτης είναι η έλλειψη βιοψιών ήπατος, λόγω αδυναμίας λήψης συγκατάθεσης από τους ασθενείς για υποβολή σε μια επεμβατική πράξη. Ακόμη και στη ενδεχόμενη λήψη συγκατάθεσης, η παρουσία διαταραγμένων δεικτών πηκτικότητας του αίματος λόγω ηπατικής δυσλειτουργίας θα καθιστούσε την βιοψία υψηλού κινδύνου για επιπλοκές. Παρόλα αυτά, η χρήση του ΜΣ έχει αποδειχθεί ότι διαθέτει μεγάλη ακρίβεια στον υπολογισμό των φορτίων σιδήρου του ήπατος (Gandon et al 2004). Αναφέρεται μάλιστα ότι ο ΜΣ θα μπορούσε να είναι πιο ακριβής σε περιπτώσεις ανομοιογενούς κατανομής του σιδήρου, αφού με ΜΣ εξετάζεται όλο το όργανο και η δειγματοληψία γίνεται από περισσότερες και μεγαλύτερης έκτασης περιοχές από ό,τι στην βιοψία (Bonkovski et al 1999, Gandon et al 2004).

Ένας περιορισμός που αφορά τη μεθοδολογία είναι ότι δεν εκτιμήθηκε η επαναληψιμότητα των μετρήσεων στην συγκεκριμένη μελέτη, συνεπώς δεν είναι γνωστό σε ποιο βαθμό η μετρούμενη εκατοστιαία μεταβολή μεταξύ των επανελέγχων στον ίδιο ασθενή επηρεάζεται από το πειραματικό σφάλμα. Ωστόσο, αναφέρεται ότι η επίδραση του πειραματικού σφάλματος έχει περιορισμένη κλινική σημασία, αφού ο συντελεστής μεταβλητότητας (coefficient of variation) των μετρήσεων του χρόνου T2\* του ήπατος έχει υπολογιστεί σε 3.3% (Anderson et al 2001), ενώ η διαφορά στο LIC από το σφάλμα μεταξύ δύο εξετάσεων ΜΣ στο ίδιο άτομο περιορίζεται στο  $2.9 \pm 2.7$   $\mu\text{mol}/\text{gr}$  (Jensen et al 1994). Άλλος περιορισμός αφορά στην χρήση των παρασπονδυλικών μυών ως ιστών αναφοράς, οι οποίοι δυνητικά περιέχουν σίδηρο. Παρόλα αυτά, μελέτες με χημικό προσδιορισμό του σιδήρου και μέτρηση των χρόνων T1 και T2 των σκελετικών μυών σε ασθενείς με αιμοσιδήρωση δεν έχουν δείξει αξιόλογη συγκέντωση σιδήρου ακόμη και σε συνθήκες υψηλού ηπατικού φορτίου ( $\text{LIC} \leq 600 \mu\text{mol}/\text{gr}$  ξηρού βάρους) (Jensen et al 1994)

Οι περιορισμοί που αφορούν την ομάδα μελέτης περιλαμβάνουν την ετερογένεια ως προς το ηλικιακό εύρος, το σχήμα των μεταγγίσεων και το ακριβές σχήμα (δόσεις και συχνότητα) της αγωγής αποσιδήρωσης. Στους μεταγγιζόμενους θαλασσαιμικούς ασθενείς, η πλήρης ομοιογένεια στη ομάδα μελέτης δεν είναι εφικτή, λόγω διαφορετικής βαρύτητας της νόσου σε κάθε ασθενή που καθιστά απαραίτητη την εξατομίκευση του θεραπευτικού σχήματος. Επιπλέον, η μελέτη της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών πρωτοκόλλων στηρίχθηκε στην παραδοχή ότι οι ασθενείς συμμορφώνονται ικανοποιητικά στις θεραπευτικές οδηγίες. Παρόλα αυτά, είναι γνωστό στην καθημερινή πρακτική ότι οι μεταγγιζόμενοι θαλασσαιμικοί ασθενείς συχνά δεν συμμορφώνονται στην αγωγή ή δίνουν ανακριβείς πληροφορίες για το βαθμό συμμόρφωσής τους κατά τη λήψη ιστορικού από τον γιατρό. Η μη συμμόρφωση αφορά κυρίως παράληψη συνεδριών υποδόριας θεραπείας, ενώ ακόμη και σε περιπτώσεις μονοθεραπείας από του στόματος, η συμμόρφωση κυμαίνεται από 40-100% (Kushner et al 2006). Στην παρούσα μελέτη οι ασθενείς ερωτήθηκαν επίμονα και

διεξοδικά για το βαθμό συμμόρφωσης τους στην αγωγή πριν από κάθε εξέταση ΜΣ και σε κάποιες περιπτώσεις και μεταξύ των διαδοχικών εξετάσεων και συμπεριλήφθηκαν μόνο όσοι ανέφεραν ικανοποιητική συμμόρφωση με τις κλινικές οδηγίες και ορθή εκτέλεση της αγωγής. Παρόλα αυτά δεν μπορούμε να θα διασφαλίσουμε την απόλυτη αξιοπιστία των πληροφοριών και αυτό αναγνωρίζεται ως εγγενές πρόβλημα στις μελέτες με θαλασσαιμικούς ασθενείς (Zahed et al 2002, Daar & Pathare 2006).

## V. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκαν τα πρότυπα κατανομής σιδήρου στα όργανα του ΔΕΣ και αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα συγκεκριμένων πρωτοκόλλων αποσιδήρωσης. Φαίνεται ότι η εναπόθεση σιδήρου στους μεταγγιζόμενους ασθενείς με ομόζυγη βΜΑ εξελίσσεται σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητα μεταξύ των οργάνων του ΔΕΣ, οδηγώντας σε μια ποικιλία προτύπων κατανομής σιδήρου. Η παρατήρηση ότι σε ορισμένους ασθενείς η κατανομή σιδήρου ήταν ανάλογη με αυτή της συγγενούς αιμοχρωμάτωσης θα μπορούσε να οδηγήσει στην υπόθεση πιθανής συνύπαρξης μεταλλάξεων γονιδίων αιμοχρωμάτωσης στα άτομα αυτά. Παρότι καταγράφεται αυξημένη συχνότητα μεταλλάξεων του γονιδίου αιμοχρωμάτωσης (HFE) σε άτομα με ετερόζυγη ή ομόζυγη βΜΑ, ο ρόλος τους στον καθορισμό των επιπέδων σιδήρου και στην παθογένεση της νόσου παραμένει άγνωστος (Longo et al 1999, Kaur et al 2003, Politou et al 2004). Η διερεύνηση της σχέσης των προτύπων σιδήρωσης με το γενετικό υπόστρωμα των ασθενών θα μπορούσε να αποτελέσει αντικείμενο περαιτέρω έρευνας, όπου τεχνικές μοριακής βιολογίας και γενετικής σε συνδυασμό με τεχνικές ΜΣ θα μπορούσαν να ρίξουν περισσότερο φως στην παθοφυσιολογία της συσσώρευσης και της κατανομής σιδήρου στους μεταγγιζόμενους θαλασσαιμικούς ασθενείς.

Φαίνεται επίσης ότι η συνδυασμένη θεραπεία πλεονεκτεί έναντι της μονοθεραπείας με

DFO, αφού παρέχει μεγαλύτερου βαθμού αποσιδήρωση και των τριών οργάνων ενδιαφέροντος. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί σε ερευνητικό επίπεδο νέας γενιάς από του στόματος χυλικοί παράγοντες (όπως το Deferasirox, Exjade™) ενώ προτείνονται εναλλακτικά σχήματα για ασθενείς που δεν συμμορφώνονται σε θεραπεία με DFO (όπως εναλλασσόμενες μονο- και συνδυασμένη θεραπεία ή τροποποίηση των συνήθων δόσεων της συνδυασμένης θεραπείας). Δεδομένου ότι η παρουσία σοβαρών επιπλοκών συχνά αποτελεί αιτία αλλαγής του θεραπευτικού σχήματος, η συνεκτίμηση της παραμέτρου αυτής στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της αγωγής βαρύνει ιδιαίτερος. Θα ήταν λοιπόν σκόπιμες μελλοντικές προοπτικές κλινικοαπεικονιστικές μελέτες συγκριτικής αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας των εναλλακτικών θεραπευτικών σχημάτων σε σχέση με τις επιπλοκές τους. Επειδή η αιμοσιδήρωση είναι μια μακροχρόνια εξελισσόμενη διαδικασία και διαφορές μεταξύ ηλικιακών ομάδων είναι αναμενόμενες, θα ήταν επίσης χρήσιμη η αξιολόγηση ενός ευρύτερου ηλικιακού φάσματος συμπεριλαμβανομένων και παιδιατρικών περιστατικών, προκειμένου να καταλήξουμε σε ένα ευρέως αποδεκτό θεραπευτικό πρωτόκολλο.

Από τεχνικής απόψεως, βασικό πρόβλημα αποτελεί η αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων μεταξύ διαφορετικών κέντρων και συστημάτων ΜΣ διαφορετικών κατασκευαστών, εξαιτίας εγγενών διαφορών στην λειτουργία τους και στα προγράμματα λογισμικού (software) για επεξεργασία των μετρήσεων. Θα ήταν, συνεπώς, σκόπιμες πολυκεντρικές πειραματικές μελέτες με σκοπό τον περιορισμό των πειραματικών σφαλμάτων και την αξιολόγηση της αναπαραγωγιμότητας των μετρήσεων, ώστε να εξασφαλιστεί η ευρύτερη χρήση του ΜΣ με σκοπό την βελτίωση της πρόγνωσης των θαλασσαιμικών ασθενών.



## VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abu Alhaija** ES, Hattab FN, Al Omari MA. Cephalometric measurements and facial deformities in subjects with beta-thalassaemia major. *Eur J Orthod* 2002; 24: 9-19
- Aldouri** MA, Wonke B, Hoffbrand AV et al. Iron state and hepatic disease in patients with thalassaemia major, treated with long term subcutaneous desferrioxamine. *J Clin Pathol.* 1987;40:1353-9
- Alexopoulou** E, Stripeli F, Baras P et al. R2 relaxometry with MRI for the quantification of tissue iron overload in beta-thalassaemic patients. *J Magn Reson Imaging.* 2006;23:163-70
- Alústiza** JM, Artetxe J, Castiella A, et al Hepatic Iron Concentration by MRI Study Group. MR quantification of hepatic iron concentration. *Radiology.* 2004;230:479-84
- Ambu** R, Crisponi G et al. Uneven hepatic iron and phosphorus distribution in beta-thalassaemia. *J Hepatol* 1995;23:544-49
- Anapliotou** ML, Kastanias IT, Psara P, et al. The contribution of hypogonadism to the development of osteoporosis in thalassaemia major: new therapeutic approaches *Clinical Endocrinology.* 1995;42:279-8
- 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;22:2171-9
- Anderson** LJ, Wonke B, Prescott E, et al. Comparison of effect of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentrations and ventricular function in b-thalassaemia. *Lancet* 2002; 360:516-20
- Angelucci** E, Brittenham GM, McLaren CE, et al. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassaemia major *N Engl J Med.* 2000;343:327-31
- Angelucci** E, Giovagnoni A, Valeri G, et al. Limitations of magnetic resonance imaging in measurement of hepatic iron. *Blood.* 1997;90:4736-42
- Angelucci** E, Barosi G, Camaschella C, et al. Italian Society of Hematology practice guidelines for the management of iron overload in thalassaemia major and related disorders. *Haematologica.* 2008;93:741-52
- Anuwatanakulchai** M, Pootrakul P, Thuvasethakul P, et al. Non-transferrin plasma iron in beta-thalassaemia/Hb E and haemoglobin H diseases. *Scand J Haematol.* 1984;32:153-8
- Anwar** M, Nadeem A, Jamal S, et al. Effect of HCV infection on hepatic fibrosis in patients of thalassaemia major. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2006;16:200-3

- Ardalan** FA, Osquei MR, Toosi MN, et al. Synergic effect of chronic hepatitis C infection and beta thalassemia major with marked hepatic iron overload on liver fibrosis: a retrospective cross-sectional study *BMC Gastroenterol.* 2004;4:17
- Argyropoulou** MI, Kiortsis DN, Efremidis SC. MRI of the liver and the pituitary gland in patients with beta-thalassemia major: does hepatic siderosis predict pituitary iron deposition? *Eur Radiol.* 2003;13:12-6
- Argyropoulou** MI, Kiortsis DN, Astrakas L, et al. Liver, bone marrow, pancreas and pituitary gland iron overload in young and adult thalassemic patients: a T2 relaxometry study. *Eur Radiol.* 2007;3025-30
- Armstrong** P, Keevil SF. Magnetic resonance imaging-1: Basic principles of image production. *BMJ.* 1991;303:35-40
- Babiker** MA, Patel PJ, Karrav ZA, et al. Comparison between serum ferritin and computed tomographic densities of liver, spleen, kidney and pancreas in b-thalassemia major. *Scand J Clin Lab Invest* 1987;47:715-18
- Bacon** BR, Joseph H. Sheldon and hereditary hemochromatosis: historical highlights. *J Lab Clin Med.* 1989;113:761-2
- Bank** A. On the road to gene therapy for beta-thalassemia and sickle cell anemia. *Pediatr Hematol Oncol.* 2008;25:1-4.
- Bannerman** RM, Callender SJ, Smith RS. Iron absorption in thalassemia. *Br J Hematol* 1964;10:490-5
- Barton** JC. Chelation therapy for iron overload. *Curr Gastroenterol Rep.* 2007;9:74-82
- Barton** JC, Sawada-Hirai R, Rothenberg BE, et al. Two novel missense mutations of the *HFE* gene (I105T and G93R) and identification of the S56C mutation in Alabama hemochromatosis probands. *Blood Cells Mol Dis* 1999;25:147-55
- Basset** M, Halliday J, Powel L. Value of hepatic iron measurements in early hemochromatosis and determination of the critical iron levels associated with fibrosis. *Hepatology* 1986;6:24-9
- Basset** M, Halliday J, Powel L. Value of hepatic iron measurements in early hemochromatosis and determination of the critical iron levels associated with fibrosis. *Hepatology* 1986;6:24-9
- Baynes** R, Bezwoda W, Bothwell T, et al. The non-immune inflammatory response: Serial changes in plasma iron, iron-binding capacity, lactoferrin, ferritin and C-reactive protein. *Scand J Clin Lab Invest* 1986;46:695-704
- Bauman** JH, Harris JW. Estimation of hepatic iron stores by in vivo measurements of magnetic susceptibility. *J Lab Clin Med* 1967;70:246-57

- Berkovitch** M, Laxer RM, Inman R, et al. Arthropathy in thalassaemia patients receiving deferiprone. *Lancet*. 1994;343:1471-72
- Bernardino** ME, Small W, Goldstein J, et al. Multiple NMR T2 relaxation values in human liver tissue. *AJR Am J Roentgenol*. 1983;141:1203-8
- Beutler** E, Hoffbrand AV, Cook JD. Iron deficiency and overload. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2003:40-61
- Beutler** E. Iron storage disease: Facts, fiction and progress. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2007; 39:140-7
- Birgens** H, Ljung R. The thalassaemia syndromes. *Scand J Clin Lab Invest*. 2007;67:11-25
- Bonkovsky** HL, Slaker DP, Bills EB, et al. Usefulness and limitations of laboratory and hepatic imaging studies in ironstorage disease. *Gastroenterology* 1990; 99:1079–91
- Bonkovsky** HL, Rubin RB, Cable EE, et al. Hepatic iron concentration: noninvasive estimation by means of MR imaging techniques. *Radiology* 1999;212:227-34
- Brasch** RC, Wesbey GE, Gooding CA, et al. Magnetic resonance imaging of transfusional hemosiderosis complicating thalassemia major. *Radiology* 1984;150:767-71
- Brandhagen** DJ, Fairbanks VF, Baldus W. Recognition and management of hereditary hemochromatosis. *Am Fam Physician*. 2002;65:853-60
- Breuer** W, Shvartsman M, Cabantchik ZI. Intracellular labile iron. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008;40:350-4
- Breuer** W, Empers MJJ, Pootrakul P, et al. Deferoxamine chelatable iron, a component of serum non-transfusion-bound iron, used for assessing chelation therapy. *Blood* 2001;97:792-798
- Brittenham** GM. Iron balance in the red blood cell donor. *Dev Biol (Basel)* 2005;120:77-82
- Brittenham** GM, Badman DG. Nonivasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood* 2003;101:15-19
- Brittenham** GM, Griffith PM, Nienhuis AW et al. Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major *New Engl J Med* 1994;331:567-73
- Brittenham** GM, Farell DE, Harris JW et al Magnetic susceptibility measurement of human iron stores. *New Engl J Med* 1982;307:1671-75
- Brissot** P, Bourel M, Herry D, et al Assessment of liver iron content in 271 patients: a reevaluation of direct and indirect methods *Gastroenterology* 1981;80:557-65
- Brissot** P. Evaluation of computed tomography in the assessment of liver iron overload. A study of 46 cases of idiopathic hemochromatosis. *Gastroenterology*. 1989;97:737-43

- Brown** DW, Henkelman RM, Poon PY, et al. Nuclear magnetic resonance study of iron overload in liver tissue. *Magn Reson Imaging*. 1985;3:275-82
- Cappellini** MD. Exjade(R) (deferasirox, ICL670) in the treatment of chronic iron overload associated with blood transfusion. *Ther Clin Risk Manag*. 2007 Jun;3(2):291-9
- Carr** HY, Purcell EM. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys Rev* 1954; 94:630-38
- Cavill** I, Worwood M, Jacobs A. Internal regulation of iron absorption. *Nature*. 1975;256:328-9
- Cavill** I. Iron status measured by serum ferritin: the marker and its limitations *Am J Kid Dis* 1999;34:S12-17
- Chacko** J, Pennell DJ, Tanner MA, et al. Myocardial iron loading by magnetic resonance imaging T2\* in good prognostic myelodysplastic syndrome patients on long-term blood transfusions. *Br J Haematol*. 2007;138:587-93
- Chan** YL, Pang LM, Chik KW, et al. Patterns of bone diseases in transfusion-dependent homozygous thalassaemia major: predominance of osteoporosis and desferrioxamine-induced bone dysplasia. *Pediatr Radiol*. 2002;32:492-97
- Chan** YL, Li CK, Pang LM, et al. Desferrioxamine-induced long bone changes in thalassaemic patients-radiographic features, prevalence and relations with growth. *Clin Radiol*. 2000;55:610-4
- Chan** YL, Li CK, Lam CW, et al. Liver iron estimation in beta-thalassaemia: comparison of MRI biochemical assay and histological grading. *Clin Radiol*. 2001;56:911-6
- Chalevelakis** G, Lyberatow C, Yalouris A et al. Rapid proteolysis of puromycin peptides in non-thalassaemic and thalassaemic erythroid cells. *Eur Clin Invest* 1984;14:199-202
- Charlton** RW, Bothwell TH. Iron absorption. *Annu Rev Med* 1983;34:55-68
- Chaston** TB, Richardson DR. Iron chelators for the treatment of iron overload disease: relationship between structure, redox activity, and toxicity. *Am J Hematol* 2003;73:200-10
- Chen** AC, Peng CT, Wu SF, et al. Effect of deferiprone on liver iron overload and fibrosis in hepatitis-C-virus-infected thalassaemia. *Hemoglobin*. 2006;30:209-14
- Chezmar** JL, Nelson RC, Malko JA et al Hepatic iron overload: diagnosis and quantification by noninvasive imaging. *Gastrointest Radiol* 1990;15:27-31
- Christoforidis** A, Haritandi A, Tsatra I, et al. Four-year evaluation of myocardial and liver iron assessed prospectively with serial MRI scans in young patients with beta-thalassaemia major: comparison between different chelation regimens. *Eur J Haematol* 2007;78:52-7

- Christoforidis A**, Haritandi A, Tsitouridis I, et al. Correlative study of iron accumulation in liver, myocardium, and pituitary assessed with MRI in young thalassemic patients. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2006;28: 311-5
- Clark PR**, Chua-anusorn W, St Pierre TG. Bi-exponential proton transverse relaxation rate (R2) image analysis using RF field intensity-weighted spin density projection: potential for R2 measurement of iron-loaded liver. *Magn Reson Imaging.* 2003;21:519-30
- Clark PR**, St Pierre TG. Quantitative mapping of transverse relaxivity (1/T2) in hepatic iron overload: a single spin-echo imaging methodology. *Mag Res Imag* 2000;18:431-38
- Cohen A**, Markenson AL, Schwarz E. Transfusion requirements and splenectomy in thalassemia major. *J Pediatr* 1980; 97: 100-2
- Cohen A**. Management of iron overload in the pediatric patient. *Hematol Oncol Clin North Am* 1987;1:521-44
- Cooley TB**, Lee P. A series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone change. *Transact Am Pediatr Soc.*1925;37:29
- Currarino G**, Erlandson ME. Premature fusion of the epiphyses in Cooley's anemia. *Radiology.* 1964;83:656-64
- Daar S**, Pathare AV. Combined therapy with desferrioxamine and deferiprone in beta thalassemia major patients with transfusional iron overload. *Ann Hematol.* 2006;85:315-9
- Deborah Chirnomas S**, Geukes-Foppen M, et al. Practical implications of liver and heart iron load assessment by T2\*-MRI in children and adults with transfusion-dependent anemias. *Am J Hematol.* 2008;83:781-3
- Deugnier Y**, Turlin B. Pathology of hepatic iron overload. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4755-60
- DeVirgiliis S**, Congia M, Frau F et al. Desferrioxamine-induced growth retardation in patients with thalassaemia major, *J Paediatr* 113;1988:661–9
- Diav-Citrin O**, Koren G. Oral iron chelation with deferiprone. *Pediatr Clin North Am.*1997;44:235-47
- Drakonaki E**, Papakonstantinou O, Maris T, et al. Adrenal glands in beta-thalassemia major: magnetic resonance (MR) imaging features and correlation with iron stores. *Eur Radiol* 2005;15:2462-8
- Doyle FH**, Pennock JM, Banks LM, et al. Nuclear magnetic resonance imaging of the liver: initial experience. *AJR Am J Roentgenol.* 1982;138:193-200
- El-Beshlawy A**, Manz C, Naja M, et al. Iron chelation in thalassemia: combined or monotherapy? The Egyptian experience. *Ann Hematol.* 2008;87:545-50

- 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
- Ernst O**, Sergent G, Bonvarlet P et al Hepatic iron overload: diagnosis and quantification with MR imaging. *AJR* 1997;168:1205–08
- Feder JN**, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class 1- like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399-408
- Fenzi A**, Bortolazzi M, Marzola P. Comparison between signal-to-noise ratio, liver-to-muscle ratio, and 1/T2 for the noninvasive assessment of liver iron content by MRI. *J Magn Reson Imaging*. 2003;17:589-92
- Fessas F**. Inclusions of hemoglobin in erythroblasts and erythrocytes of thalassemia. *Blood* 1963;21:21
- Fillet G**, Beguin Y, Baldelli L. Model of reticuloendothelial iron metabolism in humans: abnormal behavior in idiopathic hemochromatosis and in inflammation. *Blood*. 1989;74:844-51
- Finch CA**, Bellotti V, Stray S, et al. Plasma ferritin determination as a diagnostic tool. *West J Med*. 1986;145:657-63
- Finch SC**, Finch CA. Idiopathic hemochromatosis, an iron storage disease. A. Iron metabolism in hemochromatosis. *Medicine (Baltimore)*. 1955;34:381-430
- Fink IJ**, Pastakia B, Barranger JA. Enlarged phalangeal foramina in Gaucher disease and beta-thalassemia major. *AJR Am J Roentgenol*. 1984;143:647-49
- Fiorelli G**, Fargion S, Piperno A, et al. Iron metabolism in thalassemia intermedia. *Haematologica*. 1990;75 Suppl 5:89-95
- Fischer R**, Tiemann CD, Engelhardt R, et al Assessment of iron stores in children with transfusion siderosis by biomagnetic liver susceptometry. *Am J Hematol* 2003;60:289-99
- Forget BG**. The pathophysiology and molecular genetics of beta thalassemia. *Mt Sinai J Med* 1993;60:95-103
- Gabata T**, Kadoya M, Mori A, et al. MR imaging of focal extramedullary hematopoiesis in polycythemia vera: case report. *Abdom Imaging* 2000;25:514-6
- Galanello R**, Kattamis A, Piga A, et al. A prospective randomized controlled trial on the safety and efficacy of alternating deferoxamine and deferiprone in the treatment of iron overload in patients with thalassemia. *Haematologica* 2006;91:1241-3
- Gandon Y**, Guyader D, Heautot JF, et al. Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient echoMR imaging. *Radiology* 1994;193:533-8

**Gandon Y**, Olivie D, Guyader D, et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004; 363:357-62

**Ganz T**. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102:783-8

**Ganz T**. Molecular Control of Iron Transport. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:394-400

**Gatter KC**, Brown G, Trowbridge IS, et al. Transferrin receptors in human tissues: their distribution and possible clinical relevance. *J Clin Pathol.* 1983;36:539-45

**Gelman N**, Gorell JM, Barker PB, et al. MR imaging of human brain at 3.0 T: preliminary report on transverse relaxation rates and relation to estimated iron content. *Radiology* 1999;210:759-67

**Goldberg HI**, Cann CE, Moss AA, et al. Noninvasive quantitation of liver iron in dogs with hemochromatosis using dual-energy CT scanning. *Invest Radiol.* 1982;17:375-80

**Gorell JM**, Ordidge RJ, Brown GG, et al. Increased iron related MRI contrast in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurology* 1995;45:1138-43

**Gossuin Y**, Muller RN, Gillis P, et al. Relaxivities of human liver and spleen ferritin. *Magn Reson Imaging.* 2005;23:1001-4

**Gossuin Y**, Roch A, Muller RN, et al. Relaxation induced by ferritin and ferritin-like magnetic particles: the role of proton exchange. *Magn Reson Med.* 2000;43:237-43

**Gotsis ED**. The uses and differences of  $r_2$  and  $r_2^*$  in the determination of iron overload in iron loaded thalassemia patients. *Hemoglobin* 2008;32:75-83

**Grady RW**, Berdoukas V, Rachmilewitz EA, et al. Combinationsof desferrioxamine and deferiprone markedly enhance iron excretion [abstract]. *Blood.* 2002;100:241a.

**Gratwick GM**, Bullough PG, Bohne WH, et al. Thalassaemic osteoarthropathy. *Ann Intern Med.* 1978;88:494-501

**Graumann R**, Oppelt A, Stetter E. Multiple-spin-echo imaging with a 2D Fourier method. *Magn Reson Med.* 1986;3:707-21

**Gunshin H**, Allerson CR, Polycarpou-Schwarz M, et al. Iron-dependent regulation of the divalent metal ion transporter. *FEBS Lett.* 2001;509:309-16

**Guyader D**, Gandon Y, Robert JY, et al. Magnetic resonance imaging and assessment of liver iron content in genetic hemochromatosis. *J Hepatol* 1992;15:304-8

**Hackett S**, Chua-anusorn W, Pootrakul P, et al. The magnetic susceptibilities of iron deposits in thalassaemic spleen tissue. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1772:330-7

**Harju E**, Pakarinen A, Larimi T. A comparison between serum ferritin concentration and the amount of bone marrow stainable iron. *Scand J Clin Lab Invest.* 1984;44:555-6

- Hentze** MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 2004;117:285-97
- Houang** MT, Arozana X, Skalicka A, et al. Correlation between computed tomographic values and liver iron content in thalassaemia major with iron overload. *Lancet* 1979;1:1322-3
- Huebers** HA, Finch CA. Transferrin: physiologic behavior and clinical implications. *Blood* 1984;64:763-7
- Hundt** W, Petsch R, Helmberger T, et al. Effect of superparamagnetic iron oxide on bone marrow. *Eur Radiol* 2000;10:1495-1500
- Iancu** TC, Landing BH, Neustein HB. Pathogenetic mechanisms in hepatic cirrhosis of thalassaemia major: light and electron microscopic studies. *Pathol Annu.* 1977;12:171-200.
- In den Kleef** JJ, Cuppen JJ. RLSQ: T1, T2, and rho calculations, combining ratios and least squares. *Magn Reson Med* 1987;5:513-24
- Ishijima** H, Ishizaka H, Aoki J, et al. T2 relaxation time of bone marrow water and lipid: correlation with serum ferritin in normal individuals. *J Comput Assist Tomogr.* 1997;21:506-8
- Isokawa** M, Kimura F, Matsuki T, et al. Evaluation of bone marrow iron by magnetic resonance. *Ann Hematol* 1997;74:269-74
- Israel** J, Unger E, Buetow K, et al. Correlation between liver iron content and magnetic resonance imaging in rats. *Magn Reson Imaging* 1989;7:629-34
- Italian** Working Group on Endocrine Complications in Non-endocrine Diseases. Multicentre study on prevalence of endocrine complications in thalassaemia major. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995;42:581-6
- Jacobs** A. Ferritin: an interim review. *Curr Top Hematol.* 1985;5:25-62
- Jacobs** A. Iron overload - clinical and pathologic aspects. *Seminars in Hematology* 1977;14:89-113
- Jensen** PD. Evaluation of iron overload. *Br J Haematol.* 2004;124:697-711
- Jensen** PD, Jensen FT, Christensen T, et al. Non-invasive assessment of tissue iron overload in the liver by magnetic resonance imaging. *Br J Haematol* 1994;87:171-84
- Jensen** PD, Jensen FT, Christensen T, et al. Indirect evidence for the potential ability of magnetic resonance imaging to evaluate the myocardial iron content in patients with transfusional iron overload. *MAGMA* 2001;12:153-66
- Jensen** CE, Tuck SM, Agnew JE, et al. High prevalence of low bone mass in thalassaemia major. *Br J Haematol* 1998;103:911-15



- Johnston** DL, Rice L, Vick GW 3rd, et al. Assessment of tissue iron overload by nuclear magnetic resonance imaging. *Am J Med* 1989;87:40-7
- Kaltwasser** JP, Gottschalk R, Schalk KP, et al. Non-invasive quantitation of liver iron-overload by magnetic resonance imaging. *Br J Haematol.* 1990;74:360-3
- Καραντάνας** AX. Μαγνητική Τομογραφία. Φυσικές Αρχές-Ερμηνεία της εικόνας. 3<sup>η</sup> έκδοση, Εκδόσεις Βήτα, Αθήνα 2003
- Karantanas** A. Thalassemia. In: Pope TL, Bloem H, Beltran H, Morrison W, Wilson D (Eds) *Imaging of the musculoskeletal system.* Saunders-Elsevier, Philadelphia 2008: 1470-82
- Kattamis** A, Kassou C, Berdousi H, et al. Combined therapy with desferrioxamine and deferiprone in thalassemic patients: effect on urinary iron excretion. *Haematologica.* 2003;88:1423-5
- Kattamis** A, Ladis V, Berdousi H, et al. Iron chelation treatment with combined therapy with deferiprone and desferrioxamine: a 12-month trial. *Blood Cells Mol Dis.* 2006;36:21-5.
- Katz** DS. Splenic extramedullary hematopoiesis: large focal lesion in a patient with thalassemia. *AJR* 1999;173:1715-6
- Kaur** G, Rappaport CC, Xavier M, et al. Distribution of C282Y and H63D mutations in the HFE gene in healthy Asian Indians and patients with thalassaemia major. *Natl Med J India.* 2003;16:309-10
- Kellenberger** CJ, Schmutz M, Saurenmann T, et al. Radiographic and MRI features of deferiprone-related arthropathy of the knees in patients with beta thalassemia, *Am J Radiol* 2004;183:989-4
- Kew** MC, Torrance DJ, Derman DP. Serum and ferritins in primary liver cancer *Gut* 1978;19:294-9
- Kohgo** Y, Ikuta K, Ohtake T, et al. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol.* 2008;88:7-15
- Kolnagou** A, Economides C, Eracleous E, et al. Long term comparative studies in thalassemia patients treated with deferoxamine or a deferoxamine/deferiprone combination. Identification of effective chelation therapy protocols. *Hemoglobin* 2008;32:41-7
- Kolnagou** A, Kontoghiorghes GJ. Effective combination therapy of deferiprone and deferoxamine for the rapid clearance of excess cardiac iron and the prevention of heart disease in thalassemia. The protocol of the International Committee on Oral Chelators. *Hemoglobin* 2006;30:239-49

- Kontoghiorghes** GJ, Neocleus K, Kolnagou A. Benefits and risks of deferiprone in iron overload in thalassemia and other conditions: comparison of epidemiological and therapeutic aspects with deferoxamine. *Drug Saf* 2003;26:553-84
- Koorts** AM, Viljoen M. Ferritin and ferritin isoforms I: Structure-function relationships, synthesis, degradation and secretion. *Arch Physiol Biochem*. 2007;113:30-54
- Korovessis** PG, Papanastasiou D, Tiniakou M, et al. Prevalence of scoliosis in beta-thalassemia. *J Spinal Disord*. 1996;9:170-3
- Kudriavtseva** LM, Levina AA, Klimanskiĭ VA, et al. Dynamics of iron metabolism in patients with homozygotic beta-thalassemia after splenectomy. *Gematol Transfuziol*. 1993;38:8-10
- Kushner** JP, Porter JP, Olivieri NF. Secondary iron overload. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2001:47-61
- Ladis** V, Chouliaras G, Berdousi H, et al. Longitudinal study of survival and causes of death in patients with thalassemia major in Greece. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1054:445–50
- Levin** TL, Sheth SS, Ruzal-Shapiro C, et al. MRI marrow observations in thalassaemia. The effects of primary disease, transfusional therapy and chelation, *Paediatr Radiol* 1995;25:607-13
- Levin** TL, Sheth SS, Hurllet A, et al. MR marrow signs of iron overload in transfusion-dependent patients with sickle cell disease. *Pediatr Radiol* 1995;25:614-9
- Lieu** PT, Heiskala M, Peterson PA, et al. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med*. 2001;22:1-87
- Link** G, Konijn AM, Breuer W, et al. Exploring the "iron shuttle" hypothesis in chelation therapy: effects of combined deferoxamine and deferiprone treatment in hypertransfused rats with labeled iron stores and in iron-loaded rat heart cells in culture. *J Lab Clin Med*. 2001;138:130-8
- Lipschitz** DA, Cook JD, Finch CA. A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. *N Engl J Med*. 1974;290:1213-6
- Long** JA Jr, Doppman JL, Nienhuis AW. Computed tomographic studies of thoracic extramedullary hematopoiesis. *J Comput Assist Tomogr*. 1980;4:67-70
- Long** JA, Doppman JL, Nienhus AW, et al. Computed tomographic analysis of beta-thalassemic syndromes with hemochromatosis: pathologic findings with clinical and laboratory correlations. *J Comput Assist Tomogr* 1980;4:159-65
- Longo** F, Zecchina G, Sbaiz L, et al. *Haematologica*. The influence of hemochromatosis mutations on iron overload of thalassemia major. 1999;84:799-803

- Lucarelli G, Gaziev J.** Advances in the allogeneic transplantation for thalassemia. *Blood Rev.* 2008;22:53-63
- MacLaren GD, Muir WA, Kellermeyer RW.** Iron overload disorders: natural history , pathogenesis, diagnosis and therapy. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1984;19:205-66
- Madani G, Papadopoulou AM, Holloway B, et al.** The radiological manifestations of sickle cell disease. *Clin Radiol.* 2007;62:528-38
- Maggio A, D'Amico G, Morabito A,** Deferiprone versus deferoxamine in patients with thalassaemia major: a randomized clinical trial. *Blood Cells Mol Dis* 2002;28:196-208
- Majumdar S, Thomasson D, Shimakawa A, et al.** Quantitation of the susceptibility difference between trabecular bone and bone marrow: experimental studies. *Magn Reson Med* 1991;22:111-27
- Majumdar S, Newitt D, Jergas M, et al.** Evaluation of technical factors affecting the quantification of trabecular bone structure using magnetic resonance imaging. *Bone* 1995;17:417-30
- Manci EA, Culberson DE, Gardner JM, et al.** Perivascular fibrosis in the bone marrow in sickle cell disease. *Arch Pathol Lab Med.* 2004;128:634-9
- Maris TG, Papakonstantinou O, Chatzimanoli V, et al.** Myocardial and liver iron status using a fast T\*2 quantitative MRI (T\*2qMRI) technique. *Magn Reson Med.* 2007;57:742-53
- Masera G, Jean G, Terzoli S et al.** Sequential study of liver biopsy in thalassemia. *Arch Dis Child* 1980; 55:800-2
- Matsuno T, Mori M, Awai M.** Distribution of ferritin and hemosiderin in the liver, spleen and bone marrow of normal, phlebotomized and iron overloaded rats. *Acta Med Okayama.* 1985;39:347-60
- Mazza P, Giua R et al.** Iron overload in thalassemia: comparative analysis of magnetic resonance imaging, serum ferritin and iron content of the liver. *Haematologica* 1995;80:398-404
- Meiboom S, Gill D.** Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. *Rev Sci Instrum* 1958; 29:688-91
- Melis MA, Cau M, Deidda F, et al.** H63D mutation in the HFE gene increases iron overload in beta-thalassemia carriers. *Haematologica.* 2002;87:242-5
- Meo A, Gramignoli R, Rebulli P, et al.** Clinical and histological characterization of liver disease in patients with transfusion-dependent beta-thalassemia. A multicenter study of 117 cases. *Haematologica.* 2004;89:1179-86

**Metafratzi Z**, Argyropoulou MI, Kiortsis DN, et al. T(2) relaxation rate of basal ganglia and cortex in patients with betathalassaemia major. *Br J Radiol* 2001;74:407-10

**Metz S**, Lohr S, Settles M, et al. HE Ferumoxtran-10-enhanced MR imaging of the bone marrow before and after conditioning therapy in patients with non-Hodgkin lymphomas. *Eur Radiol*. 2006;16:598-607

**Midiri M**, Lo Casto A, Sparacia G, et al. MR imaging of pancreatic changes in patients with transfusion-dependent beta-thalassemia major. *AJR Am J Roentgenol*. 1999;173:187-92

**Mirmomen S**, Alavian SM, Hajarizadeh B, et al. Epidemiology of hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus infections in patients with beta-thalassemia in Iran: a multicenter study. *Arch Iran Med*. 2006;9:319-23

**Mitnick JS**, Bosniak MA, Megibow AJ, et al. CT in B-thalassemia: iron deposition in the liver, spleen, and lymph nodes. *AJR Am J Roentgenol*. 1981;136:1191-4

**Mortele KJ**, Ros PR. MR imaging in chronic hepatitis and cirrhosis. *Semin Ultrasound CT MR*. 2002;23:79-100

**Moseley JE**. Skeletal changes in the anemias. *Semin Roentgenol*. 1974;3:169-84

**Mourad FH**, Hoffbrand AV, Sheikh-Taha M, et al. Comparison between desferrioxamine and combined therapy with desferrioxamine and deferiprone in iron overloadedthalassaemia patients. *Br J Haematol*. 2003;121:187-9

**Neufeld EJ**. Oral chelators deferasirox and deferiprone for transfusional iron overload in thalassemia major: new data, new questions. *Blood*. 2006;107:3436-41

**Nielsen P**, Engelhardt R, Dullman J, et al. Non invasive liver iron quantification by SQUID-biosusceptometry and serum ferritin iron as new diagnostic parameters in hereditary hemochromatosis. *Blood Mol Cell Dis* 2002;29:451-8

**Nielsen P**, Fischer R, Engelhardt R et al. Liver iron stores in patients with secondary hemosiderosis under iron chelation therapy with deferoxamine or deferiprone. *Brit J Haematol* 1995;91:827-33

**Noetzli LJ**, Carson SM, Nord AS, et al. Longitudinal analysis of heart and liver iron in thalassemia major. *Blood* 2008;112:2973-8

**Oelckers S**, Graeff W. In situ measurement of iron overload in liver tissue by dual-energy methods. *Phys Med Biol*. 1996;41:1149-65

**Olivieri NF**, Nathan DG, MacMillan JH, et al. Survival in medically treated patients with homozygous beta-thalassemia. *N Engl J Med*. 1994;331:574-8

**Olivieri NF**, Koren G, Harris J, et al. Growth failure and bony changes induced by deferoxamine. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1992;14:48-56

**Ooi GC, Khong PL, Chan GC, et al.** Magnetic resonance screening of iron status in transfusion-dependent beta-thalassaemia patients. *Br J Haematol.* 2004;124:385-90

**Ordidge RJ, Gorell JM, Deniau JC, et al** Assessment of relative brain iron concentrations using T2-weighted and T2\*- weighted MRI at 3 Tesla. *Magn Reson Med* 1994;32:335-41

**Orino K, Watanabe K.** Molecular, physiological and clinical aspects of the iron storage protein ferritin. *Vet J.* 2007;29. [Epub ahead of print]

**Panigrahi I, Marwaha RK.** Common Queries in Thalassemia Care. *Indian Pediatr* 2006;43:513-8

**Papadaki MG, Kattamis AC, Papadaki IG, Menegas DG, Georgakopoulou TP, Mavrommati-Metaxotou A, Kattamis CA.** Abdominal ultrasonographic findings in patients with sickle-cell anaemia and thalassaemia intermedia. *Pediatr Radiol.* 2003;33:515-21

**Papakonstantinou O, Drakonaki EE, Maris T, et al.** MR imaging of spleen in beta-thalassaemia major. *Abdom Imaging* 2006; DOI 10.1007/s00261-006-9138-4

**Papakonstantinou O, Kostaridou S, Maris T, et al.** Quantification of liver iron overload by T2 quantitative magnetic resonance imaging in thalassemia: impact of chronic hepatitis C on measurements. *J Pediatr Hematol Oncol.* 1999;21:142-8

**Papakonstantinou O, Ladis V, Kostaridou S, et al.** The pancreas in beta-thalassaemia major: MR imaging features and correlation with iron stores and glucose disturbances. *Eur Radiol.* 2007;17:1535-43

**Papakonstantinou OG, Maris TM, Kostaridou TG, et al.** 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. *Mag Res Imag* 1995;13:967-77

**Papakonstantinou O, Maris TG, Kostaridou S, et al.** Abdominal lymphadenopathy in beta-thalassaemia: MRI features and correlation with liver iron overload and posttransfusion chronic hepatitis C. *AJR Am J Roentgenol.* 2005;185:219-24

**Pennell DJ, Berdoukas V, Karagiorga M, et al.** Randomized controlled trial of deferiprone or deferoxamine in b-thalassaemia major patients with asymptomatic myocardial siderosis. *Blood* 2006; 107:3738-44

**Pepe A, Positano V, Santarelli MF, et al.** Multislice multiecho T2\* cardiovascular magnetic resonance for detection of the heterogeneous distribution of myocardial iron overload. *J Magn Reson Imaging* 2006;23:662-68

- Percy ME, Wong S, Bauer S, et al.** Iron metabolism and human ferritin heavy chain cDNA from adult brain with an elongated untranslated region: new findings and insights. *Analyst* 1998;123:41-50
- Piga A, Caglioti C, Fogliacco E, et al.** Comparative effects of deferiprone and deferoxamine on survival and cardiac disease in patients with thalassemia major: a retrospective analysis. *Hematologica* 2003;88:489-6
- Piomelli S, Danoff SJ, Becker MH, et al.** Prevention of bone malformations and cardiomegaly in Cooley's anemia by early hypertransfusion regimen. *Ann N Y Acad Sci.* 1969;165:427-36
- Pippard M.** Measurement of iron status *Progress in Clinical and Biological Research* 1989;309:705-13
- Politou M, Kalotycho V, Pissia M, et al.** The impact of the mutations of the HFE gene and of the SLC11A3 gene on iron overload in Greek thalassemia intermedia and beta(s)/beta(thal) anemia patients. *Haematologica.* 2004;89:490-2
- Pootrakul P, Pornpan S, Jongkal S, et al.** Clinical trial of deferiprone iron chelation therapy in  $\beta$ -thalassaemia/ haemoglobin E patients in Thailand. *Br J Haematol.* 2003;122:305-10
- Pootrakul P, Vongsmasa V, La-ongpanich P, et al.** Serum ferritin levels in thalassemiias and the effect of splenectomy. *Acta Haematol.* 1981;66:244-50
- Pootrakul P, Sirankapracha P, Hemsorach S, et al.** A correlation of erythrokinetics, ineffective erythropoiesis and erythroid precursor apoptosis in Thai patients with thalassemia. *Blood* 2000;96:2606-12
- Porter JB, Rafique R, Srichairatanakool S, et al.** Recent insights into interactions of deferoxamine with cellular and plasma iron pools: Implications for clinical use. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1054:155-68
- Porter JB, Davis BA.** Monitoring chelation therapy to achieve optimal outcome in the treatment of thalassaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2002;15:329-68
- Positano V, Salani B, Pepe A, et al.** Improved T2\* assessment in liver iron overload by magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging.* 2008;28
- Powell LW, Alpert E, Isselbacher KJ, et al.** Human isoferritins: organ specific iron and apoferritin distribution. *Br J Haematol.* 1975;30:47-55
- Powell LW, George DK, McDonnell SM, et al.** Diagnosis of Hemochromatosis 1998;129:925-31
- Prati D, Maggioni M, Milani S, et al.** Transfusional iron overload; the relationship between liver iron concentration and hepatic fibrosis in thalassemia. *J Pathol* 1973;116:83-9

- Pykett** IL, Newhouse JH, Buonanno FS, et al. Principles of nuclear magnetic resonance imaging. *Radiology*. 1982;143:157-68
- Quek** L, Thein SL. Molecular therapies in beta-thalassaemia. *Br J Haematol*. 2007;136:353-65
- Reimer** P, Parizel PM, Stichnoth FA (Eds). *Clinical MR Imaging. A practical Approach*, 2d edition, Springer Heidelberg 2003
- Resnick** D. *Diagnosis of Bone and Joint Disorders*. 4th ed, vol. 3. Philadelphia: Saunders, 2002, 2167–76
- Rocchi** E, Cassanelli M, Borghi A, et al. Magnetic Resonance Imaging and different levels of iron overload in chronic liver disease. *Hepatology* 1993;17:997-1002
- Rose** C, Vandevenne P, Bourgeois E, et al. Liver iron content assessment by routine and simple magnetic resonance imaging procedure in highly transfused patients. *Eur J Haematol*. 2006;77:145-9
- Rosenthal** H, Thulborn KR, Rosenthal DI, et al. Magnetic susceptibility effects of trabecular bone on magnetic resonance imaging of bone marrow. *Invest Radiol*. 1990;25:173-8
- Rossander** L, Hallberg L, Bjorn-Rasmussen. Absorption of iron from breakfast meals. *Am J Clin Nutr* 1979;32:2484-9
- Rothman** RJ, Serroni A, Farber JL. Cellular pool of transient ferric iron, chelatable by deferoxamine and distinct from ferritin, that is involved in oxidative cell injury. *Mol Pharmacol*. 1992;42:703-10
- Roy** CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood*. 2000;96:4020-7
- Ruggiero** L, De Sanctis V. Multicentre study of prevalence of fractures in transfusion-dependent thalassaemic patients. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 1998;11:773-8
- Rund** D, Rachmilewitz E. Beta Thalassaemia. *N Engl J Med* 2005;353:1135-46
- Runge** VM, Clanton JA, Smith FW, et al. Nuclear magnetic resonance of iron and copper disease states. *AJR Am J Roentgenol*. 1983;141:943-8.
- Scutellari** PN, Orzincolo C, Franceschini F, et al. The radiographic appearances following adequate transfusion in beta-thalassaemia. *Skeletal Radiol*. 1989;17:545-50
- Siegelman** ES, Mitchell DG, Semelka RC. Abdominal Iron Deposition: Metabolism, MR Findings and Clinical Importance. *Radiology* 1996;199:13-22
- Siegelman** ES, Mitchell DG, Rubin R, et al. Parenchymal versus reticuloendothelial iron overload in the liver: distinction with MR imaging. *Radiology* 1991;179:361-66
- Sebag** GH, Moore SG. Effect of trabecular bone on the appearance of marrow in gradient-echo imaging of the appendicular skeleton. *Radiology* 1990;174:855-59

- Smith** LH. Overview of hemochromatosis. *West J Med* 1990;153:296-308
- Song** R, Cohen AR, Song HK. Improved transverse relaxation rate measurement techniques for the assessment of hepatic and myocardial iron content. *J Magn Reson Imaging*. 2007;26:208-14
- Stark** DD, Bass NM, Moss AA, et al. Nuclear magnetic resonance imaging of experimentally induced liver disease. *Radiology*. 1983;148:743-51
- Storey** P, Thompson AA, Carqueville CL, et al. R2\* imaging of transfusional iron burden at 3T and comparison with 1.5T *J Magn Reson Imaging* 2007;25:540-7
- St Pierre** TG, Tran KC, Webb J, et al. Organ-specific crystalline structures of ferritin cores in beta-thalassemia/hemoglobin E. *Biol Met*. 1991;4:162-5
- St Pierre** TG, Clark PR, Chua-anusorn W, et al. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood* 2005;105:855-61
- St Pierre** TG, Tran KC, Webb J, et al. Organ-specific crystalline structures of ferritin cores in beta-thalassemia/haemoglobin E. *Biol Met* 1991;4:162-5
- Tanimoto** A, Oshio K, Suematsu M, et al. Relaxation effects of clustered particles. *J Magn Reson Imaging* 2001;14:72-7
- Tanner** MA, Galanello R, Dessi C, et al. A randomized, placebocontrolled, double-blind trial of the effect of combined therapy with deferoxamine and deferiprone on myocardial iron in thalassemia major using cardiovascular magnetic resonance. *Circulation* 2007;115:1876-84
- Techawiboonwong** A, Song HK, Magland JF, et al. Implications of pulse sequence in structural imaging of trabecular bone. *J Magn Reson Imaging* 2005;22:647-55
- Thakerngpol** K, Fucharoen S, Boonyaphipat P, et al. Liver injury due to iron overload in thalassemia: histopathologic and ultrastructural studies. *Biometals*. 1996;9:177-83
- Thalassemia International Federation (TIF)**. Guidelines for clinical management of thalassemia (ed. by Capellini N, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A & Prter J). 2006, TIF, Nicosia, Cyprus.
- Theochari** M, Ioannidou D, Nounopoulos H, et al. Ultrasonography of the pancreas, as a function index, in children with beta-thalassemia. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2000;13:303-6
- Thomsen** C, Wiggers P, Ring-Larsen H, et al. Identification of patients with hereditary haemochromatosis by magnetic resonance imaging and spectroscopic relaxation time measurements. *Magn Reson Imaging* 1992;10:867-9
- Tunaci** M, Tunaci A, Engin G, et al. Imaging features of thalassaemia, *Eur Radiol* 1999;9:1804-09



- Tyler PA**, Madani G, Chaudhuri R, et al. The radiological appearances of thalassaemia. *Clin Radiology* 2006;61:40-52
- Ueda F**, Takashima T, Suzuki M, et al. MR diagnosis of myelofibrosis. *Radiat Med* 1994;12:135-7
- Urbinati F**, Madigan C, Malik P. Pathophysiology and therapy for haemoglobinopathies. Part II: thalassaemias. *Expert Rev Mol Med*. 2006;8:1-26
- Valenti L**, Pulixi EA, Arosio P, et al. Relative contribution of iron genes, dysmetabolism and hepatitis C virus (HCV) in the pathogenesis of altered iron regulation in HCV chronic hepatitis. *Haematologica*. 2007;92:1037-42
- Villeneuve JP**, Bilodeau M, Lepage R, et al. Variability in hepatic iron concentration measurement from needle-biopsy specimens. *J Hepatol*. 1996;25:172-7
- Voskaridou E**, Douskou M, Terpos E, et al. Magnetic resonance imaging in the evaluation of iron overload in patients with beta thalassaemia and sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2004;126:736-42
- Voskaridou E**, Kyrtsolis MC, Terpos E, et al. Bone resorption is increased in young adults with thalassaemia major. *Br J Haematol*. 2001;112:36-41
- Voskaridou E**, Douskou M, Terpos E, et al. Magnetic resonance imaging in the evaluation of iron overload in patients with beta thalassaemia and sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2004;126:736-42
- Vymazal J**, Brooks RA, Zak O, et al. T1 and T2 of ferritin at different field strengths: effect on MRI. *Magn Reson Med*. 1992;27:368-74
- Vymazal J**, Urgosik D, Bulte JW. Differentiation between hemosiderin- and ferritin-bound brain iron using nuclear magnetic resonance and magnetic resonance imaging. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2000;46:835-42
- Vymazal J**, Zak O, Bulte JW, et al. T1 and T2 of ferritin solutions: effect of loading factor, *Mag Res Med* 1996;36:61-5
- Walker EM Jr**, Walker SM. Effects of iron overload on the immune system. *Ann Clin Lab Sci*. 2000;30:354-65
- Wallace DF**, Dooley JS, Walker AP. A novel mutation of *HFE* explains the classical phenotype of genetic hemochromatosis in a C282Y heterozygote. *Gastroenterology* 1999;116:1409-12
- Wanachiwanawin W**, Luengrojjanakul P, Sirangkapracha P, et al. Prevalence and clinical significance of hepatitis C virus infection in Thai patients with thalassaemia. *Int J Hematol*. 2003;78:374-8

- Weatherall** DJ, Clegg JB. The Thalassemia Syndromes. 4<sup>th</sup> ed. Blackwell Science, Oxford, 2001:273-8
- Westwood** MA, Anderson LJ, Firmin DN, et al. Interscanner reproducibility of cardiovascular magnetic resonance T2\* measurements of tissue iron in thalassemia. *J Magn Reson Imaging*. 2003;18:616-20
- Westwood** MA, Firmin DN, Gildo M, et al. Intercentre reproducibility of magnetic resonance T2\* measurements of myocardial iron in thalassaemia. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2005;21:531-8
- Williams** BA, Morris LL, Toogood IR, et al. Limb deformity and metaphyseal abnormalities in thalassaemia major. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1992;14:197-201
- Wixom** RL, Prutkin L, Munro HN. Hemosiderin: nature, formation, and significance. *Int Rev Exp Pathol*. 1980;22:193-225
- Wolfe** L, Olivieri N, Sallan D, et al. Prevention of cardiac disease by subcutaneous deferoxamine in patients with thalassemia major. *N Engl J Med*. 1985;312:1600-3
- Wood** JC, Tyszka JM, Carson S, et al. Myocardial iron loading in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease. *Blood* 2004;103:1934-6
- Wood** JC. Magnetic resonance imaging measurement of iron overload. *Curr Opin Hematol*. 2007;14:183-90
- Woods** S, De Marco T, Friedland M. Iron Metabolism, *Am J Gastroen* 1990;85:1-7
- Yoon** DY, Choi BI, Han JK, et al. MR findings of secondary hemochromatosis: transfusional vs erythropoietic. *J Comput Assist Tomogr* 1994;18:416-19
- Zahed** L, Mourad FH, Alameddine R, et al. Effect of oral iron chelation therapy with deferiprone (L1) on the psychosocial status of thalassaemia patients. *Haematologia (Budap)*. 2002;31:333-9