

DBA-STUDIENGRUPPE

Studienleitung: Frau Prof. Dr. C. Niemeyer
Adresse s.o.
Tel: 0761-270-4506
Fax: 0761-270-4518
email: dba@kikli.ukl.uni-freiburg.de

Vertreter: Prof. Dr. S. Eber
Universitäts-Kinderklinik
Steinwiesstr. 75
CH-8032 Zürich
Tel.: +411-266-7182 / 7111
Fax: +411-266-7171
email: Stefan.Eber@kispi.unizh.ch

Studienkoordinator: Dr. J. Meerpohl
Adresse s.o.
Tel: 0761-270-4544
Fax: 0761-270-4518
email: dba@kikli.ukl.uni-freiburg.de

Studienassistentin: Frau G. Schluh/ Frau T. Starkloff
Adresse s.o.
Tel: 0761-270-4544
Fax: 0761-270-4518
email: dba@kikli.ukl.uni-freiburg.de

STUDIENKOMMISSION

Prof. Dr. Ch. Bender-Götze, München
Dr. H. Cario, Ulm
Dr. C. Hasan, Bonn
Prof. Dr. G. Janka-Schaub, Hamburg
Dr. H.-J. Laws, Düsseldorf
Dr. B. Selle, Ludwigshafen
Dr. S. Shukry-Schulz, Wien
Dr. G. Strauß, Berlin
Dr. B. Rath, Münster

INHALTSVERZEICHNIS

1	ABKÜRZUNGEN	6
2	ZUSAMMENFASSUNG	7
3	GEGENWÄRTIGER KENNTNISSTAND	
3.1	Definition	8
3.2	Epidemiologie	9
3.3	Manifestation	10
3.3.1	Schwangerschaft / Geburt	
3.3.2	Familiäre Fälle	
3.3.3	Klinik	11
3.3.4	Fehlbildungen	13
3.4	Molekularer Defekt	14
3.5	Pathophysiologie	
3.6.	Laborbefunde	15
3.6.1	Peripheres Blut	
3.6.2	Erythrozyten	16
3.6.3	Knochenmark	
3.6.4	Sonstige Laborbefunde	17
3.6.5	Pränatale Diagnose	
3.7	Differentialdiagnosen	
3.8	Therapie	18
3.8.1	Erythrozyten-Transfusionen	
3.8.2	Pathophysiologie der Eisenüberladung	19
3.8.3	Therapie der Eisenüberladung mit Desferrioxamin	20
3.8.4	Nebenwirkungen der Therapie mit Desferrioxamin	22
3.8.5	Oral wirksame Chelatoren	23
3.8.6	Diagnose und Verlaufskontrolle bei Eisenüberladung	24
3.8.7	Steroide	26
3.8.8	Hochdosis-Methylprednisolon	27
3.8.9	Zytokine	28
3.8.10	Knochenmarktransplantation	
3.8.11	Andere Therapien	29
3.9	Prognose	
3.10	Malignome	30
4	ZIELSETZUNG DER STUDIE	31
4.1.	Primäre Studienziele	

4.2.	Sekundäre Studienziele	
5	STUDIEN-DESIGN	
6	PATIENTEN	32
7	DIAGNOSTIK BEI DIAGNOSESTELLUNG	33
7.1	Anamnese und körperliche Untersuchung	
7.2	Laboruntersuchungen	
7.2.1	Vor der ersten Transfusion	
7.2.2	Weitere Diagnostik bei Diagnosestellung	34
7.3	Information des Patienten	
8	THERAPIE	35
8.1	Erythrozyten-Transfusionen	
8.1.1	Vorgehen	
8.1.2	Eisenentzugstherapie	
8.2	Steroide	36
8.2.1	Erster Steroidversuch	
8.2.2	Langfristige Steroidbehandlung	37
8.2.3	Wiederholte Steroidversuche	38
8.2.4	Definitionen des Steroid-Ansprechens (Auswertung)	
8.3	Spontane Remission	
8.4	Knochenmarktransplantation	39
8.5	Andere Therapien	
8.5.1	Zytokine	
8.5.2	Weitere Therapieversuche	
8.5.3.	Behandlung von kleinwüchsigen Patienten mit Wachstumshormon	
8.6	Impfungen	40
8.7	Schwangerschaft	
9	VERLAUFSDIAGNOSTIK	
9.1	Jährl. Verlaufsdagnostik bei Steroidansprechen/spontaner Remission	
9.2	Untersuchung vor Beginn einer regelmäßigen Eisenentzugstherapie	41
9.3	Untersuchung während einer regelmäßigen Transfusions- / Eisenentzugstherapie	
9.3.1	Vor jeder Transfusion	
9.3.2	Alle 3 Monate zusätzlich	
9.3.3	Alle 6 Monate zusätzlich	

9.3.4 Alle 12 Monate zusätzlich	42
10 DOKUMENTATION / STATISTIK	
10.1 Einverständnis	
10.2 Datenerhebung	
10.3 Datenbank und statistische Auswertung	43
11 LITERATUR	44
12 ANHANG	61
Votum der Ethik-Kommission der Universitätsklinik Freiburg	
Einverständniserklärung	
1. zur Teilnahme an der Studie	
2. zur Verarbeitung personenbezogener Daten	
3. zur wissenschaftlichen Materialnutzung	
Material-Einsendebögen für Patient und Familienangehörige	
Erst- und Verlaufserhebungsbogen	
Erhebungsbogen zur Stammzelltransplantation	
Übersichtsblatt EK-Transfusion	
Wachstumskurven	
Information zur Leber-Eisen-Bestimmung am Hamburger SQUID	
Merkblatt der DBA Selbsthilfegruppe	

1 ABKÜRZUNGEN

ADA Adenosin-Desaminase

ALL	Akute lymphoblastische Leukämie
AML	Akute myeloblastische Leukämie
BFU-E	Burst forming units erythroid
CFU-E	Colony forming units erythroid
DBA	Diamond-Blackfan-Anämie
DFO	Desferrioxamin
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
EPO	Erythropoetin
ESPHI	European Society for Paediatric Haematology and Immunology
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
GPOH	Gesellschaft für pädiatrische Onkologie und Hämatologie
GvHD	Graft-versus-host-disease
HDMP	Hochdosis-Methylprednisolon
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen
IL-3	Interleukin-3
OPRT	Orotidin-Phosphoribosyl-Transferase
ODC	Orotidin-Decarboxylase
RPS19	Ribosomales Protein S 19
SCF	Stammzellularfaktor
TEC	Transitorische Erythroblastopenie des Kindesalters „transient erythrocytopenia of childhood“

2 ZUSAMMENFASSUNG

Die kongenitale hypoplastische Anämie (Diamond-Blackfan-Anämie, DBA) ist eine seltene angeborene hyporegeneratorische Knochenmarkserkrankung. Sie ist

gekennzeichnet durch das Fehlen oder die erhebliche Verminderung von Erythroblasten im Knochenmark und eine konsekutive aregeneratorische Anämie. Die Erkrankung manifestiert sich meist im ersten Lebensjahr. Sie tritt weltweit mit einer Inzidenz von etwa 5-7 pro 1 Million Lebendgeburten auf.

Die Erkrankung zeigt eine große Heterogenität. Ca. 40% der Patienten weisen Malformationen, besonders im Hals-Kopfbereich, auf. In den meisten Fällen tritt die DBA sporadisch auf, in 10 -15% der Fälle jedoch familiär gehäuft, wobei die meisten Verläufe mit einem autosomal-dominanten Erbgang mit unterschiedlicher Penetranz vereinbar sind. Für die Mehrzahl der familiären und 25% der sporadischen Erkrankungen konnten Mutationen in dem ribosomalen Protein S19 auf Chromosom 19q nachgewiesen werden.

Neben der Anämie und den möglichen assoziierten Malformationen sind bei der DBA folgende hämatologische, allerdings weder spezifische noch obligate Auffälligkeiten bekannt: Makrozytose der Erythrozyten, Erhöhung des Hämoglobin F, Erhöhung der erythrozytären Adenosin-Desaminase, Persistenz des erythrozytären i-Antigens. In-vitro-Kulturen mit erythrozytären Progenitoren zeigen unter Standardbedingungen sehr variable Ergebnisse. Meist ist die Kolonienzahl (BFU-E und CFU-E) aus erythroiden Progenitoren vermindert. Gelegentlich kann eine Normalisierung der Kolonienzahl mit höheren Zytokinkonzentrationen und in Kombination mit IL-3 und SCF erreicht werden. Das Wachstumsverhalten in der Progenitorkultur in vitro korreliert nicht mit dem klinischen Phänotyp oder dem Ansprechen auf die verschiedenen Therapiemodalitäten. In Suspensionskultur zeigen die ausreifenden erythroiden Zellen eine regelrechte Expression erythropoetischer Transkriptionsfaktoren. Der molekulare Mechanismus bei DBA bleibt weiterhin unbekannt.

Bei ca. 50-75% der Patienten kann durch eine Steroidtherapie mit anfänglich 2-4 mg/kg KG/d eine Transfusionsunabhängigkeit erreicht werden. In der Folge können die täglichen Steroiddosen dann meist langsam z.T. auf sehr geringe Dosen reduziert werden. Die Steroiddosen, die zur Aufrechterhaltung des Ansprechens notwendig sind, sind individuell sehr unterschiedlich. Die Steroidtherapie ist häufig gefolgt von Gewichtszunahme, Kleinwuchs, Entwicklungsverzögerung und Osteoporose. Steroidresistente Patienten bleiben im allgemeinen transfusionsabhängig. Wegen der transfusionsbedingten Entwicklung einer Hämochromatose bedürfen sie meist einer lebenslangen Chelattherapie. Spontane langanhaltende Remissionen sind jederzeit grundsätzlich möglich. Im Laufe der Jahre kann sich sowohl ein verbessertes Therapieansprechen wie auch eine Abnahme der Steroidempfindlichkeit entwickeln. Eine Alternative zur Transfusionstherapie mit Chelatbehandlung ist die allogene Stammzelltransplantation, wenn ein HLA-identen Geschwister zur Verfügung steht.

Behandlungsversuche mit Zytokinen waren insgesamt wenig erfolgreich. Während sich bei einer hochdosierten Erythropoietin-Therapie bei keinem Patienten eine Verbesserung der Transfusionsbedürftigkeit zeigte, lag das Ansprechen unter einer Interleukin-3-Therapie bei ca. 10%. Allerdings fanden sich unter IL-3-Behandlung erhebliche Nebenwirkungen, die zum Therapieabbruch führten.

Die Prognose der Krankheit hängt im wesentlichen vom Ansprechen oder Nichtansprechen auf Steroide ab. In der Gruppe von 38 transfusionsabhängigen Patienten des französischen DBA Registers waren 9 an Folgen der Hämochromatose und Hepatitis C verstorben. In einer amerikanischen unizentrischen Studie mit Langzeitbeobachtung lag die mediane Überlebenszeit der nach 1960 diagnostizierten Patienten bei 31 Jahren.

Die deutsche retrospektive Studie für Patienten mit DBA wurde im Rahmen der European Society for Paediatric Haematology and Immunology (ESPHI) in Anlehnung an das französische DBA-Register entwickelt. In der Analyse wurden zunächst Daten zu 70 Patienten aus 31 Zentren erhoben. Um einerseits die Therapie von Patienten mit DBA zu optimieren, und um andererseits therapiebedingte Nebenwirkungen zu begrenzen, soll das vorliegende Protokoll ein einheitliches Behandlungskonzept für die Therapie der DBA bei Kindern und Erwachsenen darstellen. Mit Hilfe dieser prospektiven Therapiestudie im Rahmen der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH) und der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) können Daten eines größeren Kollektivs von Patienten mit Hinblick auf die Effektivität und Nebenwirkungen der Behandlung ausgewertet werden.

3 GEGENWÄRTIGER KENNTNISSTAND

3.1 Definition

Die Diamond-Blackfan-Anämie (DBA) ist eine kongenitale hypoplastische Anämie mit isolierter Hypoplasie oder Aplasie der roten Zellreihe im Knochenmark. 1936 beschrieb Josephs erstmals 2 Patienten (JOSEPHS 1936), 1938 berichteten Diamond und Blackfan über 4 weitere Patienten (DIAMOND 1938). In der Literatur sind folgende weitere Bezeichnungen synonym gebräuchlich: „kongenitale hypoplastische Anämie“, „chronische kongenitale aregeneratorische Anämie“, „Erythrogenesis imperfecta“, „chronische idiopathische Erythroblastopenie mit aplastischer Anämie Typ Josephs-Diamond-Blackfan“, „constitutional pure red cell aplasia“. Da die DBA hinsichtlich der Assoziation mit weiteren morphologischen Fehlbildungen, der Klinik, des

Vererbungsmodus und des Ansprechens auf Steroide sehr heterogen ist, ist es möglicherweise sinnvoll, vom „Diamond-Blackfan-Syndrom“ zu sprechen, zumal die zugrundeliegenden molekularen Defekte wohl heterogen sind. Die DBA ist charakterisiert durch eine normochrome, makrozytäre Anämie mit Retikulozytopenie und Erhöhung des Hämoglobin F. Im normozellulären Knochenmark ist selektiv die Erythropoese meist deutlich verringert. Während bei Diagnosestellung die Myelo- und Thrombopoese in der Regel unauffällig sind, entwickeln einige Patienten im Verlauf ihrer Erkrankung eine Thrombozytopenie und Leukopenie. Die klinische Manifestation und Diagnosestellung der DBA erfolgt in etwa 90% der Fälle im 1. Lebensjahr. Assoziierte morphologische Fehlbildungen weisen ca. 40% der Patienten auf, besonders häufig im kraniofazialen Bereich. Während die meisten Fälle von Diamond-Blackfan-Anämie sporadisch auftreten, sind ca. 10% der Fälle familiär.

3.2 Epidemiologie

Nach bisherigen Literaturberichten liegt die Inzidenz der DBA bei 5 bis 7 Fällen pro 1 Million Lebendgeburten (KYNASTON 1993, BALL 1996, WILLIG UND NIEMEYER 1999). In der Literatur sind etwa 500 Patienten beschrieben worden. Nationale Erhebungen oder Register für Daten von Patienten mit DBA liegen in Großbritannien (KYNASTON 1993, BALL 1996), den Niederlanden (BRESTERS 1991), USA (VLACHOS 1994, JANOV 1996), Frankreich (WILLIG 1996, 1998) und Deutschland vor.

Das Alter der Patienten bei Diagnosestellung ist ein wichtiges diagnostisches Kriterium. Die Diagnose wird bei ca 10% der Patienten bei Geburt gestellt, bei 25% bis zum Alter von 1 Monat, bei 50% bis zum Alter von 2 Monaten, bei 75% bis zum Alter von 6 Monaten und bei 90% der Patienten im 1. Lebensjahr. 7% der Patienten werden im 2. Lebensjahr diagnostiziert. Das mediane Alter bei Diagnosestellung liegt bei 3 Monaten (WILLIG UND NIEMEYER 1999). Selten kommt es zur Erstmanifestation und Diagnose einer DBA im Erwachsenenalter (GRAY 1982, BALABAN 1985). Das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Patienten ist 1 zu 1,1. Männliche Patienten sind bei Diagnose etwas jünger. Die DBA kommt weltweit vor.

Während die Daten zur Inzidenz der DBA verlässlich sind, wird die Erkrankungsprävalenz unterschätzt, da die Mehrzahl der steroid- und transfusionsunabhängigen Patienten im Erwachsenenalter lost-to-follow-up ist. Der Einschluß von erwachsenen Patienten mit DBA in nationale Register ist im allgemeinen abhängig von „Rezidiven“, Geburt eines betroffenen Kindes und Malignomen. Systematische Untersuchungen zum Gesundheitszustand erwachsener Patienten mit DBA fehlen (BALABAN 1985).

3.3 Manifestation

3.3.1 Schwangerschaft / Geburt

In der Literatur ist in Einzelfällen eine Exposition von Müttern von Kindern mit DBA in der Schwangerschaft gegenüber Röntgenstrahlung und verschiedenen Medikamenten (Stilbestrol, Chlorothioazid, Reserpin, Schilddrüsenhormone, Prednison, Phenylbutazon, Chloramphenicol, Anagyrin) erwähnt worden. Weiter gibt es Einzelfallberichte über Risikoschwangerschaften durch Gestose, Exanthem, vorzeitige Plazentalösung, Plazentainfarkt, Blutung und positive Syphilis-Serologie. Die vorhandenen Daten lassen statistische Aussagen nicht zu. Fehl- und Totgeburten scheinen anamnestisch im Zusammenhang mit DBA gehäuft aufzutreten.

Frühgeburlichkeit (Geburt vor der vollendeten 38. Schwangerschaftswoche) tritt bei ca. 20% der DBA Fälle auf (WILLIG UND NIEMEYER 1999). Eine intrauterine Wachstumsverzögerung (IUGR) ist deutlich mit einer DBA assoziiert. Kinder mit DBA werden in etwa 25% der Fälle mit einem Geburtsgewicht unter 2500 g (low birth weight) und einer Länge bei Geburt unter 45 cm geboren (WILLIG UND NIEMEYER 1999).

3.3.2 Familiäre Fälle

Etwa 10-15% der Fälle von DBA sind familiär mit Auftreten der Erkrankung bei mindestens 2 Familienmitgliedern, häufig auch über 2 bis 3 Generationen. Meist handelt es sich um einen autosomal dominanten Erbgang. In einigen Fällen mit offensichtlich autosomal rezessivem Vererbungsmuster lag Konsanguinität vor (MADANAT 1994). Inwieweit andere rezessive Erbgänge einem dominanten Vererbungsmuster mit verminderter Penetranz entsprechen, muß offen bleiben. Der dominante Erbgang kann mit deutlich erhöhtem Hämoglobin F und Makrozytose bei den Carriern sowie einer im Vergleich zum Gesamtkollektiv milderen Klinik mit weniger Fehlbildungen bei den betroffenen Patienten (GOJIC 1994, SPLAIN 1992, DIAMOND 1961, KRIVIT 1978, VISKOCHIL 1990, HURST 1991, ALTMAN 1983, FALTER 1972) einhergehen. Andere Autoren fanden jedoch keine Unterschiede in Klinik oder Verlauf zwischen familiären und sporadischen DBA Erkrankungen (WILLIG UND NIEMEYER 1999). Auch Zwillinge mit DBA sind beschrieben (BELLO 1983, WATERKOTTE 1974). Angaben zur Molekulargenetik finden sich unter Abschnitt 3.4.

3.3.3 Klinik

Die Patienten fallen erstmals durch die Symptome der Anämie wie Blässe, Lethargie, Irritabilität und Herzinsuffizienz auf. Ikterus infolge einer gleichzeitig bestehenden Rh- oder ABO-Inkompatibilität ist selten. In Zusammenhang hiermit wurde eine prolongierte

Anämie oder das Auftreten einer persistierenden fetalen Erythropoese beobachtet (FREEDMAN 1985). Ein Hydrops fetalis als Erstmanifestation einer DBA ist selten (SCIMECA 1988, ROGERS 1997). Berichtet wurde in Einzelfällen über Erkrankungen, die der Manifestation einer DBA vorangingen, wie Diarrhoe, Atemwegsinfektion, Harnwegsinfekt, Masern, Mumps und Reaktion auf eine Windpockenimpfung.

3.3.4 Fehlbildungen

Bei etwa 40% der Patienten treten mit der Erkrankung assoziierte morphologische Fehlbildungen auf, 24% der Patienten haben mehr als eine Fehlbildung (Tabelle 1) (WILLIG UND NIEMEYER 1999). Die Anwesenheit von Fehlbildungen ist assoziiert mit positiver Familienanamnese, Kleinwuchs bei Diagnose und einem dem Gestationsalter entsprechendem Geburtsgewicht (WILLIG UND NIEMEYER 1999).

Am häufigsten sind Kopf und Gesicht von Fehlbildungen betroffen. Ein typisches „Diamond-Blackfan-Anämie-Gesicht“ wurde beschrieben (CATHIE 1950); zumindest fallen eine antimongoloide Lidstellung und schmale mandelförmige Lidspalten bei vielen Patienten auf. Eine Lippen-Kiefer-Gaumenspalte liegt in ca. 3% der Fälle vor, weiter wurden Mikrognathie, Mikrozephalie, Makrozephalie, Makroglossie, weite Fontanelle, Gesichtsdysmorphien und TREACHER-COLLINS-Syndrom (HASAN 1993) beschrieben. In ca. 8% der Fälle ist die obere Extremität betroffen, hier überwiegend in Form von radialen Dysplasien. In der Literatur wurde unter der Bezeichnung AASE-Syndrom eine häufige Assoziation der DBA mit triphalangealem Daumen beschrieben (YETGIN 1994, D'AVANZO 1994, ALTER 1978, HING 1993). Daumenfehlbildungen sind insgesamt sehr viel seltener als bei der differentialdiagnostisch abzugrenzenden FANCONI-Anämie. Andere Fehlbildungen betreffen Augen [Hypertelorismus, Glaukom (YOUNG 1992), Katarakt, Strabismus, Mikrophthalmie (MINIERO 1996), blaue Skleren, Epikanthus], Nieren [Agenesie, Doppelnieren, Hufeisennieren], Hypogonadismus [bei 5% der männlichen Patienten], die untere Extremität [Hüftdysplasie (RAMAVAT 1978), Klumpfuß], und das Herz [Herzfehler wie VSD, ASD]. Auch eine zerebrale Retardierung ist bei Patienten mit DBA häufiger als in der Normalbevölkerung. Das Auftreten von Fehlbildungen gibt zwar diagnostische Hinweise, ist aber nicht mit der Ausprägung der Anämie oder dem Ansprechen auf unterschiedliche Therapieformen korreliert.

Auffällig ist eine Assoziation der DBA mit einer Wachstumsretardierung mit einer Körperlänge unterhalb der 10. Perzentile, unabhängig von einer Steroidtherapie. Eine Endgröße von -2 SD wurde bei ca. 50% der DBA Patienten, die das Erwachsenenalter erreichten, beobachtet (WILLIG UND NIEMEYER 1999). Verschiedene Kleinwuchssyndrome [Achondroplasie, Cartilage hair-Hypoplasie, Dysostose, KLIPPEL-FEIL-Syndrom (GREENSPAN 1991), SPRENGEL-Deformität, TURNER-ähnliches Bild] sind bei

Patienten mit DBA beschrieben worden. Bei einigen Patienten konnte ein Wachstumshormonmangel gefunden werden (BECKER 1991), Ergebnisse von Therapiestudien mit Wachstumshormon liegen noch nicht vor.

Fehlbildung	Zahl der Patienten	Prävalenz (%)	Fehlbildung	Zahl der Patienten	Prävalenz (%)
Kopf	47	20,5	Urogenital	15	6,5
Mikrozephalie	5		Dysplasie	1	
Makrozephalie	0		Agenesie	2	
Kieferspalte	8		Hufeisenniere	2	
Mikroretrognathie	6		Duplikation	1	
Lippenspalte			Hydronephrose	0	
Makroglossie	0		Hypospadie	4	
Hoher Gaumen	9		Hypogonadismus	0	

Platte Nase	8		Andere	7	
Tiefsitzende Ohren	7				
Ohrenverformung	7		Herz	16	6,9
Piebaldismus	1		VSD	5	
Pierre Robin Syn.	3		ASD	2	
Andere	13		Aortenstenose	2	
			Andere	9	
Augen	27	11,8			
Hypertelorismus	14		Knochen	20	8,7
Epikanthus	13		Scoliose	2	
Ptosis	3		Skapulaabspreizungg	2	
Strabismus	0		Myelomeningozele	3	
Blaue Skleren	1		Wirbelkörperdefekte	5	
Kongen. Katarakt	2		Andere	12	
Mikroophthalmie	0				
Kongen. Glaukom	1		Verschiedenes	17	7,4
Andere	2		Geistige Retardierung	3	
Hals	8	3,5	Asplenie	0	
Kurzer Hals	7		Café au lait Flecken	4	
Webbed Neck	4		Andere	11	
Andere	1				
Daumen	21	9,2	Mindestens 1	93	40,6
Triphalangeal	8				
Dupliziert	1				
Subluxation	1				
Tiefer Ansatz	3				
Hypoplasie	1				
Andere	11				

Tabelle 1: Fehlbildungen bei 229 Patienten mit DBA (WILLIG UND NIEMEYER 1999)

3.4 Molekularer Defekt

Durch Linkage-Analysen bei Patienten mit familiärer DBA wurde ein möglicher Gen-Locus auf Chromosom 19q13 identifiziert (GUSTAVSSON 1997) und nachfolgend kloniert (DRAPTCHINSKAIA 1999). Das hierbei betroffene Genprodukt ist das ribosomale Protein RPS19. Bei der Mehrzahl der familiären Erkrankungen und 25% der Patienten mit sporadischer DBA konnten Mutationen im RPS19-Gen nachgewiesen werden (DRAPTCHINSKAIA 1999, WILLIG 1999). Diese Veränderungen im RPS19-Gen sind nonsense - und missense-Mutationen sowie Mutationen, die mit Änderungen im Leserahmen oder Spleißdefekten einhergehen. Eine Korrelation zwischen der Art der Mutation und der klinischen Expression der DBA besteht nicht. Welche Rolle das RPS19 Genprodukt in der Pathogenese der Erkrankung bzw. in der Erythropoese spielt, ist noch unklar. Die Tatsache, daß bei 75% der Patienten mit DBA eine Mutation in RSP19 nicht nachweisbar war, unterstützt die Hypothese, daß es sich bei der DBA vermutlich um eine Erkrankung mit mehreren Ursachen handelt.

3.5 Pathophysiologie

Der Nachweis von humoralen oder zellulären Inhibitoren der Erythropoese bei DBA aus sehr frühen experimentellen Untersuchungen ließ sich in der Folge nicht bestätigen (ORTEGA 1975, GELLER 1975, FREEDMAN 1976, 1978, STEINBERG 1979, HOFFMAN 1976, FINLAY 1982, NATHAN 1978A, 1978B, 1979, KOJIMA 1988, SAWADA 1985, CORNAGLIA-FERRARIS 1981, ZANJANI 1980). Die inhibitorischen Effekte ließen sich teilweise auf die multiplen Transfusionen der Patienten zurückführen, teilweise waren sie unter anderen Kulturbedingungen nicht mehr nachweisbar. Auch ein Stromazellschaden im Sinne einer Störung des Microenvironments wurde vermutet (ERSHLER 1980).

Heute besteht Einigkeit darüber, daß ein intrinsischer Defekt der erythrozytären Progenitorzelle ursächlich für die Erkrankung ist. CFU-E und BFU-E zeigen in vitro unter Stimulation mit Erythropoetin (EPO) ein vermindertes Koloniewachstum (NATHAN 1978, FREEDMAN 1976, LIPTON 1986, TSAI 1989, SIEFF 1992 UND 1993, CASADEVALL 1994). Steroide können das Ansprechen der Progenitoren auf EPO in vitro verbessern (NATHAN 1978A, KALMANTI 1993, CHAN 1982). Der EPO-Rezeptor selbst ist regelrecht (DIANZANI 1996), EPO- Serumkonzentrationen sind in vivo typischerweise auch bei normalen Hämoglobinkonzentrationen deutlich erhöht (NIEMEYER 1991).

Zugabe von Interleukin-3 (IL-3) und GM-CSF zu EPO bewirkt im Progenitorassay von den meisten DBA-Patienten wie auch von hämatopoetisch Gesunden eine deutliche Zunahme von Zahl und Größe erythropoetischer Kolonien (HALPERIN 1989, BASTION 1995, FREEDMAN 1993, SIEFF 1992, SIEFF 1993). Ebenso wie für IL-3 liegen auch die Serumkonzentrationen für Stammzellefaktor (SCF) bei DBA Patienten im Normbereich.

SCF in vitro verbessert das Kulturwachstum noch einmal deutlich (McGUCKIN 1995, CASADEVALL 1994, OLIVIERI 1991, ABKOWITZ 1991, BAGNARA 1991, ALTER 1992). Sowohl SCF wie auch sein Ligand c-kit sind bei DBA strukturell und funktionell normal (ABKOWITZ 1992, OLIVIERI 1991, DRACHTMAN 1992, SPRITZ 1993). Entsprechend dem Ansprechen der Progenitoren auf EPO, IL-3 und SCF in vitro wurden 3 Typen der DBA beschrieben, welche möglicherweise unterschiedliche pathogenetische Mechanismen repräsentieren (McGUCKIN 1995, McGUCKIN 1996). Auch IL-9 kann in Kombination mit anderen Zytokinen erythropoetische DBA Progenitoren differenzieren und proliferieren lassen, spielt aber in der Pathogenese der Erkrankung keine Rolle (DIANZANI 1997).

Während der erythropoetischen Differenzierung in Suspensionskulturen ist die Expression der wesentlichen Transkriptionsfaktoren der roten Reihe, wie GATA 1 und NFE-1, regelrecht (RATH 1996). Auch die Expression des basischen helix-loop-helix (bHLH) Proteins SCL in DBA ist normal, andere bHLH Proteine scheinen aber defekt zu sein (ZHANG 1997). Arbeiten zur Apoptose zeigen, daß die Apoptose der erythropoetischen Progenitoren begünstigt ist (PERDAHL 1994, HASEGAWA 1998).

3.6 Laborbefunde

3.6.1 Peripheres Blut

Die Hämoglobin-Konzentrationen bei DBA bei Geburt liegen zwischen 2,6 und 14,8 (Median 7) g/dl, bei Diagnose zwischen 1,5 und 10 (Median 4) g/dl. Eine Makrozytose ist fast immer vorhanden, sie ist jedoch nicht spezifisch für DBA. Nicht-transfusionsabhängige Patienten sind im Verlauf in ca. 60% der Fälle makrozytär (WILLIG UND NIEMEYER 1999). Die Retikulozytenzahl ist häufig bei 0%. Morphologisch fallen im Blutaussstrich Makrozyten, Anisozytose, Poikilozytose und seltener auch Tränentropfen-Formen auf (HALPERIN 1989). Die Leukozytenzahlen sind normal, mit zunehmendem Alter jedoch häufig niedriger. Bei 20% der Patienten sind Leukozytenzahlen unter 5.000/ μ l, bei 5% unter 3000/ μ l zu irgendeinem Zeitpunkt festzustellen. Sehr selten entwickelt sich eine echte Neutropenie (SCHOFIELD 1991). Thrombozytopenien unter 150.000/ μ l finden sich zu irgendeinem Zeitpunkt bei 25 % der Patienten. Leuko- und Thrombozytopenien werden am ehesten nach multiplen Transfusionen beobachtet, Leukozytenzahlen im unteren Normbereich jedoch auch bei steroidsensiblen Patienten gefunden. Demgegenüber zeigen sich Thrombozytosen mit Werten über 400.000/ μ l häufig bei Diagnosestellung (BUCHANAN 1981). Die Thrombozyten-Funktion ist normal.

3.6.2 Erythrozyten

Typisch, jedoch ebenfalls nicht spezifisch für DBA, ist das "fetale Erscheinungsbild" der

Erythrozyten (ALTER 1979, BLEIBER 1983). Dieses persistiert auch bei Remissionen und ist typisch für eine Stress-Erythropoese, wie sie auch bei anderen Erkrankungen mit Knochenmarkversagen vorkommt (LINK 1981). Das fetale Erscheinungsbild bei DBA ist einmal charakterisiert durch eine Erhöhung des Hämoglobin F, elektrophoretisch auf 5 bis 10%, und die fetale Zusammensetzung des Hb F ($^G\gamma/^A\gamma$ mehr als 60:40), wobei das Hb F in den Erythrozyten typischerweise heterogen, nicht klonal, verteilt ist. Zum anderen persistiert das fetale i-Antigen, das normalerweise nach dem ersten Lebensjahr auf der Erythrozytenoberfläche nicht mehr nachweisbar ist. Das adulte I-Antigen wird normal exprimiert.

Eine besondere Bedeutung kommt den erythrozytären Enzymen des Nukleotid-Stoffwechsels, und hier besonders der Adenosin-Desaminase (ADA), zu. ADA ist ein Schlüsselenzym des Purinstoffwechsels. Es ist bei 40% der Patienten mit DBA ohne Altersabhängigkeit erhöht. Eine Erhöhung der ADA ist relativ spezifisch für DBA, tritt jedoch auch bei Leukämien und hämolytischen Anämien auf (GLADER 1988). Im Rahmen einer fetalen Erythropoese tritt eine erhöhte ADA-Konzentration nicht auf. Auch bei Kindern mit transitorischer Erythroblastopenie im Kindesalter (TEC) ist die ADA stets normal, so daß sich eine Möglichkeit zur Differentialdiagnose ergibt. Die ADA kann interessanterweise auch bei nichtbetroffenen Verwandten von DBA Patienten erhöht sein und könnte auf eine subklinische Verlaufsform von DBA hindeuten (GLADER 1983, GLADER 1988, WHITEHOUSE 1986, WHITEHOUSE 1984, WILLIG 1999). Auch die Enzyme OPRT und Orotidin-Decarboxylase (ODC), die Teil des Pyrimidin-Stoffwechsels sind, wurden bei DBA-Patienten in Einzelfällen erhöht gemessen. Dieses Phänomen ist aber typisch für die fetale Erythropoese und bei Diamond-Blackfan-Anämie seltener als die ADA-Erhöhung (ZIELKE 1979, GLADER 1986).

3.6.3 Knochenmark

Die Knochenmarkuntersuchung durch Aspiration ist der entscheidende diagnostische Schritt bei der Diagnosestellung. Zellularität, Myelopoese und Megakaryozyten sind normal. Dysplastische Veränderungen sind nicht vorhanden. In 90% der Fälle liegt eine Hypoplasie oder vollständige Aplasie der Erythropoese vor. Es finden sich nur wenige Proerythroblasten und noch weniger oder gar keine reiferen Vorstufen. In je 5% der Fälle sieht man eine Normoplasie oder sogar Hyperplasie mit normaler Zahl an Erythroblasten und nachfolgendem Reifungsstop im Sinne einer ineffektiven Erythropoese (BERNARD 1962). Bei jahrelang transfundierten Patienten läßt sich die Hämosiderose im Knochenmark und oft auch eine erhöhte Lymphozytenzahl nachweisen.

3.6.4 Sonstige Laborbefunde

Die Konzentration an Erythropoietin im Serum ist deutlich erhöht, in einigen Studien mehr als aufgrund der Anämie zu erwarten wäre (HAMMOND 1968, NIEMEYER 1991). Antikörper gegen EPO lassen sich nicht nachweisen. Eisen, Ferritin, Folsäure und Vitamin B₁₂ sind jeweils erhöht. Berichte über einen veränderten Tryptophan-Metabolismus (PRICE 1970, SZABO 1976) haben sich nicht bestätigt. Gelegentlich treten eine Hypokalzämie und eine Hypogammaglobulinämie auf. Die Zahl der T-Zellen im Blut ist oft vermindert, ebenso das Verhältnis T-Helfer- zu T-Suppressor-Zellen. Die T-Zell-Funktion ist normal (FINLAY 1982). In der Eisenkinetik zeigt sich erwartungsgemäß eine verzögerte Plasma-Clearance. Die Erythrozyten-Überlebenszeit ist leicht verkürzt, das Haptoglobin niedrig normal. Diese Befunde deuten auf eine zusätzliche leichte Hämolyse hin. Der direkte Coombs-Test ist aber normal, es lassen sich keine Autoantikörper gegen Erythrozyten nachweisen. Alloantikörper können hingegen infolge multipler Transfusionen auftreten.

Die Beobachtung eines Kindes mit Diamond Blackfan Anämie mit einer de novo balancierten reziproken Translokation t(X;19) führte zu Linkageanalysen mit Identifikation des Genortes RPS19 (siehe 3.4). In der Literatur wird auch über 4 Fälle mit Veränderungen am Chromosom 1 (HEYN 1974) und Chromosom 16 berichtet. In der Regel sind die Chromosomen jedoch strukturell normal und zeigen keine vermehrte Brüchigkeit (ALTER 1989). Allerdings sind auch DBA-Patienten mit erhöhter Chromosomenbrüchigkeit beschrieben (ISKANDAR 1980, VAN DIEMEN 1997).

3.6.5 Pränatale Diagnose

Eine etablierte Methode zur pränatalen Diagnose liegt bisher nicht vor. Eine fetale Doppler-Echokardiographie bei fetaler Herzinsuffizienz wurde versucht und hat die Diagnose einer DBA beim Feten ermöglicht (VISSER 1988). Auch die Bestimmung der Adenosin-Desaminase und die Bestimmung der BFU-E im fetalen Blut (MCLENNAN 1996) wurde diskutiert. In Zukunft werden vermutlich Mutationsanalysen möglich sein, sobald die Rolle der Veränderungen im RPS19-Gen besser eingeordnet werden können.

3.7 Differentialdiagnosen

Differentialdiagnostisch kommen eine chronische Parvovirus B19-Infektion, eine FANCONI-Anämie (FA), eine transitorische Erythroblastopenie im Kindesalter (TEC) und weitere aplastische Anämien in Frage. Die Infektion mit Parvovirus B19 läßt sich durch negative Parvovirus-PCR im Knochenmark ausschließen. Eine mögliche Rolle des Parvovirus in der Pathogenese und insbesondere in der Induktion von Rückfällen nach

erfolgreicher Steroidtherapie (TCHERNIA 1993) ist noch unklar. Die Fanconi-Anämie wird durch erhöhte Chromosomenbrüchigkeit diagnostiziert. Eine transitorische Erythroblastopenie im Kindesalter hat im Gegensatz zur DBA einen späteren Altersgipfel und ist durch die vollständige Rückbildung der Anämie nach 3 Monaten definiert. In Einzelfällen kann diese Erythroblastopenie aber durchaus mit einer DBA mit schneller Remission, insbesondere unter Steroidtherapie, zu verwechseln sein. Zur Abgrenzung kommt die erythrozytäre Adenosin-Desaminase in Frage, die bei 40% der Patienten mit DBA erhöht ist (GLADER 1983). Die Zeichen der fetalen Erythropoese (erhöhtes HbF, Makrozytose) können auch im Rückbildungsstadium einer transitorischen Erythroblastopenie auftreten.

3.8 Therapie

3.8.1 Erythrozyten-Transfusionen

Transfusionen werden gegeben mit dem Ziel, das Hämoglobin über 8 g/dl zu halten, um ein ausreichendes Gedeihen der Kinder zu ermöglichen. Es werden etwa alle 3-6 Wochen 10-15 ml/kg KG Erythrozyten-Konzentrat gegeben, möglichst leukozytendepletiert (ALTER 1998).

Als Langzeitproblem stellt sich insbesondere die Hämosiderose der Leber, endokriner Organe und des Myokards ein, die klinisch als Diabetes mellitus, Herzinsuffizienz, Leberfibrose, Wachstumsretardierung und verzögerte Pubertät in Erscheinung tritt. Eine Hämosiderose ist die Todesursache bei 20% der Patienten mit DBA. Als Therapie kommt z. Zt. nur die konsequente Chelattherapie mit subkutanen Dauerinfusionen von Desferrioxamin oder bei Non-Compliance in Einzelfällen mit dem oralen Chelator Deferiprone (L_1) in Frage. Die Behandlung sollte bei Vorliegen chelierbarer Eisen-Pools begonnen werden.

Die Infektionsgefahr bei dauerhafter Transfusionsbehandlung betrifft insbesondere Hepatitis B- und C-Virus sowie HIV. Das Risiko einer HIV-Infektion durch ein Erythrozytenkonzentrat liegt bei etwa 1 zu 10^6 . Alle Kinder mit DBA sollten gegen Hepatitis B geimpft werden. Als weiteres Langzeitproblem ist die Alloimmunisierung zu nennen, deren Risiko durch die konsequente Testung auch seltenerer Blutgruppen-Antigene zu vermindern ist. Es sollten daraus resultierend möglichst untergruppengleiche Erythrozytenkonzentrate transfundiert werden.

3.8.2 Pathophysiologie der Eisenüberladung

250 ml Erythrozytenkonzentrat enthalten etwa 200 bis 250 mg Eisen, das zunächst im retikuloendothelialen System (RES) als Ferritin- und Hämosiderineisen abgelagert wird und dort akkumuliert. Erst nach massiver Eisenüberladung des RES kommt es zur Parenchymsiderose. Das RES speichert in Makrophagen Eisen, das aus dem Abbau von Erythrozyten stammt. Dieses Eisen wird an Apoferritin gebunden und als Ferritin und sein lysosomales Abbauprodukt Hämosiderin abgelagert und ist dadurch relativ unschädlich. Parenchymzellen, vor allem die der Leber, nehmen dagegen Eisen aus dem Blut auf, wo es an Transferrin gebunden ist. Die begrenzte Kapazität der Parenchymzellen in Leber, Herzmuskel und endokrinen Organen zur Ferritinsynthese und Hämosiderinspeicherung ist die Ursache für die in diesen Organen durch Eisen hervorgerufenen Schäden (GUTTERIDGE 1989). Sobald die intrazellulären Speicherproteine und die Transportproteine für Eisen im Blutkreislauf gesättigt sind, steigt der Anteil an freiem, nicht an Transferrin gebundenem Eisen (Non-Transferrin-bound-Iron, NTBI) (JACOBS 1980). Dieser niedermolekulare Eisen-Pool stellt die für die Zellen toxische Fraktion dar (WANG 1986). Freies Eisen katalysiert über die FENTON-Reaktion die Bildung von Sauerstoff- und Hydroxylradikalen, die in der Folge zu Lipidperoxidationen und so zur Schädigung von Zellmembranen führen (FOSBURG 1990, GUTTERIDGE 1989).

Die Organsiderose manifestiert sich in der Leber, am Herzen und in endokrinen Organen, wobei die einzelnen Organe aufgrund ihrer unterschiedlichen Speicherfähigkeit bei sehr verschiedenen Eisenkonzentrationen geschädigt werden und mit Funktionsausfällen und histologischem Umbau reagieren (MODELL 1975). Die Leber hat von allen Organen die höchste Kapazität zur siderosomalen Eisenspeicherung (FOSBURG 1990). Durch Eisen induzierte Schäden führen zu Hepatomegalie, Leberfibrose und Leberzirrhose. Häufig kommt noch eine durch Erythrozytenkonzentrate übertragene chronische Hepatitis B oder C hinzu (ALTER 1984, MASERA 1980).

Im Gegensatz zur Leber ist das Myokard nur sehr begrenzt zur Eisenspeicherung fähig. Die Folgen der eisenbedingten Kardiomyopathie, Herzinsuffizienz und Arrhythmien, stellen die häufigste Todesursache bei Hämosiderose-Patienten dar (ZURLO 1989), obwohl das Ausmaß der kardialen Eisenüberladung mit der klinischen Symptomatik nicht korreliert (FITCHETT 1980). Da niedermolekulares Eisen anscheinend vor allem die Mitochondrien schädigt, könnte sich dies wegen des hohen Mitochondriengehaltes besonders am Herzen nachteilig auswirken (MODELL 1975). Auch bei fehlender klinischer Symptomatik läßt sich bei einem Großteil der Patienten, abhängig von der

Zahl der erhaltenen Transfusionen, eine Kardiomyopathie mit verminderter linksventrikulärer Ejektionsfraktion frühzeitig durch Szintigraphie nachweisen (ALDOURI 1990). Die Methode der Wahl zur Diagnose einer Herzleistungsstörung und einer Hypertrophie und Dilatation des Herzens bei Eisenüberladung ist wegen der Strahlenbelastung der Szintigraphie jedoch die Echokardiographie (HENRY 1979).

Bei der Mehrzahl der Siderose-Patienten sind Wachstum und sexuelle Reifung nachhaltig gestört (BRONSPIEGEL-WEINTROB 1990). Während die Kinder unter dem Transfusionsregime zunächst bis zum etwa 10. Lebensjahr ausreichend wachsen, macht sich danach die Wachstumsstörung, deren Ursachen weitgehend unbekannt sind, bemerkbar (MAURER 1988). Die fehlende sexuelle Reifung geht vor allem auf eine Schädigung der Hypophyse zurück und läßt sich in einigen Fällen erfolgreich mit Gonadotropin-releasing-Hormon behandeln (WANG 1989).

Bei vielen Patienten läßt sich lange Zeit vor Auftreten eines manifesten Diabetes mellitus bereits eine verminderte Glukosetoleranz nachweisen (ZUPPINGER 1979, MERKEL 1988). Als weitere endokrinologische Veränderungen können Hypothyreose und Hypoparathyreoidismus auftreten.

3.8.3 Therapie der Eisenüberladung mit Desferrioxamin

Die bisher einzige etablierte Therapie der sekundären Hämosiderose besteht in der parenteralen Zufuhr von Desferrioxamin (DFO; Handelsname Desferal^R) in einer Dosis von etwa 40-50 mg/kg KG/d. Das Medikament ist ein natürliches Siderophor aus *Streptomyces pillosus* mit sehr hoher Spezifität für Eisen (KEBERLE 1964), das den labilen intrazellulären Eisen-Pool cheliiert (HERSHKO 1979). DFO wird enteral nur minimal absorbiert und hat im Blut eine Halbwertszeit von 5 bis 10 Minuten nach intravenöser Applikation. Eisen aus Leberzellen wird durch DFO als Ferrioxamin über die Galle ausgeschieden. Diese Fraktion stellt bis zu 60% der Gesamtausscheidung dar (CUMMING 1969, KRÜGER 1984) und läßt sich durch Dosissteigerung noch erhöhen (PIPPARD 1982). Der restliche Anteil an cheliiertem Eisen wird renal ausgeschieden.

Da das nicht an Transferrin gebundene Eisen die toxischen Wirkungen bedingt, muß dieser freie Eisen-Pool durch die Therapie dauerhaft niedrig gehalten werden, um Organschäden zu vermeiden (WANG 1986). Nach anfänglichen Versuchen eine negative Eisenbilanz durch tägliche intramuskuläre Injektionen (MODELL 1974, SEPHTON-SMITH 1962) oder kontinuierliche intravenöse Infusionen zu erreichen, wurde Mitte der 70er Jahre die subkutane Dauerinfusion mittels tragbarer Pumpen eingeführt (PROPPER 1977). Nachfolgend stellte sich heraus, daß mehr als 80 % der ganztägigen DFO-induzierten Eisenausscheidung auch durch eine 12-stündige nächtliche Infusion erreicht werden kann, die für die Patienten deutlich akzeptabler ist als die Infusion über

24 Stunden (PIPPARD 1978). Durch die tägliche subkutane DFO-Therapie kann eine negative Eisenbilanz erreicht werden. Eine alleinige intravenöse Gabe von DFO mit den Erythrozytentransfusionen, etwa zur Vermeidung der täglichen Belastung der Kinder durch die DFO-Pumpe, reicht hierzu nicht aus (MODELL 1974). Mit zunehmender Therapiedauer nimmt die bei täglicher DFO-Therapie im Urin ausgeschiedene Eisenmenge ab (JANKA 1985). Der Behandlungserfolg kann mit Hilfe der atomabsorptionsspektrometrischen Bestimmung der Eisenausscheidung im Urin kontrolliert werden. Auf diese Weise können Phasen positiver Eisenbilanz nachgewiesen und die DFO-Dosis der Bilanz angepaßt werden, um bereits eingetretenen Organminderfunktionen entgegenzuwirken (ARNOLD 1978, JANKA 1981). Jedoch ist die Sammlung von Urin über 24 Stunden durch den Patienten selbst, besonders bei Kindern, mit großen Fehlern belastet (OLIVIERI 1997).

DFO verbessert durch Prävention oder Verzögerung eiseninduzierter Organschäden bei adäquater Therapie die Lebenserwartung von Siderose-Patienten (BRITTENHAM 1994, EHLERS 1991, MODELL 1982, OLIVIERI 1994, ZURLO 1989). Dies geht besonders auf die Verhinderung oder Besserung kardialer Manifestationen der Häm siderose unter frühzeitiger Chelattherapie bei ausreichender Compliance der Patienten zurück (BRITTENHAM 1994, EHLERS 1991, OLIVIERI 1990, OLIVIERI 1994, WOLFE 1985). Eine bereits bestehende subklinische Herzinsuffizienz kann durch eine intensivier te DFO-Therapie gebessert werden (ALDOURI 1990, KANZ 1986). Der frühzeitige Beginn der Therapie ist entscheidend. So kann es zu einer normalen sexuellen Entwicklung nur bei Therapiebeginn vor der Pubertät kommen (BRONSPIEGEL-WEINTROB 1990). Auch Leberzellschäden können unter DFO immerhin in ihrem Ausmaß begrenzt werden, zu einer Regeneration kommt es jedoch nur selten (BARRY 1974). Die eisenbedingte Leberfibrose bildet sich frühzeitig schon bis zum dritten Lebensjahr aus (MAURER 1988). In diesem Alter wird eine Chelattherapie meist begonnen, da genügend mobilisierbares Eisen durch Transfusionen zugeführt wurde, so daß das Transferrin gesättigt ist (FOSBURG 1990). Auf eine verminderte Glukosetoleranz und einen Diabetes mellitus hat die konsequente DFO-Behandlung ebenfalls protektiven Einfluß (BRITTENHAM 1994, FOSBURG 1990). Der durch Eisen verursachte Wachstumsrückstand beginnt etwa mit zehn Jahren, ist jedoch selbst dann nicht aufzuhalten, wenn die DFO-Therapie schon mit sechs Jahren begonnen wird (MAURER 1988). Ob sich die Lebenserwartung der Patienten weiter verlängert, die schon vor ihrem fünften Lebensjahr mit DFO behandelt worden sind, ist noch unbewiesen, da diese Patienten erst jetzt die dritte Lebensdekade erreichen (EHLERS 1991).

Die Wirkung von DFO kann durch die zusätzliche Gabe von Vitamin C erhöht werden (HUSSAIN 1977), da reduzierende Substanzen den Übergang von Eisen aus der

dreiwertigen in die zweiwertige und damit aus der an Ferritin gebundenen in die freie, chelierbare Form erleichtern (O'BRIEN 1974). Es ist aber von einer plötzlichen Verschlechterung der Herzfunktion durch hohe Dosen von Ascorbinsäure (500 mg) bei Patienten mit Eisenüberladung berichtet worden (HENRY 1979, NIENHUIS 1981). Dies ist möglicherweise auf die Freisetzung großer Mengen toxischen freien Eisens zurückzuführen, das besonders empfindliche Organe mit geringer Speicherkapazität angreift, oder auf eine direkte, verstärkende Wirkung auf die eiseninduzierte Lipidperoxidation. Trotzdem ist die tägliche Gabe geringerer Dosen (100 mg) von Vitamin C inzwischen etablierter Bestandteil der DFO-Therapie (OLIVIERI 1997, PIPPARD 1983), da Siderose-Patienten häufig einen Vitamin-C-Mangel aufweisen und nur so eine maximale Eisenausscheidung erzielt werden kann (O'BRIEN 1974).

3.8.4 Nebenwirkungen der Therapie mit Desferrioxamin

Die Nebenwirkungen von DFO bestehen vor allem aus Rötung, Schmerzen, Juckreiz und Hautverhärtungen an der Injektionsstelle. Wichtig zur Vorbeugung der Lokalreaktionen ist der tägliche Wechsel der Injektionsstellen und die richtige Platzierung der Nadel tief subkutan. Die gleichzeitige Gabe von 1 bis 2 mg Prednisolon mit der DFO-Dosis mindert die Beschwerden in einigen Fällen (FOSBURG 1990). Auch kommt eine stärkere Verdünnung der DFO-Lösung oder eine Verlängerung der Infusionszeit in Frage. Allergieähnliche akute Unverträglichkeitsreaktionen wurden bei rascher intravenöser Gabe beschrieben (FOSBURG 1990) und echte DFO-Allergien selten bei subkutanen DFO-Infusionen beobachtet. Als Sofortmaßnahmen können intravenös Volumen (z.B. 20 ml/kg KG NaCl 0,9% über 30 min.) sowie ein Antihistaminikum (z.B. Fenistil^R 0,1 mg/kg KG) gegeben werden.

Eine hochdosierte und den Eisenspeichern nicht angepaßte DFO-Therapie kann zu einer Innenohr-Schwerhörigkeit im Hochtonbereich und zu neurotoxischen Schäden am Auge führen (OLIVIERI 1986). Zur frühzeitigen Erkennung dieser Nebenwirkungen sind Audiometrie und augenärztliche Untersuchungen 4 bis 6-monatlich zu empfehlen. Bei Anzeichen eines Hörverlusts im Hochtonbereich muß DFO ausgesetzt und das Hörvermögen wöchentlich kontrolliert werden. Bei Normalisierung des Hörvermögens, spätestens jedoch nach 4 Wochen, wird die DFO-Therapie in niedrigerer Dosis fortgesetzt. Sehstörungen sind erheblich seltener. Bei pathologischen ophthalmologischen Befunden ist wie bei der o.a. Hörstörung zu verfahren. Visus, Farbsehvermögen, Perimetrie und Fundus müssen nach Absetzen von DFO wöchentlich kontrolliert werden. Nach 4 Wochen ist die DFO-Therapie in modifizierter Form fortzusetzen. An weiteren Nebenwirkungen wurden Urtikaria, Exantheme, Verminderung der Diurese, Leber- und Nierenfunktionsstörungen, Blutbildveränderungen, Katarakt, kardiovaskuläre und neurologische Störungen,

Muskelschmerzen und -krämpfe beschrieben.

DFO kann Wachstumsverzögerungen bei Kindern unter 3 Jahren und mit im Vergleich zur Dosis sehr niedrigen Eisenspeichern verursachen, die mit charakteristischen radiologischen Knochenveränderungen einhergehen und möglicherweise auf einem durch DFO verursachten Zinkmangel oder einer Eisenverarmung eisenhaltiger Enzyme beruhen (DEVIRGILIIS 1988). Patienten unter DFO sind zudem überdurchschnittlich häufig von Infektionen mit *Yersinia enterocolitica* bedroht, da diese Bakterienart DFO für den eigenen Eisenstoffwechsel nutzen kann (CHIU 1986, GALLANT 1986). Unter hochdosierter intravenöser Therapie sind Krämpfe und Koma, sowie die Entwicklung einer Schocklunge (FREEDMAN 1990) beobachtet worden.

Das größte Problem der DFO-Therapie ist jedoch die Unzuverlässigkeit besonders Jugendlicher und Erwachsener bei der Durchführung der Therapie, da diese unangenehm und schmerzhaft ist und aufgrund der Hautreaktionen, der lebenslangen Dauer und des Aufwandes als belastend und sozial behindernd empfunden wird.

3.8.5 Oral wirksame Chelatoren

Um die Compliance der Patienten zu verbessern, die toxischen Nebenwirkungen von DFO zu umgehen und die Anwendbarkeit der Therapie durch niedrigere Kosten weltweit zu erleichtern, ist seit Jahrzehnten nach oral wirksamen Chelatoren gesucht worden (BRITTENHAM 1992), KONTOGHORGES 1991). Vielversprechend sind die synthetischen Hydroxypyridone, vor allem das 1982 in London patentierte 1,2-Dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one (L1, Deferiprone). Es erwies sich jedoch in Tierversuchen an nicht eisenüberladenen Mäusen und Affen als sehr toxisch (BERGERON 1992, PORTER 1991). Dennoch ist L1 in zahlreichen Zentren bei über 600 Patienten eingesetzt worden (AGARWAL 1992, AL-REFAIE 1992, BARTLETT 1990, KONTOGHORGES 1990, OLIVIERI 1990, TÖNDURY 1990); es hat sich als effektiver Eisenchelator herausgestellt, der eine bleibende Abnahme der Eisenspeicher in der Leber bewirkt (OLIVIERI 1995). Im Tierversuch (BERGERON 1992) und bei Patienten besitzt L1 gegenüber DFO eine geringere Effektivität, wobei durch eine Dosis von 75 mg L1/kg KG etwa die gleiche Menge Eisen ausgeschieden wird wie durch 30-40 mg DFO/kg KG (BRITTENHAM 1992, OLIVIERI 1990). L1 wird im Magen resorbiert, hat eine Halbwertszeit von bis zu 2 Stunden und wird als inaktives Glukuronid hauptsächlich über die Niere ausgeschieden, ein noch unbekannter Anteil jedoch über die Galle (BRITTENHAM 1992).

Neuere Untersuchungen zeigen allerdings, daß die durch die Siderose hervorgerufene Leberfibrose durch L1 langfristig verstärkt wird. Auch konnten neuere Daten nach Langzeitbehandlung mit L1 keinen nachhaltigen Effekt auf die Eisenausscheidung

zeigen (OLIVIERI 1998). Daher sollte L1 nur in seltenen Fällen bei extremer Incompliance oder Allergie gegen DFO eingesetzt werden.

Nebenwirkungen von L1 umfassen außer Zinkmangel und reversiblen Leberenzymveränderungen vor allem eine noch unklare Arthropathie mit Muskel- und Skelettschmerzen (AGARWAL 1992, AL-REFAIE 1992, BARTLETT 1990, BERKOVITCH 1994) sowie in einigen Fällen eine Agranulozytose bei Dosen über 100 mg/kg/d, die nach Absetzen des Medikamentes rückläufig war (AL-REFAIE 1992, BARTLETT 1990, HOFFBRAND 1989, ALTER 1990). Daher wird das Medikament bevorzugt bei Patienten eingesetzt, die eine DFO-Therapie nicht durchführen können oder wollen (OLIVIERI 1995). L1 inhibiert außerdem die DNA-Synthese, was an Lymphozyten gezeigt werden konnte (PATTANAPANYASAT 1992) und hat in Tierversuchen eine embryotoxische und teratogene Wirkung.

3.8.6 Diagnose und Verlaufskontrolle bei Eisenüberladung

Für die Diagnose und die Verlaufskontrolle einer sekundären Eisenüberladung kommen verschiedene invasive und nicht-invasive Methoden zur Messung der Eisenspeicher in Betracht, die sich in ihrer Zuverlässigkeit, ihrem Aufwand und ihrem Risiko für den Patienten unterscheiden.

Die Ferritinkonzentration im Serum wird im klinischen Alltag routinemäßig zur Diagnose einer Eisenüberladung eingesetzt. Es konnte gezeigt werden, daß das Serumferritin die Größe der Eisenspeicher reflektiert (JACOBS 1972). Der Ferritinspiegel wird außer von der Eisenüberladung im Gewebe durch das Ausmaß einer bereits bestehenden eiseninduzierten Zellschädigung beeinflusst (CAZZOLA 1983), zusätzlich aber auch durch Infektionen und Entzündungen sowie besonders durch Hepatitis, Leberzellschäden, Leberzirrhose und Vitamin-C-Mangel (ALDOURI 1987, BRITTENHAM 1993, CHAPMAN 1982, DEVIRGILIIS 1980). Alle diese Bedingungen sind bei Siderose-Patienten in vielen Fällen gegeben. Nur ein Teil der Änderungen in der Serumkonzentration des Ferritins geht auf quantitative Änderungen der Eisenspeicher zurück, so daß Ferritin als Verlaufsparemeter und zur Einstellung einer Eisenentzugstherapie bei Hämosiderose in den meisten Fällen ungeeignet scheint (BRITTENHAM 1993, DEVIRGILIIS 1980).

Da die Lebereisenkonzentration den Körpereisenstatus zu repräsentieren scheint (BONKOVSKY 1990), werden Methoden, die invasiv oder nicht-invasiv das Lebereisen messen, zur Quantifizierung der Gesamteisenspeicher herangezogen. Die Standardmethode zur genauen quantitativen Bestimmung ist die Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) in der Leberbiopsie (ALDOURI 1987, BARRY 1971, MASERA 1980). Als Screening-Methode und zu Verlaufskontrollen bei pädiatrischen

Patienten ist die Messung der Lebereisenkonzentration über die Leberbiopsie aufwendig und riskant; meist sind ein stationärer Aufenthalt und eine Vollnarkose notwendig. Auch kann Eisen innerhalb des Lebergewebes inhomogen verteilt sein und so bei kleinen Gewebemengen zu falschen Ergebnissen führen (GOMORI 1991, SONAKUL 1988). Die Leberbiopsie hat ihre Bedeutung eher in der histologischen Diagnostik einer Fibrose oder Zirrhose infolge der Eisenüberladung.

Die Entwicklung einfacher, schneller und dabei zuverlässiger und präziser Verfahren zur Bestimmung der Eisenspeicher in der Leber war daher von großem Vorteil. Bisher wurden nicht-invasive Verfahren wie Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT) und die biomagnetische Suszeptometrie zu diesem Zweck eingesetzt. CT-Messungen zeigen, besonders bei niedrigeren Eisenkonzentrationen, eine schlechte Korrelation mit chemischen Eisenmessungen aus Leberbiopsien und hängen wie das Serumferritin in der Zuverlässigkeit vom Ausmaß einer Leberfibrose oder -zirrhose ab (BONKOVSKY 1990, HOUANG 1979). Auch die Strahlenbelastung spricht gegen den wiederholten routinemäßigen Einsatz. Die Magnetresonanztomographie korreliert bis etwa 4 mg Eisen/g Leber gut mit chemischen Eisenmessungen, jedoch kann die Methode aus technischen Gründen nicht über diesen Bereich hinaus verwendet werden (ENGELHARDT 1991, GOMORI 1991, KALTWASSER 1990). Für den klinischen Alltag ist sie außerdem zu aufwendig und für Kinder durch die Dauer der Untersuchung nicht geeignet. Regelmäßige MRT-Eisenmessungen der Hypophyse und des Herzens werden in einigen Zentren jedoch angewandt, um zumindest semiquantitativ Änderungen in der Eisenüberladung dieser Organe unter der Chelattherapie beurteilen zu können (OLIVIERI 1998).

Die Messung der Lebereisenkonzentration durch biomagnetische Suszeptometrie mit einem SQUID-Biomagnetometer ist 1982 erstmals an Patienten angewandt (BRITTENHAM 1982) und seitdem für Routinemessungen verbessert worden (BRITTENHAM 1989, FISCHER 1992, HARTMANN 1990, PAULSON 1989). In Deutschland sind Messungen durch Biomagnetometrie nur am Universitätsklinikum Hamburg möglich. Messungen der Lebereisenkonzentration am Hamburger Biomagnetometer sollten jährlich ab etwa dem 4. Lebensjahr durchgeführt werden.

3.8.7 Steroide

Etwa 2/3 der Patienten mit DBA zeigen initial unter Gabe von Steroiden ein Ansprechen mit Anstieg des Hämoglobins innerhalb von 3 bis 4 Wochen. In der Folge kann die Steroidtherapie meist reduziert werden. Patienten, bei denen die Steroiddosis im Verlauf nicht reduzierbar ist oder die sich durch sekundäres Versagen auszeichnen, müssen ebenso wie die primären Steroidversager einem Transfusionsprogramm mit

anschließender Chelattherapie zugeführt werden (ALTER 1998). Steroide wurden zur Behandlung einer DBA zunächst unter dem Verdacht eingesetzt, es könne eine Autoimmunerkrankung vorliegen. (GASSER 1949, HILL 1951, ALLEN 1961). Der Wirkungsmechanismus ist bis heute unbekannt. Anscheinend verstärken Kortikosteroide die Sensibilität der defekten Progenitoren gegenüber hämatopoetischen Wachstumsfaktoren, und zwar auf der Ebene der BFU-E und CFU-E (CHAN 1982). In der Vergangenheit wurde ein möglichst früher Steroid-Versuch kurz nach Diagnosestellung favorisiert (ALLEN 1961). Ein Erfolg kann jedoch auch nach vielen Jahren Transfusionsbehandlung auftreten. Heute scheint sich ein Konsens zu entwickeln, im ersten Lebensjahr zunächst alle Patienten zu transfundieren, um erhebliche Wachstumsstörungen zu vermeiden.

Als Steroidpräparate werden Prednison und Prednisolon eingesetzt. Zunächst wird mit einer Dosis von 2 mg/kg KG/d begonnen, wobei die Einnahme in einer Einzeldosis wohl ausreicht. Ein erster Retikulozytenanstieg stellt sich meist nach 1-2 Wochen ein, ein Anstieg des Hämoglobins innerhalb eines Monats. Es wird dann die Anfangsdosis zunächst rasch auf 1 mg/kg KG gesenkt, oft gelingt auch die weitere Reduktion auf 0,5 mg/kgKG rasch. Eine weitere Reduktion hat bei Ansprechen sehr langsam über Wochen oder Monate zu erfolgen, bis eine individuelle Minimaldosierung gefunden ist. Die Patienten zeigen eine bemerkenswerte Empfindlichkeit selbst auf geringste Steroiddosen und Dosisänderungen. Ob langfristig eine alternierende anstatt der täglichen Gabe mit weniger Nebenwirkungen einhergeht, ist noch ungeklärt (ALTER 1998). Die langfristig maximal tolerable Prednisondosis wird allgemein mit 0,5 mg/kgKG angegeben. Bei höheren Steroiddosierungen sollte auf ein Transfusionsprogramm umgestellt werden.

Verschiedene Formen des Ansprechen sind bekannt: schnelles Ansprechen mit vollständiger „Remission“ (d.h. die Steroide können nach Ausschleichen abgesetzt werden) bei weniger als 5% der Fälle, intermittierendes Ansprechen bei weniger als 5%, dauerhafte Steroid-Abhängigkeit bei 60% (von diesen Patienten können 20% später steroidunabhängig werden), Steroid-Abhängigkeit mit späterem Versagen bei 5%, Steroid-Abhängigkeit von sehr hohen Dosen bei weniger als 5% (diese Patienten sollten dann Transfusionen wegen der steroidbedingten Nebenwirkungen erhalten) und fehlendes Ansprechen bei 30 bis 40%. Die Mehrzahl der Patienten bleibt also steroidabhängig. Die erwähnte spontane Remission tritt insgesamt bei 15-20% aller Patienten im Laufe des Lebens auf und ist grundsätzlich auch nach jahrelanger Behandlung zu jedem Zeitpunkt möglich.

Die steroidbedingten Nebenwirkungen sind die Wachstumsretardierung bei über 50%

der Patienten sowie das Cushing-Syndrom mit Osteoporose, Gewichtszunahme, Hypertonie, Diabetes mellitus, Ulkus, Flüssigkeitsretention, Cushing-Gesicht, Katarakt und Glaukom. Ob die Wachstumsverzögerung mit Wachstumshormon behandelbar ist, müssen Studien bei DBA-Patienten zeigen.

3.8.8 Hochdosis-Methylprednisolon

Für Patienten mit Steroidresistenz wurden erfolgreiche Behandlungsergebnisse mit hochdosiertem intravenösen Methylprednisolon (HDMP) beschrieben. Özsoylu behandelte 10 steroidresistente Patienten mit HDMP und berichtet, daß 9 der 10 Patienten langfristig transfusionsunabhängig wurden (ÖZSOYLU 1984, 1987, 1988). Ein Patient verstarb zwei Monate nach Behandlungsende infolge einer viralen Infektion. Buchanan hat 8 transfusionsabhängige Patienten mit HDMP behandelt (BERNINI 1995). Während des ersten Teils der Studie konnte mit einer Methylprednisolondosis von 30 mg/kg KG/d kein anhaltender positiver Effekt erzielt werden. Mit einer Dosis von 100 mg/kg KG/d zeigten 3 Patienten ein vollständiges Ansprechen mit persistierender Transfusionsunabhängigkeit. Diese Patienten zeigten nach 2-3 Behandlungswochen einen Hämoglobinanstieg, nach 7-9 Wochen hatte sich der Hämoglobinwert normalisiert. Kritisch ist anzumerken, daß die Patienten, die in der Studie von Buchanan auf HDMP ansprachen, alle jünger als 2 Jahre waren und das Intervall zwischen Diagnose und Therapie sehr kurz war. In der laufenden multizentrischen internationalen Studie hat bisher keiner der 8 Patienten langfristig auf die Hochdosis-Methylprednisolon Behandlung angesprochen.

Die Wirkungsweise von HDMP ist ebenso unbekannt wie der Wirkungsmechanismus der konventionellen Steroidtherapie. Die Bioverfügbarkeit und die pharmakokinetischen Parameter der Steroide sind intravenös und oral vergleichbar. Özsoylu hat über den erfolgreichen Behandlungsversuch eines Patienten mit HDMP per os berichtet (ÖZSOYLU 1994). Die Toxizität der Therapie ist vor allem durch einen massiven Cushing, Hepatopathie, psychische Veränderungen und Osteoporose erheblich, so daß in dieser Studie ein Behandlungsversuch von Seiten der Studienleitung nicht empfohlen wird.

3.8.9 Zytokine

Da die DBA eine hypoplastische Knochenmarkerkrankung darstellt, wurde auch der Effekt von Zytokinen in vivo getestet. Auch auf höchste Dosen rekombinanten Erythropoetins (rhEPO) zeigte unter 10 Patienten kein Patient ein Ansprechen (NIEMEYER 1991, FIORILLO 1991). Auf eine Behandlung mit GM-CSF zeigte von 6 Patienten ebenfalls keiner ein Ansprechen (DUNBAR 1991). Interleukin 3 zeigt in vitro eine deutliche Stimulation der BFU-E aus DBA-Knochenmark. Von den 60 Patienten, die in Phase II-/Phase III-Studien mit IL-3 behandelt wurden, zeigten 9 eine dauerhafte

Verbesserung der Anämie (DUNBAR 1991, GILLIO 1993, BASTION 1994, OLIVIERI 1994, KRŠNIK 1994, BALL 1995). Bei einigen Patienten persistierte der Erfolg auch nach Absetzen von IL-3. Als hauptsächliche Nebenwirkungen traten eine ausgeprägte Eosinophilie und tiefe Venenthrombosen auf. Das Ansprechen auf IL-3 in vitro korreliert nicht mit dem Ansprechen auf die Therapie in vivo (GILLIO 1993). IL-3 kann vermutlich eine noch vorhandene signifikante Rest-Erythropoese im Mark zur Ausreifung bringen.

3.8.10 Knochenmarktransplantation

Die allogene Knochenmarktransplantation von HLA-identen Familienspendern steht bisher als einzige kurative Therapieform zur Verfügung. In der Literatur wird aus verschiedenen Zentren über eine Überlebensrate von 19 von 29 Patienten berichtet (SAUNDERS 1993, GREINIX 1993, MUGISHIMA 1995, ZINTL 1991, WIKTOR-JEDRZEJCZAK 1987, IRIONDO 1984, AUGUST 1976, NIEMEYER 1998), das Alter der Patienten lag zwischen 1 und 31 Jahren.

In Deutschland wurden bisher 9 Patienten mit DBA transplantiert (NIEMEYER 1998). Das Alter bei Diagnose betrug 0 bis 34 Monate. Alle 9 Patienten hatten auf die Steroidtherapie nicht dauerhaft ansprechen. 8 Patienten hatten regelmäßige Transfusionen über einen Zeitraum von mehr als 1,3 Jahre erhalten, zum Teil mit Chelattherapie. Bei 3 Patienten waren auch andere Therapieversuche durchgeführt worden. Das Alter bei Transplantation von HLA-identen Geschwisterspendern lag bei 1,3 bis 12,8 Jahren. Die Konditionierung erfolgte in allen Fällen mit Busulfan und ohne Ganzkörperbestrahlung. Die Regeneration einschließlich der roten Reihe war bei allen 9 Patienten prompt und vollständig. Eine akute Graft-versus-host-disease (GvHD) Grad II, die schnell zu beherrschen war, zeigte 1 Patient. 1 weiterer Patient entwickelte eine moderate chronische GvHD. Alle Patienten sind 0,4 bis 5,7 Jahre nach der Transplantation ohne Rezidiv der DBA am Leben.

Nach diesen ermutigenden deutschen Daten kann sich für Patienten, die infolge Nicht-Ansprechens auf Steroide mit regelmäßigen Transfusionen behandelt werden müssen oder nur auf hohe Steroiddosen ansprechen, eine Indikation zur Transplantation ergeben, wenn ein HLA-identer Familien-Spender zur Verfügung steht. Da 10 bis 15% der Patienten mit DBA aber spontane Remissionen zeigen, ist die Entscheidung zur Transplantation nicht einfach. Die Transplantation sollte möglichst früh noch vor Ausprägung der Organsiderose durchgeführt werden. Zur Konditionierung wird eine Behandlung mit Busulfan 4 mg/kgKG/Tag für 4 Tage, Cyclophosphamid 60 mg/kgKg/Tag für 2 Tage und ATG empfohlen. Die GvHD-Prophylaxe kann durch Cyclosporin A und short-course-Methotrexat erreicht werden.

Als Todesursachen nach KMT wird über GvHD und Infektionen berichtet (LEE 1995). In jüngster Zeit sind auch Versuche mit Nabelschnur-Blut-Transplantationen von Geschwisterkindern unternommen worden (MORIMOTO 1997, VETTENRANTA 1997, BONNO 1997).

3.8.11 Andere Therapien

Eine Reihe weiterer Substanzen wurden versuchsweise in Einzelfällen zur Behandlung der DBA eingesetzt. Auf Androgene haben 3 von 50 Patienten angesprochen, in vitro-Versuche waren ebenfalls in Einzelfällen erfolgreich (CLAUSTRES 1986, KLINOWSKA 1976). Auch das Testosteronderivat Danazol ist eingesetzt worden (GOMEZ-ALMAGUER 1993). Immunglobuline waren ebenfalls nur in Einzelfällen erfolgreich (SUMIMOTO 1992, BEJAOUI 1993, MONTESERIN 1993, MICELI SOPO 1990). Auch die Plasmapherese ist versucht worden (COLOMBINO 1987), ebenso wie hochdosierte Vitamine. Verschiedene Zytostatika wie Vincristin, Cyclosporin A in Kombination mit Prednison (SPLAIN 1992, MADANAT 1994, MCGUCKIN 1995, BEJAOUI 1993, MONTESERIN 1993, LEONARD 1989, SEIP 1988), 6-Mercaptopurin und Cyclophosphamid, auch in Kombination mit Anti-Thymozyten-Globulin (MARMONT 1978, MARMONT 1985) waren nicht erfolgreich.

Eine Splenektomie ist nur bei Hypersplenismus sinnvoll. Nach dem Eingriff besteht ein hohes Risiko für Infektionen durch Pneumokokken und Meningokokken.

Die meisten dieser Therapievorstellungen beruhen auf dem Konzept der Immunsuppression und beziehen sich auf in vitro-Untersuchungen, in denen lösliche und zelluläre Inhibitoren nachweisbar waren.

3.9 Prognose

Die Lebenserwartung von Patienten mit DBA liegt im Median bei 42 Jahren, wobei die in den letzten 5 Jahren gemeldeten Fälle infolge der verbesserten Steroidtherapie bereits eine prospektive Lebenserwartung von 54 Jahren aufweisen (ALTER 1998). Die Lebenserwartung wird negativ entscheidend von der Hämosiderose als Folge regelmäßiger Transfusionen, und positiv vom Ansprechen auf die Steroidbehandlung beeinflusst. Patienten, die auf Steroide ansprechen und solche mit spontaner „Remission“, haben die höchste Lebenserwartung. Das Geschlecht, das Auftreten von Malformationen und der Vererbungsmodus spielen in der Prognose nur eine untergeordnete Rolle. Als Todesursachen bei Patienten mit DBA sind die Folgen der Eisenüberladung, Sepsis, Pneumonie, Leukämie und Komplikationen im Rahmen einer Knochenmarktransplantation zu nennen (ALTER 1998). Während einer Schwangerschaft kommt es zu einer Zunahme der Anämie, wahrscheinlich unter hormonellem Einfluß auf die Erythropoese (RIJHSINGHANI 1994). Schwangerschaften sind bei DBA-Patienten zunehmend häufiger.

3.10 Malignome

Besondere Bedeutung kommt der erhöhten Inzidenz von Malignomen bei Patienten mit DBA zu. Bei 2% der in der Literatur aufgeführten DBA-Fälle wurde eine akute Leukämie beschrieben, davon 1 ALL (D'OELSCHNITZ 1975) und 4 AML (WASSER 1978, KRISHNAN 1978, BASSO 1981, MORI 1992, JANOV 1996). Weiter sind 4 myelodysplastische Syndrome aufgetreten (GLADER 1990). Die prospektive Wahrscheinlichkeit, mit 30-40 Jahren eine AML zu entwickeln, soll bei 23% liegen (JANOV 1996). Ferner ist über Einzelfälle von 1 Leberzellkarzinom infolge Hämochromatose (STEINHERZ 1976), 1 Mammakarzinom (GREINIX 1993) und andere solide Tumoren wie 2 Hodgkin-Lymphome, 1 Non-Hodgkin-Lymphom, 1 Magenkarzinom, 1 Osteosarkom, 1 vaginales Melanom, 1 Lungenkarzinom und 1 Histiozytom (JANOV 1996, HAUPT 1996, VAN DIJKEN 1995, AQUINO 1996, SEIP 1994, TURCOTTE 1994) berichtet worden. Nur in seltenen Ausnahmefällen geht eine DBA in eine aplastische Anämie über, so im Rahmen der Hämochromatose oder einer Sepsis.

4 ZIELSETZUNG DER STUDIE

4.1. Primäre Studienziele

- Erfassung aller in Deutschland lebenden Patienten mit DBA. Retrospektive Erhebung von Daten zu bisher durchgeführter Diagnostik, Therapie und aufgetretenen therapiebedingten Komplikationen. Prospektive Erfassung von Daten zu Verlaufsdagnostik, laufender Therapie und Krankheitsverlauf.
- Anwendung der vorliegenden Richtlinien zur Therapie. Hierdurch Optimierung von Diagnostik und Therapie, Verbesserung der Lebensqualität und Langzeit-Prognose von Patienten mit DBA. Prüfung dieser Empfehlungen hinsichtlich Therapieeffizienz.

4.2 Sekundäre Studienziele

- Molekulargenetische Analysen zur Identifizierung der zugrundeliegenden genetischen Defekte.
- Genotyp-Phänotyp-Studien zur Pathophysiologie der Erkrankung DBA.
- Identifizierung von Patienten mit DBA, die für Studien mit experimentellen Therapieansätzen in Frage kommen. Hierzu werden jeweils gesonderte Therapieprotokolle erstellt.
- Unterstützung des Patienten-Netzwerkes „DBA-Gemeinschaft“ und Information der betroffenen Familien über Diagnostik und Therapie.

5 STUDIEN-DESIGN

Multizentrische, prospektive, nicht-randomisierte Studie der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH) und der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) in Kooperation mit der Working Group on DBA der European Society for Paediatric Haematology and Immunology (ESPHI).

Die Verantwortung für die durchgeführte Diagnostik und Therapie liegt bei den betreuenden Ärzten. Die Studienleitung verschickt Fragebögen zur Ersterhebung und jährlichen Verlaufserhebung. Ihr obliegt die Sammlung, Erfassung und statistische Auswertung der Daten. Sie kann diagnostische Maßnahmen koordinieren und steht für Rückfragen zu allen Teilbereichen der Studie zur Verfügung.

6 PATIENTEN

Studienpatienten sind alle der Studienleitung gemeldeten Patienten (Kinder und Erwachsene) mit gesicherter Diagnose DBA sofern die Einwilligung des Patienten zur Teilnahme an der Studie und zur Datenverarbeitung vorliegt. Für die Diagnose DBA müssen folgende Kriterien erfüllt sein:

- Diagnose bis zur Vollendung des 2. Lebensjahres. Die Diagnose bei Patienten über 2 Jahre ist möglich, wenn ein Familienmitglied an DBA erkrankt ist oder typische Fehlbildungen vorliegen.
- Retikulozytopenie
- Keine oder stark verminderte Erythropoese im Knochenmark (vorübergehende kurze Phasen eines spontanen Anstiegs der Retikulozytenzahl im Blut und der Erythroblasten im Knochenmark werden akzeptiert).

Zusätzliche Kriterien sind:

- Makrozytose der Erythrozyten
- Erhöhte Adenosin-Desaminase (ADA) im Erythrozyten
- Erhöhtes Hämoglobin F
- Persistierendes i-Antigen

Diese zusätzlichen Kriterien spielen insbesondere eine Rolle bei Familienuntersuchungen in Zusammenhang mit genetischen Studien. Der Kleihauer-Test (heterogene zelluläre HbF-Verteilung) und in vitro-Studien sind für pathophysiologische Studien von Interesse, haben als diagnostische Kriterien aber bisher keinen eindeutigen Stellenwert.

7 DIAGNOSTIK BEI DIAGNOSESTELLUNG

7.1 Anamnese und körperliche Untersuchung

Bei der Anamneseerhebung sollte besonders geachtet werden auf:

- Besondere Einflüsse während der Schwangerschaft (Rauchen, Drogen, Alkohol, Medikamente, fieberhafte Erkrankungen)
- Geburtsanamnese (Geburtsgewicht, Länge, Kopfumfang, Gestationsalter, Geburtsmodus, Kindslage, Hämoglobin, Hämatokrit und Retikulozyten bei Geburt)
- Familienanamnese (Anzahl der Geschwister, Anzahl mütterlicher Aborte, weitere Fälle von DBA in der Familie, Blutsverwandtschaft der Eltern, Körperlänge der Eltern)
- Erste Symptome, Datum der Diagnose, Gewicht, Länge und Kopfumfang bei Diagnose, Anzahl bereits erhaltener Transfusionen bei Diagnose

Bei der körperlichen Untersuchung sollte auf assoziierte Fehlbildungen geachtet werden (siehe Erhebungsbogen). Wichtig ist die Erfassung von Gewicht, Länge und Kopfumfang.

7.2 Laboruntersuchungen

7.2.1 Vor der ersten Transfusion

Folgende Blutuntersuchungen sollen obligat vor der ersten Erythrozyten-Transfusion durchgeführt werden:

- Blutbild mit Differentialblutbild und Retikulozytenzahl
- Hämoglobin-Elektrophorese zur Bestimmung des HbF
- erythrozytäre Adenosin-Desaminase (ADA) (Verschickung an das Labor in Freiburg oder Zürich, siehe Einsendeschein). Die Bestimmung der ADA sollte wenn möglich auch bei nahen Verwandten des Patienten (Eltern, Geschwister) durchgeführt werden.
- Blutgruppe mit Untergruppen und Antikörpersuchtest
- Serologie für Hepatitis B (mit Ag und Ak HBs, HBc, Hbe), Hepatitis C (mit PCR wenn Serologie positiv), CMV und HIV

Die folgenden Untersuchungen sind optional:

- HbF-Zellen im Blutaussstrich
- fetales i-Antigen
- Erythropoetin-Spiegel im peripheren Blut

7.2.2 Weitere Diagnostik bei Diagnosestellung

Neben den unter 7.2.1. genannten Untersuchungen ist folgende Diagnostik obligat:

- Elektrolyte, Kreatinin, CRP, GPT, GOT, γ GT, Cholinesterase, Blutzucker, Eisen, Transferrin, Ferritin, Immunglobuline IgG, IgM, IgA.
- Verschickung von heparinisierem Blut an Labor in Freiburg oder Zürich für Molekulargenetik (siehe Einsendeformular). Wenn möglich auch Blut von Familienmitgliedern (Eltern, Geschwister)
- Knochenmarkaspirat (eventuell auch Biopsie) für:
 - Morphologie
 - Chromosomenanalyse (Metaphasenanalyse, FISH für Monosomie 7 und Trisomie 8)
 - Parvovirus-PCR
 - Verschickung von heparinisierem Knochenmark an das Hämatologische Forschungslabor in Freiburg (siehe Einsendeformular)
- Röntgen-Thorax, Sonographie Gehirn, Herz und Abdomen, EKG (Ausschluß Fehlbildungen)

Wenn ein Steroidversuch mit > 5 mg/kg KG/d geplant ist:

- Chromosomenbrüchigkeit (Ausschluß einer Fanconi-Anämie)

7.3 Information des Patienten

Nach Sicherung der Diagnose ist mit den Eltern/dem Patienten ein ausführliches Gespräch über Art der Erkrankung, Therapieoptionen und Prognose zu führen. Auch sollte auf die Existenz des deutschen Patienten-Netzwerkes (DBA-Selbsthilfegruppe) hingewiesen und ein von der Gemeinschaft herausgegebenes Merkblatt mitgegeben werden.

8 THERAPIE

Im folgenden werden die für die Studie verbindlichen Therapierichtlinien beschrieben. Die empfohlene DBA-spezifische Diagnostik entspricht den Empfehlungen der DBA Working-Group der European Society of Immunology und Haematology (ESPHI). Die Empfehlungen zur Therapie sind das Ergebnis eigener und publizierter Erfahrungen und beruhen nicht auf kontrollierten Therapiestudien. Die Empfehlungen zur Deferroxamin-Behandlung sind als gegenwärtiger internationaler Standard anzusehen und mit den Empfehlungen der Kooperativen Thalassämiestudie THAL-99 abgestimmt.

8.1 Erythrozyten-Transfusionen

8.1.1 Vorgehen

Eine Indikation zur regelmäßigen Erythrozytentransfusion alle 4 bis 6 Wochen ist gegeben für Kinder unter 1 Jahr, für Steroid-Non-Responder und für Patienten, die nur auf hohe Steroid-Dosen (> 0,5 mg/kg/d) ansprechen. Es werden Hämoglobin-Werte vor Transfusion von mindestens 8 g/dl angestrebt, um ein ausreichendes Wachstum der Kinder zu ermöglichen. Hierfür sind in der Regel 4-wöchentliche, bei Säuglingen oft 3-wöchentliche Transfusionen notwendig. Die benötigte Menge an Erythrozytenkonzentrat liegt zwischen 10-15 ml/kgKG und wird individuell nach den Erfahrungen der vorangegangenen Transfusionen ermittelt. Verwendet werden sollten leukozytendepletierte (Vermeidung der Sensibilisierung durch leukozytäre Antigene), CMV-negative (bei CMV-negativen Patienten) und möglichst auch untergruppengleiche Erythrozytenkonzentrate, die mit einer Geschwindigkeit von max. 4 ml/kgKG/h infundiert werden. Bei deutlicher Zunahme der benötigten Transfusionsmenge pro Zeiteinheit sollte ein Hypersplenismus-Syndrom und ggf. eine Splenektomie in Betracht gezogen werden.

8.1.2 Eisenentzugstherapie

Die Behandlung sollte bei Vorliegen chelierbarer Eisenspeicher begonnen werden, d.h. etwa im Alter von 3 Jahren bzw. nach Transfusion von etwa 15 Erythrozytenkonzentraten. Bei einem frühzeitigeren Beginn ist mit erheblichen Wachstumsstörungen zu rechnen. Die chelierbare Eisenmenge muß groß genug sein, um die Gefahr von Desferrioxamin-bedingten Nebenwirkungen gering zu halten. Als weiteres Kriterium für den Beginn der Chelattherapie kann ein Serum-Ferritin über 1000 µg/l gelten. Die im folgenden aufgeführten Richtlinien entsprechen im wesentlichen denen der kooperativen Thalassämiestudie THAL-99, auf die hier ausdrücklich

verwiesen werden soll.

Die Behandlung der Eisenüberladung besteht aus der subkutanen Applikation von 40 mg/kg KG/d Desferrioxamin (DFO) als Dauerinfusion mittels spezieller Pumpen-Sets (z.B. elektronisch gesteuerte Pumpe Walkmed MF-300^R, Pegasus^R, Fa. Logomed, o.ä.) über 10 bis 12 Stunden an 7 (mindestens 5) Tagen der Woche, am besten nachts. Eine Dosisreduktion ist zu empfehlen, wenn deutliche DFO-assoziierte Nebenwirkungen auftreten. Eine Reduktion bis auf 20 mg/kg KG/d ist möglich. Die individuell notwendige Dosis zur Aufrechterhaltung eines stabilen Gleichgewichts bezüglich der Eisenüberladung muß dabei durch regelmäßige Kontrollen der Lebereisenkonzentration ermittelt werden. Zur Verlaufsdiagnostik siehe 10.

Vitamin C/Ascorbinsäure p.o. in einer Dosierung von 100 mg/d abends 30-60 Minuten nach Beginn der Chelattherapie verbessert die Eisenausscheidung unter DFO. Vitamin C sollte nur an den Tagen mit DFO-Behandlung und nicht bei kardialen Problemen gegeben werden.

Eine hochdosierte intravenöse DFO-Therapie (100-120 mg/kg KG/d) kommt für Patienten mit ausgeprägter Siderose und höhergradigen Organschäden in Einzelfällen in Frage und sollte über einen zentralvenösen Dauerkatheter erfolgen. Eine periphere intravenöse Gabe ist nur kurzzeitig sowie bei entsprechender Verdünnung möglich. Die i.v. DFO-Therapie transfusionsbegleitend wird nicht empfohlen.

8.2 Steroide

8.2.1 Erster Steroidversuch

Ein Steroid-Versuch kann im ersten Lebensjahr durchgeführt werden, obwohl in diesem Alter erhebliche Wachstumsstörungen zu erwarten sind. Regelmäßige Transfusionen im ersten Lebensjahr und ein erster Steroid-Versuch nach dem ersten Geburtstag ist daher vorzuziehen.

Der initiale Steroidversuch beginnt mit einer Dosis von 2 mg/kg KG/d Prednison-Äquivalent. Es ist empfehlenswert den Therapieversuch ca. 2 Wochen nach vorausgegangener Transfusion zu beginnen, um die Phase des Absinkens des Hb mit Möglichkeit der Steigerung der Erythropoese optimal auszunutzen. Die Steroiddosis wird im allgemeinen in einer Dosis morgens verabreicht. Nach einer Behandlungsdauer mit 2 mg/kg KG/d Prednison-Äquivalent von höchstens 4 Wochen beginnt die Ausschleichphase unabhängig vom Hb-Wert. Es wird empfohlen, die Dosis zunächst für 2 weitere Wochen auf 1 mg/kg KG/d und anschließend direkt auf 0,5 mg/kg KG/d zu

reduzieren. Sinkt der Hb-Wert hierunter unter 6 g/dl, ist von einem Therapieversagen auszugehen. Der Patient sollte erneut einem Transfusionsprogramm zugeführt werden.

Entscheidend für die Therapiesteuerung ist der Hb-Wert und nicht die Retikulozytenzahl. Die Retikulozytenzahl steigt bei hohen Steroiddosen auch bei Patienten mit Steroidversagen geringfügig an, ohne daß langfristig ein Hb-Wert > 8 g/dl gehalten werden kann. Die erhebliche Steroidtoxizität durch eine wochenlange (> 6 Wochen, s.o.) Behandlung mit einer Steroiddosis > 0,5 mg/kg KG/d sollte unbedingt vermieden werden!

8.2.2 Langfristige Steroidbehandlung

Patienten, bei denen Hb-Werte > 8 g/dl mit Prednison-Äquivalenten < 0,5 mg/kgKG/d erreicht werden, können langfristig mit Steroiden behandelt werden. Dabei ist die notwendige minimale Steroiddosis individuell auszutitrieren. Viele Patienten benötigen nur minimalste Steroiddosierungen, z.B. Gesamtdosis von 1mg/d bei 50 kgKG. Die Auswirkungen der Veränderungen solcher Steroiddosierungen sind meist nur über Wochen und Monate zu beurteilen.

Im Rahmen von Infektionen, z.B. der oberen Luftwege, kommt es gelegentlich zum Hb-Abfall. In der Regel kann ohne Erhöhung der Steroiddosis der Ausgangs-Hb in wenigen Wochen wieder erreicht werden. Bei intermittierenden sehr niedrigen Hb-Werten kann u.U. eine deutliche Steigerung der Erythropoese durch eine ca. 7tägige Behandlung mit Prednison-Äquivalent 1-2 mg/kgKg/d mit folgender direkter Weiterbehandlung mit der bekannten Minimaldosis des Patienten erreicht werden.

Eine alternierende Steroid-Gabe nur jeden 2. Tag in entsprechend höherer Dosis in Anlehnung an Therapiekonzepte aus der pädiatrischen Nephrologie ist vorgeschlagen worden. Ob dies vorteilhaft ist für die Funktion der Hypophysen-Nebennieren-Achse bleibt unklar. Nach der persönlichen Erfahrung der Studienleitung wird die Steroidgabe jeden 2. Tag nicht empfohlen, da hierbei im allgemeinen höhere Steroiddosen notwendig sind.

Bei Kleinwuchs kann in der Pubertät ein zeitlich begrenztes Aussetzen der Steroidbehandlung und Einleitung eines Transfusionsprogramms sinnvoll sein, um den pubertären Wachstumsschub optimal auszunutzen.

8.2.3 Wiederholte Steroidversuche

Patienten mit Versagen des initialen Steroidversuchs sollten rasch einem Transfusionsprogramm zugeführt werden. Im Transfusionsprogramm sollten Hb-Werte von 8 g/dl nicht unterschritten werden. Erneute Steroidversuche mit 2 mg/kg KG/d nach oben dargelegten Schema können jährlich durchgeführt werden, um eine Änderung des Ansprechens der Erkrankung auf Steroide oder gar eine Spontanremission nicht zu übersehen. Insbesondere vor Beginn der Chelatbehandlung nach dem 3. Geburtstag ist ein erneuter Steroidversuch sinnvoll.

Auch wenn für solche Behandlungsversuche Steroiddosen von bis zu 5 mg/kg KG/d als Anfangsdosierung eingesetzt wurden, gibt es keinen Hinweis, daß diese Anfangsdosierungen effektiver als die Standarddosis von 2 mg/kg KG/d sind. Vor höheren Steroiddosierungen oder einem Hochdosissteroidversuch mit 100 mg/kg KG/d wird wegen der exzessiven Morbidität dringend abgeraten!

8.2.4 Definitionen des Steroid-Ansprechens für die Auswertung der Studie

Das Ansprechen auf die Steroidtherapie (Response) wird nach folgenden Kriterien beurteilt:

- 0 kein Ansprechen (unveränderte Abhängigkeit von Transfusionen ohne Retikulozytenanstieg oder Änderung der Transfusionsfrequenz)
- 1 Retikulozyten-Anstieg ($> 5000/\text{mm}^3$) ohne Abnahme der Transfusionsfrequenz
- 2 Abnahme der Transfusionsfrequenz
- 3 keine weitere Transfusionsbedürftigkeit

hoher Steroidbedarf: $\geq 0,5 \text{ mg/kg Kg/Tag}$

niedriger Steroidbedarf: $< 0,5 \text{ mg/kg Kg/Tag}$

Bei Therapie-Respondern wird weiter unterschieden nach Vorliegen hämatologischer Restbefunde (mäßige Anämie, Makrozytose, erhöhtes Hämoglobin F, erhöhte erythrozytäre Adenosin-Desaminase) oder vollständige Normalisierung aller Befunde.

8.3 Spontane Remission

Unter spontaner „Remission“ wird die spontan auftretende völlige Unabhängigkeit von Transfusionen und Steroiden verstanden. Diese kann zu jeder Zeit der Behandlung auftreten.

8.4 Knochenmarktransplantation

Eine allogene Knochenmarktransplantation (KMT) vom HLA-identen Geschwisterspender kann bei transfusionsabhängigen Patienten, welche Steroid-Non-Responder sind, erwogen werden. Die Transplantation von alternativen Spendern oder mit alternativen Stammzellquellen ist in der Regel nicht angezeigt. Die Asservierung von Plazentarestblut von Geschwisterkindern von DBA Patienten kann sinnvoll sein. Die KMT sollte möglichst noch vor Ausprägung der Siderose-bedingten Organschäden erfolgen. Zur Konditionierung werden z.Zt. Busulfan, Cyclophosphamid und ATG, zur GvHD-Prophylaxe Cyclosporin A und short-course Methotrexat eingesetzt. Ein separates KMT-Protokoll liegt vor, bitte bei der Studienleitung anfragen.

8.5 Andere Therapien

8.5.1 Zytokine

Da bisher kein Patient auf eine Therapie mit Erythropoetin angesprochen hat und in einem größeren Patientenkollektiv nur wenige Patienten eine dauerhafte Besserung der Anämie unter Therapie mit Interleukin-3 zeigten, werden beide Therapieformen z.Zt. nicht empfohlen. Rekombinantes humanes IL-3 steht z.Zt. auch für compassionate use nicht mehr zur Verfügung. Einzelne Therapieversuche mit Stammzellofaktor (SCF) waren aufgrund der hohen Nebenwirkungsrate bisher wenig erfolgversprechend. Zukünftige Zytokinstudien können nach gesonderten Protokollen durchgeführt werden.

8.5.2 Weitere Therapieversuche

Behandlung mit Immunglobulinen, Cyclosporin A, Zytostatika, Antithymozytenglobulin und Androgenen haben keinen erwiesenen Nutzen und werden daher nicht empfohlen. Das gleiche gilt auch für die Splenektomie, für die sich nur bei Auftreten eines Hypersplenismus-Syndroms eine Indikation ergeben kann.

8.5.3. Behandlung von kleinwüchsigen Patienten mit Wachstumshormon

Bei unserer Erhebung von Daten zur DBA in Deutschland fand sich bei der Hälfte der Patienten neben der Anämie auch ein ausgeprägter Kleinwuchs. Dieser ist zum Teil auf die Grunderkrankung, zum Teil auf die jahrelange Therapie mit Steroiden zurückzuführen. Ein Mangel an Wachstumshormon lag fast nie vor.

Unabhängig von dieser Studie wird eine Beobachtungsstudie mit Wachstumshormon durchgeführt. Ansprechpartner hierfür ist Prof. S. Eber, Universitäts-Kinderklinik, Steinwiesstraße 75, CH-8032 Zürich, Telefon 0041-1-266-7182/7111/7307, Fax 0041-1-266-7171, Email stefan.eber@kispi.unizh.ch. Gegebenenfalls sollte eine direkte

Kontaktaufnahme mit ihm erfolgen.

8.6 Impfungen

Alle von der STIKO empfohlenen Impfungen im Kindesalter (Diphtherie, Pertussis, Tetanus; Poliomyelitis; Haemophilus influenzae Typ B und Hepatitis B) und Erwachsenenalter sollten durchgeführt werden. Unter Steroidtherapie mit ³ 0,5 mg/kgKG/d bzw. direkt im Anschluß an einen Steroidversuch wird von Lebendimpfungen (Mumps, Masern, Röteln) abgeraten. Bei Splenektomie infolge eines Hypersplenismus-Syndroms muß zusätzlich gegen Pneumokokken und Meningokokken geimpft und eine Penicillin-Behandlung bzw. Prophylaxe durchgeführt werden.

8.7 Schwangerschaft

Während der Schwangerschaft kommt es häufig zum Abfall des Hämoglobinwerts. Eine eventuell schon vor der Schwangerschaft notwendige Steroidbehandlung sollte in ihrer Dosis aber nicht erhöht werden, auch sollte in der Schwangerschaft kein Steroidversuch begonnen werden. Bei Therapiebedürftigkeit ist eine Transfusionsbehandlung angezeigt. Hohe Steroiddosen in der Schwangerschaft führen zu einer erhöhten Abortrate, Diabetes und EPH Gestose der Mutter mit allen nachfolgenden Risiken für Mutter und Kind.

9 VERLAUFSDIAGNOSTIK

9.1 Jährliche Verlaufsdagnostik bei Steroidansprechen oder spontaner Remission

Die Studie sieht jährliche Verlaufsbeobachtungen vor. Neben der sorgfältigen kompletten körperlichen Untersuchung ist insbesondere die Erfassung von Gewicht, Länge und Kopfumfang, Pubertätszeichen wichtig. Folgende weitere Untersuchungen sollen zu diesem Zeitpunkt veranlaßt werden:

- Blutbild mit Differentialblutbild und Retikulozyten
- Elektrolyte, CRP, Kreatinin, GPT, Blutzucker, Ferritin, Transferrin, Eisen, Immunglobuline IgG, IgM, IgA
- Falls die unter 7.1.1 aufgeführten Untersuchungen nicht komplett durchgeführt wurden, jetzt Komplettierung. Besonders die HbF-Bestimmung und ADA-Erythrozytenkonzentration sollten gemessen sein, wenn möglich auch bei Familienmitgliedern.
- Bei Kindern mit Kleinwuchs jährlich Bestimmung des Knochenalters durch eine Röntgenaufnahme der linken Hand

- Bei Patienten mit Steroidbehandlung jährliche augenärztliche Kontrollen

9.2 Untersuchung vor Beginn einer regelmäßigen Eisenentzugstherapie

Nach regelmäßigen Transfusionen bis zum 3. Lebensjahr muß mit einer DFO-Behandlung begonnen werden. Es wird empfohlen, vor Beginn der Eisenentzugstherapie das Lebereisen biomagnetometrisch am Hamburger Biomagnetometer bestimmen zu lassen und eine laborchemische und apparative Diagnostik modifiziert nach 9.3 durchzuführen.

9.3 Untersuchung während einer regelmäßigen Transfusions-/Eisenentzugstherapie

Die folgenden mit der kooperativen Thalassämiestudie THAL-99 abgestimmte Diagnostik wird empfohlen:

9.3.1 Vor jeder Transfusion

- Bei Deferrioxamin-Behandlung: Anamnese bzgl. lokaler Nebenwirkungen, Hör- oder Sehstörungen
- Blutbild mit Differentialblutbild und Retikulozyten
- GPT

9.3.2 Alle 3 Monate zusätzlich

- Antikörpersuchtest

9.3.3 Alle 6 Monate zusätzlich

- Sorgfältige komplette körperliche Untersuchung, insbesondere auch die Erfassung von Gewicht, Länge und Kopfumfang, Pubertätszeichen.
- Audiometrie (nur bei Desferrioxamin-Behandlung)
- Elektrolyte, Calcium, Phosphat, CRP, Kreatinin, Harnstoff, GOT, γ GT, Bilirubin gesamt, Cholinesterase, Ferritin, Transferrin, Eisen
- bei Patienten > 10 Jahre: EKG, Herzecho

9.3.2 Alle 12 Monate zusätzlich

- Serologie für Hepatitis B (HBsAg und anti-HBs quantitativ), Hepatitis C (anti-HCV, PCR wenn Serologie positiv), HIV (anti-HIV) und CMV (falls bisher CMV negativ).
- Endokrinologische Untersuchungen (nicht bei Kindern < 3 Jahre):
Nüchternblutzucker, Parathormon, T4, fT4, T3, fT3, TSH, Cortisol basal
bei Patienten älter als 10 Jahre: oraler Glukosetoleranztest, IGF-1, IGF-BP3, LH,

- FSH, PRL, Testosteron bzw. Östradiol (jeweils nach klinischem Verdacht einer hormonellen Dysfunktion)
- EKG, Herzecho, Sonographie Abdomen
bei Patienten älter als 10 Jahre: Langzeit-EKG, Dopplerechokardiographie, ggf. Radionuklidventrikulographie, Röntgen-Thoraxübersicht, Knochenalter
 - Lungenfunktionsdiagnostik (soweit altermäßig durchführbar)
 - Augenärztliche Kontrolle (Fundus, Visus, Farbsehen, Spaltlampe)
 - Lebereisenmessung biomagnetometrisch am Hamburger Biomagnetometer oder Leberbiopsie

10 DOKUMENTATION / STATISTIK

10.1 Einverständnis

Die Patienten bzw. deren Sorgeberechtigte werden um Einverständnis gebeten:

1. zur Teilnahme an der Studie,
2. zur personenbezogenen Datenverarbeitung und
3. zur wissenschaftlichen Nutzung von Material (Blut- und Knochenmarkzellen)

Die Studienleitung bittet um Zusendung einer Kopie der Einverständniserklärungen.

10.2 Datenerhebung

Ein eigenes Meldefax gibt es nicht. Die Datenerhebung besteht aus folgenden Bögen (s. Anhang):

- Einsendebogen zur Einsendung von Material (peripheres Blut, Knochenmark, Ausstrichpräparate), es gibt einen separaten Bogen für den Patient und einen für Familienangehörige
- Ersterhebungsbogen bei Diagnose oder bei Aufnahme in die Studie, wenn diese nicht mit der Diagnose zusammenfällt
- Verlaufserhebungsbogen einmal jährlich

Es wird empfohlen, den Erhebungsbogen zum Zeitpunkt der Untersuchung des Patienten auszufüllen und eine Kopie in der Krankenakte abzulegen. Die Originale werden zusammen mit Kopien von Arztbriefen und wichtiger Befunde an die Studienleitung geschickt.

Wird der Patient regelmäßig transfundiert, wird empfohlen, Protokoll über das Transfusionsregime zu führen mit Hilfe des von der Studienzentrale entworfenen Übersichtsblattes.

10.3 Datenbank und statistische Auswertung

Von der Studienleitung werden die Daten aus Erst- und Verlaufserhebungsbögen in eine für die Studie entwickelte relationale Datenbank (Microsoft Access 97) eingegeben. Diese erlaubt Abfragen über Untergruppen von Patienten oder Datengruppen. Die statistischen Auswertungen werden mit der Statistik-Software SPSS, Version 8.0, durchgeführt. Bei einfachen Berechnungen und Tabellierungen wird auch das Tabellenkalkulationsprogramm Excel 97 verwendet.

11 LITERATUR

Abkowitz JL, Sabo KM, Nakamoto B, Blau CA, Martin FH, Zsebo KM, Papayannopoulou T. Diamond-blackfan anemia: in vitro response of erythroid progenitors to the ligand for c-kit. *Blood* 1991;78:2198-2202.

Abkowitz JL, Broudy VC, Bennett LG, Zsebo KM, Martin FH. Absence of abnormalities of c-kit or its ligand in two patients with Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 1992;79:25-28.

Agarwal MB, Gupte SS, Visvanathan C, Vasandani D, Ramanathan J, Desai N, Puniyani RR, Chhablani AT. Long-term assessment of efficacy and safety of L1, an oral iron chelator, in transfusion-dependent thalassaemia: Indian trial. *Brit J Haematol* 1992; 82: 460-466.

Al-Refaie FN, Wonke B, Hoffbrand AV, Wickens DG, Nortey P, Kontoghiorghes GJ. Efficacy and possible adverse effects of the oral iron chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one (L₁) in thalassaemia major. *Blood* 1992;80:593-599.

Aldouri MA, Wonke B, Hoffbrand AV, Flynn DM, Laulicht M, Fenton LA, Scheuer PJ, Kibbler CC, Allwood CA, Brown D, Thomas HC Iron state and hepatic disease in patients with thalassaemia major, treated with long term subcutaneous desferrioxamine. *J Clin Pathol* 1987;40:1353-1359.

Aldouri MA, Wonke B, Hoffbrand AV, Flynn DM, Ward SE, Agnew JE, Hilson High incidence of cardiomyopathy in beta-thalassaemia patients receiving regular transfusion and iron chelation: reversal by intensified chelation. *Acta Haematol* 1990;84:113-117.

Allen DM, Diamond LK. Congenital (erythroid) hypoplastic anemia. *Am J Dis Child*. 1961;102:416.

Alter BP. Thumbs and anemia. *Pediatrics*. 1978;62:613.

Alter BP. Fetal erythropoiesis in stress hematopoiesis. *Exp Hematol* 1979;7 Suppl 5:200-209.

Alter BP. Agranulocytosis and thrombocytopenia, Blackfan-Diamond anaemia, and oral chelation. *Lancet* 1990;335:970

Alter BP, Knobloch ME, He L, Gillio AP, O'Reilly RJ, Reilly LK, Weinberg RS. Effect of stem cell factor on in vitro erythropoiesis in patients with bone marrow failure syndromes. *Blood* 1992;80:3000-3008.

Alter BP. Diamond-Blackfan anemia. In: Nathan and Okin: Hematology in infancy. 1998;290-299.

Alter H. Posttransfusion hepatitis: clinical features, risk and donor testing. In: Dodd R, Barker L (eds.) *Progress in Clinical and Biological Research*, vol. 182 Alan R. Liss, New

York, 1984; p. 47

Altman AC, Gross S. Severe congenital hypoplastic anemia. Transmission from a healthy female to opposite sex step-siblings. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1983;5:99-101.

Aquino VM, Buchanan GR. Osteogenic sarcoma in a child with transfusion-dependent Diamond-Blackfan anemia. *Pediatr Hematol Oncol* 1996;18:230-232.

Arnold H, Wehinger H, Deus B, Löhr GW. Kontrollierte Desferrioxamin- Therapie bei kongenitaler Anämie und Transfusionssiderose. *Dtsch. med. Wochenschr.* 1078;103: 1240-1244.

August CS, King E, Githens JH, McIntosh K, Humbert JR, Greensheer A, Johnson RB. Establishment of erythropoiesis following bone marrow transplantation in a patient with congenital hypoplastic anemia (Diamond-Blackfan syndrome). *Blood* 1976;48:491-498.

Bagnara GP, Zauli G, Vitale L, Rosito P, Vecchi V, Paolucci G, Avanzi GC, Ramenghi U, Timeus F, Gabutti V. In vitro growth and regulation of bone marrow enriched CD34+ hematopoietic progenitors in Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 1991;78:2203-2210.

Balaban EP, Buchanan GR, Graham M, Frenkel EP. Diamond-Blackfan syndrome in adult patients. *Am J Med* 1985;78:533-538.

Ball SE, Tchernia G, Wranne L, Bastion Y, Bekassy NA, Bordigoni P, Debre M, Elinder G, Kamps WA, Lanning M, et al. Is there a role for interleukin-3 in Diamond-Blackfan anaemia? Results of a European multicentre study. *Br J Haematol* 1995;91:313-318.

Ball SE, McGuckin CP, Jenkins G, Gordon-Smith EC. Diamond-Blackfan anaemia in the U.K.: analysis of 80 cases from a 20-year birth cohort. *Br J Haematol* 1996;94:645-653.

Barry M, Sherlock S. Measurement of liver-iron concentration in needle-biopsy specimens. *Lancet* 1971;i:100-103.

Barry M, Flynn D, Letsky E, Risdon RA. Long-term chelation therapy in thalassaemia major: effect on liver iron concentration, liver histology, and clinical progress. *Brit Med J* 1974;2:16-20.

Bartlett AN, Hoffbrand AV, Kontoghiorghes GJ. Long-term trial with the oral iron chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one (L₁): clinical observations. *Brit J Haematol* 1990;76:301-304.

Basso G, Cocito MG. Congenital hypoplastic anemia developed in acute megakaryoblastic leukaemia. *Helv Paediatr Acta.* 1981;36:267.

Bastion Y, Bordigoni P, Debre M, Girault D, Leblanc T, Tchernia G, Ball S, McGuckin C, Gordon-Smith EC, Bekassy A, et al. Sustained response after recombinant interleukin-3 in diamond blackfan anemia. *Blood* 1994;83:617-618.

Bastion Y, Campos L, Roubi N, Bienvenu J, Felman P, Dumontet C, Coiffier B. IL-3

increases marrow and peripheral erythroid precursors in chronic pure red cell aplasia presenting in childhood. *Br J Haematol* 1995;89:413-416.

Becker RE, Maurer H. Growth hormone deficiency (GHD) in Diamond-Blackfan anemia (DBA). *Pediatr Res* 1991;29:74A.

Bejaoui M, Fitouri Z, Sfar MT, Lakhoua R. Failure of immunosuppressive therapy and high-dose intravenous immunoglobulins in four transfusion-dependent, steroid-unresponsive Blackfan-Diamond anemia patients. *Haematologica* 1993;78:38-39.

Bello A, Dorantes S, Alvarez-Amaya C. La anemia hipoplastica en la edad pediatrica. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 1983;40:718.

Bergeron RJ, Streiff RR, Weigand J, Luchetta G, Creary EA, Peter HH. A comparison of the iron-clearing properties of 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one, 1,2-diethyl-3-hydroxypyrid-4-one, and deferoxamine. *Blood* 1992;80:1882-1890.

Berkovitch M, Laxer RM, Inman R, Koren G, Pritzker KPH, Fritzler MJ, Olivieri NF. Arthropathy in thalassemia patients receiving deferiprone. *Lancet* 343:1994;1471-1472.

Bernard J, Seligmann M. Anémie de Blackfan-Diamond. *Nouv Rev Fr Hematol*. 1962;2:721.

Bernini JC, Carrillo JM, Buchanan GR. High-dose intravenous methylprednisolone therapy for patients with Diamond-Blackfan anemia refractory to conventional doses of prednisone. *J Pediatr* 1995;127:654-659.

Bleiber R, Eggert W, Reichmann G, Muhlack D, Andres J. Eine frühkindliche Erythrozytenphospholipidverteilung als weiterer Hinweis für Fortbestehen neonataler Erythrozytenmerkmale bei Diamond-Blackfan-Anämie. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 1983;110:71-80.

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

Bonno M, Azuma E, Nakano T, Higashikawa M, Kawaski H, Nishihara H, Obata M, Umemoto M, Sakatoku H, Komada Y, Ito M, nagai M, Sakurai M. Successful hematopoietic reconstitution by transplantation of umbilical cord blood cells in a transfusion-dependent child with Diamond-Blackfan anemia. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:83-85.

Bresters D, Bruin MC, van Dijken PJ. [Congenital hypoplastic anemia in The Netherlands (1963-1989)]. [Dutch]. *Tijdschr Kindergeneeskd* 1991;59:203-210.

Brittenham GE, Farrell DE, Harris JW, Feldman ES, Danish EH, Muir WA, Tripp JH, Bellon EM. Magnetic-susceptibility measurements of human iron stores. *N Engl J Med* 1982;307: 1671-1675.

Brittenham GM, Allen CJ, Farrell DE, Harris JW. Hepatic iron stores in thalassemia:

non-invasive magnetic measurements. In: Buckner CD, Gale RP, Lucarelli G (eds.) *Advances and Controverses in Thalassemia Therapy*. Alan R. Liss, New York, 1989;pp 101-106.

Brittenham GM. Development of iron chelation agents for clinical use. *Blood* 1992;80:569-574.

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

Brittenham GE, Griffith PM, Nienhuis AW, McLaren CE, Young NS, Tucker EE, Allen CJ, Farrell DE, Harris JW. Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major. *New Engl J Med* 1994;331:567-573.

Bronspiegel-Weintrob N, Olivieri NF, Tyler B, Andrews DF, Freedman MH, Holland FJ (1990) Effect of age at the start of iron chelation therapy on gonadal function in beta thalassemia major. *N Engl J Med* 1990;323:713-719.

Buchanan GR, Alter BP, Holtkamp CA, Walsh EG. Platelet number and function in Diamond-Blackfan anemia. *Pediatrics* 1981;68:238-241.

Casadevall N, Croisille L, Auffray I, Tchernia G, Coulombel L. Age-related alterations in erythroid and granulopoietic progenitors in Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol* 1994;87:369-375.

Cathie IAB. Erythrogenesis imperfecta. *Arch Dis Child*. 1950;25:313.

Cazzola M, Borgna-Pignatti C, DeStefano P, Bergamaschi G, Bongo IG, Dezza L, Avato F. Internal distribution of excess iron and sources of serum ferritin in patients with thalassaemia. *Scand J Haematol* 1983;30: 289-296.

Chan HS, Saunders EF, Freedman MH. Diamond-Blackfan syndrome. I. Erythropoiesis in prednisone responsive and resistant disease. *Pediatr Res* 1982;16:474-476.

Chan HS, Saunders EF, Freedman MH. Diamond-Blackfan syndrome. II. In vitro corticosteroid effect on erythropoiesis. *Pediatr Res* 1982;16:477-478.

Chapman RWG, Hussain M, Gorman A, Laulicht M, Politis D, Flynn DM, Sherlock S, Hoffbrand AV. Effect of ascorbic acid deficiency on serum ferritin concentration in patients with beta thalassaemia major and iron overload. *J Clin Pathol* 1982;35:487-491.

Chiu HY, Flynn DM, Hoffbrand AV. Infection with *Yersinia enterocolitica* in patients with iron overload. *Brit Med J* 1986;292: 97.

Claustres M, Margueritte G, Sultan C. In vitro CFU-E and BFU-E responses to androgen in bone marrow from children with primary hypoproliferative anaemia: a possible therapeutic assay. *Eur J Pediatr* 1986;144:467-471.

Colombino G, Bonzano L. [Usefulness of plasmapheresis in the treatment of Blackfan-Diamond erythroid aplasia. Presentation of a case]. [Italian]. *Minerva Med* 1987;78:1571-1573.

Cornaglia-Ferraris P, Ghio R, Mori P, De Bernardi B, Pasino M, Sitia, R, Massimo L. T-gamma lymphocytes in a case of congenital hypoplastic anemia (Diamond-Blackfan syndrome). *Haematologica* 1981;66:269-278.

Cumming RLG, Millar JA, Smith JA, Goldberg A. Clinical and laboratory studies on the action of desferrioxamine. *Brit J Haematol* 1969;17:257-263.

DeVirgiliis S, Sanna G, Cornavacchia G, Argioli F, Murgia V, Porcu M, Cao, A. Serum ferritin, liver iron stores, and liver histology in children with thalassaemia. *Arch Dis Child* 1980;55:43-45.

DeVirgiliis S, Congia M, Frau F, Argioli F, Diana G, Cucca F, Varsi A, Sanna G, Podda G, Fodde M, Franco-Piratu G, Cao A. Desferrioxamine-induced growth retardation in patients with thalassaemia major. *J Pediatr* 1988;113:661-669.

Diamond LK, Blackfan KD. Hypoplastic Anemia. *Amer J Dis Child* 1938;56:464

Dianzani I, Garelli E, Dompe C, Crescenzo N, Locatelli F, Schiliro, G, Castaman G, Bagnara GP, Olivieri NF, Gabutti V, Ramenghi U. Mutations in the erythropoietin receptor gene are not a common cause of Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 1996;87:2568-2572.

Dianzani I, Garelli E, Crescenzo N, Timeus F, Mori PG, Varotto S, Nobili B, Brandalise S, Olivieri NF, Gabutti V, Ramenghi U. Diamond-Blackfan anemia: expansion of erythroid progenitors in vitro by IL-9, but exclusion of a significant pathogenetic role for the IL-9 gene and the hematopoietic gene cluster on chromosome 5q. *Exp Hematol* 1997;25:1270-1277

Dohlsten M, Carlsson R, Hedlund G, Sjögren HO, Bekassy AN, Garwicz S. Immunological abnormalities in a child with constitutional aplastic anemia. *Pediatr Hematol Oncol* 1986;3:89-96.

Drachtman RA, Geissler EN, Alter BP. The SCF and c-kit genes in Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 1992;79:2177-2178.

Draptchinskaia N, Gustavsson P, Andersson B, Pettersson M, Willig TN, Dianzani I, Ball S, Tchernia G, Klar J, Matsson H, Tentler D, Mohandas N, Carlsson B, Dahl N. The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia. *Nat Genet* 1999;21:169-175.

Dunbar CE, Smith DA, Kimball J, Garrison L, Nienhuis AW, Young NS. Treatment of Diamond-Blackfan anaemia with haematopoietic growth factors, granulocyte-macrophage colony stimulating factor and interleukin 3: sustained remissions following IL-3 [see comments]. *Br J Haematol* 1991;79:316-321.

D'Avanzo M, Pistoia V. Heterogeneity of the erythropoietic defect in two cases of Aase-Smith syndrome. *Pediatr Hematol Oncol.* 1994;11:189.

Ehlers KH, Giardina PJ, Lesser ML, Engle MA, Hilgartner MW. Prolonged survival in patients with beta thalassemia major treated with deferoxamine. *J Pediatr* 1991;118:540-545.

Engelhardt R, Fischer R, Nielsen P, Langkowski JH, Heinrich HC, Bücheler E. Quantitative MRI in patients with hemochromatosis. 1991; Abstract 3rd Int. Conf. on Haemochromatosis, Düsseldorf.

Ershler WB, Ross J, Finlay JL, Shahidi CB, Shahidi NT. Bone-marrow microenvironment defect in congenital hypoplastic anemia. *New Engl J Med* 1980;302:1321-1327.

Falter ML, Robinson MG. Autosomal dominant inheritance and amino aciduria in Blackfan-Diamond anaemia. *J Med Genet* 1972;9:64-66.

Finlay JL, Shahidi NT, Horowitz S, Borchering W, Hong R. Lymphocyte dysfunction in congenital hypoplastic anemia. *J Clin Invest* 1982;70:619-626.

Fiorillo A, Poggi V, Migliorati R, Parasole R, Selleri C, Rotoli B. Unresponsiveness to erythropoietin therapy in a case of Blackfan Diamond anemia. *Am J Hematol* 1991;37:65

Fischer R, Engelhardt R, Nielsen P, Gabbe EE, Heinrich HC, Schmiegel WH, Wurbs D. Liver iron quantification in the diagnosis and therapy control of iron overloaded patients. In: Hoke M et al. (eds.) *Biomagnetism '91: Clinical Aspects.* Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1992;pp 585-588.

Fitchett DH, Coltart DJ, Littler WA, Leyland MJ, Trueman T, Gozzard DI, Peters TJ. Cardiac involvement in secondary haemosiderosis: a catheter biopsy study and analysis of myocardium. *Cardiovascular Research* 1980;14:719-724.

Fosburg MT, Nathan DG. Treatment of Cooley's anemia. *Blood* 1990;76:435-444.

Freedman MH, Amato D, Saunders EF. Erythroid colony growth in congenital hypoplastic anemia. *J Clin Invest* 1976;57:673-677.

Freedman MH, Saunders EF. Diamond-Blackfan syndrome: evidence against cell-mediated erythropoietic suppression. *Blood* 1978;51:1125-1128.

Freedman MH. Diamond-Blackfan anemia. Neonatal presentation as Rh incompatibility, hemolysis, and active erythropoiesis. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1985;7:327-330.

Freedman MH, Grisaru D, Olivieri N, MacLusky I, Thorner PS. Pulmonary syndrome in patients with thalassemia major receiving intravenous deferoxamine infusions. *Am J Dis Child* 144: 1990;565-569.

Gahr M, Schröter W. The pattern of reactivated fetal erythropoiesis in bone marrow

disorders of childhood. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:1013-1018.

Gallant T, Freedman MH, Vellend H. Yersinia sepsis in patients with iron overload treated with deferoxamine (letter). *N Engl J Med* 1986;314:1643.

Gasser C. Akute Erythroblastopenie. *Schweiz Med Wochenschr.* 1949;79:838.

Geller G, Krivit W, Zalusky R, Zanjani ED. Lack of erythropoietic inhibitory effect of serum from patients with congenital pure red cell aplasia. *J Pediatr* 1975;86:198-201.

Gillio AP, Faulkner LB, Alter BP, Reilly L, Klafter R, Heller G, Young DC, Lipton JM, Moore MA, O'Reilly RJ. Treatment of Diamond-Blackfan anemia with recombinant human interleukin-3. *Blood* 1993;82:744-751.

Glader BE, Backer K. Comparative activity of erythrocyte adenosine deaminase and orotidine decarboxylase in Diamond-Blackfan anemia. *Am J Hematol* 1986;23:135-139.

Glader BE, Backer K. Elevated red cell adenosine deaminase activity: a marker of disordered erythropoiesis in Diamond-Blackfan anaemia and other haematologic diseases. *Br J Haematol* 1988;68:165-168.

Glader BE, Backer K, Diamond LK. Elevated erythrocyte adenosine deaminase activity in congenital hypoplastic anemia. *N Engl J Med* 1983;309:1486-1490.

Glader BE, Flam MS. Hematologic malignancies in Diamond-Blackfan anemia. *Pediatr Res.* 1990;27:142A.

Gojic V, van't Veer-Korthof ET, Bosch LJ, Puyn WH, van Haeringen A. Congenital hypoplastic anemia: another example of autosomal dominant transmission. *Am J Med Genet* 1994;50:87-89.

Gomez-Almaguer D, Gonzalez-Llano O. Danazol in the treatment of Blackfan-Diamond anemia. *Blood.* 1993;80:382a.

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

Greenspan A, Cohen J, Szabo RM. Klippel-Feil syndrome. An unusual association with Sprengel deformity, omovertebral bone, and other skeletal, hematologic, and respiratory disorders. A case report. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst* 1991;51:54-62.

Greinix HT, Storb R, Sanders JE, Deeg HJ, Doney KC, Sullivan KM, Witherspoon RP. Long-term survival and cure after marrow transplantation for congenital hypoplastic anaemia (Diamond-Blackfan syndrome). *Br J Haematol* 1993;84:515-520.

Gustavsson P, Willing TN, van Haeringen A, Tchernica G, Dianzani I, Donner M, Elinder G, Henter JI, Nilsson PG, Gordon L, Skepner G, van't Veer-Korthof L, Kreuger A, Dahl N. Diamond-Blackfan anaemia: genetic homogeneity for a gene on chromosome 19q13 restricted to 1.8 Mb. *Nat Genet* 1997;16:368-371.

Gustavsson P, Skeppner G, Johansson B, Berg T, Gordon L, Kreuger A, Dahl N. Diamond-Blackfan anaemia in a girl with a de novo balanced reciprocal X;19 translocation. *J Med Genet* 1997;34:779-782.

Gutteridge JMC, Halliwell B. Iron toxicity and oxygen radicals. *Bailliere's Clin Hematol* 1998;2: 195-256.

Halperin DS, Estrov Z, Freedman MH. Diamond-Blackfan anemia: promotion of marrow erythropoiesis in vitro by recombinant interleukin-3. *Blood* 1989;73:1168-1174.

Hammond D, Shore N, Movassaghi N. Production, utilization, and excretion of erythropoietin. I. Chronic anemias. II. Aplastic crisis. III. Erythropoietic effect of normal plasma. *Ann N Y Acad Sci.* 1968;149:516.

Hartmann W, Schneider L, Wirth A, Dördelmann M, Zinser D, Elias H, Languth W, Ludwig L, Kleihauer E. Liver susceptometry for the follow-up of transfusional iron overload. In: Hoke M et al. (eds.) *Biomagnetism '91: Clinical Aspects.* 1990; Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

Hasan R, Inoue S. Diamond-Blackfan anemia associated with Treacher-Collins syndrome. *Pediatric Hematology & Oncology* 1993;10:261-265.

Hasegawa D, Kojima S, Tatsumi E, Hayakawa A, Kosaka Y, Nakamura H, Sako M, Osugi Y, Nagata S, Sano K. Elevation of the serum Fas ligand in patients with hemophagocytic syndrome and Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 1998;91:2793-2799.

Haupt R, Dufour C, Dallorso S, Mori PG. Diamond-Blackfan anemia and malignancy: a case report and a review of the literature. *Cancer* 1996;77:1961-1962.

Henry W. Echocardiographic evaluation of the heart in thalassemia major. In: Nienhuis AW (moderator) *Thalassemia major: molecular and clinical aspects.* *Ann Intern Med* 1979;91: 892-894.

Hershko C, Rachmilewitz EA. Mechanism of desferrioxamin-induced iron excretion in thalassaemia. *Brit J Haematol* 1979;42:125-132.

Heyn R, Kurczynski E, Schmickel R. The association of Blackfan-Diamond syndrome, physical abnormalities, and an abnormality of chromosome 1. *J Pediatr* 1974;85:531-533.

Hing AV, Dowton SB. Aase syndrome: novel radiographic features. *Am J Genet* 1993;45:413.

Hoffbrand AV, Bartlett AN, Veys PA, O'Connor NT, Kontoghiorghes GJ. Agranulocytosis and thrombocytopenia in patient with Blackfan-Diamond anaemia during oral chelator trial. *Lancet* 1989;2:457.

Hoffman R, Zanjani ED, Vila J, Zalusky R, Lutton JD, Wasserman LR. Diamond-Blackfan syndrome: lymphocyte-mediated suppression of erythropoiesis.

Science 1976;193:899-900.

Houang MT, Skalicka A, Arozena X, Huehns ER, Shaw DG. Correlation between computed tomography values and liver iron content in thalassemia major with iron overload. *Lancet* 1979;i: 1322-1333.

Hurst JA, Baraitser M, Wonke B. Autosomal dominant transmission of congenital erythroid hypoplastic anemia with radial abnormalities. *Am J Med Genet* 1991;40:482-484.

Iriondo A, Garijo J, Baro J, Conde E, Pastor JM, Sabanes A, Hermosa, V, Sainz MC, Perez de la Lastra L, Zubizarreta A. Complete recovery of hemopoiesis following bone marrow transplant in a patient with unresponsive congenital hypoplastic anemia (Blackfan-Diamond syndrome). *Blood* 1984;64:348-351.

Iskandar O, Jager MJ, Willenze R, Natarajan AT. A case of pure red cell aplasia with a high incidence of spontaneous chromosome breakage: a possible X-ray sensitive syndrome. *Hum Genet* 1980;55:337-340.

Jacobs A, Miller F, Worwood M, Beamish MR, Wardrop CA. Ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. *Brit Med J* 1974;4:206-208.

Jacobs A. The pathology of iron overload. In: Jacobs A and Worwood M (eds.) *Iron in Biochemistry and Medicine* vol. 2, Academic Press Inc., London, 1980;pp 427-459.

Janka GE, Möhring P, Helmig M, Haas RJ, Betke K. Intravenous and subcutaneous desferrioxamine therapy in children with severe iron overload. *Eur J Pediatr* 1981;137:285-290.

Janka G: Medikamentöse Eisenelimination bei transfusionsabhängigen Kindern. *Med. Klinik* 80: 1985;13-16.

Janov AJ, Leong T, Nathan DG, Guinan EC. Diamond-Blackfan anemia. Natural history and sequelae of treatment. *Medicine (Baltimore)* 1996;75:77-78.

Josephs HW. Anemia in infancy and early childhood. *Medicine* 1936;15:307.
Kalmanti M, Kalmantis T, Dimitriou H, Kattamis C. Correlation of in vitro enhancement of erythropoiesis and clinical response to steroids in Diamond-Blackfan anaemia. *Haematologia (Budap)* 1993;25:263-269.

Kaltwasser JP, Gottschalk R, Schalk KP, Hartl W. Non-invasive quantification of iron overload by magnetic resonance imaging. *Brit J Haematol* 1990;74:360-363.

Kanz L, Arnold H, Lohr GW. High-dose desferoxamine and Diamond-Blackfan anemia. *Ann Intern Med* 1986;104:585-586.

Keberle H. The biochemistry of desferrioxamine and its relation to iron metabolism. *Ann NY Acad Sci* 1964;119:758.

Klinowska W, Morawska Z, Jagodzinska M. [Present-day views on the mechanism of androgen activity in the treatment of congenital hypoplastic anemia of the Blackfan-Diamond type]. [Polish]. *Pediatr Pol* 1976;51:575-578.

Kojima S, Matsuyama K. Congenital hypoplastic (Diamond-Blackfan) anemia: a possible role of natural killer cells in erythropoietic suppression. *Nippon Ketsueki Gakkai Zasshi* 1988;51:698-704.

Kontoghiorghes GJ. Oral iron chelation is here. *Brit Med J* 1991;303:1279-1280.

Kontoghiorghes GJ, Bartlett AN, Hoffbrand AV, Goddard JG, Sheppard L, Barr J, Nortley P. Long-term trial with the oral iron chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one (L₁): Iron chelation and metabolic studies. *Brit J Haematol* 1990;76:295-300.

Krishnan EU, Wegner K, Garg SK. Congenital hypoplastic anemia terminating in acute promyelocytic leukemia. *Pediatrics*. 1978;61:898.

Krivit W, Nelson E, Sundberg D. Erythrocytogenesis imperfecta in seven individuals in three generations. *Pediatr Res*. 1978;12:467.

Krsnik I, Arribalzaga K. Interleukin 3 (IL-3) is not effective in all cases of Blackfan-Diamond anemia. *Br J Haematol*. 1994;87:156.

Krüger N, Kraus C, Tillmann W, Schröter W. Gehäuftes Auftreten von Yersiniensepsis bei Hämosiderose. *Z Kinderheilkd* 1985;133:876-878.

Krüger N, Kijewski H, König R, Tillmann W., Schröter W. Deferoxamin bei Hämosiderose. *Dtsch. med. Wochenschr*. 1984;109:1682-1685.

Kynaston JA, West NC, Reid MM. A regional experience of red cell aplasia. *Eur J Pediatr* 1993;152:306-308.

Leonard EM, Raefsky E, Griffith P, Kimball J, Nienhuis AW, Young NS. Cyclosporine therapy of aplastic anaemia, congenital and acquired red cell aplasia. *Br J Haematol* 1989;72:278-284.

Link MP, Alter BP. Fetal-like erythropoiesis during recovery from transient erythroblastopenia of childhood (TEC). *Pediatr Res* 1981;15:1036-1039.

Lipton JM, Kudisch M, Gross R, Nathan DG. Defective erythroid progenitor differentiation system in congenital hypoplastic (Diamond-Blackfan) anemia. *Blood* 1986;67:962-968.

Madanat F, Arnaout M, Hasan A, Tarawneh M, Shomaf M, Khalayleh F. Red cell aplasia resembling Diamond-Blackfan anemia in seven children in a family. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1994;16:260-265.

Marmont AM. Congenital hypoplastic anaemia refractory to corticosteroids but responding to cyclophosphamide and antilymphocytic globulin. Report of a case having responded with a transitory wave of dyserythropoiesis. *Acta Haematol* 1978;60:90-99.

Marmont AM, Cerri R, Lercari G, Van Lint MT, Bacigalupo A, Risso M. Positive direct antiglobulin tests and heteroimmune hemolysis in patients with severe aplastic anemia and pure red cell anemia treated with antilymphocytic globulin. *Acta Haematol* 1985;74:14-18.

Masera G, Jean G, Conter V, Terzoli S, Mauri RA, Cazzaniga M. Sequential study of liver biopsy in thalassaemia. *Arch Dis Child* 1980;55:800-802.

Maurer HS, Lloyd-Still JD, Ingrisano C., Gonzalez-Crussi F, Honig GR. A prospective evaluation of iron chelation therapy in children with severe β -thalassemia, a six-year study. *Am J Dis Child* 1988;142:287-292.

McGuckin CP, Ball SE, Gordon-Smith EC. Diamond-Blackfan anaemia: three patterns of in vitro response to haemopoietic growth factors. *Br J Haematol* 1995;89:457-464.

McGuckin CP, Liu WM, Ball SE, Gordon-Smith EC, Uhr MR. Diamond Blackfan anaemia: differential pattern of in vitro progenitor response to macrophage inflammatory protein 1-alpha. *Br J Haematol* 1996;92:280-286.

McGuckin CP, Uhr MR, Ball SE, Gordon-Smith EC. In vitro progenitor analysis in a Diamond Blackfan anaemia patient who responded once but not twice to interleukin-3 therapy, using short-term and long-term cultures and c-kit analysis. *Br J Haematol* 1996;93:319-325.

McLennan AC, Chitty LS, Rissik J, Maxwell DJ. Prenatal diagnosis of Blackfan-Diamond syndrome: case report and review of the literature. *Prenat Diagn* 1996;16:349-353.

Merkel PA, Simonson DC, Amiel SA, Plewe G, Sherwin RS, Pearson HA, Tamborlane WV. Insulin resistance and hyperinsulinemia in patients with thalassaemia major treated by hypertransfusion. *N Engl J Med* 1988;318:809-814.

Miceli Sopo S, Pesaresi MA, Pastore M, Stabile A. Intravenous immunoglobulin in Diamond-Blackfan anaemia. *Eur J Pediatr* 1990;149:779-780.

Miniero R, Fiandino G, Gracis GC. Diamond-Blackfan syndrome with microphthalmos. *Panminerva Med* 1996;22:25-Mar 22.

Modell CB, Beck J. Long-term desferrioxamine therapy in thalassaemia. *Ann NY Acad Sci* 1974;232:201-210.

Modell CB. Transfusional haemochromatosis. In: Kief H (ed.) *Iron Metabolism and its Disorders*, Excerpta Medica. Elsevier Publ., New York, 1975;pp 230-240.

Modell CB, Letsky EA, Flynn DM, Peto R, Weatherall DJ. Survival and desferrioxamine in thalassaemia major. *Brit Med J* 1982;284:1081-1084.

Monteserin MC, Garcia Vela JA, Ona F, Lastra AM. Cyclosporin A for Diamond-Blackfan anemia: a new case. *Am J Hematol* 1993;42:406-407.

Mori PG, Haupt R, Fugazza G, Sessarego M, Corcione A, Strigini P, Sansone R. Pentasomy 21 in leukemia complicating Diamond-Blackfan anemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1992;63:70-72.

Morimoto T, Shikada M, Yabe H, Yabe M, Hattori K, Shimizu T, Inokuchi S, Tsuji K, Iwasaki K, Banba M, Kato S. Umbilical cord blood transplantation for a patient with Diamond-Blackfan syndrome. *Rinsho Ketsueki* 1997;38:610-615.

Mugishima H, Gale RP, Rowlings PA, Horowitz MM, Marmont AM, McCann, SR, Sobocinski KA, Bortin MM. Bone marrow transplantation for Diamond-Blackfan anemia. *Bone Marrow Transplant* 1995;15:55-58.

Nathan DG, Clarke BJ, Hillman DG, Alter BP, Housman DE. Erythroid precursors in congenital hypoplastic (Diamond-Blackfan) anemia. *J Clin Invest* 1978;61:489-498.

Nathan DG, Hillman DG, Chess L, Alter BP, Clarke BJ, Breard J, Housman DE. Normal erythropoietic helper T cells in congenital hypoplastic (Diamond-Blackfan) anemia. *N Engl J Med* 1978;298:1049-1051.

Niemeyer CM, Baumgarten E, Holldack J, Meier I, Trenn G, Jobke A, Eckhardt K-U, Reiter A, Sauter S, Riehm H. Treatment trial with recombinant human erythropoietin in children with congenital hypoplastic anemia. In: Gurland HJ, Moran, Samtleben W, Scigalla P, Wiczorek L, eds. *Erythropoietin in Renal and Non-Renal Anemias*. Contrib Nephrol. Basel: Karger, 1991:276-280.

Niemeyer C, Bender-Götze C, Klingebiehl, Th, Friedrich W. Diamond-Blackfan anemia: BMT from HLA-identical sibling donor. *Bone Marrow Transpl* 1998;21: S126.

Nienhuis AW. Vitamin C and Iron. *N Engl J Med* 1981;304:170-171.

Olivieri NF, Buncic JR, Chew E, Gallant T, Harrison RV, Keenan N, Logan W, Mitchell D, Ricci G, Skarf B, et al. Visual and auditory neurotoxicity in patients receiving subcutaneous deferoxamine infusions. *N Engl J Med* 1986;314:869-873.

Olivieri NF, Koren G, Hermann C, Bentur Y, Chung D, Klein J, StLouis P, Freedman MH, McClelland RA, Templeton DM. Comparison of oral iron chelator L1 and desferrioxamine in iron-loaded patients. *Lancet* 1990;ii:1275-1279.

Olivieri NF, Grunberger T, Ben-David Y, Ng J, Williams DE, Lyman S, Anderson DM, Axelrad AA, Correa P, Bernstein A, et al. Diamond-Blackfan anemia: heterogenous response of hematopoietic progenitor cells in vitro to the protein product of the steel locus. *Blood* 1991;78:2211-2215.

Olivieri NF, Nathan DG, MacMillan JH, Wayne AS, Liu PP, McGee A, Martin M, Koren G, Cohen AR. Survival in medically treated patients with homozygous β -thalassemia. *N Engl J Med* 1994;331:574-578.

Olivieri NF, Feig SA, Valentino L, Berriman AM, Shore R, Freedman MH. Failure of recombinant human interleukin-3 therapy to induce erythropoiesis in patients with refractory Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 1994;83:2444-2450.

Olivieri NF, Brittenham GM, Matsui D, Berkovitch M, Blendis LA, Camaron R, McClelland RA, Templeton DM, Koren G. Iron chelation therapy with oral deferiprone in patients with thalassemia major. *N Engl J Med* 1995;332:918-922.

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

Olivieri NF, McGee A, Liu P, Koren G, Freedman MH, Benson L. Cardiac disease-free survival in patients with thalassemia major treated with subcutaneous desferrioxamine. *Ann NY Acad Sci* 1997;10: 585-586.

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

Ortega JA, Shore NA, Dukes PP, Hammond D. Congenital hypoplastic anemia inhibition of erythropoiesis by sera from patients with congenital hypoplastic anemia. *Blood* 1975;45:83-89.

Özsoylu S. Bolus methylprednisolone for refractory Diamond-Blackfan syndrome. *Lancet* 1984;2:1033.

Özseylu S. High-dose intravenous methylprednisolone for refractory or resistant Diamond-Blackfan anemia. *Eur J Haematol* 1987;39:190-191.

Özsoylu S. High-dose intravenous corticosteroid treatment for patients with Diamond-Blackfan syndrome resistant or refractory to conventional treatment. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1988;10:217-223.

Özsoylu S. Oral megadose methylprednisolone for Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 1994;84:3245-3247.

O'Brien RT. Ascorbic acid enhancement of desferrioxamine-induced urinary iron excretion in thalassemia major. *Ann NY Acad Sci* 1974;232:221-225.

Pattanapanyasat K, Webster HK, Tongtawe P, Kongcharoen P, Hider RC. Effect of orally active hydroxypyridinone iron chelators on human lymphocyte function. *Brit J Haematol* 1992;82:13-19.

Paulson DN, Engelhardt R, Fischer R, Heinrich HC. The Hamburg biosusceptometer for liver iron quantification. In: Williamson SJ et al. (eds.) *Advances in Biomagnetism*. Plenum Press, New York, 1989;pp 497-500.

Perdahl EB, Naprstek BL, Wallace WC, Lipton JM. Erythroid failure in Diamond-Blackfan anemia is characterized by apoptosis. *Blood* 1994;83:645-650.

Pfeiffer RA, Ambs E. Das Aase Syndrom: autosomal-rezessiv vererbte, konnatal insuffiziente Erythropoese und Triphalangie der Daumen. *Monatsschr Kinderheilk* 1983;131:235.

Pippard MJ, Callender ST, Weatherall DJ. Intensive iron chelation therapy with desferrioxamine in iron loading anemias. *Clin Sci Mol Med* 1978;54:99.

Pippard MJ, Callender ST, Finch CA. Ferrioxamine excretion in iron-loaded man. *Blood* 1982;60:288-294.

Pippard MJ, Callender ST. The management of iron chelation therapy. *Brit J Haematol* 1983;54: 503-507.

Porter JB, Hoyes KP, Abeysinghe RD, Brooks PN, Huehns ER, Hider RC. Comparison of the subacute toxicity and efficacy of 3-hydroxypyridin-4-one iron chelators in overloaded and nonoverloaded mice. *Blood* 1991;78:2727-2734.

Price JM, Brown RR, Pfaffenbach EC, Smith NJ. Excretion of urinary tryptophan metabolites by patients with congenital hypoplastic anemia (Diamond-Blackfan syndrome). *J Lab Clin Med* 1970;75:316-324.

Propper RD, Cooper B, Rufo R, Nienhuis A, Anderson W, Bunn F, Rosenthal A, Nathan D. Continuous subcutaneous administration of desferrioxamine in patients with iron overload. *N Engl J Med* 1977;297:418.

Ramavat LG. Diamond Blackfan syndrome with congenital dislocation of right hip. *Indian Pediatr* 1978;15:179-180.

Rath A, Schmahl G, Niemeyer C. Diamond-Blackfan anemia patients express normal levels of erythroid transcription factors during erythroid differentiation in vitro. [Poster] 1996;88:143a

Rijhsinghani A, Wiechert RJ. Diamond-blackfan anemia in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1994;83:827-829.

Rogers BB, Bloom SL, Buchanan GR. Autosomal dominantly inherited Diamond-Blackfan anemia resulting in nonimmune hydrops. *Obstet Gynecol* 1997;89:805-807.

Saunders EF, Olivieri N, Freedman MH. Unexpected complications after bone marrow transplantation in transfusion-dependent children. *Bone Marrow Transplant* 1993;12 Suppl 1:88-90.

Sawada K, Koyanagawa Y, Sakurama S, Nakagawa S, Konno T. Diamond-Blackfan syndrome: a possible role of cellular factors for erythropoietic suppression. *Scand J Haematol* 1985;35:158-165.

Schofield KP, Evans DI. Diamond-Blackfan syndrome and neutropenia. *J Clin Pathol* 1991;44:742-744.

Scimeca PG, Weinblatt ME, Slepowitz G, Harper RG, Kochen JA. Diamond-Blackfan syndrome: an unusual cause of hydrops fetalis. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1988;10:241-243.

Seip M, Zanussi GF. Cyclosporine in steroid-resistant Diamond-Blackfan anaemia. *Acta Paediatr Scand* 1988;77:464-466.

Seip M. Malignant tumors in two patients with Diamond-Blackfan anemia treated with corticosteroids and androgens. *Pediatric Hematology & Oncology* 1994;11:423-426.

Sephton-Smith R. Iron excretion in thalassaemia major after administration of chelating agents. *Brit Med J* 1961;2:1577.

Sieff CA, Yokoyama CT, Zsebo KM, Trammell J, Andersen JW, Nathan DG, Williams DA. The production of steel factor mRNA in Diamond-Blackfan anaemia long-term cultures and interactions of steel factor with erythropoietin and interleukin-3. *Br J Haematol* 1992;82:640-647.

Sieff C, Guinan E. In vitro enhancement of erythropoiesis by steel factor in Diamond-Blackfan anemia and treatment of other congenital cytopenias with recombinant interleukin 3/granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Stem Cells (Dayt)* 1993;11 Suppl 2:113-122.

Sonakul D, Thakerngpol K, Pacharee P. Pathologic findings in 76 autopsy findings of thalassemia. *Birth Defects* 1988;23:157-176.

Splain J, Berman BW. Cyclosporin A treatment for Diamond-Blackfan anemia [see comments]. *Am J Hematol* 1992;39:208-211.

Spritz RA, Freedman MH. Lack of mutations of the MGF and KIT genes in Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 1993;81:3165.

Steinherz PG, Canale VC, Miller DR. Hepatocellular carcinoma, transfusion-induced hemochromatosis and congenital hypoplastic anemia (Blackfan-Diamond syndrome). *Am J Med* 1976;60:1032-1035.

Steinberg MH, Coleman MF. Diamond-Blackfan anemia: the role of immunoglobulin blocking factor in remission. *Am J Hematol.* 1980;8:213.

Sumimoto S, Kawai M, Kasajima Y, Hamamoto T. Intravenous gamma-globulin therapy in Diamond-Blackfan anemia. *Acta Paediatr Jpn* 1992;34:179-180.

Szabo L, Cholnoky P, Horvath K. Abnormal tryptophan metabolism in congenital erythroid hypoplastic (Diamond-Blackfan) anaemia. *Acta Paediatr Acad Sci Hung* 1976;17:163-167.

Tchernia G, Morinet F, Congard B, Croisille L. Diamond Blackfan anaemia: apparent relapse due to B19 parvovirus. *Eur J Pediatr* 1993;152:209-210.

Töndury P, Kontoghiorges GJ, Ridolfi-Lüthy A, Hirt A, Hoffbrand AV, Lottenbach AM, Sonderegger T, Wagner HP. L₁ for oral iron chelation in patients with beta thalassaemia major. *Brit J Haematol* 1990;76:550-553.

Tsai PH, Arkin S, Lipton JM. An intrinsic progenitor defect in Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol* 1989;73:112-120.

Turcotte R, Bard C, Marton D, Schurch W, Lafontaine E. Malignant fibrous histiocytoma in a patient with Blackfan-Diamond anemia. *Can Assoc Radiol J* 1994;45:402-410.

van Dijken PJ, Verwijs W. Diamond-Blackfan anemia and malignancy. *Cancer* 1995;76:517-520.

van Diemen PC, Maasdam D, Darroudi F, Natarajan AT. -X-ray-sensitivity of lymphocytes of aplastic- and Diamond-Blackfan-anemia patients as detected by conventional cytogenetic and chromosome painting techniques. *Mutat Res* 1997;373:225-235.

Vettenranta K, Saarinen UM. Cord blood stem cell transplantation for Diamond-Blackfan anemia. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:507-508.

Viskochil DH, Carey JC, Glader BE, Rothstein G, Christensen RD. Congenital hypoplastic (Diamond-Blackfan) anemia in seven members of one kindred. *Am J Med Genet* 1990;35:251-256.

Visser GH, Desmedt MC, Meijboom EJ. Altered fetal cardiac flow patterns in pure red cell anaemia (the Blackfan-Diamond syndrome). *Prenat Diagn* 1988;8:525-529.

Vlachos A, Alter BP. The Diamond-Blackfan anemia registry (DBAR). *Pediatr Res*. 1994;35:171A.

Wallmann IS. Hereditary red cell aplasia. *Med J Aust*. 1956;2:488.

Wang WC, Ahmed N, Hanna M. Non-transferrin-bound iron in long-term transfusion in children with congenital anemias. *J Pediatr* 1986;108:552-557.

Wang C, Tso SC, Todd D. Hypogonadotropic hypogonadism in severe beta thalassemia: effect of chelation and pulsatile gonadotropin releasing hormone therapy. *J Clin Endocrinol Met* 1989;68:511-526.

Ware RE, Kinney TR. Transient erythroblastopenia in the first year of life. *Am J Hematol* 1991;37:156-158.

Wasser JS, Yolken R, Miller DR, Diamond L. Congenital hypoplastic anemia (Diamond-Blackfan syndrome) terminating in acute myelogenous leukemia. *Blood* 1978;51:991-995.

Waterkotte GW, McElfresh AE. Congenital pure red cell hypoplasia in identical twins. *Pediatrics* 1974;54:646.

Whitehouse DB, Hopkinson DA, Evans DI. Adenosine deaminase activity in Diamond-Blackfan syndrome. *Lancet* 1984;2:1398-1399.

Whitehouse DB, Hopkinson DA, Pilz AJ, Arredondo FX. Adenosine deaminase activity

in a series of 19 patients with the Diamond-Blackfan syndrome. *Adv Exp Med Biol* 1986;195 Pt A:85-92.

Wiktor-Jedrzejczak W, Szczylik C, Pojda Z, Siekierzynski M, Kansy J, Klos M, Ratajczak MZ, Pejcz J, Jaskulski D, Gornas P. Success of bone marrow transplantation in congenital Diamond-Blackfan anaemia: a case report. *Eur J Haematol* 1987;38:204-206.

Willig TN, Niemeyer C, Leblanc T, Tiemann C, Robert A, Budde J, Lambilliotte A, Kohne E, Souillet G, Stephan JL, Girot R, Bordigoni P, Cornu G, Blanche S, Guillard JM, Mohandas N, Tchernia G. Identification of new prognosis factors from the clinical and epidermological analysis of a registry of 229 Diamond Blackfan anemia patients. *Pediatr Res* 1999; im Druck.

Willig, T.-N., Draptchinskaia, N., Dianzani, I., Ball, S., Niemeyer, C., Ramenghi, U., Orfali, K., Gustavsson, P., Garelli, E., Brusco, A., Tiemann, C., Bouchier, C., Cicchiello, L., Dahl, N., Mohandas, N. & Tchernia, G. (1999) Diamond-Blackfan anemia: Variations in clinical phenotypes caused by mutations in the Ribosomal Protein S19. *Blood* 1999; im Druck.

Wolfe L, Olivieri N, Sallan D, Colan S, Rose V, Propper R, Freedman N, Nathan D. Prevention of cardiac disease by subcutaneous desferrioxamine in patients with thalassemia major. *N Engl J Med* 1985;291:448.

Young TL, Schaffer DB, Cohen AR. Infantile glaucoma associated with the Diamond-Blackfan syndrome. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1992;29:55-58.

Zanjani ED, Rinehart JJ. Role of cell-cell interaction in normal and abnormal erythropoiesis. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1980;2:233-244.

Zhang MY, Clawson GA, Olivieri NF, Bell LL, Begley CG, Miller BA. Expression of SCL is normal in transfusion-dependent Diamond-Blackfan anemia but other bHLA proteins are deficient. *Blood* 1997;90:2068-2074.

Zielke HR, Ozand PT. Elevation of pyrimidine enzyme activities in the RBC of patients with congenital hypoplastic anaemia and their parents. *Br J Haematol.* 1979;42:381.

Zintl F, Hermann J, Fuchs D, Prager J, Muller A, Reiners B, Fuller, J. Korrektur letal verlaufender genetischer Erkrankungen mit Hilfe der Knochenmarktransplantation. *Kinderärztl Prax* 1991;59:10-15.

Zuppinger K, Molinari B, Hirt A, Imbach P, Gugler E, Tönz O, Zurbrügg RP. Increased risk of diabetes mellitus in beta thalassemia major due to iron overload. *Helv Paediat Acta* 1979;34:197-207.

Zurlo MG, DeStefano P, Borgna-Pignatti C, DiPalma A, Piga A, Melevendi C, DiGregorio F, Burattini MG, Terzoli S. Survival and causes of death in thalassaemia major. *Lancet* 1989;i:27-30.