

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Medizinische Klinik und Poliklinik D
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Pavenstädt

Bedeutung der Zink-Protoporphyrin-Bestimmung
für die Steuerung der Eisensubstitution bei
Hämodialysepatienten mit renaler Anämie

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Kurp Gregor

aus Habelschwerdt

2005

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. M. Kosch

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. M. Gaubitz

Tag der mündlichen Prüfung: 11.03.2005

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Medizinische Klinik und Poliklinik D
Direktor: Univ.-Prof. Dr. H. Pavenstädt
Referent : Priv.-Doz. Dr. M. Kosch
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. M. Gaubitz

ZUSAMMENFASSUNG

Bedeutung der Zink-Protoporphyrin-Bestimmung für die Steuerung der Eisensubstitution bei Hämodialysepatienten mit renaler Anämie.

Gregor Kurp

In der vorliegenden Arbeit sollte die Frage geklärt werden, ob Zink-Protoporphyrin (ZnPP) zur Steuerung der Eisentherapie bei Dialysepatienten mit renaler Anämie der Bestimmung von Ferritin und Transferrinsättigung überlegen ist.

Analysiert wurde der Einfluss einer dreiwöchigen, parenteralen Eisentherapie (Eisen(III)-Natrium-Glukonat-Komplex: 0,5 mg/kgKG Ferrlecit® i.v.) auf die Zellindizes der Retikulozyten (MCVr, MCHr) und Erythrozyten (MCV, MCH), bezogen auf die Ausgangswerte von ZnPP, Ferritin und Transferrinsättigung. Zusätzlich wurde der Zusammenhang zwischen der Erythropoetindosis und den Eisenstoffwechselfparametern untersucht.

In die Untersuchung eingeschlossen wurden 181 Dialysepatienten (Ferritin < 1000 µg/l). Ein Monat vor Beginn der Studie wurde die Eisentherapie abgesetzt, die Erythropoetindosis (n=127 Patienten) nicht geändert. In Abhängigkeit von dem Eisenstoffwechselfparameter zeigte sich bei 24,9 bis 44,8 % der Patienten ein Eisenmangel. Zwischen den Eisenstoffwechselfparametern Ferritin, Transferrinsättigung, ZnPP und dem MCV und MCH der Erythrozyten und der Retikulozyten vor Beginn der Eisentherapie bestand eine signifikante Korrelation als Hinweis für die Bedeutung der Eisenverfügbarkeit für die Zellmorphologie (p < 0,06-0,001). Nur bei 23 (12,7%) von 181 Patienten wurde nach Eisengabe ein signifikanter Anstieg der Retikulozytenanteil ($\Delta > 20\%$) beobachtet (p < 0,001). Zwischen Patienten mit signifikantem und geringem Retikulozytenanstieg waren die Eisenstoffwechselfparameter nicht signifikant unterschiedlich (n.s.).

Der MCH-Anstieg nach Eisengabe war bei Patienten mit einem MCHretis < 28 pg größer als bei Patienten mit einem MCHretis > 28 pg ($\Delta 3,1 \pm 2,5$ versus $\Delta 1,1 \pm 2,0$ pg, p < 0,001). Zwischen Änderung der Retikulozytenzellindizes (Δ MCHretis) und Ferritin, Transferrinsättigung sowie ZnPP zeigte sich eine signifikante Beziehung (p < 0,01). Die Zellindizes änderten sich nach Eisengabe sowohl in den Gruppen mit erniedrigter, normaler als auch erhöhter Konzentration von Ferritin, Transferrin sowie ZnPP. Das Ausmaß der Änderung stand im Gegensatz zu Ferritin mit ZnPP und Transferrinsättigung in Beziehung. Die Beziehung zwischen Erythropoetindosis und Eisenstoffverfügbarkeit war deutlicher für ZnPP als für Transferrinsättigung und Ferritin (ZnPP von < 30 µmol/mol Häm EPO-Verbrauch 55,2 ± 61 i.E./kg Woche, ZnPP 30-60 µmol/mol Häm 79,1 ± 66 i.E./kg Woche, ZnPP > 60 µmol/mol Häm 109,0 ± 98 i.E. kg/Woche, p < 0,03). Ein hohes ZnPP geht somit mit einem hohen EPO-Verbrauch einher, unklar ist dabei, ob ein hohes ZnPP Folge einer hochdosierten EPO-Therapie ist oder umgekehrt ein hohes ZnPP aufgrund der Eisenverfügbarkeitsstörung zu einer hohen EPO-Dosis führt.

Die Ergebnisse zeigen, dass Patienten ohne Hinweis auf einen Eisenmangel ebenfalls auf eine Eisentherapie ansprechen. Die ZnPP-Bestimmung hilft jedoch nicht weiter, die Patienten zu selektionieren, die trotz normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration auf eine Eisentherapie ansprechen.

Tag der mündlichen Prüfung: 11.03.2005

Inhaltsverzeichnis

Inhalt	Seite
1.0. Einleitung	7
2.0. Renale Anämie	10
Pathophysiologie, Diagnostik und therapeutische Prinzipien	
2.1. Eisenstoffwechsel	10
2.2. Die wichtigsten Aspekte der Erythropoese.	12
2.2.1. Erythropoetin	12
2.2.2. Erythropoese	14
2.3. Erythropoese bei Dialysepatienten und Erythropoetintherapie	15
2.4. Eisenstoffwechselstörungen – Eisenmangel	17
2.5. Eisenstoffwechseldiagnostik	19
2.5.1. Ferritin	19
2.5.2. Transferrinsättigung	19
2.5.3. Zink-Protoporphyrin	20
Biochemie des ZnPP	21
ZnPP und Eisenmangelanämie	22
ZnPP bei Blei- und Aluminiumintoxikation	23
Nachweis des ZnPP	24
Hämoglobingehalt der Retikulozyten	26
2.6. Besonderheiten des Eisenhaushaltes bei Dialysepatienten	26
2.7. Parentrale Eisentherapie, Risiken und Nebenwirkungen	29
2.8. Empfehlungen zur Eisensubstitution bei Dialysepatienten	33
3.0. Ziel der Arbeit	38
4.0. Material und Methodik	40
4.1. Allgemein	41
4.2. Patientenpopulation	42
4.3. Geprüfte Variable und Korrelation	43
4.4. Statistische Methoden	44
4.5. Labormethoden und Laborzentren	45
4.6. Begleitpräparate	47
5.0. Ergebnisse	48
5.1. Basisstatistik bei Studienbeginn	48
5.1.1. Beziehung zwischen den Eisenstoffwechsel- und Blutbildparametern bei Beginn der Studie	49
5.1.3. Häufigkeit von Eisenmangel in Abhängigkeit von dem Eisen-stoffwechselfparametern Ferritin, Transferrin-Sättigung und ZnPP	53
5.2. Einfluß der Eisentherapie	54

5.2.1.	Retikulozytenzahl-Änderung nach Eisengabe	55
5.2.2.	Änderung der Blutbildparameter unter Eisensubstitution in Abhängigkeit von MCH_{Retis}	57
5.2.3.	Einfluss der Eisentherapie in Abhängigkeit von Ferritin, Transferrin-Sättigung und ZnPP	59
5.3.	Bedeutung der ZnPP-Bestimmung bei Patienten ohne Verminderung der Ferritinkonzentration (Ferritin $>100\mu\text{g/l}$)	65
5.3.1.	Effekt einer Eisentherapie bei einer Ferritinkonzentration von $> 100 \mu\text{g/l}$ in Abhängigkeit von ZnPP	67
6.0.	Diskussion	69
7.0.	Literaturverzeichnis	78
	Danksagung	89
	Lebenslauf	90

Abkürzungen

EPO	Erythropoetin
EPO-Patienten	Patienten die mit rHu-EPO behandelt wurden.
EPO/KG/W	rHu-EPO Dosis pro KgKG und Woche
Fe	Eisen
Hb	Hämoglobin
MCH	Hämoglobingehalt pro Erythrozyt
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres korpuskuläres Volumen
MCHretis (CHr)	Hämoglobingehalt der Retikulozyten
MCHCretis	mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration in Retikulozyten
MCVretis	Mittleres korpuskuläres Volumen in Retikulozyten
rHu-EPO	rekombinantes Humanes Erythropoetin
T.-Sätt.	Transferrin-Sättigung
TEBK	Totale Eisenbindungskapazität
ZnPP	Zink-Protoporphyrin

1.0 Einleitung

Die Behandlung der renalen Anämie stellt eine therapeutische Herausforderung für die Nephrologie dar. Die vorwiegend hyporegenerative, hypochrome und mikrozytäre Anämie bei relativem oder absolutem Erythropoetinmangel⁷⁵ ist oft mit anderen Anämieformen assoziiert. Verkürzte Überlebenszeit der Erythrozyten, Hemmung der Erythropoese durch im urämischen Plasma befindliche Hemmstoffe, Eisenmangelzustände aufgrund des vermehrten Blutverlustes sind weitere wichtige ätiologische Faktoren der renalen Anämie, die bei den Patienten unterschiedlich ausgeprägt sein können⁸¹.

Mit der gentechnologischen Herstellung von rekombinantem humanen Erythropoetin (rHu-EPO) ist eine kausale Behandlung der renalen Anämie möglich geworden. Diese Therapie führt zu Veränderungen im Eisenstoffwechsel, die auf die gesteigerte Erythropoese zurückgeführt werden können⁴⁴. Die Entwicklung eines funktionellen oder absoluten Eisenmangels kann daher ein wesentlicher Grund für eine verminderte Ansprechbarkeit auf die rHuEPO-Therapie sein.

Leider zählen die Eisenstoffwechselstörungen, insbesondere der Eisenmangel, bis heute zu den am häufigsten übersehenen oder in der Labordiagnostik fehlgedeuteten Erkrankungen^{109,28}. Dies liegt insbesondere daran, dass die in der konventionellen Diagnostik angewandten Parameter lediglich (und leider nicht fehlerfrei) verschiedene Eisenkompartimente widerspiegeln, ohne Auskunft über die Verfügbarkeit des Eisens für die Hämatopoese zu geben.

Ferritinwerte (Speichereisen) und Transferrinsättigung (Transporteisen) zeigen noch vor Auftreten von Eisenmangelsymptomen ein absolutes Eisendefizit sehr verlässlich an. Während falsch niedrige Ferritinwerte (im Bereich <30 µg/l) praktisch nicht vorkommen, sind erhöhte Ferritinwerte relativ unspezifisch. Bei chronisch entzündlichen und neoplastischen Prozessen wurde neben einem Abfall von Hämoglobin, MCV und MCH ein paradoxer Ferritinanstieg ohne quantitative Relation zum Reserveeisen

beobachtet^{108,7}. Eine korrekte Interpretation der Erhöhung der Ferritinkonzentration als Zeichen einer Eisenüberladung (z.B. Hämochromatose) ist daher erst nach detaillierter Analyse der individuellen pathologischen Konstellation möglich.

Lediglich **0,05g** von 2-3 g Gesamtkörper Eisen ist an Transferrin gebunden und steht für Erythropoese (tägliche Bedarf ca. 0,03g) zur Verfügung. Insbesondere der unter anderem durch zirkadiane Rhythmus und Nahrungsaufnahme schwankende Eisenspiegel im Serum führt zu einer Variabilität der Transferrinsättigung. Daher ist eine standardisierte Blutentnahme zu festen Zeiten d.h. morgens früh und nüchtern, weiterhin ein sofortiges Einfrieren des Serums sowie zusätzliche Voruntersuchungen (CRP, BSG) zur Beurteilung des Eisenstoffwechsels unabdingbar.

Besondere **praktische Bedeutung** für die Untersuchung einer eisendefizitären Erythropoese scheint das **eisenfreie Erythrozyten-Protoporphyrin** zu haben, dessen Messung durch eine einfache fluorimetrische Methode erleichtert wurde. Mit dieser Methode wird das Protoporphyrin gemessen, das statt mit Eisen mit Zink verbunden ist. Das Ergebnis wird in Form des Quotienten Zinkprotoporphyrin/Häm angegeben. Zink-Protoporphyrin (ZnPP) könnte indirekt als Maß der Verfügbarkeit des Eisens für Häm- und Erythropoese angesehen werden. In mehreren Studien konnte ein prädikativer Wert der ZnPP zur Erfassung der Eisenmangelanämie nachgewiesen werden.

Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit ist es, das Zink-Protoporphyrin (ZnPP) als Screeningsparameter zur Steuerung der Eisentherapie oder der Eisensubstitution bei Dialysepatienten zu untersuchen.

Es soll die Frage beantwortet werden, ob die ZnPP-Bestimmung den „etablierten“ Eisenstoffwechselfparametern Ferritin und Transferrinsättigung zur Steuerung der Eisentherapie bei Dialysepatienten überlegen ist.

Ein ausgeprägter Eisenmangel führt zu einer mikrozytären und hypochromen Anämie. Bei Eisenminderversorgung werden die neu

gebildeten Retikulozyten und Erythrozyten mit weniger Hämoglobin beladen, was sich heute mittels Flow-Zytometrie erfassen lässt, wenn zur Bestimmung des Blutbildes ein Technikon-Analysator (H*3, Bayer Diagnostic, München) verwandt wird⁹³. Ein Eisenmangel kann durch eine Hämoglobinkonzentrationssenkung in den Erythrozyten (MCH) bzw. Retikulozyten (MCHr) ermittelt werden. Eine Mikrozytose und Hypochromie der Erythrozyten wurde daher in den vorliegenden Studien als Hinweis auf Eisenmangel interpretiert.

Im ersten Teil der Arbeit wurde bewiesen, dass erhöhte ZnPP-Werte mit Mikrozytose und Hypochromie der Retikulozyten und Erythrozyten einhergehen. Eine Normalisierung der morphologischen Blutparameter nach parenteraler Eisengabe erlaubt die Diagnose ex juvantibus des Eisenmangel.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde bei Patienten, die bei erhöhter Ferritinkonzentration und erhöhter Transferrinsättigung auf eine parenterale Eisengabe mit einem Anstieg der mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration des Erythrozyten und Retikulozyten reagieren, der prädikative Wert von ZnPP analysiert.

Weiter soll die Frage beantwortet, ob durch die ZnPP-Bestimmung bei den Patienten mit erhöhten Ferritinkonzentration solche rekrutieren werden können, die von einer Eisentherapie profitieren.

2.0 Renale Anämie

Pathophysiologie, Diagnostik und Therapievorschläge

2.1 Eisenstoffwechsel^{42,32,33,96}

Eisen ist als Spurenelement unentbehrlich für alle Lebewesen und ist in jeder Zelle des menschlichen Organismus vorhanden. Als Bestandteil des Hämoglobins und des Myoglobins ist es am Sauerstofftransport im Blut und an der Speicherung in der Muskulatur beteiligt.

Ein gesunder Erwachsener besitzt etwa 3-5 g Eisen. Die physiologischen Verluste sind äußerst gering (Männer < 1 mg/d, Frauen < 2 mg/d, d.h. 400 - 800 mg/Jahr) und werden durch Resorption aus der Nahrung ausgeglichen.

Die Eisenverluste bei Dialysepatienten sind dagegen durch zusätzliche Blutverluste wesentlich größer und liegen zwischen 1000 und 2000 mg im Jahr⁴⁴.

Die tägliche Eisenaufnahme mit der Nahrung beträgt nach Untersuchungen der Weltgesundheitsorganisation etwa 10-30 mg, von der bei Gesunden nur bis 10 % absorbiert wird. Die Absorption des Nahrungseisens erfolgt hauptsächlich im Duodenum und mit abnehmender Effektivität im distalen Dunnarm. Die intestinale Eisenaufnahme wird über die Mucosazellen reguliert. Bei der Senkung oder Erschöpfung der Eisenspeicher erfolgt eine fast ungehinderte Passage des Eisens vom Darmlumen durch die Mucosazellen in das Plasma. Sind die Eisendepots überladen, wird Eisen in Form von Ferritin in der Darmmucosazelle zurückgehalten.

Aufgenommenes Eisen verbleibt in einem praktisch geschlossenen System. Der Organismus hat nach Auffüllung der Depots keine Möglichkeit, Eisen durch erhöhte Extraktion zu eliminieren oder in einer unschädlichen Form abzulagern⁹⁵.

Das Gesamtkorpereisen ist praktisch auf zwei große Kompartiments verteilt: Reserve-Eisenpool und Funktion-Eisenpool. Um die toxische Wirkung von Eisenionen auszuschließen, wird in allen biologischen Systemen der Pool

freien Eisens möglichst gering gehalten⁴⁵. Im Organismus wird Eisen an verschiedene Proteine gebunden oder in diese inkorporiert. Ungefähr 70 % des Körpereisenbestandes befindet sich in den Erythrozyten im Hämoglobin. Im Myoglobin sind etwa 100-300 mg Eisen enthalten. In Enzymen ist weniger als 100 mg Eisen gebunden. In Transport- und Speicherproteinen sind rund 1000 mg Eisen eingebaut.

Der Transport des Eisens zwischen den Kompartimenten erfolgt über ein spezifisches Protein, das Transferrin. Es bindet beinahe das ganze Serumeisen. Das Transferrin wird in der Leber gebildet und verteilt sich zu gleichen Teilen im Plasma sowie im Extrazellularraum. Jedes Molekül bindet zwei Eisenatome, von der Gesamtmenge ist etwa ein Drittel des Transferrins mit Eisen gesättigt. Die Transferrinsättigung wird stets von drei Faktoren beeinflusst:

1. Transferrinspiegel
2. Freisetzung des Eisens aus dem Speicher oder Resorption im Darm
3. Verbrauch des Eisens in transferrinrezeptorhaltigen Zellen.

Der Transferrin-Eisen-Komplex wird über spezifische Rezeptoren auf der Zelloberfläche gebunden und durch Endozytose ins Zellinnere aufgenommen. Alle kernhaltigen Zellen des Organismus können Transferrinrezeptoren bilden. Die Eisengabe erfolgt im Zytosol. Hier werden Eisenionen in Zellferritin und Hämosiderin gespeichert. In den Retikulozyten wird das Eisen in Mitochondrien transportiert, wo die Hämbildung stattfindet.

Bei gesunden Menschen spiegelt das Serumferritin die intrazelluläre Eisenspeicherung (Reserve-Eisenpool) korrekt wider. Die Serumeisenkonzentration ist dagegen kein Parameter der Eisenspeicherung. Die Speicherung durch Ferritin ist reversibel; Eisen kann bei erhöhtem Bedarf relativ rasch aus Ferritin abgegeben und reutilisiert werden. Hingegen ist die Eisenbindung an intrazelluläres Hämosiderin weitgehend

irreversibel. Eisenbindung an Hämosiderin stellt einen Eisenverlust “nach innen” dar.

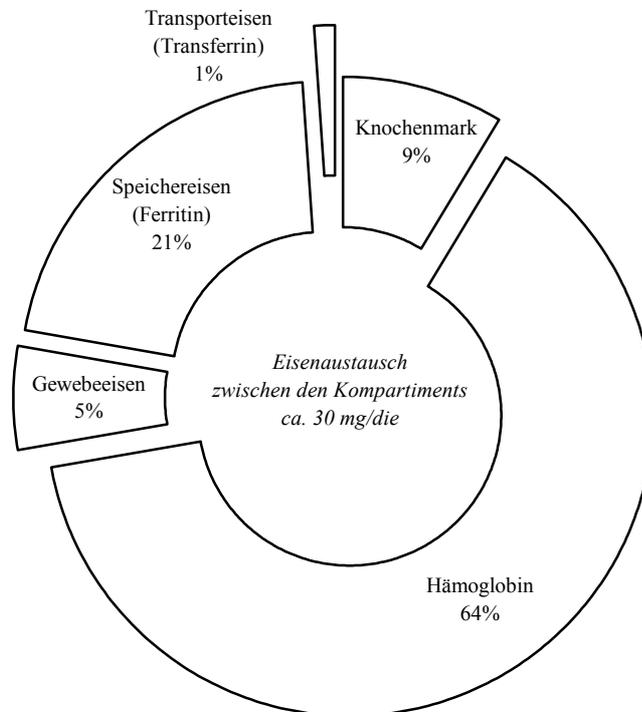


Abbildung 1: Planimetrische Darstellung der Eisenkompartiments, modifiziert nach Werner (1981), Roth (1986), Kaltwasser (1991), Grützmaker (1992)

2.2. Die wichtigsten Aspekte der Erythropoese.

2.2.1. Erythropoetin

Erythropoetin ist ein Glykoproteidhormon^{76,81}, das der Gruppe der hämatologischen Wachstumsfaktoren angehört. Das endogene Erythropoetin wird überwiegend in den Nieren, etwa 10-15% in der Leber und in geringer Menge in Makrophagen⁸⁸ gebildet.

Die normale Serumkonzentration des endogenen Erythropoetin beträgt bei Menschen 13-28 mU/ml.

Die Elimination aus dem Plasma erfolgt durch hepatische Metabolisierung und Aufnahme in das Knochenmark. Weniger als 10% des endogen gebildeten Erythropoetins werden unverändert im Urin ausgeschieden^{98,89}.

Die Bildung von Erythropoetin wird durch eine Anämie oder Hypoxie stimuliert. Bei Patienten mit nichtrenaler Anämie besteht eine inverse Beziehung zwischen dem Hämatokrit und der Erythropoetinkonzentration im Plasma⁸⁷, so dass es z.B. bei einer Hämatokritsenkung nach Blutverlusten schon wenige Stunden später zum regulatorischen Anstieg des Plasmaerythropoetins^{87,104} kommt. Diese Beziehung ist bei Patienten mit Nierenerkrankungen deutlich abgeschwächt^{81,76,87,23}.

Die renale Synthese von Erythropoetin ist primär vom Sauerstoffpartialdruck (pO_2) im Nierengewebe (im venösen Schenkel der Mikrozirkulation) abhängig⁵⁴.

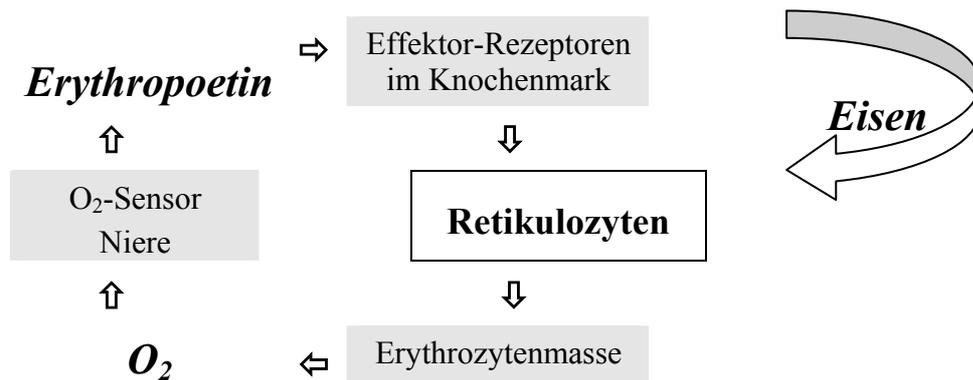


Abbildung 2: Feedback-Regulation der Bildung von roten Blutzellen^{81,76} (modifiziert nach Erslev 1991; Erythropoietin Titors in Health and Disease; Sem. Hematol. 28 Suppl. 3; 1991)

Das endogene Erythropoetin entfaltet seine direkte Wirkung auf die Erythropoese im Knochenmark und stimuliert die Entwicklung von erythroiden Vorläuferzellen in reife Erythrozyten.

In der Entwicklung der Blutzellen unterscheidet man im Allgemeinen drei verschiedene funktionelle Stadien, die als Stammzellen-Kompartiment, als Proliferations- und Differenzierungs-Kompartiment sowie als Stadium der Reifung beschrieben werden⁸¹.

Erythropoetin fördert nicht nur die Proliferation der Vorläuferzellen der roten Blutreihe und deren Differenzierung, sondern auch die Zellreifung der Erythroblasten mit einer Zunahme der Hämoglobinsynthese. Durch die Entkernung der Normoblasten entstehen die Retikulozyten, deren Fähigkeit zur RNS- und Eiweissynthese im Verlauf abnimmt³³.

2.2.2. Erythropoese

Die normale Lebensdauer der peripher zirkulierenden Erythrozyten beträgt bei Gesunden 120 Tage und bei Dialysepatienten durch Hämolyse und Blutverluste 60-90 Tage.

Die Erythropoese ist ein sorgfältig kontrollierter Prozeß. Sie dauert insgesamt etwa 7 Tage. Im Reifestadium (5 Tage) und in der Retikulozytenphase (2-3 Tage) wird der Gesamthämoglobingehalt gebildet³³.

Retikulozyten treten in ihrer letzten Reifungsstufe aus dem Knochenmark in das Blut und reifen hier endgültig aus, dabei verlieren sie sowohl Hämoglobin als auch Volumen⁸⁴.

Über den Erfolg der Erythropoese entscheidet die Hämoglobinsynthese. Sie ist hauptsächlich von der Eisenzufuhr zu den Normoblasten, dem intrazellulären Transport in die Mitochondrien und dem Einbau des Eisenmoleküls in den Protoporphyrin-Ring abhängig. Über den endgültigen Hämoglobingehalt des Erythrozyts entscheidet somit hauptsächlich die Protoporphyrin IX-Synthese und die Eisenverfügbarkeit in den letzten 3-4 Tagen der Erythropoese⁶².

Die relative und absolute Retikulozytenzahl ist ein Maß für die effektive Blutbildung.

Man unterscheidet:

-hyporegenerative (z.B.: Eisenmangel, Vit-B₁₂-Mangel, Folsäuremangel) Anämien mit niedriger oder niedrig normaler Retikulozytenzahl

-hyperregeneratorische (meist hämolytische) Anämien mit erhöhter Retikulozytenzahl⁸⁴.

Bei stärkerer Stimulation der Erythropoese durch Erythropoetin, insbesondere bei hämolytischen Prozessen, tritt der Retikulozyt bereits früher ins periphere Blut über, so daß der Retikulozytenanstieg überproportional hoch ist und zur Überschätzung der Erythropoeseaktivität führen kann¹⁴.

2.3. Erythropoese bei Dialysepatienten und Erythropoetintherapie.

Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz kommt es aufgrund des Zelluntergangs von Nierengewebe zu einer deutlich verminderten Erythropoetinsynthese. Infolgedessen wird eine normochrome, normozytäre hypoproliferative Anämie beobachtet¹¹⁰. Die endogenen Erythropoetinserumspiegel liegen unterhalb der auf den Hämatokrit bezogenen Sollwerte, so daß ein absoluter oder relativer Erythropoetinmangel als Hauptursache der renalen Anämie anzusehen ist^{87,23,104}. Die Anpassung der Erythropoetinsynthese an aktuelle Bedürfnisse ist bei Dialysepatienten deutlich abgeschwächt^{81,76,87,23}.

Der relative Erythropoetinmangel ist oft mit anderen Anämieformen assoziiert. Akute (z.B. perioperative) Blutungen führen bei diesen Patienten zu keinem reaktiven Anstieg der Erythropoetinsynthese.

Verkürzte Überlebenszeit der Erythrozyten⁴⁴ (gesteigerte Hämolyse), Hemmung der Erythropoese durch urämische im Plasma befindliche Hemmstoffe, Eisen-, L-Carnitin, Vit-B₁₂- und Folsäure-Mangelzustände⁸⁵ und eine Protein-Mangelernährung sind zusätzlich wirkende ätiologische Faktoren der renalen Anämie⁸¹.

Seit Mitte der 80-iger Jahre ist die gentechnologische Herstellung von rekombinantem Erythropoetin möglich. Das Produkt stimmt in seinen biologischen Eigenschaften gut mit dem nativen menschlichen Erythropoetin überein. Während der rHuEPO-Therapie wurde zweifellos ihre dosisproportionale Wirkung auf die Erythropoese nachgewiesen.

Das gentechnologisch hergestellte Erythropoetin kann intravenös oder subkutan verabreicht werden. Ein Vergleich zwischen beiden Applikationen zeigt, daß beträchtliche pharmakokinetische Unterschiede zwischen den Verabreichungsformen bestehen^{59,61,69}.

Nach intravenöser Anwendung von 150 U/kg rHuEPO (~10000 U) wurden mittlere maximale Serumkonzentrationen von 3000 bis 5000 mU/ml gemessen; die Serumkonzentration fällt innerhalb von 48 Stunden wieder in den Bereich der endogenen Erythrozyten-Ausgangswerte ab. Die Halbwertszeit der Elimination (h^{-1}) beträgt ~8 Std. (Tabelle 2)

Nach subkutaner Verabreichung von rHu-EPO sind die Resorption und das Erreichen der maximalen Serumkonzentration gegenüber der intravenösen Applikation zeitlich verzögert^{59,69}.

Parameter	Art der Verabreichung	
	Intravenös	Subkutan
Bioverfügbarkeit (%)	100	21,5 (nach 24 Std.) 31 (nach 72 Std.)
t_{max} (h)	0	5-18
Halbwertszeit der Elimination (h^{-1})	8 (3-16)	28
Verteilungsvolumen (ml/mg)	21-107	
Konstante der Eliminationsrate (h^{-1})	0,087	0,025
Serum-Clearance (ml(min/kg))	0,047 (0,032-0,085)	

Tabelle 2: Vergleich pharmakokinetischer Parameter nach intravenöser und subkutaner Anwendung von rHuEPO-Einzeldosen bei Dialysepatienten⁸¹. (Adaptiert nach Faulds & Sorkin, Drugs 38 (6) 1989)

Die häufigsten Nebenwirkungen der rHuEPO-Therapie sind Bluthochdruck, Kopfschmerzen, Tachykardie, Gerinnungs- und Gastrointestinalstörungen. Von besonderer Bedeutung ist die Entwicklung einer Hypertonie unter der

rHuEPO-Therapie. Die Entwicklung einer Hypertonie kann nicht durch direkte Wirkungen des Erythropoetins erklärt werden, sondern steht mit der Zunahme des Hämatokrits in Zusammenhang. Besonders bei Patienten mit langjähriger Adaptation an niedrige Hämatokritwerte kommt es neben der Zunahme der Blutviskosität zur Erhöhung des peripheren Widerstandes (Umkehr der während der Anämie auftretenden arteriölen Vasodilatation)³⁴.

2.4. Eisenstoffwechselstörungen - Eisenmangel

Eisenstoffwechselstörungen gliedern sich in Eisenmangel, Eisenüberladung sowie in Eisenverteilungs-, und Eisenverwertungsstörungen¹⁰⁹ mit und ohne Beeinträchtigung der Erythropoese. Eisenmangel ist definiert als Verminderung des Körpereisenbestandes⁵⁷.

Solange die Versorgung der Organe mit Eisen ausreichend ist, bleibt der Eisenmangel asymptomatisch. Erst wenn diese Versorgung den Anforderungen nicht mehr entspricht, kommt es zur symptomatischen Organdysfunktion.

Eine laborbezogene Klassifizierung des Eisenmangels berücksichtigt überwiegend quantitative Ergebnisse der Blutuntersuchung⁴⁹ (Tabelle 5)

	NORM	Eisenmangel	Eisendefizitäre Erythropoese	Eisenmangelanämie
Eisenspeicher				
Transporteisen				
Hämoglobin-Eisen				
Knochenmarkpräparat (Berliner Blau Reaktion)	2-3 (+)	0-1 (+)	(-)	(-)
Serumferritin (µg/l)	100 ± 60	20	10	<10
Eisenabsorption (%)	5-10	10-15	10-20	10-20
Transferrin (µg/100 ml)	330 ± 30	360	390	410
Serumeisen (µg/dl)	115 ± 50	115	<60	<40
Transferrinsättigung (%)	35 ± 15	30	<15	<10
Sideroblasten (%)	40-60	40-60	<10	<10
Freies Erythrozytenprotoporphyrin (µg/100 ml Erythrozyten)	30	30	100	200
Erythrozyten (MCV, MCH) Retikulozyten (MCVr, CHR)	Norm	Norm	Norm	Hypochromie Mikrozytose

Tabelle 5. Eisenmangelentwicklung bei Erwachsenen. (Finch 1965, Bothwell 1979, Hillman und Finch 1985)

2.5. Eisenstoffwechseldiagnostik

2.5.1. Ferritin

Ferritin ist der Haupteisenspeicher und bindet 15-20% (um 1000 mg) des gesamten Körpereisens. Die Ferritinkonzentration im Plasma zeigt einen sehr weiten Referenzbereich (30-400µg/l bei Männern und 30-150µg/l bei Frauen) und ist von der Bestimmungsmethode abhängig. Der individuelle Serumferritinwert ist bei gesunden Individuen bemerkenswert stabil. Es besteht eine direkte Korrelation zwischen der Ferritinkonzentration und dem verfügbaren Speichereisen^{84,9,70}. Bei Serumferritinwerten von kleiner 500µg/L gilt, daß 1 µg/l Ferritin ungefähr einer gespeicherten Eisenmenge von 8 mg entspricht³⁷. Ferritinwerte zeigen noch vor Auftreten von Eisenmangelsymptomen ein absolutes Eisendefizit sehr verlässlich an. Während falsch niedrige Ferritinwerte (im Bereich <30 µg/l) praktisch nicht vorkommen, sind erhöhte Ferritinwerte relativ unspezifisch. Bei chronisch entzündlichen und neoplastischen Prozessen wurde neben einem Abfall von Hämoglobin, MCV und MCH ein paradoxer Ferritinanstieg ohne quantitative Relation zum Reserveeisen beobachtet^{108,7}. Eine korrekte Interpretation der Ferritinerhöhung als Zeichen einer Eisenüberladung (z.B. idiopathische Hämochromatose) ist daher erst nach detaillierter Analyse der individuellen pathologischen Konstellation möglich.

2.5.2 Transferrinsättigung

Zur Berechnung der Transferrinsättigung stehen 2 verschiedene Formeln zur Verfügung, je nachdem ob Transferrin immunologisch oder die TEBK (Totale Eisenbindungskapazität) bestimmt wird. Grundsätzlich ist für die Eisendiagnostik die TEBK vorzuziehen, da hier die Eisentransportkapazität direkt erfaßt wird. Wegen der Automatisierung der immunologischen

Transferrinbestimmung wird allerdings diese Methode von vielen klinisch-chemischen Laboratorien bevorzugt.

$$\text{Transferrinsättigung\%} = \frac{\text{Serum-Fe } (\mu\text{g/dl})}{\text{Transferrin}(\text{mg/dl}) \times 70,9}$$

2.5.3. Zink-Protoporphyrin

Lamola und Yamane erbrachten 1971 den Nachweis, daß es sich bei der im Zusammenhang mit Bleivergiftung und Eisenmangelzuständen auftretenden Protoporphyrinämie um **Zink-Protoporphyrin** handelte⁶⁶. Ihre Erkenntnis stützte sich auf die Beobachtung, daß ein Großteil der Erythrozyten von Patienten mit chronischer Bleivergiftung und mit Eisenmangelanämie rote Fluoreszenz bei Bestrahlung mit blauem Licht emittierte, während Erythrozyten gesunder Menschen keine Fluoreszenz zeigten, da Protoporphyrin mit Eisen gebunden nicht fluoresziert^{91,25,26,27,66,91}.

Mit dieser Erkenntnis schafften Lamola und Yamane die Voraussetzungen für eine einfache und spezifische Screening-Methode zur Erkennung von Bleivergiftungen und der Eisenmangelanämie^{10,25,26,27,30,64,68,82}. Dieselbe Arbeitsgruppe entwickelte die Hämatofluorometrie zum schnellen Nachweis von ZnPP in geringen Blutmengen¹⁰. Die bis zu diesem Zeitpunkt traditionell als Screening-Methode zur Aufdeckung von Bleiintoxikationen durchgeführte direkte Messung der Bleikonzentration im Blut zeigte aufgrund ihrer aufwendigen Durchführung und der Gefahr der Kontamination der Proben große Nachteile. Durch die Messung des ZnPP hatte man einen Indikator für erhöhte Bleikontamination gefunden, der bereits erste metabolische Defekte zu einem Zeitpunkt anzeigte, zu dem noch keine ernsthaften toxischen Schäden oder Symptome zu erwarten waren. So konnten Personen mit erhöhten ZnPP-Konzentrationen anschließend einer gezielten weiteren Diagnostik zugeführt werden^{11,25,26,27,72}.

Biochemie des ZnPP

Im letzten Schritt der Hämsynthese wird Eisen in Protoporphyrin IX eingebaut. Es entsteht das Häm. Der Einbau von Eisen wird durch die Ferrochelatase katalysiert^{19,20}. Camado et al. haben in vitro nachgewiesen, daß die Ferrochelatase sowohl eine Reaktion mit einem Fe^{2+} -Ion als auch mit anderen zweiwertigen Metall-Ionen (Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+}) katalysieren kann^{19,20}, wobei die Zink-Protoporphyrin-Verbindung die größte pathophysiologische Relevanz aufweist.

Die Hypothese der enzymatischen ZnPP-Bildung wird durch die Beobachtung gestützt, daß ZnPP nicht bei Patienten mit einem angeborenen Ferrochelatase-mangel (Erythropoetische Porphyrie) entsteht, sondern es zur vermehrten Bildung von metallfreiem Protoporphyrin kommt^{63,66,19}. Sandberg et al. demonstrierten, daß die Hinzufügung großer Mengen an Zink in diesem Fall nicht zur vermehrten Bildung an ZnPP führte⁹¹.

In weiteren Studien wurde die relative Syntheserate von Häm und von Zink-Protoporphyrin unter der Voraussetzung gemessen, daß adäquate Konzentrationen beider Metalle, Fe^{2+} und Zn^{2+} simultan im Testansatz vorhanden waren. Fe^{2+} -Ionen haben sich dabei als ein effektiver Konkurrent von Zn^{2+} -Ionen erwiesen und fungieren als "Inhibitor" der ZnPP-Bildung. Der Schluß liegt daher nahe, daß Zink als Ferrochelatase-Substrat dient, wenn die Eisenkonzentration unter ein suboptimales Niveau fiel. Camadro und Labbé postulieren somit, daß die Fähigkeit der Ferrochelatase, Protoporphyrin IX mit dem Zink zu bilden, vom Mangel an verfügbarem Fe^{2+} abhängig ist¹⁹.

ZnPP und Eisenmangelanämie.

Während der normalen Erythropoese steht die Produktion von Zink-Protoporphyrin in einem ausgewogenen Verhältnis mit der Hämsynthese. Auf 30.000 Häm-Moleküle in reifen Erythrozyten wird nur ein einziges Zn-

Protoporphyrinmolekül gefunden⁶². Zwei Faktoren können für eine Störung dieses Gleichgewichtes verantwortlich sein:

1. Eisenmangel bei normaler Protoporphyrin Synthese,
2. die Überproduktion an Protoporphyrin bei normaler Eisenbereitstellung⁶².

Die Domäne der ZnPP-Bestimmung wird von einigen Autoren unter anderem darin gesehen, daß bereits ein Eisenmangel bereits in symptomlosem Stadium diagnostiziert werden kann. Hastka teilte den Eisenmangel anhand der ZnPP-Werte in drei Stadien ein, den Reserveeisenmangel (REM), die eisendefizitäre Erythropoese (EDE) und die Eisenmangelanämie (EMA). Ferritin war in sämtlichen Studien erniedrigt, Hämoglobin lag bis zum Stadium der Eisenmangelanämie im Normbereich. ZnPP war bei REM-Patienten normal (30 ± 8 $\mu\text{mol/mol}$ Häm), bei EDE-Patienten erhöht (Range 48-83 $\mu\text{mol/mol}$ Häm) und bei EMA-Patienten stark erhöht (Range 114-661 $\mu\text{mol/mol}$ Häm). Hastka schließt bei vorliegenden normalen ZnPP-Werte eine eisendefizitäre Erythropoese (EDE) und somit einen **klinisch relevanten** Eisenmangel aus⁴⁸. Labbé wies in mehreren Studien signifikante Korrelationen zwischen sinkenden Ferritinspiegel und parallel dazu ansteigenden ZnPP-Konzentrationen im Stadium des relativen Eisenmangels nach, während Serumeisen und Transferrinsättigung den aktuellen Eisenstatus nicht korrekt wiedergaben⁶³. McLaren et al. demonstrierten eindeutige Zusammenhänge zwischen Erythrozyten-Protoporphyrin und Eisendepots des Knochenmarks. Sie fanden stark erhöhte ZnPP-Werte bei Patienten mit vermindertem bzw. entleertem Knochenmarkeisen im Vergleich zu gesunden Individuen⁷⁴.

Trotz der Bedeutung von ZnPP für die Diagnostik des Eisenmangels überrascht es, daß dieser inzwischen sehr einfach zu bestimmende Parameter noch keinen Eingang in die allgemeine klinische Labordiagnostik gefunden hat. Auch dies ist ein Grund, im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Rolle des ZnPP bei Diagnostik des Eisenmangels bei Hämodialysepatienten zu untersuchen.

ZnPP bei Blei- und Aluminiumintoxikation

Eine akute Bleivergiftung führt zur Hemmung der Ferrochelatase und beeinträchtigt dadurch den intrazellulären Eisentransfer, so daß ein Eisenmangel-ähnlicher Zustand verursacht wird. Auch die Protoporphyrinsynthese ist durch Hemmung der δ -Aminolävulinsäure-Synthetase und der δ -Aminolävulinsäure-Dehydratase beeinflusst.

Schwartz et al.¹ zeigten, daß die akute Bleivergiftung zu einem initialen Anstieg von metalfreiem Protoporphyrin führt, gefolgt von einem späteren Anstieg von ZnPP. Diese Beobachtung läßt zwei Hypothesen zu:

1. eine **direkte Hemmung der Ferrochelatase** durch Blei im Falle der akuten Intoxikation
2. eine Hemmung der **Eisenzufuhr** auf intrazellulärer Ebene bei langdauernder chronischer Bleiexposition, entweder durch eine Transportreduktion oder durch verminderter Reduktion von Fe^{3+} zu Fe^{2+} ^{63,20}.

Ein Anstieg von ZnPP kann somit ein Indikator einer **verminderten Eisenverfügbarkeit** darstellen, der durch eine Bleivergiftung verursacht werden kann.

Aluminium (Al^{3+}) konkurriert mit dem Eisen auf mehreren Ebenen des Eisenstoffwechsels und führt zu einer mikrozytären und hypochromen Anämie ^{100,9}. Gastrointestinale Absorption⁵³, extra- und intrazelluläre Distribution des Eisens wird durch die Aluminiumintoxikation beeinträchtigt. Der größte Teil des Plasmaaluminiums (90%) ist an Transferrin gebunden. Eisen (Fe^{3+}) hat zwar eine 10fach höhere Affinität zum Transferrin als Aluminium (Al^{3+}), allerdings kann sich das Aluminium bei der Transferrinsättigung von normalerweise 30 % mit 70% des freien Transferrins binden. Das Aluminium wird auch schneller vom Transferrin frei gesetzt und mit Transferrinrezeptoren verbunden. Aufgrund des kompetitiven Antagonismus kommt es zur Beeinträchtigung des

intrazellulären Eisentransports und einer verminderten Reduktion von Fe^{3+} zu Fe^{2+} .

Nachweis des ZnPP

Die laborchemischen Nachweisverfahren für Protoporphyrin waren in früheren Jahren sehr aufwendig und kompliziert. Erst in den 70-iger Jahren wurden sie vereinfacht und speziell zum einfachen, schnellen Nachweis von FEP in geringsten Probenvolumina weiterentwickelt^{27,66,82,83}. Allen diesen Methoden war eine anfängliche Behandlung mit starken Säuren gemein, wodurch ZnPP zu FEP konvertierte^{64,66}. Eine Verbesserung dieser Vorgehensweise war die Verwendung von neutralen bzw. leicht sauren Extraktionlösungen, wodurch die Gewinnung von ZnPP und dessen Konservierung als Zink-Chelat möglich war^{24,46}. Dennoch konnten sich diese Methoden nicht als klinische Routineverfahren etablieren. Als Alternativmethode fand der Nachweis mittels Hochdruck-Chromatographie Verwendung, die sowohl die Extraktion von ZnPP als auch von metallfreiem Protoporphyrin erlaubte und deren Isolierung und Identifizierung anschließend fluorometrisch erfolgte⁶.

Protoporphyrin IX ist fluoreszent. Durch die Verbindung mit Eisen wird diese Fluoreszenz stark reduziert. Nach Einbau von Zink wird die Fluoreszenz nicht herabgesetzt, so daß Zink-Protoporphyrin hämatofluorometrisch gemessen werden kann.

Als Synonym für "Front-Face-Hämatofluorometer" optisch dichter Substanzen kann man den Terminus Reflektionsfluorometrie benutzen, was bedeutet, daß das Anregungslicht (Exzitation) von einer dünnen Schicht der Probe vollkommen absorbiert wird bzw. die Fluoreszenz des zu untersuchenden Stoffes von der Oberfläche ausgestrahlt wird. Die erhaltene Fluoreszenz ist proportional dem Verhältnis der Absorption der

fluoreszierenden Substanz zur Gesamtabsorption der Probe. Die Intensität der Fluoreszenz ist wiederum proportional der Konzentration der gesuchten Substanz, wenn die Absorption des fluoreszierenden Stoffes eine schmale Fraktion der totalen Absorption darstellt. Häm absorbiert den größten Teil des sichtbaren Lichtes mit einem Absorptionsmaximum zwischen 400 und 430 nm. Die Konzentration von Hämoglobin ist so intensiv, daß zwei Zellschichten 99 % des Lichtes einer Wellenlänge von 415 nm absorbieren. Da die Fluoreszenz lediglich aus den oberflächlichen Schichten der Probe emittiert wird, kann die Probe auch dicker aufgetragen werden, ohne daß das Ergebnis verfälscht wird.

Die Hämatofluorometrie, die speziell nur zum Nachweis von ZnPP konzipiert wurde, hat jedoch geringe Tauglichkeit zur Identifizierung von metallfreiem Protoporphyrin. Nachdem sich ca. 5% metallfreies Protoporphyrin unter Erythrozyten-Protoporphyrin befindet, herrscht mitunter eine Diskrepanz zwischen dem Nachweis mittels Säueextraktion und Hämatofluorometrie. Wenngleich in der Literatur die enge Beziehung von ZnPP und der Gesamtheit des metallfreien Protoporphyrin beschrieben wird⁶⁶, so sollte die Interpretation der Ergebnisse mit Vorsicht erfolgen, da der vermehrte Nachweis von metallfreiem Protoporphyrin richtungsweisend für die EPP, akute Bleiintoxikation oder beschleunigte Erythropoese sein kann⁶¹.

Der Normwert liegt bei 30 ± 8 $\mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$ (gewaschene Erythrozyten). Der ZnPP-Wert kann besonders bei Bleivergiftung bis zu $1000 \mu\text{mol/mol Häm}$ ansteigen.

Wenn in letzten 2-3 Tagen der Hämsynthese Eisenversorgungsstörungen auftreten, wird im Mitochondrium des Retikulozyts Zink anstelle von Eisen in den Protoporphyrin-Ring eingebaut. Ein erhöhte ZnPP/Häm-Verhältnis wird im Retikulozyt und später im Erythrozyt bis zu seinem Abbau, d.h. 80-120 Tage lang, gemessen. Damit spiegelt der Anteil von ZnPP am

Hämoglobin in etwa ein Integral der Eisenversorgung der Hämsynthese der letzten 2-3 Monate wider (Ähnlichkeit mit der HbA_{1c}). Da Hämoglobin emittiertes Licht absorbiert, ist die Angabe als Verhältnis ZnPP/Häm sinnvoll, damit die ZnPP-Fluoreszenz unabhängig vom Hämoglobinwert ist.

2.5.4. Hämoglobingehalt der Retikulozyten

Moderne Blutanalytoren sind heute in der Lage, Retikulozyten zu quantifizieren und individuelle Zellen hinsichtlich ihres Volumens (MCVr) und ihres Hämoglobingehalts (MChR oder ChR) zu beurteilen⁹⁴. Nach Fishbane ist ein ChR < 29 pg, bestimmt mit einem Technikon-H*3 Blutbild-Analysator, ein eindeutiger Hinweis für das Vorliegen einer eisendefizitären Erythropoese. Im Gegensatz zu Ferritin und Transferrin-Sättigung ist ChR-Wert ein direkter Indikator für die Eisenversorgung des Knochenmarks³⁸. Tsuchiya et al. berichteten kürzlich über Untersuchungen bei Hämodialysepatienten, die bereits bei einem ChR-Wert von weniger als 32 pg eine eisendefizitäre Erythropoese aufweisen. Die Autoren hatten die ChR mit dem neueren ADVIA-120-System gemessen. ChR erwies in dieser Untersuchung als schneller und äußerst stabiler Parameter zur Abschätzung der Eisenversorgung des Knochenmarks. Auch erwies sich ChR als zuverlässiger Indikator zur Steuerung der Eisensubstitution. Die Autoren favorisieren die Bestimmung des Hämoglobin- und ChR-Wertes als einzigen Parameter zur Überwachung von Eisen- und Erythropoetinsubstitution¹⁰³.

2.6. Besonderheiten des Eisenhaushaltes bei Dialysepatienten.

Es ist erstaunlich, wie verschieden der Eisenstatus bei Hämodialysepatienten ist. Fast in jedem Dialysezentrum findet man das ganze Spektrum der Eisenstoffwechselstörungen, vom Eisenmangel durch Eisenverwertungsstörungen bis hin zur Eisenüberladung. Laborwerte

einzelner Patienten weisen meistens auf mehrere pathologische Prozesse hin, so daß sich oft nur eine “führende Störung” nachweisen läßt. Weiter ist der Eisenstatus bei Dialysepatienten durch chronische Blutverluste so labil, daß seine ständige Kontrolle unentbehrlich ist.

Unter einer langjährigen normozytären und normochromen, renalen Anämie mit Hämoglobinwerten von 5-6 g% und normalem Ferritinspiegel verbirgt sich ein **ausgeprägtes Eisendefizit** im Organismus. Ein Dialysepatient mit einer Hämoglobinkonzentration von 5 g% hat ungefähr **1/3** des Gesamtkörpereisens eines gesunden Menschen. Durch Einführung der rHuEPO-Therapie mußte die Eisenzufuhr erhöht werden. Um einen Hämoglobinwert von 10 g% unter der Therapie mit rHu-EPO zu erreichen, muß die verfügbare Eisenmenge fast verdoppelt werden.

Auch bei Patienten mit einem ausreichenden Gesamteisengehalt kann es im Verlauf einer Erythropoetinsubstitution zu einem **funktionellen Eisenmangel** kommen. Eine stärkere Knochenmarkstimulation führt bei nicht ausreichender Eisenmobilisation aus dem Speicher sowie einer geringen Eisentransportkapazität zu einer eisendefizitären Erythropoese. Aus diesem Grund werden ein Anstieg der hypochromen Erythrozyten^{17,29,39,40,77}, des Zink-Protoporphyrin (ZnPP) und ein Abfall der Transferrinsättigung beobachtet. Aufgrund der Eisenresorptionshinderung und der Blutverluste droht den Hämodialysepatienten ein **chronischer Eisenmangel** mit Entleerung des Eisenspeichers (Ferritinabfall) und eine Eisenmangelanämie mit MCV-, MCH, und MCHC-Abfall (Tabelle 6)

Tabelle 6. Spezifische für Dialysepatienten Ursachen des Eisenmangels.

1. Resorptionshinderung

- a. Pharmakokinetisch-durch gleichzeitige Einnahme von Eisenresorptions-hemmenden Substanzen, z.B. Calcium- und Aluminiumpräparate.
- b. Urämiebedingte, chronische Darmschleimhautentzündung.

2. Chronische und akute Blutverluste

- a. Restblut in Dialysatoren und Schlauchsystemen.
- b. Intensive Labordiagnostik.
- c. Gefäßoperationen (Shunt-Korrekturen).
- d. Postpunktionelle Shuntblutungen.

3. Chronische Abwehrsystem-Aktivierung^{12,13,21,41,105,107} mit einem Eisenverlust “nach Innen” durch Eisenverschiebung in das RES

- a. Häufigere Infektionen als in der gesunden Population.
- b. Nicht biokompatible Dialysesysteme.

Polytransfusion und eine unkontrollierte parenterale Eisentherapie führt bei Dialysepatienten häufig zur Eisenüberladung. Der hohe Serumferritinspiegel entspricht hier dem schwer für die Hämatopoese verfügbarem, an Hämosiderin gebundenen Eisen. Neben den pathologischen Eisenablagerungen in allen Organen wird hier aber die Existenz eines kleinen “normalen” Eisenspeicher vermutet, der den Bedarf des Organismus auf Eisen ausgleichen soll. Eine stärkere hämatopoetische Stimulation des Knochenmarks führt zur schnellen Entleerung des labilen Eisenpools und trotz einer Eisenüberladung zu einem “Zusammenbruch” der Eisenversorgung. Nach Einführung der rHuEPO-Therapie wurde bei diesen Patienten oft ein paradoxer Anstieg des prozentualen Anteils hypochromer Erythrozyten beobachtet⁹³. Eine positive Reaktion auf eine Eisentherapie ist trotz pathologisch hoher Ferritinwerte daher theoretisch denkbar.

Eine besondere Situation ist die paradoxe Eisenmangelanämie bei steigenden Serumferritinwerten, die durch eine chronische “Aktivierung” des Abwehrsystems mit Verschiebung des Eisens ins RES erklärt wird^{7,108}. Vor Beginn einer parenteralen Eisentherapie sollten deshalb die Ursachen des Eisenmangels evaluiert werden (Tabelle 6). Der Erfolg einer

Eisentherapie ist bei symptomatischer Eisenmangelanämie garantiert, bei Eisenverwertungsstörung dagegen fraglich.

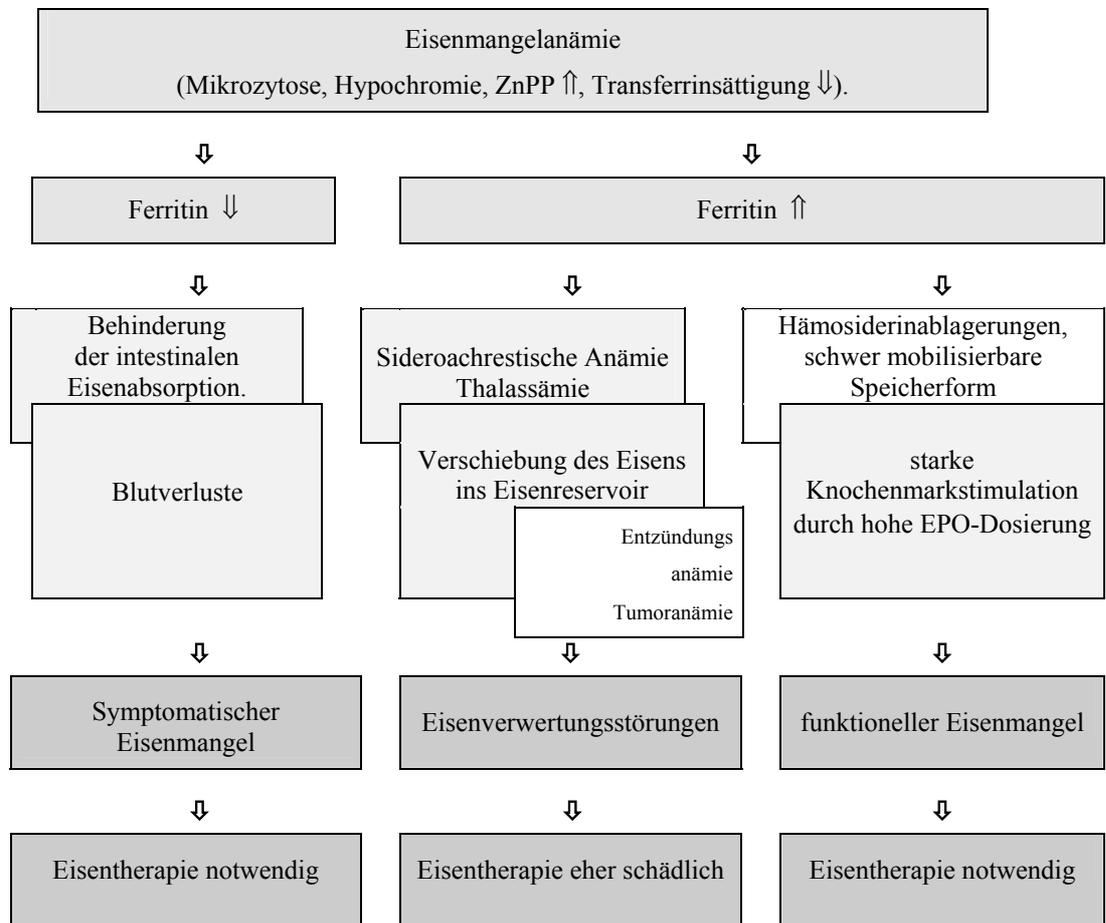


Abbildung 3: Formen der Eisenmangelanämie bei Hämodialysepatienten.

2.7. Parentrale Eisentherapie, Risiken und Nebenwirkungen

Die relativ sichere orale Eisentherapie führt sehr selten zur Eisenüberladung des Organismus. Leider wurde in zahlreichen Studien nachgewiesen, daß eine orale Eisentherapie bei Dialysepatienten häufig nicht ausreicht, um den Eisenbedarf zu decken und deshalb eine Eisensubstitution in der notwendigen Größenordnung oft nur intravenös möglich ist^{71,92}.

Trotz der bei Hämodialysepatienten häufig nicht effektiven oralen Eisensubstitution sollte die parenterale Applikation von Eisen-Komplex-Präparaten (z.B. Ferrlecit®; Eisen(III)-Natrium-Glukonat-Komplex; Fa. A. Nattermann&CIE) nur unter "strenger Indikationsstellung erfolgen. Sowohl in Verbindung mit intravenöser wie auch intramuskulärer Eisengaben wurde Schock mit Todesfolge in Einzelfällen beschrieben⁷³.

In der Fachinformation von November 1993 werden die Anwendungsgebiete Eisenmangelanämie und ausgeprägte Eisenresorptionsstörungen angegeben. In zwei wichtigen Mitteilungen der Firma A. Nattermann&CIE (Rote-Hand-Brief vom Januar 1994 und November 1995) wird über eine erhöhte Inzidenz von schwerwiegenden unerwünschten Arzneimittelwirkungen nach intravenöser Gabe von Eisen-Komplex-Präparaten (Ferrlecit) berichtet. Schwere Nebenwirkungen direkt nach Verabreichen der Eisenpräparate sind jedoch als selten anzusehen. Beispielsweise wurden bei 1,5 Mio. Anwendungen des Eisen-Saccharat-Komplexes zwei assoziierbare Fälle von anaphylaktischen Reaktionen gemeldet¹¹¹.

Neben den anaphylaktischen Reaktionen wurden folgende Nebenwirkungen der parenteralen Eisentherapie diskutiert:

1. parenteral verabreichtes Eisen wird in der Leber nicht durch Transferrin und Ferritin gespeichert, ein Überschuß an freiem Eisen wird an nicht dazu geeignetem Eiweiß gebunden und in Makrophagen und Endothelien abgelagert. Gleichzeitig wird eine intestinale Eisenresorption vollständig blockiert.
2. gesättigt wird auch Laktoferrin, ein Protein, das im Rahmen der Akute-Phase-Reaktion aus Granulozyten freigesetzt wird und eine 100fach höhere Affinität zu Eisen hat als Transferrin. Die Bindung von Eisen an Laktoferrin ist physiologisch als eine unspezifische Abwehrmaßnahme von Bedeutung, da Eisen für das Wachstum vieler Krankheitserreger essentiell ist.
3. bereits submikromolare Konzentrationen ionischen Eisens¹⁶ ermöglichen die Bildung Hydroxylradikaler, (Fe^{2+} reagiert mit Wasserstoffsuperoxyd

zu Fe^{3+} und Hydroxyradikalen; Fenton-Reaktion 1894). Neue Untersuchungen ergaben, daß Eisenionen durch eine direkte reduktive Aktivierung von molekularem Sauerstoff eine molekulare Schädigung induzieren können. Bei der Autooxidation von Fe^{2+} zu Fe^{3+} können Superoxydradikale gebildet werden, die wiederum zur Bildung hochreaktiver Hydroxylradikale führen¹⁸. Hydroxylradikale können oxidative Veränderungen bei einer Vielzahl von Verbindungsarten induzieren, z.B. bei Nukleotiden, Aminosäuren, Kohlenhydraten und Lipiden. Die zellschädige Potenz reaktiver Sauerstoffspezies wird mit degenerativen Prozessen in Verbindung gebracht^{4,31}. Daher sollen “freie Radikale” auf Alterungsprozesse, die Arteriosklerose, die Karzinogenese, Entzündungen sowie auf neurodegenerative Erkrankungen Einfluß haben.

4. das freie Eisen selbst soll Ursache toxischer Prozesse werden, die insbesondere die Leber betreffen. In seltenen Fällen könnten die Eisen-Komplex-Präparate bei der Überladung des Eisentransporteisweiß im Blut auch eine Hämolyse auslösen¹¹¹.
5. eine Eisenüberladung des Organismus in Rahmen einer sekundären oder iatrogenen Hämochromatose führt zu spezifischen Organschäden. Die wichtigsten Komplikationen sind Leberzirrhose, Arthropathie, Osteomalazie, Kardiomyopathie und endokrine Störungen. Eisenablagerungen wurden bei polytransfundierte Dialysepatienten fast in allen Organen, überwiegend im Knochen, in der Leber und im RES, aber auch in Endothelzellen festgestellt. Obwohl der Pathomechanismus der über Eisenüberladung induzierten Zellschädigung letztlich noch ungeklärt ist, spricht vieles für die Hypothese einer Schädigung durch Radikalbildung^{99,43,15}.
6. Eisenüberladung schwächt durch eine Hemmung neutrophiler Granulozyten^{50a} und Phagozytoseindexsenkung⁴¹ das spezifischen Abwehrsystem^{12,13,21,107,105}. Damit könnte erklärt werden, warum Patienten mit Eisenüberladung häufiger Infektionskrankheiten erleiden als Personen mit normalem Eisenhaushalt. Seifert et al. fanden bei

Patienten mit einem Ferritin von über 300 µg/l eine signifikant höhere Infektionsrate als bei Patienten mit Ferritinwerten von unter 300 µg/l. Auch während der Desferroxiamin-Therapie wurde zunehmende Häufigkeit bakterieller Infektionen beobachtet. Die Funktion der neutrophilen Granulozyten läßt sich durch eine Erythropoetintherapie verbessern, parallel mit der Entleerung intrazellulärer Eisenspeicher¹³.

7. Die längste bis jetzt veröffentlichte, vierjährige Beobachtung der Serumferritin bei den Dialysepatienten⁶⁰ zeigte deutlich erhöhte Mortalität der Patienten mit Serum-Ferritin-Wert > 600 pg/ml im Vergleich zu Patienten mit Ferritin < 600 pg/ml, und das unabhängig von CRP-Werten. Diese Ergebnisse werfen jedenfalls Fragen zur langfristigen Sicherheit der derzeit empfohlenen oberen Ferritin-Grenzwerte (500 pg/ml entsprechend den European Best Practice Guidelines und 800 pg/ml entsprechend dem NKF-DOQI-Guidelines) bei Dialyse-Patienten unter Eisensubstitution auf.

Aufgrund der möglichen Gefahren wird die parenterale Eisentherapie kritisch gesehen. “Der potentiell negativen Wirkung eines Eisenüberangebotes, der Rolle des Eisens als proinflammatorischer Effektor oder gar seine Rolle als potentielles Kanzerogen wird zunehmend größere Aufmerksamkeit gewidmet und die Sinnfälligkeit einer auf Optimierung der Eisenzufuhr gerichteten Denkweise wird zunehmend in Zweifel gezogen. Es ist offenbar ein Paradigmawechsel eingetreten. Es gibt inzwischen Anlaß zu der Frage, ob Eisenmangel nicht zuweilen eher nützlich als schädlich ist. Wo hier die goldene Mitte sinnvollerweise zu orten ist, bleibt jedoch vorerst eine offene Frage”. (Kaltwasser, 5. Rostock-Schwerin-Eisen-Anämie-Symposium 1993).

2.8. Empfehlungen zur Eisensubstitution bei Dialysepatienten

Die Empfehlungen zur Diagnostik der Eisenmangelanämie und zur parenteralen Eisentherapie lassen sich in drei allgemeinen Grundzügen darstellen:

1. Intravenöse Eisengabe bei symptomatischer Eisenmangelanämie, das heißt: bei hypochromer, mikrozytärer Anämie.
2. Mit der parenteralen Eisentherapie werden Ferritin- und Transferrinsättigungswerte angestrebt, bei denen eine Eisenmangelanämie noch nicht vorhanden ist.
3. Eine prophylaktische Eisengabe i.v. in der Menge, die dem geschätzten jährlichen Eisenverlust bei Dialysepatienten (1-2g) entspricht.

- Zu 1. Eine Behebung der Eisenmangelsymptome bedeutet nicht, dass genug Eisen im Organismus gespeichert wurde. Bei fehlendem Eisenspeicher führt jeder Blutverlust zur Manifestation einer Eisenmangelanämie. Eine sehr strenge Kontrolle des Eisenstatus ist daher erforderlich. Erfolgt eine Eisensubstitution erst bei symptomatischer Eisenmangelanämie, ist der Erythropoetinverbrauch höher als bei latentem Eisenmangel oder verminderter Eisenverfügbarkeit. Die EPO-Dosisreduktion soll allerdings kein Ziel, sondern Nebeneffekt der Eisentherapie sein. Der Vorteil dieses Vorgehens ist eine korrekte, mit absoluter und relativer Indikation übereinstimmende Anwendung der parenteralen Eisenpräparate.
- Zu 2. Ferritinwerte über 100µg/l schließen nicht mit letzter Sicherheit eine eisendefizitäre Hämsynthese aus, entsprechend der Beobachtung, dass bei chronischer Niereninsuffizienz die Korrelation zwischen Ferritin und Speichereisen abnimmt. Weil eine plausible

Erklärung für eine Erhöhung der Normwerte der Eisenstoffwechselfparameter fehlt, stellt dieser Grenzwert einen allerdings praktikablen Kompromiß dar.

- Zu 3. Der geschätzte jährliche Eisenverlust bei Dialysepatienten ist von Blutverlusten stark abhängig. Blutverluste wiederum sind von Patient zu Patient und von Dialysezentrum zu Dialysezentrum unterschiedlich. Ein sorgfältiger Umgang mit Blut kann Verluste bedeutend minimalisieren⁵⁵.

In einer Untersuchung von Allegra et al. sollte der Ferritinbereich definiert werden, bei dem ein Eisenmangel sicher ausgeschlossen werden kann. Zur Feststellung, welche Patienten einen therapiebedürftigen Eisenmangel haben, wurden 74 Patienten für 6 Monate mit Eisen substituiert. Ein Hämatokritanstieg unter Eisensubstitution von >15% wurde als positive Respons gewertet. Patienten mit Ferritinwerten >200 µg/l profitierten nicht von einer Eisentherapie, in der Patientengruppe mit Ferritinwerten von <200µg/l jedoch erwies sich die intravenöse Eisengabe bei einigen Patienten von Vorteil. Nach Allegra et al. schließen Ferritinwerte erst ab >200 µg/l einen Eisenmangel mit akzeptabler Sicherheit aus. Für die Behandlung der renalen Anämie mit rHu-EPO bedeutet dies, daß unter rHuEPO-Therapie bei Ferritinwerten von <200µg/l mit Eisen behandelt werden sollte³.

Tarnig et al. behandelten 65 Dialysepatienten für 6 Monate mit steigenden EPO-Dosen, um eine Zunahme des Hämoglobinwertes von >30% des Ausgangswert (max. 10,5 g%) zu erreichen. Am Ende der Beobachtung wurden die Patienten in EPO-Responder und EPO-Non-Responder eingeteilt. Bei Serumferritinwerten von über 300 µg/l war jeder Patient ein EPO-Responder. Die Autoren betonen jedoch, daß Serumferritinwerte unter 300 µg/l nicht gleichbedeutend mit Eisenmangel sind¹⁰¹.

Hastka et al. beobachteten über ein Jahr die Wirksamkeit einer intravenösen Eisengabe in zwei Patientengruppen. In einer Gruppe waren Patienten mit einem Ferritin von <200µg/l, in einer zweiten Gruppe Patienten mit einem Ferritin von <50µg/l eingeschlossen. Anfangs wurden bei gleicher EPO-

Dosis unterschiedliche Hämoglobin- und ZnPP-Werte registriert. In beiden Gruppen ging ein Abfall der ZnPP-Konzentration mit einer Senkung der notwendigen EPO-Dosis einher. Weil sich in beiden Patientengruppen Responder auf die Eisengabe fanden, sollen nach Hastka et al. auch in der Erhaltungsphase der Erythropoetintherapie Ferritinwerte von 200 µg/l angestrebt werden⁴⁸.

Mehrere Autoren schlagen eine "Erhöhung" der Ferritin-Normwerte bei Hämodialysepatienten vor. Jontofson und Macdougall postulieren, daß bei Dialysepatienten die Normwerte für das Serumferritin *etwas* verschoben sind, bereits Ferritinwerte von unter 100 ng/ml weisen auf einen substitutionbedürftigen Eisenmangel hin^{71,56}. Von den Autoren wird empfohlen, mit einer oralen Eisensubstitution bei Ferritinwerten unter 100 ng/l zu beginnen und diese fortzusetzen, bis Ferritinwerte von 100 bis 200 ng/l erreicht sind. Eine parenterale Eisensubstitution ist nach Jontofsohn lediglich bei gastrointestinaler Unverträglichkeit oder bei ausgeprägter Non-Compliance erforderlich. Zu beachten ist hierbei, daß repräsentative Ferritinwerte erst ungefähr 14 Tage nach der letzten parenteralen Eisengabe gefunden werden.

Caravaca et al. verglichen bei insgesamt 70 Patienten Eisenstoffwechselfparameter mit dem Erythrozytenferritin und dem Erythrozytenprotoporphyrin. Erst bei Serumferritinwerten oberhalb von 300µg/l oder einer Transferrinsättigung von über 35% konnten sie einen relativen Eisenmangel sicher ausschließen¹³⁵. Das bedeutet aber nicht, dass alle Patienten, deren Laborwerte unter dieser Grenze liegen, einen Eisenmangel hatten.

Niederau et al. berichten im Gegensatz dazu, daß die Ferritinbestimmung die Diagnose der Hämochromatose bereits im präzirrhotischen Stadium erlaubt, hier wird ein kritischer Ferritinwert von 300µg/l angegeben⁷⁹.

Mossey et al. beobachten bei 45 Dialysepatienten unter Deferoxamin-Therapie einen Abbau der Eisenablagerungen in der Leber (hepatische Dichte computertomografisch quantifiziert) und berichten über eine

schlechte Korrelation zwischen der Senkung des Lebereisengehaltes und den Serumferritinspiegeln⁷⁸.

Baldus und Brass⁵ akzeptieren unter rHuEPO-Therapie einen Ferritinspiegel von etwa 150-250 µg/l als klinisch interventionsbedürftige Schwelle für eine orale oder intravenöse Eisensubstitution. Als sensitiver Parameter wird daneben auch ein Abfall der prozentualen Transferrinsättigung auf Werte unter 20% angegeben. Hörl (Bericht des Europäischen Erythropoetin-Symposium in Sevilla 1994) interpretiert einen Ferritinabfall auf unter 100 µg/l als Zeichen des *absoluten Eisenmangels*, der nur mit intravenöser Eisengabe therapiert sein sollte⁵¹.

Drei wesentliche Indikationbereiche für die Eisentherapie bei Dialysepatienten wurden grundsätzlich vom Workshop-Panel in Sevilla identifiziert:

1. prophylaktische Eisengabe (oral oder intravenös)
2. als Therapie des absoluten Eisenmangels (Ferritin <100 µg/l) (nur intravenös)
3. als Therapie des funktionellen Eisenmangels (Ferritin >100 µg/l; Transferrinsättigung <20% oder hypochrome Erythrozyten >10%) (vorzugsweise intravenös)⁵¹”

Die Ferritinkonzentration, die einen Eisenmangel bei Hämodialysepatienten ausschließen und bei der eine Eisensubstitution nicht indiziert ist, liegt in Bereichen, in denen eine Eisenüberladung vermutet werden kann. Die Workshop-Teilnehmer in Sevilla (11-13.11.1994) empfehlen die intravenöse Eisengabe erst “oberhalb eines Ferritins von 800 µg/l abubrechen und eine weitere Ferritin-Kontrolle in 2-3 Wochen zu veranlassen. Bei einem deutlichen Abfall des Serumferritins auf unter 500 ng/ml kann die intravenöse Eisentherapie fortgesetzt werden. Eschbach et al. haben aufgrund der Daten einer 6-monatigen Multizenterstudie über

Ferritinspiegeländerungen während der rHuEPO-Therapie die Eisenüberladung bei Serumferritinspiegel über $1000\mu\text{g/l}^{36}$ definiert.

Zur Abschätzung des Eisenbedarfs bei Dialysepatienten in der Korrekturphase der rHuEPO-Therapie können auch folgende Formeln (van Wyck) herangezogen werden¹⁰⁶:

$$\text{endogene Eisen-Reserve} = 400 \times (\log \text{Ferritin} - \log 30)$$

$$\text{Eisenbedarf (mg)} = 150 \text{ mg} \times (\text{Hb}_1 - \text{Hb}_0)$$

(**Hb₀** = Ausgangshämoglobin, **Hb₁** = Zielhämoglobin).

Der Faktor 150 geht auf die Vorstellung zurück, daß einem Zuwachs von 1g/dl zirkulierendem Hämoglobin 150 mg Eisen entspricht.

3.0 Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, Zink-Protoporphyrin (ZnPP) als ergänzenden Screenings-Parameter zur Steuerung der Eisentherapie oder Eisensubstitution bei Dialysepatienten zu untersuchen. Ermuntert durch zahlreiche positive Berichte über die Sensitivität und Stabilität der ZnPP soll in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, inwieweit die beschriebene Methode sensitiv genug ist, um eine Störung der Eisenverfügbarkeit auch bei Dialysepatienten mit pathologisch erhöhten Ferritin und Transferrinsättigung zu erfassen.

Folgende Fragen sollten in unserer Untersuchung beantwortet werden:

1. Besteht ein Zusammenhang zwischen der pathologischen korpuskulären Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten/Retikulozyten und den Eisenstoffwechselfparametern (Ferritin, Transferrinsättigung und ZnPP) sowie dem EPO-Verbrauch bei Dialysepatienten?
2. Wie ändern sich der Retikulozytenanteil, MCV, MCH (das mittlere korpuskuläre Volumen und die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten) und MCVretis, MCHretis bei Dialysepatienten nach parenteral verabreichtem Eisen? Beobachtet man bei Patienten mit Hypochromie/Mikrozytose eine andere Reaktion auf die Eisengabe als bei Patienten mit Normochromie/Normozytose?
3. Ist das ZnPP der Ferritinkonzentration und der Transferrinsättigung zur Beurteilung der Eisenstoffwechself bei Dialysepatienten überlegen?
4. Gibt es Patienten, die nach Ausschluss des Eisenmangels mittels Ferritin und Transferrinsättigung, eine positive Reaktion der Blutbildparameter auf eine parenterale Eisengabe aufzeigen?

5. Besteht ein Zusammenhang zwischen ZnPP und positiver Reaktion der Blutbildparameter auf eine parenterale Eisengabe bei Patienten mit deutlich erhöhter Ferritinkonzentration und erhöhter Transferrinsättigung?

4.0 Material und Methodik

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss einer dreiwöchigen, parenteralen Eisentherapie auf die Zellindizes der Retikulozyten und Erythrozyten, in Anbetracht der Ausgangswerten der **Zinkprotoporphyrin** (ZnPP) und anderer Eisenstoffwechselfparameter (Ferritin und Transferrin-Sättigung) analysiert.

Untersucht werden sollte der prädikative Wert von der **Zinkprotoporphyrin** Ferritin und Transferrin-Sättigung für die Wirksamkeit der parenteralen Eisentherapie auf die Erythropoese.

In die Untersuchung eingeschlossen werden konnten 181 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.

Bei den Dialysepatienten wurde die Eisentherapie abgesetzt und Erythropoetin in unveränderter Dosierung fortgeführt. Ausgeschlossen waren transfusionsbedürftige Patienten und Patienten mit bekannten Blutverlusten sowie mit einer Eisenüberladung (Ferritin von über 1000 µg/l).

Nach einem Monat wurden Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC, Retikulozytenzahl und der Retikulozytenzellindex MCVr, MCHr, MCHCr, sowie ZnPP, Ferritin und Transferrin-Sättigung gemessen. Zusätzlich wurde die Erythropoetindosis dokumentiert.

Nach einmonatiger Pause der Eisentherapie bekamen alle 181 Patienten intravenös 0,5 mg/kg KG Natrium-Eisen(III)-gluconat-Komplex (Ferrlecit®) pro Dialyse. Die Therapie dauerte 3 Wochen. Es wurde insgesamt ca. $4,5 \pm 0,7$ mg/kg KG Eisen pro Patient verabreicht. Eine Woche nach letzter Eisengabe wurden erneut die morphologischen Parameter der Erythrozyten und Retikulozyten gemessen. Zwischen beiden Laborkontrollen (4 Wochen) wurde keine EPO-Dosis-Änderung vorgenommen.

Eine Mikrozytose und Hypochromie und ein hoher rHu-Erypo-Verbrauch, weiterhin eine Änderung (Normalisierung) der morphologischen Blutbildparameter nach Eisengabe wurde als Hinweis auf eine signifikante Eisenmangelanämie interpretiert.

4.1. Allgemein

Die Studiendauer pro Patient beträgt nach einer einmonatigen Run-in-Phase insgesamt 4 Wochen. Vor Beginn der Intervention (parenterale Eisengabe), wurden steady state Bedingungen für die EPO-Dosis (permanente EPO-Substitution) und für das Hämoglobin (9,5-10,5 g/dl) erreicht.

Einschlusskriterien:

Stabile oder keine EPO-Therapie

Erwachsene Patienten (Alter >18 Jahre) beiderlei Geschlechts, die sich seit mindestens 2 Monaten in der Dialysebehandlung befanden.

Lückenlose Beobachtung und Dokumentationsführung.

Ausschlusskriterien:

Blutgabe 2 Monate vor Beginn und während der Studie,

bekannte Blutverlusten, Operationen und Krankenhausaufenthalte,

Verdacht auf Eisenüberladung mit einem Ferritinwert über 1000 µg/l und einer ZnPP über 200 µMol/Mol Häm

Verdacht auf Polyglobulie, Polycythaemia vera (auch mit bekanntem Eisenmangel)

Patienten die mit Teilnahme in den Studien nicht einverstanden waren.

Unverträglichkeitsreaktion auf parenterale Eisengabe in der Anamnese.

4.2. Patientenpopulation

181 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz, wurden aus drei Dialysezentren Rekrutiert.

Patientenkollektiv

	n	M	W	Alter	Dialyse seit	Dialysezeit (h/Woche)
Gesamt	181	88	93	56 ± 8 J	4,5 ± 1,2 J	13,5 ± 0,8 Std.

EPO und Eisentherapie

Anzahl der Patienten mit rHu-EPO-Gebe oder mit Eisentherapie (meistens Unregelmäßige Gabe) zur Beginn der Untersuchung

	n	EPO-Th.	parenterale Eisengabe
Gesamt	181	127 (70,2%)	87 (48,1 %)

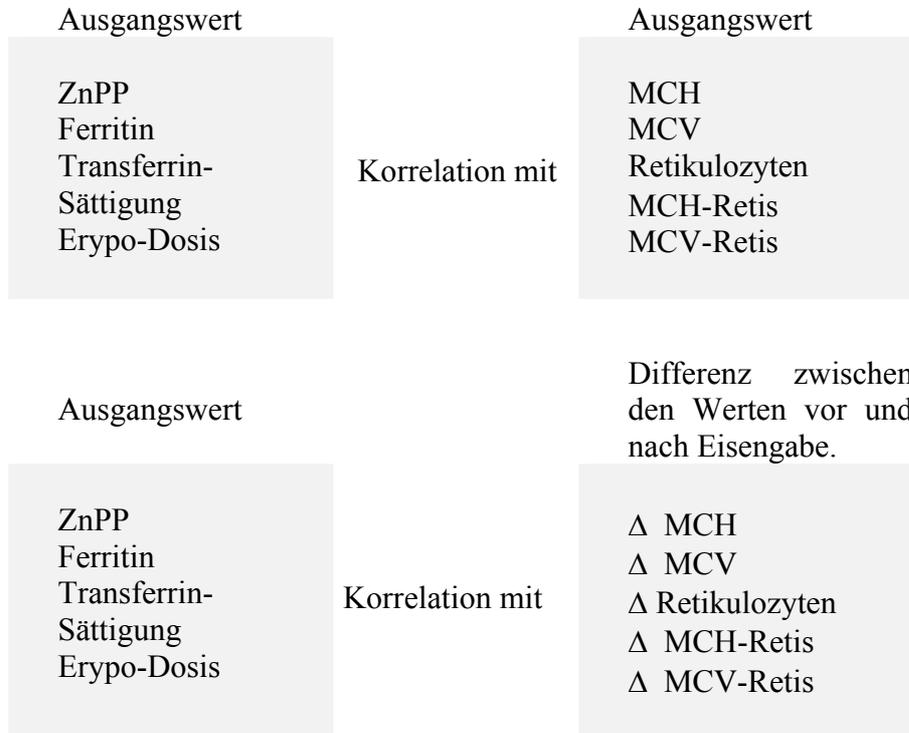
Renales Grundleiden

n 181	n	%
Binephrektomiert	2	1,1
Diabetes mellitus	29	16
Glomerulonephritis	23	12,7
Harnsäure nephropathie	3	1,7
Lupus erythemathodes	3	1,7
Nephrolithiasis	8	4,4
Hypernephrom	2	1,1
Nephrosklerose/Hypertonus	56	30,9
Pyelonephritis	12	6,6
Prärenale Nierenversagen	17	9,4
Toxische Genese	2	1,1
Polyzystische Nierenerkrankung	6	3,4
Unklare Genese	18	10

4.3 Geprüfte Variable und Korrelation

Hauptvoraussetzung:

bei einer konstanten rHu-Erypo-Dosis
und bei definierter, parenteraler Eisengabe



Statistische Haupthypothesen

Anhand der Ergebnisse soll überprüft werden, welche Änderungen im Bereich der Erythrozyten-Indezes, Retikulozytenzahl und Retikulozyten-Indezes eine paränterale Eisengabe verursachen kann.

Die statistische **Nullhypothese**:

vor parenteraler Eisengabe		nach parenteraler Eisengabe
MCV MCH Retikulozytenzahl MCV-Retis MCH-Retis	\approx	MCV MCH Retikulozytenzahl MCV-Retis MCH-Retis

Die **Alternativhypothese** lautet:

vor parenteraler Eisengabe		nach parenteraler Eisengabe
MCV MCH Retikulozytenzahl MCV-Retis MCH-Retis	<	MCV MCH Retikulozytenzahl MCV-Retis MCH-Retis

Die o.g. Änderungen, die hypothetisch, besonders Stark in der Patientengruppe mit Eisenmangelanämie ausgeprägt werden, werden mit Ausgangswerten der Eisenstoffwechselfparameter verglichen.

Demnach sollte eine signifikante Änderung der Retikulozytenzahl und der Erythrozyten/Retikulozyten-Indezes, nach Eisengabe in der Patientengruppe, mit pathologischen Eisenstoffwechselfparametern beobachtet werden.

In der Patientengruppe mit normalen Eisenwerten werden dagegen keine signifikante Änderung der Erythrozyten- und Reikulozyten-Indezes erwartet.

4.4. Statistische Methoden

Als statistische Methoden werden die Korrelations- und Regressionsanalyse mit der zugehörigen Basisstatistik gewählt. Von jedem einzelmem Merkmal werde folgende Basisstatistik erhoben: die Fallzahl, der Mittelwert, die Standartabweichung des Mittelwertes.

Außerdem wurden das Scatterdiagramm und die Regressiongerade für jede vorgegebene Korrelation bildlich dargestellt.

Berechnet wurde:

-Regressionsgerade: $(y=a+bx)$

-Korrelationskoeffizienz: r

-Bestimmtheitsmaß: $B=r*r$ (%)

-Fehlerwahrscheinlichkeit: p (die mit dem vorgegebenen Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ verglichen wird).

4.5. Labormethoden und Laborzentren

Hämoglobin, Erythrozytenzahl und Hämatokrit

Hämoglobin, Erythrozytenzahl und Hämatokrit	
Bestimmungsmethode	Photometrie-Cyan-Hb
Laborgerät	E 5000
Firma	Sysmex
Labor	Medizinisch-Diagnostisches Labor in Kaiserslautern
Führung	Dr. Dr. med. M Klein
Untersuchungsmaterial	EDTA-Blut

Erythrozytenindizes

Die Berechnung der Erythrozytenindizes erlaubt die Kennzeichnung von Erythrozytengröße und Hämoglobingehalt und somit die Klassifizierung von Anämien (z.B. Hypohromische, mikrozytäre Anämie deutet auf Eisenmangelanämie). Die Berechnung erfolgt aus bereits bestimmten Daten mit Hilfe bekannter Formel (11).

Folgende Indizes werden berechnet:

$$\text{Mittleres korpuskuläres Volumen MCV (fl)} = \frac{\text{Hämatokrit (l/l Quot.)}}{\text{Erythrozytenzahl (/pl)}}$$

MCV	
Referenzbereich M und F	90 ± 10 80-100

$$\text{Mittleres korpuskuläres Hämoglobin MCH (pg)} = \frac{\text{Hämoglobin (g/dl)}}{\text{Erythrozytenzahl (/pl)}}$$

MCH	
Referenzbereich M und F	30,0 ± 3,0 27-33

Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration

$$\text{MCHC (g/dl)} = \frac{\text{Hämoglobin (g/dl)}}{\text{Hämatokrit (l/l Quot.)}}$$

MCV	
Referenzbereich M und F	34 ± 2 32-36

Retikulozyten

	Retikulozyten, MCVr, MCHr, MCHCr
Bestimmungsmethode	opt.Streulichtmessung
Laborgerät	Tehnikon H 3
Firma	Behringer
Labor	Zentrallabor des Krankenhauses in Kaiserslautern
Führung	Prof. Dr. med. Paschen
Untersuchungsmaterial	EDTA-Blut

Eisen in Serum

Bestimmungsmethode	Ferrosin-Methode
Laborgerät	Hitachi 717
Firma	Boehringer-Mannheim
Labor	Medizinisch-Diagnostisches Labor in Kaiserslautern
Führung	Dr. Dr. med. M Klein
Referenzbereiche	
Männer	35-168 µg/dl
Frauen	23-134 µg/dl
Untersuchungsmaterial	eingefrorenes Serum

Transferrin

Bestimmungsmethode	Nephelometrie
Laborgerät	Nephelometer BNA 100
Firma	Behring
Labor	Medizinisch-Diagnostisches Labor in Kaiserslautern
Führung	Dr. Dr. med. M Klein
Referenzbereiche	
Männer	210-340 mg/dl
Frauen	200-310 mg/dl
Untersuchungsmaterial	eingefrorenes Serum

Transferrinsättigung

$$\text{Transferrinsättigung (\%)} = \frac{\text{FE } \mu\text{g/dl}}{\text{TF mg/dl}} \times 100$$

Transferrin-Sättigung	Referenzbereiche
Männer	16-45%
Frauen	16-45%

Ferritin

	Kaiserslautern
Bestimmungsmethode	ELISA (EIA)
Laborgerät	ES 700
Firma	Boehringer-Mannheim
Labor	Medizinisch-Diagnostisches Labor in Kaiserslautern
Führung	Dr. Dr. med. M Klein
Referenzbereiche	
Männer	8-400 µg/l
Frauen	
Untersuchungsmaterial	eingefrorenes Serum

ZnPP-Bestimmungsmethode

Die Messungen wurden mit AVIV[®] AUTOMATIC ZN HEMATOFLUOROMETER MODEL 20 durchgeführt. Geräte dieses Typs wurden von Department of Health State of New York geprüft und 1988 zu der Labordiagnostik zugelassen (VK: $\pm 6\%$ für die Werte < 40 und $\pm 15\%$ für die Werte ≥ 40 $\mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$)

Das Gerät wurde uns freundlicherweise von der Firma Aviv Biomedical für die Messungen zur Verfügung gestellt.

4.6. Begleitpräparate

Rekombinantes Humanes Erythropetin: Im Rahmen der Studie wird rHu-EPO der Firma Boehringer Mannheim und Firma Cilag eingesetzt. Präparaten wurden grundsätzlich i.v. verabreicht.

Natrium-Eisen(III)-gukonat-Komplex: Ferrlecit in Amp. à 40 mg und 62 mg i.v. der Firma Nattermann.

5. Ergebnisse

5.1. Basisstatistik bei Studienbeginn

Bei den in die Studie eingeschlossenen 181 Dialysepatienten wurde die parenterale Eisentherapie für mindestens 4 Wochen abgesetzt und die Erythropoetintherapie für mindestens 4 Wochen in unveränderter Dosierung fortgeführt. Vor Studienbeginn wurde eine Hämoglobinkonzentration von 10 g/dl eingestellt und die Erythropoetindosis diesem Ziel entsprechend über einem Zeitraum von 3 Monaten modifiziert. Tatsächlich wurde in der Gesamtgruppe eine mittlere Hämoglobinkonzentration von $9,9 \pm 1,1$ g/dl erreicht, die mittlere Erythropoetindosis betrug dabei $78,3 \pm 76,0$ IE/KgKG/Woche. Bei 52 Patienten von 181 wurde der Hämoglobinzielwert ohne Erythropoetingabe erreicht.

Die mittlere Ferritinkonzentration lag zu Beginn der Studie bei $196,4 \pm 197,7$ μ g/l, die Transferrin-Sättigung bei $13,1 \pm 7,6$ % und die Zinkprotoporphyrinkonzentration (ZnPP) bei $45,3 \pm 27$ μ Mol/Mol Häm (Referenzbereich 1-30 μ Mol/Mol Häm). Die Laborparameter vor Beginn der Eisentherapie sind für die Gesamtgruppe in **Tabelle 5.1** dargestellt.

Tabelle 5.1: Mittelwerte und Standardabweichung ($x \pm SD$) der Laborparameter bei Studienbeginn

N=181	X \pm SD
Hämoglobin (g/dl)	9,9 \pm 1,1
Hämatokrit (%)	31,3 \pm 3,8
MCV (fl)	90,7 \pm 8,1
MCH (pg)	28,7 \pm 2,5
MCHC (g/dl)	31,5 \pm 1,5
Retikulozyten (‰)	21,7 \pm 9,9
MCV _{Retis}	122,2 \pm 8,9
MCH _{Retis}	28,9 \pm 2,9
MCHC _{Retis}	24,5 \pm 1,8

5.1.1 Beziehung zwischen den Eisenstoffwechsel- und Blutbildparametern bei Beginn der Studie

Zwischen der Hämoglobinkonzentration und den Eisenstoffwechselfparametern Ferritin, Transferrin-Sättigung sowie ZnPP zeigte sich vor Beginn der Eisentherapie in der Gesamtgruppe (n=181) keine signifikante Beziehung. Auch die Retikulozytenzahl stand zu diesen Parametern nicht in signifikanter Beziehung. Die fehlende Korrelation ist wahrscheinlich auf die Anpassung der Erythropoetindosis an den Hämoglobinzielwert zurückzuführen.

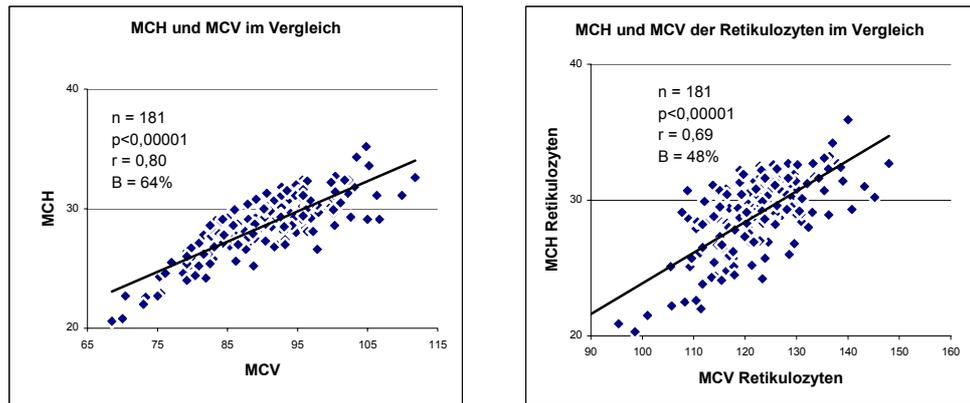
Zwischen MCV und MCH sowohl der Erythrozyten als auch der Retikulozyten und den Eisenstoffwechselfparametern Ferritin, Transferrin-Sättigung sowie ZnPP konnte dagegen eine signifikante Korrelation nachgewiesen werden (**Tabelle 5.1.1**). Diese Beziehung spricht für den Stellenwert der Eisenverfügbarkeit für die Zellmorphologie sowohl von Erythrozyten als auch von Retikulozyten.

Tabelle 5.1.1. Bivariate Korrelationsanalyse (n=181)

P	Hb	MCV	MCH	Retis	MCV _{Retis}	MCH _{Retis}	ZnPP	Ferritin	Transf.-Sätt.	EPO-Dosis
Hb	-	0,08	0,025	0,45	0,009	0,7	0,07	0,7	0,8	<0,001
MCV	0,8	-	<0,001	0,4	<0,001	<0,001	<0,001	0,06	<0,001	0,5
MCH	0,025	<0,001	-	0,3	<0,001	<0,001	<0,001	0,05	<0,001	0,6
Retikulozyten	0,44	0,42	0,27	-	0,9	0,8	0,5	0,8	0,7	0,4
MCV _{Retis}	0,009	<0,001	<0,001	0,9	-	<0,001	0,021	0,04	0,3	0,8
MCH _{Retis}	0,7	<0,001	<0,001	0,8	<0,001	-	<0,001	0,03	0,03	0,05
ZnPP	0,07	<0,001	<0,001	0,5	0,021	<0,001	-	0,09	<0,001	0,001
Ferritin	0,7	0,06	0,05	0,8	0,04	0,03	0,09	-	0,001	0,61
Transferrin-Sätt.	0,8	<0,001	<0,001	0,7	0,26	0,03	<0,001	0,001	-	0,22
EPO-Dosis	<0,001	0,5	0,6	0,38	0,81	0,05	0,001	0,61	0,23	-

Zwischen den Erythrozytenindezes MCV und MCH sowie zwischen den Retikulozytenindezes MCV_{Retis} und MCH_{Retis} zeigt sich erwartungsgemäß eine hochsignifikante Korrelation (**Abbildung 5.1.1.1 und 5.1.1.2**). Da in den meisten Studien als Zellindize MCH angegeben wird, sollen in der weiteren Darstellung nur noch die Ergebnisse für MCH dargestellt werden.

Abbildung 5.1.1.1 und 5.1.1.2



MCH_{Retis} wird in zahlreichen Publikationen als Goldstandard der Eisendiagnostik gesehen. Ein MCH_{Retis}-Wert von unter 28 pg soll einen Indikator einer eisendefizitären Erythropoese darstellen. In der vorliegenden Untersuchung wurde bei 49 (27,1%) Patienten ein MCH_{Retis}-Wert von unter 28 pg gemessen. In **Tabelle 5.1.1.3** sind die Laborergebnisse für die Gruppe mit einem MCH_{Retis}-Wert von < 28 pg (n=49) und von > 28 pg (n=139) dargestellt:

Tabelle 5.1.1.3.

	CHr < 28 pg n = 49	CHr > 28 pg n = 132	p
HB	9,5 ± 1,2	10,0 ± 1,0	0,0035
MCH	25,8 ± 2,1	29,8 ± 1,6	<0,0001
RETIS	21,8 ± 8,3	21,7 ± 10,5	0,4758
MCVr	114,8 ± 8,5	124,9 ± 7,4	<0,0001
CHr	25,1 ± 2,3	30,3 ± 1,5	<0,0001

x±SD

Tabelle 5.1.1.4.

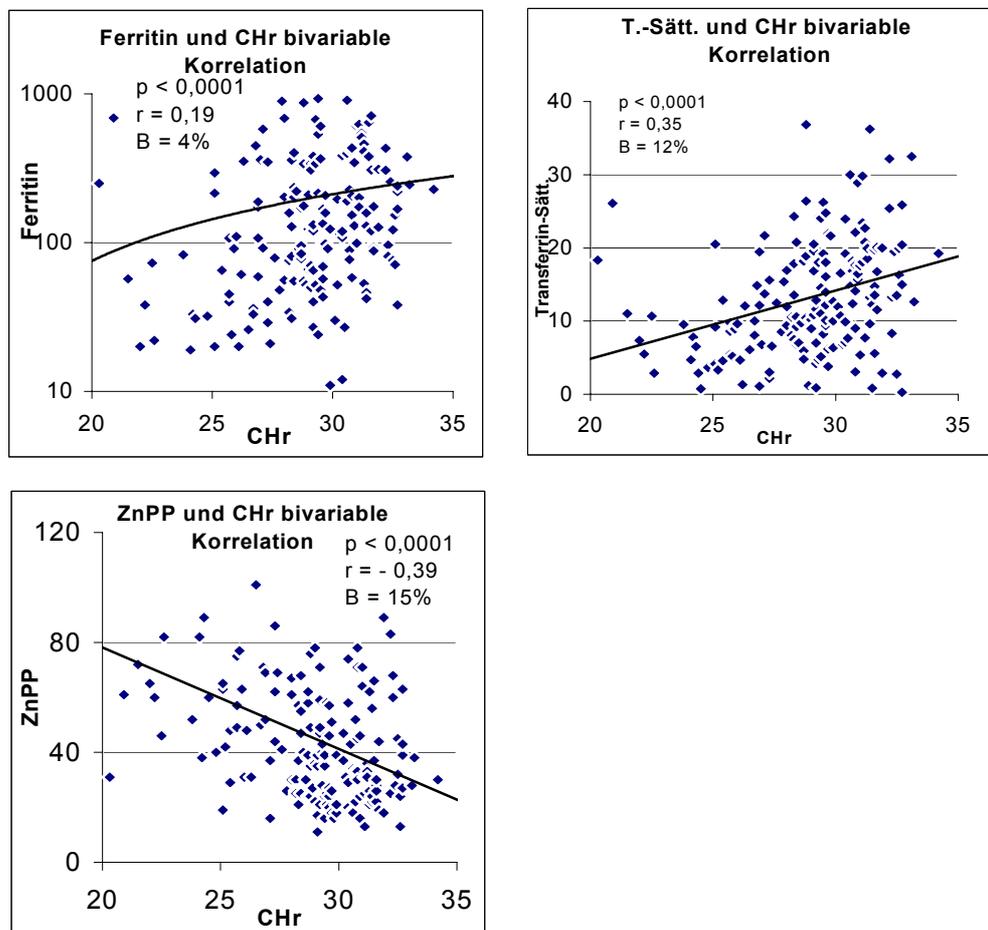
	CHr < 28 pg n = 49	CHr > 28 pg n = 132	p
ZnPP	63,5 ± 34,6	38,6 ± 19,8	<0,0001
Ferritin	133,7 ± 187,6	219,7 ± 197,0	0,0045
T-Sätt.	8,8 ± 5,8	14,7 ± 7,6	<0,0001
EPO/KG/W	107,5 ± 100,4	67,6 ± 61,7	0,0008

x±SD

In der Gruppe mit einem MCH_{Retis} -Wert von < 28 pg zeigte sich eine signifikant niedrigere Hämoglobinkonzentration als in der Gruppe mit einem MCH_{Retis} -Wert von > 28 pg. Wie in **Tabelle 5.1.1.3** dargestellt ist bei Patienten mit niedrigem MCH_{Retis} auch ein niedrigeres MCV sowie MCH der Erythrozyten sowie hypochrome Retikulozyten und Erythrozyten nachweisbar. Zudem weisen Patienten mit niedrigem MCH_{Retis} eine signifikant erhöhte ZnPP-Konzentration sowie eine signifikant erniedrigte Ferritinkonzentration und Transferrin-Sättigung auf (**Tabelle 5.1.1.4**). Die Retikulozytenzahl war dagegen in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Die notwendige Erythropoetindosis war in der Gruppe mit niedrigem MCH_{Retis} signifikant niedriger als in der Gruppe mit hohem MCH_{Retis} .

Die Beziehung zwischen MCH_{Retis} und der ZnPP-, Ferritinkonzentration und Transferrin-Sättigung ist auch in **Abbildung 5.1.1.5-6** dargestellt:

Abbildung 5.1.1.5-6



Zwischen MCH_{Retis} und Ferritin bzw. Transferrin-Sättigung konnte eine signifikant positive Korrelation nachgewiesen werden, zwischen MCH_{Retis} und ZnPP konnte entsprechend eine signifikant negative Korrelation nachgewiesen werden.

Diese Ergebnisse und die in **Tabelle 5.1.1.3** dargestellten Daten unterstützen die Hypothese, daß ein MCH_{Retis} -Wert von < 28 pg eine eisendefizitäre Erythropoese anzeigt.

5.1.2 Beziehung zwischen Erythropoetindosis und Eisenstoffwechselparametern bzw. Erythrozyten- und Retikulozyten-Zellindezes vor Beginn der Eisentherapie

Eisenmangel führt zur eisendefizitären Erythropoese mit Mikrozytose, Hypochromie und Anämie, die mit einer Stimulation der Erythropoetinfreisetzung einhergeht. In Übereinstimmung dazu wird bei Dialysepatienten mit Eisenmangel ein höherer Erythropoetinverbrauch beobachtet als bei Patienten ohne Eisenmangel.

5.1.3 Häufigkeit von Eisenmangel in Abhängigkeit von dem Eisenstoffwechselparametern Ferritin, Transferrin-Sättigung und ZnPP

In **Tabelle 5.1.3.1.** dargestellt ist die Häufigkeit von Eisenmangel in Abhängigkeit von dem zugrunde gelegten Eisenstoffwechselparameter:

Tabelle 5.1.3.1: Zahl der Patienten mit Eisenmangel in Abhängigkeit von dem Eisenstoffwechselparameter (n=181).

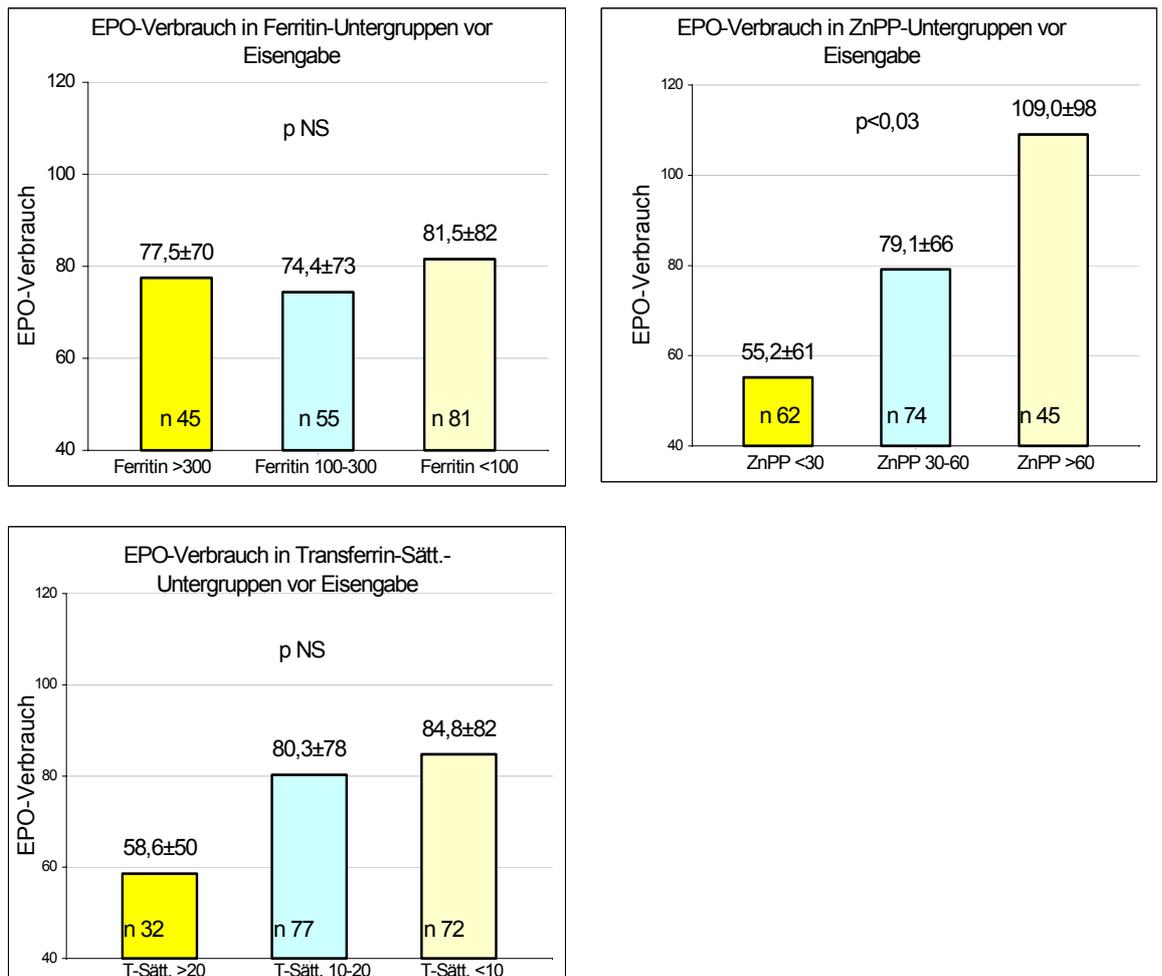
	Eisenmangel	N	%	eventuell Eisenmangel	n	%	Patienten ohne Eisenmangel	n	%
Ferritin (µg/l)	<100	81	44,8	100-300	55	30,4	>300	45	24,9
Transferrin-Sättigung (%)	<10	72	39,8	10-20	78	43,1	>20	31	17,1
ZnPP (µMol/Mol Häm)	>60	45	24,9	30-60	74	40,9	<30	62	34,3

In Abhängigkeit von dem zugrunde gelegten Eisenstoffwechselfparameter zeigte sich bei 24,9 bis 44,8 % einen Eisenmangel. Die unterschiedliche Häufigkeit eines Eisenmangels ist möglicherweise auf nicht deckungsgleiche Grenzwerte der verschiedenen Eisenstoffwechselfparameter zurückzuführen. Unter gleichzeitiger Berücksichtigung der verschiedenen Eisenstoffwechselfparameter kann in der untersuchten Patientengruppe nur bei maximal 34 % ein Eisenmangel unwahrscheinlich gemacht werden.

5.1.3.2 Erythropoetindosis in Abhängigkeit von dem Eisenstatus

Insgesamt wurden 127 von 181 Patienten mit Erythropoetin behandelt, bei 54 Patienten konnte der Hämoglobinzielwert ohne Erythropoetingabe erzielt werden. Der Erythropoetinverbrauch in Abhängigkeit von den Eisenstoffwechselfparametern sind in **Abbildung 5.1.3.2.1-3** dargestellt:

Abbildung 5.1.3.2.1-3



Zwischen dem Erythropoetinverbrauch und der Ferritinkonzentration zeigte sich kein Zusammenhang. In den Patientengruppen mit einer Ferritinkonzentration von >300 µg/l, 100-300 µg/l und <100 µg/l war der Erythropoetinverbrauch vergleichbar (**Abbildung 5.1.3.2.1**). Mit steigender Transferrin-Sättigung zeigte sich ein Anstieg des Erythropoetinverbrauchs, der Unterschied zwischen Patienten mit einer Transferrin-Sättigung von >20%, 10-20% und <10% war jedoch statistisch nicht signifikant (**Abbildung 5.1.3.2.3**). Im Gegensatz zu der Ferritinkonzentration und der Transferrin-Sättigung konnte in den Gruppen mit unterschiedlicher ZnPP-Konzentration ein signifikant unterschiedlicher Erythropoetinverbrauch nachgewiesen werden. In der Gruppe mit einem ZnPP von <30 µmol/mol Häm war der Erythropoetinverbrauch signifikant niedriger als in den Gruppen mit einem ZnPP von 30-60 und >60 µmol/mol Häm (**Abbildung 5.1.3.2.2**), $p < 0,03$. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass durch Bestimmung von ZnPP der Erythropoetinverbrauch besser abgeschätzt werden kann als durch Bestimmung von Ferritin und der Transferrin-Sättigung.

5.2. Einfluß der Eisentherapie

Die Laborergebnisse vor und nach einmonatiger Eisentherapie (insgesamt 4,5±0,7mg/kg KG Natrium-Eisen(III)-gluconat-Komplex -Ferrlecit[®] - i.v. über 3 Wochen) sind für die Gesamtgruppe in **Tabelle 5.2.1.** dargestellt:

Tabelle 5.2.1.: Mittelwerte der Laborparameter zur Beginn und nach Eisengabe

	Studienbeginn N=181	Studienende N=181	P	
Hämoglobin	9,9±1,1	9,8±1,0	(i)	NS
MCV	90,7±8,1	91,1±7,0		0,14
MCH	28,7±2,5	29,9±2,5		<0,001
MCHC	31,5±1,5	32,8±1,1		<0,001
Retikulozyten	21,7±9,9	29,0±11,7		<0,001
MCV _{Retis}	122,2±8,9	126,3±8,7		<0,001
MCH _{Retis}	28,9±2,9	30,5±2,7		<0,001
MCHC _{Retis}	24,5±1,8	25,0±1,5		0,002

X ±SD

Unter Eisentherapie kam es nach vier Wochen zu keiner signifikanten Hämoglobinänderung in der Gesamtgruppe (n=181).

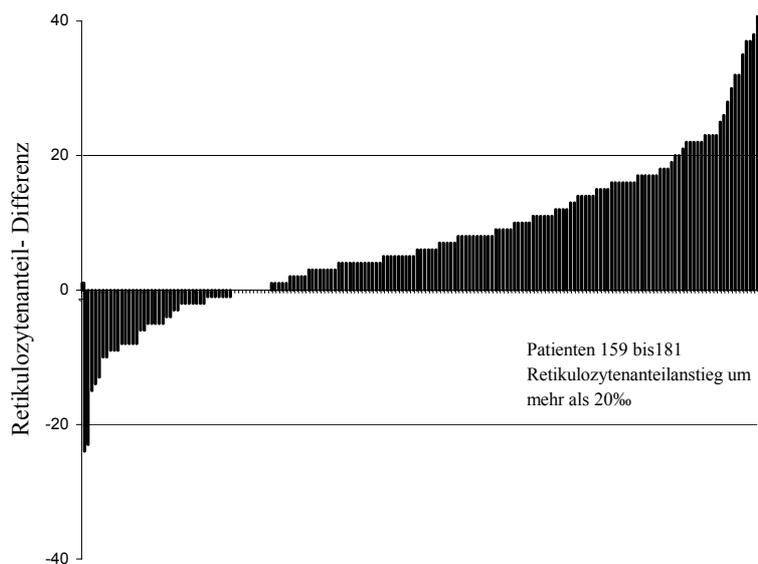
Im Gegensatz zu der unveränderten Hämoglobinkonzentration wurde unter der Eisensubstitution eine Änderungen der Zellindizes der Erythrozyten und auch der Retikulozyten. beobachtet. Das MCH und MCHC von Erythrozyten und Retikulozyten zeigte nach Eisensubstitution einen signifikanten Anstieg. MCV der Erythrozyten und Retikulozyten zeigte ebenfalls einen Anstieg, dieser war jedoch nur für die Retikulozyten statistisch signifikant.

5.2.1. Retikulozytenzahl-Änderung nach Eisengabe

Die Verteilung der Retikulozytenänderung nach Eisengabe ist in **Diagramm 5.2.1.1.** dargestellt. Die durchschnittliche Retikulozytenänderung betrug nach Eisengabe $7,3 \pm 11,1\%$ (n=181).

Diagramm 4.2.1.1.

Differenz zwischen der Retikulozytenanteil vor und nach der Eisentherapie



Patienten sortiert nach Retikulozytenanstieg (n 181)

Bei 23 (12,7%) von 181 Patienten wurde ein signifikanter Retikulozytenanstieg nach Eisengabe (definiert als Anstieg von um Δ 20‰) beobachtet. Im Folgenden sollen die Patienten mit einem Retikulozytenanstieg von um Δ 20‰ (n=23, Gruppe A) und von $<$ 20‰ (n=151, Gruppe B) verglichen werden.

Vor Beginn der Eisentherapie war die Retikulozytenzahl in Gruppe A signifikant niedriger als in Gruppe B ($18,3 \pm 8,0\%$ versus $22,2 \pm 10\%$, $p < 0,05$); obwohl die mittlere Erythropoetindosis in Gruppe A signifikant höher war als in Gruppe B ($112,8 \pm 81,2$ IE/KgKG/Woche versus $73,3 \pm 74,2$ IE/KgKG/Woche ($p < 0,001$)). Die Eisenstoffwechselfparameter waren in Gruppe A und Gruppe B vergleichbar. Die Ferritinkonzentration, Transferrin-Sättigung sowie die Zinkprotoporphyrinkonzentration war in beiden Gruppen statistisch nicht signifikant unterschiedlich (**Tabelle 5.2.1.1.**).

Tabelle 5.2.1.1. Korrelation zwischen Eisenstoffwechsel und Retikulozytenänderung

	Δ Retikulozyten $<$ 20‰ n 158	Δ Retikulozyten \geq 20‰ n 23	p
Ferritin (μ g/l)	199,0 \pm 203,0	178,0 \pm 157,0	0,32
Transferrin-Sättigung (%)	13,3 \pm 7,7	11,9 \pm 6,9	0,21
ZnPP (μ Mol/Mol Häm)	44,4 \pm 25,0	52,1 \pm 37,8	0,10

X \pm SD

Diese Daten weisen darauf hin, dass die genannten Eisenstoffwechselfparameter keinen prädikativen Wert für die Änderung der Retikulozytenzahl nach Eisengabe aufweisen. Erklärt werden kann diese Beobachtung dadurch, dass die genannten Eisenstoffwechselfparameter die Wirksamkeit einer Eisentherapie auf die Blutbildung nicht vorhersagen kann.

5.2.2. Änderung der Blutbildparameter unter Eisensubstitution in Abhängigkeit von MCH_{Retis}

Um die Bedeutung einer eisendefizitären Erythropoese zu analysieren, wurde die Änderung der Blutbildparameter bei Patienten mit einem MCH_{Retis} unter 28 pg und über 28 pg untersucht (Tabelle 5.2.2.1.).

Tabelle 5.2.2.1.: Änderung der Zellindizes von Erythrozyten und Retikulozyten unter Eisengabe in Abhängigkeit von MCH_{Retis} -Werten. (bivariable Regressionsanalyse)

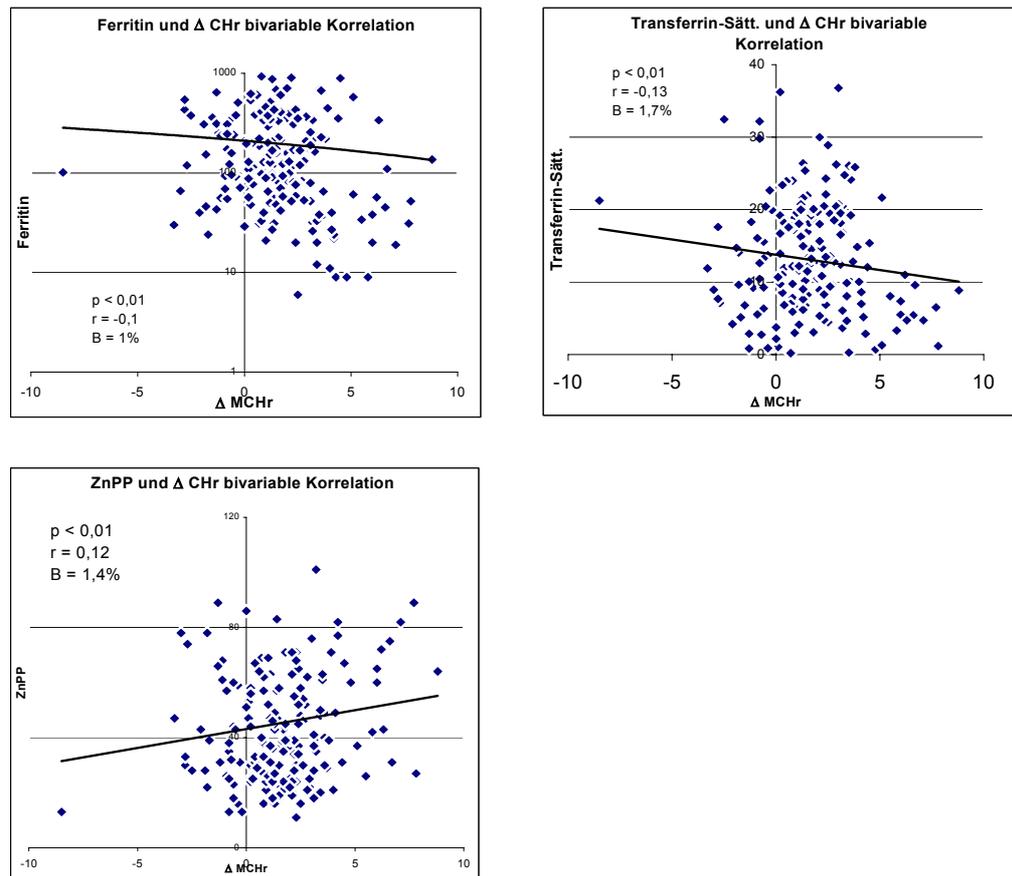
Differenz	CHr < 28 pg n = 49		CHr > 28 pg n = 132		zwischen der Untergruppen
	vor und nach Eisengabe	p	vor und nach Eisengabe	p	p
ΔHB	0,2 ± 0,6	0,1999	-0,1 ± 0,7	0,1228	0,0011
ΔMCV	1,2 ± 3,4	0,1843	0,1 ± 3,7	0,4449	0,0358
ΔMCH	1,2 ± 0,7	0,0021	1,1 ± 0,7	<0,0001	0,2431
$\Delta MCHC$	1,0 ± 1,2	<0,0001	1,4 ± 1,5	<0,0001	0,0860
$\Delta RETIS$	6,2 ± 11,1	0,0022	7,6 ± 11,1	<0,0001	0,2198
ΔMCV_{retis}	8,2 ± 10,1	<0,0001	2,6 ± 6,6	0,0026	<0,0001
ΔCH_{retis}	3,1 ± 2,5	<0,0001	1,1 ± 2,0	<0,0001	<0,0001
$\Delta CHCM_{retis}$	1,1 ± 1,4	0,0002	0,3 ± 1,4	0,0407	0,0002

$\bar{x} \pm SD$

Nach der parenteralen Eisengabe zeigte sich sowohl bei Patienten mit einem MCH_{retis} von unter 28 pg und über 28 pg eine Änderung der Zellindizes von Erythrozyten und Retikulozyten (Tabelle 5.2.2.1), die nur für MCV der Erythrozyten nicht statistisch signifikant unterschiedlich war. Im Vergleich zur Gruppe mit einem MCH_{retis} von über 28 pg zeigte sich in der Gruppe mit einem MCH_{retis} von unter 28 pg eine signifikant größerer Anstieg der Zellindizes der Retikulozyten. So konnte ein signifikant größerer Anstieg von MCV_{retis} und MCH_{retis} in der Gruppe mit dem niedrigeren MCH_{retis} beobachtet werden. Die Änderung von MCV und MCH der Erythrozyten dagegen war im Gruppenvergleich nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Dieses Ergebnis kann darauf zurückgeführt werden, daß der Zeitraum von 4 Wochen zu kurz ist, um bereits Änderungen der Erythrozytenindezes zu beobachten.

Zwischen Änderung der Retikulozytenzellindezes ($\Delta\text{MCHr}_{\text{retis}}$) und den Eisenstoffwechselfparametern Ferritin, Transferrin-Sättigung und ZnPP konnte eine statistisch signifikante Korrelation nachgewiesen werden (Abbildung 5.2.2.1-3.).

Abbildung 5.2.2.1-3.



Die in **Abbildung 5.2.2.1-3.** dargestellten Ergebnisse zeigen, daß zwischen MCH der Retikulozyten und dem Eisenstatus eine enge Beziehung besteht. Diese Korrelationen bestätigen den Aussagewert von MCH der Retikulozyten für die Verfügbarkeit von Eisen während der Erythropese.

5.2.3. Einfluss der Eisentherapie in Abhängigkeit von Ferritin, Transferrin-Sättigung und ZnPP

Der Einfluss der Eisentherapie auf die Blutbildparameter für die Gesamtgruppe ist in Kapitel 5.2. dargestellt. In Kapitel 5.2.2. soll der Einfluß der Eisentherapie in Abhängigkeit von der Ferritinkonzentration, der Transferrin-Sättigung und dem ZnPP-Wert untersucht werden. Hierzu werden die Patienten in Gruppen mit unterschiedlicher Ferritinkonzentration (Ferritin < 100 µg/l, Ferritin 100-300 µg/l und > 300 µg/l), mit unterschiedlicher Transferrin-Sättigung (Transferrin-Sättigung < 10%, 10-20 % und >20%) sowie mit unterschiedlichem ZnPP (<30 µMol/Mol Häm, 30-60 µMol/Mol Häm und > 60 µMol/Mol Häm) eingeteilt.

Die Ergebnisse für die Gruppen mit unterschiedlicher Ferritinkonzentration sind in **Tabelle 5.2.3.1** dargestellt:

Die Hämoglobinkonzentration bei Beginn der Studie und nach vierwöchiger Eisentherapie ist zwischen den Gruppen mit unterschiedlicher Ferritinkonzentration vergleichbar. Diese Beobachtung kann jedoch nicht auf eine Anpassung der EPO-Dosis an den Zielhämoglobinwert von 10 g/dl zurückgeführt werden, da die applizierte EPO-Dosis in den Gruppen mit unterschiedlicher Ferritinkonzentration vergleichbar ist. Diese Ergebnisse sind überraschend und weisen darauf hin, daß eine niedrige Ferritinkonzentration bei Hämodialysepatienten nicht per se mit niedrigeren Hämoglobinwerten einhergehen muß.

Tabelle 5.2.3.1: Einfluss der Eisengabe in Abhängigkeit von der Ferritinkonzentration

	Ferritin >300				Ferritin 100-300				Ferritin <100			
	vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p	vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p	vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p
N	45				55				81			
Hämoglobin	9,7±1,2	9,5±0,9	-0,2±0,7	0,2084	9,9±1,1	9,8±1,1	-0,12±0,6	0,2787	10,0±1,1	10,1±1,1	0,1±0,7	0,3576
MCV	95,1±7,0	93,5±5,9	-1,7±4,0	0,1145	92,9±6,7	93,5±6,3	0,5±3,1	0,3333	86,8±7,9	88,3±7,0	1,5±3,3	0,1089
MCH	29,5±1,9	30,7±1,9	1,2±0,7	0,0015	29,4±2,3	30,7±2,3	1,3±0,7	0,0016	27,8±2,6	28,8±2,5	1,0±0,7	0,0061
Retikulozyten	21,7±9,4	26,9±11,6	5,2±10,4	0,0106	23,1±11,4	31,5±11,0	8,3±11,1	0,0001	20,7±9,1	28,3±12,1	7,7±11	0,0001
MCV _{Retis}	122,0±7,7	125,0±7,4	3,0±5,9	0,301	123,7±10,2	126,0±9,7	2,3±7,3	0,1131	121,3±8,5	127,3±8,7	6,0±9,3	0,0001
MCH _{Retis}	29,7±2,1	31,0±2,1	1,3±2,1	0,0030	29,5±3,0	30,8±2,9	1,3±2,4	0,0136	28,0±2,9	30,0±2,8	2,1±2,4	0,0001
EPO/KG/Woche	77,5±69,7				74,4±72,7				81,5±82,1			
Ferritin	487±176				170±48				53,1±26,9			
ZnPP	40,1±22,7				37,9±18,5				53,3±31,7			
Transferrin-Sätt	18,1±7,7				14,7±7,5				9,3±5,4			
	X ±SD											

Der in der Gesamtgruppe nachgewiesene Einfluß der Eisentherapie auf die Retikulozytenzahl und die Zellindizes der Retikulozyten läßt sich auch für die Gruppen mit unterschiedlicher Ferritinkonzentration nachweisen. Auffällig jedoch ist, daß der Anstieg der Retikulozyten und Zellindizes der Retikulozyten in der Gruppe mit hoher Ferritinkonzentration und mit der niedrigeren Ferritinkonzentration vergleichbar ist. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß eine Eisentherapie die Blutbildung bei Patienten mit hoher Ferritinkonzentration genauso günstig beeinflusst wie bei Patienten mit niedriger Ferritinkonzentration. Bemerkenswert dabei ist, dass trotz der unterschiedlichen Ferritinkonzentration die ZnPP-Konzentration und die EPO-Dosis zwischen den Gruppen mit unterschiedlicher Ferritinkonzentration vergleichbar sind (**Tabelle 5.2.3.1**).

In **Tabelle 5.2.3.2** dargestellt sind die Ergebnisse für die Gruppen mit unterschiedlicher Transferrin-Sättigung.

Wie in den Untergruppen mit unterschiedlicher Ferritinkonzentration wird auch in den Gruppen mit unterschiedlicher Transferrin-Sättigung ein vergleichbarer Einfluß einer Eisentherapie auf die Retikulozyten und Zellindizes der Retikulozyten beobachtet. Auffällig jedoch ist eine deutlich ausgeprägtere Beziehung zwischen der Transferrin-Sättigung und ZnPP sowie zwischen der Transferrin-Sättigung und der EPO-Dosis. So waren in der Gruppe mit niedrigerer Transferrin-Sättigung signifikant höhere EPO-Dosen zum Erreichen des Hämoglobinzielwertes notwendig. Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß die Transferrin-Sättigung ein besserer Parameter der Eisenverfügbarkeit ist als die Ferritinkonzentration.

Tabelle 5.2.3.2. Einfluss der Eisengabe in Abhängigkeit von der Transferrin-Sättigung

	Transferrin-Sätt. >20%				Transferrin-Sätt. 10-20%				Transferrin-Sätt. <10%			
	Vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p	vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p	vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p
N	31				78				72			
Hämoglobin	10,0±1,1	9,7±1,0	-0,3±0,8	0,3711	9,9±1,1	9,8±1,1	-0,1±0,6	0,1824	9,9±1,1	10,0±1,1	0,1±0,7	0,3263
MCV	96,9±5,5	94,8±4,3	-2,2 ±4,4	0,3122	93,0±7,2	93,2±6,5	0,2±3,4	0,3766	85,6±7,0	87,4±6,8	1,8±2,8	0,0607
MCH	29,8±1,3	31,1±1,2	1,3±0,7	0,0074	29,4±2,3	30,7±2,3	1,2±0,7	0,0006	27,4±2,5	28,5±2,4	1,0±0,7	0,0062
Retikulozyten	20,3±8,9	25,1±8,9	4,8±9,6	0,0086	22,9±11,0	30,8±12	7,9±11	0,0001	21,0±9,1	28,7±12,4	7,6±12	0,0001
MCV _{Retis}	122±5,8	125,5±5,2	3,6±5,7	0,0754	123,7±10,0	125,9±9,6	2,2±7,5	0,0244	120,6±8,5	127,1±8,9	6,6±9,0	0,0001
MCH _{Retis}	30,1±1,5	31,2±1,5	1,2±1,9	0,0129	29,5±2,9	30,9±2,9	1,4±2,3	0,0005	27,7±2,9	29,8±2,8	2,1±2,4	0,0001
EPO/KG/Woche	58,6±50				80,3±78				84,8±82			
Ferritin	475,7±167				218±170				52,7±26			
ZnPP	29,8±10,4				40,6±22,2				57,2±31,5			
Transferrin-Sätt	19,5±6,9				14,2±7,4				9,2±5,5			

X ±SD

In **Tabelle 5.2.3.3** dargestellt sind die Ergebnisse für die Gruppen mit unterschiedlicher ZnPP.

Es konnten signifikant unterschiedliche Mittelwerte aller dokumentierten Blutbildparameter (außer Hämoglobinwerten und Retikulozytenzahl) in einzelnen ZnPP-Untergruppen festgestellt werden (**Tabelle 5.2.3.3**). Weiterhin unterschiedlich waren das Ferritin- und die Transferrin-Sättigung. Die Erythropoetindosis war zwischen den Gruppen mit unterschiedlicher ZnPP-Konzentration hochsignifikant unterschiedlich.

Tabelle 5.2.3.3. Korrelation der untersuchten Parameter in ZnPP-Untergruppen

	ZnPP<30				ZnPP 30-60				ZnPP>60			
	vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p	vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p	vor Eisengabe	nach Eisengabe	Δ	p
N	62				74				45			
Hämoglobin	10,1±1,1	9,9±1,1	-0,2±0,8	0,2149	9,8±1,1	9,8±1,1	-0,1±0,6	0,3599	9,7±1,0	9,9±1,0	0,11±0,7	0,3088
MCV	94,9±6,8	94,0±6,1	-0,9±4,0	0,2108	90,6±7,1	91,3±6,2	0,7±3,2	0,2541	85,3±8,4	87,0±7,6	1,7±3,2	0,1571
MCH	29,8±1,7	31,0±1,9	1,2±0,8	0,0001	28,6±2,3	29,8±2,3	1,1±0,7	0,0018	27,3±3,0	28,4±2,8	1,2±0,8	0,0271
Retikulozyten	20,0±9,1	27,3±10,3	7,3±9,6	0,0001	23,4±10,9	30,0±11,9	6,6±11	0,0003	21,2±9,1	29,6±13,1	8,3±13,1	0,0004
MCV _{Retis}	123,4±8,0	126,1±8,2	2,7±6,6	0,0308	123,0±7,4	127,0±8,0	4,1±7,0	0,0007	119,3±11,4	125,5±10,4	6,2±10,1	0,0045
MCH _{Retis}	30,1±1,9	31,5±2,1	1,3±2,2	0,0002	28,9±2,5	30,4±2,7	1,5±1,9	0,0002	27,2±3,7	29,4±3,0	2,2±2,9	0,0011
EPO/KG/Woche	55,2±60,9				79,1±65,5				109,0±98,3			
Ferritin	222,2±193				195,8±195				161,8±207			
ZnPP	22,7±4,9				43,2±8,1				80,1±29,5			
Transferrin-Sätt	16,6±6,9				12,8±6,9				8,9±7,3			
	X ±SD											

5.3. Bedeutung der ZnPP-Bestimmung bei Patienten ohne Verminderung der Ferritinkonzentration (Ferritin >100µg/l)

Eine verminderte Ferritinkonzentration ist ein valider Prädiktor eines Eisenmangels. Bei Patienten mit Ferritinkonzentrationen > 100 µg/l weisen jedoch einige Patienten eine eisendefizitäre Erythropoese auf. Im vorliegenden Kapitel soll die Frage geklärt werden, ob die ZnPP-Bestimmung hilfreich ist, um bei Patienten ohne verminderte Ferritinkonzentration eine eisendefizitäre Erythropoese und damit die Notwendigkeit einer Eisentherapie nachzuweisen. Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration (n=100) wurden sowohl normale und erniedrigte als auch erhöhte ZnPP-Konzentrationen gemessen. Obwohl ein erhöhte ZnPP-Konzentration (> 30 µmol/mol Häm) auf einen Eisenmangel hinweisen, konnte bei 62 von 100 Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration eine erhöhte ZnPP-Konzentration nachgewiesen werden, dabei lagen die ZnPP von 17 Patienten deutlich über 60 µmol/mol Häm. Der Erythropoetinverbrauch bzw. der Anteil der mit Erythropoetinbehandelten Patienten stieg mit zunehmendem ZnPP (**Tabelle 5.3.1., Abbildung 5.3.1-2.**). Die Transferrin-Sättigung stand im Gegensatz zur Ferritinkonzentration mit dem ZnPP-Spiegel in Beziehung.

Abbildung 5.3.1-2

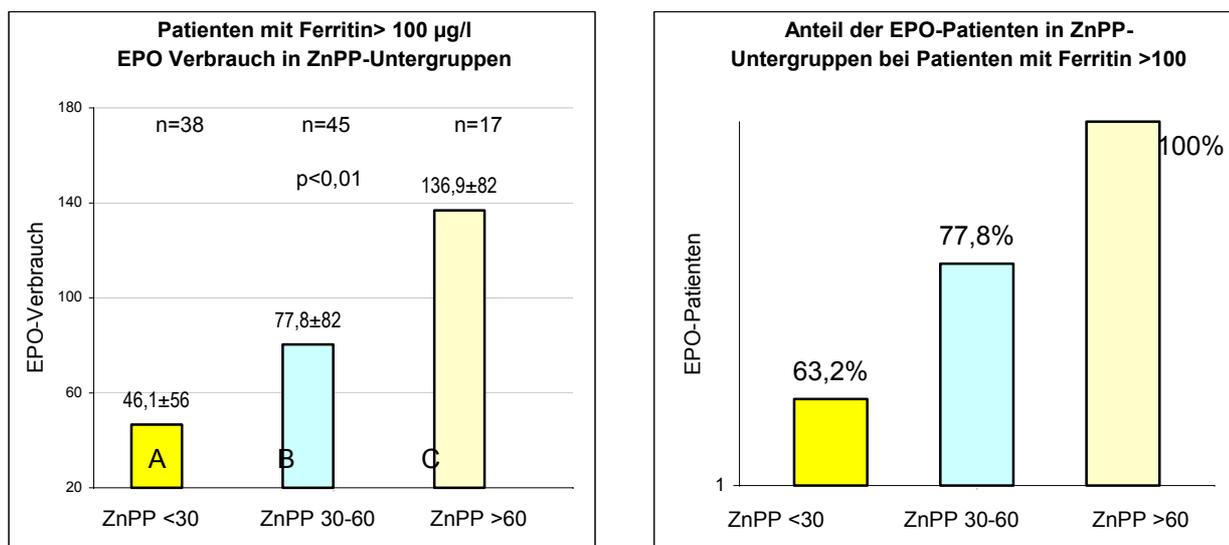


Tabelle 5.3.1. EPO-Dosis und Eisenstoffwechseparameter in ZnPP-Untergruppen bei den Patienten mit Ferritin >100µg/l

Ferritin >100	ZnPP<30	ZnPP 30-60	ZnPP>60	<i>P (ZnPP<30 und >60)</i>
N	38	45	17	
EPO/KG/W	46,1±56,1	80,3±63,9	136,9±82,4	<0,0011
Ferritin	290,1±188	315,3±199	353,0±323,2	0,17
ZnPP	21,6±4,4	40,1±8,8	74,3±16,6	<0,0001
Transferrin-Sätt	19,3±6,7	14,6±7,2	13,3±9,2	0,0043

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Bestimmung von ZnPP und der Transferrin-Sättigung bei Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration hilfreich sein kann, um eine eisendefizitäre Erythropoese nachzuweisen.

In **Tabelle 5.3.2.** sind die Zellindices der Erythrozyten und Retikulozyten bei Patienten mit einer Ferritinkonzentration von > 100 µg/l in Abhängigkeit von ZnPP dargestellt:

Tabelle 5.3.2. Blutbildparameter in ZnPP-Untergruppen bei den Patienten mit Ferritin >100µg/l vor Eisengabe

Ferritin >100	ZnPP<30	ZnPP 30-60	ZnPP>60	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
	vor Eisengabe	vor Eisengabe	vor Eisengabe			
	A	B	C	<i>AB</i>	<i>BC</i>	<i>AC</i>
N	38	45	17			
Hämoglobin	10,1±1,2	9,8±1,0	9,3±1,0	0,1703	0,0401	0,0123
MCV	96,2±5,6	94,0±6,7	88,5±7,5	0,0264	0,0058	<0,0001
MCH	30,0±1,5	29,5±2,2	28,2±2,5	0,0547	0,0362	0,0008
Retikulozyten	20,9±9,6	24,0±11,1	21,8±10,9	0,0766	0,2267	0,3848
MCV _{Retis}	122,1±8,0	124,5±7,5	120,4±14,2	0,1359	0,0802	0,2388
MCH _{Retis}	30,5±1,8	29,6±2,4	27,9±3,9	<0,0001	0,1227	0,0001

X ±SD

Bei normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration zeigte sich bei Patienten mit erhöhtem ZnPP ein signifikant niedrigeres MCV und MCH der Erythrozyten und Retikulozyten als bei Patienten mit normaler oder niedriger ZnPP. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass ein Teil der Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration eine eisendefizitäre Erythropoese aufweisen können.

5.3.1. Effekt einer Eisentherapie bei einer Ferritinkonzentration von > 100 µg/l in Abhängigkeit von ZnPP

Der Effekt einer Eisentherapie auf die Blutbildparameter bei Patienten mit einer Ferritinkonzentration von > 100 µg/l und unterschiedlichen ZnPP-Konzentrationen ist in **Tabelle 5.3.1.1.** dargestellt.

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Eisentherapie in den Gruppen mit unterschiedlicher ZnPP-Konzentration eine vergleichbare Wirkung auf die Blutbildparameter hat. Auch bei Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration und erniedrigtem ZnPP hatte die Eisentherapie einen signifikanten Einfluss auf die Zellindices der Erythrozyten und Retikulozyten. Auch Patienten ohne Hinweis auf einen Eisenmangel scheinen somit gleichermaßen auf eine Eisentherapie anzusprechen. In der Gruppe mit erhöhter ZnPP-Konzentration als Hinweis auf eine eisendefizitäre Erythropoese zeigte die parenterale Eisentherapie keinen ausgeprägteren Einfluss auf die Blutbildparameter als in den Gruppen mit normaler oder erniedrigter ZnPP-Konzentration. Die Daten lassen den Schluss zu, dass eine ZnPP-Bestimmung bei normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration nicht weiterhilft, Patienten zu selektionieren, bei denen eine Eisentherapie sinnvoll ist.

Tabelle 5.3.1.1. *Blutbildparameter vor und nach Eisengabe bei einem Ferritin von >100µg/l in Abhängigkeit von der ZnPP-Konzentration*

Ferritin >100	ZnPP<30				ZnPP 30-60				ZnPP>60			
	vor	nach	Δ	p	vor	nach	Δ	p	vor	nach	Δ	p
	Eisengabe	Eisengabe			Eisengabe	Eisengabe			Eisengabe	Eisengabe		
N	38	38			45	45			17	17		
Hämoglobin	10,1±1,2	9,8±1,1	-0,2±0,7	0,31	9,8±1,0	9,7±0,9	-0,14±0,64	0,14	9,3±1,0	9,3±0,9	0,00±0,6	0,3
MCV	96,2±5,6	94,9±5,2	-1,4±4,1	0,3	94,0±6,7	93,9±6,0	-0,06±3,3	0,12	88,5±7,5	89,1±6,6	0,6±3,4	0,4
MCH	30,0±1,5	31,3±1,5	1,3±0,7	0,000	29,5±2,2	30,7±2,2	0,7±0,7	0,000	28,2±2,5	29,3±2,4	1,2±0,8	0,85
Retikulozyten	20,9±9,6	28,6±10,1	7,6±9,8	0,000	24,0±11,1	30,6±11,6	6,5±9,9	0,001	21,8±10,9	28,3±14,1	6,5±9,9	0,003
MCV _{Retis}	122,1±8,0	125,5±7,6	3,4±5,3	0,03	124,5±7,5	127,0±8,8	2,5±6,3	0,064	120,4±14,2	121,7±10,0	1,3±9,8	0,38
MCH _{Retis}	30,5±1,8	31,6±1,7	1,1±2,1	0,009	29,6±2,4	31,0±2,9	1,4±2,0	0,004	27,9±3,9	29,1±2,7	1,2±2,9	0,149

X ±SD

6.0. Diskussion

Für die Steuerung der parenteralen Eisentherapie bei der Behandlung der renalen Anämie müssen idealerweise Laborparameter verwendet werden, die sicher einen Eisenmangel anzeigen aber auch eine Eisenüberdosierung ausschließen können. Die Verwendung von Ferritin und Transferrinsättigung scheinen keine optimalen Parameter zur Steuerung der Eisentherapie zu sein, da diese auch unabhängig von der Eisenbilanz durch andere Faktoren wie Inflammation, urämische Einflüsse oder nicht korrekte, Blutentnahme verändert werden können.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, die klinische Brauchbarkeit von ZnPP als direkteren und unabhängigeren Parameter einer eisendefizitären Erythropoese mit den etablierten Eisenstoffwechselfparametern Ferritin und Transferrinsättigung zu vergleichen. In der Untersuchung wurde die Beziehung zwischen Blutbildparametern und ZnPP, Ferritin und Transferrinsättigung bei Hämodialysepatienten mit renaler Anämie analysiert. Zudem wurde die Wirkung einer parenteralen Eisentherapie auf die Blutbildung in Abhängigkeit von ZnPP, Ferritin und Transferrinsättigung studiert.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass durch Bestimmung von ZnPP, Ferritin und Transferrinsättigung ein **manifeste Eisenmangel** diagnostiziert werden kann. Zunächst sollen die Ergebnisse der Untersuchung bei Patienten mit manifestem Eisenmangel erörtert werden.

Die signifikante Beziehung zwischen diesen Eisenstoffwechselfparametern und der Zellmorphologie von Erythrozyten und Retikulozyten unterstreichen die Bedeutung dieser Parameter für die Einschätzung der Eisenverfügbarkeit. Ein Anhand der **Mikrozytose und Hypochromie** der Retikulozyten diagnostizierter funktioneller Eisenmangel^{17,29,39,40,77} wurde nicht nur durch geprüfte Eisenstoffwechselfparameter angezeigt, in dieser Patientengruppe konnte auch ein signifikant höherer rHu-Erypo-Verbrauch als in der Patientengruppe mit Normochromie und Normozytose der Retikulozyten nachgewiesen werden. Diese Beobachtung spricht dafür, dass

die verwendeten Eisenstoffwechselfparameter einen Eisenmangel valide anzeigen können.

In der vorliegenden Arbeit konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Ferritin und rHu-Erypo-Dosis sowie zwischen Transferrinsättigung und rHu-Erypo-Dosis nachgewiesen werden. Dagegen konnte eine signifikante Korrelation zwischen ZnPP und **rHu-Erypo-Dosis** dokumentiert werden. Auch wenn eine Vielzahl von Faktoren die Wirksamkeit von rHu-Erypo negativ beeinflussen kann, steht klinisch der Eisenmangel ganz im Vordergrund. Jedes Eisendefizit wird die Effektivität von rHu-Erypo herabsetzen, so dass höhere Dosen, sowohl in der Korrektur- als auch in der Erhaltungsphase erforderlich werden⁸. Laut Befunden von Tsobanelis et al. kommt es bei 90% der mit rHu-Erypo behandelten Patienten bereits in der Korrekturphase zu einem Eisendefizit¹³². Die hohe rHu-Erypo-Dosis ist dabei kein Zeichen der Erythropoetinresistenz, sondern hohe EPO-Dosen ermöglichen die Mobilisation von Eisenreserven zugunsten der Hämatopoese auch bei hyporegenerativer Eisenmangelanämie.

Bei ausgeschlossenen Blutverlust weist eine steigende rHu-Erypo-Dosis auf eine nicht bedarfsgerechte Eisenversorgung bzw. auf eine nicht ausreichende Eisenverfügbarkeit hin.

Die in unserer Arbeit beobachteten hohen Erythropoetindosen bei Patienten mit hohem ZnPP erlaubt deshalb die Schlussfolgerung, dass ZnPP eine eisendefizitäre Erythropoese unter rHu-Erypo-Therapie anzeigen kann. Die Ergebnisse unserer Untersuchung sprechen deshalb dafür, dass durch Bestimmung von ZnPP ein Missverhältnis zwischen Stimulation der Erythropoese und der Eisenversorgung erkannt werden kann. Nicht beantwortet werden kann jedoch die Frage, ob eine eisendefizitäre Erythropoese für die hohen Erythropoetindosen oder hohe Erythropoetindosen für die eisendefizitäre Erythropoese verantwortlich ist. Sowohl Ferritin als Maß des Eisenspeichers als auch Transferrinsättigung als Maß der Eisentransportkapazität sind keine validen Parameter, die die Verfügbarkeit von gespeichertem oder transportiertem Eisen für die Hämatopoese anzeigen.

Obwohl die relative und absolute Retikulozytenzahl ein Maß für die effektive Blutbildung ist, konnte in den vorliegenden Studien keine Korrelation zwischen der **Retikulozytenzahl** und den Eisenstoffwechselfparameten festgestellt werden. Die Erythrozyten- und Retikulozytenzahl war bei Patienten mit sehr hohen rHu-Erypo-Dosen im Vergleich zu den Patienten mit sehr niedrigen rHu-Erypo-Dosen nicht signifikant unterschiedlich. Zurückgeführt werden kann diese Beobachtung darauf, dass in unserer Untersuchung ein Zielhämoglobinwert von 10 g/dl angestrebt wurde und somit die Erythrozyten- und Retikulozytenzahl durch das Studienprotokoll nivelliert wurden.

In Abhängigkeit von dem zugrunde liegenden Eisenstoffwechselfparameter lag die Häufigkeit eines Eisenmangels zwischen 24,9% und 44,8%. Die Häufigkeit eines Retikulozytenanstieges unter parenteraler Eisengabe war im Gegensatz dazu mit 12,7 % deutlich niedriger. Die Retikulozytenkrise (Retikulozytenanstieg um 40-400‰), eine typische Reaktion der eisendefizitären Erythropoese auf eine parenterale Eisengabe, wurde überraschenderweise nur bei wenigen Patienten beobachtet. Die Variabilität der Retikulozytenzahländerung scheint von der Erythropoietindosis abzuhängen, da die Erythropoietindosis in der Gruppe mit einem signifikanten Retikulozytenanstieg (=12,7 % der Patienten) signifikant höher war als bei Patienten ohne Retikulozytenanstieg (mittlere Erythropoietindosis $112,8 \pm 81,2$ versus $73,3 \pm 74,2$, $p < 0,01$). In Übereinstimmung damit waren Ferritin, Transferrinsättigung und ZnPP bei Patienten mit und ohne Änderung der Retikulozytenzahl nicht signifikant unterschiedlich. Eine Änderung der Zellindizes war unabhängig von der Änderung der Retikulozytenzahl. In beiden Patientengruppen änderten sich auch die Zellindizes nicht unterschiedlich. Bei Patienten ohne eine Änderung der Retikulozytenzahl wurde ein signifikanter Anstieg der Zellindizes nach Eisengabe beobachtet. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass sich der Ausgleich eines Eisenmangels durch Eisensubstitution in einer Änderung der Zellindizes und nicht der Retikulozytenzahl erkennen lässt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass bei mit rhu-EPO behandelten Patienten nicht die Änderung der **Retikulozytenzahl** sondern die Änderung der **Retikulozytenzellindizes** nach parenteraler Eisengabe als ein **Maß der Eisenverfügbarkeit für die Erythropoese** gelten kann. Die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration in Erythrozyten und Retikulozyten nach parenteraler Eisentherapie zeigte nur bei Patienten mit hypochromen und mikrozytären Retikulozyten einen signifikanten Anstieg. Erwartungsgemäß zeigte sich eine signifikante Beziehung der retikulären, korpuskulären Hämoglobinkonzentration und den Eisenstoffwechselparameter.

Um den bei Dialysepatienten geschätzten jährlichen Blutverlust von 1000-4000 ml (Hocken AG, Marwah PK. Iatrogenic contribution to anaemia of chronic renal failure. Lancet 1971;1:164-165) auszugleichen, ist eine parenterale Substitution von 400-1600 mg Eisen im Jahr notwendig. Die parenterale Applikation von Eisen muss wegen der sehr hohen Dosen und einer möglichen Toxizität genau kontrolliert werden. Da ein einzelner Parameter fehlt, der eine adäquate Steuerung der Eisendosis möglich macht, werden verschiedene Bestimmungsmethoden verwendet oder kombiniert, um sowohl Eisenmangel wie auch Eisenüberladung mit ausreichender Sicherheit zu erkennen.

Die Bestimmung des **Transporteisens** im Serum bzw. Plasma erlaubt wegen der starken, unter anderem zirkadianen Schwankungen keine repräsentative Abschätzung der Gesamtkörpereisenreserven. Besonders fraglich bleiben Ergebnisse der Serumeisenuntersuchung bei Patienten, die abends dialysiert werden. Die Transferrinsättigung hat sich jedoch in der praktischen Anwendung als ein mit Einschränkungen zuverlässiger Parameter zur Steuerung der Eisentherapie bei Dialysepatienten herausgestellt^{35,52,90}. Dieser Parameter erlaubt nach Ansicht mehrerer Autoren die besonders wichtige Differenzierung zwischen einem manifesten und einem funktionellen Eisenmangel^{35,52,72} und kann das Ansprechen der Erythropoese auf die Erythropoetintherapie anzeigen^{52,97,106}. Der Ferritinspiegel ist dagegen nur bei Patienten ohne Inflammation für **das Speichereisen** repräsentativ¹⁰⁹. Die Bedeutung der ZnPP-Spiegel zur

Quantifizierung der Eisenverfügbarkeit für die Erythropoese wurde in mehreren Studien festgestellt^{64,48,48,47,86,86,65}. Es wurde zweifellos ein Zusammenhang zwischen ZnPP und Serumferritin bei gesunden Personen beobachtet⁶⁴. Labbe wies 1987 in mehreren Studien eine hochsignifikante Korrelation zwischen ZnPP und Ferritin bei Patienten mit progredienter Eisenmangelanämie nach. Bei kontinuierlichem Ferritinanstieg kam parallel zu einem Abfall von ZnPP. Die Beziehung zwischen ZnPP und Transferrinsättigung bzw. Hämatokrit war lose.

Die positive Wirkung der Eisengabe (Änderung der Retikulozytenzellindizes) bei verminderter Ferritinkonzentration oder Transferrinsättigung bestätigt die Indikation zur parenteralen Eisentherapie. ZnPP ist dabei gleichermaßen in umgekehrt proportionalem Verhältnis geeignet, einen manifesten Eisenmangel zu erkennen. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen somit die klinisch bekannte Bedeutung der genannten Eisenstoffwechselfparameter bei der Diagnostik **des manifesten Eisenmangels**. Im Vergleich zur Bestimmung von Ferritin und Transferrinsättigung lässt sich in der vorliegenden Untersuchung kein bedeutsamer Vorteil der Bestimmung von ZnPP nachweisen. Bei latentem Eisenmangel schätzen einige Autoren den prädikativen Wert von **ZnPP** höher ein als die Bestimmung der Serumferritin oder von der Transferrinsättigung. Deshalb wird von einigen Untersuchern die Anerkennung von ZnPP als Screening-Methode sowohl zu Beginn wie auch als Verlaufskontrolle für jede Eisenbehandlung empfohlen^{72, 114}.

Die wichtigste Fragestellung der vorliegenden Untersuchung war, ob die Indikation zur parenteralen Eisensubstitution durch Bestimmung von ZnPP bei Patienten mit einem funktionellen Eisenmangel geklärt werden kann. Bei diesen Patienten werden normale oder sogar erhöhte Ferritinkonzentrationen gemessen. Entsprechend sind beim funktionellen Eisenmangel (eisendefizitäre Erythropoese) die Eisenspeicher ausreichend gefüllt, jedoch kann das Eisen zur Erythropoese nicht ausreichend zur Verfügung gestellt werden.

Unsere Arbeit zeigt, dass **auch** Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration auf eine parenterale Eisentherapie ansprechen. So war ein vergleichbarer Einfluss einer parenteralen Eisentherapie auf die erythrozytären und retikulären Zellindizes bei Patienten mit hoher Ferritinkonzentration und bei Patienten mit normaler Ferritinkonzentration nachweisbar. Überraschend dabei ist, dass der Effekt einer parenteralen Eisentherapie auf die Zellindizes bei einem Teil der Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration nicht weniger ausgeprägt war als bei Patienten mit niedriger Ferritinkonzentration. Diese Beobachtung weist auch daraufhin, dass sowohl bei Patienten mit relativ niedriger Ferritinkonzentration als auch bei Patienten mit hoher Ferritinkonzentration die Eisenverfügbarkeit gestört sein und diese durch parenterale Eisentherapie verbessert werden kann. Die Verfügbarkeit von Eisen für die Erythropoese läßt sich somit nicht durch Füllungszustand der Eisenspeicher voraussagen.

Die Beobachtung ist nicht neu: Laut European Best Guidelines (1999) soll in der Aufsättigungsphase mit parenteral verabreichtem Eisen (30-50 mg intravenös / Dialyse) ein Ferritin-Zielwert von 200-500 ng/ml (akzeptable Grenzwerte 100-800 ng/ml) **und** Transferrinsättigung-Zielwert von 30-40% (akzeptable Grenzwerte 20-50%) erreicht werden. Weiterhin soll eine Erhaltungsdosis von 25-100 mg/Woche in zweiwöchigem Rhythmus geführt werden. Somit ist die Indikation für eine parenterale Eisentherapie solange gegeben, bis die laborchemischen Parameter auf eine Eisenüberladung hinweisen.

Eine generelle Verabreichung von parenteralem Eisen bei Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration erscheint jedoch wegen möglicher toxischer Nebenwirkungen problematisch. Prof. Kaltwasser äußerte während des fünften Rostock-Schwerin-Eisen-Anämie-Symposiums 1993 folgende Meinung: *„Der potentiell negativen Wirkung eines Eisenüberangebotes, der Rolle des Eisens als proinflammatorischer Effektor oder gar seine Rolle als potentielles Kanzerogen wird zunehmend größere Aufmerksamkeit gewidmet und die Sinnfälligkeit einer auf Optimierung der Eisenzufuhr gerichteten Denkweise wird zunehmend in Zweifel gezogen. Es*

ist offenbar ein Paradigmawechsel eingetreten. Es gibt inzwischen Anlass zu der Frage, ob Eisenmangel nicht zuweilen eher nützlich als schädlich ist. Wo hier die goldene Mitte sinnvollerweise zu orten ist, bleibt jedoch vorerst eine offene Frage“⁵⁸.

Über die Auswirkung einer langjährigen parenteralen Eisentherapie auf Alterungsprozesse und die Überlebenszeit von Dialysepatienten kann heutzutage nur spekuliert werden.

Die bisher längste, publizierte Untersuchung der Serumferritinkonzentration über einen Beobachtungszeitraum von 4 Jahren⁶⁰ zeigte bei Dialysepatienten mit einem Serumferritinwert von mehr als 600 ng/ml eine signifikant erhöhte Mortalität als bei Patienten mit einem Ferritin von weniger als 600 ng/ml. Diese erhöhte Mortalität war unabhängig von der CRP-Konzentration nachweisbar. Diese Ergebnisse werfen Fragen zur langfristigen Sicherheit der empfohlenen Ferritingrenzwerte (500 ng/ml entsprechend den European Best Practice Guidelines und 800 ng/ml entsprechend dem NKF-DOQI-Guidelines) auf, unterhalb derer eine Eisensubstitution empfohlen wird.

Zur Beurteilung der Eisenverfügbarkeit bei Dialysepatienten mit erhöhten Ferritinwerten ist offensichtlich ein zusätzlich ein weiterer Eisenstoffwechselfparameter notwendig. Die Analyse der Retikulozytenzellindizes sowie der Änderungen der retikulozytären Hämoglobinkonzentration nach parenteraler Eisengabe zeigte einen Vorteil der ZnPP-Bestimmung gegenüber der Bestimmung von Ferritin und Transferrinsättigung. Es konnte zudem ein stärkerer Zusammenhang zwischen der Erythropoetindosis und ZnPP nachgewiesen werden. Da eine geringe Eisenverfügbarkeit zu erhöhtem Erythropoetinverbrauch führt, könnte diese Beobachtung auf einen höheren prädikativen Wert von ZnPP hinweisen.

Die Analyse der Blutbildparameter insbesondere der Retikulozytenzellindizes nach Eisengabe lieferten wichtige Daten zur Beurteilung der Rolle von ZnPP bei Patienten mit normalen und erhöhten Ferritinwerten (Ferritin > 100 µg/l).

Bei 62 der 100 Patienten mit normaler oder erhöhter Ferritinkonzentration (Ferritin > 100µg/l) wurde in unserer Studie konträr eine erhöhte ZnPP-Konzentration als Indikator einer gestörten Eisenverfügbarkeit gemessen. Bei diesen Patienten zeigte sich im Gegensatz zur der Beobachtung im Gesamtkollektiv keine Korrelation zwischen ZnPP und Ferritin.

Trotz der fehlenden Beziehung zur Ferritinkonzentration zeigt sich bei den 62 Patienten eine signifikante Beziehung zwischen ZnPP und der Zellmorphologie von Erythrozyten und Retikulozyten. Diese Beziehung weist auf die Bedeutung von ZnPP als Parameter der Eisenverfügbarkeit hin. Es erscheint zunächst plausibel, daß aufgrund dieser Beziehung ZnPP auch die Wirksamkeit einer Eisentherapie vorhersagen kann. Die Ergebnisse unserer Arbeit bestätigen diese Hypothese jedoch nicht. Die parenterale Eisengabe brachte zwar signifikanter Änderung der Retikulozytenzellindizes auch bei normaler Ferritinwerten (Ferritin >100 µg/l), die dokumentierte Änderung der Zellindizes stand jedoch diesmal in **keinem Zusammenhang** mit der ZnPP-Konzentration.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen wie zu erwarten den Schluss zu, dass durch Bestimmung von ZnPP, Ferritin und Transferrinsättigung ein manifester Eisenmangel diagnostiziert werden kann. Die zentrale Schlussfolgerung der vorliegenden Arbeit ist jedoch, daß die parenterale Eisengabe bei zahlreichen Patienten mit normaler Ferritin- und ZnPP-Konzentration und normaler Transferrinsättigung eine ebenso ausgeprägte Wirkung auf die Erythropoese haben kann wie bei Patienten mit nachwiesenem Eisenmangel. Die Bestimmung von ZnPP verbessert somit die Steuerung der parenteraler Eisentherapie bei den Patienten mit Eisenverwertungsstörungen oder mit funktionellem Eisenmangel nicht.

Auch eine Eisenüberladung kann durch Bestimmung von ZnPP nicht ausgeschlossen werden.

Einige Untersucher betonen die Praktikabilität (unkomplizierter Gewinn des Untersuchungsmaterials, Transport und Lagerung bis 10 Tage möglich) und Verlässlichkeit (Unabhängigkeit der ZnPP-Bildung von Alter, Geschlecht und Hämatokrit sein ^{62,86,67}) der ZnPP-Bestimmung im Vergleich zur Bestimmung von Ferritin oder Transferrinsättigung. Im praktischen Ablauf unserer Studie spielte dieser Vorteil jedoch keine Rolle.

Die Interpretation unserer Untersuchungsergebnisse wird durch die kurze, vierwöchige Beobachtungsperiode nach Beginn der Eisentherapie limitiert. Die Änderung der Eisenstoffwechselfparameter und des Erythropoietinverbrauchs unter Eisengabe läßt sich in unserer Untersuchung nicht beurteilen. Trotz dieser Einschränkung belegen die Ergebnisse unserer Untersuchung deutlich, daß die Eisenstoffwechselfparameter die Wirksamkeit einer parenteralen Eisentherapie nicht vorhersagen kann.

Literaturverzeichnis

1. **Abreo K.,** J. Glass: Cellular, biochemical, and molecular mechanism of aluminium toxicity. *Nephrol Dial Transplant Suppl.* 1(1993) 5-11
2. **Abreo K.,** M. Sella, X. Alvarez: Aluminium alters the compartmentalization of iron in Friend erythroleukemia cells. *J Am Soc Nephrol* 1991; 2:371
3. **Allegr V.,** C. Mengozzi, A. Vasile: Iron deficiency in maintenance hemodialysis patients: assessment of diagnosis criteria and of three different iron treatments. *Nephron* 57: 175-182 (1991)
4. **Aust S.:** Sources of iron for lipid peroxidation in biological systems. *Oxygen radicals, Upjohn symposium*, 27-33 (1987)
5. **Baldus M.,** H. Brass: Erythropoetin- ein neues Prinzip in der Behandlung der renalen Anämie. *Nieren und Hochdruckkrankheiten*, Jahrgang 19, Nr. 5/1990, S. 170-177
6. **Bailey G.G.,** L.L. Needham: Simultaneous quantification of zink protoporphyrin IX by liquid chromatography. *Clin Chem* 32 (1986), 2137-2142
7. **Bentley D.P.,** P. Williams: Serum ferritin concentration as an index of storage iron reumatoid arthritis. *J Clin Pathol* 27:786 (1974)
8. **Bergmann M.,** P. Grüzmacher, J. Heuser, JP. Kaltwasser: Iron methabolim under rhEPO therapy in patients on maintenance hemodialysis. *Int J Artif Organs* 13, 109-112 (1990)
9. **Bia J.M.,** K. Cooper, S. Schnall:Aluminium induced anemia: Pathogenesis and treatment of patients on hemodialysis. *Kidney Int* 1989; 36; 852-858
10. **Blumberg W.E.,** J.Eisinger, A.A.Lamola, D.M.Zuckermann: The Hematofluorometer. *Clin Chem* 23 (1977), 270-274.
11. **Blumberg W.E.,** J.Eisinger, A.A.Lamola , D.M.Zuckermann: Zinc protoporphyrin level in blood determined by a portable hematofluorometer: a screening device for lead poisoning. *J Lab Clin Med* 89 (1978), 712-723

12. **Boelaert J. R.,** R. F. Daneels, et al.: Iron Overload in Haemodialysis Patients Increases the Risk of Bacteraemia. A Prospective Study.; *Nephrol Dial Transplant*; 5: 130-134; 1990.

13. **Boelaert JR.,** BF Continieaux, C. Harriga, PG. Foundu: Recombinant erythropoietin reverses polymorphonuclear granulocyte dysfunction in iron-overloaded dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 5, 504-507 (1990)

14. **Bodemann H.,** L. Thomas ;Blutbild; in *Labor und Diagnose*, 4. Auflage. Thomas, L. (ed.). s.:580-625 Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, 1992

15. **Bonkowsky H.:** Iron and the liver. *Amer.J. Med. S.* 1, 32 (1991)

16. **Borg D.C.,** KM. Scheich: Iron and iron-derived radikals. *Upjohn Symposium. Oxigen radikals* April 1987, 20-26 (1987)

17. **Brugnara C.,** M.J. Hipp, P.J. Irving, H. Lathrop, P.A. Lee, E.M. Minchello, J. Winkelmann. Automated retikuloocyte counting and measurement of reticulocyte cellular idices. *Am J Clin Pathol* (1994), 102:623

18. **Burkitt M.J.,** B.C. Gilbert: The autooxidation of iron(II) in aqueous systems: The effects of iron chelaton by physiological, non-physiological and therapeutic chelators on the generation of reactive oxygen species and the inducement of biomolecular damage. *Free Rad. Res. Comms* 14, 107-123 (1991)

19. **Camadro J.M.,** P. Labbé: Kinetic studies of ferrochelataase in yeast. Zinc or iron as competing substrates. *Biochim Biophys Acta* 707 (1982), 280-288

20. **Camadro J.M.,** N.G. Ibrahim, R.D. Levere: Kinetic studies of human liver ferrochelataase: Role of endogenous metals. *J Biol Chem* 259 (1984), 5678-5682.

21. **Cantinieaux B.,** J. Boelaert et al.; Impaired Neutrophil Defense Against *Yersinia enterocolitica* in Patients with Iron Overload who are Undergoing Dialysis.; *J Lab Clin Med*; 111:524-528.;1988

22. **Caravaca F.** et al: 29th Congres of the „European Dialysis and Transplantant Assotiation“ 28. 06-01. 07. 1992, Paris. Communications on Erythropoietin 6. Boehringer-Mannheim. 5.2; 8-9. 1992
23. **Caro J.,** S. Brown; O. Miller, et al.; Erythropoetin Levels in Uremic Nephric and Anephric Patients.; J. Lab. Clin. Med. 93: 449-458; 1979
24. **Chisolm J.J,** Brown D.H.: Micromethod for zinc protoporphyrin in erythrocytes: Including new data onthe absorptivity of zinc protoporphyrin and new observations in neonates and sickle call disease. Biochem Med 22 (1979), 214-237.
25. **Chisolm J.J., Jr.:** Screening techniques for undue lead exposure in children: biological and practical considerations. J Pediatr 79 (1971), 719-725
26. **Chisolm J.J., Jr.:** Screening for lead poisoning in children. Pediatrics 51 (1973), 280-283
27. **Chisolm J.J., Jr.,** E.D. Mellitis, J.E. Keil, M.B. Barret: A simple protoporphyrin in erythrocytes assay-microhematocrit procedure as a screening technique for increased lead absorptio in young children. J Pediat 84, (1974), 490-496
28. **Cook, J. D.,** B. S.Skikne: Blood Reviews 1: 267 (1987). Intestinal Rregulation of Body Iron.
29. **Cullen P.,** J. Soffker, M. Hopfl, C. Bremer, R. Schlaghecken, T. Mehrens, A. Assmann, R.M. Schaefer.: Hypochromic red cells and retikulocyte hemoglobin content as marker of iron-deficient erythropoesis in patients undergoing chronic haemodialysis. Nephrol Dial Transplant (1999), 14:659
30. **Dagg J.H.,** A. Goldberg, A. Lochhead: Value of erythrocyte protoporphyrin in the dignosis of latent iron deficiency (sideropenia). Brit J Hematol 12 (1966), 326-330
31. **Day L.:** Oxygen's evil Twin. The role of free radicals in exercise, aging and disease. LBL Research Reviews 13, 24-32 (1988)

32. **Dietzfelbinger H.;** Eisen und Eisenstoffwechsel; In Klinische Hämatologie; Hrsg: H. Begemann, J. Rastetter; Georg Thieme Verlag Stuttgart New York s.: 56-66; 1993
33. **Enne W.;** Eisen und Eisenstoffwechsel; In Klinische Hämatologie; Hrsg: H. Begemann, J. Rastetter; Georg Thieme Verlag Stuttgart New York s.: 34-37; 1993
34. **Eschbach J., J. Egrie, M. Downing et al.;** Correction of the Anemia of End-Stage Renal Disease with recombinant human Erythropoietin.; N Engl J Med 316:73-78.(1987)
35. **Eschbach J.W.,** J.w. Adamson: Modern aspects of the pathophysiology of renal anemia. Contrib Nephrol 66 (1988), 203-209
36. **Eschbach JW.,** MR. Downing, JC: Egrie, JK Browne, JW. Adamson: USA multicentrel clinical trial with Rh-EPO(Amgen). Contrib Nephrol, 76 160-165 Karger, Basel(1989)
37. **Finch CA.,** JD Cook, RF. Labbé et al: Effect of blood donation on iron stores as evaluated by serum ferritin. Blood. 50, 441-447 (1977)
38. **Fishbane S;** ShapiroW, Dutka P; et al. A randomized trial of iron deficiency testing strategies in haemodialysis patients. Kidney int 2001;60:2406-241.
39. **Fishbane S.,** W. Shapiro, O.F. Valenzuela, P. Dutka, J.K. Maesaka.; Retikuloocyte haemoglobin content (CHR) for the diagnosis of iron deficiency in haemodialysis patients. J Am Soc Nephrol (2000), 11:250A.
40. **Fishbane S;** C. Galgano, R.C. Langley, W. Canfield, J.K. Maesaka; Retikuloocyte haemoglobin content in the evaluation of iron status in haemodialysis patients. Kidney int (1997), 52:21.
41. **Flament J.,** M. Goldman, Y. Waterlot, E. Dupont, et al.; Impairment of Phagocyte Oxidative Metabolism in Hemodialysed Patients with Iron Overload. Clin Nephrol; 25:227-230; 1986
42. **Goldschmidt H.,** Grundlage des Eisenstoffwechsel; Deutsche Medizinische Wochenschrift 38; 1287- 1289) red. E.Ritz, Heidelberg;09.1994
43. **Gollan J.L.:** Diagnosis of hemochromatosis. Gastroenterology 84, 418 (1984)

44. **Grüzmacher P.**, T. Tsobanelis, P. Roth, E. Werner, J. Vlachoianis, J. Kaltwasser, P. Kurz, E. H. Scheuermann and W. Schoeppe.; Effect of Rec. Human Erythropoietin on Iron Balance in maintenance Hemodialysis: Theoretical Considerations, Clinical Experience and Consequences; Clinical Nephrology, Vol.38 suppl. No.1-1992(pp. S92-S97)
45. **Graf, H.:** Sauerstoffradikale in Biologischen Systemen, GIT Fachz. Lab. 8, 963-970. 1990
46. **Hart D., S. Piomelli:** Simultaneous quantitation of zinc protoporphyrin and free protoporphyrin in erythrocytes by acetone extraction. Clin Chem 27 (1981), 220-222
47. **Hastka J., J.J. Lasserre, A. Schwarzbeck, M. Strauch, R. Hehlmann:** Washing erythrocyte to remove interferents in measurements of zinc protoporphyrin by front-face hematofluorometry. Clin Chem. 11: 2184-2189 (1992)
48. **Hastka J., J.J. Lasserre, A. Schwarzbeck, R. Hehlmann, M. Strauch:** Zink-Protoporphyrin als Alternative zu Ferritin bei Steuerung der Eisensubstitution erythropoetinbedürftiger Dialysepatienten. Nieren- und Hochdruckkrankheiten 20 (1991), 697-700
49. **Hillman, R. S.:** Hematopoietic agents: Growth Factors, Minerals, and Vitamins(1277-1310).in The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11 Edition. Pergamon Press 1990
50. **Hörl W.H.:** Eisenstoffwechsel unter rHu-EO-Therapie. Spektrum der Nephrologie. 3, 14-15, (1991)
- 50a. **Hörl W.H.:** Infektionsgefährdung des urämischen Patienten. Editorial: Neph. Info-Dienst GRY-Foundation; V.10 Heft 3, 1995
51. **Hörl WH.:** Europäisches Erythropoetin-Symposium in Sevilla, Spanien 11.-13. November 1994; Workshop 5 How to Get the Best out of rhEPO. Spektr. der Nephrol. 8, 7-8 (1994)
52. **Hörl W.H., K. Dreyling, H.B. Steinhauer, R. Engelhardt, P.Schollmeyer:** Iron status of dialysis patients under rhuEPO therapy, in: Erythropoietin in the 90s.R.M. Schäfer, A. Heidland, W.H. Hörl (eds.), Contrib Nephrol 87 (1990), 76-86, Karger, Basel

53. **Ittel T.H.:** Determinants of gastrointestinal absorption and distribution of aluminium in health and uremia. *Nephrol Dial Transplant Suppl.* 1(1993)17-24
54. **Jelkmann W.;** Renal Erythropoetin. Properties and Produktion; *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 104: 139-215; 1986.
55. **Jontofsohn R,** et al: Ferrokinetik bei chronischen Dialysepatienten. *Nuklearmedizin, Schattauer Verlag Stuttgart/New York* (1974) 344
56. **Jontofsohn R:** Eisenstoffwechsel bei chronischer Niereninsuffizienz aus heutiger Sicht. *Nephologie, Volume 5, Heft 4,* (1990) 22-25.
57. **Kaltwasser J.P.;** C. Eisenstoffwechsel.; Mueller-Eckhardt (Hrsg.); *Transfusionsmedizin - Grundlagen, Therapie, Methodik;* Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, London, Paris, Tokyo (109-122); 1985.
58. **Kaltwasser J.P.:** Eisenstoffwechse heute: Paradigme-Wechsel? 5. *Rostock-Schwerin-Eisen-Anämie-Symposium 1993* (abstract)
59. **Kampf D.,** A. Kahl, J. Passlick et al.; Single-dose Kinetics of Recombinant Human Erythropoetin after Intravenous, Subcutaneous and Intraperitoneal Administration.; *Contr Nephrol* 76:106-111; (1989)
60. **Kletzmayer, J.,** Hörl WH: Iron overload and cardiovascular complications in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant;* 17 (Suppl.2):27-32, 2002
61. **Kroemer G.,** A. Solf, B. Ehmer et al.; Single-Dose Pharmacokinetics of Recombinant Human Erythropoetin Comparing Intravenous, Subcutaneous and Intraperitoneal Administration in IDP patients.; *Kidney Int* 37(1):331; (1990).
62. **Labbé R.F.,** C.A. Finch, N.J. Doan, S.K. Sood, N. Madan: Erythrocyte protoporphyrin/heme ratio in the assessment of iron status. *clin chem* 25 (1979), 87-92
63. **Labbé R.F.,** R.L. Rettmer, A.G. Shah, J.R. Turnlund: Zinc protoporphyrin- past, present and future. *Ann NY Acad Sci* 514 (1987), 7-14

64. **Labbé R.F., R.L. Rettmer:** Zinc protoporphyrin: a product of iron-deficient erythropoiesis. *Semin Hematol* 26 (1989), 40-46.
65. **Labbé R.F.:** Klinikal utility of zinc protoporphyrin. *Clin Chem* 38 (1992), 2167-2168
66. **Lamola A.A., T. Yamane:** Zinc protoporphyrin in the erythrocytes of patients with lead intoxication and iron deficiency anemia. *Science* 186 (1974), 936-938
67. **Lamola A.A., J.Eisinger, W.E. Blumberg:** Erythrocyte protoporphyrin/heme ratio by hematofluorometry. *Clin Chem* 26 (1980), 677-678
68. **Lichtmann H.C., F. Feldmann:** In vitro pyrrole and porphyrin synthesis in lead poisoning and iron deficiency. *J Clin Invest* 42 (1963), 830-839
69. **Macdougall I., D. Roberts, P. Neubert et al.;** Pharmacokinetics of Recombinant Human Erythropoetin in Patients on Continous Ambulatory Peritoneal Dialysis.; *Lancet I:* 425-427; (1989)
70. **Macdugal I.C., I. Cavill, B. Hulme, B. Bein, et al:** Dedection of funktional iron deficiency during erythropoietin tretment: a new approach. *Brit Med J* 304, 225-226 (1992)
71. **Macdougall I., B. Tucker, J. Tompson et al.;** (Department of Nephrology, St. Bartholomew's Hospital, London); A Randomized controlled Study of Iron Supplementation in Patient Treated with rh EPO.; Mitteilung: XXXth Congress of the European Dialysis and Transplantant Association- European Renal Association Sep. 15-18,1993
72. **Mahaffey K.R., J.L. Annest:** Association of erythrocyte protoporphyrin with blood lead level and iron status in the Second National Health and Nutrition Examination Survey, 1976-1980. *Environ Research* 41 (1986), 327-338.
73. **Marti, H.R.:** Klinisch-hämatologische Aspekte der oralen und parenteralen Eisentherapie. *Therapiewoche* 36(1972) 2952

74. **McLaren G.D.,** J.T. Carpent, H.V. Nino: Erythrocyte protoporphyrin in the detection of iron deficiency. Clin Chem 21 (1975), 1121-1127
75. **Meile S.,** Vergleichende Untersuchungen zur klinischen Relevanz neuer Parameter des Eisenhaushaltes bei Terminaler Niereninsuffizienz. 1994
76. **Meinen M.,** K. B. Schöpe; Recormon®- für die intravenöse und subkutane Anwendung; Hrsg: Boehringer Mannheim (Monografie); 1992
77. **Mittmann N.,** R. Sreedhara, R. Mushnick, et al.: Reticulocyte haemoglobin content predicts functional iron deficiency in hemodialysis patienta receiving rHuEPO. Am J Kid Dis (2997), 30:912
78. **Mossey TR.,** L. Wielopolski, AG. Bellucci, BM. Wilkes, M. Chandra: Reduction in liver iron in hemodialysis patients with transfusional iron overload by desferoxamie mesylate. Am J Kidney Dis. 12, 40-44 (1988)
79. **Niederau C.,** W. Stremmel, A. Littauer, G. Stromayer: Dignose und Therapie der Hämochromatose. Münch.med. Wschr. 134, 724-729 (1992)
80. **d'Onofrio G.,** R. Chirillo.: Simultaneous H*3 RBC and reticulocyte measurement: Is it klinikally useful? Lecture at the symposium: New perspectives for hematology (Leverkusen 1993). Caduceus Pawling 1993
81. **Peters, H.-D.:** ERYPO® rHuEPO. Erythropoetin human, rekombiniert; II. erweiterte Auflage (Monographie); Hrsg: CILAG GmbH, Fresenius AG.
82. **Piomelli S.,** B. Davidof, V.F. Guinee, P. Young, G. Gay: The FEP (free erythrocyte protoporphyrins) test: a screening micromethod for lead poisoning. Peds 51 (1973), 254-259.
83. **Piomelli S.:** A micromethod for free erythrocyte porphyrins: The FEP test. J Lab Clin Med 81 (1973), 932-940
84. **Porstmann B.:** Retikulozyten, Reifung, Analytik, klinische Bedeutung. Verlag D.E. Wachholz K.G. Nürnberg, 1993

85. **Pronai W., F.** Stockenhuber: Folic acid supplementation improves Erythropoietin response. XXXth Congress of the European Dialysis and Transplant Association European Renal Association September 15-18, 1993 Glasgow, Scotland
86. **Rettmer RL., P.** Fernandez-Cano, ML. Sayers, ED. Ashwood, RF. Labbé: The zinc-protoporphyrin/heme ratio in laboratory diagnosis. Clin Chem 31, 1026 (1985)
87. **Rhyner K., F.** Egli, M. Niemöller, A. Wiechorek, P. Greminger, W. Vetter; Serumerythropoetinwerte bei verschiedenen Krankheitszuständen; I. Schweiz. Erythropoietin Symp.; Nephron 1989;51(suppl1):39-46
88. **Rich I.;** Erythropoietin Production by Macrophages: Cellular Response to Physiological Oxygen Tensions and Detektion of Erythropoietin Expression by in situ Hybridization.; In: Molecular and cellular aspects of Erythropoietin and Erythropoiesis.; Nato ASI Series H: Cell Biol, Springer Verlag, Berlin, Vol. 8:291-310;1987.
89. **Rosse W., T.** Waldmann; The Metabolism of Erythropoietin in Patients with Anemia due to Deficient Erythropoiesis; J. Clin. Invest 43: 1348-1354; 1964.
90. **Samtleben, W., B.** Schiller, G. Hillebrand: 69jährige Patientin mit renaler Anämie. Schriftenreihe der Bayerischen Landesärztekammer 78 (1989), 71-76
91. **Sandberg S., A.** Brun, M. Hovding, M. Bjordol, I. Romslo: Effect of zinc on protoporphyrin-induced photohaemolysis. Scand J Clin Lab Invest 40 (1980), 185-189
92. **Selmaier A., W.** Samtleben, G. Hillebrand, H.J. Gurland (Großhadern, München): Untersuchungen zu Resorption bei Terminaler Niereninsuffizienz. 5. Rostock-Schwerin-Eisen-Anämie-Symposium 1993 (abstract)
93. **Schäfer R.M., L.** Schäfer: The hypochromic red cell: a new parameter for monitoring of iron supplementation during rh EPO therapy. J. Perinat. Med 23, 83-88 (1995)
94. **Schaefer R.M., L.** Schaefer: Hypochromic red cells and reticulocytes. Kidney Int 1999;55(Suppl 69): S4-S48.

95. **Schmidl M.**, von Vorstner, D.: Veterinärmedizinische Untersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle, Hrsg. Boehringer Mannheim GmbH 1985, Mannheim
96. **Schümann K.**; Die Rolle des Eisens als Mangellement.; Zeitschrift für Ernährungswissenschaft.; 28:279-299; 1989
97. **Scigalla P.**, B. Ehmer, E.M. Woll, L. Wieczorek: Zur individuellen Ansprechbarkeit terminal niereninsuffizienter Patienten auf die rh-EPO-Therapie, p. 35-46, in: Erythropoietintherapie. H. Brass, P. Scigalla, M. Baldus, (eds.) Dusti-Verlag Dr. Karl Feistle, München Deisenhofen, 1992
98. **Spivak J.**, B. Hogans; The in vivo Metabolism of Recombinant Human Erythropoietin in the Rat.; Blood 73: 90-99; 1989
99. **Stremmel W.**, C. Niederau, G. Strohmayer: Therapie der Hämochromatose. Dtsch. Med. Wschr. 118, 267-269 (1993)
100. **Swartz R.**, J. Dombrowski, M. Burnatowska-Hlenden: Microcytik anemia in dialysis patients: Reverible marker of aluminium toxicity. Am J Kidney Dis 1987; 3:217-223
101. **Trng D.**, T. Chen, T. Huang: Iron metabolism indices for early prediction of the resistance to erythropoietin therapy in maintenance hemodialysis patients. Am. J. Nephrol. 15, 230-237 (1995)
102. **Tsobanelis T.**, D. Hoppe, P. Sciglla, P. Grüzmacher: Optimierte Behandlung der renalen Anämie mit kombinierter intravenösen Eisen- und Ultra-low-dose Erythropoetin-Substitution. Nieren- und Hochdruck-Krankh 20, 454 (Abstr) (1991)
103. **Tsuchiya K** et al. Content of reticulocyte hemoglobin is a reliable tool for determining iron deficiency in dialysis patient. Clin nephrology 2003; 59: 115-123.
104. **Urabe A.**, T. Saito, H. Fukamachi et al.;Serum erythropoietin titers in the anemia of chronik renal failure and other hematologikal states.; int J Cell Cloning 5:202; 1987
105. **Vanholder R.**; Phagozytic Funktion in Dialysis; In: Buonomini V., Berland Y. (eds); Dialysis Membranes: Structure and Predictions; Contrib Nephrol. Basel, Karger, Vol 113, pp72-79; 1995

- ¹⁰⁶ **Van Wyck D.B.,** JC. Stivelman, J. Ruiz, LF. Kirlin, AM. Katz, DA Ogden: Iron status in Patients receiving erythropoietin for dialysis-associated anemia. *Kidney Int* 35, 712-715, (1989)
- ^{107.} **Veys N.,** R. Vanholder, S. Ringoir; Correction of Deficient Phagocytosis During Erythropoetin Treatment in Maintenance Haemodialysis Patients. *Am J Kidney Dis*; 19: 358-363; 1992.
- ^{108.} **Vreugdenhil G.,** A.W. Wognum, H.g. van Eijk, A.J.G. Swaak: Anaemia in rheumatoid arthritis: The role of iron, vit.B₁₂ and folic acid deficiency, and erythropoietin responsiveness. *Annals of the Rheumatic Diseases* 49: 93-98 (1990)
- ^{109.} **Wick, M.,** W. Pinggera, P. Lehmann: Ferritin im Eisenstoffwechsel und Diagnostik der Anämien; Springer-Verlag Wien, New York, 1994.
- ^{110.} Editorial Review: Anemia of end stage renal disease. *Kind. Int.* 28, (1985) 1-5
- ^{111.} Firma A. Nattermann&CIE: Produktbezogene Mitteilung des Herstellers (freundlicherweise zusammengestellt (1994)

Danksagung

Hiermit danke ich allen, die mit ihrer Mithilfe zu der Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich danke Herrn Univ.-Prof. Dr. med. H. Pavenstädt Direktor der Medizinischen Poliklinik der Westfälischen Wilhelms Universität Münster für die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Klinik anfertigen zu können.

Mein Dank gilt auch Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Kosch für eine großzügige Unterstützung, die Voraussetzung für diese Doktorarbeit war.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Michael Barenbrock für die hervorragende und verständnisvolle Betreuung.

Zum Schluß möchte ich mich selbstverständlich bei meiner Frau Sonja und meiner Familie bedanken, die mich während der Erstellung dieser Arbeit mit viel Liebe unterstützten.

LEBENS LAUF

K u r p G r e g o r

Telemann Str. 20
59457 Werl
Tel: 02922 86 30 91
Fax: 02922 86 33 93

Werl, den 17. September 2004

Gregor Kurp