

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

**Sicherheit und Wirksamkeit von subkutan angewendetem GA-EPO zur  
Behandlung der Anämie bei Patienten mit chronischer  
Niereninsuffizienz**

INAUGURAL - DISSERTATION  
zur  
Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Katrin Gebauer  
aus Krefeld

2004

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. R. M. Schaefer

2. Berichterstatter: PD Dr. A. Semjonov

Tag der mündlichen Prüfung: 02.04.2004

## **Zusammenfassung.**

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Medizinische Klinik und Poliklinik für Innere Medizin D  
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Pavenstädt -  
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. R. M. Schaefer  
Korreferent: PD Dr. med. A. Semjonov

### ZUSAMMENFASSUNG

## **Sicherheit und Wirksamkeit von subkutan angewendetem GA-EPO zur Behandlung der Anämie bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz**

Katrin Gebauer

Zur Therapie der renalen Anämie bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz wird seit mehr als einem Jahrzehnt rekombinantes humanes Erythropoietin (rHuEPO) erfolgreich eingesetzt und damit die aus der Anämie resultierende Morbidität und Mortalität signifikant gesenkt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die subkutane Anwendung von gene-activated Erythropoietin (GA-EPO), ein durch das Verfahren der Genaktivierung hergestelltes Erythropoietin, im Vergleich zu rHuEPO hinsichtlich Sicherheit und Wirksamkeit im Rahmen einer internationalen Phase III-Multicenter-Studie untersucht.

Während des 56-wöchigen Beobachtungszeitraums wurden bei n=16 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz Hämoglobin, Hämatokrit, hypochrome Erythrozyten, Serumferritin sowie Transferrinsättigung als Wirksamkeitsparameter bestimmt. Als Sicherheitsparameter standen Thrombozyten- und Leukozytenzahl, Aluminiumspiegel, Parathormon sowie Blutdruck und Sollgewicht zur Verfügung. Zudem wurden unerwünschte Ereignisse protokolliert. Zum Vergleich mit rHuEPO wurden die Daten aus einem Zeitraum von 6 Monaten vor Studienbeginn herangezogen. Zielsetzung war die Konstanzhaltung des Hämoglobinwertes zwischen 10-12 g/dl unter Beibehaltung der Erythropoietintherapie.

Der Hämoglobinspiegel stieg unter GA-EPO-Therapie und gleichzeitiger Eisensubstitution initial auf 12,5 g/dl an und lag bei Studienende bei 11,2 g/dl. Serumferritin und Transferrinsättigung verzeichneten initial einen Anstieg, der mit der anfangs intensivierten Eisentherapie korreliert. Die hypochromen Erythrozyten fielen nach einem passageren Anstieg entsprechend einer eisensuffizienten Erythropoese ab. Unter Einhaltung des Hämoglobinzielbereichs konnte im Verlauf der Studie eine Reduktion der Erythropoietinwochendosis um 31% verzeichnet werden. Mit 46 IE/kg Körpergewicht entsprach die GA-EPO-Dosis der Dosierungsempfehlung für rHuEPO in der Erhaltungsphase der Anämietherapie.

Hinsichtlich der Sicherheitsparameter unterschied sich GA-EPO nicht von rHuEPO. Sämtliche unerwünschten Ereignisse waren der Komorbidität der Patienten zuzuschreiben, ein direkter kausaler Zusammenhang zu GA-EPO ließ sich nicht nachweisen.

GA-EPO ist hinsichtlich des Sicherheitsprofils ein dem rHuEPO vergleichbares Medikament zur Therapie der Anämie bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz. Die Beurteilung der Wirksamkeit ist in dieser Arbeit nur eingeschränkt möglich, da dem deutlichen Hämoglobinanstieg sowohl die GA-EPO-Therapie als auch die intensiviert Eisen substitutionstherapie zu Grunde liegen kann.

Tag der mündlichen Prüfung: 02.04.2004

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung, Problemstellung, Zielsetzung .....	7
1.1	Anämie bei chronischer Niereninsuffizienz .....	7
1.2	Erythropoietin.....	8
1.2.1	rHuEPO.....	10
1.2.2	GA-EPO (gene-activated erythropoietin).....	12
1.3	Eisensubstitution .....	14
1.4	Zielsetzung.....	16
2	Patienten und Methoden .....	18
2.1	Studienprotokoll .....	18
2.2	Patientenauswahl .....	19
2.2.1	Einschlußkriterien .....	19
2.2.2	Ausschlußkriterien .....	20
2.2.3	Patientencharakteristika.....	20
2.3	Medikation .....	21
2.3.1	Studienmedikation GA-EPO .....	21
2.3.2	Vergleichsmedikation (rHuEPO alfa).....	22
2.3.3	Eisensubstitution .....	22
2.4	Untersuchungsparameter .....	23
2.4.1	Blutuntersuchungen.....	23
2.4.2	Vitalparameter .....	25
2.4.3	Dokumentation unerwünschter Ereignisse.....	25
2.5	Statistische Verfahren .....	26
2.5.1	Datendokumentation .....	27
2.5.2	Statistische Testverfahren .....	27
3	Ergebnisse.....	28
3.1	Demographie.....	28
3.2	Datenverlauf der Wirksamkeitsparameter .....	29
3.2.1	Hämoglobin .....	29
3.2.2	Hämatokrit.....	30
3.2.3	Erythropoietin-Wochendosis .....	31
3.3	Sicherheitsparameter .....	33
3.3.1	Leukozyten .....	33
3.3.2	Thrombozyten.....	33
3.3.3	Antierthropoietinantikörper .....	33
3.3.4	Blutdruck .....	33
3.3.5	Unerwünschte Ereignisse .....	34
3.4	Parameter mit Einfluß auf die rHuEPO-Response .....	36
3.4.1	Transferrinsättigung .....	36
3.4.2	Serumferritin.....	37
3.4.3	Hypochrome Erythrozyten.....	38
3.4.4	Eisen-Wochendosis.....	39
3.4.5	Sollgewicht .....	40
3.4.6	Parathormon und Aluminium.....	40
4	Diskussion .....	42
4.1	Wirksamkeitsparameter.....	42
4.1.1	Hämoglobinanstieg.....	42

4.1.2	Wirkung der Eisensubstitution auf den Hämoglobinwert und die Erythropoietindosis .....	43
4.2	Sicherheitsparameter .....	46
5	Zusammenfassung .....	48
6	Literaturverzeichnis .....	50
7	Anhang .....	50
7.1	Abbildungsverzeichnis .....	56
7.2	Abkürzungen .....	57
8	Tabellarischer Lebenslauf .....	58
9	Danksagung .....	59



# **1 Einleitung, Problemstellung, Zielsetzung**

## **1.1 Anämie bei chronischer Niereninsuffizienz**

Seit dem der Zusammenhang zwischen Nierenerkrankung und Anämie erstmals durch Bright (8)(1836) beschrieben wurde, gilt die Verminderung von Erythrozytenzahl und Hämoglobinwert als ein typisches Charakteristikum der chronischen Niereninsuffizienz. Die renale Anämie ist gekennzeichnet durch normochrome und normozytäre Erythrozytenindizes und entwickelt sich beim Absinken der glomerulären Filtrationsrate (GFR) unter 20-30 ml/min (20).

Bei der Entstehung der renalen Anämie spielen mehrere pathogenetische Faktoren eine Rolle. Verminderte Überlebenszeit der Erythrozyten durch Hämolyse und beschleunigter Abbau, Blutverluste durch gastrointestinale Ereignisse genauso wie durch wiederholte Laboruntersuchungen, Verbleib im Dialysesystem gehören ursächlich dazu. Die eigentliche renale Anämie ist durch unzureichende endogene Erythropoietinproduktion sowie urämiebedingte Hemmung der Erythropoiese auf Knochenmarksebene gekennzeichnet. Zudem machen auch Eisen – und Vitaminmangelzustände bedeutende ätiologische Faktoren der renalen Anämie aus (17).

Die Hauptursache der Anämie bei chronisch niereninsuffizienten Patienten liegt in der unzureichenden Produktion von Erythropoietin (EPO) in der Niere (22). Jacobson et al. (40) zeigten, daß die Niere hauptsächliche Produktionsstätte des Hormons ist, während Caro (11), Cotes (16) und Garcia et al. (32) den fehlenden Anstieg von EPO im Plasma bei anämischen Nierenpatienten bewiesen.

Unbehandelt steht die renale Anämie im Zusammenhang mit einer Reihe pathophysiologischer Besonderheiten. Dazu gehören herabgesetzte Sauerstoffabgabe

und- ausnutzung im Gewebe, Herzvergrößerung mit ventrikulärer Hypertrophie, Angina Pectoris-Symptomatik, Herzinsuffizienz (10,10,37,52,52,55,55,74,74,75), herabgesetzte Wahrnehmungsfähigkeit und mentale Leistungsfähigkeit (76). Diese Abweichungen reduzieren die Lebensqualität der Patienten (27) und erniedrigen ihre Überlebenschancen (48).

Nachdem es gelungen war, das Erythropoietin-Gen zu klonieren und rekombinantes Erythropoietin (rHuEPO) für den therapeutischen Einsatz herzustellen, hat rHuEPO eine zentrale Rolle in der Therapie der renalen Anämie eingenommen. Hiermit konnte eindeutig bestätigt werden, dass die inadäquate Erythropoietinproduktion die Hauptursache der Anämie bei der chronischen Niereninsuffizienz darstellt.

## **1.2 Erythropoietin**

Erythropoietin ist ein sialinisiertes Glykoprotein-Hormon aus zunächst 193 Aminosäuren, von denen 27 Aminosäuren als „leader sequence“ sowie das terminale Arginin posttranslational abgespalten werden (58). Damit entsteht ein Polypeptid aus 165 Aminosäuren, dessen Tertiärstruktur durch zwei Disulfidbrücken stabilisiert wird. Das Molekül enthält vier Kohlenhydratketten, die 40 % des Molekulargewichts von 30,400 Dalton ausmachen. Für die Stabilität und damit die biologische Aktivität sind die endständigen Sialinsäuren der Kohlenhydratketten entscheidend, die das Molekül vor der hepatischen Metabolisierung bewahren.

Die Plasmakonzentration Gesunder liegt zwischen 8 und 18 mU/ml und kann ausgelöst durch Hypoxämie exponentiell auf das Tausendfache steigen (21).

Produktionsort des Erythropoietin sind peritubuläre interstitielle Zellen im Nierenkortex (44,45), zu geringeren Anteilen auch die Hepatozyten und Makrophagen (20) der

Leber, die vor allem in der Embryonalentwicklung die Produktion von Erythropoietin übernehmen (30). Der Sauerstoffsensor ist im Nierenkortex, wahrscheinlich ebenfalls in peritubulären Zellen lokalisiert. Bei der Entwicklung von Hypoxämie kommt es zur Bildung eines Proteins (HIF-1 = hypoxie-induzierter Faktor), das an einen sauerstoffempfindlichen Verstärker am Erythropoietingenabschnitt bindet und dort als Transkriptionsfaktor dient (63). In Reaktion auf die Bindung von HIF-1 kommt es zu einem schnellen Anstieg an Erythropoietin-spezifischer mRNA in den peritubulären interstitiellen Zellen im Nierenkortex mit den folgenden Schritten der Proteinbiosynthese (5). Die so induzierte Erythropoietinproduktion führt wiederum zu einer vermehrten Bildung von Erythrozyten und folglich zu einer erhöhten Sauerstoffbindungskapazität des Blutes. So wird die Hypoxie als ursächlicher Stimulus der Erythropoietinproduktion reduziert, wodurch sich der Kreis im Sinne eines negativen Feedback-Mechanismus schließt (64).

Der kodierende Genabschnitt für Erythropoietin liegt auf Chromosom 7 und besteht aus fünf Exons und vier Introns (18). Die Expression des Gens wird durch einen hypoxie-induzierbaren Faktor (hypoxia-inducible factor = HIF-1) gesteuert, der am sauerstoffempfindlichen Abschnitt des Gens bindet und als Transkriptionsfaktor dient (63).

Das Hormon stellt einen hämatopoetischen Wachstumsfaktor dar und stimuliert im Knochenmark die Bildung von Erythrozyten in Abhängigkeit vom Sauerstoffbedarf des Organismus. Die Expression von Erythropoietin wird durch Anämie oder Hypoxie reguliert. Dabei ist die Produktionsrate des Hormons invers proportional zur Sauerstoffkapazität des Blutes (61). Die Produktion wird durch einen Feedback-Mechanismus reguliert, bei dem durch gesteigerte Erythropoese und dadurch vermehrte Erythrozytenkonzentration eine Reduktion der Hypoxie resultiert.

Erythropoietin aktiviert die erythropoietischen Vorläuferzellen (C-FU, G-FU) im Knochenmark durch einen extrazellulären, membrangebundenen Rezeptor und setzt durch Homodimerisation der beiden Rezeptorketten eine intrazelluläre Signalkaskade in Gang (42). Erythropoietin reguliert primär durch Apoptosehemmung die Anzahl und Differenzierung von erythropoietischen Vorläuferzellen (53).

Die Sauerstoffempfindlichkeit der Niere und die Stimulation der Erythrozytenproduktion durch Erythropoietin stellen somit einen effizienten Mechanismus zur Aufrechterhaltung der optimalen Sauerstoffversorgung des Gewebes dar (19).

### **1.2.1 rHuEPO**

Bevor die Therapie der renalen Anämie durch rekombinantes humanes Erythropoietin (rHuEPO) möglich wurde, waren die Behandlungsmöglichkeiten chronisch niereninsuffizienter Patienten auf Minimalisierung des Blutverlustes, Optimierung der Dialyse und Bluttransfusionen beschränkt. Ergänzend wurden Eisen- und Vitaminsubstitution sowie die Androgentherapie zur Anämiekorrektur herangezogen.

Bereits 1961 prognostizierte Hegstrom eine signifikante Reduktion der Bluttransfusionen, sobald exogenes Erythropoietin für chronisch Niereninsuffiziente erhältlich sei (38).

Im Oktober 1983 gelang es Lin et al (47) und Jacobs et al (39) das Gen für humanes Erythropoietin zu klonieren und zu exprimieren. 1985 wurde der erste Patient mit rHuEPO erfolgreich behandelt und dessen Wirksamkeit im darauffolgenden Jahr durch klinische Studien bestätigt (25,72). Seit 1988 ist rHuEPO als Medikament zur Therapie der renalen Anämie zugelassen und stellt ein in chemisch-physikalischen sowie

biologischen Eigenschaften dem endogenen Erythropoietin vergleichbares Peptidhormon dar (56).

Der therapeutische Nutzen liegt primär im Wegfall von Bluttransfusionen, damit verbunden ein niedrigeres Infektionsrisiko (HIV, Hepatitis B und C) und Vermeidung von Eisenüberladung. Die Gefahr der Entwicklung zytotoxischer Antikörper, die im Falle einer zukünftigen Transplantation ein Risiko darstellen, wird gesenkt. Zudem bewirkt die Anämiekorrektur eine signifikante Reduktion der linksventrikulären Hypertrophie und senkt damit das bei chronisch Niereninsuffizienten erhöhte kardiovaskuläre Risiko. Die Verbesserung der Lebensqualität durch Steigerung der physischen wie psychischen Leistungsfähigkeit unterstreicht die Bedeutung dieses Medikaments (3,9,23,26).

Eine potentielle Nebenwirkung ist die Blutdruckerhöhung durch den Verlust der hypoxischen Vasodilatation, Veränderung der Blutviskosität sowie Aktivierung des Renin-Angiotensin-System (29,66). Durch konsequente Dialysebehandlung und antihypertensive Therapie kann dieses Risiko jedoch gut beherrscht werden.

Ferner sorgt das Risiko der Shunt-Thrombosen für Vorbehalte gegenüber der Erythropoietintherapie, wobei die bisher durchgeführten Studien zu dieser Fragestellung keine eindeutigen Ergebnisse hervorgebracht haben (15,65). Das Auftreten von Erythropoietin-Antikörper konnte zwar experimentell nachgewiesen werden, muß aber als extrem seltenes Ereignis festgestellt werden (13).

In der fachgerechten Anwendung ist rHuEPO ein sicheres Medikament zur Therapie der renalen Anämie, das auch bei Prädialysepatienten positiven Einfluß auf den Krankheitsverlauf hat (20).

Die optimale Applikationsart von rHuEPO ist die subkutane Injektion der Substanz. Bereits 1991 zeigte Bommer et al (7) eine Dosisreduktion von 30% bei Änderung der

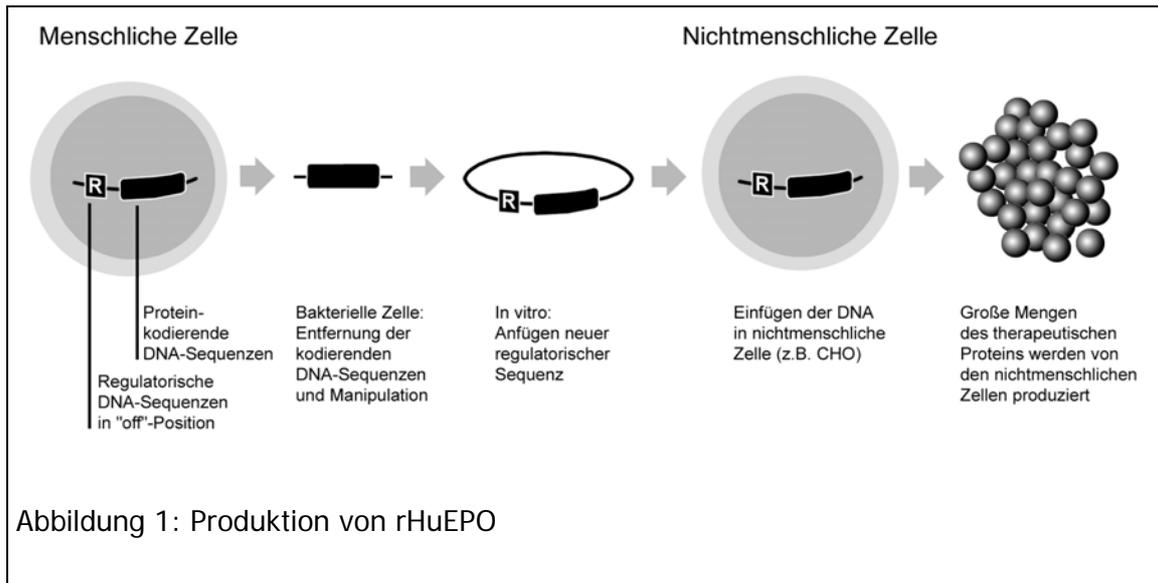
Applikationsart von intravenös auf subkutan. Trotz kontroverser Diskussion ausgelöst durch gegenteilige Beobachtungen (4) (70) (68) wird die subkutane Injektion von rHuEPO in den European Best Practice Guidelines und NKF-K/DOQI-Guidelines 2000 (1) empfohlen.

Eine Applikationshäufigkeit von zwei bis dreimal pro Woche zeigt den höchsten Effizienzgrad bei der Erythropoietintherapie (14,34,46,49,54,59). Der Zielhämoglobinwert liegt derzeit bei 11-12g/dl (1).

Im Falle des inadäquaten Ansprechens auf rHuEPO sollten mehrere Aspekte bei der Ursachenforschung in Betracht bezogen werden. Dazu zählt zuerst der Eisenmangel, ferner sekundärer Hyperparathyreoidismus (57), Aluminiumintoxikation bedingt durch aluminiumhaltige Phosphatbinder (41), chronische Entzündung (2), Vitamin B12/Folsäuremangelzustände (36) sowie unzureichende Dialyse.

### **1.2.2 GA-EPO (gene-activated erythropoietin)**

Die Entwicklung von GA-EPO basiert auf folgendem Hintergrund. rHuEPO wird in CHO-Zellen (chinese hamster ovary cells) exprimiert, nachdem die Protein-kodierende DNA aus einer menschlichen Zelle extrahiert und durch ein Plasmid als Vektor in die Hamsterovarzelllinie eingeschleust worden ist. Dabei wird das Regulatorgen aus der menschlichen Gensequenz, das für die Initiierung der Genexprimierung verantwortlich ist, herausgeschnitten und in vitro durch eine neue Regulatorsequenz ersetzt.



Im Unterschied dazu wird die Gensequenz für Erythropoietin beim Herstellungsprozess von GA-EPO nicht unterbrochen, sondern lediglich eine neue Regulatorgensequenz eingefügt, die dann das ursprüngliche Gen umgeht und somit eine Expressierung initiiert. Das Protein wird zudem in einer menschlichen Zelllinie produziert, die nach den Richtlinien der FDA ausgewählt und auf ihre Sicherheitseigenschaften getestet wurde. Das Genprodukt wird mittels Chromatographie und Ultrafiltrationsschritten aus den Zellbankmedien extrahiert.

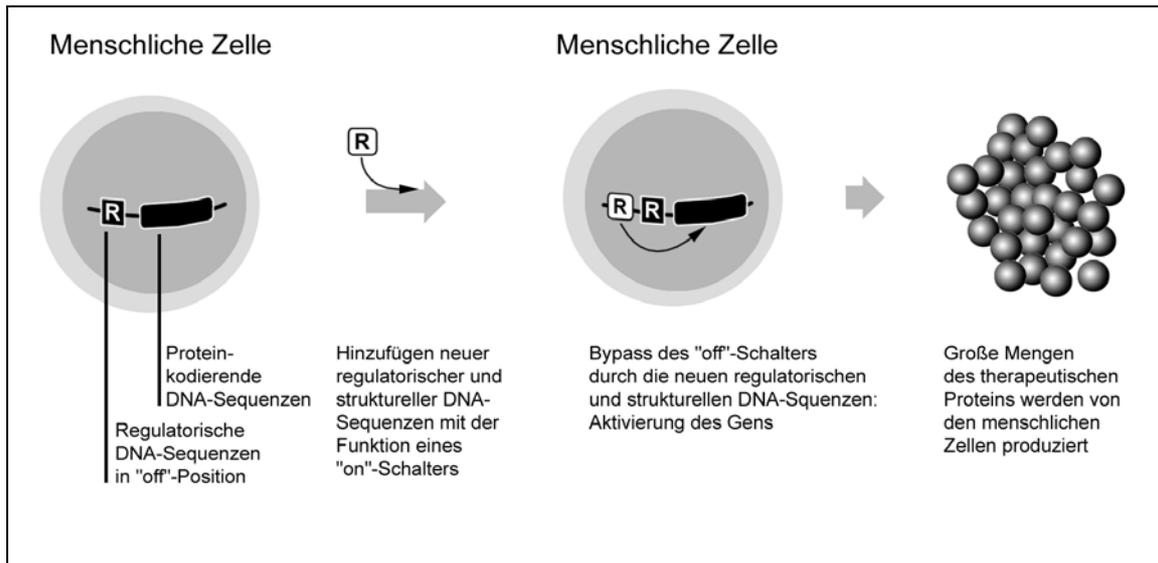


Abbildung 2: Produktion GA-EPO

Im Rahmen der Entwicklung von GA-EPO wurden zwei Studien (Phase I und II) mit chronischen Niereninsuffizienten sowie gesunden Probanden durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, dass GA-EPO in pharmakodynamischen Effekt auf Hämatokrit, Hämoglobin und Erythrozyten dem rHuEPO vergleichbar ist. Auch das Sicherheitsprofil unterschied sich nicht von rHuEPO.

### 1.3 Eisensubstitution

Als unmittelbare Voraussetzung zur Blutbildung gilt eine ausreichende Eisenreserve, die wegen des jährlichen Eisenverlustes bei Dialysepatienten von bis zu 2g/Jahr schnell erschöpft ist (24).

Das daraus resultierende Eisendefizit ist bei Patienten unter Erythropoietin-Therapie häufig und wird in zwei Subtypen unterteilt. Ein absolutes Eisendefizit liegt bei einer Erschöpfung des Gesamteisenspeichers vor und ist assoziiert mit einem Serumferritin

<100µg/l und einer Transferrinsättigung < 20%. Eine eisendefizitäre Erythropoiese liegt bei hohen Ferritinwerten und einer Transferrinsättigung < 20% sowie einem Anteil hypochromer Erythrozyten von mehr als 10% vor (50). Es wird angenommen, daß dieser hohe Anteil hypochromer Erythrozyten durch eine Behinderung der Hämoglobinsynthese durch inadäquate Eisenversorgung zustande kommt.

Unzureichende Eisenreserven stellen für die Erythropoiese einen limitierenden Faktor dar und bedürfen der Korrektur. Da die Fähigkeit der gastrointestinalen Eisenabsorption zur Deckung des erhöhten Eisenbedarfs bei Dialysepatienten unzureichend ist und eine orale Verabreichung von Eisen oftmals mit Nebenwirkungen einhergeht, muß die für die suffiziente Erythropoiese unabdingbare Eisenreserve durch eine parenterale Eisensubstitution aufrecht erhalten werden.

Die empfohlene wöchentliche Eisendosis liegt aktuell bei 100 mg/Woche (43).

Dabei sollte eine Transferrinsättigung > 20% sowie ein Serumferritinspiegel von >200 µg/l als Werte des Eisenstatus angestrebt werden (1).

In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit konnte gezeigt werden, daß eine Eisengabe deutlich über diesen Empfehlungen mit einer weiteren Reduktion der Erythropoietindosis einhergeht. Dabei lag die Transferrinsättigung zwischen 30 und 50%, das Serumferritin erreichte Werte bis zu 700 µg/l.

Durch eine intensivierete intravenöse Eisentherapie ist nicht nur eine optimale Erythropoiese, sondern auch eine deutliche Reduktion der Erythropoietindosis möglich (6).

Ferner hat sich die intravenöse Applikation von Ascorbinsäure (33) bei funktionalem Eisendefizit (Transferrinsättigung < 20%, Ferritinspiegel > 500 µg/l) positiv auf die Verfügbarkeit von Eisen ausgewirkt. Diese Beobachtung wurde von Tarnig (69) bestätigt und der ebenfalls eine signifikante Reduktion der rHuEPO-Dosis beobachtet. Hintergrund ist die Eigenschaft von Ascorbinsäure, als reduzierendes Agens Eisen aus dem Speicher des retikuloendothelialen System zu mobilisieren, woraus eine erhöhte Verfügbarkeit für die Erythropoese resultiert.

## **1.4 Zielsetzung**

Ziel dieser Arbeit ist, im Rahmen einer internationalen, nicht-randomisierten, offenen, prospektiven Phase III-Multicenter-Studie die Sicherheit und Wirksamkeit von subkutan angewendetem GA-EPO im Vergleich zu rHuEPO bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zu untersuchen. Das Ergebnis des teilnehmenden Dialysezentrums wurde in dieser Arbeit als extrahierter monozentrischer Stichprobenumfang statistisch ausgewertet und dargestellt. Zum Vergleich mit rHuEPO wurden Daten aus dem Zeitraum von sechs Monaten vor Studienbeginn zusammengefaßt.

Als primäre Zielparameter hinsichtlich der Wirksamkeit von GA-EPO und rHuEPO sind Hämoglobin, Hämatokrit, hypochrome Erythrozyten sowie Serumferritin, Transferrin und Transferrinsättigung unter Berücksichtigung der Erythropoietin- und Eisensubstitutionstherapie in die Auswertung einbezogen worden.

Zur Beurteilung der Sicherheit von GA-EPO und rHuEPO wurden Thrombozyten- und Leukozytenzahl, Aluminiumspiegel, Parathormon sowie Blutdruck- und Sollgewichtsentwicklung herangezogen.

Ebenfalls wurden Untersuchungen zur möglichen Antikörperentwicklung gegen das neu entwickelte GA-EPO ausgewertet. Auch die Zahl der unerwünschten Ereignisse wurden erfaßt.

## **2 Patienten und Methoden**

### **2.1 Studienprotokoll**

In einer offenen, internationalen, nicht-randomisierten Phase III-Multicenterstudie wurde die Sicherheit und Wirksamkeit von subkutan angewendetem GA-EPO bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz untersucht. Wir nahmen im Zeitraum von März 1999 bis Mai 2000 mit 16 Hämodialysepatienten über einen Zeitraum von 56 Wochen an der Studie teil.

Patienten mit stabiler, subkutaner Administration von Erythropoietin und einem konstanten Hämoglobinwert zwischen 10 und 12 g/dl wurden für die Studie rekrutiert. Die Dosierung von GA-EPO entsprach der zuvor erhaltenen Erythropoietindosis, die Dosierungsfrequenz von zwei- oder dreimal wöchentlich wurde ebenfalls beibehalten. Im Zeitraum von 56 Wochen war es das Ziel, den Hämoglobinwert zwischen 10 und 12 g/dl konstant zu halten und dabei das Verhalten von Hämoglobin und Eisenstoffwechselfparameter sowie die Entwicklung der Erythropoietindosis zu beobachten.

Zur Beurteilung der Wirksamkeit von GA-EPO wurden Hämoglobinwert, Hämatokrit, Transferrinsättigung, Serumtransferrin, Serumferritin, hypochrome Erythrozyten und die Eisenwochendosis sowie die Erythropoietinwochendosis herangezogen.

Als Sicherheitsparameter dienten Leukozyten, Thrombozyten, Blutdruck, Sollgewicht sowie Aluminium- und Parathormonwerte.

Der Zeitplan der Studie gliederte sich in eine zweiwöchige Vorphase (Woche -2 und -1) und eine 56-wöchige Therapiephase. Nach Einholung der schriftlichen Einverständnis

der Patienten wurden in der Vorphase bei konstanter Erythropoietintherapie zwei Hämoglobinwerte ermittelt, die für die Erfüllung der Einschlusskriterien allesamt im Bereich zwischen 10 und 12 g/dl liegen mussten. Zusätzlich wurden alle für das Sicherheitsprofil vorgesehenen Parameter bestimmt.

In der 56-wöchigen Therapiephase wurde GA-EPO unter zunächst wöchentlichen (Woche 1-12), danach 4-wöchentlichen (Woche 13-56) Hämoglobinkontrollen verabreicht. Sollte der Zielbereich von 10 bis 12g/dl verlassen werden, so war eine Reduktion bzw. Erhöhung der Wochendosis um 25% bzw. 50% vorgesehen.

## **2.2 Patientenauswahl**

### **2.2.1 Einschlusskriterien**

Folgende Kriterien mussten für die Eignung zur Studienteilnahme erfüllt werden: Männliche und weibliche Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, die begleitend zur Hämodialysebehandlung seit mindestens 30 Tagen eine stabile Therapie mit Erythropoietin zwei oder dreimal wöchentlich subkutan erhielten. Die Erythropoietintherapie durfte in diesem Zeitraum nicht mehr als 50% erhöht oder erniedrigt worden sein. Der Hämoglobinwert musste zwei Wochen vor Therapiebeginn im Bereich von 10-12 g/dl liegen, der Serumferritinspiegel durfte 100 µg/l und die Transferrinsättigung 20% nicht unterschreiten.

### **2.2.2 Ausschlußkriterien**

Zu den Ausschlußkriterien zählten inkonstante Hämodialysebehandlung und Erythropoietintherapie, unkontrollierte Hypertonie, reduzierte Lebenserwartung < 12 Monate sowie Thrombozytopenie < 75.000/mm<sup>3</sup> und herabgesetzte Leberfunktion (ALT, AST). Zudem gehörten die Androgentherapie, die Behandlung mit Immunsuppressiva und Medikamentenmißbrauch zu den Ausschlußkriterien. Bei weiblichen Patienten im gebärfähigen Alter war eine geplante Schwangerschaft, Stillen und unsichere Kontrazeption nicht zugelassen.

Ferner waren Patienten mit mangelnder Compliance und herabgesetzter mentaler Auffassungsfähigkeit grundsätzlich von der Studienteilnahme ausgeschlossen.

### **2.2.3 Patientencharakteristika**

An der Studie nahmen 16 Patienten (Verhältnis männlich zu weiblich 12:4) im Alter von 33 bis 78 Jahren (Mittelwert 56) teil. 15 Patienten waren kaukasischer Herkunft, einer afrikanischer Herkunft. Das Körpergewicht lag zwischen 59,5 und 98,5 Kilogramm (Mittelwert 74 kg).

Die durchschnittliche Zeitdauer der Dialysepflichtigkeit bei Studienbeginn betrug im Mittel 35 Monate (4 Monate bis 22,3 Jahre).

Während der Vorphase erhielten die Studienteilnehmer durchschnittlich 4917 IE rHuEPO , dabei lag die Applikationsfrequenz bei 13 Patienten bei 3x/Woche, bei 3 Patienten 2x/Woche, rHuEPO wurde allen 16 Patienten subkutan verabreicht. Der durchschnittliche Hämoglobinwert zur Studienbeginn betrug 10,8 g/dl.

## **2.3 Medikation**

### **2.3.1 Studienmedikation GA-EPO**

GA-EPO wurde in 1 ml Glasfläschchen zu 10.000 IE geliefert. Die Lösung enthielt neben Natriumphosphat, Natriumchlorid, niedermolekularen Kohlenhydraten und Wasser für Injektionszwecke keinerlei Konservierungsstoffe. Bei Lagerung bei 2°C-8°C und Vermeidung von Tiefrieren sowie Schütteln wegen möglicher Proteindenaturierung war eine Haltbarkeit für den gesamten Studienverlauf gewährleistet.

Pro Dosis wurde aus dem 1 ml-Ampulle der entsprechende Bedarf in eine 1ml Tuberkulinspritze aufgezogen, der Rest der Lösung für spätere Rückführung zum Sponsor im Behälter belassen. Für weitere Dosen musste jeweils eine neue Ampulle verwendet werden.

GA-EPO wurde zwei oder dreimal wöchentlich abwechselnd am Abdomen und am Oberschenkel subkutan appliziert, um lokale Kumulationseffekte zu vermeiden. Zeitpunkt der Verabreichung war 30 Minuten vor Beendigung der Dialyse.

Die erste Dosierung der GA-EPO entsprach der Erythropoietindosierung vor Studieneintritt. Dosisanpassungen waren erforderlich, sobald der Zielbereich von 10 bis 12 g/dl verlassen wurde. Bei einer Unterschreitung des Hämoglobinwertes von 10 g/dl, musste die Studienmedikation um 50 % erhöht werden, bei einer Überschreitung des Zielwertes von 12 g/dl Hämoglobin war eine Reduktion der Studienmedikation um 25% vorgesehen. Dabei war die Zahl der Dosisanpassungen auf eine pro Monat beschränkt.

Im Falle der Entwicklung einer therapierefraktären, unkontrollierbaren Hypertonie sollte die Studienmedikation ausgesetzt und nach Erreichen normotoner Blutdruckwerte die

Verabreichung der Studienmedikation bei 75% der ursprünglichen Dosis wiederaufgenommen werden.

### **2.3.2 Vergleichsmedikation (rHuEPO alfa)**

Zur Stimulierung der Erythropoese wurde im sechsmonatigen Vergleichszeitraum vor Studienbeginn rHuEPO alfa verwendet. rHuEPO alfa ist ein durch Rekombinationsverfahren gentechnisch hergestelltes Erythropoietin, das in Ovarialzelllinie des chinesischen Hamsters, Zelllinie CHO-K1, exprimiert wird.

Das rHuEPO wurde zwei oder dreimal wöchentlich abwechselnd am linken und rechten Oberarm subkutan appliziert, um lokale Kumulationseffekte zu vermeiden. Zeitpunkt der Verabreichung war 30 Minuten vor Beendigung der Dialyse.

Die Dosierung sowie Applikationsart und -frequenz von rHuEPO vor Studienbeginn entsprach den gültigen internationalen Empfehlungen.

### **2.3.3 Eisensubstitution**

Während des gesamten Beobachtungszeitraums wurde Eisen in Form des Eisen-(III)-natrium-gluconat-Komplex (Ferrlecit<sup>®</sup>, Firma Rhône-Poulenc Rorer) eingesetzt. 1 Ampulle zu 5 ml enthielt 62,5 mg Eisen. Bei einem Abfall des Serumferritinspiegels unter 100 µg/l oder ein Absinken der Transferrinsättigung unter 20 % war eine intravenöse Eisensubstitution von mindestens 1000 mg über zehn Wochen vorgesehen.

Die Eisenapplikation erfolgte langsam intravenös zum Ende der Dialyse am liegenden Patienten über fünf Minuten, um mögliche Nebenwirkungen zu vermeiden.

## **2.4 Untersuchungsparameter**

### **2.4.1 Blutuntersuchungen**

Um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse in dieser Multicenter-Studie zu gewährleisten, wurden sämtliche Blutuntersuchungen vom Zentrallabor, Mcbio (Laboratoire M.Merieux-Mapi Centralized Biology) in Lyon, Frankreich durchgeführt, das alle Parameter nach den internationalen Standardmethoden bestimmte.

Die Präanalytik und die Vorbereitung zum Probenversand wurden im eigenen Labor des Dialysezentrums durchgeführt.

Die Blutentnahme fand immer montags vor der Dialyse aus dem arteriellen Schenkel des Dialysepunktionssets mit den für die Studie vorgesehenen Vacutainer®-Röhrchen statt.

Für die Erfassung der Wirksamkeitsparameter wurde die Hämatologie in den ersten 12 Wochen wöchentlich, danach monatlich bestimmt. Das EDTA-Röhrchen und der Blutausschrieb wurden bei Raumtemperatur versendet.

Der Eisenstatus wurde durch Bestimmung von Serumferritin, Serum Eisen sowie Transferrinsättigung alle vier Wochen kontrolliert.

Der Aluminiumspiegel sowie das Parathormon wurden dreimal während der Studie bestimmt.

Anti-Erythropoietin Antikörper wurden sechs mal während der Studie untersucht.

Die Probenvorbereitung für den Eisenstatus, Aluminium und Parathormon sowie die EPO-Antikörper umfasste eine 30-minütige Wartezeit zur vollständigen Gerinnung, danach eine 15-minütige Zentrifugation der Blutröhrchen bei 2500 U/min mit

anschließendem Abpipettieren des Serumüberstandes in Kunststoffgefäße. Die Proben für Erythropoietin-Antikörper sowie Aluminium und Parathormon wurden bei  $-20^{\circ}\text{C}$  mit ausreichenden Mengen Trockeneis verschickt. Die Proben zur Bestimmung der Eisenparameter konnten bei Raumtemperatur versendet werden.

Die Blutbildbestimmung wurde innerhalb von 48 Stunden mit einem Analysegerät Typ Technicon H-3<sup>®</sup> (Bayer Diagnostics, München) durchgeführt. Dieses Gerät zur Blutbildbestimmung funktioniert nach dem Prinzip der Durchflußzytometrie, bei der jeder einzelne Erythrozyt einen Laserstrahl passiert und dadurch quantitativ erfaßt wird. Über die Zählung der Erythrozyten hinaus kann auf Basis der Mie-Streulicht-Theorie zudem Volumen und Hämoglobingehalt der einzelnen Erythrozyten gemessen werden. Dadurch läßt sich der Anteil der hypochromen Erythrozyten ermitteln. Der Normalwert für hypochrome Erythrozyten wurde vom Labor mit 0-3% angegeben.

Die Parameter des Eisenstatus wurden mit einem Analysegerät der Firma Dade-Behring (Illinois, USA), Typ Dimension<sup>®</sup> RxL durchgeführt. Für Bestimmung des Serumeisens wird die Methode der Colorimetrie genutzt, bei der das zu bestimmende Eisen durch Reaktion mit einem Agens in einen Farbkomplex überführt wird, dessen Extinktion photometrisch gemessen wird. Der Normalwert für Männer bewegt sich zwischen 12 und  $30\ \mu\text{mol/l}$ , für Frau zwischen 9 und  $30\ \mu\text{mol/l}$ .

Die Bestimmung des Serumferritins erfolgte mittels Enzymimmunoassay, bei der das Ferritinmolekül als zu bestimmendes Antigen mit einem durch ein Enzym markierten Antikörper inkubiert wird und anhand der Aktivität des Enzyms nach Zusetzung eines entsprechenden Substrates die Konzentration des Antigens abgelesen werden kann. Als Normalwerte gelten für Männer 25 bis  $250\ \mu\text{g/l}$ , für Frauen 15 bis  $150\ \mu\text{g/l}$ .

Die Transferrinsättigung wurde rechnerisch aus Serumeisen und Totaler Eisen Bindungskapazität (TIBC = total iron binding capacity) mit der Formel  $\text{Transferrinsättigung} = \text{Serumeisen} \times 100 / \text{TIBC}$  errechnet. Werte zwischen 20 und 40% gelten als normal unabhängig vom Geschlecht.

Die Bestimmung von Parathormon erfolgte mit einem Radioimmunoassay. Die vom Labor verwandten Referenzwerte lagen zwischen 11 und 20 ng/l. Der Aluminiumspiegel wurde mittels Atomabsorptionsspektrometrie gemessen, wobei die Normwerte zwischen 0 und 20 µg/l lagen.

#### **2.4.2 Vitalparameter**

Der Blutdruck und das Körpergewicht der Dialysepatienten wurden als Sicherheitsparameter in der Screeningphase (Woche -2 und -1) sowie in den ersten 12 Wochen wöchentlich, im Folgenden bis zum Studienende in Woche 56 im vierwöchigen Intervall bestimmt. Die Blutdruckwerte wurden nach der Riva-Rocchi-Methode gemessen.

Der Verlauf des Sollgewichtes eines Dialysepatienten kann zur Beurteilung seiner klinischen Gesamtverfassung herangezogen werden. In der Studie wurden lediglich Veränderungen > 5kg aufgezeichnet, da das Körpergewicht als Berechnungsgrundlage für den gewichtsbezogenen Erythropoietinbedarf genutzt wurde.

#### **2.4.3 Dokumentation unerwünschter Ereignisse**

Während des gesamten Studienverlaufs wurden fortlaufend unerwünschte und schwerwiegende unerwünschte Ereignisse dokumentiert.

Als unerwünschtes Ereignis wird jedes klinische Zeichen, Symptom oder Erkrankung bezeichnet, das bei einem Patienten während der Beobachtungszeitraum in der klinischen Studie auftritt oder sich verschlechtert und damit sein Befinden beeinträchtigt.

Potentiell mit der Dialyse assoziierte Ereignisse wie Blutdruckabfälle und Muskelkrämpfe wurden aus den unerwünschten Ereignissen ausgenommen.

Ein schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis ist medizinisch signifikant, unmittelbar lebensbedrohlich oder resultiert im Tod, erfordert einen Klinikaufenthalt, ist mit neu aufgetretenen malignen Erkrankungen oder kongenitalen Anomalien verbunden. Jedes schwerwiegende unerwünschte Ereignis, ob ein Zusammenhang zur Prüfmedikation bestand oder nicht, mußte innerhalb von 24 Stunden an die Arzneimittelsicherheit des Sponsors gemeldet werden.

## **2.5 Statistische Verfahren**

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten von n=16 Patienten statistisch ausgewertet, die im Rahmen dieser offenen, nicht-randomisierten Phase III-Studie erfaßt wurden.

### **2.5.1 Datendokumentation**

Alle ausgewerteten Daten wurden zur besseren Übersicht in eine relationale Datenbank (Microsoft Access 2000<sup>®</sup>) eingegeben. Die statistischen Berechnungen wurden mit Microsoft Excel 2000<sup>®</sup> durchgeführt.

Die graphische Darstellung der Parameter im zeitlichen Verlauf wurde durch Liniendiagramme realisiert, bei denen die Mittelwerte als einzelne Datenpunkte mit Standardfehler (standard error of means) in Form von Fehlerindikatoren (whiskers) dargestellt sind.

### **2.5.2 Statistische Testverfahren**

Für die Berechnung statistischer Signifikanzen wurden folgende Tests durchgeführt:

Bei normal verteilten Werten kam der t-Test für zwei verbundene Stichproben mit ungleicher Varianz zur Anwendung. Bei nicht normal verteilten Werten wurde der Wilcoxon-Test für die Beurteilung statistischer Signifikanzen herangezogen.

Werte mit  $p < 0.05$  wurden als statistisch signifikant gewertet.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Demographie

In dieser Arbeit wurden n=16 chronische Hämodialysepatienten untersucht. Das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Probanden war 12:4, das Durchschnittsalter betrug  $56 \pm 4$  Jahre, die Altersminima und -maxima bewegten sich zwischen 33 und 78 Jahren.

Das durchschnittliche Gewicht der Patienten lag bei  $74 \pm 1$  kg, Minima und Maxima lagen zwischen 59,5 und 98,5 kg.

Die Dialysedauer vor Studienbeginn betrug im Mittel  $35 \pm 16$  Monate, wobei sich minimale und maximale Behandlungsdauer zwischen 4 Monaten und ca. 22 Jahren bewegten.

Tabelle 1 : Demographische Daten des Patientenkollektivs

Demographie der Studie		
Patientenzahl (n)		16
Geschlecht	Frauen	4
	Männer	12
Alter (Jahre)	Mittelwert	56
	SEM	4
	Range	33-78
Gewicht (kg)	Mittelwert	74
	SEM	1
	Range	59,5-98,5
Dialysedauer (Monate)	Mittelwert	35
	SEM	16
	Range	4-268

## 3.2 Datenverlauf der Wirksamkeitsparameter

### 3.2.1 Hämoglobin

Der durchschnittliche Ausgangshämoglobinwert, basierend auf den gesammelten Werten aus den sechs Monaten vor Studienbeginn, betrug  $10,8 \pm 0,1$  g/dl. Bereits im ersten Monat der Therapiephase stieg der Wert auf  $11,6 \pm 0,3^*$  g/dl und erreichte unter stetigem Anstieg ein Maximum von  $12,5 \pm 0,3^{***}$  g/dl in Monat 5. Dieser Wert war gegenüber dem Ausgangswert hoch signifikant ( $p < 0,001$ ) erhöht. In der Erhaltungsphase fiel der Hämoglobinwert fortlaufend bis auf  $11,2 \pm 0,3$  g/dl (n.s.) in Monat 13.

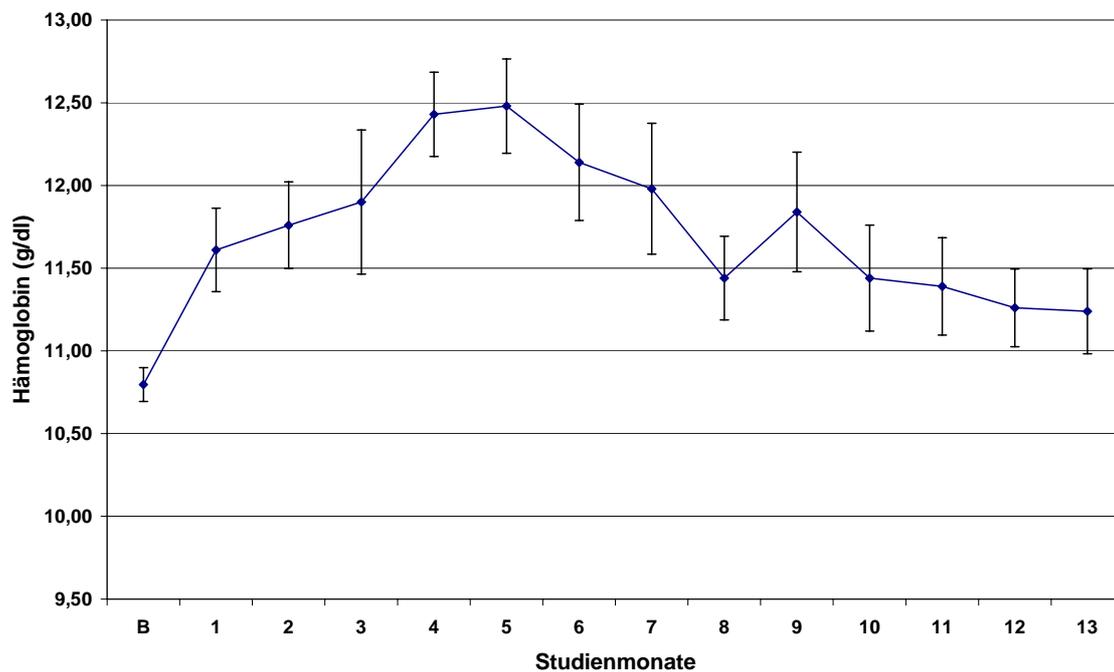


Abbildung 3: Verlauf des Hämoglobin (g/dl) (B=Baseline Monate -6 – 0)

### 3.2.2 Hämatokrit

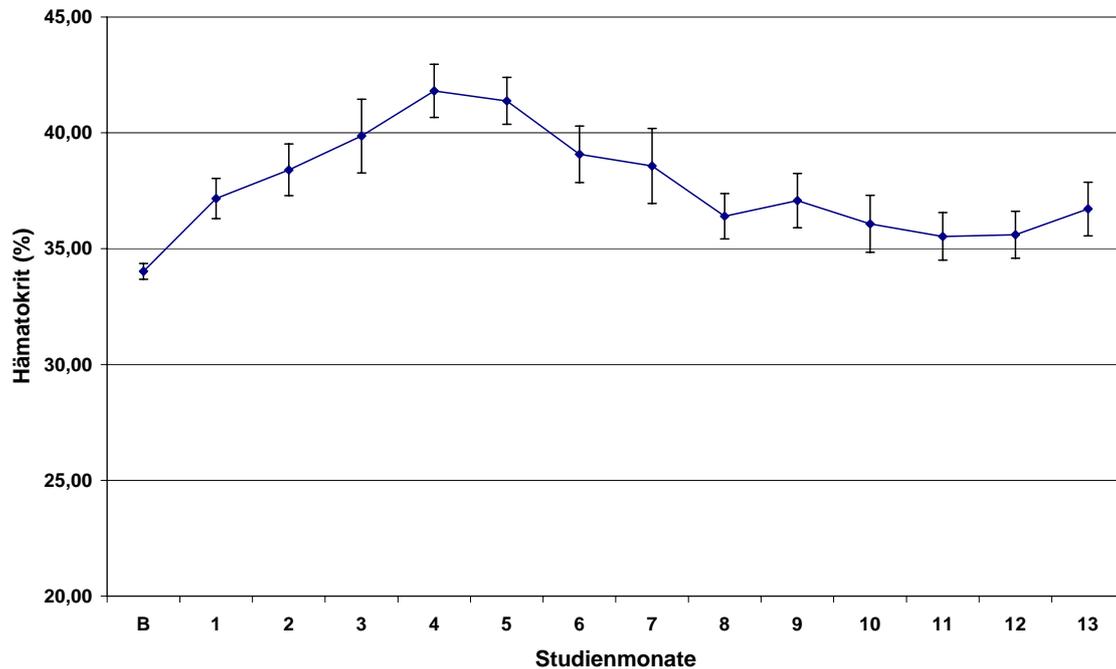


Abbildung 4: Verlauf des Hämatokrit (%) (B=Baseline Monate -6 – 0)

Der durchschnittliche Hämatokritwert während der sechsmonatigen Beobachtungsphase vor der Studie betrug  $34 \pm 0,3$  %. Im ersten Studienmonat stieg der Wert auf  $37^{**} \pm 0,9$  %, um im Monat 4 ein Maximum von  $42^{***} \pm 1,1$  % zu erreichen. Diese Werte waren signifikant ( $p < 0,01$  und  $p < 0,001$ ) gegenüber dem Ausgangswert erhöht. Im Folgenden kam es zu einem kontinuierlichen Abfall des Hämatokritwertes bis auf  $36 \pm 1,0$  % (n.s.).

### 3.2.3 Erythropoietin-Wochendosis

Vor Studienbeginn betrug die durchschnittliche Erythropoietin-Wochendosis  $4917 \pm 163$  IE. Im ersten Monat der intensivierten Eisentherapie stieg die EPO-Wochendosis auf  $6092^* \pm 397$  IE an. Dieser Wert war gegenüber dem Ausgangswert signifikant ( $p < 0.05$ ) erhöht. Bis zum Ende der Eisentherapie fiel die wöchentliche Erythropoietindosis stetig von  $5457 \pm 345$  IE (Monat 2) auf  $4759 \pm 301$  IE (Monat 4), ohne dabei ein Signifikanzniveau gegenüber dem Ausgangswert zu erreichen. Mit dem Beginn der Erhaltungphase (Monat 5) fiel die Erythropoietinwochendosis konstant weiter, um zum Studienende ein Minimum von  $3379 \pm 505^{**}$  IE zu erreichen. Sämtliche Mittelwerte der Erhaltungphase lagen statistisch signifikant ( $p < 0.01$  und  $p < 0.001$ ) unter dem Ausgangswert von  $4917 \pm 163$  IE. Die Erythropoietinwochendosis zum Studienende lag damit um 31% unter dem Ausgangswert.

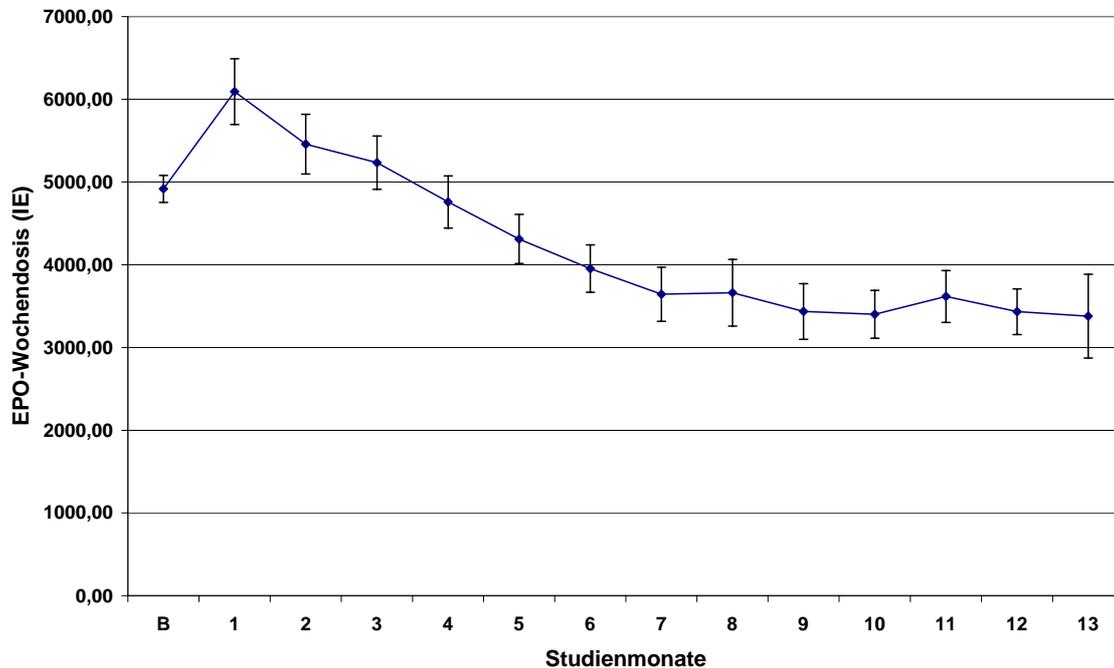


Abbildung 5: Verlauf Erythropoietin-Wochendosis (IE) (B=Baseline Monate -6 – 0)

Tabelle 1: Übersicht über den Verlauf der Wirksamkeitsparameter

Monat	Hb (g/dl)	Hkt (%)	EPO Wochendosis (IE)
B <sup>+</sup>	10,8±0,1	34±0,3	4917±163
1	11,6±0,3*	37±0,9**	6092±397*
2	11,8±0,3**	38±1,1***	5457±345
3	11,9±0,4*	40±1,6***	5234±311
4	12,4±0,3***	42±1,1***	4759±301
5	12,5±0,3***	41±1,0***	4311±282*
6	12,1±0,4***	39±1,2***	3953±271**
7	12,0±0,4**	39±1,6**	3644±310***
8	11,4±0,3*	36±1,0*	3662±383**
9	11,8±0,4**	37±1,2*	3436±319***
10	11,4±0,3*	36±1,2	3402±270***
11	11,4±0,3*	36±1,0	3618±298***
12	11,3±0,2*	36±1,0	3433±262***
13	11,2±0,3	37±1,2	3379±505**

\* (B=Baseline Monate -6 - 0)

### **3.3 Sicherheitsparameter**

#### **3.3.1 Leukozyten**

Die durchschnittliche Leukozytenzahl zu Studienbeginn betrug  $8,0 \pm 0,2$  Tsd./ $\mu\text{l}$ . Während der gesamten Studiendauer wies der Leukozytenwert Schwankungen zwischen  $6,3 \pm 0,3$  und  $8,6 \pm 0,8$  Tsd./ $\mu\text{l}$  auf. Damit lagen alle Werte durchgehend im Referenzbereich zwischen 4,0 und 10,6 Tsd./ $\mu\text{l}$ .

#### **3.3.2 Thrombozyten**

Zu Beginn des Beobachtungszeitraums lag der Mittelwert der Thrombozyten bei  $227 \pm 6$  Tsd./cmm. Im Studienzeitraum erreichten die Thrombozyten Werte zwischen  $193 \pm 13$  und  $235 \pm 17$  Tsd./cmm. Alle Werte lagen damit im Referenzbereich von 150 bis 500 Tsd./cmm.

#### **3.3.3 Antierythropoietinantikörper**

Bei allen Patienten wurde während des Studienzeitraums das Blut auf Antierythropoietinantikörper untersucht. In keinem der Fälle konnten Antikörper nachgewiesen werden.

#### **3.3.4 Blutdruck**

Der durchschnittliche systolische Blutdruck zu Studienbeginn lag bei  $134 \pm 2$  mmHg. Während des gesamten Beobachtungszeitraums lagen die Werte zwischen  $129 \pm 8$

mmHg und  $142 \pm 5$  mmHg, wobei keiner der ermittelten Werte dabei signifikant vom Ausgangswert abwich.

Der durchschnittliche diastolische Blutdruck zu Anfang der Studie betrug  $78 \pm 1$  mmHg. Im gesamten Studienverlauf wurden durchschnittliche Werte zwischen  $72 \pm 4$  mmHg und  $83 \pm 3$  mmHg erreicht. Auch hier ergaben sich keine signifikante Abweichungen zum Ausgangswert.

### **3.3.5 Unerwünschte Ereignisse**

Während der gesamten Studiendauer traten insgesamt 24 unerwünschte Ereignisse (AE) und 16 schwerwiegende, unerwünschte Ereignisse (SAE) auf. Zu den häufigsten unerwünschten Ereignissen zählten Infektionen (7x Infektionen der oberen Luftwege, 2x Infektionen des Gastrointestinaltrakt, 2x Infektionen der Harnwege, 1x Herpes zoster) und Erkrankungen des Bewegungsapparates (Insertionstendinopathie, Gonarthrit, Lumbalgie und Myogelose jeweils 1x). Darüber hinaus traten Depressionen (2x), Hämaturie infolge von Marcumarüberdosierung, Thrombophlebitis, Cholestase, Epistaxis sowie Hypokalzämie infolge einer Parathyreoidektomie jeweils 1x auf.

Zu den häufigsten schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen zählten Infektionen (Pneumonie, Pyelonephritis, Gastroenteritis und Sepsis) und kardiovaskuläre Erkrankungen (2x instabile Angina pectoris, 1x periphere arterielle Verschlusskrankheit 3. Grades, 1x subkortikale atherosklerotische Enzephalopathie). Ferner traten 2x Shuntinsuffizienz, 1x Lungenödem, 1x Hypertension, 1x Parathyreoidektomie sowie ein akuter Schub von Morbus Crohn auf. Aufgrund der Definition eines schwerwiegenden

unerwünschten Ereignisses wurden ein Peniskarzinom sowie eine Nierentransplantation mit dokumentiert.

Die folgende Tabelle fasst den Verlauf der Sicherheitsparameter zusammen.

Tabelle 2: Übersicht über den Verlauf der monatlich erhobenen Sicherheitsparameter

Monat	Leukozyten (Tsd./ $\mu$ l)	Thrombozyten (Tsd./cmm)	RR systolisch (mmHg)	RR diastolisch (mmHg)
B <sup>+</sup>	8,0 $\pm$ 0,2	227 $\pm$ 6	134 $\pm$ 2	78 $\pm$ 1
1	7,2 $\pm$ 0,4	219 $\pm$ 15	130 $\pm$ 5	81 $\pm$ 3
2	6,3 $\pm$ 0,3	193 $\pm$ 13	131 $\pm$ 5	83 $\pm$ 3
3	7,2 $\pm$ 0,6	206 $\pm$ 16	140 $\pm$ 5	78 $\pm$ 3
4	7,8 $\pm$ 0,4	210 $\pm$ 17	137 $\pm$ 6	80 $\pm$ 3
5	8,6 $\pm$ 0,8	221 $\pm$ 28	135 $\pm$ 7	81 $\pm$ 3
6	8,2 $\pm$ 0,6	216 $\pm$ 15	142 $\pm$ 5	79 $\pm$ 3
7	7,7 $\pm$ 0,5	233 $\pm$ 21	133 $\pm$ 9	79 $\pm$ 4
8	7,8 $\pm$ 0,5	235 $\pm$ 14	138 $\pm$ 6	77 $\pm$ 3
9	7,7 $\pm$ 0,5	219 $\pm$ 15	137 $\pm$ 6	76 $\pm$ 3
10	7,7 $\pm$ 0,6	222 $\pm$ 15	139 $\pm$ 7	81 $\pm$ 4
11	7,6 $\pm$ 0,5	235 $\pm$ 15	129 $\pm$ 8	72 $\pm$ 4
12	7,4 $\pm$ 0,7	223 $\pm$ 16	129 $\pm$ 6	74 $\pm$ 3
13	6,6 $\pm$ 0,4	235 $\pm$ 17	140 $\pm$ 8	80 $\pm$ 4

\* (B=Baseline Monate -6 - 0)

## 3.4 Parameter mit Einfluß auf die rHuEPO-Response

### 3.4.1 Transferrinsättigung

Der Mittelwert der Transferrinsättigung während der sechsmonatigen Vorstudienphase betrug  $32 \pm 3$  %. Während der Therapiephase (Monat 1-4) bewegte sich die Transferrinsättigung zwischen  $28 \pm 3$  % und  $39 \pm 5$  %. Keiner dieser Werte war signifikant unterschiedlich zum Ausgangswert.

Im ersten Monat der Erhaltungsphase (Monat 5) erreichte die Transferrinsättigung  $46 \pm 5^{**}$  %, um in Monat 6 wieder auf  $38 \pm 3$  % (n.s.) abzufallen. Im Folgenden stieg der Wert konstant bis Monat 9 auf  $49 \pm 6^{**}$  % und war damit signifikant ( $p < 0.01$ ) gegenüber dem Ausgangswert erhöht. Bis zum Studienende sank die Transferrinsättigung langsam bis auf  $42 \pm 5$  % (n.s.) ab.

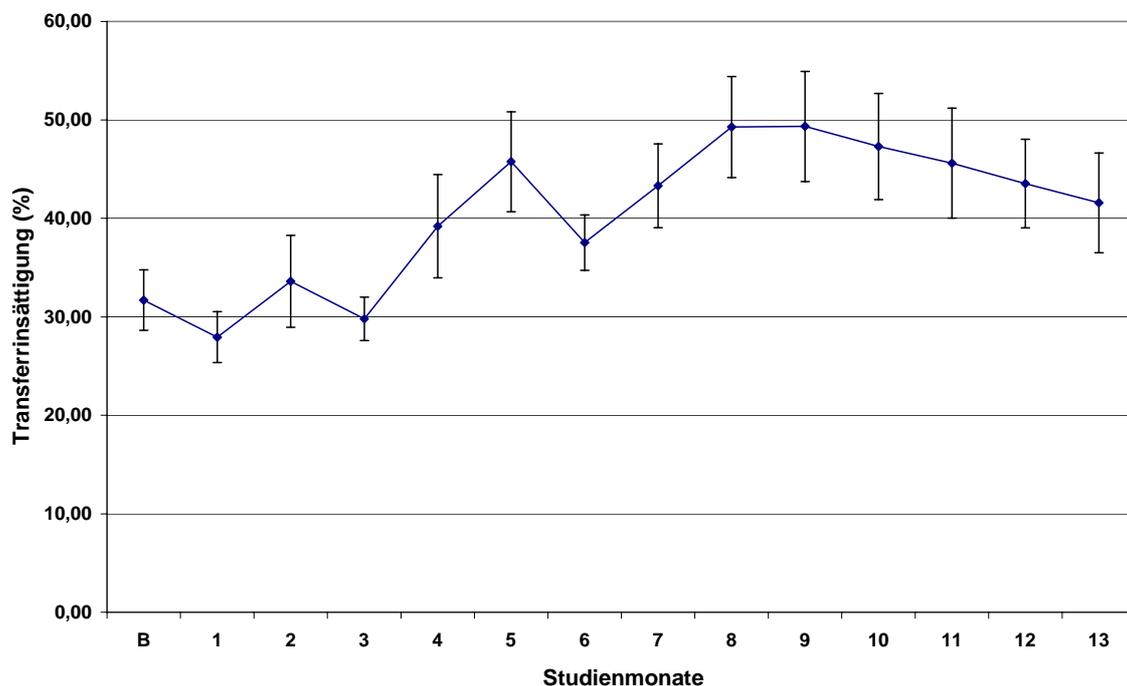


Abbildung 6: Verlauf der Transferrinsättigung (%) (B=Baseline Monate -6 - 0)

### 3.4.2 Serumferritin

Der aus den sechs Monaten vor Studienbeginn erhobene durchschnittliche Serumferritinwert betrug  $568 \pm 98 \mu\text{g/l}$ . Bereits im ersten Monat der Therapiephase erreichte das Serumferritin einen Wert von  $940 \pm 163^* \mu\text{g/l}$ , der gegenüber dem Ausgangswert signifikant ( $p < 0.05$ ) erhöht war. In den drei folgenden Monaten der Therapiephase bis zum ersten Monat der Erhaltungsphase stieg das Serumferritin bis auf einen Durchschnittswert von  $1403 \pm 149^{***} \mu\text{g/l}$ . Dieser Wert war hochsignifikant ( $p < 0.001$ ) gegenüber dem Ausgangswert erhöht. In den folgenden sechs Monaten (6-11) bewegte sich der Serumferritinwert zwischen  $1309 \pm 143^{***} \mu\text{g/l}$  und  $1419 \pm 144^{***} \mu\text{g/l}$ , um zum Ende der Studie bis auf einen Wert von  $1647 \pm 179^{***} \mu\text{g/l}$  zu steigen. Alle Werte weisen ein hohes Signifikanzniveau ( $p < 0.001$ ) gegenüber dem Ausgangswert auf.

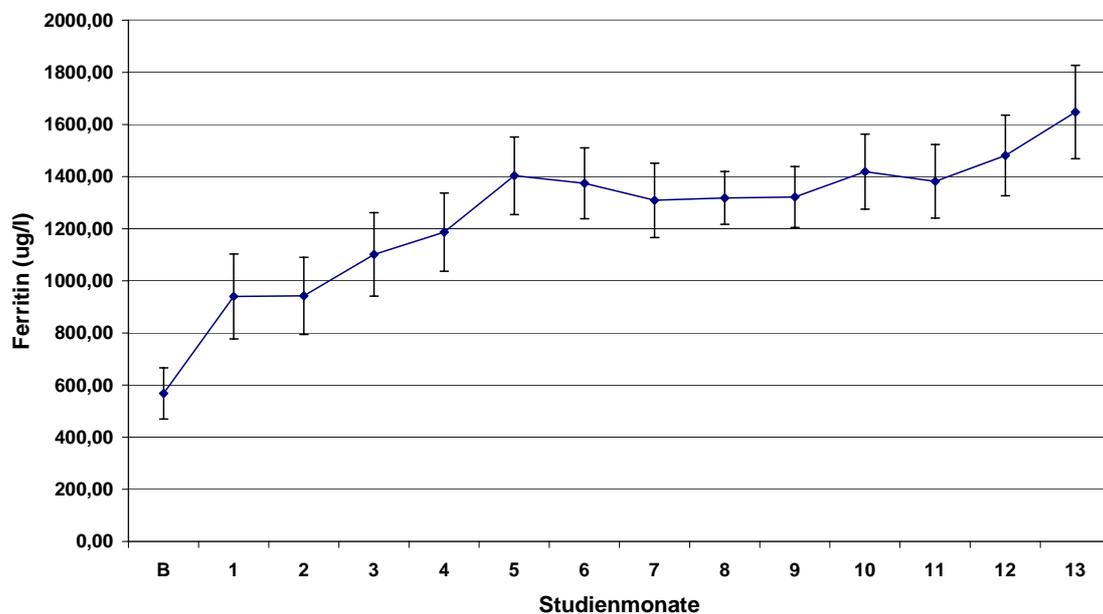


Abbildung 7: Verlauf von Serumferritin ( $\mu\text{g/l}$ ) (B=Baseline Monate -6 - 0)

### 3.4.3 Hypochrome Erythrozyten

Der Ausgangswert der durchschnittlichen Zahl der hypochromen Erythrozyten betrug  $9,8 \pm 1,6$  %. Mit Beginn der Eisentherapie stieg der Wert auf  $16,9 \pm 4,6\%$ , um in Monat 3 ein Maximum von  $30,4 \pm 5,9^{***}$  % zu erreichen. Der Wert war gegenüber dem Ausgangswert signifikant ( $p < 0,01$ ) erhöht. Von Monat 4 auf 5 fiel die Zahl der hypochromen Erythrozyten von  $27,5 \pm 5,6^{**}$  % auf  $19,2 \pm 4,4^*$  %, um im Anschluß weiter stetig zu fallen und in Monat 10 ein Minimum von  $4,6 \pm 1,1^{**}$  % zu erreichen. Dieser Wert war signifikant ( $p < 0,01$ ) gegenüber dem Ausgangswert erniedrigt. Zum Studienende stieg die Zahl hypochromer Erythrozyten erneut auf  $10,2 \pm 3,3\%$  (n.s.) an.

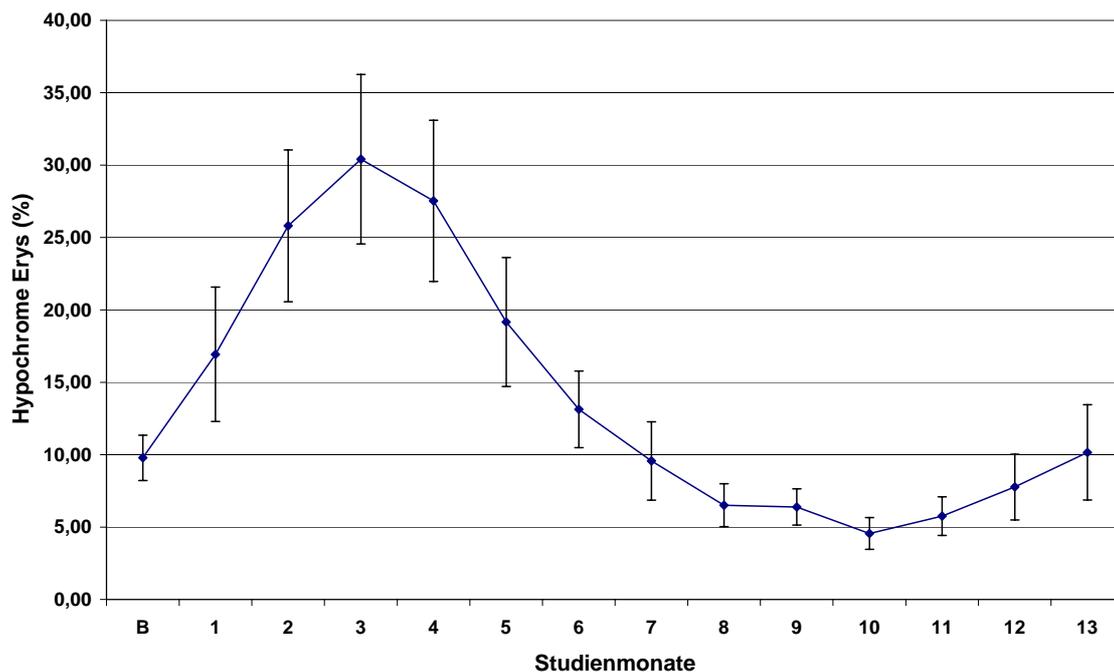


Abbildung 8: Verlauf der hypochromen Erythrozyten (%) (B=Baseline Monate -6 - 0)

### 3.4.4 Eisen-Wochendosis

Im sechsmonatigen Vergleichszeitraum vor Studienbeginn lag die durchschnittliche Eisen-Wochendosis bei  $91 \pm 4$  mg. Zu Beginn der Studie stieg die Dosis auf  $180 \pm 3^{***}$  mg in Monat 2 und 3 an, um in Monat 4 auf  $141 \pm 7^{***}$  mg abzufallen. Diese Werte waren statistisch signifikant ( $p < 0.001$ ) gegenüber dem Ausgangswert. Die durchschnittliche Eisenwochendosis fiel in den folgenden Monaten konstant bis auf  $67 \pm 8^{**}$  mg. Von Monat 7 bis Monat 13 wiesen alle Werte signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ) zum Ausgangswert auf.

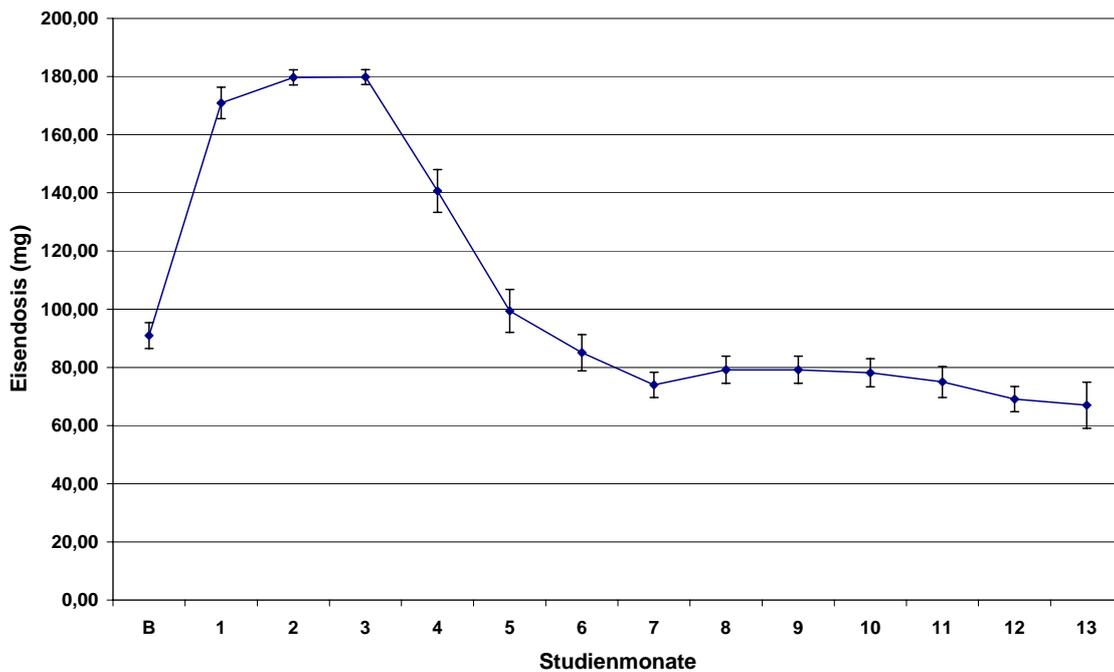


Abbildung 9: Verlauf der Eisenwochendosis (mg) (B=Baseline Monate -6 - 0)

### **3.4.5 Sollgewicht**

Das durchschnittliche Sollgewicht während der sechs Monate vor Studienbeginn betrug  $74 \pm 1$  kg. Lediglich in Monat 6 und 8 fiel der Mittelwert des Sollgewichts um 1 kg auf  $73 \pm 1$  kg. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant gegenüber dem Ausgangswert von  $74 \pm 1$  kg.

### **3.4.6 Parathormon und Aluminium**

Der Parathormonspiegel wurde während des Studienzeitraums drei Mal bestimmt. Die Werte lagen dabei zwischen  $354 \pm 91$  ng/l und  $389 \pm 157$  ng/l, wobei das Signifikanzniveau bei keinem Wert überschritten wurde.

Der Aluminiumspiegel wurde ebenfalls drei Mal während des Studienzeitraums bestimmt. Hier lagen die durchschnittlichen Mittelwerte zwischen  $16 \pm 2$  µg/l und  $19 \pm 4$  µg/l. Auch hier wich keiner der Werte statistisch signifikant vom Ausgangswert ab.

Tabelle 3: Übersicht über den Verlauf der Parameter mit Einfluß auf die rHuEPO-Response

Monat	Transferrin-sättigung (%)	Ferritin (µg/l)	Hypochrome Erythrozyten (%)	Eisen Wochendosis (mg)	Sollgewicht (kg)
B <sup>+</sup>	32±3	568±98	9,8±1,6	91±4	74±1
1	28±3	940±163*	16,9±4,6	171±5***	74±1
2	34±5	942±148*	25,8±5,2**	180±3***	74±1
3	30±2	1101±160**	30,4±5,9**	180±3***	74±1
4	39±5	1187±150***	27,5±5,6**	141±7***	74±1
5	46±5**	1403±149***	19,2±4,4*	99±7	74±1
6	38±3	1375±136***	13,1±2,6	85±6	73±1
7	43±4*	1309±143***	9,6±2,7	74±4**	74±1
8	49±5**	1318±102***	6,5±1,5	79±5*	73±1
9	49±6**	1322±117***	6,4±1,2*	79±5*	74±1
10	47±5**	1419±144***	4,6±1,1*	78±5*	74±1
11	46±6*	1382±141***	5,8±1,3*	75±5*	74±1
12	44±4*	1481±155***	7,8±2,3	69±4***	74±2
13	42±5	1647±179***	10,2±3,3	67±8**	74±3

\* (B=Baseline Monate -6 - 0)

Tabelle 4: Übersicht über den Verlauf von PTH und Aluminium

Monat	PTH (ng/l)	Aluminium (µg/l)
B <sup>+</sup>	354±91	17±2
6	389±157	19±4
13	356±130	16±2

\* (B=Baseline Monate -6 - 0)

## **4 Diskussion**

In dieser Arbeit wird die Wirksamkeit und Sicherheit von GA-EPO im Vergleich zu rHuEPO anhand der Daten von n=16 Patienten untersucht. Primäre Zielparameter waren Hämoglobin und Hämatokrit, weitere Werte zur Beurteilung der Wirksamkeit bestanden aus Transferrinsättigung, Serumferritin sowie hypochrome Erythrozyten unter Berücksichtigung der Erythropoietin- und Eisendosierung.

Um Sicherheitsaspekte mit in die Evaluierung einzuschließen, wurden Leukozyten, Thrombozyten, Parathormon, Aluminium, Blutdruck und Sollgewicht auf Veränderungen vor und während der Studie untersucht.

### **4.1 Wirksamkeitsparameter**

#### **4.1.1 Hämoglobinanstieg**

Direkt zu Beginn der Studie erhöhte sich die mittlere GA-EPO-Wochendosis auf 6092 IE. Darunter kam es zu einem adäquaten Hämoglobinanstieg auf 11,6 g/dl. Dies entsprach einem Hämoglobinanstieg von 0,8 g/dl innerhalb eines Monats unter einer Dosissteigerung von 1175 IE Erythropoietin pro Woche. Diese Beobachtungen bestätigen die Ergebnisse der Arbeit von Eschbach und Winearls.

Demzufolge weist GA-EPO hohe Ähnlichkeiten hinsichtlich der pharmakologischen Wirkung auf die Erythropoiese mit rHuEPO auf.

Winearls et al behandelte 10 Patienten mit einem durchschnittlichen Hämoglobinwert von 6,1 g/dl dreimal wöchentlich mit rHuEPO mit einer Dosis von 3-192 IE/kg

Körpergewicht und konnte einen Hämoglobinanstieg auf durchschnittlich 10,3 g/dl innerhalb von 12 Wochen nachweisen.

Eschbach (25) zeigte in einer Studie mit 25 anämischen Patienten einen dosisabhängigen Effekt von rHuEPO auf die Erythropoiese, bei der die Mehrheit der Patienten einen Hämatokritwert > 35% erreichte. Die zu einer effektiven Erythropoiese führenden rHuEPO-Dosierungen in dieser Arbeit lagen zwischen 15 und 500 IE/kg Körpergewicht, wobei mit der höchsten Dosis der Zielwert am schnellsten erreicht war.

Der Ausgangshämoglobinwert der sechsmonatigen Vergleichsphase in der vorliegenden Arbeit lag bei 10,8 g/dl und lag damit knapp unter den internationalen Empfehlungen zum Zielhämoglobinwert bei chronischen Hämodialysepatienten mit Erythropoietintherapie (1). Dieser Wert wurde mit einer durchschnittlichen rHuEPO-Wochendosis von 4917 IE erreicht.

#### **4.1.2 Wirkung der Eisensubstitution auf den Hämoglobinwert und die Erythropoietindosis**

Die Eisensubstitution hat einen therapeutischen Effekt auf die renale Anämie. Dies zeigten Arbeiten von Carter et al (12) und Strickland et al (67) bereits vor der Einführung von Erythropoietin zur Therapie der renalen Anämie. Dort konnte ein Anstieg der Hämoglobinkonzentration durch ausschließliche Eisengabe um 1-2 g/dl beobachtet werden.

Macdougall et al (51) zeigte mit einer intensiven Eisensubstitution einen Anstieg des Hämoglobinwerts von 9,6 g/dl auf 10,7 g/dl. 116 Patienten erhielten wöchentlich über 12 Monate 100 mg Eisen. Die rHuEPO-Dosis konnte über diesen Zeitraum von

13.277IE/Woche auf 8.976 IE/Woche gesenkt werden, was einer Dosisreduktion von 32% entsprach.

In der vorliegenden Arbeit kam es unter hoher Eisensubstitutionstherapie von 171 bis 180 mg/Woche in den ersten drei Monaten zu einem weiteren Anstieg des Hämoglobinwertes auf bis zu 12,5 g/dl. Damit wurde der Zielhämoglobinwert von 12,0 g/dl sogar um 0,5 g/dl überschritten.

Zur Einhaltung des Zielbereichs von 10,0 bis 12,0 g/dl Hämoglobin wurde die GA-EPO-Dosis während des gesamten Studienzeitraums von 4917 IE auf 3379 IE konsequent reduziert. Die Erythropoietinwochendosis lag am Studienende 31% unter dem Ausgangswert. Diese Dosiseinsparung ist auf die intensivierete Eisentherapie während der Studie zurückzuführen und zeigt, daß die Ergebnisse von Macdougall auch für GA-EPO zutreffen.

Bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 74 kg der an der Studie teilnehmenden Patienten betrug die GA-EPO-Dosis zur Aufrechterhaltung eines Zielhämoglobinwertes zwischen 11 und 12 g/dl 46 IE/kg Körpergewicht. Dies entspricht den allgemeinen Empfehlungen zur Dosierung von rHuEPO mit 30 und 100 IE/kg Körpergewicht in der Erhaltungsphase der Anämietherapie.

Während des gesamten Studienzeitraums kam es zu einem signifikanten Anstieg des Serumferritinwertes gegenüber der sechsmonatigen Vergleichsphase vor der Studie. Die Transferrinsättigung wies während des Studienzeitraums stärkere Schwankungen auf, lag im Durchschnitt aber über dem Vergleichswert unter rHuEPO-Therapie. Bei Stimulation der Erythropoiese wird ein Abfall des Serumferritinspiegels erwartet, da durch die Bildung der Erythrozyten Eisen in hohen Menge verbraucht wird (23,72). Der konstante Anstieg des Serumferritins in dieser Studie ist durch die konsequente

Eisensubstitutionstherapie zu erklären. Durch Anhebung der Transferrinsättigung von 20-30% auf 30-50% konnte Besarab et al (6) eine signifikante Hämoglobinerhöhung unter gleichzeitiger rHuEPO-Reduktion nachweisen. In dieser Studie wurden 23 Hämodialysepatienten mit einer durchschnittlichen Transferrinsättigung von 20-30% zunächst zwei Wochen mit einer Gesamtdosis von 500mg Eisen behandelt. Im Anschluß erhielten die Patienten eine Erhaltungsdosis von 25 bis 100 mg pro Woche, um eine Transferrinsättigung von 30-50% zu erreichen. Dieses Regime zeigte sich effektiv in der Aufrechterhaltung des Hämoglobinspiegels und erlaubte eine signifikante rHuEPO-Reduktion.

Der initiale Anstieg der hypochromen Erythrozyten kann durch eine limitierte Eisenverfügbarkeit verursacht sein. Trotz parenteraler Eisensubstitution findet die Reifung neuer Erythrozyten unter pharmakologischer Stimulation im Verhältnis schneller statt, als das für die Hämoglobinsynthese benötigte Eisen bereitgestellt werden kann. Im Verlauf fallen die hypochromen Erythrozyten jedoch auf Werte unter 5% ab, wodurch sich eine ausgeglichene Versorgung der Erythropoese mit Eisen bestätigt.

Die in der vorliegenden Studie beobachtete Entwicklung der primären und sekundären Zielwerte sind mit den Ergebnissen von Besarab (6) und Macdougall (51) vergleichbar, so daß die Wirkung von GA-EPO der des rHuEPO unter Berücksichtigung der Eisentherapie entspricht.

Erwartungsgemäß war der Parathormonspiegel während des gesamten Beobachtungszeitraums gegenüber dem oberen Referenzwert der Normalpopulation erhöht. Hierbei muß jedoch das Patientenkollektiv in Betracht gezogen werden. Die Untersuchungen fanden bei Hämodialysepatienten statt, bei denen ein erhöhter

Parathormonspiegel bedingt durch einen sekundären Hyperparathyreodismus zum Krankheitsbild der chronischen Niereninsuffizienz gehört (57).

## **4.2 Sicherheitsparameter**

Die Thrombozytenzahlen lagen im gesamten Studienzeitraum im Normbereich der Normalpopulation. Die in zahlreichen Arbeiten (73) (60) (28) gemachte Beobachtung der Thrombozytose als Nebenwirkung der Erythropoietintherapie konnte in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden.

Alle übrigen laborchemisch erhobenen Werte wiesen keine signifikanten Unterschiede gegenüber dem Vergleichszeitraum unter rHuEPO-Therapie auf. Auch hier lagen sämtliche Schwankungen im Normbereich der jeweiligen Parameter.

Die Entwicklung des Blutdrucks ist seit Beginn der Therapie mit Erythropoietin Gegenstand zahlreicher Studien geworden. Erhöhte Blutdruckwerte unter rHuEPO-Therapie sind bei nierenkranken Patienten des öfteren beobachtet worden (35,62,72). In dieser Arbeit wiesen die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte Schwankungen auf, die aber nicht statistisch signifikant verändert gegenüber dem Ausgangswert waren. Die Veränderungen blieben auf den Normbereich des Blutdruckwertes unter Beibehaltung der antihypertensiven Therapie beschränkt. Somit ist das Sicherheitsprofil hinsichtlich der Blutdruckentwicklung von GA-EPO dem des rHuEPO vergleichbar.

Die Entwicklung des Sollgewichts blieb während des Studienzeitraums gegenüber den Ausgangswerten ohne signifikante Veränderungen, ebenso war eine Antikörperbildung gegen Erythropoietin nicht nachzuweisen.

Das Auftreten von unerwünschten (n=24) und schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen (n=16) während des gesamten Studienzeitraums ist auf die erhöhte Komorbidität von Dialysepatienten zurückzuführen. Insbesondere die Zahl der Infektionen weist auf eine herabgesetzte Immunkompetenz hin, die durch die Urämie bedingt ist (31,71). Die Erkrankungen des Bewegungsapparates lassen sich zum einen durch die bei Dialysepatienten ausgeprägte renale Osteopathie aber auch durch die krankheitsbedingt eingeschränkte physische Leistungsfähigkeit erklären (3,9,23,26).

Kardiovaskuläre Zwischenfälle liegen ebenso in den ursächlich für die Niereninsuffizienz verantwortlichen Grunderkrankungen begründet und können nicht mit der GA-EPO-Therapie in Verbindung gebracht werden.

Die während der Beobachtungsphase aufgetretenen Fälle von Shuntinsuffizienz wurden bei Patienten entdeckt, die seit Dialysebeginn und vor der Therapie mit Erythropoietin mit Shuntproblemen behaftet waren.

Am Ende der Studienphase trat unter den 16 Studienteilnehmern ein Todesfall infolge eines Peniskarzinoms auf, das ursächlich aber nicht mit der Studienmedikation in Zusammenhang gebracht werden konnte. Ein formaler Studienabbruch aufgrund einer komplikationslos verlaufenden Nierentransplantation ereignete sich während des Beobachtungszeitraums. Bei dieser Patientin besteht nach 2 Jahren weiterhin eine gute Transplantatfunktion.

Alle übrigen unerwünschten Ereignisse stehen ebenso wenig mit GA-EPO in Zusammenhang, sondern liegen in den die Grunderkrankung begleitenden Umständen begründet.

## 5 Zusammenfassung

GA-EPO ist ein durch das Verfahren der Genaktivierung hergestelltes Erythropoietin, das in einer menschlichen Zelllinie produziert wird. Im Rahmen einer internationalen Multicenterstudie zur Beurteilung von Wirksamkeit und Sicherheit von GA-EPO nahmen 16 Patienten in Münster an der Untersuchung teil. Die Zielsetzung war, im gesamten Studienzeitraums unter Beibehaltung der Erythropoietintherapie den Hämoglobinwert zwischen 10 und 12 g/dl konstant zu halten. Als Wirksamkeitsnachweis wurden Hämoglobin, Hämatokrit, Serumferritin, Transferrin sowie hypochrome Erythrozyten ausgewertet. Gleichzeitig wurde die Entwicklung der Erythropoietin- und Eisendosierung mit in die Beurteilung einbezogen.

Sämtliche Werte in dieser Arbeit wurden mit dem 6-monatigen Zeitraum vor Studienbeginn verglichen, in dem die Patienten eine stabile rHuEPO-Therapie erhielten.

Der Hämoglobinwert stieg unter GA-EPO-Therapie und gleichzeitiger Eisensubstitution adäquat auf 12,5 g/dl an und lag am Ende der Studie mit 11,2 g/dl in dem von internationalen Richtlinien vorgesehenen Zielbereich. Der Anstieg von Serumferritin und Transferrinsättigung stimmt mit der initial intensivierten Eisensubstitution überein. Die hypochromen Erythrozyten zeigten zunächst einen Anstieg, fielen aber später adäquat auf 4,5% ab, was auf eine eisensuffiziente Erythropoiese schließen läßt. Die durchschnittliche Erythropoietinwochendosis konnte unter Einhaltung des Hämoglobinzielbereichs im Verlauf der Studie um 31% (4917 IE vs. 3379 IE) gesenkt werden. Mit 46 IE/kg Körpergewicht entsprach die durchschnittliche GA-EPO-Dosis den Empfehlungen für die rHuEPO-Dosierung in der Erhaltungsphase der Anämietherapie.

Beim Vergleich des Sicherheitsprofils zeigte sich kein signifikanter Unterschied zur rHuEPO-Therapie. Die hämatologischen Parameter Leukozyten und Thrombozyten wie

auch das Blutdruckverhalten und die Sollgewichtsentwicklung zeigten sich mit den Werten aus dem Vorstudienzeitraum vergleichbar.

Die aufgetretenen unerwünschten Ereignisse lagen in der Komorbidität des Patientenkollektivs begründet. Bei keinem Ereignis konnte ein direkter kausaler Zusammenhang zu GA-EPO nachgewiesen werden.

Fazit:

Hinsichtlich der Sicherheitsparameter ist GA-EPO ein dem rekombinanten Erythropoietin vergleichbares Medikament zur Therapie der renalen Anämie bei chronischen Hämodialysepatienten.

Die Beurteilung der Wirksamkeit von rHuEPO und GA-EPO ist in dieser Arbeit nur eingeschränkt möglich, da die Ursache des Hämoglobinanstiegs sowohl der Eisen- als auch der GA-EPO-Therapie zugeschrieben werden kann.

## 6 Literaturverzeichnis

1. (2000) IV. NKF-K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Anemia of Chronic Kidney Disease: update 2000. *Am J Kidney Dis* 37:S182-S238.
2. Adamson JW, Eschbach JW (1989) Management of the anaemia of chronic renal failure with recombinant erythropoietin. *Q J Med* 73:1093-1101.
3. Barany P, Pettersson E, Konarski-Svensson JK (1993) Long-term effects on quality of life in haemodialysis patients of correction of anaemia with erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 8:426-432.
4. Barclay PG, Fischer ER, Harris DC (1993) Interpatient variation in response to subcutaneous versus intravenous low dose erythropoietin. *Clin Nephrol* 40 :277-280.
5. Besarab A. (1996) Hematologic Aspects of Uremia. In: Nissenson AR , Fine RN, Gentile DE (Hrsg) *Clinical Dialysis*. McGraw-Hill Professional Publishing, 3 S 618-637
6. Besarab A, Amin N, Ahsan M, Vogel SE, Zazuwa G, Frinak S, Zazra JJ, Anandan JV, Gupta A (2000) Optimization of epoetin therapy with intravenous iron therapy in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 11:530-538.
7. Bommer J, Barth HP, Zeier M, Mandelbaum A , Bommer G, Ritz E, Reichel H, Novack R (1991) Efficacy comparison of intravenous and subcutaneous recombinant human erythropoietin administration in hemodialysis patients. *Contrib Nephrol* 88:136-43.:136-143.
8. Bright R (1836) Cases and observations, illustrative of renal disease accompanied with the secretion of albuminous urine. *Guys Hops Rep* :338-400.
9. Canadian Erythropoietin Study Group (1990) Association between recombinant human erythropoietin and quality of life and exercise capacity of patients receiving haemodialysis. Canadian Erythropoietin Study Group. *BMJ* 300:573-578.
10. Cannella G, La Canna G, Sandrini M, Gaggiotti M, Nordio G, Movilli E, Maiorca R (1990) Renormalization of high cardiac output and of left ventricular size following long-term recombinant human erythropoietin treatment of anemic dialyzed uremic patients. *Clin Nephrol* 34:272-278.
11. Caro J, Brown S, Miller O, Murray T, Erslev AJ (1979) Erythropoietin levels in uremic nephric and anephric patients. *J Lab Clin Med* 93:449-458.
12. Carter RA, Hawkins JB, Robinson BH (1969) Iron metabolism in the anaemia of chronic renal failure. Effects of dialysis and of parenteral iron. *Br Med J* 3:206-210.

13. Casadevall N, Dupuy E, Molho-Sabatier P, Tobelem G, Varet B, Mayeux P (1996) Autoantibodies against erythropoietin in a patient with pure red-cell aplasia. *N Engl J Med* 334:630-633.
14. Cheng IK, Cy C, Chan MK, Yu L, Fang GX, Wei D (1991) Correction of anemia in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis with subcutaneous recombinant erythropoietin twice a week: a long-term study. *Clin Nephrol* 35:207-212.
15. Churchill DN, Muirhead N, Goldstein M, Posen G, Fay W, Beecroft ML, Gorman J, Taylor DW (1994) Probability of thrombosis of vascular access among hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *J Am Soc Nephrol* 4:1809-1813.
16. Cotes PM (1982) Immunoreactive erythropoietin in serum. I. Evidence for the validity of the assay method and the physiological relevance of estimates. *Br J Haematol* 50:427-438.
17. Eckardt KU (2000) Pathophysiology of renal anemia. *Clin Nephrol* 53:S2-S8.
18. Egrie JC, Browne JK. (1991) The molecular biology of erythropoietin. In: Erslev AJ, Adamson JW, Eschbach JW, Winearls CG (Hrsg) *Erythropoietin-Molecular, Cellular and Clinical Biology*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore S 21-40
19. Erslev AJ (1971) Feedback circuits in the control of stem cell differentiation. *Am J Pathol* 65:629-639.
20. Erslev AJ, Besarab A (1997) Erythropoietin in the pathogenesis and treatment of the anemia of chronic renal failure. *Kidney Int* 51:622-630.
21. Erslev AJ, Caro J, Miller O, Silver R (1980) Plasma erythropoietin in health and disease. *Ann Clin Lab Sci* 10:250-257.
22. Eschbach JW (1989) The anemia of chronic renal failure: pathophysiology and the effects of recombinant erythropoietin. *Kidney Int* 35:134-148.
23. Eschbach JW, Abdulhadi MH, Browne JK, Delano BG, Downing MR, Egrie JC, Evans RW, Friedman EA, Graber SE, Haley NR (1989) Recombinant human erythropoietin in anemic patients with end-stage renal disease. Results of a phase III multicenter clinical trial. *Ann Intern Med* 111:992-1000.
24. Eschbach JW, Cook JD, Scribner BH, Finch CA (1977) Iron balance in hemodialysis patients. *Ann Intern Med* 87:710-713.
25. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW (1987) Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. *N Engl J Med* 316:73-78.

26. Evans RW (1991) Recombinant human erythropoietin and the quality of life of end-stage renal disease patients: a comparative analysis. *Am J Kidney Dis* 18:62-70.
27. Evans RW, Rader B, Manninen DL (1990) The quality of life of hemodialysis recipients treated with recombinant human erythropoietin. Cooperative Multicenter EPO Clinical Trial Group. *JAMA* 263:825-830.
28. Fabris F, Cordiano I, Randi ML, Casonato A, Montini G, Zacchello G, Girolami A (1991) Effect of human recombinant erythropoietin on bleeding time, platelet number and function in children with end-stage renal disease maintained by haemodialysis. *Pediatr Nephrol* 5:225-228.
29. Frenken LA, Wetzels JF, Sluiter HE, Koene RA (1992) Evidence for renal vasodilation in pre-dialysis patients during correction of anemia by erythropoietin. *Kidney Int* 41:384-387.
30. Fried W (1972) The liver as a source of extrarenal erythropoietin production. *Blood* 40:671-677.
31. Gafter U, Kalechman Y, Orlin JB, Levi J, Sredni B (1994) Anemia of uremia is associated with reduced in vitro cytokine secretion: immunopotentiating activity of red blood cells. *Kidney Int* 45:224-231.
32. Garcia JF, Ebbe SN, Hollander L, Cutting HO, Miller ME, Cronkite EP (1982) Radioimmunoassay of erythropoietin: circulating levels in normal and polycythemic human beings. *J Lab Clin Med* 99:624-635.
33. Gastaldello K, Vereerstraeten A, Nzame-Nze T, Vanherweghem JL, Tielemans C (1995) Resistance to erythropoietin in iron-overloaded haemodialysis patients can be overcome by ascorbic acid administration. *Nephrol Dial Transplant* 10 Suppl 6:44-47.
34. Granolleras C, Branger B, Shaldon S, Nonnast-Daniel B, Koch KM, Pollok M, Baldamus CA (1991) Subcutaneous erythropoietin: a comparison of daily and thrice weekly administration. *Contrib Nephrol* 88:144-8; discussion 149-51.
35. Grutzmacher P, Scheuermann E, Low I, Bergmann M, Rauber K, Baum R, Heuser J, Schoeppe W (1988) Correction of renal anaemia by recombinant human erythropoietin: effects on myocardial function. *Contrib Nephrol* 66:176-84.
36. Hampers CL, Streiff R, Nathan DG, Snyder D, Merrill JP (1967) Megaloblastic hematopoiesis in uremia and in patients on long-term hemodialysis. *N Engl J Med* 276:551-554.
37. Harnett JD, Foley RN, Kent GM, Barre PE, Murray D, Parfrey PS (1995) Congestive heart failure in dialysis patients: prevalence, incidence, prognosis and risk factors. *Kidney Int* 47:884-890.

38. Hegstrom R, Murray J, Pendras JP, Burnell J, Scribner B (1961) Hemodialysis in the treatment of chronic uremia. *American Society for Artificial Internal Organs* 7:136-152.
39. Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, Neill SD, Kaufman RJ, Mufson A, Seehra J, Jones SS, Hewick R, Fritsch EF (1985) Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature* 313:806-810.
40. Jacobson LO, Goldwasser E, Fried W, Plzak L (1957) Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature* 179:633-634.
41. Kaiser L, Schwartz KA (1985) Aluminum-induced anemia. *Am J Kidney Dis* 6:348-352.
42. Klingmuller U, Lorenz U, Cantley LC, Neel BG, Lodish HF (1995) Specific recruitment of SH-PTP1 to the erythropoietin receptor causes inactivation of JAK2 and termination of proliferative signals. *Cell* 80:729-738.
43. Kosch M, Schaefer RM (2001) [Iron deficiency. When parenteral substitution?]. *MMW Fortschr Med* 143:38-39.
44. Koury ST, Bondurant MC, Koury MJ (1988) Localization of erythropoietin synthesizing cells in murine kidneys by in situ hybridization. *Blood* 71:524-527.
45. Lacombe C, Da Silva JL, Bruneval P, Fournier JG, Wendling F, Casadevall N, Camilleri JP, Bariety J, Varet B, Tambourin P (1988) Peritubular cells are the site of erythropoietin synthesis in the murine hypoxic kidney. *J Clin Invest* 81:620-623.
46. Lai KN, Lui SF, Leung JC, Law E, Nicholls MG (1991) Effect of subcutaneous and intraperitoneal administration of recombinant human erythropoietin on blood pressure and vasoactive hormones in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephron* 57:394-400.
47. Lin FK, Suggs S, Lin CH, Browne JK, Smalling R, Egrie JC, Chen KK, Fox GM, Martin F, Stabinsky Z (1985) Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:7580-7584.
48. Lowrie EG, Ling J, Lew NL, Yiu Y. (1994) The relative contribution of measured variables to death risk among hemodialysis patients. In: Friedmann EA (Hrsg) *Death on Hemodialysis: Preventable or Inevitable?* Kluwer Academic Publishers, Boston 13 S 121-141
49. Lui SF, Law CB, Ting SM, Li P, Lai KN (1991) Once weekly versus twice weekly subcutaneous administration of recombinant human erythropoietin in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Nephrol* 36:246-251.
50. Macdougall IC (2001) Present and future strategies in the treatment of renal anaemia. *Nephrol Dial Transplant* 16 Suppl 5:50-5.

51. Macdougall IC, Chandler G, Elston O, Harchowal J (1999) Beneficial effects of adopting an aggressive intravenous iron policy in a hemodialysis unit. *Am J Kidney Dis* 34:S40-S46.
52. Macdougall IC, Lewis NP, Saunders MJ, Cochlin DL, Davies ME, Hutton RD, Fox KA, Coles GA, Williams JD (1990) Long-term cardiorespiratory effects of amelioration of renal anaemia by erythropoietin. *Lancet* 335:489-493.
53. Mulcahy L (2001) The erythropoietin receptor. *Semin Oncol* 28:19-23.
54. Ongkingco JR, Ruley EJ, Turner ME (1991) Use of low-dose subcutaneous recombinant human erythropoietin in end-stage renal disease: experience with children receiving continuous cycling peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 18:446-450.
55. Pascual J, Teruel JL, Moya JL, Liano F, Jimenez-Mena M, Ortuno J (1991) Regression of left ventricular hypertrophy after partial correction of anemia with erythropoietin in patients on hemodialysis: a prospective study. *Clin Nephrol* 35:280-287.
56. Peters H. (1998) Strukturelle und biologische Eigenschaften von rHuEPO. Erypo - Erythropoetin human, rekombiniert. Cilag GmbH, Sulzbach/Ts. 2 S 11-16
57. Potasman I, Better OS (1983) The role of secondary hyperparathyroidism in the anemia of chronic renal failure. *Nephron* 33:229-231.
58. Recny MA, Scoble HA, Kim Y (1987) Structural characterization of natural human urinary and recombinant DNA-derived erythropoietin. Identification of des-arginine 166 erythropoietin. *J Biol Chem* 262:17156-17163.
59. Saleh A, Krane NK, Caballero M, Starks E (1991) Once weekly subcutaneous erythropoietin is an effective maintenance therapy in the treatment of anemia of end stage renal disease in patients on CAPD. *Adv Perit Dial* 7:288-291.
60. Samtleben W, Ehmer B, Lutz-Knochenhauer I, Hagmann C, Scigalla P, Gurland HJ (1991) Side effects during recombinant human erythropoietin therapy in 2,000 ESRD patients. *Contrib Nephrol* 88:107-116.
61. Schurek HJ, Jost U, Bertram H, Baumgärtl. (1989) Preglomerular cortical oxygen diffusion shunt: A prerequisite for effective erythropoietin regulation? In: Baldamus CA, Scigalla P, Wiczorek L, Koch KM (Hrsg) Erythropoietin: From Molecular Structure to Clinical Application. Karger, Basel 76 S 57-66
62. Scigalla P, Bonzel KE, Bulla M, Burghard R, Dippel J, Geisert J, Leumann E, von Lilien T, Muller-Wiefel DE, Offner G (1989) Therapy of renal anemia with recombinant human erythropoietin in children with end-stage renal disease. *Contrib Nephrol* 76:227-240.
63. Semenza GL, Wang GL (1992) A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 12:5447-5454.

64. Spivak JL, Watson AJ. (1992) Hematopoiesis and the Kidney. In: Seldin DW, Giebisch G (Hrsg) *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. Raven Press, Ltd., New York 2 S 1553-1577
65. Standage BA, Schuman ES, Ackerman D, Gross GF, Ragsdale JW (1993) Does the use of erythropoietin in hemodialysis patients increase dialysis graft thrombosis rates? *Am J Surg* 165:650-654.
66. Steffen HM, Brunner R, Muller R, Degenhardt S, Pollok M, Lang R, Baldamus CA (1989) Peripheral hemodynamics, blood viscosity, and the renin-angiotensin system in hemodialysis patients under therapy with recombinant human erythropoietin. *Contrib Nephrol* 76:292-298.
67. Strickland ID, Chaput dSD, Boulton FE, Francis B, Roubikova J, Waters JI (1977) The therapeutic equivalence of oral and intravenous iron in renal dialysis patients. *Clin Nephrol* 7:55-57.
68. Sunder-Plassmann, Hörl W (1994) Optimizing low dose r-HuEPO combined with low dose I.V. iron therapy in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 5:478.
69. Tarnag DC, Huang TP (1998) A parallel, comparative study of intravenous iron versus intravenous ascorbic acid for erythropoietin-hyporesponsive anaemia in haemodialysis patients with iron overload. *Nephrol Dial Transplant* 13:2867-2872.
70. Taylor JE, Belch JJ, Fleming LW, Mactier RA, Henderson IS, Stewart WK (1994) Erythropoietin response and route of administration. *Clin Nephrol* 41:297-302.
71. Vanholder R, Van Biesen W, Ringoir S (1993) Contributing factors to the inhibition of phagocytosis in hemodialyzed patients. *Kidney Int* 44:208-214.
72. Winearls CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Downing MR, Cotes PM (1986) Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* 2:1175-1178.
73. Wirtz JJ, van Esser JW, Hamulyak K, Leunissen KM, van Hooff JP (1992) The effects of recombinant human erythropoietin on hemostasis and fibrinolysis in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 38:277-282.
74. Wizemann V, Kaufmann J, Kramer W (1992) Effect of erythropoietin on ischemia tolerance in anemic hemodialysis patients with confirmed coronary artery disease. *Nephron* 62:161-165.
75. Wizemann V, Schafer R, Kramer W (1993) Follow-up of cardiac changes induced by anemia compensation in normotensive hemodialysis patients with left-ventricular hypertrophy. *Nephron* 64:202-206.
76. Wolcott DL, Marsh JT, La Rue A, Carr C, Nissenson AR (1989) Recombinant human erythropoietin treatment may improve quality of life and cognitive function in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 14:478-485.

## 7 Anhang

### 7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Produktion von rHuEPO .....	13
Abbildung 2: Produktion GA-EPO.....	14
Abbildung 3: Verlauf des Hämoglobin .....	29
Abbildung 4: Verlauf des Hämatokrit .....	30
Abbildung 5: Verlauf Erythropoietin-Wochendosis.....	31
Tabelle 1: Übersicht über den Verlauf der Wirksamkeitsparameter .....	32
Tabelle 2: Übersicht über den Verlauf der monatlich erhobenen Sicherheitsparameter	35
Abbildung 6: Verlauf der Transferrinsättigung .....	36
Abbildung 7: Verlauf von Serumferritin .....	37
Abbildung 8: Verlauf der hypochromen Erythrozyten .....	38
Abbildung 9: Verlauf der Eisenwochendosis .....	39
Tabelle 3: Übersicht über den Verlauf der Parameter mit Einfluß auf die rHuEPO- Response .....	41
Tabelle 4: Übersicht über den Verlauf von PTH und Aluminium .....	41

## 7.2 Abkürzungen

rHuEPO	Rekombinantes humanes Erythropoietin
GA-EPO	Gene-activated Erythropoietin
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HIF-1	Hypoxie-induzierter Faktor
mRNA	Messenger Ribonuclein Acid
C-FU	Colony forming unit
G-FU	Growth forming unit
HIV	Human immunodeficiency virus
NKF-K/DOQI	National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
CHO	Chinese hamster ovary
DNA	Desoxyribonucleinacid
FDA	Food and Drug Administration
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EPO	Erythropoietin
TIBC	Total Iron Binding Capacity
IE	Internationale Einheiten
*	$p < 0.05$
**	$p < 0.01$
***	$p < 0.001$

## 8 Tabellarischer Lebenslauf

Name	Katrin Gebauer
Geburtsdatum	20.03.1977
Geburtsort	Krefeld
Konfession	Römisch-katholisch
Familienstand	ledig
Namen der Eltern	Dieter Gebauer und Annette Gebauer geb. Geuting
Schulbildung	
1983-1987	Besuch der Sollbrüggen-Grundschule in Krefeld
1987-1996	Besuch des Gymnasium am Moltkeplatz in Krefeld
1996	Abitur am Gymnasium am Moltkeplatz in Krefeld
Berufsausbildung	
10/1996	Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
08/1998	Physikum Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
08/1999	1. Staatsexamen Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
03/2002	2. Staatsexamen Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
05/2003	3. Staatsexamen Westfälische Wilhelms-Universität Münster
08/2003	AiP an der Medizinischen Klinik und Poliklinik D der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

## 9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt zunächst Herrn Univ.-Prof. Dr. med. R.M. Schaefer für die Überlassung des Themas sowie die ausgezeichnete Betreuung während der Erstellung dieser Arbeit.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. med. B. Frye, der mir den Weg in die Nephrologie eröffnet hat. Durch seine langjährige intensive Unterstützung und Förderung war es mir möglich, bereits früh Einblicke in das Fachgebiet zu gewinnen und eigenständig an der Durchführung der Studie mitzuwirken.

Gleichzeitig bedanke ich mich bei Herrn Dr. med. F. Matzkies für die verlässliche Hilfe bei der statistischen Auswertung und inhaltlichen Fragestellungen.

Insbesondere gilt mein Dank Herrn Dr. med. T. Ganslandt für die zuverlässige Hilfestellung bei der statistischen Datenerfassung und Formatierung dieser Arbeit.

Nicht zuletzt gilt mein Dank meiner Familie, ohne deren Unterstützung ich meine Ziele nicht hätte erreichen können.