

**Aus der Klinik und Poliklinik
für Kinder- und Jugendmedizin
am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Ärztlicher Direktor Prof. Dr. K. Ullrich**

Nephrologische Arbeitsgruppe
Leiter Prof. Dr. med. D. E. Müller-Wiefel

Ferritin in Erythrozyten bei Kindern mit chronischer
Niereninsuffizienz unter Therapie mit rekombinatem
humanem Erythropoietin

Inauguraldissertation
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt
von

Erdmuthe Amelie Welge
aus Celle

Hamburg 2002

Angenommen von dem Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 14.10.2002

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Dekan: Prof. Dr. C. Wagener

Referent: Prof. Dr. D. E. Müller-Wiefel

Koreferent: Prof. Dr. K. Ullrich

Die Wissenschaft fängt eigentlich erst da an
interessant zu werden, wo sie aufhört.

Justus von Liebig, Chemische Briefe

INHALT

| | |
|---|------------|
| INHALT | i |
| ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | iii |
| TABELLENVERZEICHNIS | iv |
| ABBILDUNGSVERZEICHNIS | v |
| 1 EINLEITUNG | 1 |
| 1.1 Eisen | 1 |
| 1.2 Ferritin | 2 |
| 1.2.1 Serumferritin | 3 |
| 1.2.2 Erythrozytenferritin | 4 |
| 1.3 Eisenmangel | 5 |
| 1.4 Anämie | 6 |
| 1.5 Erythropoietin | 7 |
| 1.5.1 Physiologie | 7 |
| 1.5.2 Therapeutischer Einsatz | 8 |
| 1.6 Ziel und Fragestellung | 9 |
| 2 PATIENTEN UND METHODEN | 10 |
| 2.1 Patienten | 10 |
| 2.1.1 Therapie mit rhEPO | 12 |
| 2.1.2 Eisensubstitution | 13 |
| 2.2 Kontrollen | 14 |
| 2.3 Untersuchungsmethode zum Erythrozytenferritin | 15 |
| 2.3.1 Erythrozytentrennung und Lyse | 16 |
| 2.3.2 Immunoradiometrischer Assay | 19 |
| 2.3.3 Berechnung des Erythrozytenferritins | 19 |
| 2.4 Weitere Bestimmungsmethoden | 20 |
| 2.4.1 Hämatologische Parameter | 20 |
| 2.4.2 Retikulozytenzahl | 20 |
| 2.4.3 Serumeisen | 21 |
| 2.4.4 Serumferritin | 21 |
| 2.4.5 Transferrin und Transferrinsättigung | 21 |
| 2.5 Definitionen | 22 |
| 2.6 Datenverarbeitung und Statistik | 22 |
| 3 ERGEBNISSE | 24 |
| 3.1 Kontrollen | 24 |
| 3.1.1 Meßergebnisse | 24 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 3.1.2 | Untersuchung von Alters- und Geschlechtsabhängigkeit des Erythrozytenferritins | 27 |
| 3.1.3 | Bestimmung von Referenzbereichen des Erythrozytenferritins | 30 |
| 3.2 | Meßergebnisse der Patienten | 32 |
| 3.2.1 | Gesamtübersicht über Blutbild- und Serum-Parameter | 32 |
| 3.2.2 | Serumferritin | 34 |
| 3.2.3 | Erythrozytenferritin | 36 |
| 3.3 | Änderungen im Therapieverlauf | 39 |
| 3.3.1 | Mittlerer Verlauf hämatologischer und serologischer Daten | 39 |
| 3.3.2 | Serumferritin | 43 |
| 3.3.3 | Erythrozytenferritin | 48 |
| 3.3.4 | Gegenüberstellung von Serumferritin und Erythrozytenferritin | 54 |
| 3.3.5 | Nonresponder | 59 |
| 3.4 | Vergleich des Erythrozytenferritins von Patienten und Kontrollen | 61 |
| 3.5 | Untersuchung von Zusammenhängen | 65 |
| 3.6 | Prüfen von Veränderungen des Erythrozytenferritins | 73 |
| 4 | DISKUSSION | 76 |
| 4.1 | Einführung | 76 |
| 4.2 | Methode | 77 |
| 4.3 | Statistik | 78 |
| 4.4 | Kontrollen | 79 |
| 4.4.1 | Vergleich mit Referenzbereichen anderer Untersucher | 79 |
| 4.4.2 | Kritische Betrachtung | 81 |
| 4.5 | Ergebnisse der Patienten | 82 |
| 4.5.1 | Änderungen im Therapieverlauf | 82 |
| 4.5.2 | Nonresponder | 85 |
| 4.6 | Vergleich des Erythrozytenferritins von Patienten und Kontrollen | 86 |
| 4.7 | Gegenüberstellung von Erythrozytenferritin und Serumferritin | 88 |
| 4.8 | Zusammenhänge zwischen den Parametern | 90 |
| 4.9 | Veränderungen des Erythrozytenferritins über die Zeit | 93 |
| 4.10 | Schlußfolgerung | 95 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG | 97 |
| 6 | ANHANG | 99 |
| 7 | LITERATURVERZEICHNIS | 106 |
| 8 | DANKSAGUNG | 118 |
| 9 | LEBENS LAUF | 120 |
| 10 | ERKLÄRUNG | 121 |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|----------------|---|
| BFU-E | erythroide burst forming unit |
| CAPD | kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse |
| CFU-E | erythroide colony forming unit |
| CNI | chronische Niereninsuffizienz |
| EF | Erythrozytenferritin |
| EPO | Erythropoietin |
| Ery | Erythrozytenzahl |
| Fe | Serumeisen |
| f / ♀ | Feminin |
| Hb | Hämoglobin |
| Hk | Hämatokrit |
| i. v. | Intravenös |
| m / ♂ | maskulin |
| MCH | Hämoglobingehalt des Erythrozyten |
| MCHC | mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration |
| MCV | Erythrozytenvolumen |
| MG | Molekulargewicht |
| n.s. | nicht signifikant |
| O ₂ | Sauerstoff |
| Reti | relative Retikulozytenzahl |
| Reti abs. | absolute Retikulozytenzahl |
| rhEPO | rekombinantes humanes Erythropoietin |
| SCR | Serumkreatinin |
| s | Standardabweichung |
| sf | Streu faktor |
| SF | Serumferritin |
| Tf | Transferrin im Serum |
| Tfs | Transferrinsättigung |
| \bar{x} | Median |
| \bar{x} | arithmetisches Mittel |
| \bar{x}_G | geometrisches Mittel |

TABELLENVERZEICHNIS

| | |
|---|----|
| Tabelle 1. Verteilung der Patienten | 10 |
| Tabelle 2. Übersicht über die Patienten mit Alter, Geschlecht und Diagnose | 11 |
| Tabelle 3. Ausgangsparameter vor Therapiebeginn (Serumkreatinin, Hämoglobin, Gewicht, rhEPO-Applikation) | 12 |
| Tabelle 4. Verteilung der Kontrollen | 15 |
| Tabelle 5. Referenzbereiche hämatologischer Parameter [73] | 20 |
| Tabelle 6. Altersverteilung und hämatologische Basisparameter der Kontrollgruppe | 24 |
| Tabelle 7. Einzelne Meßergebnisse von Serum- und Erythrozytenferritin der Kontrollen | 26 |
| Tabelle 8. Mittelwerte von Alter, Serumferritin und Erythrozytenferritin der Kontrollgruppe | 27 |
| Tabelle 9. Mittelwerte hämatologischer und serologischer Parameter der Patienten (N = 17) im ersten halben Jahr der rhEPO-Therapie | 33 |
| Tabelle 10. Serumferritin der Patienten in den Monaten 0 bis 6 | 34 |
| Tabelle 11. Serumferritin-Mittelwerte der Patienten in den Monaten 0 bis 6 ($\bar{x}_G \pm sf$ und R) | 35 |
| Tabelle 12. Serumferritin-Mittelwerte der Patienten in zwei definierten Gruppen, eingeteilt nach Höhe des Serumferritins zu Therapiebeginn | 36 |
| Tabelle 13. Erythrozytenferritin (ag/cell) der Patienten im Therapieverlauf | 37 |
| Tabelle 14. Erythrozytenferritin-Mittelwerte der Patienten in den Monaten 0 bis 6 ($\bar{x}_G \pm sf$ und R) | 38 |
| Tabelle 15. Erythrozytenferritin-Mittelwerte der Patienten in zwei Gruppen, eingeteilt nach der Höhe des Serumferritins bei Therapiebeginn | 39 |
| Tabelle 16. Durchschnittliche Tendenz des Erythrozytenferritins im Vergleich zum Ausgangswert | 74 |
| Tabelle 17. Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Referenzbereiche mit Angabe des Autors sowie des Erscheinungsjahres | 80 |
| Tabelle 18. Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Korrelationen mit Erythrozytenferritin | 91 |
| Tabelle 19. Zusammenstellung von Untersuchungen, in denen keine Korrelation mit Erythrozytenferritin festgestellt wurde | 92 |

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | |
|--|----|
| Abb. 1. Durchführung der Erythrozytentrennung | 18 |
| Abb. 2. Aufbau der Zellose säule | 18 |
| Abb. 3. Mittlerer Erythrozytenferritingehalt in der Kontrollgruppe ($\bar{x}_G \pm sf$) | 28 |
| Abb. 4. Korrelation von Erythrozytenferritin und Alter in der Kontrollgruppe mit Darstellung der Regressionsgeraden | 29 |
| Abb. 5. Verteilungsbereich des Erythrozytenferritins für Kleinkinder | 31 |
| Abb. 6. Verteilungsbereich des Erythrozytenferritins für Schulkinder | 31 |
| Abb. 7. Verteilungsbereich des Erythrozytenferritins für Adoleszente | 32 |
| Abb. 8. Veränderungen des Hämoglobins ($\bar{x} \pm s$) in den ersten 6 Monaten rhEPO-Therapie | 40 |
| Abb. 9. Änderungen des Hämatokrits ($\bar{x} \pm s$) in den ersten 6 Monaten rhEPO-Therapie | 41 |
| Abb. 10. Veränderung der Erythrozytenzahl ($\bar{x} \pm s$) | 41 |
| Abb. 11. Veränderungen der absoluten Retikulozytenzahl (\bar{x}) | 42 |
| Abb. 12. Veränderungen des Serumeisens ($\bar{x} \pm s$) | 42 |
| Abb. 13. Änderungen der Transferrinsättigung (\bar{x}) | 43 |
| Abb. 14. Individuelle Veränderungen des Serumferritins in den ersten 6 Monaten rhEPO-Therapie | 44 |
| Abb. 15. Veränderungen des Serumferritins der einzelnen Patienten in Gruppe I mit erhöhtem Serumferritin (N = 7) | 45 |
| Abb. 16. Veränderungen des Serumferritins in Gruppe II (N = 10), Serumferritin normal bis niedrig | 45 |
| Abb. 17. Veränderungen des Serumferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den einzelnen Säuglingen | 46 |
| Abb. 18. Veränderungen des Serumferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den untersuchten Kleinkindern | 47 |
| Abb. 19. Veränderungen des Serumferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Schulkindern | 47 |
| Abb. 20. Veränderungen des Serumferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Adoleszenten | 48 |
| Abb. 21. Veränderungen des Erythrozytenferritins der einzelnen Patienten im Therapieverlauf | 49 |
| Abb. 22. Veränderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Säuglingen | 50 |

| | |
|--|----|
| Abb. 23. Veränderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Kleinkindern | 50 |
| Abb. 24. Veränderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Schulkindern | 51 |
| Abb. 25. Veränderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Adoleszenten | 51 |
| Abb. 26. Veränderungen des Erythrozytenferritins in Gruppe I mit erhöhtem Serumferritin | 53 |
| Abb. 27. Veränderungen des Erythrozytenferritins in Gruppe II, Serumferritin normal bis niedrig | 53 |
| Abb. 28. Änderungen des mittleren Serumferritins (\bar{x}_G) innerhalb der Altersklassen | 55 |
| Abb. 29. Änderungen des mittleren Erythrozytenferritins (\bar{x}_G) innerhalb der Altersklassen | 55 |
| Abb. 30. Änderungen des mittleren Serumferritins (\bar{x}_G) in Gruppe I (Serumferritin erhöht) und Gruppe II (Serumferritin normal) | 56 |
| Abb. 31. Änderungen des mittleren Erythrozytenferritins (\bar{x}_G) in Gruppe I (Serumferritin erhöht) und Gruppe II (Serumferritin normal) | 57 |
| Abb. 32. Änderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie unter Berücksichtigung des Serumferritins zu Therapiebeginn | 58 |
| Abb. 33. Verteilung aller Erythrozytenferritin-Werte der Patienten in Abhängigkeit vom Serumferritin | 59 |
| Abb. 34. Änderungen des Hämoglobins im Therapieverlauf beim Nonresponder PC mit Angabe der Bluttransfusionen | 60 |
| Abb. 35. Veränderungen des EF im Therapieverlauf beim Nonresponder PC | 61 |
| Abb. 36. Verlauf des mittleren Erythrozytenferritins der Säuglinge im Vergleich zum entsprechenden Referenzbereich der Kontrollen | 62 |
| Abb. 37. Verlauf des mittleren Erythrozytenferritins der Kleinkinder im Vergleich zum entsprechenden Verteilungsbereich der Kontrollen | 63 |
| Abb. 38. Verlauf des mittleren Erythrozytenferritins der Schulkinder im Vergleich zum entsprechenden Verteilungsbereich der Kontrollen | 63 |
| Abb. 39. Verlauf des mittleren Erythrozytenferritins der Adoleszenten im Vergleich zum Kontrollbereich | 64 |
| Abb. 40. Streuung und Mittelwert \bar{x}_G des Erythrozytenferritins von Kontrollen und Patienten (Monat 0 und 6) | 65 |
| Abb. 41. Korrelation zwischen Serumferritin und Transferrinsättigung | 66 |
| Abb. 42. Korrelation zwischen Serumferritin und Erythrozytenvolumen | 66 |
| Abb. 43. Korrelation zwischen Serumferritin und Hämoglobingehalt des Erythrozyten | 67 |
| Abb. 44. Korrelation von Serumferritin mit Hämoglobin | 67 |

| | |
|---|-----|
| | vii |
| Abb. 45. Korrelation von Serumferritin mit absoluter Retikulozytenzahl | 68 |
| Abb. 46. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Transferrinsättigung | 69 |
| Abb. 47. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Erythrozytenvolumen | 69 |
| Abb. 48. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Hämoglobingehalt des Erythrozyten | 70 |
| Abb. 49. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Hämoglobin | 70 |
| Abb. 50. Korrelation von Erythrozytenferritin mit absoluter Retikulozytenzahl | 71 |
| Abb. 51. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Serumferritin der Patienten | 72 |
| Abb. 52. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Serumferritin bei den Kontrollen | 73 |
| Abb. 53. Verteilung und Median (\bar{x}) der Differenzen des Erythrozytenferritins vom Ausgangswert mit Angabe der Signifikanz | 75 |

1 EINLEITUNG

Der Einsatz von rekombinantem humanem Erythropoietin (rhEPO) auch bei niereninsuffizienten Kindern stellt einen therapeutischen Meilenstein dar, weil dadurch die Möglichkeit eröffnet wird, die begleitende renale Anämie wirksam zu behandeln. Im Zusammenhang damit steht die Notwendigkeit zu einer möglichst exakten Evaluation der Eisenstoffwechsel. Vor diesem Hintergrund soll ein neuer Parameter, das intraerythrozytäre Ferritin, an einem Krankengut niereninsuffizienter Kinder unter rhEPO-Therapie evaluiert werden.

1.1 Eisen

Eisen findet sich ubiquitär und gehört in Form von Erzen mit zu den in der Erdkruste am häufigsten vorkommenden Elementen (5 Gew.-%, vierthäufigstes Element) [49]. Wegen seiner besonderen chemischen Fähigkeiten (Redox- und Komplexbildung), vielleicht auch wegen seines reichhaltigen Vorkommens hat Eisen weitreichende biologische Funktionen erlangt [11]. Es ist das wichtigste lebensnotwendige Spurenelement mit biokatalytischer Funktion in der belebten Natur und bildet wegen seiner Beteiligung an vielen relevanten Aufgaben eine essentielle Substanz des Organismus: Bestandteil des Hämoglobins beim Sauerstofftransport, des Myoglobins bei Bindung und Speicherung von Sauerstoff, der Zytochrome beim Elektronentransfer sowie einiger Enzyme z. B. bei Oxidationen. Der menschliche Körper enthält etwa 4 - 5 g Eisen, davon sind 65 - 70 % im Hämoglobin, 3 - 4 % im Myoglobin, 15 - 30 % in den Eisenspeicherproteinen Ferritin und Hämosiderin und nur ein Bruchteil in Enzymen enthalten [11, 104].

Die Eisenresorption, die durch die Menge des Speichereisens sowie durch das Tempo der Erythropoese reguliert wird [23, 40], erfolgt aus der Nahrung als Hämeisen bzw. nach Reduktion zu Fe^{2+} in den Mukosazellen des Duodenum

und oberen Jejunum, wo es als Ferritin vorliegt und je nach Bedarf durch Exfoliation ausgeschieden oder nach Oxidation zu Fe^{3+} und Bindung an Transferrin in die Blutbahn gelangt, um so über spezifische Transferrinrezeptoren in die Gewebe transportiert zu werden [11]. Der größte Teil des Eisenbedarfs jedoch wird durch ökonomische Wiederverwertung des Funktionseisens gedeckt.

Störungen des Eisenstoffwechsels gliedern sich in Eisenmangel, der als weltweit häufigster ernährungsbedingter Mangelzustand angesehen wird [41], Eisenüberladung und Eisenverteilungsstörungen.

Durch die große Bedeutung von Eisen für die Aufrechterhaltung des Lebens ist es notwendig, daß jeder Organismus, sowohl Tiere als auch Pflanzen, über ein Depot an Eisen in proteingebundener Form verfügt, um vor den Folgen eines plötzlichen Verlustes oder erhöhten Bedarfs geschützt zu sein [60].

1.2 Ferritin

Das wichtigste Eisenspeicherprotein stellt Ferritin dar, ein Makromolekül mit einem Molekulargewicht von etwa 450 kDa [42, 58], das erstmals 1937 von Laufberger aus Pferdemicke isoliert wurde [84]. Es besteht aus einer Proteinhülle mit einem Eisenkern, in dem bis zu 5000 Eisenatome als Eisenoxyhydroxidphosphat gespeichert werden können [42, 60]. Das eisenfreie Apoferritin, eine Hohlkugel mit kleinen Kanälen, ist ein Heteropolymer aus 24 äquivalenten Polypeptiduntereinheiten. Durch variable Anteile zweier miteinander kooperierender Untereinheiten, den sauren H- (heavy) und basischen L- (light) Polypeptidketten mit einem MG von 21 000 bzw. 19 000 Da, entstehen verschiedene Isoferritine, von denen sich mittels isoelektrischer Fokussierung mindestens 20 differenzieren lassen. H-Ketten enthalten ein Ferroxidase-Zentrum, das die Oxidation von Fe^{2+} katalysiert und für die schnelle Eisenaufnahme verantwortlich ist, während L-Ketten die Eisenhydrolyse und -mineralisierung im Inneren unterstützen [5].

Prinzipiell ist jede Zelle fähig, ein Überangebot an Eisen durch Synthese von Ferritin aufzunehmen. Es befindet sich intrazellulär diffus im Zytoplasma verteilt bzw. teilweise membranständig am endoplasmatischen Retikulum [141]. Geringe Mengen an Ferritin lassen sich auch im Serum nachweisen.

Verschiedenartige Isoferritine mit differierendem Eisengehalt kommen in unterschiedlichen Geweben, einem Gewebe und sogar einem Zelltyp vor [58]. Gewebsspezifisch können bestimmte Isoferritinmuster unterschieden werden; so finden sich mehr basische Ferritine (auch L- oder "liver- or spleen-type" Ferritin) in den Speicherorganen Leber, Milz und Knochenmark und im Plasma, während saure (H- oder "heart-type" Ferritin) in Herz, Niere, Plazenta, Lympho- und Monozyten sowie den erythroiden Zellen überwiegen [48]. Das L-Homopolymer enthält wenig Eisen, sonst nimmt der Eisengehalt mit zunehmenden L-Ketten zu [48]. Bei Eisenüberladung kann sich das Isoferritinprofil in den basischen Bereich verschieben [5, 58]. Die Ferritinsynthese, die durch Eisen auf der Translationsebene durch erhöhte Mobilisierung latenter mRNA induziert und reguliert wird, findet vorwiegend an freien aber auch an membrangebundenen Polyribosomen des endoplasmatischen Retikulums statt [48, 60, 141].

Die Funktionen des Ferritins bestehen im Schutz der Zelle vor den toxischen Effekten des ionisierenden Eisens und in der Speicherung des Eisens in bioverfügbarer Form [42, 60, 134, 141] sowie auch im Eisentransport [11, 58, 120].

1.2.1 Serumferritin

Die Funktion des zirkulierenden Ferritins, das von den Zellen des Retikuloendothelialen Systems an das Blut abgegeben [85] und von der Leber schnell wieder abgebaut wird [116, 124], ist noch weitgehend unklar [48, 76].

Da normalerweise der Level an Ferritin relativ konstant ist und mit dem Depoteisen des Körpers im Gleichgewicht steht, dient die Bestimmung des Serumferritins (SF) mit empfindlichen Immunoassays [2, 89] der Beurteilung der

Eisenspeicher, der Diagnose und Therapie des Eisenmangels, Feststellung der Eisenreserve bei Risikogruppen sowie der Differenzierung von Anämien [71, 76, 79, 85]. Diese Beziehung zur Körpereisenreserve kann jedoch bei Entzündungen, Lebererkrankungen, Tumoren und parenteraler Eisentherapie gestört sein und mit einer Erhöhung des SF einhergehen [76, 85, 134]. Ein vermindertes SF dagegen ist ein Beweis für einen Eisenmangel [116].

1.2.2 Erythrozytenferritin

Das Vorhandensein von Ferritin in erythroiden Zellen ist schon seit längerem bekannt. Erste Hinweise auf mögliches Ferritin fand AGNER 1943 in Pferde-Erythrozyten [3]. Während BESSIS und BRETON-GORIUS 1959 und 1962 der elektronenmikroskopische Nachweis von Ferritin in Erythroblasten und Retikulozyten gelang [12, 13], konnten FALBE-HANSEN und LOTHE 1962 den Eiseneinbau in Ferritin bei Kaninchen-Erythrozyten zeigen [54]. 1973 wies PORTER als erster Ferritin in reifen humanen Erythrozyten nach [105]. Die Einführung empfindlicher Immunoassays für Ferritin [2] ermöglichte es SUMMERS et al. und WORWOOD et al. 1974, die Ferritinkonzentration in Erythrozyten zu messen [122, 136]. Weitere frühe Bestimmungen des Erythrozytenferritins erfolgten durch LIPSCHITZ et al. 1975 [86], YAMADA 1978 [139], BODEMANN 1981 [17], JACOBS 1981 [70].

Beim Erythrozytenferritin (EF) lassen sich mindestens zwei verschiedene Isoferritine mit unterschiedlichen Funktionen differenzieren. So findet sich ein saures Ferritin mit überwiegend H-Ketten sowie ein basisches mit mehr L-Ketten, wobei die sauren Isoferritine dominieren. Im Erythrozyten kann vier- bis fünfmal so viel "heart-type" wie "liver-type" Ferritin identifiziert werden [34, 70, 102].

Hierbei handelt es sich um Reste des Erythroblastenferritins [34, 136]. Der Gehalt an Ferritin, das in frühen Stadien der Erythropoese synthetisiert wird [140], nimmt mit dem Reifeprozess ab; so enthalten Erythroblasten 200- bis 2000-mal mehr Ferritin als Erythrozyten [4, 82].

Das saure Isoferritin hat eher eine aktive Rolle als mögliches Zwischenglied auf dem Weg zur Hämoglobinsynthese, d. h. als vorübergehende Zwischenreserve [82, 120, 140]. Hingegen wird das von der Hämoglobinsynthese überzählige Eisen im intrazellulären Depot, dem basischen Ferritin, gespeichert [34].

Somit wird das EF vom Eisenumsatz in der Erythropoese bestimmt. Es ist abhängig vom Körpereisen sowie von der Aktivität der Erythropoese [18] und ein Maß für die Eisenversorgung der Erythropoese [75].

1.3 Eisenmangel

Der Eisenmangel, weltweit häufigste Mangelerscheinung, läßt sich gliedern in drei Schweregrade:

1. prälatent
2. latent
3. manifest.

Ein prälatenter Eisenmangel bedeutet ein Mangel an Depoteisen mit leicht vermindertem SF und erhöhter Eisenresorption. In der zweiten Stufe, dem latenten Eisenmangel, kommt es zu einem Transporteisenmangel, der sich mit niedrigem Fe, SF sowie reduzierter Tfs darstellt. Beim manifesten Eisenmangel tritt zusätzlich eine Anämie auf [132].

Außerdem kann ein funktioneller Eisenmangel mit normalem oder erhöhtem SF, bei dem aber die Bereitstellung von Eisen für die Hämoglobinsynthese nicht ausreicht (Fe und Tfs erniedrigt), von einem absoluten Eisenmangel unterschieden werden [87].

1.4 Anämie

Die Anämie, definiert als Hämoglobingehalt im zirkulierenden Blut unterhalb der Normgrenze, wird nach funktionellen und morphologischen Gesichtspunkten eingeteilt:

- hypo- oder hyperproliferativ
- mikro-, normo- oder makrozytär.

Eine Klassifizierung und Suche nach den Ursachen erfolgt durch eine Basisdiagnostik (rotes Blutbild mit Erythrozytenindizes und Erythrozytenmorphologie) bzw. differenzierte Diagnostik (Retikulozytenzahl, Serumeisen, Serumferritin, Transferrin und Transferrinsättigung zur Abklärung von Eisenstoffwechselstörungen sowie weitere spezifische Methoden).

Die *renale Anämie*, die häufig erstes Symptom einer chronischen Niereninsuffizienz darstellt, ist definiert als Verminderung des Erythrozytengehaltes des Blutes infolge einer chronischen Niereninsuffizienz, d. h. eine Reduktion des Hämoglobins in Verbindung mit einer länger als 6 Monate bestehenden irreversiblen Erhöhung des Serumkreatinspiegels über 1.5 mg/dl [92]. Dabei handelt es sich um eine normochrome, normozytäre und hypoproliferative Anämie multifaktorieller Genese [1, 51, 93]. Hauptursache ist ein absoluter Mangel an Erythropoietin oder ein relativer Mangel mit unzureichender Kompensation. Außerdem tragen Hämolyse, häufiger Blutverlust und Eisenmangel dazu bei [51, 93]. Infolge der erforderlichen Transfusionen, insbesondere unter Hämodialyse, kommt es meist zu einer Eisenüberladung [96].

1.5 Erythropoietin

Ein humoraler, die Erythropoese kontrollierender Faktor wurde erstmals 1906 von CARNOT und DEFLANDRE postuliert [27], 1950 bzw. 1953 bestätigt und Erythropoietin genannt [50, 107], allerdings erst 1977 von MIYAKE et al. aus Urin isoliert [90].

1.5.1 Physiologie

Das Glykoproteidhormon Erythropoietin (EPO) besteht aus 165 Aminosäuren mit vier komplexen Kohlenhydratseitenketten und hat ein Molekulargewicht von 35 kD. Die Synthese findet in der Fetal- und Neonatalphase in den perisinusoidalen Itozellen und Hepatozyten der Leber statt [88], während später 80 – 90 % in den peritubulären Fibroblasten der Niere gebildet werden [6]. Diese Zellen besitzen einen Sensor für den intrakapillären Sauerstoffgehalt. Ein Abfall des Sauerstoffpartialdruckes durch Hypoxie oder Verminderung des renalen Blutflusses bzw. Differenzen zwischen O₂-Angebot und Bedarf bei Anämie führen zu Zellproliferation und Steigerung der Erythropoietinsynthese mit Anstieg des EPO-Plasmaspiegels, der normalerweise bei 6 - 25 U/l liegt. [74]

Durch die sauerstoffabhängige Produktion dieses essentiellen Wachstums- und Überlebensfaktors für die späten erythroiden Vorläuferzellen wird die Blutbildung geregelt. Das gebildete EPO bewirkt im Knochenmark eine Proliferation und Differenzierung der erythroiden Vorläuferzellen, insbesondere der BFU-E und CFU-E. Durch Zunahme der Hämoglobinsynthese und beschleunigte Zellreifung erfolgt eine gesteigerte Retikulozytenfreisetzung.

1.5.2 Therapeutischer Einsatz

Nach einer Reinigung von humanem EPO, Bestimmung der Aminosäuresequenz und Isolierung des EPO-Gens [72] gelang es mit Hilfe gentechnischer Methoden durch Expression des Gens in Ovarialzellen des chinesischen Hamsters rekombinantes humanes Erythropoietin (rhEPO) herzustellen. Da auf diese Art ausreichende Mengen EPO verfügbar wurden, eröffneten sich neue Therapieperspektiven.

Erstmals therapeutisch eingesetzt wurde rhEPO bei Erwachsenen mit chronischer Niereninsuffizienz zur Behandlung der renalen Anämie [53, 133, 142]. Bei ausreichend gefüllten Eisenspeichern kommt es durch rhEPO (1 IE $\hat{=}$ etwa 8 ng rhEPO) [101] zu gesteigerter Blutbildung und daraus folgend u. a. zur Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit und Lebensqualität sowie Reduktion des Transfusionsbedarfs. Als unerwünschte Wirkungen sind Blutdruckanstieg, Thrombose, hypertensive Enzephalopathie wie auch Krampfanfälle im ersten Stadium der Therapie beschrieben worden [53, 133].

Neben der renalen Anämie wird rhEPO auch bei anderen chronischen Erkrankungen, Frühgeborenenanämie, Eigenblutspende und mißbräuchlich zum Doping bei Sportlern verwendet [119].

1.6 Ziel und Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist die Bestimmung der Eisenspeicher bei renaler Anämie bei Kindern mit chronischer Niereninsuffizienz und rhEPO-Therapie. Da andere gängige laborchemische Untersuchungen keine verlässlichen Parameter zur Diagnostik eines Eisenmangels darstellen [63, 91], sollen mit dieser Studie Untersuchungen zum Ferritingehalt im Erythrozyten als weiteren, neuen Meßparameter durchgeführt und dieser anderen Methoden gegenübergestellt werden.

Der erste Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Optimierung eines Meßverfahrens zur Bestimmung des erythrozytären Ferritingehaltes sowie seine Anpassung an die Bedingungen bei Kindern.

Mit dieser erarbeiteten Methode wurden bei Kindern mit chronischer Niereninsuffizienz Untersuchungen zum EF vor einer Therapie mit rhEPO durchgeführt sowie die Veränderungen im Verlauf der Behandlung bestimmt. Dabei stellten sich folgende Fragen:

- Gibt es Unterschiede im EF zwischen Kindern mit CNI und Kontrollkindern? In welchem Bereich liegt EF bei gesunden Kindern?
- Wie verhält sich das EF unter der Therapie mit rhEPO? Führt eine Behandlung mit rhEPO und Eisen zu Veränderungen des EF im Beobachtungszeitraum?
- Bestehen Zusammenhänge zwischen EF und SF oder anderen Parametern des Eisenstoffwechsels?
- Wie ist die Eisenversorgung der Erythropoese bei den behandelten Patienten? Ist das EF ein möglicher Parameter, um frühzeitig einen Eisenmangel anzuzeigen? Stellt die EF-Bestimmung eine zuverlässige Methode dar, um den Eisenstatus unter der Therapie zu kontrollieren?

2 PATIENTEN UND METHODEN

2.1 Patienten

In dieser Studie aus der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf wurden im Zeitraum von Juni 1990 bis Februar 1992 17 Kinder, davon 9 Jungen und 8 Mädchen, mit renaler Anämie bei chronischer Niereninsuffizienz untersucht (Übersicht über Geschlechts- und Altersverteilung s. Tabelle 1). Die Bestimmung des EF sowie weiterer, für den Eisenstoffwechsel relevanter Parameter (s. Abschnitt 2.4) wurden jeweils monatlich über ein halbes Jahr durchgeführt. Bei Studienmitte lag das Alter der Patienten zwischen 0.7 und 17 Jahren (Median 7 Jahre).

Tabelle 1. Verteilung der Patienten

| Geschlecht | N | Altersgruppe | N |
|-------------------|----------|---------------------|----------|
| m | 9 | Säuglinge | 3 |
| f | 8 | Kleinkinder | 3 |
| | | Schulkinder | 9 |
| | | Adoleszente | 2 |
| gesamt | 17 | | 17 |

Von den untersuchten Patienten litten 16 Kinder aus verschiedenen Ursachen unter präterminaler Niereninsuffizienz und wurden konservativ behandelt. Eine Patientin (SA) mit terminaler Niereninsuffizienz jedoch wurde intermittierend hämodialysiert. Vier Monate nach Studienbeginn mußte bei einem weiteren Patienten (TA) mit intermittierender Hämodialyse begonnen werden. Eine Zusammenstellung der Patienten mit Angabe von Alter, Geschlecht und Diagnose wird in Tabelle 2 gegeben. Die Therapie der renalen Anämie und chronischen Niereninsuffizienz wurde im Rahmen der europäischen multizentrischen Erythropoietin-Studie [45] in der Nephrologischen Ambulanz,

auf der Kinderstation V bzw. in der Kinderdialyse der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durchgeführt. Serumkreatinin, Hämoglobin und Gewicht der einzelnen Patienten vor Studienbeginn, d. h. vor der ersten rhEPO-Gabe, sind aus Tabelle 3 zu ersehen.

Tabelle 2. Übersicht über die Patienten mit Alter, Geschlecht und Diagnose

| | Initialen Patienten | Alter Jahre | Geschlecht | Diagnose |
|-------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|-------------------|---|
| Säuglinge < 1 Jahr | MBB | 0.7 | f | Nierendysplasie |
| | JB | 0.8 | m | Crush-Nieren |
| | HJA | 0.8 | m | Nierendysplasie |
| Kleinkinder 1 - 6 Jahre | MCL | 1 | m | Nierenagenesie |
| | CI | 3 | m | Hämolytisch-urämisches Syndrom |
| | MK | 4 | m | Strahlennephropathie |
| Schulkinder 7 - 14 Jahre | TA | 7 | m | Obstruktive Uropathie |
| | FF | 7 | m | Kongenitale obstruktive Uropathie |
| | SP | 7 | f | Nephronophthisis |
| | MG | 8 | m | Polyzystische Nieren |
| | DD | 9 | f | Polyzystische Nieren |
| | DT | 10 | f | Nephrotisches Syndrom |
| | JP | 13 | f | Nierendysplasie |
| | MB | 13 | m | Glomerulonephritis |
| LB | 13 | f | Nephronophthisis | |
| Adoleszente 15 - 21 Jahre | SA | 15 | f | Schönlein-Henoch- Glomerulonephritis, terminal |
| | PC | 17 | f | Strahlenfibrose |

Tabelle 3. Ausgangsparameter vor Therapiebeginn (Serumkreatinin, Hämoglobin, Gewicht, rhEPO-Applikation)

| Initialen Patienten | SCR mg/dl | Hb g/dl | Gewicht kg | rhEPO /Woche |
|-------------------------------|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| MBB | 1.3 | 8.3 | 3.4 | 1 |
| JB | 2.1 | 9.5 | 6.7 | 1 |
| HJA | 3.2 | 9.2 | 6.0 | 1/3 |
| MCL | 2.4 | 8.3 | 6.4 | 1 |
| CI | 3.2 | 8.5 | 15.0 | 1 |
| MK | 3.2 | 6.9 | 19.1 | 1 |
| FF | 2.6 | 8.1 | 18.0 | 2 |
| TA | 12.3 | 5.4 | 20.0 | 1/3 |
| SP | 7.3 | 9.2 | 23.0 | 3 |
| MG | 4.1 | 9.3 | 32.0 | 1 |
| DD | 2.5 | 7.5 | 25.0 | 1 |
| DT | 3.4 | 9.0 | 25.9 | 2 |
| JP | 5.0 | 8.8 | 50.0 | 3 |
| MB | 7.6 | 8.9 | 41.0 | 3 |
| LB | 5.3 | 8.2 | 57.2 | 3 |
| SA | 9.2 | 7.4 | - | 3 |
| PC | 5.7 | 6.8 | 48.0 | 3 |

2.1.1 Therapie mit rhEPO

Für die Therapie im Rahmen der Studie wurde Erypo[®] von der Firma Cilag, Sulzbach/Taunus verwendet. Eine Ampulle Erypo[®] 4000 enthält 4000 Internationale Einheiten (entsprechend 33.6 µg) Epoetin-alfa (gentechnisch hergestellt aus Ovarialzellen des chinesischen Hamsters, Zelllinie CHO-K1) in steriler, gepufferter Proteinlösung (2.5 mg Serumalbumin human/ml).

Verabreicht wurde das rhEPO ein- oder dreimal pro Woche subcutan, bei zwei Patienten auch zweimal wöchentlich (Häufigkeit der rhEPO-Gabe pro Woche s. Tabelle 3). 7 Kinder erhielten ihre Gesamtdosis einmal wöchentlich an einem festen, gleichbleibendem Wochentag. Bei 6 Kindern wurde die Dosis einer Woche verteilt auf drei Einzeldosen an drei nicht aufeinanderfolgenden Tagen gegeben. Die Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz erhielten rhEPO intravenös dreimal pro Woche am Ende jeder Hämodialyse.

Die Behandlung mit rhEPO erfolgte in *zwei Stufen*:

In der *Korrekturphase* der Therapie wurde bei allen Patienten mit einer Anfangsdosis von 90 U/kg/Woche begonnen. Überwacht wurde das Ansprechen auf die Behandlung durch zweiwöchentliche Kontrollen der Hämoglobinkonzentration. Bei einem Anstieg des Hb-Wertes unter 0.5 g/dl verbunden mit einer Retikulozytenzahl unter 5 % wurde die Dosis um 50 % erhöht, d. h. am Anfang um 45 U/kg/Woche. Die Dosis wurde beibehalten, sofern ein Hb-Anstieg zwischen 0.5 und 1.0 g/dl und eine Retikulozytenzahl über 5 % gemessen wurde. Im Falle eines Hb-Anstiegs über 1.0 g/dl wurde die wöchentliche Dosis um 50 % reduziert.

Während der *Erhaltungsphase* nach Erreichen des Hb-Zielbereichs von 12.0 - 14.0 g/dl wurde wie folgt verfahren: Die Dosierung von rhEPO wurde um 50 % vermindert bei einem Hb über 12.0 g/dl bzw. um 50 % erhöht bei erneutem Abfall unter 12.0 g/dl. Bei einem Hb-Anstieg über 14.0 g/dl wurde mit der Behandlung ausgesetzt; sobald der Hb wieder darunter lag, wurde die Therapie mit um 50 % reduzierter Dosis fortgesetzt. Beibehalten wurde die Dosierung bei einem Hb zwischen 12.0 und 14.0 g/dl [95].

2.1.2 Eisensubstitution

Ein Ansprechen auf eine Behandlung mit rhEPO setzt eine ausreichende Menge an verfügbarem Eisen voraus. Darüber hinaus besteht bei gesteigerter Erythropoese ein erhöhter Eisenbedarf. Daher wurde bei allen Patienten bis auf eine Patientin mit einer Eisenüberladung (SA) eine orale Eisenmedikation notwendig. Die älteren Kinder erhielten ferro sanol[®] duodenal Kapseln (100 mg Fe²⁺/Kps.), die jüngeren Ferro 66[®] Tropfen (44 mg Fe²⁺/ml; 1 ml entspr. ca. 23 Tr.) bzw. ferro sanol[®] Tropfen (30 mg Fe²⁺/ml; 1 ml entspr. ca. 20 Tr.).

Die Eisensubstitution wurde durch monatliche Kontrollen des SF-, Transferrin- und Serumeisenspiegels dem Bedarf angepaßt (Eisensubstitutionsschema s. DANIEL 1996 [45]). Bei beträchtlichem Eisenmangel wurde Eisen intravenös

als Ferrlecit[®]-Injektionslösung (62.5 mg Fe³⁺/5 ml bzw. 40 mg Fe³⁺/3.2 ml) verabreicht.

2.2 Kontrollen

Da es aus ethischen Gründen schwer vertretbar ist, aus gesunden Kindern, die nicht eine Klinik oder einen Arzt aufsuchen, ein Normalkollektiv zur Bestimmung eines Referenzbereiches für das EF zu bilden, konnte für die Kontrollen nur eine selektierte Auswahl genommen werden.

Die Kontrollgruppe setzte sich aus Kindern zusammen, die im Zeitraum von November 1990 bis Mai 1992 die Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf zu einer routinemäßigen Untersuchung aufsuchten. Bei der Auswahl wurde darauf geachtet, daß zumindest jedem Patienten eine Kontrolle passenden Alters und Geschlechts gegenüberstand ("matched"). Zur Beurteilung der Eisenspeicher wurde das SF herangezogen und als Ausschlußkriterium ein SF < 15 µg/l bzw. für Adoleszente < 20 µg/l definiert, so daß ein Eisenmangel unwahrscheinlich ist und ein normaler Eisenstatus angenommen werden kann. Berücksichtigt wurden nur Kinder, bei denen zum Untersuchungszeitpunkt keine Infektionen, Nieren- oder Leberinsuffizienz bekannt waren, keine sichtbaren Entzündungszeichen vorlagen und auch keine medikamentöse Eisensubstitution durchgeführt wurde, weil in diesen Fällen mit einer Erhöhung des SF ohne Relation zum Speichereisen zu rechnen ist [39, 61, 62, 78, 85].

Von insgesamt 52 Kindern mußten 11 wegen o. g. Kriterien bzw. fehlendem SF-Wert ausgeschlossen werden. In Tabelle 4 ist die Verteilung der Kontrollen auf Altersklassen und Geschlecht ersichtlich. Die Kontrollgruppe bestand somit aus 41 Kindern, 19 Jungen und 22 Mädchen, im Alter von 0.7 bis 20 Jahren (Median 11 Jahre).

Tabelle 4. Verteilung der Kontrollen

| Geschlecht | N | Altersgruppe | N |
|-------------------|----------|---------------------|----------|
| m | 19 | Säuglinge | 2 |
| f | 22 | Kleinkinder | 7 |
| | | Schulkinder | 25 |
| | | Adoleszente | 7 |
| gesamt | 41 | | 41 |

2.3 Untersuchungsmethode zum Erythrozytenferritin

Die Bestimmung des Ferritingehaltes im Erythrozyten setzt sich aus drei Teilen zusammen:

1. Abtrennung der Erythrozyten und Lyse
2. Ferritinbestimmung (IRMA)
3. Berechnung des EF

Dabei gab es einige methodische Schwierigkeiten zu beachten. Voraussetzung für eine Bestimmung des erythrozytären Ferritingehaltes ist die Herstellung möglichst reiner Erythrozytensuspensionen. Insbesondere sollte eine Kontamination mit Leukozytenferritin vermieden werden, weil der Ferritingehalt in Leukozyten ca. das 350- [129] bis 1000fache [32, 75] von dem in Erythrozyten betragen kann, in Monozyten allein sogar mehr als das 2000fache [122]. Zum Eliminieren der Leukozyten und Thrombozyten wurde von mir eine Modifikation der Methode nach BEUTLER et al. angewandt [14]. Diese ermöglicht ein Entfernen der Leukozyten von über 99.75 %, ohne selektiv weder alte noch junge Erythrozyten zurückzuhalten [14]. Um noch eine ausreichende Ausbeute an Erythrozyten zu erhalten bei hohen Verlusten an der Zellulosesäule und durch das Waschen der Zellen, mußte die Methode auf die gegebenen Bedingungen, d. h. weniger Blut als bei Erwachsenen als Ausgangsmaterial sowie niedrige Erythrozytenzahl bei den Patienten aufgrund der renalen Anämie, abgestimmt werden. Außerdem ist es besonders bei

anämischen Kindern wichtig, mit wenig Untersuchungsmaterial auszukommen, um den Blutverlust so gering wie möglich zu halten.

2.3.1 Erythrozytentrennung und Lyse

Die Abtrennung der Erythrozyten und deren Lyse wurde von mir im klinisch-chemischen Labor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin (Leiter: Prof. Dr. A. Kohlschütter) durchgeführt.

Folgendes *Material* wurde verwendet:

- Ausgangsmaterial: 3 ml EDTA-Blut
- Einmalspritzen Ersta[®] 20 ml (50 PCS 7702 20CC Luer Lock 1,0)
- Schlauchverbinder, Schlauch (ca. 10 cm)
- sterile Binde (Dispomed[®] L 5x5 cm²) als Watte
- Zellulosegemisch: *Mikrocrystalline Cellulose* und *Alpha-Cellulose* 1:1 (Sigmacell[®] Type 50 No. S-5504 und Sigma[®] No. C-8002 von der Sigma Chemical Company), zwei Tage auf Schüttler durchgemischt
- Zentrifugenröhrchen (10 ml)
- 0.9 % sterile NaCl

Die Probe wurde nach der Blutentnahme (3 ml EDTA-Blut) im Kühlschrank gelagert und möglichst bald, d. h. innerhalb von 24 Stunden, weiterverarbeitet [123]. Die genaue Versuchsanleitung ist im Anhang zu finden.

Für die *Erythrozytentrennung* (Durchführung s. Abb. 1) wurde als erstes die EDTA-Blutprobe zentrifugiert (3000 g für 3 min). Anschließend wurde das überschüssige Plasma entfernt und die verbleibenden Zellen dreimal mit 0.9 % NaCl durch Zentrifugieren mit nachfolgendem Entfernen des Überstandes gewaschen. Nach erneuter Aufnahme der Zellen in 10 ml 0.9 % NaCl wurde die Zellsuspension zur weiteren Zellseparation über eine Säule aus 1 g Zellulosegemisch laufen gelassen (Versuchsaufbau der Zellulosesäule s. Abb. 2). Die Erythrozyten wurden danach mit 0.9 % NaCl abgewaschen und in drei Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Die auf diese Weise abgetrennten

Erythrozytensuspensionen wurden anschließend zentrifugiert, der Überstand entfernt und die Erythrozyten aus einer Blutprobe zusammen mit etwas 0.9 % NaCl vereinigt. Nach weiterem zweimaligen Waschen wurde das Erythrozytensediment in ca. einem Sedimentvolumen 0.9 % NaCl (ungefähr Hk 50 %) aufgenommen.

Ein Teil dieser Erythrozytensuspension (ca. 250 µl) wurde in die Hämatologie (Abteilung für klinische Chemie, Prof. Dr. C. Wagener) zur *Zellzählung* gegeben. Bei einer Kontamination mit Leukozyten über 0.5 /nl wurde die Probe verworfen [26, 38].

Mit der übriggebliebenen Suspension wurde eine *Lyse* der Erythrozyten durch dreimaligen Wechsel von Schockgefrieren in flüssigem Stickstoff (das erste Mal 30 min, dann 10 min) und nachfolgendem Auftauen im Wasserbad (40° C) durchgeführt. Nach erneuter Zentrifugation (5000 g, 3 min) zum Entfernen der Zellstromata, weil diese mit dem Immunoassay interferieren können [32], wurde der transparente Überstand bis zur Ferritinbestimmung bei - 20° C tiefgefroren. Ferritin hat dabei eine Stabilität über mehr als ein Jahr [76, 127, 135].

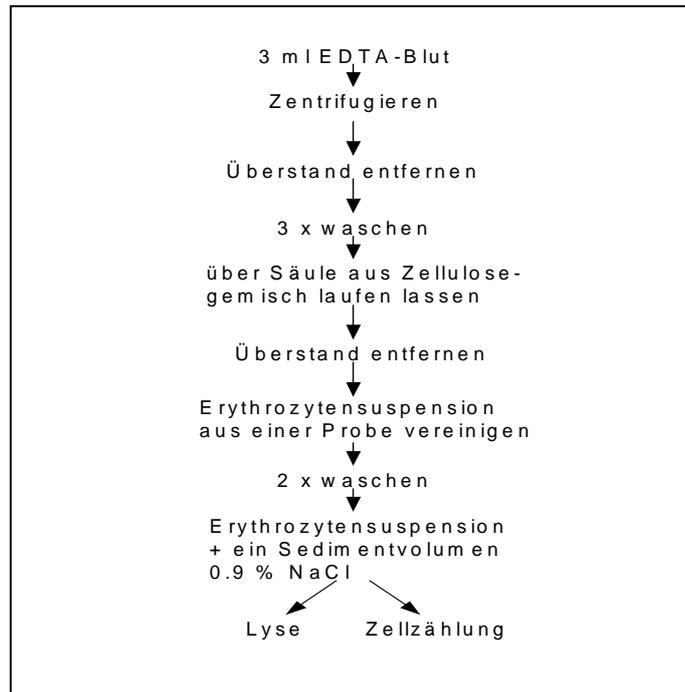


Abb. 1. Durchführung der Erythrozytentrennung

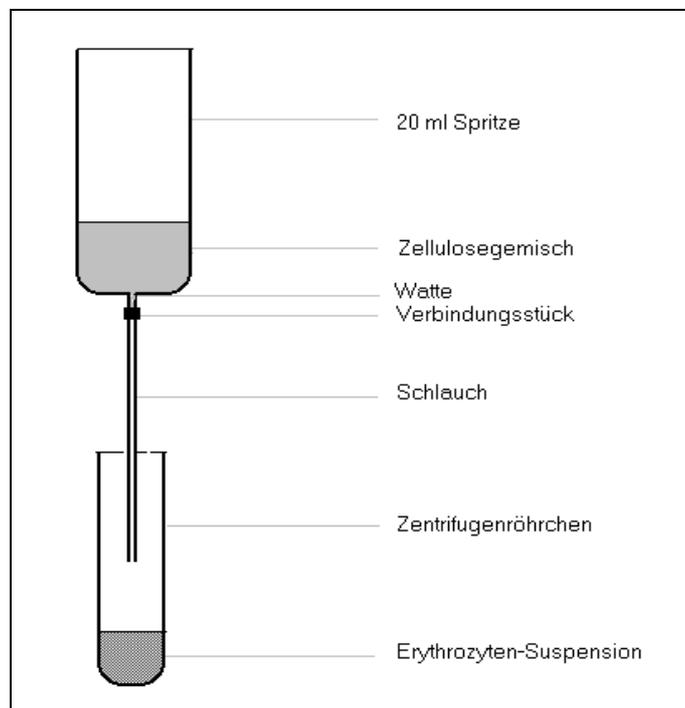


Abb. 2. Aufbau der Zellolosesäule

2.3.2 Immunoradiometrischer Assay

Der folgende zweite Teil der Untersuchung zur Bestimmung des EF wurde von mir im Hormonlabor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin (Leiter: Prof. Dr. R.-P. Willig) durchgeführt.

Nach Auftauen und Mischen des Lysats erfolgte die Bestimmung des Ferritingehaltes mit einem immunoradiometrischen Assay nach dem "Sandwichprinzip" mit "coated tubes" nach MILES et al. [89], basierend auf der Methode von ADDISON et al. [2].

Wie schon von CAZZOLA et al. festgestellt wurde, reichen für die Messung des EF für klinische Zwecke kommerziell erhältliche Kits aus [32]. Wir verwendeten den Assay RIA-gnost[®] Ferritin (Behring, Marburg, Germany). Er enthält zwei verschiedene polyklonale Antikörper, Kaninchen-Anti-Ferritin- und Ziege-Anti-Ferritin-Antikörper, so daß alle humanen Isoferritine erfaßt werden [115]. Der Meßbereich umfaßt 0.5 - 1000 µg/l Ferritin [8, 23]. Durchgeführt wurden Doppelbestimmungen mit 50 µl Lysat.

2.3.3 Berechnung des Erythrozytenferritins

Die erythrozytäre Ferritinkonzentration wurde durch Division der im Lysat gemessenen Ferritinkonzentration (µg/l) durch die vor der Lyse bestimmte Erythrozytenzahl (/pl) der gewaschenen Erythrozytensuspension berechnet und in ag/cell (a = atto = 10⁻¹⁸) angegeben:

$$EF = \frac{\text{Ferritinkonzentration} \frac{\mu\text{g}}{\text{l}}}{\text{Erythrozytenzahl} \frac{1}{\text{pl}}} = \frac{\text{ag}}{\text{cell}}$$

2.4 Weitere Bestimmungsmethoden

2.4.1 Hämatologische Parameter

Das Blutbild wurde in der Hämatologie der Abteilung für Klinische Chemie (Leiter: Prof. Dr. C. Wagener) mit dem Coulter® S +IV bzw. Technicon® H1 bestimmt.

Tabelle 5. Referenzbereiche hämatologischer Parameter [73]

| | 8 - 10 Monate | 11 - 13.5 Monate | 1.5 - 3 Jahre | 5 Jahre | 10 Jahre |
|--------------------|---------------|------------------|---------------|-------------|-----------|
| Ery (/pl) | 3.6 - 5.2 | 3.6 - 5.2 | 3.7 - 5.3 | 3.7 - 5.7 | 3.8 - 5.8 |
| Hb (g/dl) | 10.5 - 12.9 | 10.7 - 13.1 | 10.8 - 12.8 | 11.1 - 14.3 | 11.9 - 14 |
| Hk (%) | 35 - 43 | 35 - 43 | 35 - 43 | 31 - 43 | 33 - 45 |
| MCV (fl) | 74 - 106 | 74 - 102 | 73 - 101 | 72 - 88 | 69 - 93 |
| MCH (pg) | 21 - 33 | 23 - 31 | 23 - 31 | 23 - 31 | 22 - 34 |
| MCHC (g/dl) | 28 - 32 | 28 - 32 | 26 - 34 | 32 - 36 | 32 - 36 |

2.4.2 Retikulozytenzahl

Die relative Retikulozytenzahl ($/10^3$ Ery) wurde mikroskopisch im mit Brillant-Kresyl-Blau gefärbten Ausstrich in der Hämatologie der Abteilung für Klinische Chemie (Leiter: Prof. Dr. C. Wagener) ausgezählt.

Referenzbereich: 12 Monate: 3 - 13 $/10^3$ Ery; 2 - 12 Jahre: 1 - 13 $/10^3$ Ery; 13 - 17 Jahre ♂: 1 - 13 $/10^3$ Ery; 13 - 17 Jahre ♀: 1 - 15 $/10^3$ Ery [114].

Die Umrechnung in absolute Retikulozytenzahl, die besonders bei Anämien aussagekräftiger ist, erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Reti} /10^3 \text{ Ery} \times \text{Ery} /\text{pl} = \text{Reti} /\text{nl} \text{ [21].}$$

2.4.3 Serumeisen

Die Bestimmung von Eisen im Serum ($\mu\text{mol/l}$) wurde im Zentrallabor der Abteilung für Klinische Chemie (Leiter: Prof. Dr. C. Wagener) mittels FerroZine[®] ohne Enteiweißung mit dem BM/Hitachi 747 (Boehringer Mannheim) durchgeführt.

Referenzbereich: 7 - 33 $\mu\text{mol/l}$ [118].

2.4.4 Serumferritin

Serumferritin ($\mu\text{g/l}$) wurde im Hormonlabor der klinisch-chemischen Abteilung (Leiter: Prof. Dr. C. Wagener) mit dem ELISA Enzymimmun[®] Ferritin (Boehringer Mannheim) gemessen.

Referenzbereich: 9 Monate: 14 - 103 $\mu\text{g/l}$ [109]; 1 - 10/15 Jahre: 15 - 119 $\mu\text{g/l}$ [126].

2.4.5 Transferrin und Transferrinsättigung

Die Transferrinbestimmung (mg/dl) erfolgte im Zentrallabor der Abteilung für Klinische Chemie mit spezifischen Antikörpern durch Streulichtmessung im Nephelometer (Behring, Marburg, Germany).

Referenzbereich: 6 Monate: 152 - 352 mg/dl ; 1 Jahr: 215 - 399 mg/dl [9]; ältere Kinder: 240 - 360 mg/dl [106].

Nach der Formel: $(\text{Fe } \mu\text{mol/l} / \text{Tf } \text{mg/dl}) \times 398 = \text{Tfs } \%$ [47] wurde die Transferrinsättigung berechnet.

Referenzbereich: Säuglinge $\geq 10 \%$; ältere Kinder $\geq 16 \%$ [108].

2.5 Definitionen

Die Kinder wurden in folgende *Altersstufen* unterteilt:

Säuglinge: < 1 Jahr; Kleinkinder: 1 - 6 Jahre; Schulkinder: 7 - 14 Jahre;
Adoleszente: 15 - 21 Jahre.

Eine *Anämie* wurde definiert durch ein Hb < 10.5 g/dl für Säuglinge, < 11 g/dl für Kleinkinder, < 11.5 g/dl für Schulkinder, < 12 g/dl für adoleszente Mädchen und < 13 g/dl für adoleszente Jungen [44, 73].

2.6 Datenverarbeitung und Statistik

Die Auswertung der Ergebnisse und die statistische Analyse habe ich auf dem PC mit dem Tabellenkalkulationsprogramm "Microsoft Excel" und dem dafür entwickelten statistischen Makro "Stat_Mak" (Scharein/Dittmer, Universität Hamburg) durchgeführt. Die Auswertung wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biomathematik erarbeitet.

Durch "Matching" wurden vergleichbare Gruppen geschaffen und zufällige Fehler verringert, d. h. jedem Patienten wurde mindestens eine Kontrolle auf der Grundlage o. g. Merkmale gegenübergestellt. Für die Bestimmung eines Verteilungsbereiches wurde die Summenhäufigkeitsfunktion berechnet.

Da die durchgeführten Tests auf Normalverteilung eine annähernde Normalverteilung fast aller Meßwerte ergaben, wurde das arithmetische Mittel $\bar{x} \pm s$ bestimmt. Die SF- [40, 77, 116] und EF-Werte [86] dagegen wurden wegen logarithmischer Normalverteilung im logarithmischen Maßstab dargestellt und bei diesen das geometrische Mittel \bar{x}_G mit dem Streufaktor sf errechnet. Zur Bestimmung von Korrelationen wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman r_s ermittelt, der auch einen Vorteil bei exponentiellem Zusammenhang und kleinem Stichprobenumfang bietet. Die Regressionsgerade wurde nach der Methode der kleinsten Quadrate berechnet.

Als statistischer Test zur Überprüfung von Unterschieden diene der verteilungsunabhängige Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben. Für Unterschiede unabhängiger Stichproben habe ich den U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney verwendet. [110, 111]

3 ERGEBNISSE

3.1 Kontrollen

3.1.1 Meßergebnisse

Die 41 Kontrollkinder im Alter von 0.7 bis 20 Jahren ($\bar{x} = 10.26 \pm 5.15$ Jahre) wiesen zur Zeit der EF-Bestimmung einen mittleren Hämoglobingehalt des Blutes von 13.3 ± 0.89 g/dl auf. Das Serumeisen lag bei 17.41 ± 8.87 $\mu\text{mol/l}$. Weitere hämatologische Basisuntersuchungen sind aus Tabelle 6 ersichtlich.

Tabelle 6. Altersverteilung und hämatologische Basisparameter der Kontrollgruppe

| | | |
|--------------------------------|-------|---------------|
| Alter Jahre | 10.26 | ± 5.15 |
| | 11 | (20 - 0.7) |
| Hb g/dl | 13.30 | ± 0.89 |
| | 13.5 | (14.7 - 11.3) |
| Hk % | 38.98 | ± 2.67 |
| | 40.1 | (42.2 - 33.0) |
| Ery /pl | 4.74 | ± 0.25 |
| | 4.74 | (5.24 - 4.3) |
| MCV fl | 82.53 | ± 4.67 |
| | 83.8 | (88.8 - 72.9) |
| MCH pg | 27.93 | ± 2.31 |
| | 28.6 | (31.6 - 23.0) |
| MCHC g/dl | 34.22 | ± 0.97 |
| | 34.4 | (35.8 - 32.5) |
| Fe $\mu\text{mol/l}$ | 17.41 | ± 8.87 |
| | 15.5 | (36.0 - 4.9) |

1. Zeile: $\bar{x} \pm s$

2. Zeile: \bar{x} und R ($x_{\max} - x_{\min}$)

Die Ergebnisse von SF und EF der einzelnen Kontrollen sind zusammen mit Angabe von Alter und Genus in Tabelle 7 zu sehen. Die EF-Werte liegen im Bereich von 2.51 ag/cell bis 37.61 ag/cell und das gleichzeitig bestimmte SF reicht von 15 µg/l bis 96 µg/l (vgl. oben, SF < 15 µg/l wurde als Ausschlußkriterium definiert). Eine Übersicht über Mittelwerte von EF und SF (geometrisches Mittel $\bar{x}_G \pm$ Streufaktor sf) aller Kontrollkinder sowie innerhalb verschiedener Altersklassen gibt Tabelle 8. Die Notwendigkeit einer Unterteilung in Altersgruppen wird im nächsten Abschnitt gezeigt.

Tabelle 7. Einzelne Meßergebnisse von Serum- und Erythrozytenferritin der Kontrollen

| | Initialen Kontrolle | Alter Jahre | Geschlecht | SF $\mu\text{g/l}$ | EF ag/cell |
|------------------------------------|------------------------|----------------|------------|-----------------------|---------------|
| Säuglinge < 1 Jahr | SW | 0.7 | f | 62 | 3.38 |
| | NIS | 0.8 | m | 28 | 6.75 |
| Kleinkinder 1 - 6 Jahre | RB | 1 | m | 61 | 4.27 |
| | LR | 2 | f | 15 | 2.51 |
| | BH | 3 | m | 31 | 3.26 |
| | FY | 3 | m | 39 | 4.44 |
| | CB | 4 | m | 30 | 6.03 |
| | STK | 5 | f | 20 | 3.59 |
| | JHM | 5 | m | 46 | 9.58 |
| Schulkinder 7 - 14 Jahre | KN | 7 | f | 59 | 20.15 |
| | BM | 7 | f | 20 | 2.76 |
| | TP | 7 | m | 76 | 22.45 |
| | MIG | 8 | m | 15 | 3.07 |
| | PR | 8 | m | 38 | 5.19 |
| | TE | 9 | f | 29 | 4.43 |
| | MD | 9 | f | 96 | 11.97 |
| | ME | 10 | f | 38 | 5.53 |
| | MT | 10 | f | 53 | 10.95 |
| | IS | 11 | f | 19 | 4.24 |
| | TP | 11 | m | 19 | 4.73 |
| | SG | 11 | f | 31 | 4.29 |
| | NL | 11 | m | 21 | 9.91 |
| | SK | 11 | m | 48 | 9.40 |
| | AW | 12 | f | 38 | 9.49 |
| | FAB | 12 | f | 41 | 7.95 |
| | RP | 13 | m | 21 | 4.90 |
| | MKN | 13 | f | 17 | 7.69 |
| | KW | 13 | f | 19 | 4.29 |
| | NS | 13 | f | 32 | 14.65 |
| KP | 13 | f | 34 | 9.32 | |
| DK | 13 | f | 27 | 8.54 | |
| SM | 14 | f | 35 | 24.70 | |
| CF | 14 | m | 22 | 5.35 | |
| MBR | 14 | m | 25 | 7.83 | |
| Adoleszente 15 -21 Jahre | AMP | 15 | f | 38 | 6.28 |
| | AP | 15 | m | 23 | 4.02 |
| | CS | 16 | f | 82 | 18.20 |
| | SPA | 18 | m | 43 | 8.11 |
| | AK | 19 | m | 65 | 37.61 |
| | MGA | 19 | m | 21 | 7.27 |
| | AH | 20 | f | 60 | 17.57 |

Tabelle 8. Mittelwerte von Alter, Serumferritin und Erythrozytenferritin der Kontrollgruppe

| | Alter Jahre | SF µg/l | EF ag/cell |
|--------------------------------|-----------------------|-------------------|----------------------|
| Säuglinge (N = 2) | 0.75 ± 0.07 | 41.67 ± 1.75 | 4.78 ± 1.63 |
| | 0.75 (0.8 - 0.7) | 45 (62 - 28) | 5.07 (6.75 - 3.38) |
| Kleinkinder (N = 7) | 3.29 ± 1.50 | 31.46 ± 1.62 | 4.40 ± 1.55 |
| | 3 (5 - 1) | 31 (61 - 15) | 4.27 (9.58 - 2.51) |
| Schulkinder (N = 25) | 10.96 ± 2.32 | 31.01 ± 1.61 | 7.50 ± 1.81 |
| | 11 (14 - 7) | 31 (96 - 15) | 7.83 (24.7 - 2.76) |
| Adoleszente (N = 7) | 17.43 ± 2.07 | 42.55 ± 1.68 | 10.87 ± 2.16 |
| | 18 (20 - 15) | 43 (82 - 21) | 8.11 (37.61 - 4.02) |
| gesamt (N = 41) | 10.26 ± 5.15 | 33.29 ± 1.63 | 7.14 ± 1.91 |
| | 11 (20 - 0.7) | 32 (96 - 15) | 6.75 (37.61 - 2.51) |

1. Zeile: $\bar{x} \pm s$ für Alter bzw. $\bar{x}_G \pm sf$ für SF und EF

2. Zeile: \bar{x} und R ($x_{\max} - x_{\min}$)

3.1.2 Untersuchung von Alters- und Geschlechtsabhängigkeit des Erythrozytenferritins

In diesem Abschnitt wird der Frage nach möglichen Alters- oder Geschlechtsunterschieden des intraerythrozytären Ferritingehaltes nachgegangen.

Die graphische Darstellung der EF-Mittelwerte mit Streubreite innerhalb o. g. Altersklassen (s. Abb. 3) weist auf Differenzen im EF-Gehalt in verschiedenen Altersstufen hin. Während bei Säuglingen und Kleinkindern kein großer Unterschied zu sehen ist ($\bar{x}_G = 4.78$ ag/cell bzw. $\bar{x}_G = 4.40$ ag/cell), läßt sich mit zunehmendem Alter ein Anstieg des EF feststellen (Schulkinder: $\bar{x}_G = 7.50$ ag/cell; Adoleszente: $\bar{x}_G = 10.87$ ag/cell).

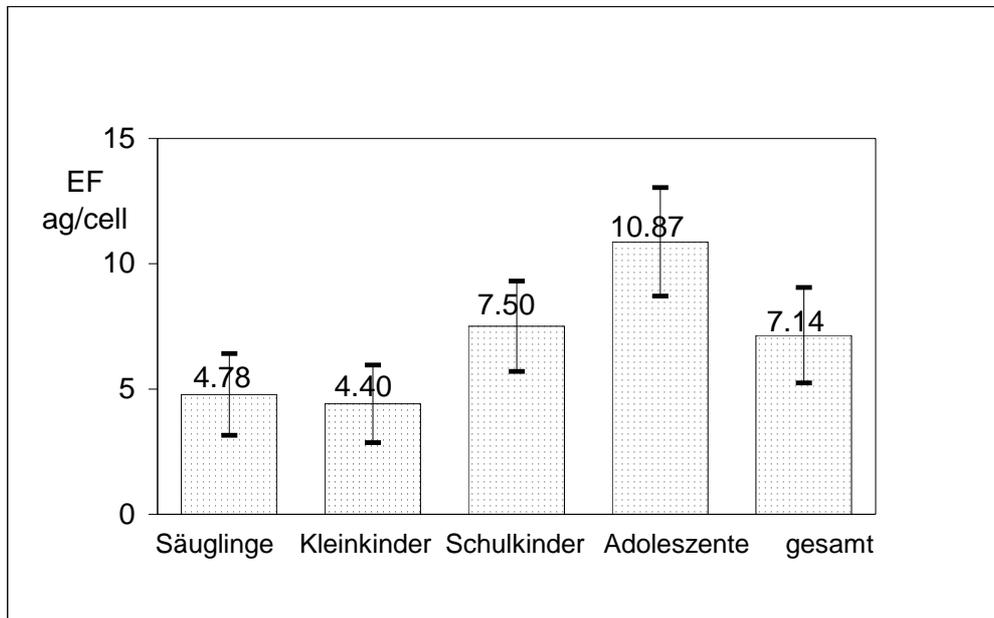


Abb. 3. Mittlerer Erythrozytenferritingehalt in der Kontrollgruppe ($\bar{x}_G \pm sf$)

Altersunterschiede im EF-Gehalt lassen sich durch den U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney verifizieren, der einen signifikanten Unterschied auf dem 5 %-Niveau für Schulkinder und Adoleszente sowie für Kleinkinder und Adoleszente anzeigt.

Eine Abhängigkeit des EF vom Alter innerhalb der Kontrollgruppe verdeutlicht Abb. 4. So kann ein positiver exponentieller Zusammenhang zwischen Alter und EF und eine statistisch signifikante Korrelation $r_s = 0.432$ auf dem 5%-Niveau festgestellt werden.

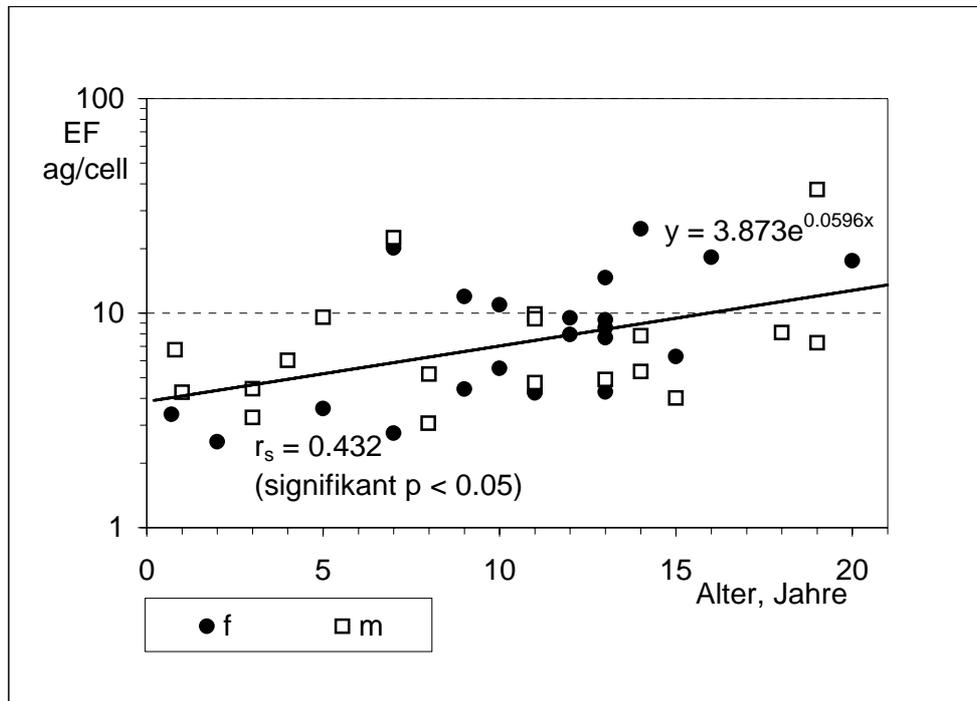


Abb. 4. Korrelation von Erythrozytenferritin und Alter in der Kontrollgruppe mit Darstellung der Regressionsgeraden

Eine Unterteilung nach Geschlecht führt zu unterschiedlichen Korrelationen des EF in Abhängigkeit vom Alter. Während bei Mädchen eine statistisch signifikante Korrelation zwischen EF und Alter mit $r_s = 0.565$ (signifikant, $p < 0.05$) festgestellt wurde, findet sich bei Jungen eine Korrelation von $r_s = 0.315$ (n. s.). Es lässt sich aber mit dem U-Test zwischen Jungen und Mädchen kein signifikanter Unterschied im EF-Gehalt feststellen, weder für Kinder älter als 10 Jahre noch für über 12- oder 14-Jährige.

Aufgrund der festgestellten Zusammenhänge zwischen EF und Alter wurde für die weiteren Berechnungen eine Einteilung in den üblichen Altersklassen vorgenommen. Auf eine weitere Differenzierung hinsichtlich Genus wurde verzichtet, weil keine Geschlechtsunterschiede gefunden wurden.

3.1.3 Bestimmung von Referenzbereichen des Erythrozytenferritins

Für Säuglinge wurden wegen zu geringer Anzahl Kontrollen (N = 2) "Matched Pairs" gebildet. Die Spannweite (Range) beträgt $R = 6.75 - 3.38$ ag/cell. Für die anderen Altersklassen wurden mit der Summenhäufigkeitsfunktion [Hj %] Verteilungsbereiche der Kontrollen bestimmt und nachfolgend dargestellt.

Das EF bei Kleinkindern (s. Abb. 5) liegt im Bereich von 2 - 10 ag/cell. 50 % der Kleinkinder haben höchstens ein EF von 4.3 ag/cell, 14 % sogar ≤ 3 ag/cell und 86 % noch ≤ 7 ag/cell.

Bei Schulkindern dagegen (s. Abb. 6) ergibt sich ein wesentlich weiterer Verteilungsbereich, d. h. EF ist im Bereich von 2 - 26 ag/cell zu finden. Allerdings liegt bei 80 % der Schulkinder das EF nicht über 11 ag/cell und 32 % haben höchstens ein EF von 5 ag/cell.

Das EF von Adoleszenten (s. Abb. 7) verteilt sich im Rahmen von 4 bis 39 ag/cell. Bei 86 % der Adoleszenten jedoch liegt der EF-Wert ≤ 19 ag/cell und bei 50 % noch ≤ 8.1 ag/cell.

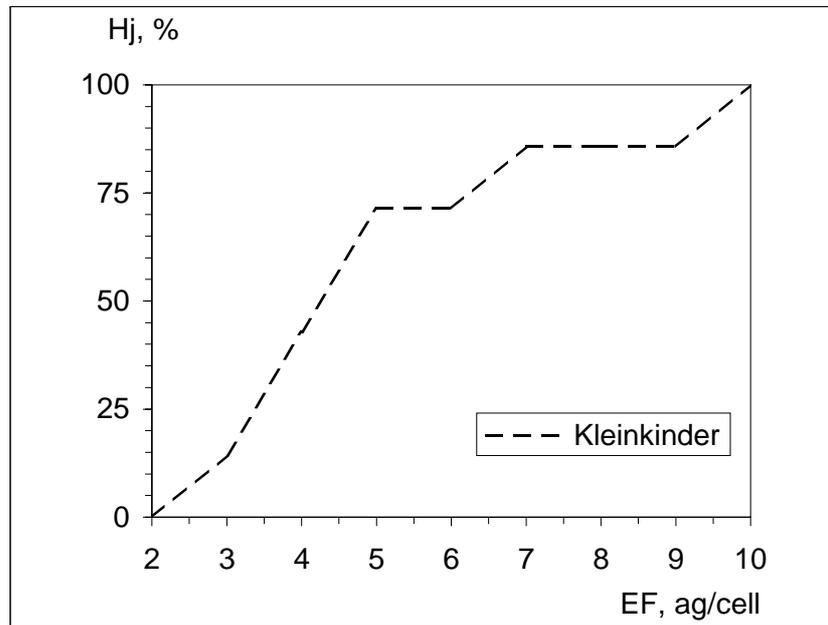


Abb. 5. Verteilungsbereich des Erythrozytenferritins für Kleinkinder

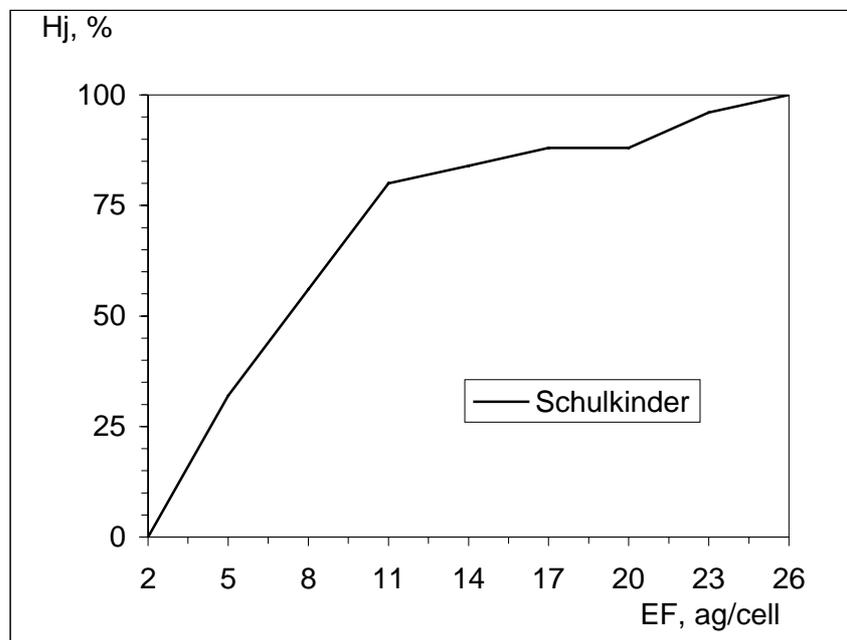


Abb. 6. Verteilungsbereich des Erythrozytenferritins für Schulkinder

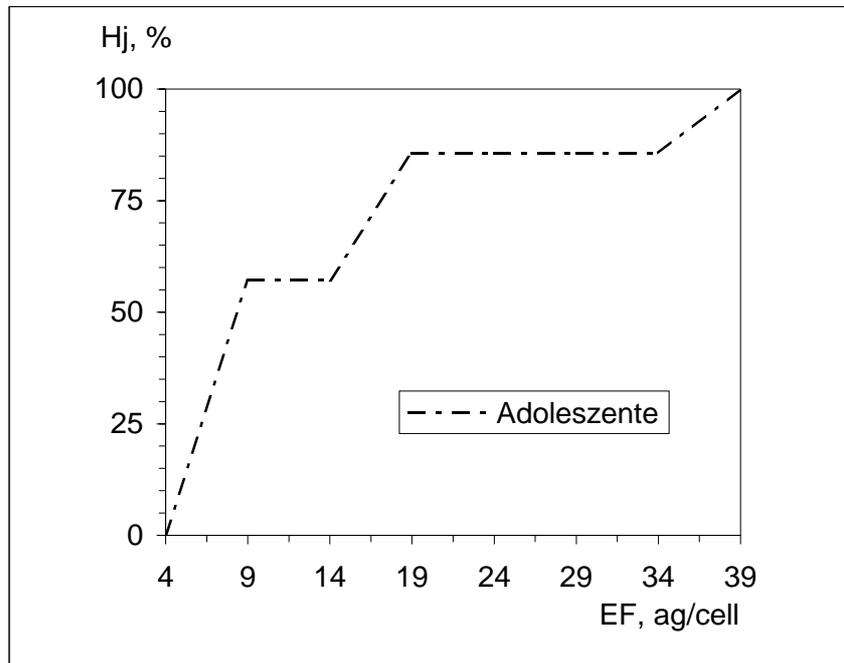


Abb. 7. Verteilungsbereich des Erythrozytenferritins für Adoleszente

3.2 Meßergebnisse der Patienten

3.2.1 Gesamtübersicht über Blutbild- und Serum-Parameter

Bei den untersuchten 17 Patienten wurden vor Therapiebeginn und unter der Therapie mit rhEPO monatlich zusammen mit der Bestimmung von EF und SF weitere hämatologische und für den Eisenstoffwechsel relevante Parameter gemessen. Einen Überblick über die Mittelwerte in den Monaten 0, 1, 3 und 6 gibt Tabelle 9. Die Einzelwerte können im Anhang nachgesehen werden.

Tabelle 9. Mittelwerte hämatologischer und serologischer Parameter der Patienten (N = 17) im ersten halben Jahr der rhEPO-Therapie

| Monat | 0 | 1 | 3 | 6 |
|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Alter Jahre | | | 7.61 ± 5.35 (17 - 0.7) | |
| EF ag/cell | 11.02 ± 2.98 (160.62 - 3.68) | 11.13 ± 2.53 (160.44 - 2.85) | 14.29 ± 2.64 (158.59 - 3.42) | 21.35 ± 2.97 (148.44 - 4.90) |
| SF µg/l | 128.89 ± 6.00 (2886 - 15) | 67.78 ± 6.49 (2969 - 8.8) | 74.78 ± 5.45 (3116 - 15) | 150.32 ± 5.22 (4792 - 16) |
| Fe µmol/l | 19.53 ± 23.66 (102.0 - 2.8) | 9.06 ± 2.67 (13.1 - 4.8) | 11.82 ± 7.45 (31.9 - 2.0) | 14.78 ± 8.22 (28.5 - 2.8) |
| Tf mg/dl | 253.19 ± 87.76 (425 - 73) | 267.94 ± 87.58 (451 - 87) | 237.17 ± 80.16 (356 - 64.9) | 247.67 ± 49.52 (315 - 156) |
| Tfs % | 17.36 (298.5 - 3.80) | 13.17 (41.17 - 4.24) | 14.77 (101.19 - 3.81) | 18.86 (53.64 - 4.53) |
| Reti /10 ³ Ery | 11.47 ± 9.38 (29 - 2) | 29.00 ± 12.74 (53 - 11) | 19.18 ± 12.46 (42 - 1) | 21.87 ± 14.18 (42 - 1) |
| Reti abs /nl | 25.38 (95.99 - 4.92) | 93.39 (202.99 - 39.10) | 72.72 (130.48 - 5.03) | 66.41 (181.86 - 3.74) |
| Ery /pl | 2.91 ± 0.45 (3.64 - 1.96) | 3.33 ± 0.68 (4.21 - 1.70) | 3.90 ± 0.89 (5.03 - 2.02) | 3.71 ± 0.71 (4.62 - 2.29) |
| Hb g/dl | 8.19 ± 1.09 (9.5 - 5.4) | 9.27 ± 1.61 (11.2 - 5.4) | 10.82 ± 2.56 (15.5 - 6.4) | 10.52 ± 1.72 (12.6 - 7.4) |
| Hk % | 23.94 ± 3.00 (28.0 - 15.8) | 27.89 ± 4.52 (33.4 - 17.3) | 32.61 ± 7.19 (45.2 - 20.0) | 31.13 ± 4.76 (37.2 - 23.4) |
| MCV fl | 82.94 ± 5.10 (95.1 - 74.2) | 84.95 ± 7.59 (102.0 - 74.8) | 84.24 ± 8.34 (101.8 - 72.4) | 84.57 ± 7.00 (102.3 - 77.0) |
| MCH pg | 28.44 ± 1.91 (31.9 - 25.5) | 28.14 ± 2.44 (32.2 - 24.4) | 27.84 ± 2.63 (33.4 - 22.9) | 28.62 ± 2.41 (33.0 - 25.1) |
| MCHC g/dl | 34.30 ± 1.28 (36.6 - 32.3) | 33.15 ± 1.22 (34.9 - 30.7) | 33.08 ± 1.19 (34.8 - 31.1) | 33.79 ± 1.75 (38.1 - 31.7) |
| rhEPO U/kg/Mon | 0 | 360 (450 - 360) | 435 (720 - 360) | 360 (945 - 0) |

1) $\bar{x} \pm s$

2) R ($x_{\max} - x_{\min}$)

3) $\bar{x}_G \pm sf$

4) \bar{x}

3.2.2 Serumferritin

Das gemessene SF der einzelnen Patienten vor und in den ersten 6 Monaten der Therapie mit rhEPO ist in Tabelle 10 zusammengestellt. Tabelle 11 ist das mittlere SF ($\bar{x}_G \pm sf$) in den vier Altersklassen zu entnehmen.

Tabelle 10. Serumferritin der Patienten in den Monaten 0 bis 6

| Initialen Patienten | Monat | | | | | | |
|------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| MBB | 177 | 18 | 13 | 63 | 139 | 269 | 284 |
| JB | 641 | 30 | 17 | 25 | 34 | 24 | 36 |
| HJA | 722 | 634 | 485 | 336 | - | - | - |
| MCL | 21 | 13 | 26 | 15 | 25 | 20 | 46 |
| CI | 18 | 10 | 11 | 24 | 26 | 49 | 86 |
| MK | 1163 | 1092 | 1222 | 788 | 874 | 834 | 834 |
| FF | 15 | 29 | 26 | 31 | 67 | 63 | 55 |
| TA | 54 | 53 | 53 | 32 | 105 | 75 | 31 |
| SP | 29 | 8.8 | 57 | 39 | 31 | 64 | 185 |
| MG | 38 | 30 | 49 | 22 | 34 | 344 | - |
| DD | 54 | 29 | 25 | 18 | 83 | 83 | 43 |
| DT | 756 | 644 | 560 | 580 | 478 | 614 | 903 |
| JP | 34 | 25 | 28 | 27 | 42 | 42 | 16 |
| MB | - | 24.2 | 28 | 24 | - | - | - |
| LB | 40 | 26.7 | 22 | 29 | 70 | 110 | 113 |
| SA | 1126 | 762 | 814 | 915 | - | 758 | 840 |
| PC | 2886 | 2969 | 4076 | 3116 | 4679 | 4405 | 4792 |

Tabelle 11. Serumferritin-Mittelwerte der Patienten in den Monaten 0 bis 6 ($\bar{x}_G \pm sf$ und R)

| Monat | Säuglinge (N=3) | Kleinkinder (N=3) | Schulkinder (N=9) | Adoleszente (N=2) |
|-------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| 0 | 434.30 \pm 2.18 (722 - 177) | 76.04 \pm 10.63 (1163 - 18) | 51.51 \pm 3.19 (756 - 15) | 1802.67 \pm 1.95 (2886 - 1126) |
| 1 | 69.96 \pm 6.86 (634 - 18) | 52.17 \pm 13.97 (1092 - 10) | 36.75 \pm 3.22 (644 - 8.8) | 1504.12 \pm 2.62 (2969 - 762) |
| 2 | 47.50 \pm 7.51 (485 - 13) | 70.44 \pm 12.28 (1222 - 11) | 46.04 \pm 2.73 (560 - 22) | 1821.50 \pm 3.12 (4076 - 814) |
| 3 | 80.89 \pm 3.73 (336 - 25) | 65.71 \pm 8.71 (788 - 15) | 38.04 \pm 2.85 (580 - 18) | 1688.53 \pm 2.38 (3116 - 915) |
| 4 | 68.75 \pm 2.71 (139 - 34) | 82.82 \pm 7.70 (874 - 25) | 73.64 \pm 2.39 (478 - 31) | 4679 \pm 0 |
| 5 | 80.35 \pm 5.52 (269 - 24) | 93.50 \pm 7.01 (834 - 20) | 111.85 \pm 2.53 (614 - 42) | 1827.29 \pm 3.47 (4405 - 758) |
| 6 | 101.11 \pm 4.31 (284 - 36) | 148.87 \pm 4.59 (834 - 46) | 80.62 \pm 3.80 (903 - 16) | 2006.31 \pm 3.43 (4792 - 840) |

Wegen großer individueller Unterschiede und auffallend weiter Streuung des SF wurden zwei Gruppen gebildet: Gruppe I (N = 7) mit erhöhtem SF zu Therapiebeginn (weit über 100 $\mu\text{g/l}$) und Gruppe II (N = 10) mit normalem bis niedrigem SF. Die jeweiligen Mittelwerte sind in Tabelle 12 zusammengestellt.

Tabelle 12. Serumferritin-Mittelwerte der Patienten in zwei definierten Gruppen, eingeteilt nach Höhe des Serumferritins zu Therapiebeginn

| Monat | Gruppe I | Gruppe II |
|-------|-------------------------------|----------------------------|
| 0 | 812.64 ± 2.32 (2886 - 177) | 30.78 ± 1.59 (54 - 15) |
| 1 | 341.77 ± 6.80 (2969 - 18) | 21.84 ± 1.75 (53 - 8.8) |
| 2 | 304.61 ± 8.84 (4076 - 13) | 29.35 ± 1.63 (57 - 11) |
| 3 | 353.48 ± 5.26 (3116 - 25) | 25.21 ± 1.33 (39 - 15) |
| 4 | 391.85 ± 6.44 (4679 - 34) | 47.26 ± 1.71 (105 - 25) |
| 5 | 471.87 ± 5.59 (4405 - 24) | 69.75 ± 2.16 (344 - 20) |
| 6 | 560.46 ± 5.06 (4792 - 36) | 56.02 ± 2.16 (185 - 16) |

Gruppe I: SF erhöht (N = 7)

Gruppe II: SF normal-niedrig (N = 10)

1. Zeile: $\bar{x}_G \pm sf$

2. Zeile: R

3.2.3 Erythrozytenferritin

Eine Zusammenstellung des gemessenen erythrozytären Ferritins der niereninsuffizienten Kinder vor bzw. im ersten halben Jahr der rhEPO-Therapie wird in Tabelle 13 gegeben. Mit Tests auf Normalverteilung konnte eine logarithmische Normalverteilung der EF-Werte festgestellt werden. Daher wurden das geometrische Mittel $\bar{x}_G \pm$ Streufaktor sf bestimmt. Diese mittleren EF-Werte sind in Tabelle 14 zu sehen. Aufgrund der bei den Kontrollen festgestellten Altersabhängigkeit des EF wurden die Berechnungen in vier Altersklassen vorgenommen.

Tabelle 13. Erythrozytenferritin (ag/cell) der Patienten im Therapieverlauf

| Initialen Patienten | Monat | | | | | | |
|------------------------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| MBB | - | 6.81 | 6.13 | 37.26 | 59.61 | 87.29 | 148.44 |
| JB | 10.32 | 4.56 | 3.41 | 8.34 | 5.47 | 8.14 | 7.85 |
| HJA | - | 15.31 | 8.64 | 4.02 | 3.49 | - | - |
| MCL | 3.68 | 2.85 | 3.66 | 3.42 | 4.90 | 3.85 | 4.90 |
| CI | 5.43 | 18.17 | 16.79 | 13.65 | 11.67 | 19.48 | 20.48 |
| MK | 73.86 | 160.44 | 136.79 | 158.59 | 95.29 | 96.86 | 104.71 |
| FF | 8.27 | 7.52 | 10.66 | 10.50 | 10.54 | 18.09 | 21.18 |
| TA | 12.23 | 8.04 | 8.44 | 7.77 | 12.42 | 14.10 | 10.15 |
| SP | 5.45 | 13.05 | 22.14 | 28.98 | 24.64 | 18.72 | 20.93 |
| MG | 4.39 | 6.94 | 7.54 | 8.98 | 9.66 | 12.50 | - |
| DD | 7.29 | 8.77 | 9.03 | 7.81 | 9.58 | 21.71 | 23.36 |
| DT | 3.79 | 6.63 | 6.62 | 7.24 | 6.27 | 6.31 | 7.20 |
| JP | 14.07 | 21.16 | 28.97 | 22.72 | 22.59 | 21.12 | 20.94 |
| MB | 20.04 | 24.05 | 24.56 | 16.28 | 19.63 | 37.79 | 34.03 |
| LB | 4.71 | 5.20 | 19.37 | 21.47 | 28.90 | 23.00 | 22.05 |
| SA | 19.81 | 16.67 | 12.59 | 8.86 | 7.65 | 5.68 | 4.93 |
| PC | 160.62 | - | 135.50 | 55.21 | 48.99 | 86.82 | 121.38 |

Tabelle 14. Erythrozytenferritin-Mittelwerte der Patienten in den Monaten 0 bis 6 ($\bar{x}_G \pm sf$ und R)

| Monat | Säuglinge (N = 2) | Kleinkinder (N = 3) | Schulkinder (N = 9) | Adoleszente (N = 2) |
|-------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| 0 | 10.32 ± 0 | 11.39 ± 5.11 (73.86 - 3.68) | 7.64 ± 1.78 (20.04 - 3.79) | 56.41 ± 4.39 (160.62 - 19.81) |
| 1 | 7.80 ± 1.85 (15.31 - 4.56) | 20.25 ± 7.52 (160.44 - 2.85) | 9.81 ± 1.70 (24.05 - 5.20) | 16.67 ± 0 |
| 2 | 5.65 ± 1.60 (8.64 - 3.41) | 20.33 ± 6.16 (136.79 - 3.66) | 13.22 ± 1.77 (28.97 - 6.62) | 41.30 ± 5.37 (135.5 - 12.59) |
| 3 | 10.77 ± 3.11 (37.26 - 4.02) | 19.49 ± 6.98 (158.59 - 3.42) | 12.85 ± 1.71 (28.98 - 7.24) | 22.12 ± 3.65 (55.21 - 8.86) |
| 4 | 10.44 ± 4.60 (59.61 - 3.49) | 17.60 ± 4.60 (95.29 - 4.90) | 14.23 ± 1.69 (28.9 - 6.27) | 19.36 ± 3.72 (48.99 - 7.65) |
| 5 | 26.66 ± 5.35 (87.29 - 8.14) | 19.37 ± 5.02 (96.86 - 3.85) | 17.45 ± 1.64 (37.79 - 6.31) | 22.21 ± 6.88 (86.82 - 5.68) |
| 6 | 34.14 ± 7.99 (148.4 - 7.85) | 21.90 ± 4.63 (104.71 - 4.90) | 18.17 ± 1.65 (34.03 - 7.20) | 24.46 ± 9.63 (121.38 - 4.93) |

Darüber hinaus zeigt Tabelle 15 die Mittelwerte des EF innerhalb der o. g zwei Gruppen (vgl. Abschnitt 3.2.2) in Abhängigkeit vom Ausmaß der Eisenspeicher zu Beginn der rhEPO-Therapie (Gruppe I: SF erhöht, Gruppe II: SF normal bis niedrig).

Tabelle 15. Erythrozytenferritin-Mittelwerte der Patienten in zwei Gruppen, eingeteilt nach der Höhe des Serumferritins bei Therapiebeginn

| Monat | Gruppe I | Gruppe II |
|-------|---------------------------------|--------------------------------|
| 0 | 24.70 ± 4.49 (160.62 - 3.79) | 7.36 ± 1.75 (20.04 - 3.68) |
| 1 | 14.27 ± 3.63 (160.44 - 4.56) | 9.59 ± 1.95 (24.05 - 2.85) |
| 2 | 16.09 ± 4.53 (136.79 - 3.41) | 12.76 ± 1.92 (28.97 - 3.66) |
| 3 | 18.35 ± 3.80 (158.59 - 4.02) | 11.99 ± 1.90 (28.98 - 3.42) |
| 4 | 15.88 ± 3.89 (95.29 - 3.49) | 13.61 ± 1.73 (28.90 - 4.90) |
| 5 | 24.46 ± 4.20 (96.86 - 5.68) | 16.79 ± 1.82 (37.79 - 3.85) |
| 6 | 28.41 ± 5.06 (148.44 - 4.93) | 17.64 ± 1.77 (34.03 - 4.90) |

Gruppe I: SF erhöht (N = 7)

Gruppe II: SF normal-niedrig (N = 10)

1. Zeile: $\bar{x}_G \pm sf$

2. Zeile: R

3.3 Änderungen im Therapieverlauf

3.3.1 Mittlerer Verlauf hämatologischer und serologischer Daten

Um einen Überblick über Veränderungen des Blutbildes und des Eisenstoffwechsels unter der Therapie mit rhEPO zu bekommen, wurden hämatologische und serologische Daten graphisch abgebildet. In Abb. 8 bis Abb. 13 sind die Mittelwerte ($\bar{x} \pm s$) von Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozytenzahl, Serumeisen bzw. Mediane (\bar{x}) von absoluter Retikulozytenzahl und Transferrinsättigung im ersten halben Jahr der rhEPO-Behandlung dargestellt (vgl. auch Tabelle 9).

Das mittlere Hämoglobin betrug vor Therapiebeginn 8.19 ± 1.09 g/dl und stieg nach 6 Monaten auf 10.52 ± 1.72 g/dl an, während der Hämatokrit von 23.94 ± 3.00 % auf 31.13 ± 4.76 % anstieg. Die Parameter Hb, Hk und Erythrozytenzahl zeigen einen nahezu parallelen Verlauf. Bis Monat 4 ist ein kontinuierlicher Anstieg zu verzeichnen, wobei sie in Monat 5 und 6 wieder leicht abfallen. Die absolute Retikulozytenzahl steigt anfangs auffallend steil von 25.38 /nl auf 93.39 /nl an und liegt im weiteren Verlauf zwischen 50 und 75 /nl. Serumeisen und Transferrinsättigung nehmen zuerst ab, steigen anschließend bis Monat 5 an und nehmen zu Monat 6 wieder etwas ab. Fe nimmt schon vom ersten Monat an geringfügig von 9.06 ± 2.67 $\mu\text{mol/l}$ auf 10.71 ± 8.23 $\mu\text{mol/l}$ im 2. Monat zu. Der Anstieg der Tfs dagegen erfolgt etwas verzögert ab dem zweiten Monat. Die Tfs, die anfangs von 17.36 % auf 13.13 % fällt, nimmt zum 5. Monat auf über 20 % zu.

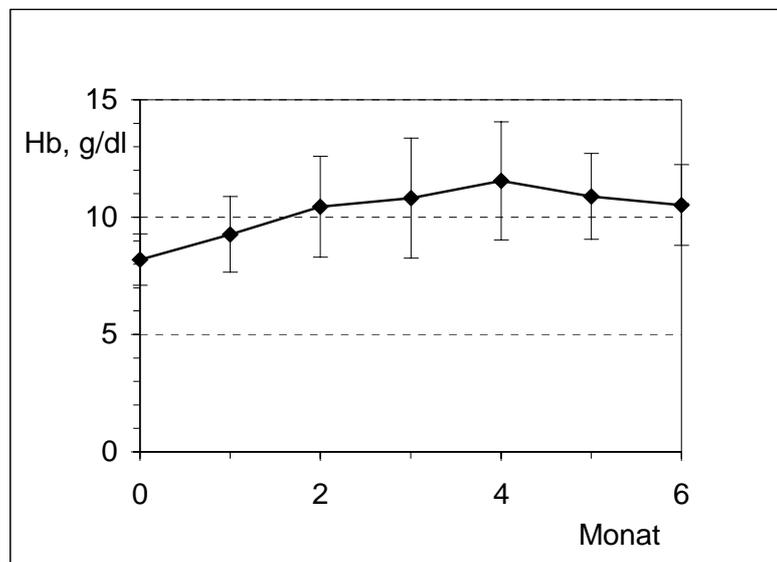


Abb. 8. Veränderungen des Hämoglobins ($\bar{x} \pm s$) in den ersten 6 Monaten rhEPO-Therapie

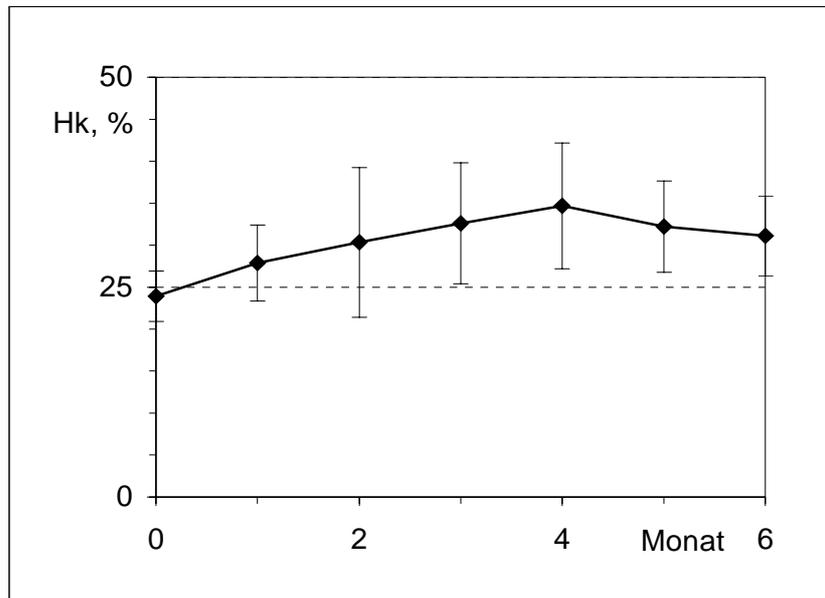


Abb. 9. Änderungen des Hämatokrits ($\bar{x} \pm s$) in den ersten 6 Monaten rhEPO-Therapie

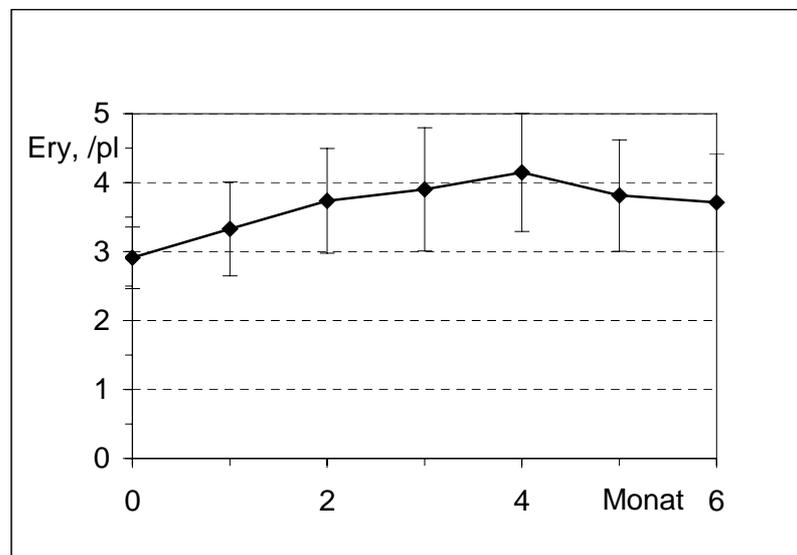


Abb. 10. Veränderung der Erythrozytenzahl ($\bar{x} \pm s$)

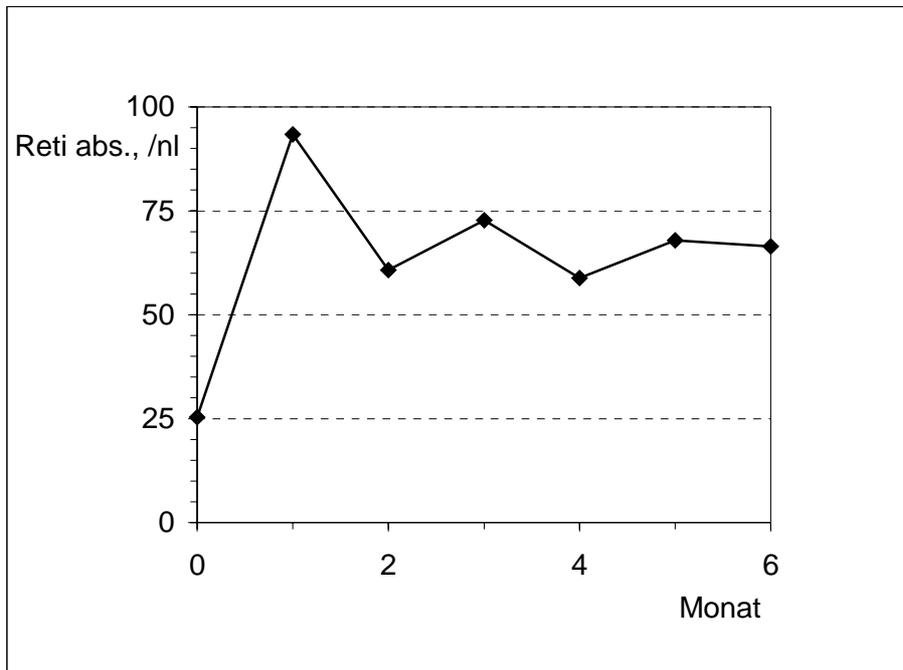


Abb. 11. Veränderungen der absoluten Retikulozytenzahl (\bar{x})

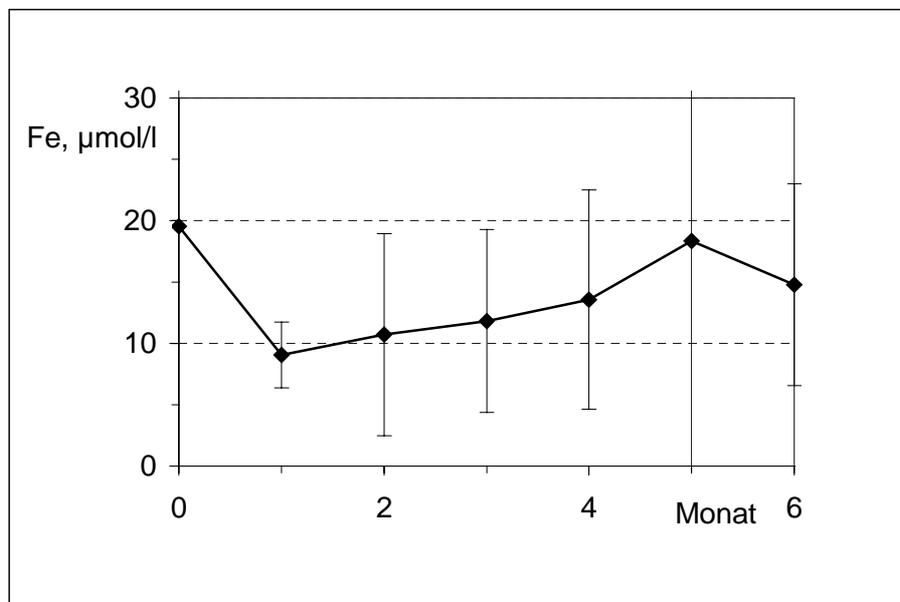


Abb. 12. Veränderungen des Serumeisens ($\bar{x} \pm s$)

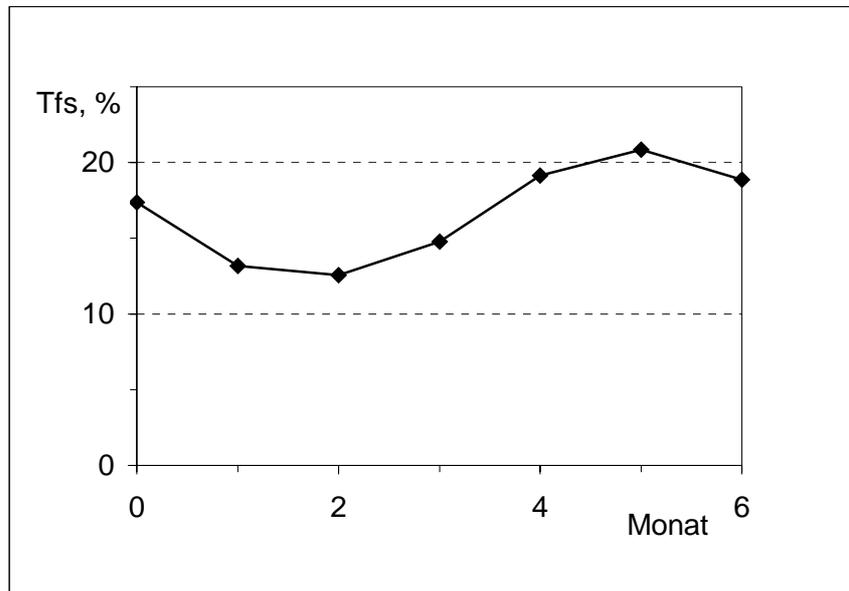


Abb. 13. Änderungen der Transferrinsättigung (\bar{x})

3.3.2 Serumferritin

Zur Übersicht über individuelle Veränderungen und Suche nach Gemeinsamkeiten werden die Änderungen des SF in den ersten 6 Monaten in verschiedenen Abbildungen mit unterschiedlicher Gruppierung dargestellt. Die gleiche Einteilung wird auch im nachfolgenden Abschnitt für den Verlauf des EF gewählt.

Einen ersten Überblick über Änderungen des SF unter der Therapie mit rhEPO gibt Abb. 14. Deutlich wird eine Zweiteilung der Patienten in solche mit einer Eisenüberladung und solche mit einem SF etwa im Bereich zwischen 10 und 60 $\mu\text{g/l}$. Daher wurde eine Unterteilung in zwei Gruppen vorgenommen. Gruppe I (N = 7) mit einer Eisenüberladung zu Behandlungsbeginn ist in Abb. 15 dargestellt. Die Veränderungen des SF in Gruppe II (N = 10) mit normalem bis niedrig-normalem SF sind in Abb. 16 zu sehen.

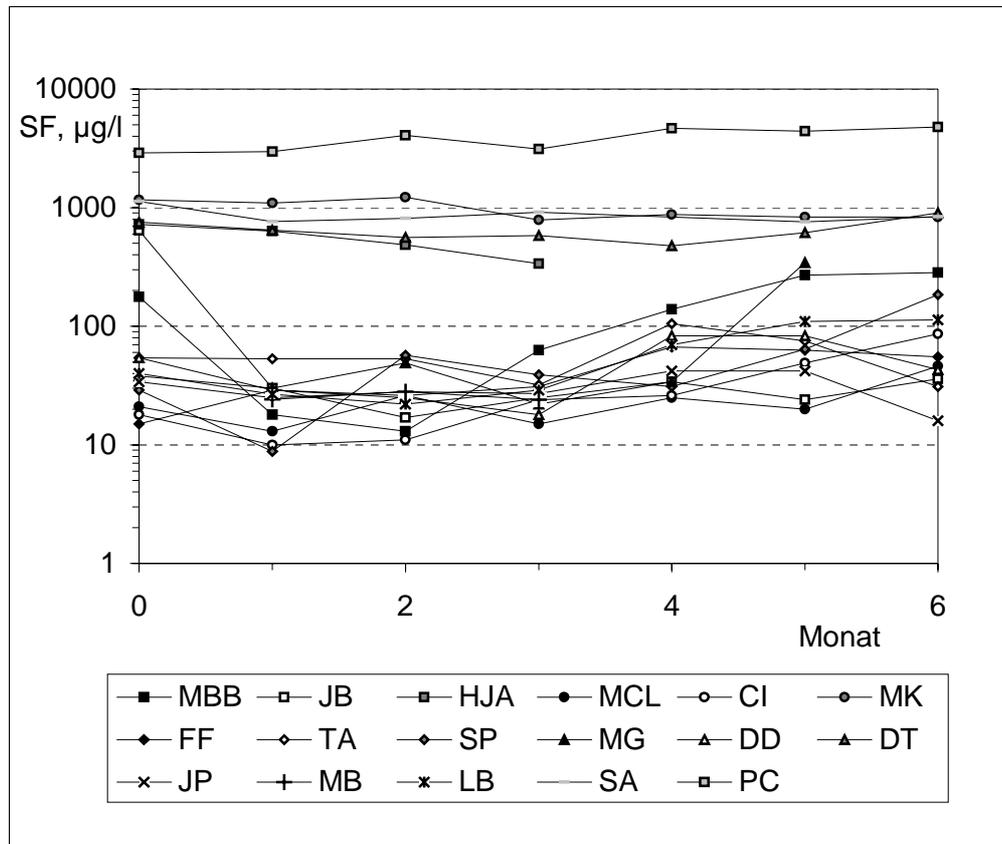


Abb. 14. Individuelle Veränderungen des Serumferritins in den ersten 6 Monaten rhEPO-Therapie

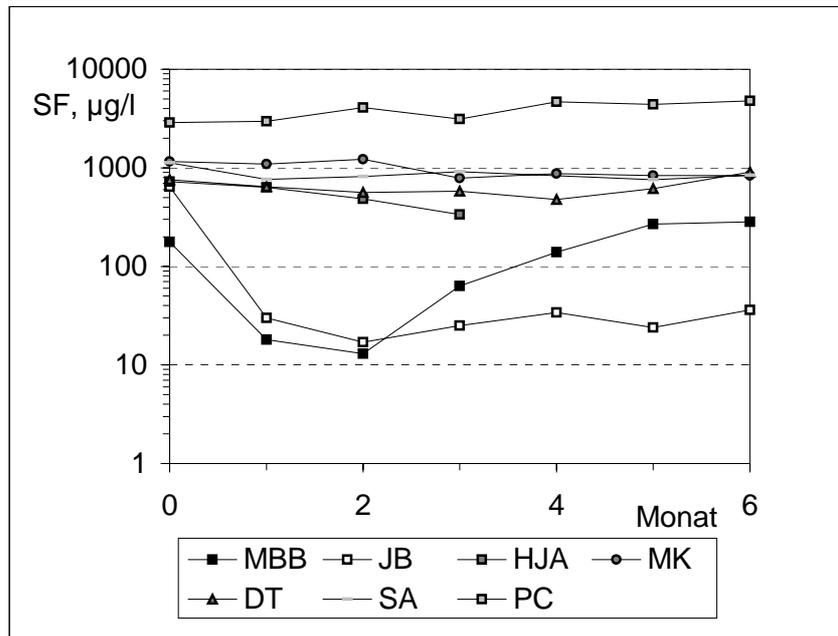


Abb. 15. Veränderungen des Serumferritins der einzelnen Patienten in Gruppe I mit erhöhtem Serumferritin (N = 7)

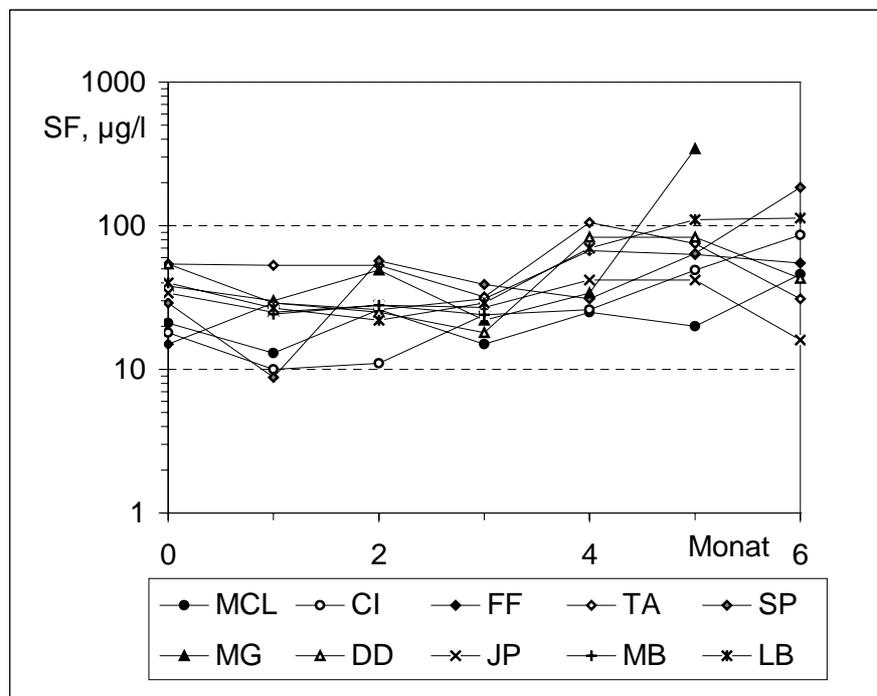


Abb. 16. Veränderungen des Serumferritins in Gruppe II (N = 10), Serumferritin normal bis niedrig

In Gruppe I mit hohem SF nimmt das SF bei zwei Kindern (MBB und JB) bis zum 2. Monat nahezu parallel ab und steigt dann langsam wieder an. Bei den anderen Patienten dieser Gruppe hingegen ist keine auffallende Änderung festzustellen. In der zweiten Gruppe sind relativ ähnliche Änderungen des SF im Verlauf der Therapie zu verzeichnen, tendentiell mit einer leichten Abnahme des SF zu Beginn gefolgt von einer langsamen Zunahme.

Abbildungen 17 bis 20 sind die einzelnen Veränderungen des SF in den verschiedenen Altersklassen zu entnehmen. Dabei lassen sich innerhalb der Altersklassen deutliche Unterschiede zwischen den Patienten erkennen.

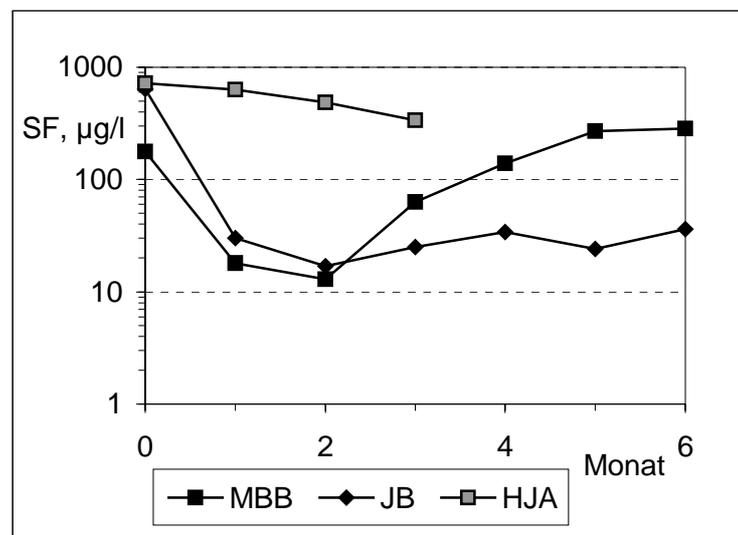


Abb. 17. Veränderungen des Serumferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den einzelnen Säuglingen

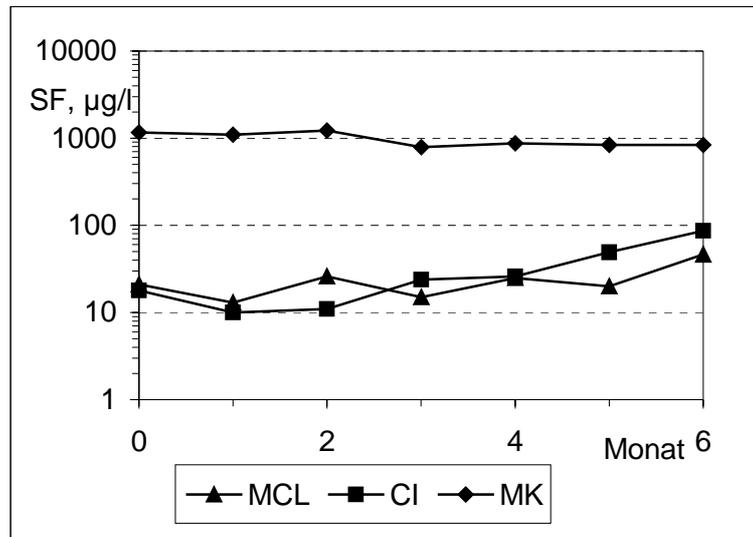


Abb. 18. Veränderungen des Serumferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den untersuchten Kleinkindern

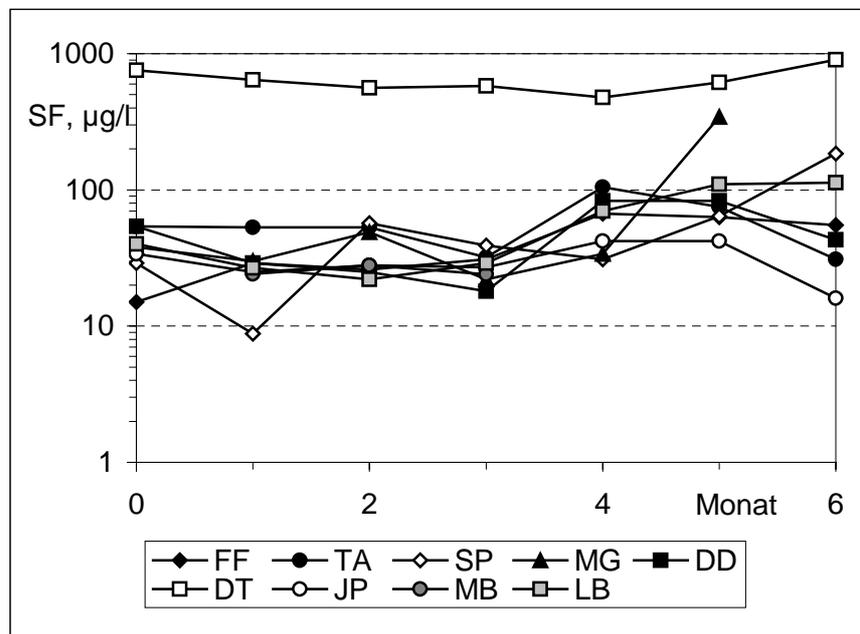


Abb. 19. Veränderungen des Serumferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Schulkindern

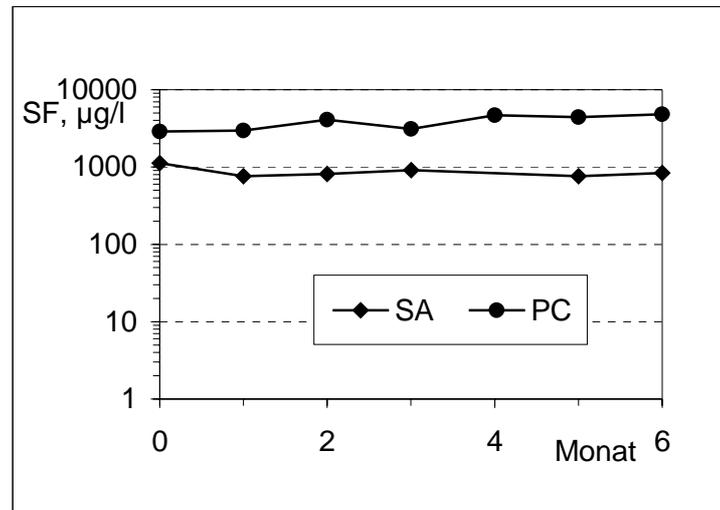


Abb. 20. Veränderungen des Serumferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Adoleszenten

3.3.3 Erythrozytenferritin

Um einen Überblick über die Änderungen des EF zu bekommen, werden zunächst alle Patienten zusammen in einem Diagramm abgebildet (Abb. 21). Wegen weiter Streuung mit deutlichen Unterschieden im EF-Gehalt wird ein logarithmischer Maßstab verwendet. Die meisten EF-Werte befinden sich unterhalb von 40 ag/cell. Bei zwei Kindern (PC und MK) liegen die Werte zu Beginn mit 160.62 ag/cell bzw. 73.86 ag/cell weit darüber. Auffallend ist auch die Verlaufskurve der Patientin MBB, bei der das EF steil ansteigt von 6.13 ag/cell im 2. Monat auf 148.44 ag/cell im Monat 6 (s. auch Abb. 22). Bei den meisten Kindern treten jedoch sind nicht so große Änderungen des EF auf; es findet sich lediglich ein unterschiedlicher Wechsel von geringer Zu- und Abnahme des EF. Einige weisen zuerst einen Anstieg des EF auf (LB, SP, JP), andere nehmen erst ab und dann wieder zu (TA, FF, JB), während bei zwei Kindern (SA, HJA) das EF stetig abfällt. Auch wenn die Gruppe recht heterogen erscheint und die Veränderungen nicht parallel verlaufen, ist ein geringfügiger Anstieg des EF insgesamt anzunehmen.

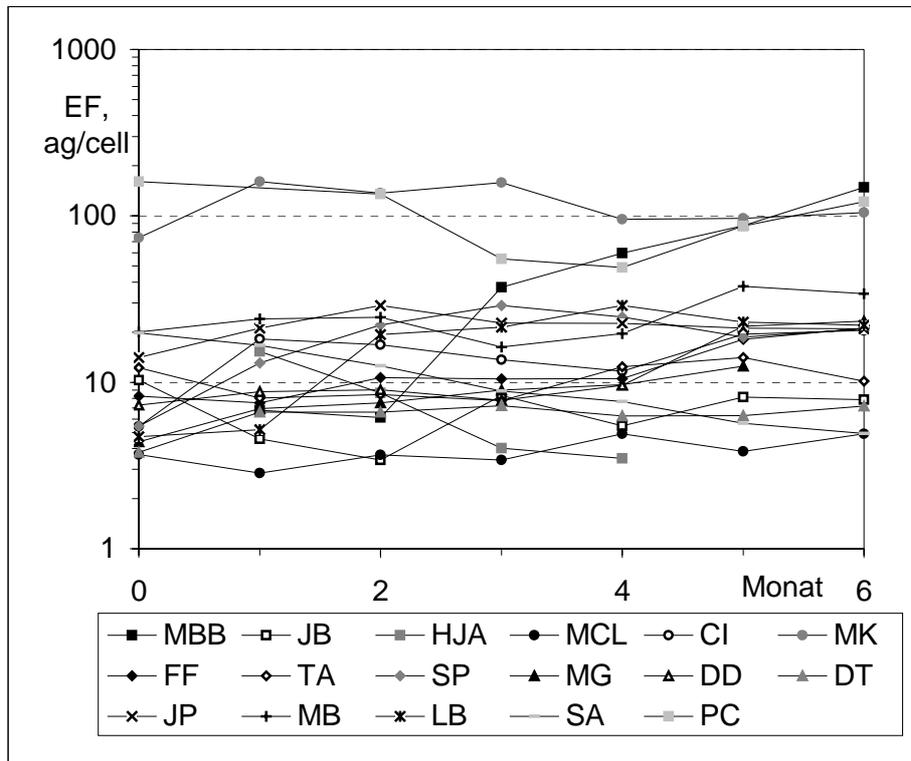


Abb. 21. Veränderungen des Erythrozytenferritins der einzelnen Patienten im Therapieverlauf

Nach einem Gesamtüberblick über die Verlaufskurven aller Patienten ist die gleiche Einteilung wie im vorherigen Abschnitt (vgl. Kapitel 3.2.2) vorgenommen worden.

Die Abbildungen 22 bis 25 bilden die Veränderungen des EF innerhalb der Altersklassen ab. Deutlich wird, daß Unterschiede in Höhe oder Verlauf des EF nicht spezifisch für eine Altersgruppe sind. So finden sich beispielsweise Kinder mit hohem EF in verschiedenen Altersklassen, d. h. bei den Kleinkindern, Adoleszenten wie auch Säuglingen.

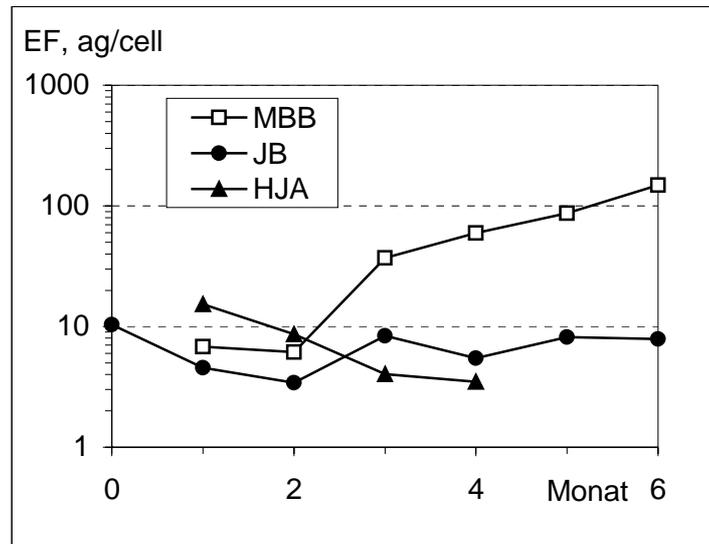


Abb. 22. Veränderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Säuglingen

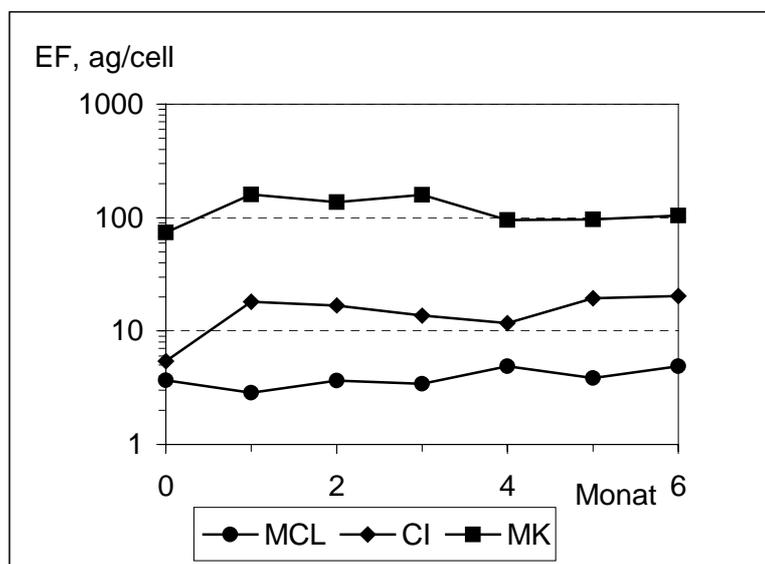


Abb. 23. Veränderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Kleinkindern

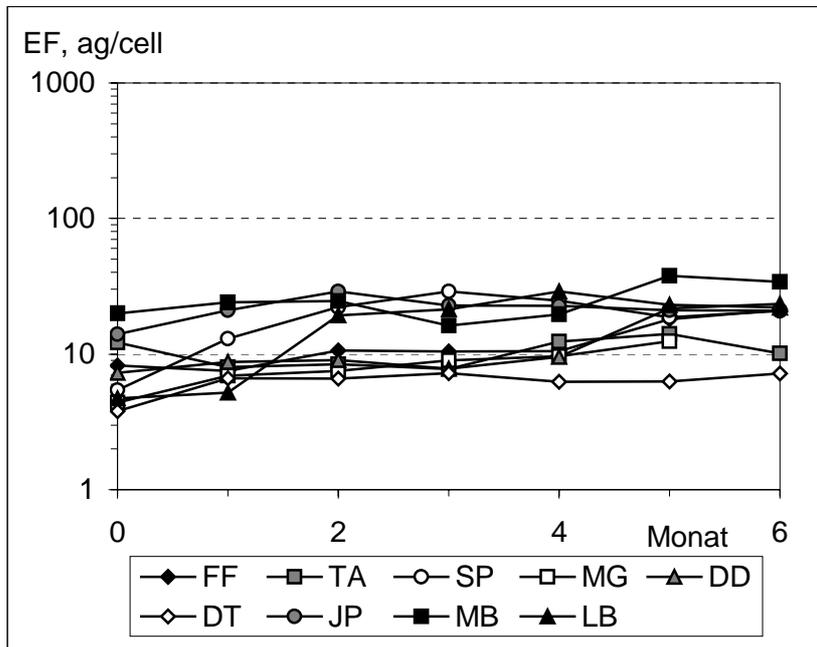


Abb. 24. Veränderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Schulkindern

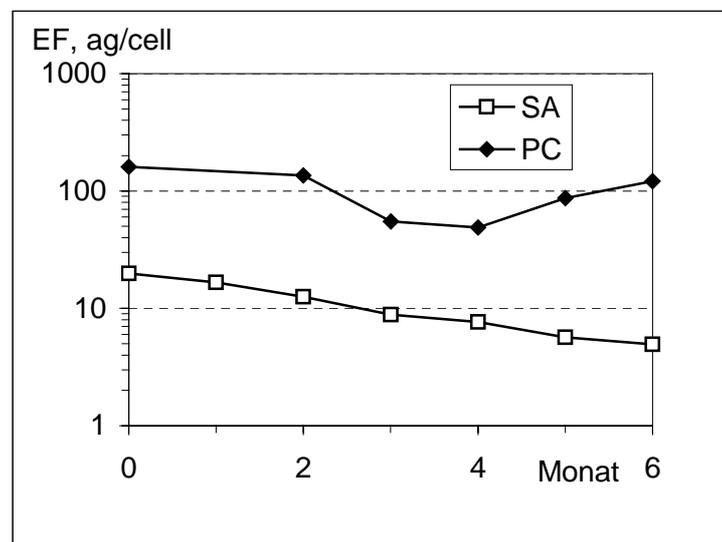


Abb. 25. Veränderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie bei den Adoleszenten

Analog zum vorherigen Abschnitt sind die Änderungen des EF für die Gruppen I und II, eingeteilt nach Ausmaß der Eisenspeicher vor Therapiebeginn, in Abbildungen 26 und 27 dargestellt.

Die Kinder mit sehr hohem EF (MK, PC sowie MBB zum Ende des Beobachtungszeitraumes) sind auch in Gruppe I mit erhöhtem SF wiederzufinden. Jedoch haben nicht alle dieser Gruppe mit hohem SF auch einen hohen erythrozytären Ferritingehalt. Bei dem Patienten JB z. B. beträgt das SF zu Beginn 641 µg/l, das EF dagegen nur 10.32 ag/cell. Auffallend ist auch Patientin DT mit einem SF zwischen 478 µg/l und 903 µg/l, während EF zwischen 3.79 ag/cell und 7.24 ag/cell liegt. Zudem nimmt bei SA das EF kontinuierlich von 19.81 ag/cell auf 4.93 ag/cell ab, obwohl das SF im Bereich von 1126 µg/l und 758 µg/l liegt.

Es zeigt sich, daß hohes SF nicht notwendigerweise auch mit hohem EF verbunden ist.

In Gruppe II (Abb. 27) mit normalem bis niedrigem SF liegen alle Verlaufskurven etwa innerhalb eines Bereiches von 2 - 40 ag/cell und verlaufen bis auf leichte Schwankungen relativ ähnlich. Bei normal-niedrigem SF ist auch kein wesentlich erhöhter EF-Gehalt zu finden.

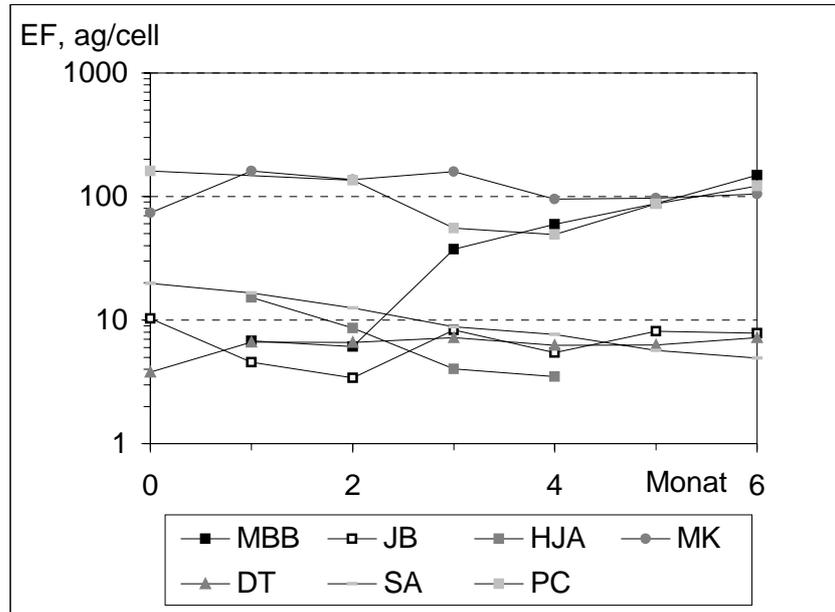


Abb. 26. Veränderungen des Erythrozytenferritins in Gruppe I mit erhöhtem Serumferritin

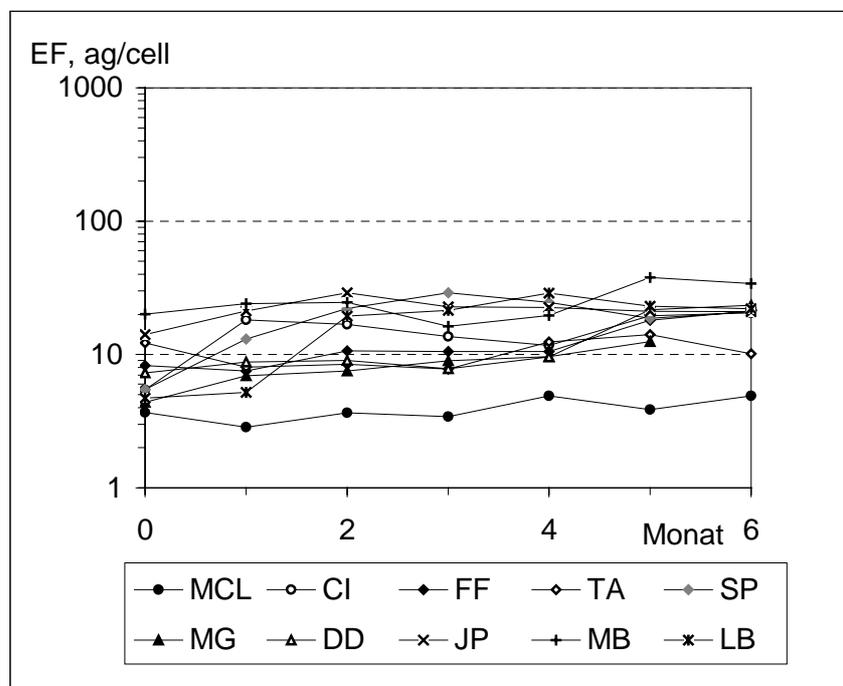


Abb. 27. Veränderungen des Erythrozytenferritins in Gruppe II, Serumferritin normal bis niedrig

3.3.4 Gegenüberstellung von Serumferritin und Erythrozytenferritin

Zum Vergleich der Änderungen des SF und des EF im Verlauf der Behandlung wurden Mittelwerte (\bar{x}_G) innerhalb verschiedener Gruppen über die Zeit dargestellt.

In den Abbildungen über Änderungen des SF innerhalb der Altersklassen (Abb. 28) und SF-Gruppen (Abb. 30) ist anfangs eine Abnahme des SF zu sehen, gefolgt von einem leichten Anstieg. Insgesamt nimmt das SF bei Kleinkindern und Schulkindern sowie in Gruppe II zum 6. Monat hin geringfügig zu.

Die Änderungen des EF (Abb. 29, Abb. 31) sind im Vergleich zum SF nicht kongruent. Im Gegensatz zum SF steigt bei Kleinkindern und Schulkindern das mittlere EF gleich zu Beginn an und nimmt mit leichten Schwankungen auch insgesamt zum Monat 6 zu. Säuglinge und Adoleszente zeigen wie beim SF erst eine Abnahme, die bei Adoleszenten im Verhältnis zum SF wesentlich ausgeprägter ist. Bei Säuglingen steigt das EF ab Monat 2 weit über den Ausgangswert an, wogegen beim SF nur ein leichter Anstieg zu verzeichnen ist.

Mit Anstieg der Retikulozytenzahl zu Therapiebeginn ist eine Abnahme des Serumeisens, der Transferrinsättigung und des SF ist verbunden (s. Abb. 11, Abb. 12, Abb. 13). Nur bei den Adoleszenten und Säuglingen findet sich gleichzeitig auch eine Verringerung des EF. Bei Schulkindern und Kleinkindern hingegen sowie in Gruppe I steigt das EF in der gleichen Zeit an.

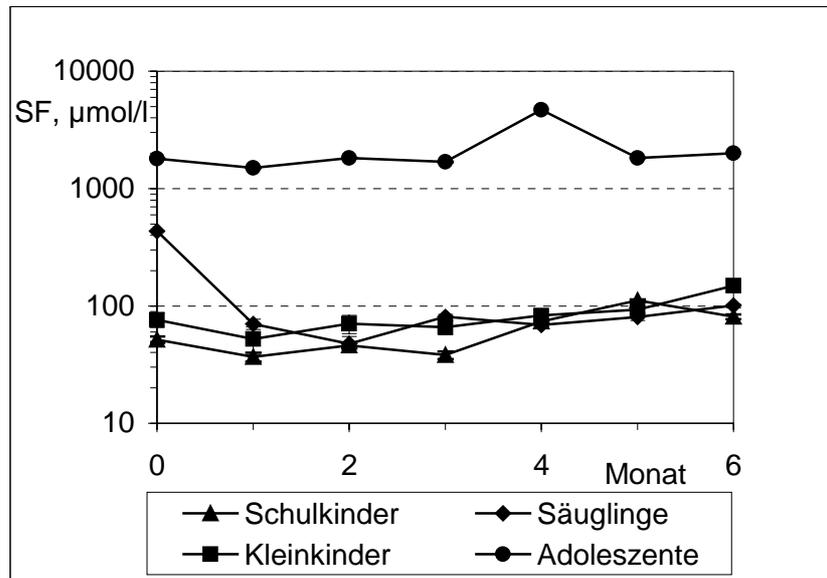


Abb. 28. Änderungen des mittleren Serumferritins (\bar{x}_G) innerhalb der Altersklassen

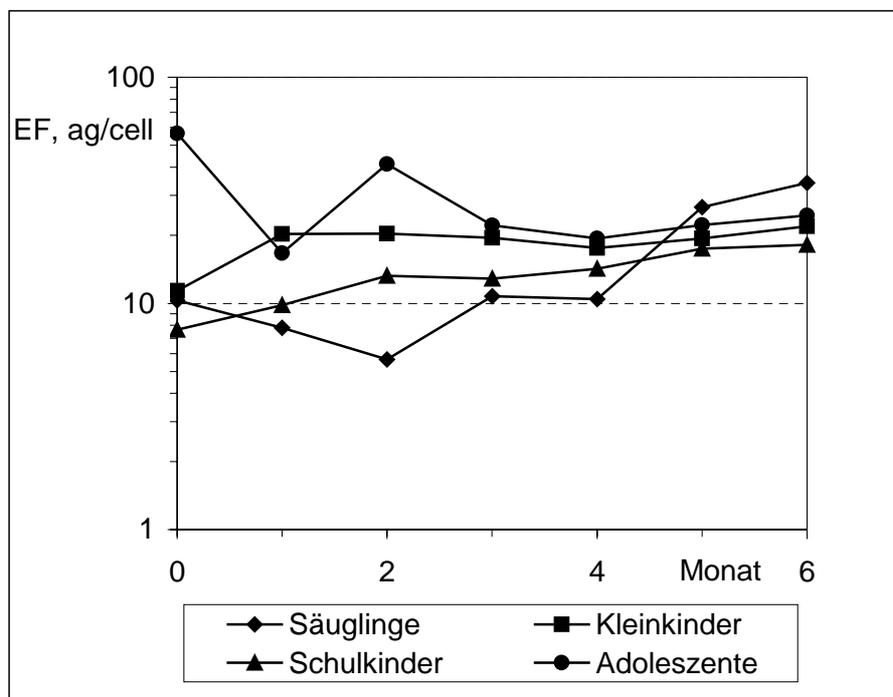


Abb. 29. Änderungen des mittleren Erythrozytenferritins (\bar{x}_G) innerhalb der Altersklassen

Beim Vergleich der Mittelwertkurven in den beiden Gruppen I und II nach Höhe des SF (Abb. 30 und Abb. 31) fällt auf, daß das EF der Gruppe I (mit einem hohem SF) immer oberhalb von Gruppe II liegt, d. h. ein höheres mittleres EF hat. Dieses deutet auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Höhe des EF und SF hin, obwohl er im einzelnen nicht immer gegeben ist und hohes SF nicht notwendigerweise auch mit hohem EF verbunden ist (vgl. Abschnitt 3.3.3).

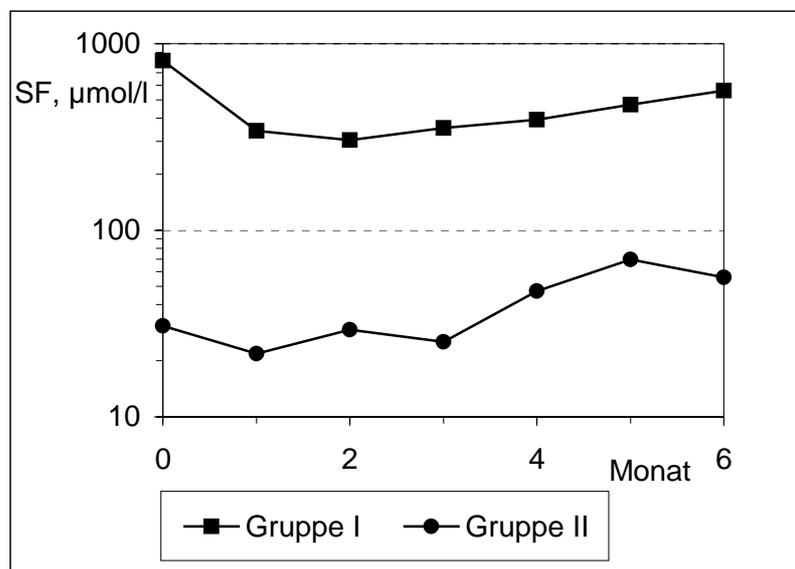


Abb. 30. Änderungen des mittleren Serumferritins (\bar{x}_G) in Gruppe I (Serumferritin erhöht) und Gruppe II (Serumferritin normal)

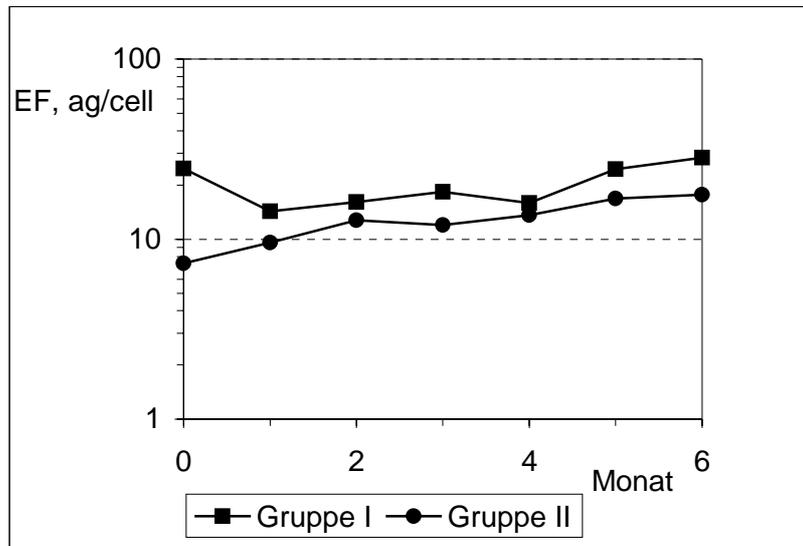


Abb. 31. Änderungen des mittleren Erythrozytenferritins (\bar{x}_G) in Gruppe I (Serumferritin erhöht) und Gruppe II (Serumferritin normal)

In der folgenden Abbildung (Abb. 32) werden solche Mißverhältnisse zwischen Höhen von EF und SF deutlich. Normales EF (Referenzbereich vgl. Abschnitt 3.1.3) kann in Verbindung stehen mit normalem, niedrigem wie auch hohem SF. Stark erhöhtes EF scheint mit hohem SF zusammenzuhängen, jedoch nicht umgekehrt.

Diese Diskrepanz ist auch in Abb. 33 zu sehen, in der sich eine Gruppierung von Werten mit extrem erhöhtem SF und nicht gleichermaßen erhöhtem EF hervorhebt, d. h. normalem bis niedrigem, im unteren Referenzbereich liegendem EF. Andererseits konnte auch bei vermindertem SF normales EF gemessen werden. Zu keinem Zeitpunkt war das EF unterhalb der unteren Grenze des Referenzbereiches.

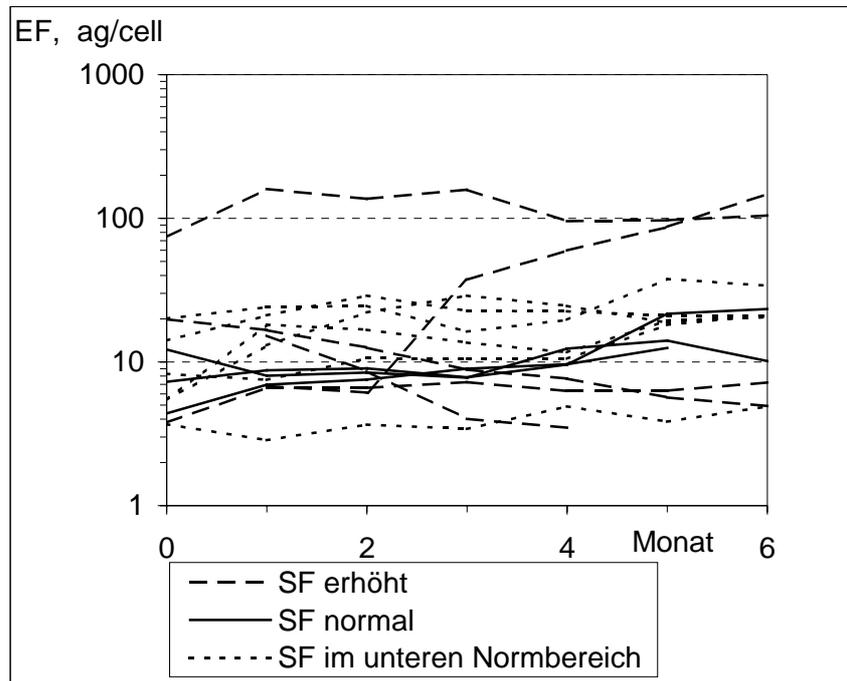


Abb. 32. Änderungen des Erythrozytenferritins im Verlauf der rhEPO-Therapie unter Berücksichtigung des Serumferritins zu Therapiebeginn

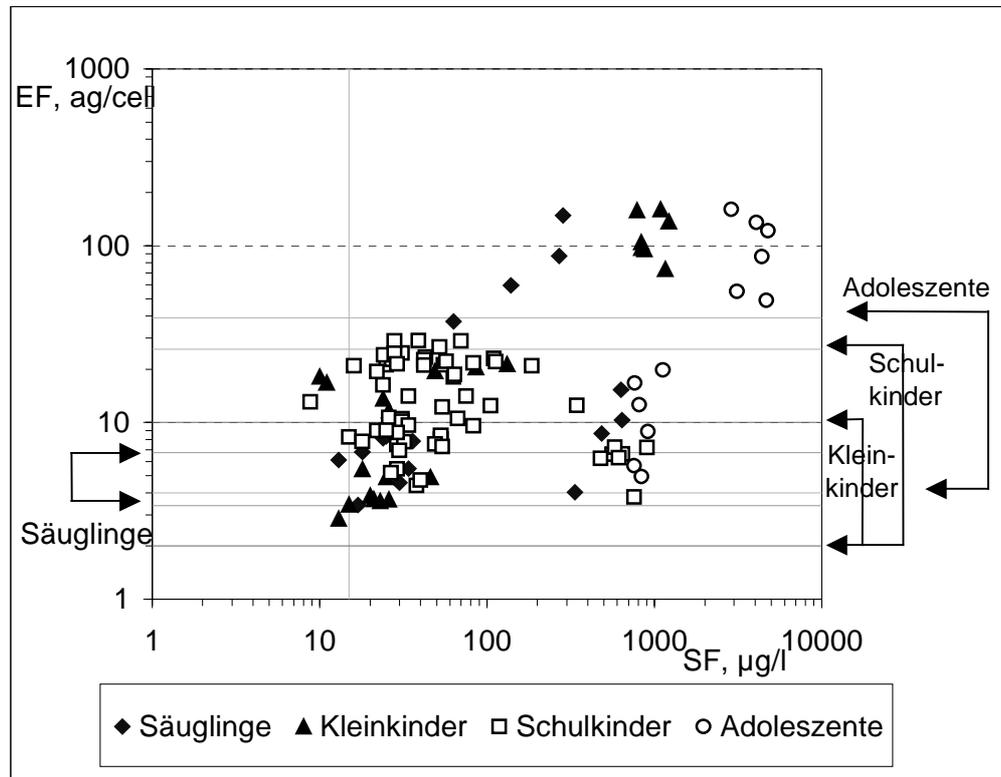


Abb. 33. Verteilung aller Erythrozytenferritin-Werte der Patienten in Abhängigkeit vom Serumferritin

Der Frage nach Zusammenhängen zwischen SF und EF insgesamt wird im Abschnitt 3.5 durch Bestimmen von Korrelationen weiter nachgegangen.

3.3.5 Nonresponder

Ein Mädchen (PC) hat trotz Dosissteigerung des rhEPO auf 225 U/kg/Woche nicht oder nur ungenügend auf die Therapie angesprochen. Dadurch wurden leider mehrmals Bluttransfusionen notwendig. Die Änderungen des Hb über den Beobachtungszeitraum mit Angabe der Transfusionen ist in Abb. 34 dargestellt. Wegen Nichtansprechens auf rhEPO und Gabe von Erythrozytenkonzentraten wird das EF hier noch einmal gesondert abgebildet (s. Abb. 35). Das EF liegt sehr hoch (zu Beginn 160.62 ag/cell) und weit außerhalb des Verteilungsbereiches für Adoleszente (4 bis 39 ag/cell, s. Abschnitt 3.1.3).

Bei der Bestimmung des EF gab es zudem Probleme mit der Herstellung von Erythrozytensuspensionen. Wegen des niedrigen Hb ($x_{\min} = 5.4$ g/dl im Monat 1) mußte ich die Zellulosemenge in der Säule entsprechend verringern, um die Ausbeute an Erythrozyten nach der Trennung zu erhöhen. Ferner wurde die Trennung durch äußerst hohe Leukozytenzahlen erschwert.

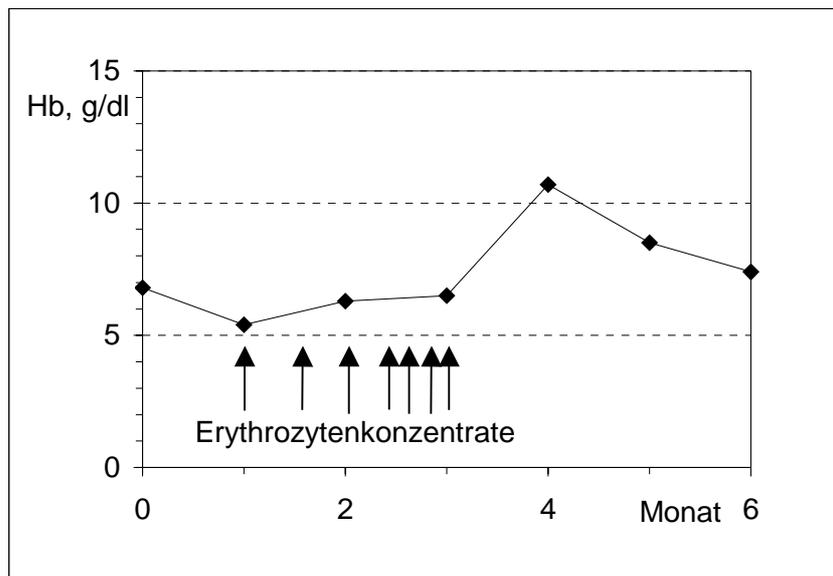


Abb. 34. Änderungen des Hämoglobins im Therapieverlauf beim Non-responder PC mit Angabe der Bluttransfusionen

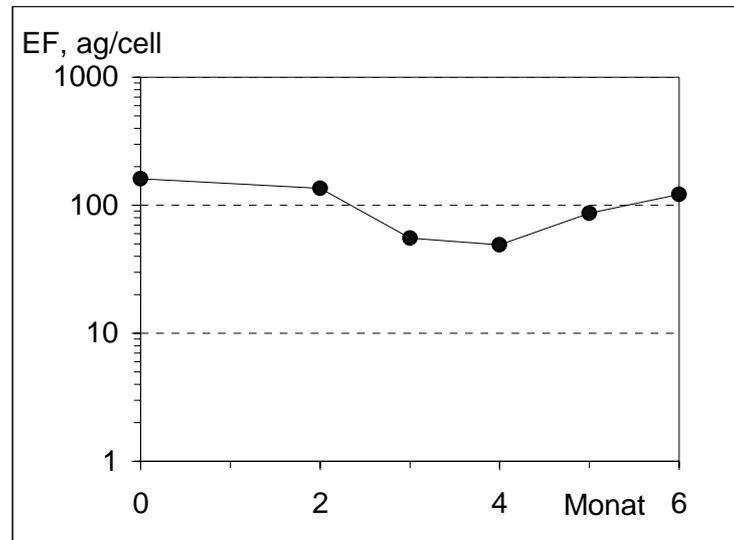


Abb. 35. Veränderungen des EF im Therapieverlauf beim Nonresponder PC

3.4 Vergleich des Erythrozytenferritins von Patienten und Kontrollen

In diesem Abschnitt werden die gemessenen EF-Werte der Patienten mit denen der Kontrollen verglichen und dafür der oben bestimmte Verteilungsbereich verwendet (s. Abschnitt 3.1.3).

Von den Patienten werden in verschiedenen Altersklassen das mittlere EF (\bar{x}_G) \pm Streufaktor sf über 6 Monate abgebildet und am Rand der entsprechende, aus den Kontrollen gebildete Referenzbereich gegenübergestellt.

Aus Abb. 36 wird ersichtlich, daß die Säuglinge aus dem Patientenkollektiv bis auf einen Monat ein höheres EF als ihre Kontrollen aufweisen. Nur im 2. Monat liegen sie innerhalb der Range ($R = 6.75 - 3.38$ ag/cell).

Das mittlere EF der Kleinkinder (Abb. 37) liegt sogar im gesamten sechsmonatigen Beobachtungszeitraum oberhalb des entsprechenden Kontrollbereiches.

Dagegen verläuft das mittlere EF der Schulkinder (Abb. 38) nur innerhalb des Verteilungsbereiches der Kontrollen.

Das gemessene EF der Adoleszenten (Abb. 39) liegt im Monat 0 und Monat 2 höher und sonst innerhalb des Kontrollbereiches.

Bei den Patienten ließen sich insgesamt mittlere EF-Werte oberhalb der unteren Grenze des Referenzbereiches ermitteln. Wie schon in Kapitel 3.3.4 festgestellt, war bei den Patienten kein reduziertes EF nachweisbar.

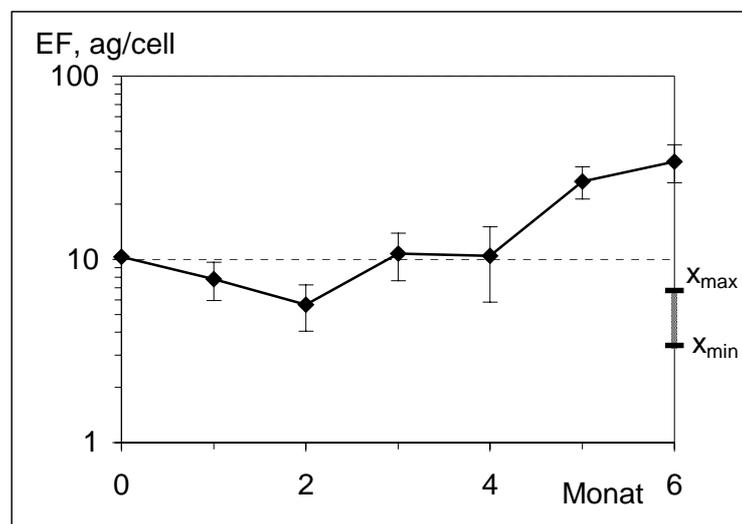


Abb. 36. Verlauf des mittleren Erythrozytenferritins der Säuglinge im Vergleich zum entsprechenden Referenzbereich der Kontrollen

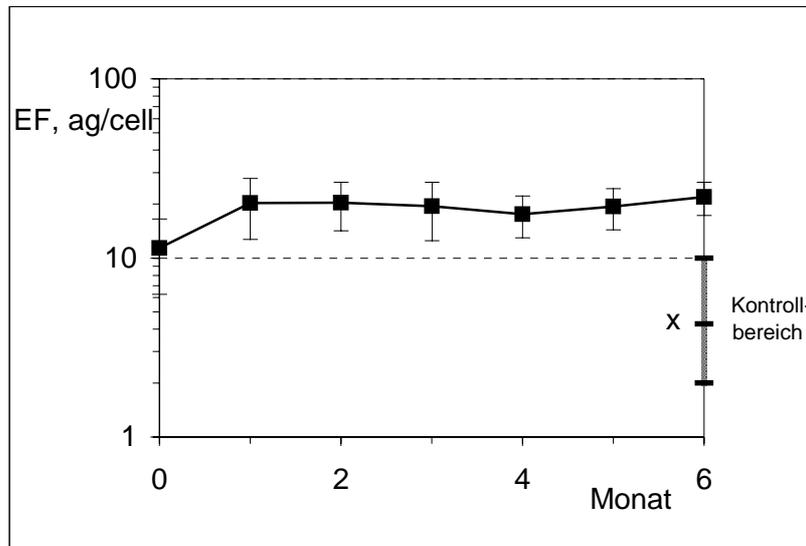


Abb. 37. Verlauf des mittleren Erythrozytenferritins der Kleinkinder im Vergleich zum entsprechenden Verteilungsbereich der Kontrollen

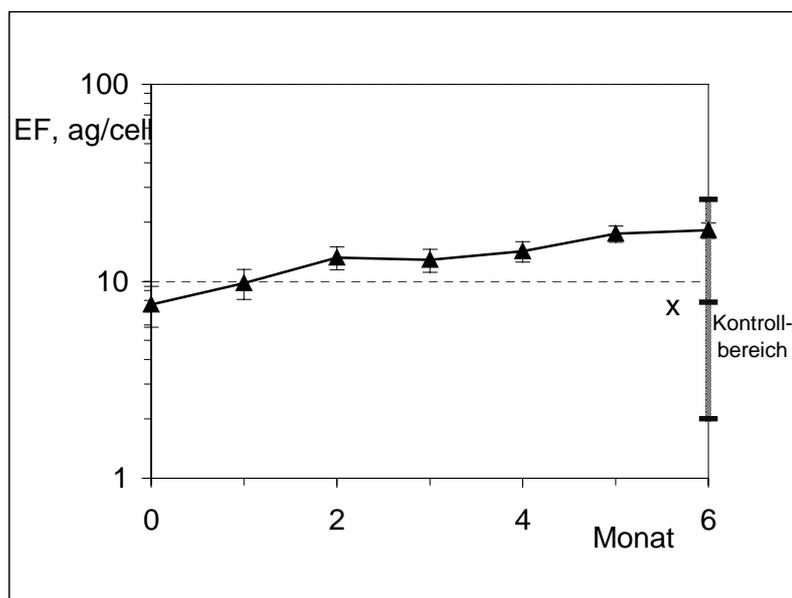


Abb. 38. Verlauf des mittleren Erythrozytenferritins der Schulkinder im Vergleich zum entsprechenden Verteilungsbereich der Kontrollen

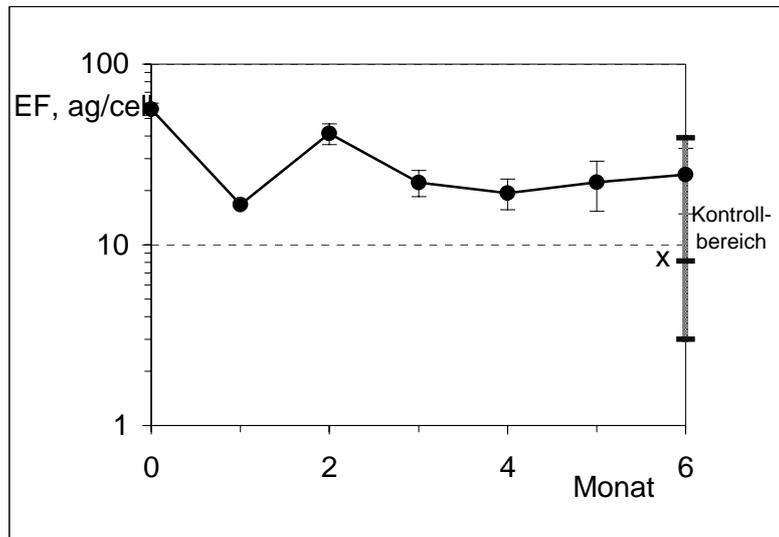


Abb. 39. Verlauf des mittleren Erythrozytenferritins der Adoleszenten im Vergleich zum Kontrollbereich

Die Unterschiede zwischen EF von Patienten und Kontrollen sind auch in der Gegenüberstellung der Werte (s. Abb. 40) ersichtlich und lassen sich durch den U-Test bestätigen. Im U-Test ergeben sich zwischen Kontrollen und Patienten signifikante Unterschiede auf dem 5 %-Niveau vor Therapiebeginn wie auch im 6. Monat.

Insgesamt kann bei den Patienten eine deutlich weitere Streuung der gemessenen EF-Werte festgestellt werden als bei den Kontrollen. Das EF der Patienten über den gesamten Beobachtungszeitraum reicht von 2.85 ag/cell bis 160.62 ag/cell, Median 12.545 ag/cell. Demgegenüber steht bei den Kontrollen eine Range von 2.51 bis 37.61 ag/cell, Median 6.75 ag/cell.

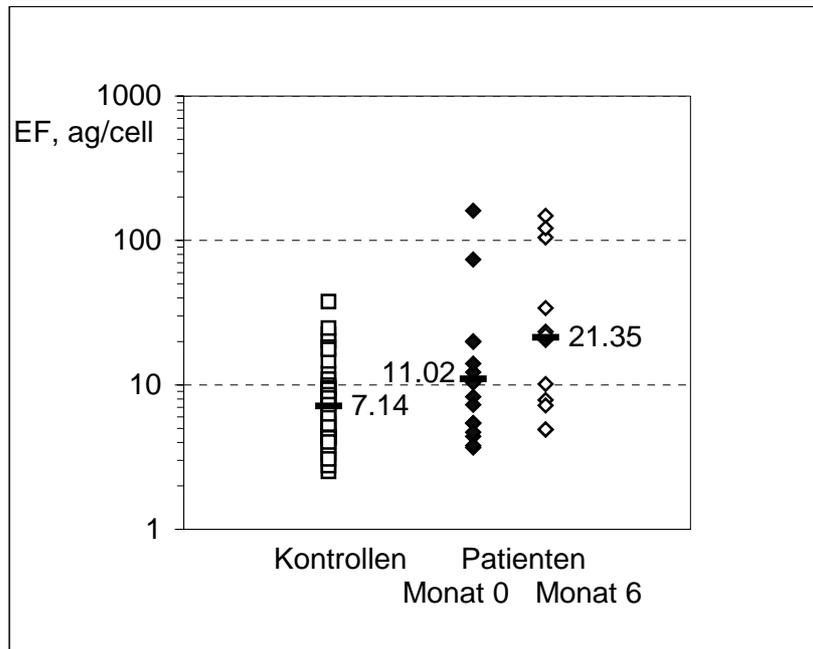


Abb. 40. Streuung und Mittelwert \bar{x}_G des Erythrozytenferritins von Kontrollen und Patienten (Monat 0 und 6)

3.5 Untersuchung von Zusammenhängen

Zur Untersuchung von Zusammenhängen wurden jeweils Korrelationen für SF und EF mit anderen hämatologischen Parametern sowie auch untereinander bestimmt. Berechnet wurden der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman r_s und die Regressionsgerade, die in den folgenden Abbildungen zu sehen sind.

Für SF kann ein signifikanter ($p < 0.05$) positiv exponentieller Zusammenhang zu Transferrinsättigung sowie den Erythrozytenindices MCV und MCH festgestellt werden. Die Zusammenhänge sind mit Angabe der Korrelation und Abbildung der Regressionsgeraden in den Abbildungen 41 bis 43 dargestellt. Zwischen SF und Hämoglobin ergibt sich eine statistisch signifikante negative Korrelation, $r_s = -0.347$ für $p < 0.05$ (s. Abb. 44). Mit der absoluten Retikulozytenzahl dagegen (s. Abb. 45) läßt sich keine Korrelation feststellen.

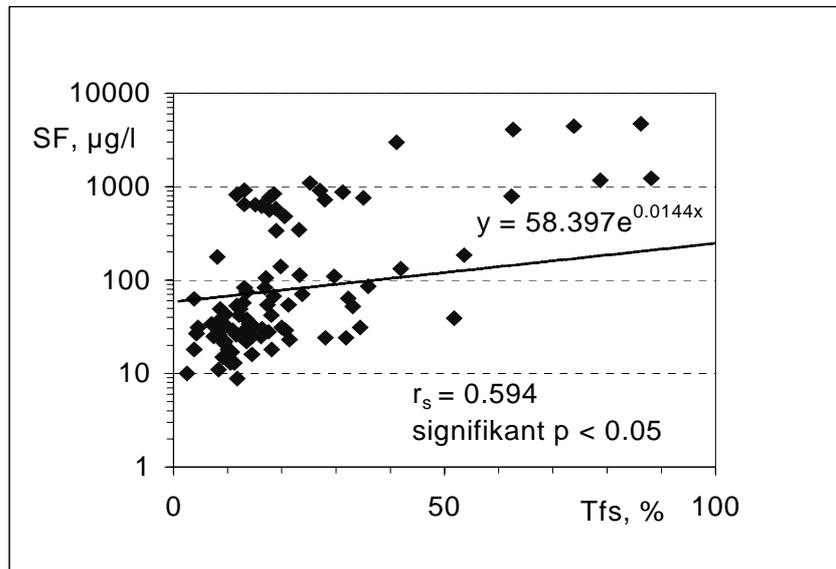


Abb. 41. Korrelation zwischen Serumferritin und Transferrinsättigung

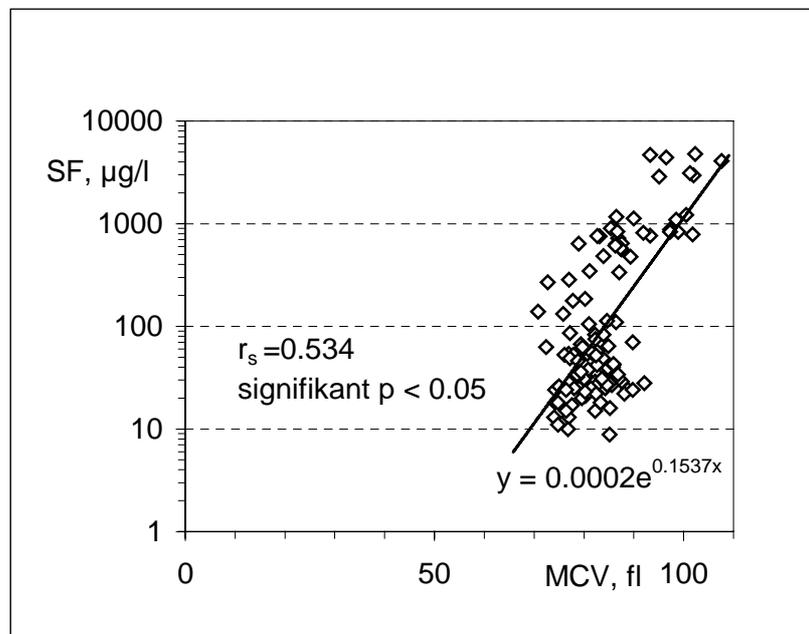


Abb. 42. Korrelation zwischen Serumferritin und Erythrozytenvolumen

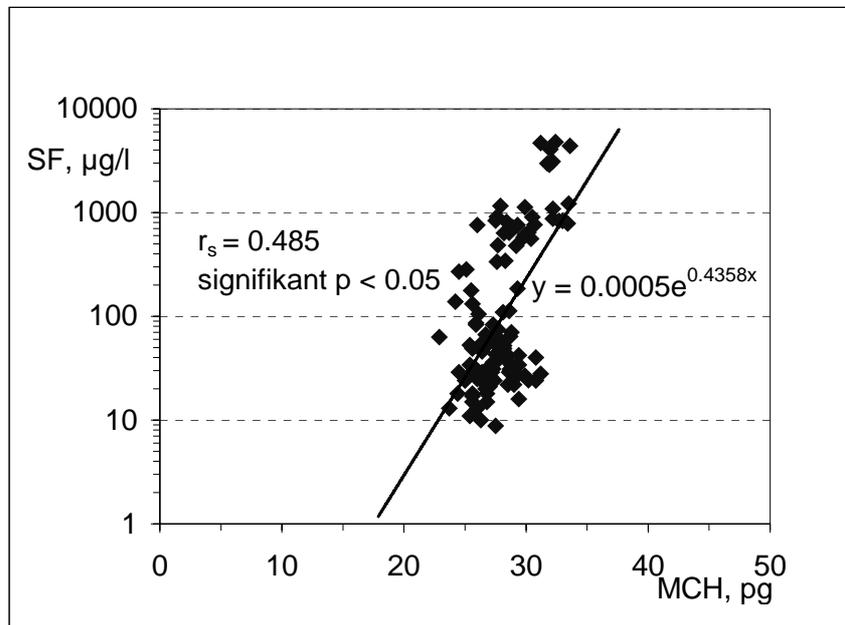


Abb. 43. Korrelation zwischen Serumferritin und Hämoglobingehalt des Erythrozyten

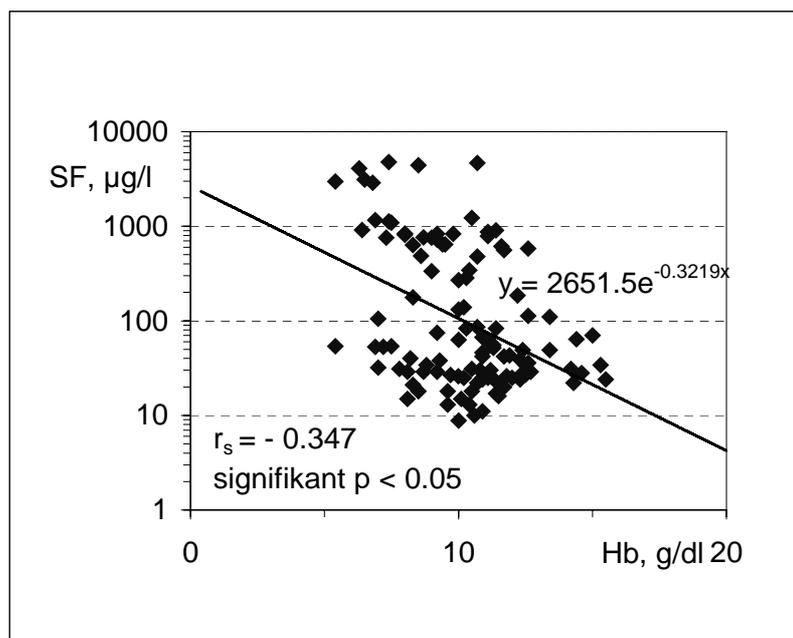


Abb. 44. Korrelation von Serumferritin mit Hämoglobin

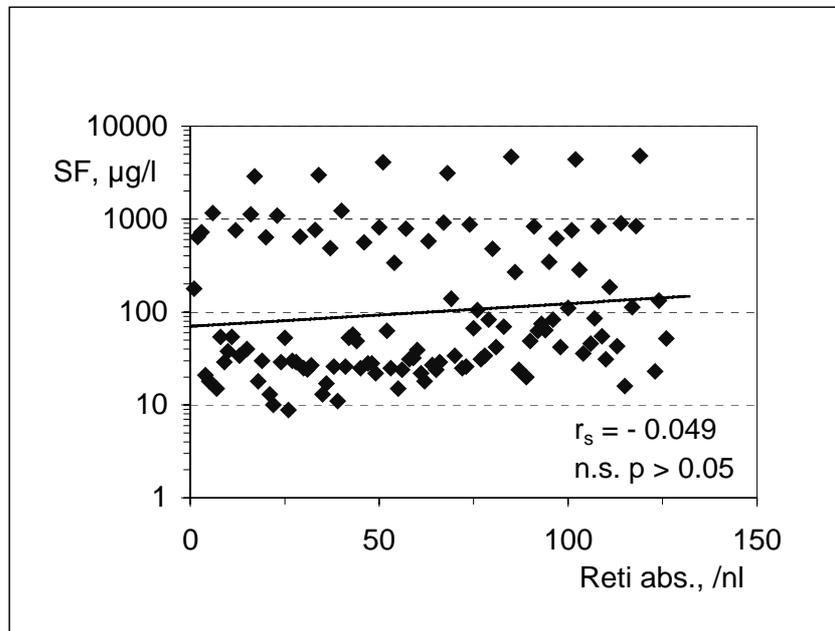


Abb. 45. Korrelation von Serumferritin mit absoluter Retikulozytenzahl

Beim EF der Patienten finden sich ebenfalls positiv exponentielle Zusammenhänge zu Transferrinsättigung, MCV und MCH mit auf dem 5 %-Niveau statistisch signifikanter Korrelation, wie in den Abbildungen 46 bis 48 zu sehen ist. Im Gegensatz zum SF läßt sich beim EF keine signifikante Korrelation zum Hämoglobin feststellen (s. Abb. 49). EF korreliert auch nicht mit absoluter Retikulozytenzahl (Abb. 50).

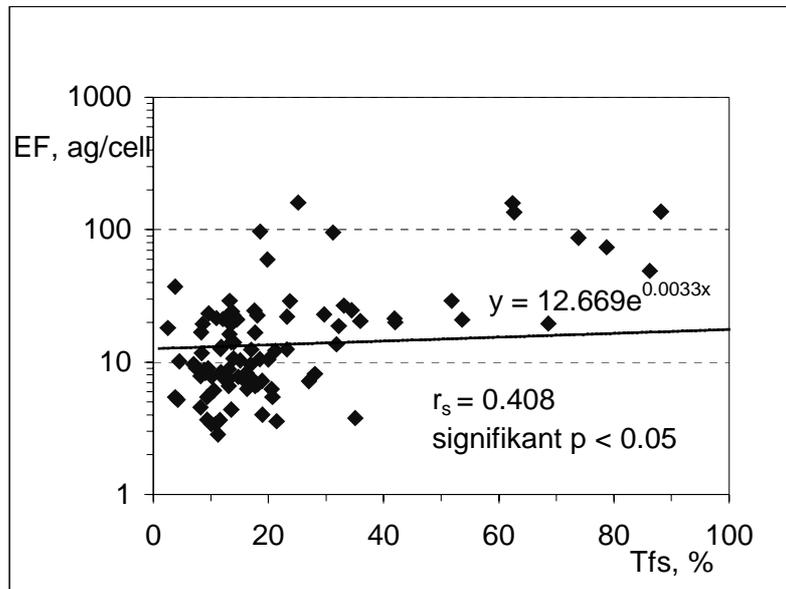


Abb. 46. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Transferrinsättigung

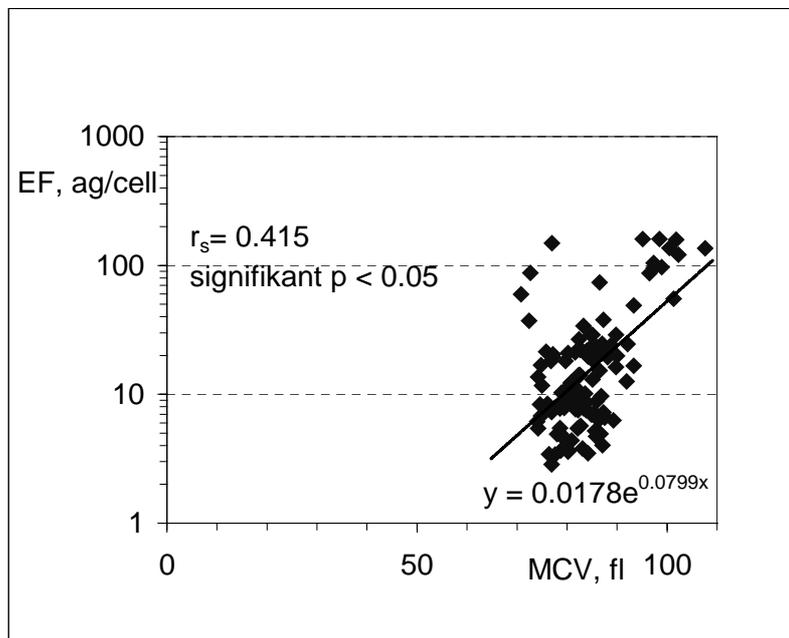


Abb. 47. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Erythrozytenvolumen

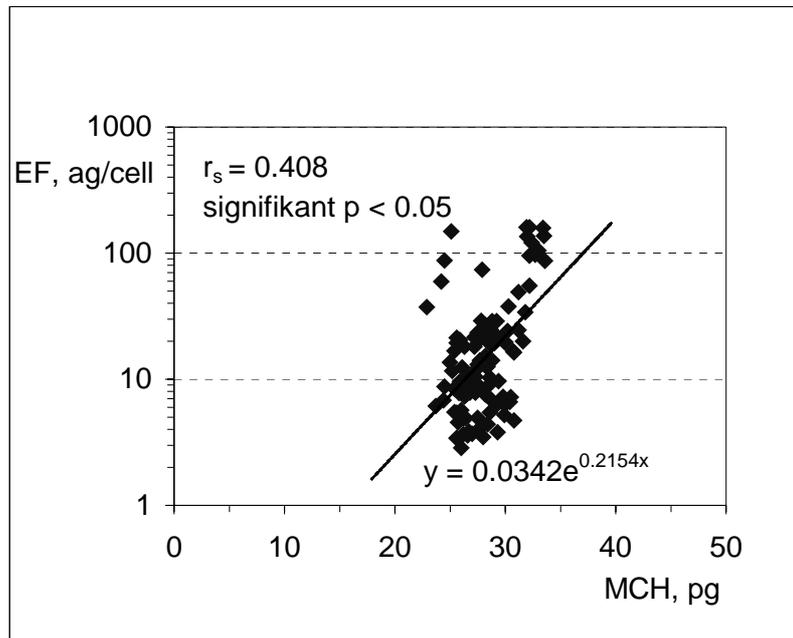


Abb. 48. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Hämoglobingehalt des Erythrozyten

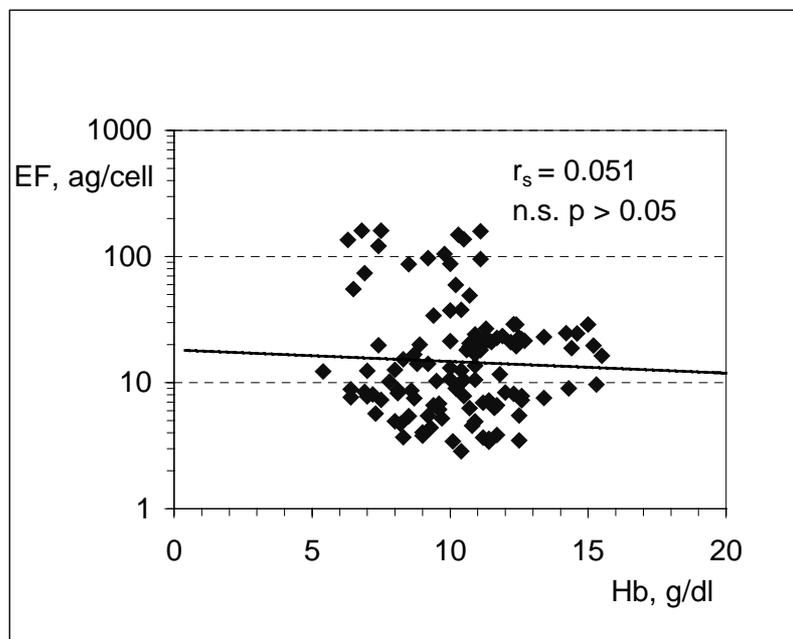


Abb. 49. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Hämoglobin

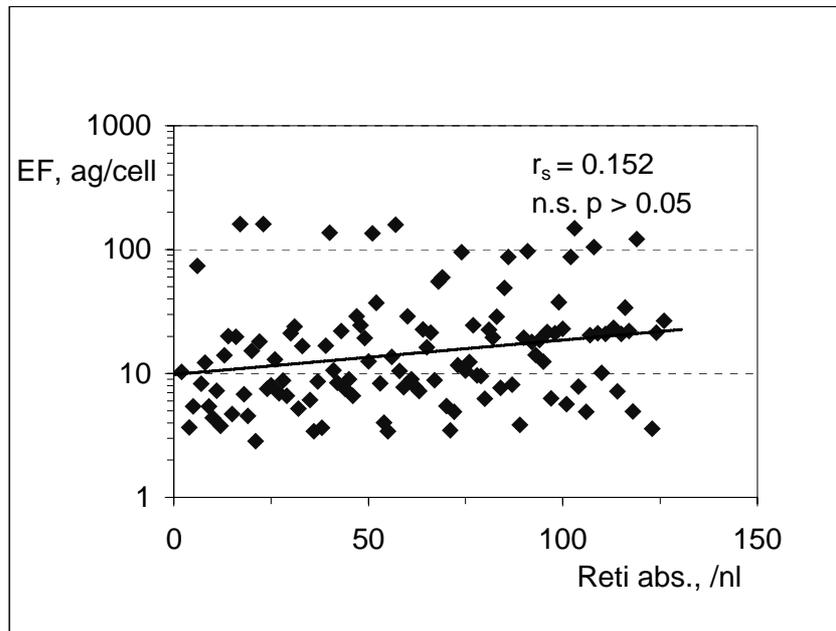


Abb. 50. Korrelation von Erythrozytenferritin mit absoluter Retikulozytenzahl

Zwischen EF und SF der Patienten insgesamt ergibt sich eine statistisch signifikante positive Korrelation mit $r_s = 0.418$ ($p < 0.05$), auch wenn es, wie oben beschrieben, besonders in einem Bereich erhöhter SF-Werte zu Mißverhältnissen zwischen Höhe des SF und des EF kommen kann (vgl. Abschnitt 3.3.4). Der Zusammenhang, der in Abb. 51 zusammen mit der Regressionsgeraden im logarithmischen Maßstab dargestellt ist, kann näherungsweise durch eine Potenzfunktion beschrieben werden.

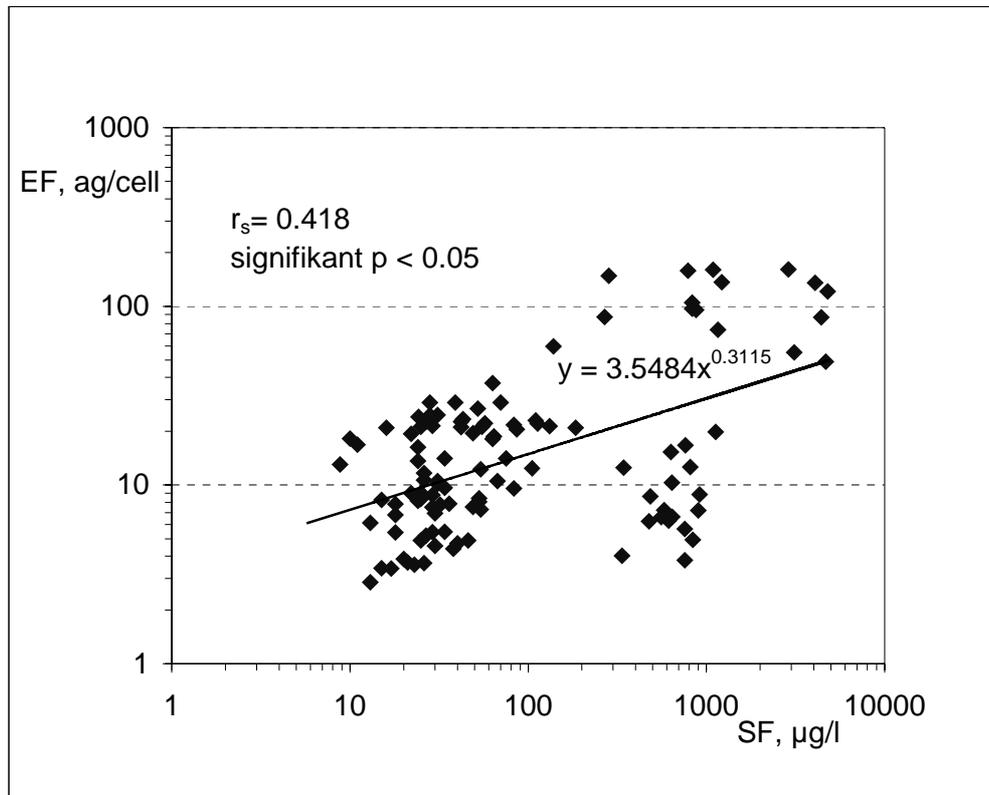


Abb. 51. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Serumferritin der Patienten

Auch bei den Kontrollen kann ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen EF und SF gefunden werden mit einer Korrelation von $r_s = 0.589$ für $p < 0.05$. Diese positive Korrelation ist in Abb. 52 abgebildet.

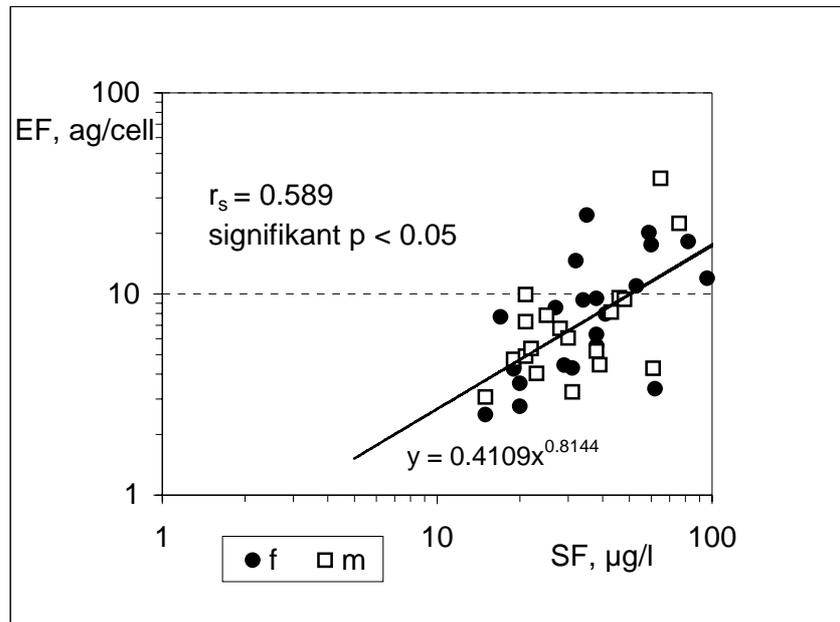


Abb. 52. Korrelation zwischen Erythrozytenferritin und Serumferritin bei den Kontrollen

3.6 Prüfen von Veränderungen des Erythrozytenferritins

Die Annahme einer Änderung des EF in den ersten 6 Monaten der rhEPO-Therapie, wie auch in den Verlaufskurven geringfügig sichtbar, wird in diesem Abschnitt weiter untersucht.

Eine Übersicht über die durchschnittliche Tendenz vom Ausgangswert wird in Tabelle 16 gegeben. Für 11 Kinder überwiegt eine Zunahme des EF, während bei 6 Patienten tendenziell eine Abnahme über den beobachteten Behandlungszeitraum zu verzeichnen ist.

Tabelle 16. Durchschnittliche Tendenz des Erythrozytenferritins im Vergleich zum Ausgangswert

| + | - |
|--------|-------|
| MBB | JB |
| CI | HJA |
| MK | MCL |
| FF | TA |
| SP | SA |
| MG | PC |
| DD | |
| DT | |
| JP | |
| MB | |
| LB | |
| N = 11 | N = 6 |

Um der Frage nach Änderungen des EF im Vergleich zum EF-Ausgangswert vor Behandlungsbeginn nachzugehen, wurden Verteilungen der Differenzen vom Ausgangswert sowie ihr Median (\bar{x}) dargestellt. Ausreißer durch den weiterhin transfundierten Nonresponder, die das Ergebnis verfälschen würden, wurden von der Untersuchung ausgenommen.

In Abb. 53 wird eine Änderung des EF in den 6 Monaten mit Anstieg des Medians der Differenzen deutlich, die sich mit dem abhängigen Rangsummentest bestätigen lässt. Der Wilcoxon-Test ergibt für die Monate 4, 5 und 6 einen signifikanten Unterschied des EF ($p < 0.05$) im Vergleich zum EF-Ausgangswert. Insgesamt kann also ein signifikanter Anstieg des EF über den Beobachtungszeitraum festgestellt werden.

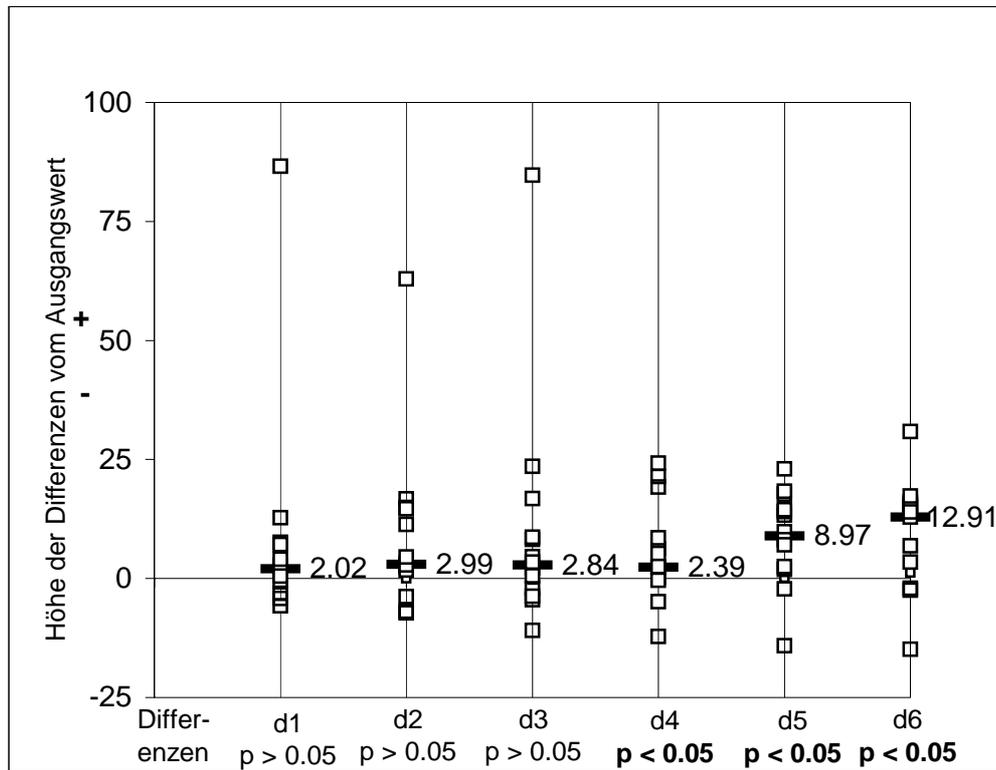


Abb. 53. Verteilung und Median (\bar{x}) der Differenzen des Erythrozytenferritins vom Ausgangswert mit Angabe der Signifikanz

4 DISKUSSION

4.1 Einführung

Die renale Anämie, die bei Kindern stärker ausgeprägt ist als bei Erwachsenen [96], kann durch die Gabe von rhEPO behandelt werden [22, 53, 133]. Die auf diese Weise gesteigerte Erythropoese und vermehrte Hämoglobinproduktion setzen hinreichend gefüllte Eisenspeicher voraus. Ein ausreichendes Eisenangebot an die Erythropoese ist Grundlage für ein schnelles Ansprechen auf die Therapie und eine niedrige Dosis von rhEPO. Eisenmangel dagegen stellt einen limitierenden Faktor für eine erfolgreiche Behandlung mit rhEPO dar [53, 83, 87,138]. Außerdem kann es durch die Therapie zu einem funktionellen Eisenmangel kommen. Daher scheint eine möglichst exakte Evaluation der Eisenversorgung notwendig [10].

Wenngleich SF normalerweise mit dem Speichereisen im Knochenmark im Gleichgewicht steht, kann die Beziehung bei einigen Erkrankungen sowie bei Eisentherapie fehlen, so daß die Höhe des SF nicht das Gesamtkörpereisen repräsentiert [63, 85, 134].

Die Entwicklung sensibler Immunoassays für Ferritin [2] ermöglichten auch eine Messung des intraerythrozytären Ferritingehaltes [85, 105, 122, 139]. Es konnte festgestellt werden, daß EF als Rest des frühen Erythroblastenferritins ein Maß für die Eisenversorgung der Erythropoese darstellt [75] und bei manifestem Eisenmangel signifikant erniedrigt ist [19, 139].

4.2 Methode

Voraussetzung für die Messung des intraerythrozytären Ferritins ist eine Trennung der Erythrozyten von den restlichen Blutbestandteilen (Durchführung s. Abschnitt 2.3.1). Bei der von mir angewandten Trennmethode nach BEUTLER et al. [14] über eine Säule aus Zellulosegemisch kommt es zu einem geringen Verlust an Erythrozyten an der Säule. Da bei Kindern weniger Ausgangsmaterial zur Verfügung steht und bei einer Anämie dazu weniger Erythrozyten im Blut vorhanden sind, ist es umso wichtiger, den Verlust an Erythrozyten zu minimieren und die Ausbeute zu erhöhen. Dafür habe ich die Menge Zellulose den Voraussetzungen angepaßt und bei Bedarf noch weiter reduziert.

Wegen der bei einigen Kindern sehr ausgeprägten Anämie war es häufig schwierig, noch ausreichende Mengen an Erythrozyten zur Bestimmung der Zellzahl und des Ferritins zu erhalten. Probleme gab es vor allem bei der Patientin PC (s. a. Abschnitt 0), die äußerst hohe Leukozytenzahlen bei sehr geringer Erythrozytenzahl und niedrigem Hb aufwies.

Ein Verbleiben von Leukozyten in der Erythrozytensuspension nach der Trennung stellt eine mögliche Fehlerquelle dar. Da Leukozyten das 1000fache [32, 75] an Ferritin im Vergleich zu Erythrozyten enthalten können, kann die Ferritinbestimmung "falsch" hohe Werte liefern. Als Ausschlußkriterium habe ich im Anschluß an die Literatur eine Leukozytenzahl > 0.5 /nl definiert [26, 38].

In der Literatur findet sich keine einheitliche Methode zum Abtrennen von Erythrozyten für die Ferritinbestimmung. Vorrangig verwendet wird die klassische, aufwendigere Methode nach BEUTLER et al. [14], z. B. bei CAZZOLA et al. [33], CRUICKSHANK et al. [43], PETERS et al. [102]. Ebenfalls häufig angewandt wird eine einfachere Erythrozytentrennung nach VAN DER WEYDEN [129], die sich nur aus dreimaligem Waschen zusammensetzt. Verwendet wurde letztere Methode auch von BROWN et al. [24]. BODEMANN et al. [19] empfehlen viermaliges Waschen des Zellsediments nach dem

Zentrifugieren. Ferner findet sich eine Trennungsmethode mit 3 % Dextran-Salz-Lösung [136, 139].

Nach Austesten verschiedener Methoden, u. a. einer Ficoll-Trennung, wurde von mir die aufwendigere Methode nach BEUTLER vorgezogen, um Fehler möglichst gering zu halten. Diese lieferte bessere Ergebnisse durch zuverlässigeres Entfernen von Leukozyten und führte somit zu deutlich geringerer Verunreinigung der Zellsuspension.

Zum Messen der Ferritinkonzentration im Erythrozytenlysat habe ich den fertigen Immunoassay RIA-gnost[®] Ferritin verwendet. Obwohl Erythrozyten vier- bis fünfmal so viel saures wie basisches Ferritin enthalten [33, 70, 102], reicht es entsprechend einer Untersuchung von CAZZOLA et al. aus, das basische Ferritin mit herkömmlichen Ferritinkits zu messen [33]. Veränderungen der Menge des H-Ferritins, die vom Gesamtkörpererisen beeinflusst wird, laufen parallel mit Änderungen des basischen L-Ferritins [33, 68]. Das basische Ferritin als Speicherform im Erythrozyten spiegelt somit den Eisenstatus des Körpers wider [33, 102, 128, 129]. Zudem nimmt das saure Ferritin im Laufe der Reife ab, während das basische Ferritin unverändert bleibt [64].

4.3 Statistik

Hinsichtlich der Interpretation der von mir durchgeführten Analysen und statistischen Tests ist anzumerken, daß diese mit Vorsicht betrachtet und einige Kritikpunkte berücksichtigt werden sollten.

Kritisch betrachtet werden muß die Mittelwertbildung, weil die Werte teilweise weit streuen und sich nicht immer kongruent verhalten. Aus diesem Grund wurden die Veränderungen im Verlauf zusätzlich auch einzeln beschrieben.

Wegen kleiner Fallzahlen (Patienten N = 17 und Kontrollen N = 41) und heterogener Patientengruppe bezüglich Alter, Geschlecht, Grunderkrankung, Grad der Niereninsuffizienz und Durchführung der Therapie sind allgemeine Aussagen schwierig und vor dem Hintergrund dieser Ausgangsvoraus-

setzungen zu sehen. Trotz geringer Anzahl konnte aufgrund der festgestellten Altersabhängigkeit nicht auf eine weitere Unterteilung durch Bildung von Altersklassen verzichtet werden.

Bei kleiner Fallzahl muß hinsichtlich der Hypothesen bedacht werden, daß diese eher abgelehnt werden, weil die statistische Signifikanz auch vom Stichprobenumfang abhängt.

Verallgemeinerungen bei den Kontrollen sind mit Vorsicht zu betrachten und nur bedingt möglich, weil es sich dabei um eine selektive Auswahl und nicht um eine Zufallsstichprobe handelt. Rückschlüsse auf die Grundgesamtheit können daher mit Fehlern behaftet sein.

4.4 Kontrollen

4.4.1 Vergleich mit Referenzbereichen anderer Untersucher

Da mir bei der Planung meiner Studie noch keine vergleichbaren EF-Messungen bei Kindern bekannt waren, war es notwendig, Untersuchungen bei gesunden Kindern ohne Eisenstoffwechselstörungen durchzuführen.

Die aus dem Säulendiagramm der EF-Mittelwerte in vier Altersklassen entstandene Vermutung von Altersunterschieden (s. Abb. 3) bestätigt sich durch Bestimmen der Korrelation. Zwischen EF und Alter wird ein statistisch signifikanter, positiv exponentieller Zusammenhang deutlich. Zudem können signifikante Unterschiede zwischen Schulkindern und Adoleszenten sowie zwischen Kleinkindern und Adoleszenten festgestellt werden. Geschlechtsunterschiede lassen sich jedoch nicht feststellen. Aufgrund meiner Ergebnisse habe ich eine Einteilung in Altersklassen vorgenommen.

Die meisten Untersuchungen zum EF finden sich bei Erwachsenen. Eine Zusammenstellung der Angaben anderer Untersucher über Normalbereiche des EF gibt Tabelle 17.

Tabelle 17. Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Referenzbereiche mit Angabe des Autors sowie des Erscheinungsjahres

| Autor und Jahr | Referenzbereich EF, ag/cell | Literatur- angabe |
|----------------------------|---|----------------------|
| Brunati et al. 1990 | 4 – 39.5 | [25] |
| Caravaca et al. 1992 | 8.3 – 12.5 | [26] |
| Cazzola et al. 1986 | 3 – 40 | [32] |
| Cermak et al. 1990 | 3.2 – 30.2 | [35] |
| Das et al. 1989 | 5 – 44 | [46] |
| Guillemin et al. 1989 | 4 – 12 Jahre, ♂ / ♀: 3 – 24 > 12 Jahre, ♀: 3 – 24 > 12 Jahre, ♂: 5 – 38 | [56] |
| Invernizzi et al. 1990 | 3 – 100 | [68] |
| Jacobs et al. 1981 | 24 ± 17 | [70] |
| Kaltwasser 1992 | 5 – 40 | [75] |
| Neumeister et al. 1993 | 5 – 39 | [99] |
| Peters et al. 1983 | ♂: 12.7 ± 1.5 ♀: 12.0 ± 1.3 | ¹⁾ [102] |
| Summers et al. 1974 | 25 ± 17 | [122] |
| van der Weyden et al. 1983 | 4 – 47 | [129] |
| Yamada 1978 | 25.2 ± 9.2 | [139] |
| Eigene Untersuchung | Säuglinge: 3.38 – 6.75 ²⁾ Kleinkinder: 2 – 10 Schulkinder: 2 – 26 Adoleszente: 4 – 39 | |

¹⁾ nach Peters: Geschlechtsunterschied nicht signifikant, Verwendung eines gemeinsamen Bereiches

²⁾ $X_{\min} - X_{\max}$

Trotz unterschiedlicher Untersuchungsmethoden sind ähnliche Referenzbereiche beschrieben. Auch meine Verteilungsbereiche liegen etwa in dieser Größenordnung. Die Bereiche für die jüngeren Kinder sind enger und die obere Grenze liegt etwas niedriger als bei den meisten anderen Untersuchern für Erwachsene angegeben wird.

In der Literatur findet sich nur eine Veröffentlichung zum EF bei Kindern. GUILLEMIN et al. (s. Tabelle 17) stellten im Gegensatz zu meinen Untersuchungen Unterschiede im Erythrozytenferritin in Abhängigkeit vom Geschlecht bei Kindern über 12 Jahren fest. Dagegen wurde bei GUILLEMIN et al. auf eine Unterteilung in Altersklassen verzichtet, weil ihre Untersuchungen nur für Jungen über 12 Jahren einen anderen Referenzbereich ergaben; bei Mädchen fanden sich keine Altersunterschiede.

Übereinstimmend mit meinen Ergebnissen konnten verschiedene Untersucher, u. a. JACOBS et al., PETERS et al. und PIPERNO et al., selbst bei Erwachsenen keine Unterschiede des EF in Abhängigkeit vom Geschlecht feststellen [70, 102, 103].

Als Referenzbereich ist der eigene, aus den Kontrollen bestimmte Verteilungsbereich verwendet worden, weil dieser differenzierter, den Altersklassen entsprechend unterteilt ist als der von GUILLEMIN et al. beschriebene [56]. So werden auch mögliche Fehler durch methodische Unterschiede vermieden.

4.4.2 Kritische Betrachtung

Aufgrund geringer Anzahl an Kontrollkindern ($N = 41$) und weiterer Unterteilung in Altersklassen sind, wie oben schon erwähnt, Rückschlüsse auf den Normalbereich mit Vorsicht zu ziehen. Bei dieser Anzahl ist es nicht sinnvoll, zur Schätzung des Normbereiches einen 5 – 95 % Bereich anzugeben und damit den Verteilungsbereich weiter einzuschränken. Die Verteilung entspricht dem Referenzbereich. Für Säuglinge konnten allerdings nur "Matched Pairs" bezüglich Alter und Geschlecht gebildet und somit die "Range" angegeben werden.

Ferner handelt es sich bei den Kontrollen nicht um Gesunde, sondern um Kinder, die aus verschiedenen Gründen die Kinder-Poliklinik aufsuchten. Das Kollektiv aus der Poliklinik stellt somit eine gewisse Selektion dar, so daß

Verallgemeinerungen und Rückschlüsse auf das gesunde Normalkollektiv kritisch betrachtet werden müssen.

Ausgewählt wurden nur Kinder, bei denen anamnestisch keine Hinweise auf Anämie oder Eisenstoffwechselstörungen bzw. kein Anhalt für eine, für die Eisenspeicher nicht repräsentative Erhöhung des SF bestanden. Als Ausschlußkriterien wurden reduziertes Hämoglobin und $SF < 15 \mu\text{g/l}$ bzw. $< 20 \mu\text{g/l}$ für Adoleszente definiert (vgl. auch Abschnitt 2.2). Die untere Grenze des SF ist in Anlehnung an die Literatur gewählt worden. DALLMANN et al. definieren einen Eisenmangel für ein $SF < 10 \mu\text{g/l}$ [44] und MÜLLER-WIEFEL et al. für $SF < 10 \mu\text{g/l}$ [97]. KOERPER et al. legen als Auswahlkriterium ein $SF \geq 12 \mu\text{g/l}$ fest, um einen Eisenmangel bei Kindern auszuschließen [81]. Allerdings ist trotz Definition einer höheren unteren Grenze auch bei normalem SF ein latenter Eisenmangel nicht mit Sicherheit auszuschließen [61, 126]. Erschwerend kommt hinzu, daß SF eine große physiologische Variationsbreite aufweist [116]. Die untere Begrenzung des Verteilungsbereiches des EF hängt von der Anzahl an Kindern mit prälatentem Eisenmangel ab [126].

4.5 Ergebnisse der Patienten

4.5.1 Änderungen im Therapieverlauf

Die Verlaufskurven von Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl lassen einen Anstieg erkennen und verdeutlichen somit ein Ansprechen auf die Behandlung mit rhEPO und daraus resultierender gesteigerter Erythropoese. Die Wirkung von rhEPO wird besonders durch die starke Zunahme der Retikulozytenzahl zu Beginn deutlich. Außerdem liegt die Anzahl der Retikulozyten auch nachfolgend mit leichten Schwankungen auf höherem Niveau als vor der Therapie. Entsprechend nehmen mit Beginn der rhEPO-Therapie Transferrinsättigung und Serumeisen durch erhöhten Eisenverbrauch für die Erythropoese ab. In den Kurven über Veränderungen im Therapieverlauf werden zwei Phasen der Therapie der renalen Anämie sichtbar. Die Behandlung

unterteilt sich in eine Korrekturphase etwa bis zum vierten Monat, die dann in eine Erhaltungsphase übergeht. Diese Veränderungen wurden ähnlich auch bei den ersten Anwendungen von rhEPO bei Erwachsenen mit chronischer Niereninsuffizienz unter Hämodialyse sowie bei präterminaler Niereninsuffizienz beschrieben [22, 53, 80, 112, 133, 142].

SF nimmt nach Therapiebeginn ab, weil zunehmend Eisen aus den Speichern für die Zunahme der Erythropoese mobilisiert wird. Dieser Rückgang des SF-Spiegels unter der rhEPO-Therapie ist so schon von anderen Untersuchern beschrieben worden [22, 53, 112, 121, 133], insbesondere auch bei Kindern mit Hämodialyse [117] und präterminaler Niereninsuffizienz [113]. Bei meiner Untersuchung ist nach anfänglicher Abnahme durch die Wirkung des rhEPO erneut eine langsame Zunahme des SF zu verzeichnen. Diese Zunahme kann zurückgeführt werden auf die gleichzeitig durchgeführte Eisensubstitution, die allmählich auch die Speicher wieder auffüllt und somit zu einem Ansteigen des SF führt.

Eine frühzeitige prophylaktische Eisentherapie zur Vermeidung eines funktionellen Eisenmangels und zur Deckung des gesteigerten Eisenbedarfs wird u. a. von CASATI et al., MACDOUGALL et al., SCHAEFER et al. und VAN WYCK empfohlen [29, 87, 112, 137]. Bei unseren Patienten wurde bei fast allen, ausgenommen zwei mit einer Eisenüberladung, von Studienbeginn an eine orale Eisensubstitution durchgeführt und bei Bedarf Eisen i. v. gegeben.

Da es deutliche Unterschiede in der Höhe der SF-Ausgangswerte zu Therapiebeginn gibt, wird eine Unterteilung in zwei Gruppen nach Höhe des SF vorgenommen. Durch vorangegangene Transfusionen hatten einige Patienten eine Eisenüberladung. Wie von anderen Untersuchern beschrieben, kann eine Eisenüberladung unter einer Behandlung mit rhEPO langsam abgebaut werden [53, 137]. Bei zwei Kindern nahm SF so stark ab, daß im zweiten Monat Eisen i. v. substituiert werden mußte.

Zum EF bei Kindern mit chronischer Niereninsuffizienz gibt es bisher noch keine Untersuchungen. Meine Messungen bei niereninsuffizienten Kindern und rhEPO-Therapie ergeben individuell unterschiedliche Änderungen des EF

im Verlauf der Behandlung. Wie bei anderen Eisenparametern nahm EF bei einigen Kindern erst ab, während bei anderen im ersten Monat eine Zunahme des EF zu verzeichnen ist. Im Verlauf des Beobachtungszeitraumes weisen die meisten Patienten leichte Schwankungen von Zu- und Abnahme auf. Die EF-Meßwerte der Patienten verteilen sich über einen breiten Bereich, liegen jedoch meist unter 40 ag/cell. Bei zwei Patienten, die deutlich höheres EF aufweisen, handelt es sich um den Nonresponder (s. Kapitel 3.3.5) sowie ein Kind mit bekannter Eisenüberladung.

Ähnlich wie in dieser Untersuchung fanden auch CARAVACA et al. bei Erwachsenen mit Hämodialyse und rhEPO-Therapie eine weite Streuung des EF [26]. BRUNATI et al. stellten ebenso eine große "Range" bei erwachsenen Hämodialyse-Patienten fest [25].

Der unterschiedliche Wechsel von Zu- und Abnahme des EF kann im Zusammenhang gesehen werden mit den therapeutischen Interventionen, d. h. der rhEPO-Therapie und Eisensubstitution. Bei einem Säugling fällt beispielsweise eine starke Abnahme des EF mit nachfolgendem steilen Anstieg auf, der sich mit der in diesem Monat durchgeführten intravenösen Eisensubstitution erklären läßt.

Der Gehalt an erythrozytärem Ferritin und die Änderungen werden bestimmt durch das Eisenangebot an die Erythropoese sowie dessen Nachfrage [34, 102]. Eine Abnahme des EF kann demnach verursacht werden durch gesteigerten Eisenverbrauch für die Hämoglobinsynthese oder vermindertes Eisenangebot aufgrund einer Abnahme des Körpereisens. Eine Zunahme des EF dagegen erfolgt durch vermehrtes Eisenangebot, wie z. B. durch Eisensubstitutionstherapie, bzw. bei verminderter Erythropoese mit folglich herabgesetztem Eisenverbrauch.

4.5.2 Nonresponder

Nur eine Patientin (PC), zweifellos auch mit mehreren schwerwiegenden Erkrankungen, sprach nicht oder nur leicht auf die rhEPO-Therapie an und benötigte weiterhin Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten. Nach Radiatio und Chemotherapie wegen eines Rhabdomyosarkoms im Bereich der Glutealmuskulatur kam es zu erheblichen intestinalen Fibrosen. Ernährt wurde sie fast vollständig über einen Broviackkatheter in der Vena cava superior. Außerdem litt sie unter chronischen Cystitiden aufgrund einer Fistel zwischen Colon und Blase.

Vermindertes oder unzureichendes Ansprechen auf eine Therapie mit rhEPO kann durch Eisenmangel [53], Aluminiumintoxikation [30] sowie durch akute und chronische Infektionen verursacht werden [52]. Bei dieser Patientin wurde die renale Anämie von einer chronisch entzündlichen Anämie überlagert und noch verstärkt durch weitere Blutverluste über die Blase. Offen bleibt, ob zusätzlich auch Zytostatika und Strahlentherapie dazu beigetragen haben [95].

Die hohe Leukozytose bei rezidivierenden Infekten verbunden mit ausgeprägter Anämie erschwerten bei dieser Patientin die Erythrozytentrennung zur Bestimmung des erythrozytären Ferritins. Da wenig Ausgangsmaterial zur Verfügung stand, mußte ich die Zellulosemenge reduzieren, um die Ausbeute an Erythrozyten nach der Trennung zu erhöhen. Nach BEUTLER können 99.75 % der Leukozyten bei dieser Trennmethode entfernt werden [14]. Wegen massiver Leukozytose blieben auch nach der Trennung noch mehr Leukozyten in der Zellsuspension zurück.

Ein Grund für die bei dieser Patientin gemessenen äußerst hohen EF-Werte kann der grenzwertige Gehalt an Leukozyten sein, weil der Ferritingehalt in Leukozyten bis zu 1000fach höher liegen kann. Außerdem führt eingeschränkter Eisenverbrauch bei verminderter Erythropoese zu hohem EF. Zusätzlich litt die Patientin PC durch häufige Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten sicher unter einer Eisenüberladung und damit erhöhtem Eisenangebot an die Erythropoese. Ursachen für die bei ihr gemessenen hohen

SF-Werte können im vermehrten Speichereisen wie auch der chronischen Infektionen liegen.

Wegen dieser zahlreichen Schwierigkeiten und multipler Fehlerquellen scheint es hier fraglich, ob das gemessene EF dem Ferritingehalt im Erythrozyten dieser Patientin entspricht. Die in dem Beobachtungszeitraum bei erfolgloser rhEPO-Therapie durchgeführten Transfusionen in den Monaten 2, 3 sowie zweimal im 4. Monat verfälschen das Meßergebnis, weil auch der Ferritinhalt der transfundierten Fremderythrozyten bestimmt wird. Es macht daher wenig Sinn, nach Transfusionen das EF zu bestimmen.

4.6 Vergleich des Erythrozytenferritins von Patienten und Kontrollen

In der Literatur finden sich einige Untersuchungen zum EF bei unterschiedlichen Erkrankungen. Bei verschiedenen Krankheitsbildern kann das EF verändert sein. So wird erhöhtes EF beschrieben bei Defekten in der Hämoglobinsynthese wie Sichelzellanämie, Thalassämie, sideroblastischer Anämie sowie bei Hämochromatose, megaloblastischer Anämie, hämolytischer Anämie und sekundärer Eisenüberladung [20, 33, 43, 70, 86, 102, 103, 128, 129]. Dagegen wurde erniedrigtes EF festgestellt bei Eisenmangel [20, 102], Anämie bei chronischen Erkrankungen und Polycythämia vera [7, 24, 33, 130].

Nur wenig ist bisher berichtet über den Ferritingehalt im Erythrozyten bei chronischer Niereninsuffizienz. BRUNATI et al. fanden bei Erwachsenen mit Hämodialyse und normalem bzw. erniedrigtem SF ein signifikant höheres EF als bei entsprechenden Kontrollen [25]. Auch CARAVACA et al. haben höhere EF-Spiegel bei Hämodialysepatienten mit und ohne rhEPO-Therapie als bei Kontrollen gemessen. Außerdem stellten sie bei den Patienten eine breitere Streuung des EF fest [26].

In Übereinstimmung dazu unterscheidet sich auch in meiner Untersuchung das EF der Patienten signifikant von dem Kontrollen. Signifikante Unterschiede finden sich vor Behandlungsbeginn sowie nach sechsmonatiger Behandlung mit rhEPO. Die von mir gemessenen EF-Werte bei chronisch niereninsuffizienten Kindern lagen innerhalb oder oberhalb des aus den Kontrollen bestimmten Verteilungsbereiches. Zu keinem Zeitpunkt fand sich EF unterhalb der unteren Grenze des Referenzbereiches.

Die deutlichen Unterschiede zwischen dem EF von Patienten und Kontrollen lassen sich durch zahlreiche Veränderungen im Rahmen der Erkrankung und der Therapie mit verschiedenen Einflüssen auf den Eisenstoffwechsel und die Erythropoese erklären. Auch die breitere Streuung der EF-Werte ist darauf zurückzuführen. So fanden sich schon vor Therapiebeginn bei den Patienten unterschiedliche Eisenspeicher von Eisenmangel bis Eisenüberladung. Zu Beginn liegt eine unzureichende Erythropoese vor, während es im Verlauf zu Veränderungen der Erythropoese durch die Eisen- und rhEPO-Therapie und daraus resultierend auch differentem EF-Gehalt der Patienten im Vergleich zu den Kontrollen kommt.

Erhöhtes EF kann verursacht werden durch niedrigen Eisenverbrauch bei unzureichender Erythropoese wie auch durch vermehrtes Eisenangebot. Vor dem Hintergrund einer gesteigerten Erythropoese, wie in dieser Untersuchung durch den Anstieg von Hämoglobin und Retikulozyten erwiesen, kann also davon ausgegangen werden, daß eine EF-Erhöhung aus einem vermehrten Eisenangebot an die Erythropoese durch die Substitutionstherapie resultiert. Die Erythropoese ist ausreichend mit Eisen versorgt, so daß überschüssiges Eisen im Erythrozyten gespeichert wird. Insgesamt lassen die Ergebnisse der Patienten mit normalen bis erhöhten EF-Werten eine trotz gesteigerter Erythropoese ausreichende Eisenversorgung der Erythropoese erkennen.

4.7 Gegenüberstellung von Erythrozytenferritin und Serumferritin

Obwohl in meiner Untersuchung zwischen EF und SF insgesamt ein Zusammenhang festgestellt werden kann, wie im nachfolgenden Kapitel weiter ausgeführt und diskutiert wird, zeigt eine Gegenüberstellung auch deutliche Diskrepanzen.

Im einzelnen scheint ein Zusammenhang nicht immer gegeben zu sein. So findet sich eine auffallende Gruppe von Werten mit erhöhtem SF und nicht gleichermaßen erhöhtem EF. Hohes SF ist also nicht notwendigerweise auch mit hohem EF verbunden. Die Ursache für diese Diskrepanz kann in unzureichender Verfügbarkeit des Speichereisens liegen oder in Zuständen, in denen eine Erhöhung des SF nicht die Höhe des Speichereisens repräsentiert.

Auch können im Therapieverlauf neben konvergenten zugleich divergierende Änderungen von EF und SF festgestellt werden. Die mit Hilfe von rhEPO dosisabhängig gesteigerte Erythropoese und Hämoglobinsynthese führt durch vermehrten Eisenverbrauch zur Abnahme des Speichereisens. Die Therapie mit Eisen füllt diese Speicher langsam wieder auf. Bei einigen Patientengruppen fällt am Anfang der Therapie mit Abnahme des SF auch das EF, d. h. in der Erythropoese ist weniger überschüssiges Eisen vorhanden und wird mehr Eisen für die Erythropoese verbraucht, daß trotz Verbrauch des Speichereisens auch EF abnimmt. Bei anderen dagegen steigt EF gleich an, während SF erst abnimmt, bevor es nach ein bis zwei Monaten weiter ansteigt. SF scheint somit langsamer die Veränderungen der Eisenversorgung der Erythropoese wiederzugeben. Daraus läßt sich die Hypothese ableiten, daß EF ein schnellerer Indikator für die Richtung der Eisenveränderungen unter rhEPO-Therapie und für die direkte Eisenversorgung der Erythropoese bei den untersuchten Patienten ist.

Unterstützt wird die Hypothese durch die Feststellung, daß auf der anderen Seite bei erniedrigtem SF auch normales EF gemessen wurde, i. e. trotz vermindertem Speichereisen mit der EF-Bestimmung eine ausreichende

Eisenversorgung der Erythropoese deutlich wird. Diese läßt sich durch gute Verfügbarkeit von Eisen aus den Speichern und Umverteilung in das erythropoetische Knochenmark erklären. Außerdem ist als weiterer Grund anzunehmen, daß Eisen aus der Substitutionstherapie vor Auffüllen der Eisenspeicher direkt für die Erythropoese verwendet wird.

Diese eigenen Ergebnisse entsprechen denen anderer Untersucher. Zum Vergleich der beiden Parameter EF und SF finden sich in der Literatur drei Untersuchungen bei chronischer Niereninsuffizienz.

BRUNATI et al. stellten ebenfalls Divergenzen zwischen Erythrozytenferritin und SF fest. Ihre Untersuchungen bei erwachsenen Hämodialysepatienten ergaben für vergleichbare normale und erniedrigte SF-Spiegel signifikant höhere EF-Konzentrationen als bei entsprechenden Kontrollen. Bei Eisenüberladung fanden sie eine übereinstimmende Erhöhung von EF und SF. Die höheren EF-Spiegel führten sie auf eine Dyserythropoese, d. h. einen reduzierten Eisenverbrauch bei defekter Hämoglobinsynthese zurück. [25]

Auch CARAVACA et al., die EF bei Hämodialysepatienten mit bzw. ohne rhEPO-Therapie bestimmten, beschreiben ähnliche Mißverhältnisse zwischen Serum- und EF. Mehrere ihrer Patienten mit normalem SF unter rhEPO-Therapie wiesen niedrige EF-Konzentrationen auf. Andererseits hatten nicht alle mit niedrigem SF auch ein inadäquates EF. Letzteres erklären sie mit besserer Bioverfügbarkeit von Eisen aus den Speichern. Außerdem wird in dieser Untersuchung ein Patient als bemerkenswert hervorgehoben, bei dem trotz eines SF von 541 µg/l ein EF von 4.31 ag/cell gemessen wurde. [26]

BHANDARI et al. fanden gleichfalls bei einigen Patienten unter Hämodialyse trotz erniedrigter SF-Konzentrationen noch adäquate EF-Mengen. Außerdem stellten sie bei einigen Patienten einen funktionellen Eisenmangel fest mit reduziertem EF trotz normalem SF. [16]

In Übereinstimmung mit unserer Untersuchung fanden HUANG et al. bei Patienten mit Eisensubstitution einer Eisenmangelanämie eine Zunahme des EF vor Erhöhung der SF-Konzentration [66]. Diese Untersuchung stützt unsere Hypothese, daß EF die direkte Eisenversorgung der Erythropoese

wiedergibt und ein schnellerer Indikator für die Richtung der Eisenveränderungen der Erythropoese ist.

4.8 Zusammenhänge zwischen den Parametern

In meiner Untersuchung zum EF bei Kindern läßt sich in der Kontrollgruppe ein Zusammenhang zwischen EF und SF feststellen mit statistisch signifikanter Korrelation $r_s = 0.589$ für $p < 0.05$. Auch für die untersuchten chronisch niereninsuffizienten Patienten mit rhEPO-Therapie ergibt sich eine signifikante Korrelation zwischen EF und SF; $r_s = 0.418$ für $p < 0.05$. Bei den Patienten korreliert SF mit Tfs, Hb, MCV und MCH. EF dagegen korreliert nur mit Tfs, MCV und MCH; zwischen EF und Hb läßt sich kein Zusammenhang feststellen.

Der Zusammenhang zwischen EF und SF weist auf seine Bedeutung als möglicher Parameter der Eisenspeicher und Eisenversorgung hin. Darüber hinaus scheint SF bei Kindern mit renaler Anämie unter Eisen- und rhEPO-Therapie mit anderen Markern des Eisenstoffwechsels besser zu korrelieren als EF.

In den Publikationen finden sich einige Untersuchungen zum EF bei verschiedenen Erkrankungen. Eine Auswahl beschriebener Korrelationen bzw. auch nicht vorhandener Abhängigkeiten zwischen EF und anderen Untersuchungsparametern geben Tabellen 18 und 19.

Tabelle 18. Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Korrelationen mit Erythrozytenferritin

| Autor und Jahr | Korrelation zwischen EF und ... | untersuchte Gruppe | Literaturangabe |
|----------------------------|--|--|------------------------|
| Bhandari et al. 1997 | SF $r^2 = 0.067$ $p = 0.0035$ Tfs $r^2 = 0.155$ $p = 0.001$ MCV $r^2 = 0.067$ $p < 0.001$ | Hämodialyse | [16] |
| Bodemann et al. 1985 | SF | Eisenüberladung | [20] |
| Brown et al. 1988 | SF gering ($r = 0.53$) | chronische Erkrankungen | [24] |
| Caravaca et al. 1992 | SF $r = 0.67$ $p = 0.0005$ Tfs $r = 0.61$ $p = 0.0005$ | Hämodialyse ohne EPO | [26] |
| | SF $r = 0.62$ $p = 0.0005$ Tfs $r = 0.50$ $p = 0.003$ MCV u. MCH | EPO-Gruppe mit HD | |
| Carpani et al. 1992 | Hb und Ery | Schwangere | [28] |
| Cazzola et al. 1983 | Tfs $r = 0.73$ $p < 0.01$ | Eisenüberladung Normalgruppe | [33] |
| | Tfs $r = 0.48$ $p < 0.05$ | | |
| Cermak et al. 1994 | SF Hb $r = -0.605$ $p < 0.01$ | chron. Leukämie | [37] |
| Cruickshank et al. 1987 | Tfs $r = 0.698$ $p < 0.01$ | Hämochromatose | [43] |
| Huang et al. 1990 | Speichereisen im Knochenmark $r = 0.893$ $p < 0.01$ | verschiedene Patienten | [66] |
| Peters et al. 1983 | Tfs $r_s = 0.74$ $p < 0.05$ | Hämochromatose | [102] |
| Piperno et al. 1984 | SF $r = 0.85$ $p < 0.001$ | Eisenmangel, Gesunde, Eisenüberladung | [103] |
| van der Weyden et al. 1984 | Hb $r = 0.60$ $p < 0.05$ MCV $r = 0.47$ $0.05 < p < 0.1$ Tfs $r = 0.75$ $p < 0.01$ | Polycythaemia vera | [130] |
| van der Weyden et al. 1984 | SF $r = 0.458$ $0.02 < p < 0.05$ Tfs $r = 0.438$ $0.05 < p < 0.1$ | megaloblastische Anämie | [128] |
| van der Weyden et al. 1989 | Tfs SF | nur in Gruppe mit erhöhtem SF und EF | [131] |
| Worwood et al. 1974 | Hb negative Korrelation $r = -0.504$ $p < 0.02$ | Leukämie | [136] |

Tabelle 19. Zusammenstellung von Untersuchungen, in denen keine Korrelation mit Erythrozytenferritin festgestellt wurde

| Autor und Jahr | keine Korrelation zwischen EF und ... | untersuchte Gruppe | Literaturangabe |
|----------------------------|--|--|------------------------|
| Bhandari et al. 1997 | TIBC, Fe | Hämodialyse | [16] |
| Bodemann et al. 1984 | SF | Gesunde und Blutspender | [18] |
| Cruickshank et al. 1987 | SF | Kontrollgruppe | [43] |
| Muyllé et al. 1983 | SF (r = 0.07) (r = 0.46) | Normal Blutspender | [98] |
| Peters et al. 1983 | SF u. Tfs (außer Hämochromatose) | Normalkollektiv, Eisenmangel, Hämochromatose | [102] |
| van der Weyden et al. 1984 | überhaupt keine | Anämie bei chronischen Erkrankungen | [130] |

Wie in den Tabellen ersichtlich, kommen die Untersucher zu recht unterschiedlichen Ergebnissen über Zusammenhänge des EF. Hervorzuheben sind dabei zwei Veröffentlichungen, in denen ebenfalls niereninsuffiziente Patienten untersucht wurden. Dabei führen diese Untersuchungen zu ähnlichen Ergebnissen wie in unserer Studie.

So fanden BHANDARI et al. 1997 in ihrer Untersuchung zum EF bei erwachsenen Hämodialysepatienten gleichfalls Korrelationen mit SF, Tfs und MCV. CARAVACA et al., die Hämodialysepatienten ohne sowie mit rhEPO-Therapie untersuchten, stellten signifikante Korrelationen zwischen EF und SF bzw. Tfs fest. Für die EPO-Gruppe konnte zwischen EF und SF eine Korrelation von $r = 0.62$ ($p = 0.0005$) ermittelt werden. Zwischen EF und Tfs ergab sich eine Korrelation von $r = 0.50$ ($p = 0.003$) [26].

Bei Normalkollektiven beschreiben einige Untersucher Korrelationen des EF, andere wiederum finden keine Zusammenhänge. So ermittelten PIPERNO et al. eine Korrelation mit SF, während CRUISSHANK, MUYLLE und PETERS et al. bei Gesunden keinen Zusammenhang erkennen konnten.

4.9 Veränderungen des Erythrozytenferritins über die Zeit

Die in dieser Studie von mir über einen Beobachtungszeitraum von sechs Monaten durchgeführten Untersuchungen bei chronisch niereninsuffizienten Kindern mit rhEPO-Therapie lassen insgesamt einen leichten Anstieg des SF sowie des EF erkennen. Die Patienten zeigen überwiegend (65 %) im Durchschnitt tendentiell eine Zunahme des EF, während bei 35 % durchschnittlich eine Abnahme vom Ausgangswert überwiegt. Insgesamt kann bei diesen Patienten mit rhEPO-Therapie und Eisensubstitution nach 4, 5 und 6 Monaten ein signifikanter Anstieg des EF im Vergleich zum Ausgangswert vor Therapiebeginn nachgewiesen werden.

Der nachgewiesene signifikante Anstieg des EF zeigt eine zunehmende Eisenspeicherung im Erythrozyten an. Vor dem Hintergrund der erwiesenen, durch rhEPO gesteigerten Erythropoese mit erhöhtem Eisenverbrauch ist von einem vermehrten Eisenangebot an die Erythropoese auszugehen, so daß trotz gesteigertem Verbrauch mehr überschüssiges Eisen gespeichert werden. Dieses vergrößerte Eisenangebot an das Erythron kann auf die erfolgreich durchgeführte Eisensubstitutionsbehandlung zurückgeführt werden.

In Übereinstimmung dazu fanden andere Untersucher ähnliche Ergebnisse mit Zunahme des EF unter einer Eisensubstitution. So berichten CAZZOLA et al. und PETERS et al. über einen Anstieg des EF bei Eisentherapie [33, 102]. Bei Hämodialysepatienten konnten BRUNATI et al. nur bei den Patienten eine Zunahme des EF feststellen, die auf die Eisentherapie ansprachen. Bei Nonrespondern dagegen stieg das EF nicht an [25]. IDAKA und OHHARA et al. wiesen nach Eisentherapie eine Zunahme des sauren Ferritins im Erythrozyten nach [67, 100]. Eine Erhöhung des EF vor Ansteigen des SF stellten HUANG et al. fest [66]. et al. fanden nach i. v. Eisengabe ebenfalls einen signifikanten Anstieg des SF und EF. Allerdings fiel ihnen ein kurzzeitiger, früher Abfall des EF nach i. v. Eisengabe auf [15], der sich so in unserer Untersuchung nicht feststellen ließ.

Aufgrund nicht gleichermaßen erhöhten Eisenangebots an das Erythron bei gesteigerter Erythropoese nimmt auch in meinen Untersuchungsergebnissen

bei einigen Patienten EF zusammen mit SF vorübergehend ab. EF bleibt dabei aber immer innerhalb des Referenzbereiches. Die bei einer Minderheit festgestellte tendentielle Abnahme des EF läßt sich zurückführen auf erhöhten Eisenverbrauch bei überfüllten Eisenspeichern. Bei Eisenüberladung ist diese Abnahme der erhöhten Eisenspeicher indiziert und ein weiterer Hinweis für die erfolgreich den Bedürfnissen angepaßte Eisentherapie.

Zum EF bei Kindern ist bisher nur eine Bestimmung bei Gesunden bekannt [56]. Bei chronischer Niereninsuffizienz finden sich nur Untersuchungen des EF von Erwachsenen mit Hämodialyse, einzelne davon auch mit rhEPO-Therapie. Zu präterminaler Niereninsuffizienz dagegen ist nichts zum EF veröffentlicht.

In der Untersuchung von HÖRL et al. bei erwachsenen Hämodialysepatienten mit rhEPO-Therapie wird von einer Abnahme des SF wie auch des EF nach drei Monaten berichtet. Bei CAPD-Patienten stellten sie nach einer Abnahme des SF bis zum dritten Monat nach einem Jahr einen Anstieg des SF auf den Ausgangswert fest [65]. Im Gegensatz zu HÖRL et al. [65] ist in unserer Studie bei mehreren Patienten von Therapiebeginn an ein Anstieg des EF zu beobachten. Die Ursache dafür kann in besserer Verfügbarkeit von Eisen aus den Speichern liegen oder vermehrter Eisensubstitution, daß trotz gesteigerter Erythropoese zunehmend überschüssiges Eisen in Erythrozyten gespeichert werden kann.

CARAVACA et al. und CERMAK et al. führten ebenfalls Untersuchungen zum EF bei Patienten mit Hämodialyse- und rhEPO-Therapie durch, machen aber keine Angaben zu Änderungen im Verlauf oder beschreiben nur eine Abnahme der Eisenspeicher [26, 36].

Zum SF finden sich Untersuchungen zu Änderungen unter rhEPO-Therapie, die weitestgehend mit unseren Ergebnissen übereinstimmen [55, 65].

4.10 **Schlußfolgerung**

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchung zum EF läßt sich feststellen, daß EF einen möglichen Indikator für den Eisenstoffwechsel und Eisenspeicherung bei gesunden und chronisch niereninsuffizienten Kindern darstellt. So korreliert das EF wie SF mit anderen Parametern des Eisenstoffwechsels. Darüber hinaus kann auch eine Korrelation mit SF festgestellt werden.

Durch die Untersuchungsergebnisse mit altersabhängig differierendem EF wird deutlich, daß bei Kindern Altersunterschiede im Eisenstoffwechsel der Erythropoese mit unterschiedlichen Referenzbereichen des EF bei Interpretationen der Eisenspeicher des Erythrozyten berücksichtigt werden müssen.

Bei den untersuchten niereninsuffizienten Patienten finden sich im niedrigen SF-Bereich kaum Unterschiede des EF im Vergleich zum SF. Es kann aber ein großer Bereich festgestellt werden, in dem hohe SF-Konzentrationen gemessen werden und EF nicht in dem Maße erhöht ist. SF scheint in diesem Bereich "falsch" und für das Speichereisen nicht repräsentativ erhöhte Werte vorzuspiegeln. Die EF-Werte dagegen sind nicht irreführend erhöht und damit nach meiner Beurteilung repräsentativ für die Eisenversorgung der Erythropoese. Eine EF-Messung scheint deshalb m. E. besonders in niedrigen Bereichen einen Vorteil gegenüber SF zu bieten und sinnvoll, um frühzeitig einen sich entwickelnden bzw. funktionellen Eisenmangel festzustellen. Diese Ergebnisse führen somit zu der Annahme, daß EF als stabiler, direkter Indikator der Eisenversorgung der Erythropoese bei den untersuchten Kindern angesehen werden kann, der diese zuverlässiger und repräsentativer als das SF wiederzugeben scheint.

Die Longitudinalstudie erlaubt zudem die Hypothese, daß EF bei niereninsuffizienten Kindern unter rhEPO-Therapie schneller die Richtung der Eisenveränderungen der Erythropoese anzeigt als SF.

Darüber hinaus erlaubt die Longitudinalmessung die Annahme, daß das zur Anwendung gekommene Eisensubstitutionsschema als geeignet angesehen

werden kann. Dadurch wird bei den behandelten niereninsuffizienten Kindern zu den Untersuchungszeitpunkten eine ausreichende Eisenversorgung der unter rhEPO gesteigerten Erythropoese gewährleistet.

Insgesamt lassen die Untersuchungsergebnisse dieser Studie also die Schlußfolgerung zu, daß EF ein geeigneterer Indikator für die Eisenversorgung der Erythropoese ist als das SF. Eine EF-Bestimmung scheint damit theoretisch sinnvoll, wobei der praktische Nutzen jedoch durch die beträchtliche Aufwendigkeit des Verfahrens relativiert wird.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit ist eine Bestimmung der Eisenspeicher bei renaler Anämie bei Kindern mit chronischer Niereninsuffizienz unter Therapie mit rekombinantem humanem Erythropoietin (rhEPO) vor dem Hintergrund der Hypothese über Erythrozytenferritin (EF, ag/cell) als möglichen, neuen diagnostischen Parameter. In dieser Studie wurden dafür an der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf über einen Beobachtungszeitraum von einem halben Jahr Untersuchungen zum Ferritingehalt in Erythrozyten und Serum bei 17 Kindern mit chronischer Niereninsuffizienz unter rhEPO-Therapie im Alter von 0.7 bis 17 Jahren durchgeführt. Als Kontrollkollektiv dienten 41 Kinder im Alter von 0.7 bis 20 Jahren ohne Anämie bzw. Eisenmangel aus der Kinderpoliklinik.

Da bei den Kontrollen ein Zusammenhang zwischen EF und Alter festgestellt werden kann, werden für das EF Referenzbereiche für verschiedene Altersklassen bestimmt. Für Säuglinge ergibt sich eine Range von 3.38 bis 6.75 ag/cell, für Kleinkinder ein Verteilungsbereich von 2 bis 10 ag/cell, für Schulkinder von 2 bis 26 ag/cell und für Adoleszente von 4 bis 39 ag/cell. Darüber hinaus kann bei den Kontrollen ein Zusammenhang zwischen EF und SF festgestellt werden mit $r_s = 0.59$ für $p < 0.05$.

Das EF der Patienten unterscheidet sich statistisch signifikant ($p < 0.05$) vor sowie nach sechsmonatiger Behandlung mit rhEPO von den Kontrollen. Zu keinem Zeitpunkt findet sich EF unterhalb der unteren Grenze des Referenzbereiches. Die Veränderungen von EF und SF im Verlauf der Therapie verlaufen häufig nicht parallel; so weisen mehrere Patienten einen Anstieg des EF vor einem Anstieg des SF auf. Insgesamt läßt sich bei den Patienten ein leicht ansteigendes EF feststellen und nach 4, 5 und 6 Monaten können signifikante Unterschiede im Vergleich zum EF vor Therapiebeginn nachgewiesen werden. Wie beim SF finden sich außerdem beim EF signifikante Korrelationen zu anderen Parametern des Eisenstoffwechsels (Tfs: $r_s = 0.408$; MCV: $r_s = 0.415$; MCH: $r_s = 0.408$; für $p < 0.05$). Zum Hb und absoluter

Retikulozytenzahl dagegen lassen sich keine signifikanten Korrelationen mit dem EF feststellen ($r_s = 0.051$ bzw. $r_s = 0.152$). Darüber hinaus kann auch bei den Patienten insgesamt ein signifikanter Zusammenhang zwischen EF und SF nachgewiesen werden ($r_s = 0.418$ für $p < 0.05$). Zugleich wurde aber daneben ein Bereich mit hohem SF deutlich, in dem EF nicht gleichermaßen erhöht ist.

Als Ergebnis dieser Untersuchung kann festgestellt werden, daß EF ein geeigneter Indikator für die Eisenspeicher und Eisenversorgung der Erythropoese bei gesunden und niereninsuffizienten Kindern ist. Bei der Interpretation hingegen müssen bei Kindern unterschiedliche, altersabhängige Referenzbereiche berücksichtigt werden. Offenbar spiegelt EF, insbesondere bei niereninsuffizienten Kindern unter rhEPO-Therapie, weniger "falsch" bzw. irreführend erhöhte Werte als das SF vor, und zeigt nach meiner Beurteilung die Richtung der Eisenveränderungen unter der Therapie schneller und repräsentativer an. Eine EF-Bestimmung scheint also besonders in niedrigen Bereichen Vorteile gegenüber SF zu bieten und zuverlässiger einen funktionellen Eisenmangel anzuzeigen. Darüber hinaus erlaubt die in der Longitudinalmessung nachgewiesene ausreichende Eisenversorgung der Erythropoese die Annahme, daß das zur Anwendung gekommene Eisen-substitutionsschema als geeignet angesehen werden kann. Allerdings ist der praktische Nutzen einer Messung des EF durch die Aufwendigkeit der angewendeten Methodik eingeschränkt, so daß für die klinische Anwendung entsprechende Weiterentwicklungen abzuwarten sind.

6 ANHANG

Tabelle. Einzelwerte im Monat 0 vor Therapiebeginn

| Initialen Patienten | EF ag/cell | SF µg/l | Fe µmol/l | Tf mg/dl | Tfs % | Reti /10 ⁹ Ery | Reti abs. /nl |
|------------------------|---------------|------------|--------------|-------------|-----------|------------------------------|------------------|
| MBB | - | 177 | 4.8 | 236 | 8.1 | 26 | 84.50 |
| JB | 10.32 | 641 | 9.9 | 261 | 15.1 | 15 | 49.50 |
| HJA | - | 722 | 20.0 | 285 | 27.9 | - | - |
| MCL | 3.68 | 21 | 10.0 | 425 | 9.4 | 24 | 73.92 |
| CI | 5.43 | 18 | 2.8 | 293 | 3.8 | 29 | 95.99 |
| MK | 73.86 | 1163 | 37.8 | 191 | 78.8 | 2 | 4.92 |
| FF | 8.27 | 15 | 5.9 | 258 | 9.1 | 20 | 60.60 |
| TA | 12.23 | 54 | 12.9 | 242 | 21.2 | 4 | 7.84 |
| SP | 5.45 | 29 | 14.3 | 275 | 20.7 | - | - |
| MG | 4.39 | 38 | 13.3 | 391 | 13.5 | 11 | 40.04 |
| DD | 7.29 | 54 | 11.3 | 304 | 17.4 | 14 | 40.18 |
| DT | 3.79 | 756 | 13.3 | 151 | 3.4 | 3 | 9.15 |
| JP | 14.07 | 34 | 10.7 | 304 | 14.0 | 5 | 15.25 |
| MB | 20.04 | - | 28.6 | 271 | 42.0 | 9 | 25.38 |
| LB | 4.71 | 40 | 14.9 | - | - | 4 | 10.64 |
| SA | 19.81 | 1126 | 102.0 | 136 | 298.5 | 3 | 7.38 |
| PC | 160.62 | 2886 | - | 73 | - | 3 | 6.39 |
| Initialen Patienten | Ery /pl | Hb g/dl | Hk % | MCV fl | MCH pg | MCHC g/dl | rhEPO U/kg/Mo |
| MBB | 3.25 | 8.3 | 25.3 | 77.8 | 25.5 | 32.8 | 360 |
| JB | 3.30 | 9.5 | 26.3 | 78.9 | 28.6 | 36.3 | 360 |
| HJA | 3.18 | 9.2 | 27.6 | 86.9 | 28.9 | 33.3 | 360 |
| MCL | 3.08 | 8.3 | 24.7 | 80.3 | 27.0 | 33.6 | 360 |
| CI | 3.31 | 8.5 | 24.6 | 74.2 | 25.6 | 34.6 | 360 |
| MK | 2.46 | 6.9 | 21.3 | 86.5 | 27.9 | 32.3 | 450 |
| FF | 3.03 | 8.1 | 24.9 | 82.2 | 26.8 | 32.6 | 360 |
| TA | 1.96 | 5.4 | 15.8 | 80.7 | 27.5 | 34.0 | 360 |
| SP | 3.22 | 9.2 | 26.4 | 82.1 | 28.6 | 34.8 | 360 |
| MG | 3.64 | 9.3 | 28.0 | 80.9 | 28.4 | 35.1 | 450 |
| DD | 2.87 | 7.5 | 22.1 | 76.9 | 26.3 | 34.2 | 450 |
| DT | 3.05 | 9.0 | 25.4 | 83.1 | 29.3 | 35.3 | 360 |
| JP | 3.05 | 8.8 | 25.2 | 82.6 | 28.8 | 34.9 | 450 |
| MB | 2.82 | 8.9 | 24.3 | 86.0 | 31.6 | 36.6 | 450 |
| LB | 2.66 | 8.2 | 22.8 | 85.8 | 30.8 | 35.8 | 450 |
| SA | 2.46 | 7.4 | 22.1 | 90.0 | 29.9 | 33.3 | 450 |
| PC | 2.13 | 6.8 | 20.2 | 95.1 | 31.9 | 33.7 | 450 |

Tabelle. Einzelwerte nach einem Monat rhEPO-Therapie

| Initialen Patienten | EF ag/cell | SF µg/l | Fe µmol/l | Tf mg/dl | Tfs % | Reti /10 ³ Ery | Reti abs. /nl |
|------------------------|---------------|------------|--------------|-------------|-----------|------------------------------|------------------|
| MBB | 6.81 | 18 | 10.8 | 237 | 18.1 | 35 | 137.55 |
| JB | 4.56 | 30 | 5.7 | 276 | 8.2 | 11 | 46.31 |
| HJA | 15.31 | 634 | 12.8 | - | - | 32 | 94.08 |
| MCL | 2.85 | 13 | 10.4 | 368 | 11.3 | 32 | 128.00 |
| CI | 18.17 | 10 | <2 | 314 | <2.54 | 17 | 68.34 |
| MK | 160.44 | 1092 | 13.1 | 207 | 25.2 | 27 | 62.64 |
| FF | 7.52 | 29 | 9.0 | 272 | 13.2 | 33 | 109.23 |
| TA | 8.04 | 53 | 7.5 | 255 | 11.7 | 25 | 66.75 |
| SP | 13.05 | 8.8 | 10.9 | 368 | 11.8 | 14 | 50.96 |
| MG | 6.94 | 30 | 10.4 | 254 | 16.3 | 38 | 148.96 |
| DD | 8.77 | 29 | 5.4 | 305 | 8.8 | 14 | 46.20 |
| DT | 6.63 | 644 | 5.2 | 158 | 13.1 | 44 | 136.40 |
| JP | 21.16 | 25 | 11.1 | 305 | 14.5 | 53 | 202.99 |
| MB | 24.05 | 24.2 | 10.4 | 303 | 13.7 | 49 | 176.89 |
| LB | 5.20 | 26.7 | 4.8 | 451 | 4.2 | 13 | 42.12 |
| SA | 16.67 | 762 | 8.4 | 189 | 17.7 | 33 | 93.39 |
| PC | - | 2969 | 9.0 | 87 | 41.2 | 23 | 39.10 |
| Initialen Patienten | Ery /pl | Hb g/dl | Hk % | MCV fl | MCH pg | MCHC g/dl | rhEPO U/kg/Mo |
| MBB | 3.93 | 9.6 | 29.4 | 74.8 | 24.4 | 32.7 | 360 |
| JB | 4.21 | 10.8 | 33.4 | 79.3 | 25.7 | 32.3 | 360 |
| HJA | 2.94 | 8.3 | 25.4 | 86.5 | 28.2 | 32.6 | 310 |
| MCL | 4.00 | 10.4 | 30.8 | 76.9 | 26.0 | 33.8 | 360 |
| CI | 4.02 | 10.6 | 30.9 | 76.8 | 26.3 | 34.3 | 630 |
| MK | 2.32 | 7.5 | 22.8 | 98.5 | 32.2 | 32.7 | 450 |
| FF | 3.31 | 8.7 | 27.2 | 82.2 | 26.4 | 32.1 | 360 |
| TA | 2.67 | 7.2 | 20.8 | 77.9 | 26.8 | 34.4 | 360 |
| SP | 3.64 | 10.0 | 30.9 | 85.1 | 27.5 | 32.4 | 540 |
| MG | 3.92 | 11.2 | 33.3 | 84.9 | 28.7 | 33.8 | 540 |
| DD | 3.30 | 8.1 | 26.0 | 79.6 | 24.5 | 30.7 | 675 |
| DT | 3.10 | 9.4 | 27.2 | 87.6 | 30.2 | 34.5 | 540 |
| JP | 3.83 | 11.1 | 32.3 | 84.3 | 29.0 | 34.4 | 540 |
| MB | 3.61 | 10.9 | 32.1 | 88.8 | 30.2 | 34.0 | 540 |
| LB | 3.24 | 9.7 | 27.8 | 85.6 | 29.9 | 34.9 | 630 |
| SA | 2.83 | 8.7 | 26.6 | 93.3 | 30.7 | 32.7 | 585 |
| PC | 1.70 | 5.4 | 17.3 | 102.0 | 31.8 | 31.2 | 720 |

Tabelle. Einzelwerte im zweiten Monat

| Initialen Patienten | EF ag/cell | SF µg/l | Fe µmol/l | Tf mg/dl | Tfs % | Reti /10 ³ Ery | Reti abs. /nl |
|------------------------|---------------|------------|--------------|-------------|-----------|------------------------------|------------------|
| MBB | 6.13 | 13 | 6.3 | 238 | 10.5 | 25 | 101.25 |
| JB | 3.41 | 17 | 8.2 | 303 | 10.8 | 12 | 53.40 |
| HJA | 8.64 | 485 | 11.1 | - | - | 15 | 46.50 |
| MCL | 3.66 | 26 | 12.6 | 433 | 11.6 | 11 | 47.08 |
| CI | 16.79 | 11 | 6.6 | 317 | 8.3 | 17 | 72.76 |
| MK | 136.79 | 1222 | 41.2 | 186 | 88.2 | 8 | 25.12. |
| FF | 10.66 | 26 | 9.9 | 283 | 13.9 | 7 | 25.48 |
| TA | 8.44 | 53 | 7.9 | 268 | 11.7 | 23 | 62.10 |
| SP | 22.14 | 57 | 9.5 | 294 | 12.9 | 54 | 216.00 |
| MG | 7.54 | 49 | 9.7 | 315 | 12.3 | 15 | 71.10 |
| DD | 9.03 | 25 | 5.9 | 300 | 7.4 | 15 | 57.45 |
| DT | 6.62 | 560 | 6.8 | 153 | 17.7 | 14 | 53.90 |
| JP | 28.97 | 28 | 10.0 | 300 | 13.3 | 62 | 263.50 |
| MB | 24.56 | 28 | 13.8 | 313 | 17.6 | 9 | 42.12 |
| LB | 19.37 | 22 | 8.8 | 260 | 13.5 | 40 | 148.40 |
| SA | 12.59 | 814 | 4.1 | 140 | 11.7 | 21 | 59.43 |
| PC | 135.50 | 4076 | 9.7 | 61.6 | 62.7 | 43 | 84.71 |
| Initialen Patienten | Ery /pl | Hb g/dl | Hk % | MCV fl | MCH pg | MCHC g/dl | rhEPO U/kg/Mo |
| MBB | 4.05 | 9.6 | 30.0 | 74.0 | 23.7 | 32.0 | 360 |
| JB | 4.45 | 11.4 | 34.5 | 77.6 | 25.6 | 33.0 | 360 |
| HJA | 3.10 | 8.6 | 26.0 | 83.9 | 27.7 | 33.1 | 435 |
| MCL | 4.28 | 11.2 | 33.7 | 78.7 | 26.2 | 33.3 | 360 |
| CI | 4.28 | 10.9 | 32.0 | 74.8 | 25.4 | 34.0 | 720 |
| MK | 3.14 | 10.5 | 31.5 | 100.5 | 33.5 | 33.3 | 360 |
| FF | 3.64 | 10.0 | 29.9 | 82.3 | 27.1 | 33.0 | 360 |
| TA | 2.70 | 6.9 | 20.6 | 76.1 | 25.4 | 33.4 | 360 |
| SP | 4.00 | 11.2 | 33.1 | 82.6 | 28.0 | 33.8 | 675 |
| MG | 4.74 | 13.4 | 39.7 | 83.8 | 28.2 | 33.7 | 540 |
| DD | 3.83 | 10.2 | 31.2 | 81.4 | 26.5 | 32.6 | 675 |
| DT | 3.85 | 11.7 | 33.7 | 87.5 | 30.4 | 34.7 | 540 |
| JP | 4.25 | 12.4 | 36.1 | 85.1 | 29.2 | 34.3 | 360 |
| MB | 4.68 | 14.6 | 43.1 | 92.1 | 31.2 | 33.9 | 360 |
| LB | 3.71 | 10.7 | 32.7 | 88.1 | 29.0 | 32.9 | 630 |
| SA | 2.83 | 8.0 | 26.0 | 91.9 | 28.4 | 30.9 | 720 |
| PC | 1.97 | 6.3 | 2.1 | 107.6 | 32.0 | 29.7 | 675 |

Tabelle. Einzelwerte im dritten Monat

| Initialen Patienten | EF ag/cell | SF µg/l | Fe µmol/l | Tf mg/dl | Tfs % | Reti /10 ³ Ery | Reti abs. /nl |
|------------------------|---------------|------------|--------------|-------------|-----------|------------------------------|------------------|
| MBB | 37.26 | 63 | 2.0 | 209 | 3.8 | 10 | 43.70 |
| JB | 8.34 | 25 | 9.1 | 224 | 16.2 | 9 | 41.58 |
| HJA | 4.02 | 336 | 12.2 | 256 | 19.0 | 34 | 110.84 |
| MCL | 3.42 | 15 | 9.0 | 356 | 10.1 | 20 | 79.00 |
| CI | 13.65 | 24 | 18.4 | 230 | 31.8 | 5 | 21.90 |
| MK | 158.59 | 788 | 24.3 | 155 | 62.4 | 26 | 86.84 |
| FF | 10.50 | 31 | 12.5 | 249 | 20.0 | 27 | 104.22 |
| TA | 7.77 | 32 | 9.8 | 264 | 14.8 | 28 | 75.04 |
| SP | 28.98 | 39 | 31.9 | 245 | 51.8 | 11 | 48.62 |
| MG | 8.98 | 22 | 7.9 | 331 | 9.5 | 7 | 35.00 |
| DD | 7.81 | 18 | 4.7 | 300 | 10.1 | 9 | 35.10 |
| DT | 7.24 | 580 | 7.3 | 154 | 18.9 | 8 | 33.76 |
| JP | 22.72 | 27 | 10.4 | 300 | 13.8 | 25 | 107.75 |
| MB | 16.28 | 24 | 11.5 | 346 | 13.2 | 1 | 5.03 |
| LB | 21.47 | 29 | 8.8 | 320 | 10.9 | 28 | 130.48 |
| SA | 8.86 | 915 | 4.7 | 143 | 13.1 | 42 | 97.86 |
| PC | 55.21 | 3116 | 16.5 | 64.9 | 101.2 | 36 | 72.72 |
| Initialen Patienten | Ery /pl | Hb g/dl | Hk % | MCV fl | MCH pg | MCHC g/dl | rhEPO U/kg/Mo |
| MBB | 4.37 | 10.0 | 31.6 | 72.4 | 22.9 | 31.6 | 360 |
| JB | 4.62 | 12.0 | 34.5 | 74.6 | 26.0 | 34.8 | 360 |
| HJA | 3.26 | 9.0 | 28.4 | 87.1 | 27.6 | 31.7 | 540 |
| MCL | 3.95 | 10.1 | 30.2 | 76.4 | 25.6 | 33.5 | 360 |
| CI | 4.38 | 10.9 | 32.6 | 74.2 | 25.0 | 33.6 | 765 |
| MK | 3.34 | 11.1 | 34.0 | 101.8 | 33.4 | 32.8 | 360 |
| FF | 3.86 | 10.5 | 30.9 | 80.0 | 27.3 | 34.1 | 360 |
| TA | 2.68 | 7.0 | 21.1 | 78.6 | 25.8 | 32.8 | 480 |
| SP | 4.42 | 12.3 | 37.4 | 84.8 | 27.8 | 32.9 | 450 |
| MG | 5.00 | 14.3 | 41.3 | 82.4 | 28.5 | 34.6 | 405 |
| DD | 3.90 | 10.5 | 32.5 | 83.3 | 26.8 | 32.2 | 900 |
| DT | 4.22 | 12.6 | 36.8 | 87.3 | 29.8 | 34.2 | 540 |
| JP | 4.31 | 12.5 | 36.5 | 84.6 | 29.0 | 34.3 | 360 |
| MB | 5.03 | 15.5 | 45.2 | 89.8 | 30.8 | 34.3 | 360 |
| LB | 4.66 | 12.7 | 40.8 | 87.6 | 27.2 | 31.1 | 495 |
| SA | 2.33 | 6.4 | 20.0 | 85.9 | 27.6 | 32.2 | 900 |
| PC | 2.02 | 6.5 | 20.5 | 101.3 | 32.2 | 31.7 | 270 |

Tabelle. Einzelwerte im vierten Monat

| Initialen Patienten | EF ag/cell | SF µg/l | Fe µmol/l | Tf mg/dl | Tfs % | Reti /10 ³ Ery | Reti abs. /nl |
|------------------------|---------------|------------|--------------|-------------|-----------|------------------------------|------------------|
| MBB | 59.61 | 139 | 9.9 | 199 | 19.8 | 9 | 37.98 |
| JB | 5.47 | 34 | 5.7 | 243 | 9.3 | 8 | 39.44 |
| HJA | 3.49 | - | 10.8 | - | - | - | - |
| MCL | 4.90 | 25 | 14.9 | - | - | 12 | 50.04 |
| CI | 11.67 | 26 | 5.6 | 265 | 8.4 | 12 | 56.16 |
| MK | 95.29 | 874 | 16.8 | 214 | 31.2 | 17 | 58.82 |
| FF | 10.54 | 67 | 10.4 | 224 | 18.5 | 8 | 63.56 |
| TA | 12.42 | 105 | 11.6 | 271 | 17.0 | 34 | 90.78 |
| SP | 24.64 | 31 | 19.3 | 223 | 34.5 | 33 | 163.02 |
| MG | 9.66 | 34 | 5.7 | 324 | 7.0 | 8 | 41.68 |
| DD | 9.58 | 83 | 12.0 | 283 | 16.9 | 18 | 72.00 |
| DT | 6.27 | 478 | 8.0 | 155 | 20.5 | 10 | 36.50 |
| JP | 22.59 | 42 | 11.3 | 249 | 18.1 | 2 | 8.18 |
| MB | 19.63 | - | 43.1 | 250 | 68.6 | <1 | <5.07 |
| LB | 28.90 | 70 | 17.7 | 297 | 23.7 | 40 | 208.80 |
| SA | 7.65 | - | - | - | - | 36 | 81.72 |
| PC | 48.99 | 4679 | 14.3 | 66 | 86.2 | 46 | 157.78 |
| Initialen Patienten | Ery /pl | Hb g/dl | Hk % | MCV fl | MCH pg | MCHC g/dl | rhEPO U/kg/Mo |
| MBB | 4.22 | 10.2 | 29.9 | 70.8 | 24.2 | 34.1 | 360 |
| JB | 4.93 | 12.5 | 38.7 | 78.6 | 25.4 | 32.3 | 360 |
| HJA | 4.46 | 12.5 | 37.6 | 84.2 | 28.0 | 33.3 | 540 |
| MCL | 4.17 | 10.9 | 32.6 | 78.0 | 26.2 | 33.5 | 360 |
| CI | 4.68 | 11.8 | 35.1 | 75.0 | 25.2 | 33.6 | 900 |
| MK | 3.46 | 11.1 | 33.6 | 97.3 | 32.2 | 33.1 | 360 |
| FF | 4.07 | 10.9 | 32.3 | 79.4 | 26.7 | 33.7 | 400 |
| TA | 2.67 | 7.0 | 21.6 | 81.0 | 26.1 | 32.2 | 600 |
| SP | 4.94 | 14.2 | 43.0 | 87.0 | 28.7 | 33.0 | 180 |
| MG | 5.21 | 15.3 | 45.3 | 86.8 | 29.4 | 33.9 | 0 |
| DD | 4.00 | 10.3 | 32.9 | 82.2 | 25.9 | 31.4 | 855 |
| DT | 3.65 | 10.7 | 32.6 | 89.3 | 29.2 | 32.8 | 540 |
| JP | 4.09 | 11.7 | 33.8 | 82.6 | 28.5 | 34.5 | 360 |
| MB | 5.07 | 15.2 | 42.7 | 84.2 | 30.0 | 35.6 | 0 |
| LB | 5.22 | 15.0 | 46.9 | 89.8 | 28.8 | 32.1 | 0 |
| SA | 2.27 | 6.4 | 18.6 | 81.7 | 26.5 | 32.4 | 900 |
| PC | 3.43 | 10.7 | 32.5 | 93.3 | 31.2 | 32.9 | 585 |

Tabelle. Einzelwerte im fünften Monat

| Initialen Patienten | EF ag/cell | SF µg/l | Fe µmol/l | Tf mg/dl | Tfs % | Reti /10 ³ Ery | Reti abs. /nl |
|------------------------|---------------|------------|--------------|-------------|-----------|------------------------------|------------------|
| MBB | 87.29 | 269 | 13.3 | - | - | 16 | 65.12 |
| JB | 8.14 | 24 | 15.8 | 224 | 28.1 | 20 | 90.00 |
| HJA | - | - | - | - | - | - | - |
| MCL | 3.85 | 20 | 19.5 | - | - | 5 | 21.95 |
| CI | 19.48 | 49 | 5.7 | 264 | 8.6 | 10 | 48.20 |
| MK | 96.86 | 834 | 7.5 | 161 | 18.5 | 33 | 92.40 |
| FF | 18.09 | 63 | - | 268 | - | 22 | 89.98 |
| TA | 14.10 | 75 | 9.0 | 265 | 13.5 | 6 | 19.98 |
| SP | 18.72 | 64 | 15.4 | 264 | 32.2 | 23 | 115.23 |
| MG | 12.50 | 344 | 13.5 | 232 | 23.2 | 11 | 29.37 |
| DD | 21.71 | 83 | 9.3 | 283 | 13.1 | 17 | 70.89 |
| DT | 6.31 | 614 | 6.3 | 154 | 16.3 | 10 | 38.80 |
| JP | 21.12 | 42 | 7.5 | 246 | 12.1 | 19 | 70.68 |
| MB | 37.79 | - | 15.4 | - | - | 6 | 20.58 |
| LB | 23.00 | 110 | 20.2 | 271 | 29.7 | 6 | 28.68 |
| SA | 5.68 | 758 | 100.0 | 104 | 382.7 | 31 | 87.11 |
| PC | 86.82 | 4405 | 16.7 | 90 | 73.9 | 38 | 96.14 |
| Initialen Patienten | Ery /pl | Hb g/dl | Hk % | MCV fl | MCH pg | MCHC g/dl | rhEPO U/kg/Mo |
| MBB | 4.07 | 10 | 29.6 | 72.7 | 24.5 | 33.6 | 360 |
| JB | 4.50 | 12.3 | 34.4 | 76.4 | 27.4 | 35.9 | 360 |
| HJA | - | - | - | - | - | - | - |
| MCL | 4.39 | 11.7 | 34.9 | 79.6 | 26.7 | 33.5 | 360 |
| CI | 4.82 | 12.4 | 37.2 | 77.2 | 25.6 | 33.2 | 900 |
| MK | 2.80 | 9.2 | 27.7 | 98.9 | 32.7 | 33.1 | 360 |
| FF | 4.09 | 11.1 | 32.6 | 79.7 | 27.2 | 34.1 | 400 |
| TA | 3.33 | 9.2 | 27.4 | 82.3 | 27.7 | 33.6 | 600 |
| SP | 5.01 | 14.4 | 42.6 | 84.9 | 28.7 | 33.8 | 0 |
| MG | 2.67 | 10.4 | 29.8 | 81.1 | 28.3 | 34.9 | 90 |
| DD | 4.17 | 11.4 | 35.0 | 83.9 | 27.3 | 32.6 | 945 |
| DT | 3.88 | 11.6 | 33.5 | 86.3 | 29.9 | 34.6 | 540 |
| JP | 3.72 | 10.9 | 31.9 | 85.9 | 29.4 | 34.2 | 360 |
| MB | 3.43 | 10.4 | 29.9 | 87.3 | 30.3 | 34.8 | 180 |
| LB | 4.78 | 13.4 | 41.3 | 86.4 | 28.1 | 32.5 | 90 |
| SA | 2.81 | 7.3 | 23.2 | 82.7 | 26.0 | 31.5 | 900 |
| PC | 2.53 | 8.5 | 24.4 | 96.5 | 33.6 | 34.8 | 720 |

Tabelle. Einzelwerte nach einem halben Jahr rhEPO-Therapie

| Initialen Patienten | EF ag/cell | SF µg/l | Fe µmol/l | Tf mg/dl | Tfs % | Reti /10 ³ Ery | Reti abs. /nl |
|-------------------------------|----------------------|-------------------|---------------------|--------------------|------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| MBB | 148.44 | 284 | 17.4 | - | - | 23 | 94.53 |
| JB | 7.85 | 36 | 5.8 | 282 | 8.2 | 3 | 13.86 |
| HJA | - | - | - | - | - | - | - |
| MCL | 4.90 | 46 | 20.1 | - | - | 14 | 57.68 |
| CI | 20.48 | 86 | 18.6 | 206 | 35.9 | 2 | 8.30 |
| MK | 104.71 | 834 | 13.3 | - | - | 30 | 88.80 |
| FF | 21.18 | 55 | - | 315 | - | 35 | 143.15 |
| TA | 10.15 | 31 | 2.8 | 246 | 4.5 | 22 | 64.02 |
| SP | 20.93 | 185 | 27.9 | 207 | 53.6 | 38 | 158.46 |
| MG | - | - | - | - | - | - | - |
| DD | 23.36 | 43 | 6.4 | 264 | 9.7 | 42 | 181.86 |
| DT | 7.20 | 903 | 10.6 | 156 | 27.0 | 1 | 3.74 |
| JP | 20.94 | 16 | 10.4 | 286 | 14.5 | 8 | 31.44 |
| MB | 34.03 | - | 28.5 | - | - | 27 | 80.19 |
| LB | 22.05 | 113 | 15.6 | 267 | 23.3 | 40 | 176.00 |
| SA | 4.93 | 840 | - | - | - | 14 | 40.88 |
| PC | 121.38 | 4792 | - | - | - | 29 | 66.41 |
| Initialen Patienten | Ery /pl | Hb g/dl | Hk % | MCV fl | MCH pg | MCHC g/dl | rhEPO U/kg/Mo |
| MBB | 4.11 | 10.3 | 31.6 | 77 | 25.1 | 32.5 | 360 |
| JB | 4.62 | 12.6 | 36.7 | 79.4 | 27.3 | 34.4 | 360 |
| MCL | 4.12 | 10.9 | 32.5 | 78.8 | 26.4 | 33.4 | 540 |
| CI | 4.15 | 10.7 | 32.0 | 77.2 | 25.9 | 33.5 | 900 |
| HJA | - | - | - | - | - | - | - |
| MK | 2.96 | 9.8 | 28.8 | 97.3 | 33.0 | 33.9 | 360 |
| FF | 4.09 | 11.3 | 33.4 | 81.6 | 27.8 | 34.0 | 400 |
| TA | 2.91 | 7.8 | 24.3 | 83.6 | 26.8 | 32.1 | 600 |
| SP | 4.17 | 12.2 | 34.4 | 80.2 | 29.3 | 35.5 | 0 |
| MG | - | - | - | - | - | - | - |
| DD | 4.33 | 11.9 | 37.2 | 85.9 | 27.5 | 32.0 | 1080 |
| DT | 3.74 | 11.4 | 31.9 | 85.4 | 30.5 | 35.7 | 540 |
| JP | 3.93 | 11.5 | 33.5 | 85.2 | 29.4 | 34.4 | 360 |
| MB | 2.97 | 9.4 | 24.7 | 83.3 | 31.8 | 38.1 | 360 |
| LB | 4.40 | 12.6 | 37.2 | 84.6 | 28.6 | 33.9 | 360 |
| SA | 2.92 | 8.0 | 25.3 | 86.7 | 27.5 | 31.7 | 900 |
| PC | 2.29 | 7.4 | 23.4 | 102.3 | 32.4 | 31.7 | 720 |

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Adamson JW, Eschbach J, Finch CA: The kidney and erythropoiesis. *Am J Med* 1968; 44: 725-733.
2. Addison GM, Beamish MR, Hales CN, Hodkins M, Jacobs A, Llewellyn P: An immunoradiometric assay for ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. *J Clin Path* 1972; 25: 326-329.
3. Agner K: Erythrocyte catalase. *Arkiv Kem Mineral Geol* 1943; 17: 1.
4. Ali FM, May A, Jones BM, Jacobs A: Enrichment of erythroblasts from human bone marrow using complement-mediated lysis: measurement of ferritin. *Br J Haematol* 1983; 53: 227-235.
5. Arosio P, Levi S, Santambrogio P, Cozzi A, Rovida E, Corsi B, Tamborini E, Spada S, Albertini A: Chemico-physical and functional differences between H and L chains of human ferritin. In: Hershko C, Konijn AM, Aisen P (eds.): *Progress in iron research*. Plenum Press New York and London 1994; 13-21.
6. Bachmann S, Le Hir M, Eckardt K-U: Colocalization of erythropoietin mRNA and ecto-5'-nucleotidase immunoreactivity in peritubular cells of rat renal cortex indicates that fibroblasts produce erythropoietin. *J Histochem Cytochem* 1993; 41: 335-341.
7. Balaban EP, Sheehan RG, Demian SE, Cox JV, Frenkel EP: Evaluation of bone marrow iron stores in anemia associated with chronic disease: a comparative study of serum and red cell ferritin. *Am J Hematol* 1993; 42: 177-181.
8. Behringwerke, Marburg, Germany, Gebrauchsinformation: Ria-gnost[®] Ferritin.
9. Bender-Götze CH, Pilar CE v., Fischer N: Vergleichende Bestimmung von indirekt (totale Eisenbindungskapazität) und direkt gemessenen Transferrin bei gesunden und kranken Kindern. *M Schr Kinderheilk* 1980; 128: 598.

10. Bergmann M, Grützmaker P, Heuser J, Kaltwasser JP: Iron metabolism under rEPO therapy in patients on maintenance hemodialysis. In *J Artif Organs* 1990; 13: 109-112.
11. Bernát I: Eisenstoffwechsel. Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1981.
12. Bessis MC, Breton-Gorius J: Ferritin and ferruginous micelles in normal erythroblasts and hypochromic hypersideremic anemias. *Blood* 1959; 14:423.
13. Bessis MC, Breton-Gorius J: Iron metabolism in the bone marrow as seen by electron microscopy: A critical review. *Blood* 1962; 19:635-663
14. Beutler E, West C, Blume K-G: The removal of leukocytes and platelets from whole blood. *J Lab Clin Med* 1976; 88: 328-333.
15. Bhandari S, Norfolk D, Brownjohn A, Turney J: Evaluation of RBC ferritin and reticulocyte measurements in monitoring response to intravenous iron therapy. *Am J Kidney Dis* 1997; 30: 814-821.
16. Bhandari S, Owda AK, Kendall RG, Moran N, Norfolk D, Brownjohn A, Turney J: Red cell ferritin, a marker of iron deficiency in hemodialysis patients. *Ren Fail* 1997; 19: 771-780.
17. Bodemann HH, Rieger A, Bross K, Löhr GW: Ferritin concentrations in erythrocytes and plasma of patients with iron deficiency anemia before and during iron substitution. *Int Soc Haematol* 1981; *Eur Afr Div*, 6th Meeting (Abstract): p. 138.
18. Bodemann HH, Rieger A, Bross K, Schröter-Urban H, Löhr GW: Erythrocyte and plasma ferritin in normal subjects, blood donors and iron deficiency anemia patients. *Blut* 1984; 48: 131-137.
19. Bodemann HH, Rieger A, Löhr GW: Intraerythrozytäre Ferritinkonzentration und Eisenbestand. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 1982; 88: 993-995.
20. Bodemann HH, Tanzi-Fetta RF, Schröter-Urban H, Volk BA, Keul J, Löhr GW: Ferritin in erythrocytes and plasma of patients with iron overload. *Blut* 1985; 51: 25-31.
21. Bodemann HH, Thomas L: Blutbild. In: Thomas L (Hrsg.): *Labor und Diagnose*. 4., überarb. u. erw. Aufl. Die Med. Verl.-Ges. Marburg 1992; 580-626.

22. Bommer J, Alexiou C, Müller-Bühl U, Eifert J, Ritz E: Recombinant human erythropoietin therapy in haemodialysis patients—dose determination and clinical experience. *Nephrol Dial Transplant* 1987; 2: 238 – 242.
23. Bothwell TH, Pirizio-Biroli G, Finch CA: Iron absorption. *J Lab Clin Med* 1958; 51: 24.
24. Brown RD, Benfatto J, Gibson J, Kronenberg H: Red cell ferritin and iron stores in patients with chronic disease. *Eur J Haematol* 1988; 40: 136-141.
25. Brunati C, Piperno A, Guastoni C, Perrino ML, Civati G, Teatini U, Perego A, Fiorelli G, Minetti L: Erythrocyte ferritin in patients on chronic hemodialysis treatment. *Nephron* 1990; 54: 219-223.
26. Caravaca F, Vagace JM, Aparicio A, Groiss J, Pizzaro JL, Alonso N, Garcia MC, Arrobas M, Cubero J, Esparrago J, Sanchez-Casado E: Assessment of iron status by erythrocyte ferritin in uremic patients with or without recombinant human erythropoietin therapy. *Am J Kidney Dis* 1992; 20: 249-254.
27. Carnot P, Deflandre C: Sur l' activité hémopoïétique des différents organes au cours de la régénération du sang. *Comptes rendus hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris* 1906; 143: 432-435.
28. Carpani G, Marini F, Ghisoni L, Buscaglia M, Sinigaglia E: Red cell and plasma ferritin in a group of normal fetuses at different ages of gestation. *Eur J Haematol* 1992; 49: 260-262.
29. Casati S, Campise M, Ponticelli C: Correction of anaemia with recombinant human erythropoietin despite low serum ferritin. *Nephrol Dial Transplant* 1991; 6: 452-456.
30. Casati S, Passerini P, Campise MR, Graziani G, Cesana B, Perisic M, Ponticelli C: Benefits and risks of protracted treatment with human recombinant erythropoietin in patients having haemodialysis. *Br Med J* 1987; 295: 1017-1020.
31. Cavill I, MacDougall IC: Erythropoiesis and iron supply in patients treated with erythropoietin. *Erythropoiesis* 1992; 3: 50-55.
32. Cazzola M, Ascarì E: Red cell ferritin as a diagnostic tool. *Br J Haematol* 1986; 62: 209-213.

33. Cazzola M, Arosio P, Barosi G, Bergamaschi G, Dezza L, Ascari E: Ferritin in the red cells of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. *Br J Haematol* 1983; 53: 659-665.
34. Cazzola M, Dezza L, Bergamaschi G, Barosi G, Bellotti V, Caldera D, Ciriello MM, Quaglini S, Arosio P, Ascari E: Biologic and clinical significance of red cell ferritin. *Blood* 1983; 62: 1078-1087.
35. Cermak J, Brabec V: The importance of determination of ferritin levels in erythrocytes. *Cas Lek Cesk* 1990; 129 (43): 1357-60.
36. Cermak J, Gregora E, Lachmanova J, Brabec V: [Iron stores in patients with chronic kidney failure treated with recombinant human erythropoietin]. *Vnitr Lek (XFY)* 1994; 40: 174-178.
37. Cermak J, Voglova J, Brabec V, Neuwirt J, Chrobak L: Red cell ferritin and iron stores in chronic granulocytic leukemia. *Neoplasma* 1994; 41: 217-220.
38. Clarnette RM, Tampi R, Choo P: Red cell ferritin: its role in the assessment of iron stores in endurance runners. *Aust NZ J Med* 1990; 20: 263-264.
39. Cook JD: Clinical evaluation of iron deficiency. *Semin Hematol* 1982; 19: 6-18.
40. Cook JD, Lipschitz DA, Miles LEM, Finch CA: Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects. *Am J Clin Nutr* 1974; 27: 681-687.
41. Cook JD, Skikne BS: Intestinal regulation of body iron. *Blood reviews* 1987; 1: 267.
42. Crichton RR: Ferritin: structure, synthesis and function. *N Engl J Med* 1971; 284: 1413-1422.
43. Cruickshank MK, Ninness J, Curtis A, Barr RM, Flanagan PR, Ghent CN, Valberg LS: Usefulness of erythrocyte ferritin analysis in hereditary hemochromatosis. *CMAJ* 1987; 136: 1259-1264.
44. Dallmann PR, Siimes MA: Percentile curves for hemoglobin and red cell volume in infancy and childhood. *J Pediat* 1979; 94: 26-31.
45. Daniel K: Klinische Prüfung von rekombinantem humanem Erythropoietin zur Behandlung der renalen Anämie bei Kindern mit präterminaler Niereninsuffizienz. *Med Dissertation* 1996. Universität Hamburg.

46. Das KC, Sattar MA: Serum and red cell ferritin content in the evaluation of iron status in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatology* 1989; 18: 399-405.
47. Dörner K: Transferrin und Eisenbindungskapazität. In: Thomas L (Hrsg.): *Labor und Diagnose*. 4., überarb. u. erw. Aufl. Die Med. Verl.-Ges. Marburg 1992; 397-400.
48. Drysdale JW: Ferritin phenotypes: structure and metabolism. In: *Ciba Foundation Symposium 51: Iron metabolism*. Elsevier Amsterdam 1977; 41-57.
49. dtv-Brockhaus, F. A. Brockhaus Wiesbaden u. dtv München 1982.
50. Erslev AJ: Humoral regulation of red cell production. *Blood* 1953; 8: 349-357.
51. Eschbach JW, Adamson JW: Anemia of end-stage renal disease (ESRD). *Kidney Int* 1985; 28: 1-5.
52. Eschbach JW, Adamson JW: Recombinant human erythropoietin: implications for nephrology. *Am J Kidney Dis* 1988; 11: 203-209.
53. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW: Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. *N Engl J Med* 1987; 316: 73-78.
54. Falbe-Hansen I, Lothe K: In vivo incorporation of ⁵⁹Fe into nonhem iron and hemoglobin of red blood cells. *Acta Physiol Scand* 1962; 54: 97-104.
55. Frenken LAM, Verberckmoes R, Michielsen P, Koene RAP: Efficacy and tolerance of treatment with recombinant-human erythropoietin in chronic renal failure (pre-dialysis) patients. *Nephrol Dial Transplant* 1989; 4: 782-786.
56. Guillemin C, Plomteux G, Dezier JF, Paris M, Pressac M, Revenant MC, Vernet M: Valeurs de référence de la ferritine érythrocytaire chez l'enfant et l'adulte. *Ann Biol Clin (Paris)* 1989; 47: 203-206.
57. Harrison PM, Bauminger ER, Hechel D, Hodson NW, Nowik I, Treffry A, Yewdall SJ: Mechanism of Fe(II) oxidation and core formation in ferritin. In: Hershko C, Konijn AM, Aisen P (eds.): *Progress in iron research*. Plenum Press New York and London 1994; 1-12.
58. Harrison PM, Clegg GA, May K: Ferritin structure and function. In: Jacobs A, Worwood M (eds.): *Iron in Biochemistry and Medicine II*. Academic Press London and New York 1980: 131-171.

59. Harrison PM, Ford GC, Rice DW, Smith JMA, Treffry A, White JL: Structural and functional studies on ferritins. *Biochem Soc Trans* 1987; 744-748.
60. Harrison PM, Hoare RJ, Hoy TG, Macara IG: Ferritin and haemosiderin: structure and function. In: Jacobs A, Worwood M (eds.): *Iron in Biochemistry and Medicine*. Academic Press London and New York 1974: 73-114.
61. Hausmann K: Klinische Perspektiven der Diagnose und Prognose des Eisenmangels. *Dtsch Med Wochenschr* 1987; 112: 929-931.
62. Hausmann K, Drews J, Trampe R, Wedekind I, Göltner E, Kuse R, Düllmann J: Die Serumferritinbestimmung in der Diagnostik des Eisenmangels. In: Kaltwasser JP, Werner E (Hrsg.): *Serumferritin*. Springer Berlin-Heidelberg-New York 1980; 104-129.
63. Heinrich C: Diagnostischer Wert des Serumferritins für die Beurteilung der Gesamtkörperreserven. In: Kaltwasser JP, Werner E (Hrsg.): *Serumferritin. Methodische und klinische Aspekte*. Springer Berlin-Heidelberg-New York 1980; 58-96.
64. Hodgetts J, Peters SW, Hoy TG, Jacobs A: The ferritin content of normoblasts and megaloblasts from human bone marrow. *Clin Sci* 1986; 70: 47-51.
65. Hörl WH, Dreyling K, Steinhauer HB, Engelhardt R, Schollmeyer P: Iron status of dialysis patients under rhuEPO therapy. In: Schaefer RM, Heidland A, Hörl WH (eds.): *Erythropoietin in the 90s. Contrib Nephrol (Karger, Basel)* 1990; 87: 78-86.
66. Huang YW, Lin GW, Ding XJ: [Evaluation of erythrocyte basic ferritin in the diagnosis of anemia. *Chung Hua Nei Tsa Chih* 1990; 29: 604-8, 638.
67. Idaka K: [Red cell ferritin in non leukaemic various erythropoietic disorders]. *Hokkaido-Igaku-Zasshi* 1994; 69: 555-562.
68. Invernizzi R, Cazzola M, Fazio P de, Rosti V, Ruggeri G, Arosio P: Immunocytochemical detection of ferritin in human bone marrow and peripheral blood cells using monoclonal antibodies specific for the H and L subunit. *Br J Haematol* 1990; 76: 427-432.
69. Low CL, Bailie GR, Eisele G: Sensivity and specificity of transferrin saturation and serum ferritin as markers of iron status after intravenous iron dextran in hemodialysis patients. *Ren Fail* 1997; 19: 781-788.

70. Jacobs A, Peters SW, Bauminger ER, Eikelboom J, Ofer S, Rachmilewitz EA: Ferritin Concentration in normal and abnormal erythrocytes measured by immunoradiometric assay with antibodies to heart and spleen ferritin and Mössbauer spectroscopy. *Br J Haematol* 1981; 49: 201-207.
71. Jacobs A, Worwood M: Ferritin in serum. Clinical and biochemical implications. *N Engl J Med* 1975; 292: 951-956.
72. Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, Neill SD, Kaufman RJ, Mufson A, Seehra J, Jones SS, Hewick R, Fritsch EF, Kawakita M, Shimizu T, Miyake T: Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature* 1985; 313: 806-810.
73. Jacobs S, Kasten BL Jr., Demott WR, Wolfson WJ: *Laboratory Handbook*. Lexi-Comp. Inc., Hudson, Cleveland 1990; 476.
74. Jelkmann W, Wolff M: Bestimmung der Erythropoietin-Aktivität im Serum. *Dtsch Med Wschr* 1991; 116: 230.
75. Kaltwasser JP: Ferritin. In: Thomas L (Hrsg.): *Labor und Diagnose*. 4., überarb. u. erw. Aufl. Die Med. Verl.-Ges. Marburg 1992; 401-7.
76. Kaltwasser JP: Indikation zur Serumferritin-Bestimmung. *Dtsch Med Wochenschr* 1980; 10: 319-321.
77. Kaltwasser JP, Werner E: Serumferritin als Kontrollparameter bei oraler Eisentherapie. *Dtsch Med Wochenschr* 1977; 102: 1150-1055.
78. Kaltwasser JP, Werner E: Die Bedeutung des Serumferritins bei der Diagnose und Verlaufsbeobachtung des Eisenmangels. *Therapiewoche* 1978; 28: 7301-7314.
79. Kaltwasser JP, Werner E (Hrsg.): *Serumferritin: Methodische und klinische Aspekte*. Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1980.
80. Koene RAP, Frenken LAM, Wetzels JFM, Sluiter HE, Schrijver G, Verberckmoes R, Michielsen P: Treatment of predialysis patients with recombinant human erythropoietin. In: Baldamus CA, Scigalla P, Wieczorek L, Koch KM (eds.): *Erythropoietin: From molecular structure to clinical application*. *Contrib Nephrol* (Karger, Basel) 1989; 76: 242-249.
81. Koerper MA, Dallmann PR: Serum iron concentration and transferrin saturation in the diagnosis of iron deficiency in children: normal developmental changes. *J Pediat* 1977; 91: 870-874.
82. Konijn AM, Hershko C, Izak G: Ferritin synthesis and iron uptake in developing erythroid cells. *Am J Hematol* 1979; 6: 373-379.

83. Kühn K, Nonnast-Daniel B, Grützmacher P, Grüner J, Pfäff W, Baldamus CA, Scigalla P: Analysis of initial resistance of erythropoiesis to treatment with recombinant erythropoietin. *Contr Nephrol* (Karger, Basel) 1988; 66: 94-103.
84. Laufberger V: *Bull Soc Chim Biol* 1937; 19: 1575-1582.
85. Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA: A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. *New Engl J Med* 1974; 290: 1213-1216.
86. Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA: Ferritin in formed blood elements. *Proc Soc Exp Biol Med* 1975; 148: 358-364.
87. Macdougall IC, Hutton RD, Cavill I, Coles GA, Williams JD: Poor response to treatment of renal anaemia with erythropoietin corrected by iron given intravenously. *Br Med J* 1989; 299: 157-8.
88. Maxwell PH, Ferguson DJP, Osmond MK, Pugh CW, Heryet A, Doe BG, Johnson MH, Ratcliffe PJ: Expression of a homologously recombined erythropoietin-SV 40 T antigen fusion gene in mouse liver: evidence for erythropoietin production by Ito cells. *Blood* 1994; 84: 1823-1830.
89. Miles LEM, Lipschitz DA, Bieber CP, Cook JD: Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. *Anal Biochem* 1974; 61: 209-224.
90. Miyake T, Kung CK-H, Goldwasser E: Purification of human erythropoietin. *J Biol Chem* 1977; 252: 5558-5564.
91. Müller-Wiefel DE: Diagnostische Bedeutung des Serumferritins bei renaler Anämie. *Dt Med Wschr* 1980; 105: 1096-1097.
92. Müller-Wiefel DE: Klinik der renalen Anämie. *Dialyse-Journal* 1985; 11: 10-22.
93. Müller-Wiefel DE: Renale Anämie im Kindesalter-Untersuchungen zur Pathogenese und Kompensation. Thieme Stuttgart-New York 1982; 251-254
94. Müller-Wiefel DE, Amon O: Use of recombinant human erythropoietin in children undergoing dialysis. *Semin Dial* 1994; 7: 413-420.
95. Müller-Wiefel DE, Amon O, Schärer K, Daniel K, Leder A: Erythropoietin treatment in children with renal anemia. In: Pagel H, Weiss CH, Jelkmann W (eds.): *Pathophysiology and pharmacology of erythropoietin*. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg 1992; 153-163.

96. Müller-Wiefel DE, Scigalla P: Specific problems of renal anemia in childhood. *Contr Nephrol* (Karger, Basel) 1988; 66: 71-84.
97. Müller-Wiefel DE, Wolf E, Schönberg D, Schärer K: Serum ferritin concentrations in children with chronic renal failure. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1978; 15: 625-627.
98. Muylle L, Vyver FL Van De, Blockx PPG: Erythrocyte ferritin content in idiopathic haemochromatosis and alcoholic liver disease with iron overload. *Br Med J* 1983; 286: 2064-2065.
99. Neumeister A, Schmidt U, Günther C, Senf L: Zum Verhalten des Erythrozytenferritins bei verschiedenen Anämieformen. 5. Rostock-Schweriner-Eisen-Anämie-Symposium, Schwerin 11. 11.-13. 11. 1993.
100. Ohhara Y, Mae Y, Uehara Y: [Clinical significance of erythrocyte ferritin.] *Rinsho Ketsueki* 1991; 32: 592-598.
101. Pagel H, Jelkmann W: Erythropoietin. *Dtsch Med Wschr* 1989; 114: 959-963.
102. Peters SW, Jacobs A, Fitzsimons E: Erythrocyte ferritin in normal subjects and patients with abnormal iron metabolism. *Br J Haematol* 1983; 53: 211-216.
103. Piperno A, Taddei MT, Sampietro M, Fargion S, Arosio P, Fiorelli G: Erythrocyte ferritin in thalassemia syndromes. *Acta Haematol* 71 1984; 71: 251-256.
104. Porstmann B: *Retikulozyten*. Verlag Wachholz Nürnberg 1993.
105. Porter FS: Erythrocyte ferritin. *Pediat Res* 1973; 7: 954-957.
106. Rajamäki A, Irjala K, Aitio A: Immunochemical determination of serum transferrin. *Scand J Haematol* 1979; 23: 227.
107. Reissmann KR: Studies on the mechanism of erythropoietic stimulation in parabiotic rats during hypoxia. *Blood* 1950; 5: 372-380.
108. Saarinen UM, Siimes MA: Developmental changes in serum iron, total iron-binding capacity, and transferrin saturation in infancy. *J Pediatr* 1977; 91: 875-877, 1027.
109. Saarinen UM, Siimes MA: Serum ferritin in the assessment of iron nutrition in healthy infants. *Acta Paediatr Scand* 1978; 67: 745-751.
110. Sachs L: *Angewandte Statistik: Anwendung statistischer Methoden*. 7., völlig Neubearb. Aufl., Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1992.

111. Sachs L: Statistische Methoden: Planung und Auswertung. 7., überarb. Aufl., Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1993.
112. Schaefer RM, Kürner B, Zech M, Krahn R, Heidland A: Therapie der renalen Anämie mit rekombinantem humanem Erythropoietin. Dtsch Med Wschr 1988; 4: 125-129.
113. Schärer K, Klare B, Braun A, Dressel P, Gretz N: Treatment of renal anemia by subcutaneous erythropoietin in children with preterminal chronic renal failure. Acta Paediatr 1993; 82: 953-958.
114. Schulte FJ, Spranger J (Hrsg.): Lehrbuch der Kinderheilkunde. 27., neu bearb. Aufl., Gustav Fischer Stuttgart-Jena-New York 1993.
115. Sieper, Kahlau (Behringwerke AG), persönliche Mitteilung, 1990.
116. Siimes MA, Addiego JE, Dallmann PR: Ferritin in serum: diagnosis of iron deficiency and iron overload in infants and children. Blood 1974; 43: 581-590.
117. Siimes MA, Ronnholm KA, Antikainen M, Holmberg C: Factors limiting the erythropoietin response in rapidly growing infants with congenital nephrosis on a peritoneal dialysis regimen after nephrectomy. J Pediatr 1992; 120: 44-48.
118. Simon C: Pädiatrie. Lehrbuch der Kinderheilkunde und Jugendmedizin. 7. Aufl., Schattauer Stuttgart-New York 1995.
119. Simon TL: Induced erythrocythemia and athletic performance. Sem Hematol 1994; 31: 128-133.
120. Speyer B E, Fielding J: Ferritin as a cytosol transport intermediate in human reticulocytes. Br J Haematol 1979; 42: 255-267.
121. Stutz B, Rhyner K, Vögtli J, Binswanger U: Erfolgreiche Behandlung der Anämie bei Hämodialyse-Patienten mit rekombinantem humanem Erythropoietin. Schweiz Med Wschr 1987; 117: 1397-1402.
122. Summers M, Worwood M, Jacobs A: Ferritin in normal erythrocytes, lymphocytes, polymorphs, and monocytes. Br J Haematol 1974; 28: 19-26.
123. Thomas L: Probenaufbewahrung. In: Thomas L (Hrsg.): Labor und Diagnose. 4., überarb. u. erw. Aufl. Die Med. Verl.-Ges. Marburg 1992; 1848-1849.
124. Unger A, Hershko C. Hepatocellular uptake of ferritin in the rat. Br J Haematol 1974; 28: 169-180.

125. Vyver FL Van De, Vanheule AA, Majelyne WM, D'Haese D, Blockx PP, Bekaert AB, Buysens N, Keersmaecker W De, Broe ME: Serum ferritin as a guide for iron stores in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 1984; 26: 451-458.
126. Weippl G: Die Serumferritinbestimmung im Kindesalter. In: Kaltwasser JP, Werner E (Hrsg.): Serumferritin. Methodische und klinische Aspekte. Springer Berlin-Heidelberg-New York 1980; 185-193.
127. Werner E, Kaltwasser JP: Nachweisverfahren zur Serumferritinbestimmung. In: Kaltwasser JP, Werner E (Hrsg.): Serumferritin. Methodische und klinische Aspekte. Springer Berlin-Heidelberg-New York 1980; 34-51.
128. Weyden MB Van Der, Fong H: Red cell basic ferritin content of patients with megaloblastic anaemia due to vitamin B₁₂ or folate deficiency. *Scand J Haematol* 1984; 33: 373-377.
129. Weyden MB Van Der, Fong H, Hallam L, Breidahl MJ: A rapid and simple assay for human erythrocyte ferritin. *Clin Chim Acta* 1983; 127: 397-401.
130. Weyden MB Van Der, Fong H, Hallam L, Breidahl MJ: Basic ferritin content of red cells of patients with anemia and polycythemia vera. *Pathology* 1984; 16: 419-423.
131. Weyden MB Van Der, Fong H, Hallam L, Harrison C: Red cell ferritin and iron overload in heterozygous beta-thalassemia. *Am J Hematol* 1989; 30: 201-205.
132. Wick M, Pinggera W, Lehmann P: Ferritin im Eisenstoffwechsel. Diagnostische Strategien. Springer Wien-New York 1991; 37-54.
133. Winearls CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Downing MR, Cotes PM: Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* 1986; 2: 1175-1178.
134. Worwood M: Ferritin in human tissues and serum. *Clin Hematol* 1982; 11: 275-307.
135. Worwood M: Serum ferritin. In: Jacobs A, Worwood M (eds.): Iron in Biochemistry and Medicine. Academic Press London and New York 1980; 203-244.

136. Worwood M, Summers M, Miller F, Jacobs A, Whittaker JA: Ferritin in blood cells from normal subjects and patients with leukaemia. *Br J Haematol* 1974; 28: 27-35.
137. Wyck DB Van: Iron management during recombinant human erythropoietin therapy. *Am J Kidney Dis* 1989; 14, Suppl 1: 9-13.
138. Wyck DB Van, Stivelman JC, Ruiz J, Kirilin LF, Murray AK, Ogden DA: Iron status in patients receiving erythropoietin for dialysis-associated anemia. *Kidney Int* 1989; 35: 712-716.
139. Yamada H: Characterization of serum and red cell ferritin in hematological disorders. *Act Haem Jap* 1978; 41: 1334-1338.
140. Yamada H, Gabuzda TG: Erythroblast ferritin, synthesis, structure and function in developing erythroid cells. *J Lab Clin Med* 1974; 83: 478-488.
141. Zähringer J: Struktur und Funktion von Ferritin. In: Kaltwasser JP, Werner E (Hrsg.): *Serumferritin. Methodische und klinische Aspekte*. Springer Berlin-Heidelberg-New York 1980; 1-24.
142. Zins B, Drüeke T, Zingraff J, Berheri L, Kreis H, Naret C, Delons S, Castaigne JP, Peterlongo F, Casadevall N, Varet B: Erythropoietin treatment in anaemic patients on haemodialysis. *Lancet* 1986; ii: 1329.

8 DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt in erster Linie meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Dirk E. Müller-Wiefel (Leiter der Arbeitsgruppe für Pädiatrische Nephrologie der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf) für die Überlassung des Themas, seine immer konstruktive Unterstützung und seine freundlichen Ermutigungen.

Für die Hilfe bei der Zusammenstellung des Untersuchungsmaterials sowie der Laborergebnisse und Patientendaten bedanke ich mich bei Herrn Dr. O. Amon, Schwester Angelika Perlitt aus der nephrologischen Ambulanz und den Schwestern der Poliklinik, der Kinderstation 5 und der Kinderdialyse.

Ganz besonders möchte ich auch Frau Dr. K. Daniel danken, die mir in allen Phasen der Arbeit eine hilfsbereite, verständnisvolle Gesprächspartnerin war.

Herrn Prof. Dr. A. Kohlschütter danke ich für die Möglichkeit, in seinem Stoffwechsellabor meine Untersuchungen durchführen zu können. Im Zusammenhang dazu möchte ich ganz herzlich auch Frau I. Deuter, Frau M. Knorre, Frau I. Wernicke und Herrn PD Dr. Ch. Hübner für die immer hilfreiche und nette, fröhliche Zusammenarbeit danken. Ebenso danke ich Frau Salchow aus dem Hormonlabor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, die mir bei der Ferritinmessung zur Seite stand.

Die Bestimmung des Blutbildes im Rahmen meiner Ferritin-Untersuchungen verdanke ich den stets hilfsbereiten Assistentinnen der Hämatologie, Abteilung für Klinische Chemie (Prof. Dr. C. Wagener). Außerdem danke ich den Mitarbeiterinnen der Abteilung für Medizinische Biochemie am Institut für Physiologische Chemie (Prof. Dr. H. C. Heinrich) für die kooperative Mithilfe bei der Erprobung der Methode. Gedankt sei auch dem Hormonlabor und dem Zentrallabor der Abteilung für Klinische Chemie (Prof. Dr. C. Wagener) für weitere Untersuchungsergebnisse.

Für die ausführliche statistische Beratung und konstruktive Unterstützung bei der Auswertung der Ergebnisse bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Berger, Direktor der Abteilung für Mathematik in der Medizin am Institut für Mathematik und Datenverarbeitung in der Medizin.

9 LEBENSLAUF

| | | |
|--------------------------|---|----------------------------|
| Zur Person | Welge, Erdmuthe Amelie geb. am 24. April 1967 in Celle, ledig wohnhaft in Hegestraße 29, 20249 Hamburg | |
| Schulbildung | Hermann-Billing-Grundschule, Hermannsburg | 1973 – 1977 |
| | Gymnasium der Christian-Schule, Hermannsburg | 1977 – 1986 |
| Studium | Studium der Humanmedizin, Universität Hamburg | 1987 - 1994 |
| | Praktisches Jahr (Pädiatrie Universitätsklinikum Hamburg- Eppendorf, Chirurgie und Innere Medizin AK St. Georg, Hamburg) | 1993 - 1994 |
| Ärztliche Prüfung | 1. Abschnitt | März 1990 |
| | 2. Abschnitt | März 1993 |
| | 3. Abschnitt | Mai 1994 |
| | Gesamtnote Gut | |
| Berufstätigkeit | III. und IV. Psychiatrische Abteilung am Klinikum Nord / Ochsenzoll, Hamburg | Juli 1999 – Januar 2001 |
| | Approbation | Februar 2001 |
| | Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie des Kindes- und Jugendalters am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf | seit Mai 2001 |
| | | |

10 ERKLÄRUNG

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um eine Zulassung zur Promotion beworben habe.

Amelie Welge