

1. Einleitung

In vielen Bereiche der modernen Medizin ist der Einsatz von Blutkomponenten in Akutsituationen oder über längere Dauer unumgänglich, exemplarisch sind hier die Traumatologie und die Hämatologie zu nennen. Trotz großer Forschungsaktivitäten konnten bisher keine Blutersatzstoffe bis zur Praxistauglichkeit entwickelt werden. Autologe Verfahren zur Einsparung von Blutkomponenten, wie etwa die präoperative Eigenblutspende und die Retransfusion von Wundblut, sind auf wenige operative Eingriffe beschränkt. Die moderne Medizin ist deshalb dauerhaft auf die Blutspende gesunder Freiwilliger angewiesen, um ihren Bedarf an Blutkomponenten zu decken. Aufgabe der transfusionsmedizinischen Einrichtungen ist auf der einen Seite die Bereitstellung einer ausreichenden Zahl an Blutkonserven, auf der anderen Seite die Gewährleistung eines effektiven Spenderschutzes und die Einhaltung des hippokratischen Prinzips des „primum nil nocere“. Die häufigste und wichtigste Nebenwirkung wiederholter Blutspenden ist der Eisenverlust. Dieses Problem ist zwar seit mehr als 50 Jahren bekannt, wird aber bisher national und international nur wenig beachtet. Studien zur Eisenbilanz bei Blutspendern existieren nur begrenzter Zahl und beschränken sich zumeist auf die Beschreibung von Methoden zur Erfassung oder auf Angaben zur Häufigkeit des Eisenmangels. Die Fragen zur Prävention und Therapie des Eisenmangels bei Blutspendern sind zum größten Teil noch nicht beantwortet. Bisher existieren weltweit keine Leitlinien, Empfehlungen oder Standards zur Diagnostik und Prävention des Eisenmangels bei Blutspendern. In den meisten Ländern schreiben die nationalen Richtlinien lediglich einen minimalen Spendeabstand und eine maximale Spendefrequenz vor. Diese Vorgaben reichen jedoch für die Prävention eines Eisenmangels nicht aus. Es ist bekannt, dass ein erheblicher Teil der Dauerspender trotz Einhaltung der Spendeintervalle einen Eisenmangel aufweist. Die Optimierung der Diagnostik und der Prävention des Eisenmangels bei Blutspendern ist der Gegenstand der vorliegenden wissenschaftlichen Arbeit.

1.1. Eisen und Eisenbilanz

Eisen ist ein essentielles Element für alle Lebewesen: Die Verfügbarkeit von Eisen ist einerseits für ein normales Zellwachstum absolut notwendig, andererseits führt ein Überangebot wie bei der Hämochromatose zu erheblichen Störungen der Zellfunktion. In wässriger Lösung existiert Eisen in zwei Oxidationsstufen als zweiwertiges (Fe^{2+}) oder dreiwertiges Ion (Fe^{3+}) und spielt auf Grund des dadurch bedingten hohen katalytischen

Potentials in Redox-Reaktionen eine zentrale Rolle für eine Vielzahl vitaler metabolischer Prozesse:^{75,107,108} Eisen ist Cofaktor in Schlüsselenzymen des Zitratzyklus, der mitochondrialen Atmung und der DNA-Synthese.

Es besitzt eine zentrale Funktion bei Sauerstoffbindung und -transport in Hämoglobin und Myoglobin und bei der Entstehung toxischer freier Hydroxyl-Radikale in der Fenton- bzw. Haber-Weiss-Reaktion. Im oxidativen Stoffwechsel fallen auch unter physiologischen Bedingungen Sauerstoff-Radikale wie das Superoxidanion und das Wasserstoffperoxid an. Die Fenton-Reaktion stellt eine Teilreaktion der Eisen-katalysierten Haber-Weiss-Reaktion dar, bei der aus Superoxidanionen und Wasserstoffperoxid chemisch sehr reaktionsfreudige Hydroxyl-Radikale entstehen, die Nukleinsäuren, Proteine und Zellmembranen schädigen können. Ihre vermehrte Bildung wird ursächlich für die Organschäden bei der Hämochromatose verantwortlich gemacht.⁷² Zum Schutz der Zellen kommt Eisen deshalb intra- und extrazellulär fast ausschließlich in Protein-gebundener, wenig reaktiver Form vor. Freie Radikale stellen aber auch einen wichtigen Mechanismus zur Elimination von Pathogenen dar. Nach Aktivierung von Granulozyten oder Makrophagen durch Phagozytose oder Entzündungsmediatoren kommt es im Rahmen des „respiratory burst“ zu einem steilen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs und zu einer vermehrten Bildung von freien Radikalen, die zu Schädigung und Abtötung von Pathogenen führen.¹⁰⁸ Darüberhinaus besitzt Eisen noch weitere immunregulatorische Funktionen:^{72,107,108} So beeinflusst Eisen die Aktivierung und Differenzierung verschiedener Lymphozyten-Subpopulationen und inhibiert vor allem Interferon- γ vermittelte Immunreaktionen. Daneben interagiert Eisen mit der Bildung von Stickstoffmonoxid (NO), einem weiteren Radikal mit zentraler Immuneffektor-Funktion in Monozyten und Makrophagen. Erhöhte Konzentrationen von nicht an Speicherproteine gebundenem Eisen hemmt massiv die NO-Synthese, eine verminderte NO-Produktion wiederum steigert die Eisenspeicherung und die Häm-Synthese und bewirkt somit eine verminderte Bereitstellung von Eisen. Da eine enge Korrelation zwischen der Verfügbarkeit von Eisen und dem Wachstum bzw. der Virulenz von Bakterien besteht,⁷² existieren in höheren Organismen komplexe zytokinvermittelte Regulationsmechanismen, die zu einer Umverteilung des Eisen aus dem Extrazellulärbereich in das retikuloendotheliale System und auf diesem Weg zu einer selektiven Eisendepletion in Kompartimenten führen, die für mikrobielles Wachstum relevant sind. Ergebnis dieser Umverteilung ist eine Eisenverteilungsstörungen mit Entwicklung einer Anämie, die auch als Anämie chronischer Erkrankungen bezeichnet wird.^{72,106,107} In verschiedenen klinischen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen erhöhter Eisen-Verfügbarkeit und ungünstigem Verlauf von

Infektionen oder erhöhtem Infektionsrisiko gezeigt werden: Unter Eisen-Substitution fand sich ein erhöhtes Risiko für Malaria, Brucellose und Tuberkulose, eine Eisen-Depletion mit Desferrioxamin führte zu einer Verbesserung des klinischen Verlaufs bei Malaria.^{106,108} Auf der anderen Seite konnte aber auch ein Zusammenhang zwischen erniedrigter Eisen-Verfügbarkeit und gestörter Immunfunktion nachgewiesen werden. Vor allem bei Kindern fanden sich unter Eisen-Substitution niedrigere Inzidenzen gastrointestinaler und respiratorischer Infektionen.¹⁰⁶ Es muss jedoch betont werden, dass viele Fragen in diesem Zusammenhang noch offen sind.

Der Gesamtkörper-eisenbestand ist geschlechts- und alterabhängig. Er steigt bei Männern nach der Adoleszenz steil an und erreicht im Alter von etwa 30 Jahren einen durchschnittlichen Wert von etwa 4 g. Danach ändert er sich nur noch geringfügig. Bei Frauen liegt der Körper-eisenbestand auf Grund von Menstruation und Schwangerschaft im Mittel nur um 2,3 g und ändert sich von der Pubertät bis zur Menopause kaum. Erst nach der Menopause steigt er steil an und erreicht nahezu das Niveau der Männer.^{29,31,34,68,93}

Etwa 65 bis 85% des gesamten Eisenbestandes sind im Hämoglobin der zirkulierenden Erythrozyten und der Erythrozytenvorstufen im Knochenmark gebunden: 1 g Hämoglobin enthält etwa 3,4 mg Eisen bzw. 1 ml Vollblut etwa 0,5 mg Eisen. Weitere 10 bis 15% des Eisenbestandes sind in der Vielzahl eisenhaltiger Enzyme und in Form von Myoglobin im Muskelgewebe gebunden. Das Transport-Kompartiment stellt nur einen sehr geringen Anteil von unter 0,1% des gesamten Eisenbestandes dar. Die restlichen durchschnittlich 0 bis 25% des Eisenbestandes, entsprechend im Mittel etwa 10 mg/kg bei Männern bzw. 5 mg/kg bei Frauen,^{31,68} sind funktionell inaktives Reserveeisen, das vorwiegend in den Zellen des retikuloendothelialen Systems und den Leberparenchymzellen gespeichert wird. Etwa 5 bis 10% der gesunden Frauen im Menstruationsalter weisen einen Speichereisenmangel mit fehlendem Reserveeisen auf.^{31,68}

Der Gesamteisenbestand des Körpers wird unter normalen Bedingungen konstant gehalten. Der physiologische Eisenverlust liegt in einer Größenordnung von etwa 1 mg/Tag und ist vorwiegend durch Abschilferung von Epithelzellen der Haut, des Gastrointestinal- und des Urogenitaltraktes sowie durch Mikroblutungen bedingt. Bei menstruierenden Frauen kommt ein zusätzlicher Verlust dazu, der durchschnittlich bei etwa 13 bis 17 mg/Monat bzw. 0,5 bis 0,6 mg/Tag liegt, allerdings bei etwa 10% der Frauen bis zu 40 mg monatlich bzw. 1,3 mg/Tag betragen kann. Der zusätzliche Eisenbedarf für eine Schwangerschaft beträgt etwa 700 bis 900 mg bzw. 2,5 bis 3,2 mg/Tag.^{16,68,93}

Der physiologische Eisenverlust wird durch Eisenresorption aus der Nahrung kompensiert, wobei die Eisen-Homöostase ausschließlich durch Anpassung der Eisenresorption geregelt wird.⁹³ Die tägliche Eisenzufuhr bei normalen westlichen Ernährungsgewohnheiten beträgt etwa 6 mg/1000 kcal und liegt somit deutlich unterhalb von 20 mg.⁹³ Die Bioverfügbarkeit des Eisens in der Nahrung ist gering, insbesondere nicht an Häm gebundenes Eisen aus pflanzlicher Nahrung wird schlecht resorbiert. Dazu kommen bei westlichen Ernährungsgewohnheiten verschiedene Nahrungsmittel, wie Tee, Kaffee oder Getreideprodukte, die die Eisenresorption zusätzlich vermindern. Aus diesen Gründen können nur maximal etwa 20% des Nahrungseisens resorbiert werden, d.h. dass nur ein maximaler Tagesbedarf von etwa 3 bis 4 mg aus der Nahrung gedeckt werden kann.^{16,69,93} Bei höherem Bedarf und dauerhaft negativer Eisenbilanz entwickelt sich ein Eisenmangel.

1.2. Eisenmangel

Es werden drei Stadien des Eisenmangels unterschieden.^{30,93} Zunächst entwickelt sich ein Speichereisenmangel, der auch als prälatenter Eisenmangel bezeichnet wird. In diesem ersten Stadium ist ausschließlich das funktionell inaktive Speichereisen vermindert, das Eisentransportkompartiment und die Hämoglobinsynthese sind normal. Wird der Bedarf der Erythropoese an Eisen unterschritten, entwickelt sich als zweites Stadium die eisendefizitäre Erythropoese (latenter Eisenmangel). In diesem Stadium ist die Hämoglobin-Konzentration noch normal, es finden sich aber eine Verminderung des Eisens im Transportkompartiment, in den Erythrozyten häuft sich als Folge einer verminderten Eisen-Versorgung die Hämoglobin-Vorstufe Protoporphyrin IX an. Fällt die Hämoglobin-Konzentration unter die Normgrenze, liegt das dritte Stadium des Eisenmangels (manifeste Eisenmangel) mit dem Vollbild der Eisenmangelanämie vor. Die Entwicklung einer Eisenmangelanämie geht bei Kindern mit einer Wachstumsstörung, bei Erwachsenen mit einer erheblichen Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit einher.^{30,40,93} Bei Ausdauersportlern wurde nachgewiesen, dass bereits ein latenter Eisenmangel ohne Anämie ausreicht, um die Leistungsfähigkeit einzuschränken.⁹³ Während die Diagnose einer manifesten Anämie mit Hilfe von Hämatologie-Automaten einfach zu stellen ist, erweist sich der Nachweis eines latenten Speichereisenmangels bis heute als problematisch.

1.3. Bestimmung des Körpereisenbestandes

Die Referenzmethode zur Bestimmung des Gesamteisenbestandes des Körpers ist die quantitative Phlebotomie-Technik, bei der wöchentliche Aderlässe bis zum Auftreten einer Eisenmangelanämie durchgeführt werden. Aus der Menge des im Hämoglobin gebundenen Eisens, das durch die Aderlässe entfernt wurde, lässt sich retrospektiv der Eisenbestand vor Beginn der Aderlass-Behandlung abschätzen. Diese Methode ist für Routineuntersuchungen gänzlich ungeeignet. Vor Einführung von validen Laboranalysen war die histologische Untersuchung von Knochenmarkbiopsien oder -aspiraten die klinische Standardmethode zur Bestimmung des Gesamtkörpereisens. Die Methode ist lediglich semiquantitativ und auf Grund ihrer Invasivität ebenfalls untauglich für Routineuntersuchungen. Ebenfalls ungeeignet ist der Desferrioxamin-Exkretionstest, bei dem die im Urin ausgeschiedene Menge von Eisen nach parenteraler Gabe von Desferrioxamin Rückschlüsse auf den Körpereisenbestand ermöglicht. Eisenmangelzustände können auch indirekt durch Bestimmung der intestinalen Eisensorption mit Radionukliden erfasst werden, da bei Erschöpfung der Eisenspeicher die Eisensorption kompensatorisch gesteigert wird. Auf Grund des großen messtechnischen Aufwandes ist auch diese Methode nicht zum Routineeinsatz geeignet. Im Laufe der Zeit wurden deshalb weniger invasive Methoden eingeführt.

Die älteste Labormethode zur Erfassung des Körpereisenstatus aus Blutproben ist die Messung der Eisen-Konzentration im Serum. Dieser Parameter erlaubt jedoch keine validen Rückschlüsse auf den Speichereisenbestand. Die Gründe dafür sind vielfältig: Die präanalytischen Anforderungen sind hoch, da vor allem Hämolyse zu falsch hohen Eisenwerten führt. Die Eisen-Konzentration unterliegt relativ großen tageszeitlichen Schwankungen und ist stark abhängig von der Nahrungsaufnahme. Bei Malignomen und akuten oder chronischen Entzündungen ist die Eisen-Konzentration unabhängig vom Gesamtkörpereisen erniedrigt.

Transferrin ist das Transportprotein für Eisen im Blut. Die Transferrin-Konzentration kann im Serum direkt bestimmt werden. Jedes Transferrinmolekül besitzt zwei Bindungsstellen für Eisenmoleküle: 1 g Transferrin kann somit maximal 1,4 mg Eisen binden. Aus diesem Bindungsverhältnis und der Transferrin-Konzentration kann die totale Eisenbindungskapazität berechnet werden. Die Transferrinsättigung (in Prozent) errechnet sich aus dem Verhältnis von Eisen im Serum und totaler Eisenbindungskapazität. Die Transferrin-Konzentration und die Transferrin-Sättigung spiegeln die Versorgung der Erythropoese mit Eisen wider: Eine Verminderung des Speichereisens führt zu einer Steigerung der Transferrin-Synthese und

damit zu einer Erhöhung der Transferrin-Konzentration bzw. zu einer Verminderung der Transferrinsättigung. Da die Halbwertszeit des Transferrins sehr viel länger ist als die des Eisens, unterliegt die Bestimmung der Transferrin-Konzentration bzw. der Transferrin-Sättigung geringeren tageszeitlichen und ernährungsabhängigen Schwankungen. Allerdings ist auch die Aussagekraft der Transferrin-Konzentration bei bestimmten Zuständen eingeschränkt: Bei Malignomen und akuten oder chronischen Entzündungen ist die Transferrin-Synthese erniedrigt, so dass ein Eisenmangel unterschätzt wird. Bei Leberparenchymerkrankungen wird Transferrin vermehrt ins Blut freigesetzt, in der Schwangerschaft ist die Transferrin-Synthese gesteigert, so dass ein Eisenmangel überschätzt wird.

Die Standardlabormethode zur Abschätzung der Gesamtkörpereisenbestandes ist Bestimmung der Ferritin-Konzentration im Serum. Apoferritin ist ein sphärisches Protein, das in einer zentralen Kavität bis zu 4500 Moleküle Eisen speichern kann. Bei Vorhandensein von Eisen wird der wasserlösliche Komplex als Ferritin bezeichnet, daneben existiert als nicht-wasserlösliche Form das Hämosiderin. Ferritin und Hämosiderin stellen die intrazelluläre Speicherform des Eisens dar. Im Gegensatz zum Hämosiderin kann Eisen aus Ferritin schnell mobilisiert bzw. in Ferritin schnell inkorporiert werden. Kleine Mengen an eisenarmem Ferritin (vorwiegend Apoferritin) zirkulieren im Blut. Die Ferritin-Konzentration im Serum ist eng korreliert mit dem Gesamtkörpereisenbestand: Eine Ferritin-Konzentration von 1 µg/l entspricht etwa einem Speichereisenbestand von 8 mg Eisen.⁹³ Eine Ferritin-Konzentration von unter 12 µg/l weist auf einen kompletten Verlust des Speichereisens hin.^{34,93} Andere Autoren geben auch höhere Grenzwerte von 15 oder 20 µg/l an.^{3,101} Die Ferritin-Konzentration ist weitgehend stabil und weist weder zirkadiane noch andere biologische Schwankungen auf. Bei akuten und chronischen Entzündungen, Malignomen und Leberparenchymerkrankungen kann die Ferritin-Konzentration unspezifisch ansteigen, erniedrigte Ferritin-Konzentrationen sind jedoch immer spezifisch für einen Eisenmangel. Durch die Bestimmung der Ferritin-Konzentration kann bereits ein prälatenter Eisenmangel diagnostiziert werden, eine Differenzierung der drei Stadien des Speichereisenmangels ist aber nicht möglich.

Der Transferrin-Rezeptor ist ein transmembranes Protein, das Transferrin an der Zelloberfläche bindet und in den Intrazellulärraum transportiert. Der lösliche Transferrin-Rezeptor im Blut ist ein Bruchstück dieses Proteins und korreliert eng mit der Gesamtmenge des Transferrin-Rezeptors. Zwei Drittel der Konzentration an löslichem Transferrin-Rezeptor stammen aus den Zellen der Erythropoese. Eine Eisen-Unterversorgung der Erythropoese führt zu einer vermehrten Expression des Transferrin-Rezeptors auf Zell-Niveau. Der lösliche Transferrin-Rezeptor ist deshalb ein empfindlicher Indikator für einen so genannten

Funktionseisenmangel, den man im Stadium der eisendefizitären Erythropoese und der manifesten Eisenmangelanämie findet, aber auch bei Erkrankungen mit einer verminderten Eisenverfügbarkeit wie Autoimmunerkrankungen, chronischen Infektionen und Malignomen. Schließlich findet man erhöhte Konzentrationen auch bei Zuständen mit verstärktem Eisenbedarf auf Grund einer Hyperproliferation der Erythropoese, etwa bei Autoimmunhämolyse, Thalassämie oder zu Beginn einer Erythropoetin-Therapie. Die Serumkonzentration des löslichen Transferrin-Rezeptors ist somit zur Abschätzung des Gesamtkörpereisens nicht geeignet, erlaubt aber eine zuverlässige Erkennung des latenten Eisenmangels mit eisendefizitärer Erythropoese. Leider führt die unzureichende Standardisierung dazu, dass die Messergebnisse verschiedener Assays zur Bestimmung des löslichen Transferrin-Rezeptors kaum vergleichbar sind.

Eine differenzierte Analyse des Gesamtkörpereisens ist nur durch eine Kombination dieser Laborparameter möglich. Der Quotient aus der Konzentration des löslichen Transferrin-Rezeptors und dem Logarithmus der Ferritin-Konzentration ist von großem Wert bei der Differentialdiagnose zwischen der Eisenmangelanämie und Anämien anderer Ursache.^{15,76,101}

Eine enge Beziehung zum Speichereisen hat der Logarithmus des Quotienten aus der Konzentration von löslichem Transferrin-Rezeptor und Ferritin-Konzentration.^{31,94}

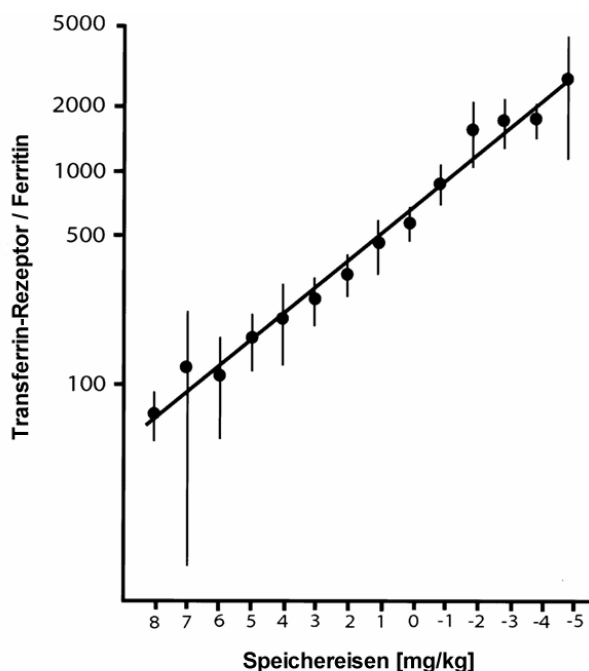


Abb. 1: Korrelation zwischen Speichereisen und dem Quotienten der Konzentration des Transferrin-Rezeptor und der Ferritin-Konzentration (Original-Abbildung aus⁹⁴)

Mittels quantitativer Phlebotomie konnte gezeigt werden, dass dieser $\log(\text{TfR}/F)$ eine umgekehrt lineare Korrelation zum Speichereisengehalt aufweist und somit eine direkte Berechnung des Speichereisenbestandes ermöglicht (Abb. 1). Cook et al.³¹ ermittelten folgende Formel zur Berechnung des Speichereisens bezogen auf die Körpermasse:

$$\text{Speichereisen [mg/kg]} = - \frac{\log_{10} \left(\frac{\text{Serum-Transferrin-Rezeptor-Konzentration } [\mu\text{g/l}]}{\text{Serum-Ferritin-Konzentration } [\mu\text{g/l}]} \right) - 2,8229}{0,1207}$$

Diese Formel ist allerdings wegen der unzureichenden Standardisierung des Serum-Transferrin-Rezeptors vom verwendeten Assay abhängig und nicht universell einsetzbar.

Mit der Ferritin-Konzentration und dem $\log(\text{TfR}/F)$ stehen somit zwei Parameter zu Verfügung, um das Speichereisen bei Blutspendern in Querschnittsuntersuchungen mit ausreichender Validität abzuschätzen.

1.4. Eisenbestand bei Blutspendern

Bei der üblichen Vollblutspende von 500 ml verliert ein Spender etwa 215 mg bis 270 mg Eisen, das entspricht 5% bis 7% des Gesamtkörpereisenbestandes eines erwachsenen Mannes bzw. 9% bis 12% einer erwachsenen Frau. Es ist deshalb nicht überraschend, dass Dauerblutspender einen signifikant niedrigeren Gesamtkörpereisenbestand aufweisen als Erst- oder Nichtspender.^{3,11,34,46,64,65,66,67,68,77,90} Der Körpereisenbestand ist direkt abhängig von der Spendehäufigkeit pro Jahr: Bereits eine Spendefrequenz von einer Spende pro Jahr führt zu einer signifikanten Absenkung des Körpereisenbestandes. Mit zunehmender Steigerung der Spendefrequenz findet sich bei Männern eine kontinuierliche Abnahme des Körpereisenbestandes, bei Frauen wird schon bei einer Frequenz von zwei Vollblutspenden pro Jahr ein sehr niedriger Körpereisenbestand erreicht, der auch bei höheren Spendefrequenzen nicht weiter abnimmt.^{3,15,34,46,48,90} Der Anteil an Spendern mit erschöpften Eisenspeichern steigt ab einer Spendefrequenz von drei bis vier Vollblutspenden pro Jahr bei Männern bzw. ein bis zwei Spenden pro Jahr bei Frauen signifikant an.^{34,35,48,90} Die Ursache dafür liegt darin, dass der zusätzliche Eisenbedarf nicht mehr aus der Nahrung gedeckt werden kann: Vier Blutspenden pro Jahr ergeben einen zusätzlichen Eisenbedarf von etwa 2,5 mg pro Tag. Um den Gesamtkörpereisenbestand konstant zu halten, ist deshalb bei Männern eine tägliche Eisenaufnahme von etwa 3,5 mg notwendig. Das entspricht bei normalen westlichen Ernährungsgewohnheiten der Obergrenze der resorbierbaren Tagesmenge. Eine weitere Steigerung der Entnahmefrequenz auf sechs Vollblutspenden führt zu einer Abnahme des Körpereisen-

bestandes um jährlich etwa 350 mg Eisen. Bei menstruierenden Frauen wird die maximal resorbierbare Tagesmenge an Eisen auf Grund des höheren Basalbedarfs bereits bei zwei Spenden pro Jahr erreicht. In Querschnittsuntersuchungen liegt die Prävalenz eines Speichereisenmangels bei männlichen Dauerblutspendern in Abhängigkeit von der mittleren Spendefrequenz zwischen 2% und 24%, bei weiblichen Dauerspendern zwischen 8% und 63%.^{3,34,48,64,65,66,67,77,90} Diese Prävalenzen sind im Hinblick auf den Spenderschutz erschreckend hoch. In den westlichen Ländern sind deshalb vor Zulassung zu einer Blutspende seit langer Zeit Spendetauglichkeitsuntersuchungen obligatorisch, die neben der Produktsicherheit auch dem Spenderschutz dienen sollen. Da eine Bestimmung der Konzentration des Ferritins oder des Transferrin-Rezeptors im Serum als Schnelltest vor jeder Blutspende nicht möglich ist, wurde in allen westlichen Ländern die Bestimmung der Hämoglobin-Konzentration oder des Hämatokrit-Wertes als obligatorisches Kriterium für die Spendetauglichkeit eingeführt.

1.5. Hämoglobin-Konzentration bei Blutspendern

Die zulässigen Mindestwerte für die Hämoglobin-Konzentration bzw. den Hämatokrit differieren in den einzelnen Ländern geringfügig: In Deutschland ist eine Mindest-Hämoglobin-Konzentration von 12,5 g/dl für Frauen und 13,5 g/dl für Männer bzw. ein Mindest-Hämatokrit von 0,38 l/l für Frauen und 0,40 l/l für Männer vorgeschrieben.¹⁰⁹ Hämatokrit-Wert und Hämoglobin-Konzentration lassen sich gemäß der Formel

$$\text{Hämoglobin [g/dl]} = \frac{\text{Hämatokrit [l/l]} \cdot 100}{3}$$

näherungsweise umrechnen. Voraussetzung dafür ist allerdings eine normale mittlere korpuskuläre Hämoglobin-Konzentration (MCHC), was bei einer Eisenmangelanämie nicht zutrifft. Die Hämoglobin-Konzentration wird auf Grund der höheren Sensitivität als der besser geeignete Parameter zur Erfassung einer Anämie angesehen.^{23,39}

Die Referenzmethode zur Messung der Hämoglobin-Konzentration ist die photometrische Bestimmung mit der Cyanmethämoglobin-Methode in venösem Blut in einem Blutbildautomaten.²⁴ Da sich eine zusätzliche Venenpunktion vor der Blutspende zur Gewinnung von venösem Blut in den meisten Blutspendeeinrichtungen als kaum praktikabel erwiesen hat, wird die Bestimmung bei Blutspendern meistens aus Kapillarblut durchgeführt.

Vor allem in den USA ist die Kupfersulfat-Methode das häufigste eingesetzte Verfahren zur Spendetauglichkeitsuntersuchung. Bei dieser Methode wird nach Punktion der Fingerbeere

mit einer Lanzette ein Tropfen des austretenden Blutes in ein Gefäß mit einer Kupfersulfat-Lösung vorgegebener Konzentration überführt: Der Tropfen wird in der Kupfersulfat-Lösung schnell von einer Hülle aus denaturierten Plasmaproteinen umgeben und mischt sich nicht mit der Lösung. Ein Absinken des Tropfens auf den Boden des Gefäßes bedeutet, dass die Dichte des Blutropfens höher ist als die Dichte der Kupfersulfatlösung. Da die Dichte des Blutropfens direkt mit der Hämoglobin-Konzentration korreliert, folgt daraus, dass die Hämoglobin-Konzentration über dem vorgegebenen Grenzwert liegt. Die Methode ist einfach und billig, aber auch sehr störanfällig, vor allem die Plasmaprotein-Zusammensetzung beeinflusst das Ergebnis erheblich. In einer Vielzahl von Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Sensitivität, Spezifität und Präzision der Methode inakzeptabel sind.^{17,23,25}

Als Ergänzung zur Kupfersulfat-Methode wird häufig die Mikrohämatokrit-Methode eingesetzt: Kapillarblut wird mittels Kapillarkräften in eine Glaskapillare überführt, die an einem Ende verschlossen und in einer speziell konfigurierten Hämatokritzentrifuge zentrifugiert wird. Der Hämatokrit kann anschließend mit Hilfe einer geeigneten Skala direkt abgelesen werden. Die Methode weist eine zufriedenstellende Präzision auf,^{23,27,73} ist allerdings deutlich zeitintensiver als die Kupfersulfat-Methode. Als Alternative zur Mikrohämatokrit-Methode existiert eine Impedanzmethode, die sich allerdings trotz der deutlich geringeren Messdauer in der Routine nicht durchsetzen konnte.^{23,49,73}

In Mitteleuropa wird als häufigste Methode zur Spendertauglichkeitsuntersuchung die Bestimmung der Hämoglobin-Konzentration mittels eines portablen Photometers eingesetzt. Das Blut wird mittels Kapillarkräften direkt in eine kleine Einmalküvette gefüllt, die mit allen notwendigen Reagenzien beschichtet ist. Das Hämoglobin wird in Azid-Methämoglobin umgewandelt und die Konzentration innerhalb von einer Minute gemessen. Die Methode weist für venöses Blut eine gute Übereinstimmung mit der Messung in Blutbildautomaten und eine gute Präzision auf.^{14,23,25,26,28,74}

Ein effektiver Spenderschutz setzt voraus, dass durch die Untersuchung der Spendertauglichkeit eine Verminderung des Körpereisenbestandes möglichst frühzeitig diagnostiziert wird. Durch die Bestimmung der Hämoglobin-Konzentration bzw. des Hämatokrits kann aber grundsätzlich nur die manifeste Eisenmangelanämie festgestellt werden, die Sensitivität der Hämoglobin-Bestimmung zur Erfassung eines prälatenten oder latenten Speichereisenmangels muss aus theoretischen Erwägung niedrig sein. Andererseits ist zu erwarten, dass der überwiegende Anteil der Anämien bei Blutspendern auf einen Eisenmangel zurückzuführen ist und die Spezifität der Hämoglobin-Bestimmung hoch sein sollte. Verschiedene Untersuchungen bestätigen die niedrige Sensitivität der Hämoglobin-Bestimmung.^{3,47,64,65,66,67,70,74,82}

Überraschend sind jedoch die großen Differenzen zwischen den einzelnen Arbeitsgruppen, die Sensitivitäten zwischen 0,03 und 0,81 für weibliche bzw. zwischen 0,05 und 0,59 für männliche Blutspender ermittelten. Ähnlich große Schwankungen finden sich auch für die Spezifität mit Werten zwischen 0,51 und 0,989 für weibliche und zwischen 0,67 und 0,996 für männliche Blutspender. Aus diesen Untersuchungen folgt, dass einerseits der überwiegende Teil der Blutspender mit Speichereisenmangel durch die Blutspende-Tauglichkeitsuntersuchung gar nicht erfasst wird, andererseits ein beträchtlicher Teil der zurückgewiesenen Blutspender überhaupt keinen Eisenmangel aufweist. In Hinblick auf die ausreichende Versorgung mit Blutprodukten schlagen einzelne Arbeitsgruppen deshalb vor, die Spezifität der Hämoglobin-Bestimmung durch Senkung der zulässigen Minimalwerte^{1,2,14} oder durch eine Zweitbestimmung¹⁷ zu erhöhen, da sich der Anteil der zur Spende zugelassenen Spendern mit Speichereisenmangel dadurch nicht signifikant erhöhen soll. Im Hinblick auf den Spenderschutz muss das Ziel jedoch sein, die Sensitivität für die Diagnose des Speichereisenmangels zu erhöhen. Das ist nur durch Einsatz von alternativen Labormethoden möglich. Schon Anfang der 80er Jahre beschrieben Schifman et al.⁸³ eine Screening-Methode für Blutspender, bei der mittels Hämatofluorometrie die Konzentration an Zink-Protoporphyrin (ZPP) in Erythrozyten bestimmt wird. Bei der Hämoglobin-Synthese wird bei bestehendem Eisenmangel Zink an Stelle von Eisen in Protoporphyrin eingebaut, wodurch sich ZPP in den Vorstufen der Erythropoese und den reifen Erythrozyten anhäuft. Die Bestimmung der ZPP-Konzentration in Erythrozyten kann zwar durch eine Vielzahl von Pharmaka – u.a. auch B-Vitamine – gestört werden,⁴² erlaubt aber bei Abwesenheit dieser Störfaktoren die Diagnose einer eisendefizitären Erythropoese. Bei weiblichen Blutspendern fand sich eine Sensitivität zwischen 0,39 und 0,88 und eine Spezifität zwischen 0,58 und 1,00 für die Diagnose eines Speichereisenmangels mit erniedrigter Ferritin-Konzentration.⁷⁰ Die Methode wird in Deutschland bisher kaum in der Routine eingesetzt.

Eine weitere Alternative stellen Blutbildautomaten der neusten Generation dar: Diese Geräte sind in der Lage, den Hämoglobingehalt des einzelnen Erythrozyten bzw. Retikulozyten zu messen. Der mittlere Hämoglobingehalt der Retikulozyten und der Anteil der Erythrozyten mit vermindertem Hämoglobingehalt stellen empfindliche Parameter der Eisenversorgung der Erythropoese dar, die sich im Routineeinsatz zur Differentialdiagnose der Eisenmangelanämie von anderen Anämieformen und zur Steuerung der Erythropoetin-Therapie bereits bewährt haben.^{20,21,102} In einer Studie an anscheinend gesunden Frauen mit verminderter Hämoglobin-Konzentration wurde der Stellenwert dieser Erythrozyten- und Retikulozyten-Indizes in Relation zum Serum-Transferrin-Rezeptor untersucht. Dabei fand sich für den Anteil der

Erythrozyten mit vermindertem Hämoglobingehalt eine Sensitivität von 1,00 und Spezifität von 0,93 für die Diagnose eines latenten Eisenmangels mit erhöhter Serum-Transferrin-Rezeptor-Konzentration.⁵¹ Untersuchung an Blutspendern existieren bisher nicht.

In der Entwicklung befinden sich derzeit Messgeräte, die eine transkutane Bestimmung des Hämatokrits bzw. der Hämoglobinkonzentration ermöglichen. Ihr größter Vorteil ist die fehlende Invasivität der Methode. Untersuchungen über die Sensitivität und Spezifität dieser Geräte liegen bisher nicht vor.

Die derzeit eingesetzten Screening-Methoden zur Untersuchung der Spendetauglichkeit scheinen somit keine ausreichende Validität zu besitzen, neue Messmethoden sind entweder nicht bei Blutspendern validiert oder noch in der Entwicklung begriffen.

1.6. Eisen-Substitution bei Blutspendern

Die nationalen Richtlinien der verschiedenen Länder sehen bei Spendewilligen mit Hämoglobinwerten unter den zulässigen Mindestwerten lediglich eine vorübergehende Rückstellung von der Spende vor. Das reicht jedoch zumindest bei einem Teil der Spendern nicht aus, um kurz- oder mittelfristig eine Auffüllung des Speichereisens zu erreichen: In einer longitudinalen Untersuchung wurden weibliche Spender mit grenzwertiger Hämoglobinkonzentration knapp oberhalb des zulässigen Hämoglobin-Grenzwertes nachverfolgt. 30% dieser Spenderinnen wiesen bei der Wiedervorstellung nach drei bis mehr als elf Monaten unabhängig vom zeitlichen Intervall zur letzten Spende eine zu niedrige Hämoglobinkonzentration auf, 24% dieser Nichtspendetauglichen waren auch bei der zweiten Wiedervorstellung noch nicht spendetauglich.³⁶ Nicht zu unterschätzen ist auch das damit verbundene Problem, dass wiederholte Zurückstellung zur Frustration der Spendewilligen und damit zum endgültigen Verlust als Spender führen. Als offensichtliche Alternative zur Rückstellung stellt sich die Substitution der Spender mit Eisen dar.

Die Resorptionsrate von Eisen im Duodenum und Jejunum korreliert mit der Ferritinkonzentration und ist somit abhängig vom Gesamtkörpereisenbestand.^{57,93} Bei normalen westlichen Ernährungsgewohnheit können auf Grund der eingeschränkten Bioverfügbarkeit nur maximal etwa 20% des mit der Nahrung aufgenommenen Eisens bzw. etwa 3 bis 4 mg Eisen täglich resorbiert werden. Eine weitere Steigerung der Eisenresorption ist nur durch zusätzliche Zufuhr von Eisen, z.B. in Form von Eisen-Salzen, möglich. Zweiwertiges Eisen wird erheblich besser resorbiert als dreiwertiges Eisen. Die Resorptionsrate von Eisen(II)-Sulfat liegt bei normalem Gesamtkörpereisenbestand bei ca. 20%, kann aber bei Eisenmangel

auf bis zu 90% gesteigert werden.⁵⁷ Die Bioverfügbarkeit verschiedener anderer Eisen-Salze wie z.B. Eisen(II)-Succinat, -Gluconat, -Fumarat, -Diaspartat oder -Glycin-Sulfat, ist vergleichbar zu Eisen(II)-Sulfat.^{41,43} Die Resorptionsrate von dreiwertigen Eisen-Salzen beträgt nur 5 bis 30% der Rate von zweiwertigen Eisen-Salzen.^{41,43} In Anwesenheit von Ascorbinsäure und anderen reduzierenden Substanzen wie Cystein und Glutathion wird die Resorption gesteigert,¹⁸ verschiedene andere Nahrungsbestandteile wie Kaffee, Tee und ballaststoffreiche Nahrungsmittel behindern die Resorption. Aus diesem Grund ist die Resorption besser, wenn Eisen nicht zusammen mit anderen Nahrungsmitteln zugeführt wird.⁴¹ Neben wässrigen Lösungen von Eisen-Salzen bzw. kommerziell verfügbaren Eisen-Präparaten mit schneller Freisetzung des Eisens im Magen existieren auch Präparate mit anderer Galenik: Während Präparate mit magensaftresistenten Pellets und schneller Eisens-freisetzung im Dünndarm eine vergleichbare Bioverfügbarkeit aufweisen wie einfache Eisen-Salze, findet sich bei Präparaten mit verzögerter Eisensfreisetzung in Dünndarm eine etwa 50%-ige Verminderung der Resorptionsrate.⁴³ Eine Alternative zu den Eisen(II)-Salzen stellt Carbonyl-Eisen-Puder dar. Der Begriff „Carbonyl“ bezieht sich dabei nicht auf die chemische Zusammensetzung, sondern ausschließlich auf den Herstellungsprozess. Bei Carbonyl-Eisen liegt das Eisen als ungeladenes elementares Eisen in Form submikroskopischer Kristalle mit einem Durchmesser unter 5 µm vor.^{33,37} Zur Resorption muss das elementare Eisen erst durch Oxidation im Magen in die zweiwertige Form überführt werden. Die Bioverfügbarkeit von Carbonyl-Eisen liegt im Vergleich zu Eisen(II)-Sulfat bei etwa 70%.³³

Die potentiellen Nebenwirkungen von Eisen-Präparaten sind zahlreich und variabel: Insbesondere gastrointestinale Symptome in Form von Sodbrennen, abdominellen Schmerzen, Obstipation und Diarrhoe stehen im Vordergrund. Sie sind durch Irritation der Magen- bzw. Dünndarmschleimhaut bedingt und abhängig von der lokalen Konzentration an freiem Eisen.⁴³ Die Häufigkeit von milden gastrointestinalen Nebenwirkungen wird bei einer Tagesdosis von 100 mg elementarem Eisen als Eisen(II)-Salz mit 4 – 20% angegeben. Schwere Nebenwirkungen, die zum Abbruch der Einnahme der Eisen-Präparate führen, sind deutlich seltener und liegen bei 1 – 3%.^{4,43} Bei Kleinkindern können Eisen(II)-Salze zu schweren Intoxikationen führen, die letale Dosis liegt wahrscheinlich bei etwa 200 mg/kg Körpergewicht. Aus diesem Grund ziehen einige Autoren die Anwendung von Carbonyl-Eisen vor, dessen letale Dosis etwa 250-mal höher liegt.^{9,33,92} Präparate mit Carbonyl-Eisen sind allerdings in Deutschland bisher nicht zugelassen.

Zur Eisen-Substitution bei Blutspendern wurden einzelne Studien publiziert, die sich hinsichtlich Fragestellung, Studiendesign und Einschlusskriterien erheblich unter-

scheiden.^{3,10,11,12,19,22,33,37,38,53,54,55,69,91} Die wenigen prospektiven, randomisierten, Placebo-kontrollierten Studien an weiblichen Blutspendern zeigen, dass die zusätzliche Substitution mit 75 bzw. 100 mg Eisen täglich über acht Wochen – entsprechend einer Gesamtdosis von 4200 bzw. 5600 mg im Intervall zwischen zwei Vollblutspenden – bei bereits bestehendem Eisenmangel die Erholung des Gesamtkörperereisenbestandes beschleunigt²² und den Eisen-Verlust durch die Vollblutspende überkompensiert.³⁸ In einer retrospektiven Untersuchung fand sich bei einem Teil der Dauerspender ein Speichereisenmangel, wenn weniger als 1000 mg Eisen im Intervall zwischen zwei Vollblutspenden substituiert worden waren.¹¹ In einer weiteren prospektiven Studie reichte auch eine Gesamtdosis von 2800 mg im Intervall zwischen zwei Vollblutspenden nicht bei allen Spendern aus, um den Eisen-Verlust der Vollblutspende vollständig auszugleichen.¹² Im Gegensatz dazu konnte in einer prospektiven, randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie an menstruierenden Spenderinnen nachgewiesen werden, dass die prophylaktische Substitution mit 39 mg Eisen(II)-Sulfat täglich über acht Wochen – entsprechend einer Gesamtdosis von etwa 2200 mg – ausreicht, um den Eisen-Verlust durch eine Vollblutspende bei menstruierenden Frauen sogar geringfügig zu überkompensieren.⁹¹ Daraus kann man folgern, dass die zum Ausgleich des Eisen-Verlustes einer Vollblutspende notwendige Minimaldosis wahrscheinlich zwischen 1000 und 2200 mg liegt, was aber durch kontrollierte Studien bisher nicht bestätigt wurde.

Anlässlich eines Workshops der Blutspende-Einrichtungen der USA 2002 wurde erstmals darüber diskutiert, eine prophylaktische Eisen-Substitution für alle weiblichen Blutspender im gebärfähigen Alter einzuführen.⁹ Dieses Vorgehen würde die am stärksten durch einen Eisenmangel gefährdete Spendergruppe bei überschaubaren Risiken erreichen. Das Ergebnis des Workshops war jedoch nur die Empfehlung, ein solches Substitutionsprogramm auf Forschungsbasis zu initiieren, um zunächst Daten zur Wirtschaftlichkeit zu sammeln.^{9,92} Bisher zögern alle Blutspende-Einrichtungen mit einer routinemäßigen Eisen-Substitution außerhalb von Studien. Neben der hohen Nebenwirkungsrate von Eisen-Präparaten spielen noch andere Gründe eine Rolle: Zwischen Blutspendern und Blutspendearzt besteht kein typisches Arzt-Patienten-Verhältnis, da sich die Blutspender selbst nicht als Patienten sehen. Die Notwendigkeit einer therapeutischen Maßnahme, wie der Behandlung mit einem Medikament, wird deshalb häufig nicht akzeptiert. Ein weiterer Grund ist die potentielle Verschleierung anderer Erkrankungen – insbesondere gastrointestinaler Blutungen – durch eine Eisen-Substitution, sowie die Gefahr der Verstärkung der Eisenüberladung bei Spendern mit der genetischen Disposition zu einer Hämochromatose. Ein spezifisches Hindernis für Deutschland stellt die Tatsache dar, dass Eisen-Präparate mit ausreichender Dosis an elemen-

tarem Eisen fast ausschließlich der Apotheken- oder Verschreibungspflicht unterliegen und gemäß § 43 Arzneimittelgesetz nicht von Blutspendeeinrichtungen abgegeben werden dürfen. Einen Ausweg bieten nicht apothekenpflichtige diätetische Lebensmittel – insbesondere Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke –, die gemäß der Zwölften Verordnung zur Änderung der Diätverordnung vom 31.03.2003 Eisen-Verbindungen bzw. elementares Eisen enthalten dürfen. Solche Produkte sind erst seit kurzem kommerziell verfügbar.

Bisher ist auch offen, wo der optimale Bereich für das Gesamtkörpereisen liegt. Es ist unbestritten, dass die Eisenüberladung im Rahmen einer Häm siderose oder hereditären Hämochromatose zu schweren irreversiblen Organschäden insbesondere an Leber, Myokard und endokrinen Organen führt. Es besteht auch Einigkeit darüber, dass die Entwicklung einer manifesten Eisenmangelanämie mit erheblichen Nachteilen für den betroffenen Organismus verbunden ist: Die körperliche Belastungsfähigkeit ist in Abhängigkeit vom Ausmaß der Anämie deutlich reduziert, nicht nur auf Grund der verminderten Sauerstofftransportkapazität, sondern auch auf Grund der Abnahme der Aktivität verschiedener mitochondrialer Enzyme durch das zelluläre Eisendefizit.^{40,93} Keine gesicherten Erkenntnisse hingegen existieren über die Auswirkungen eines milden Eisenmangels ohne Anämie auf die körperliche Leistungsfähigkeit.^{40,93} Seit längerer Zeit wird auch kontrovers die bereits 1981 postulierte Hypothese diskutiert, dass ein Zusammenhang zwischen niedrigem Gesamtkörpereisenbestand und einer geringeren Inzidenz für kardiovaskuläre Erkrankungen besteht.^{62,100} In mehreren prospektiven Untersuchungen wurde eine geringere Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse bei Blutspendern gefunden,^{61,63,81,103} lediglich eine Untersuchung negiert einen solchen Zusammenhang.⁵ Eine direkte Abhängigkeit der Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen von der Serum-Ferritin-Konzentration konnte jedoch in der Mehrzahl der zahlreichen Studien zu dieser Fragestellung nicht aufgezeigt werden.⁸⁷ Eine weitere Hypothese postuliert einen Zusammenhang zwischen Körpereisenbestand und der Inzidenz von Malignomen. In einer retrospektiven Untersuchung fand sich eine signifikant niedrigere Häufigkeit von Malignomen bei Blutspendern.⁶⁰ In mehreren prospektiven Studien zeigte sich auch ein Zusammenhang zwischen Tumorinzidenz und Transferrinsättigung.^{50,86,97,98,110} Schließlich fanden sich unter experimentellen Bedingungen auch positive Auswirkungen der Blutspende auf den Fettstoffwechsel.¹⁰⁵ Auf Grund der vorliegenden Studienergebnisse scheint eine Übersubstitution von Eisen bei Blutspendern ebenso negative Auswirkungen zu haben wie die Induktion eines Eisenmangels. Ziel einer Substitution muss es deshalb sein, den Eisenverlust durch die Blutspende soeben auszugleichen und das Speichereisen im Normalbereich zu halten.