

## **5. Kompensation des Eisenverlustes nach Vollblutspende: Dreiarmlige randomisierte Placebo-kontrollierte Doppelblind-Studie**

### **5.1. Spezielle Fragestellung**

Die wichtigste Nebenwirkung der regelmäßigen Blutspende ist die potentielle Entwicklung eines Eisenmangels. Insbesondere menstruierende Frauen sind auf Grund des höheren basalen Eisenbedarfs gefährdet. Obwohl dieses Risiko schon lange bekannt ist, existieren nur wenige prospektive kontrollierte Studien zur Prävention des Eisenmangels.<sup>22,37,38,91</sup> Gordeuk et al.<sup>37</sup> führten eine Kurzzeit-Substitution mit 180 mg elementarem Eisen täglich als Eisen(II)-Sulfat über sieben Tage bei menstruierenden Frauen nach einer Vollblutspende durch und fanden keine vollständige Kompensation des Eisenverlustes nach acht Wochen. Simon et al.<sup>91</sup> hingegen konnten zeigen, dass eine tägliche Gabe von 39 mg elementarem Eisen als Eisen(II)-Sulfat über acht Wochen bei menstruierenden Frauen ausreicht, um den Eisen-Verlust durch eine Vollblutspende vollständig auszugleichen und sogar einen Anstieg des Speichereisens zu bewirken. Die Frage, welche Dosis zur Kompensation des Eisenverlustes nach Vollblutspende ausreicht, ist noch offen. Darüberhinaus fehlen kontrollierte Studien zur Eisen-Substitution bei männlichen Blutspendern.

In der vorliegenden, bereits publizierten randomisierten Placebo-kontrollierten Doppelblind-Studie<sup>79</sup> wurde untersucht, ob eine Dauersubstitution mit 40 mg bzw. 20 mg elementarem Eisen als Eisen(II)-Gluconat in Kombination mit 400 mg Ascorbinsäure ausreicht, um den Eisenverlust durch Vollblutspenden bei einem Spendeabstand von acht Wochen (Männer) oder zwölf Wochen (Frauen) zu kompensieren.

### **5.2. Materialien and Methoden**

Insgesamt wurden 526 Dauerblutspender (289 Männer und 237 Frauen) in die Studie eingeschlossen. Ein positives Votum der Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin lag vor. Alle Spender befanden sich nach ärztlicher Beurteilung in einem gesundheitlichen Zustand, der eine Blutspende ohne Bedenken zuließ, und erfüllten die Spendetauglichkeitskriterien gemäß der Richtlinien.<sup>109</sup> Von jedem Teilnehmer wurde eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt.

Das Prüfpräparat bestand aus identischen Kapseln in Blister-Packungen. Jede Kapsel enthielt 1,5 mg Pyridoxal-Phosphat, 2,25 µg Cyanocobalamin, 400 mg Ascorbinsäure, 200 µg Fol-

säure und 75 µg Biotin entweder ohne (Placebo) oder mit 20 mg elementarem Eisen als Eisen(II)-Gluconat (Phyt-Immun GmbH, Homburg, Deutschland). Dieses Präparat entspricht den Kriterien eines diätetischen Lebensmittels (Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke) gemäß der Zwölften Verordnung zur Änderung der Diätverordnung vom 31.03.2003 und ist somit nicht apothekenpflichtig. Die Studienteilnehmer wurden in einen von drei Studienarmen randomisiert und enthielten zwei Kapseln täglich entweder mit 40 mg, 20 mg oder 0 mg elementarem Eisen über insgesamt sechs Monate. Die Untersuchung wurde als Doppelblind-Studie durchgeführt.

Die männlichen Studienteilnehmer stellten sich insgesamt an vier Terminen vor: Beim Termin 0 erfolgten Studieneinschluss, Randomisierung und erste Vollblutspende: Die drei nachfolgenden Termine fanden in zweimonatigen Intervallen jeweils im Zusammenhang mit der nächsten Vollblutspende statt. Die weiblichen Studienteilnehmer stellten sich an insgesamt drei Terminen in dreimonatigem Intervall vor (Abb. 10). Die Intervalle entsprachen den in den Richtlinien<sup>109</sup> vorgegebenen Mindestintervallen, da Männer bis zu sechsmal, Frauen bis zu viermal jährlich Vollblut spenden dürfen.

Bei der initialen und jeder folgenden Vorstellung wurden Blutproben zur Bestimmung von Hämoglobin, Ferritin und löslichem Transferrin-Rezeptor entnommen. Bei Studienteilnehmern mit einer Hämoglobin-Konzentration unter 13,5 g/dl (Männer) bzw. unter 12,5 g/dl (Frauen) wurde an dem entsprechenden Termin keine Spende durchgeführt.

Die Compliance wurde durch Befragung und durch Zählen der zurückgebrachten Kapseln geprüft. Sie wurde als gut eingestuft, wenn mehr als 90% der Kapseln eingenommen wurden. Die Hämoglobin-Konzentration wurde aus Kapillarblut der Fingerbeere mit der Azid-Met-hämoglobin-Methode in einem HemoCue Hämoglobin B-Photometer (HemoCue, Großostheim, Deutschland) bestimmt. Die Konzentration von Ferritin und löslichem Transferrin-Rezeptor im Serum wurde nephelometrisch in einem BN Prospec Automatic Analyzer (Dade Behring, Marburg, Deutschland) gemessen. Als Maß für das Speichereisen wurde für jeden Untersuchungszeitpunkt der  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  (Logarithmus des Quotienten aus löslichem Transferrin-Rezeptor und Ferritin) berechnet.<sup>31,94</sup> Wegen der umgekehrten Korrelation zwischen  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  und Speichereisen bedeutet eine Zunahme des  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  eine Abnahme des Speichereisens.

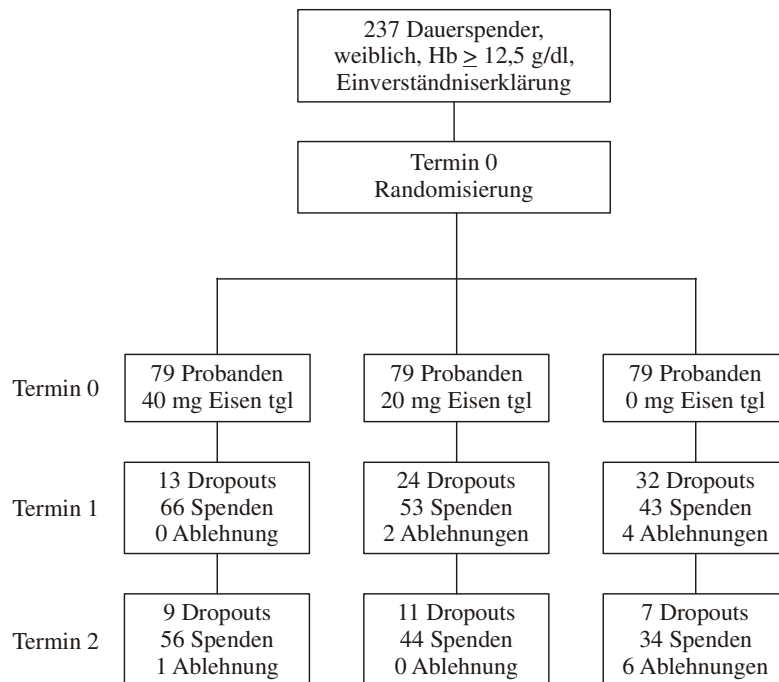
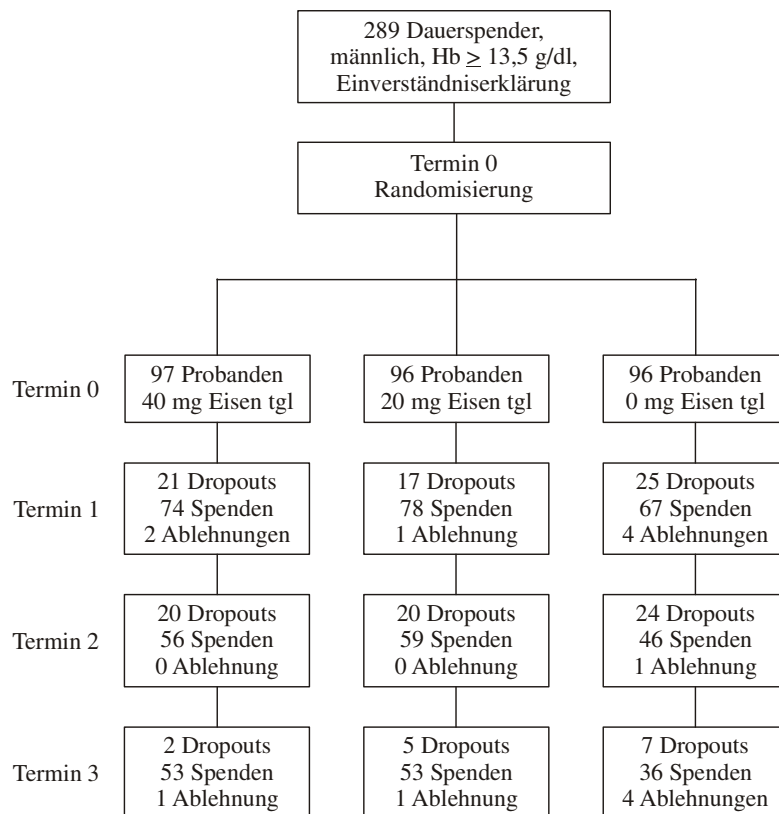


Abb. 10: Verlaufsdiagramm der Studie

Die Fallzahlberechnung, die Randomisierung und die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Software Stata for Windows (Stata Corp., College Station, Texas, USA). Der

Randomisationsplan wurde mit Hilfe einer Blockrandomisierung mit variabler Blocklänge erstellt.

Bezogen auf die Ferritin-Konzentration als Zielgröße wurde die Fallzahl unter Annahme einer Teststärke von 0,9, einem Signifikanzniveau von 0,0167 (Bonferroni-Adjustierung für drei Gruppen), einer kleinsten bedeutsamen Ferritin-Differenz zwischen den Gruppen von 10 µg/l, drei (Männer) bzw. zwei (Frauen) Nachfolgeuntersuchungen, einem intraindividuellen Korrelationskoeffizienten von 0,8 und einer Standardabweichung der Ferritin-Konzentration von 26 µg/l (Männer) bzw. 22 µg/l (Frauen) berechnet. Unter Annahme einer Dropout-Rate von 50% ergab sich eine Fallzahl von 98 Männern bzw. 80 Frauen pro Behandlungsgruppe.

Die statistische Auswertung erfolgte als „intent-to-treat“-Analyse für alle Studienteilnehmer, die sich zu mindestens einem Nachfolgetermin vorgestellt hatten, mit Hilfe eines linearen Regressionsmodells für longitudinale Daten (cross-sectional time-series regression model with generalized estimating equation analysis<sup>104</sup>). Zielgröße war die Veränderung (Differenz zum Vorwert) des  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  als Maß für das Speichereisen. Unabhängige Variable (Prädiktor) in dem statistischen Modell war die Art der Studienmedikation (dummy-kodiert).

### **5.3. Ergebnisse**

Von den 289 in die Studie eingeschlossenen männlichen Dauerspendern (Alter 19 bis 67 Jahre) beendeten 141 (49%) die Studie nicht: Die Dropout-Rate lag in der Gruppe mit einer täglichen Eisen-Substitution von 40 mg bei 44%, in der 20 mg Eisen-Gruppe bei 44% und in der Placebo-Gruppe bei 58% ( $p = 0,075$ ; Fishers exakter Test). 45% der Studienabbrüche fanden bereits vor dem ersten Nachfolgetermin statt (Abb. 10, Tab. 7).

Das mittlere Zeitintervall zwischen den Terminen bzw. Vollblutspenden lag bei 60 Tagen. Spenderückstellungen wegen unzureichender Hämoglobin-Konzentration traten bei 14 der 825 Termine (1,7%) auf und waren in der Placebo-Gruppe signifikant häufiger als in der 20 mg und 40 mg Eisen-Gruppe (9 vs. 2 vs. 3;  $p = 0,022$ ; Fishers exakter Test). Die Compliance wurde in etwa einem Drittel der Probanden als schlecht eingestuft.

Tab. 7: Anzahl und Gründe von Dropouts während der Studie

	<b>unbekannte Gründe</b>	<b>gastrointestinale Beschwerden</b>	<b>schlechte Compliance</b>	<b>andere Gründe</b>
<b><i>Männer</i></b>				
40 mg Eisen	15.5% (15/97)	5.2% (5/97)	12.4% (12/97)	13.4% (13/97)
20 mg Eisen	18.8% (18/96)	6.3% (6/96)	16.7% (16/96)	3.1% (3/96)
0 mg Eisen (Placebo)	20.8% (20/96)	6.3% (6/96)	21.9% (21/96)	11.5% (11/96)
<b><i>Frauen</i></b>				
40 mg Eisen	8.9% (7/79)	2.5% (2/79)	10.1% (8/79)	6.3% (5/79)
20 mg Eisen	20.3% (16/79)	6.3% (5/79)	11.4% (9/79)	6.3% (5/79)
0 mg Eisen (Placebo)	24.1% (19/79)	3.8% (3/79)	10.1% (8/79)	11.4% (9/79)

In der Placebo-Gruppe der Männer fiel die mittlere Ferritin-Konzentration von einem Ausgangswert von 35 µg/l auf 21 µg/l beim letzten Termin ab. Die Anzahl männlicher Spender mit erschöpftem Speichereisen (Ferritin < 12 µg/l) stieg von 20% auf 54%, die mittlere Konzentration des löslichen Transferrin-Rezeptors (TfR) geringfügig von 1,6 mg/l auf 1,7 mg/l an (Tab. 8, Abb. 11).

In der 20 mg Eisen-Gruppe der Männer fiel die mittlere Ferritin-Konzentration von 35 µg/l auf 25 µg/l ab, wobei sich jedoch der Median nur geringfügig änderte. Sowohl die Anzahl männlicher Spender mit erschöpftem Speichereisen (25%), als auch die mittlere TfR-Konzentration (1,5 mg/l) blieben nahezu unverändert.

In der 40 mg Eisen-Gruppe der Männer blieben die mittlere Ferritin-Konzentration (33 µg/l) und die mittlere TfR-Konzentration (1,5 mg/l) unverändert, die Anzahl männlicher Spender mit erschöpftem Speichereisen fiel von 26% auf 13%.

Der log(TfR/F) blieb bei den männlichen Spendern nahezu konstant in beiden Eisen-Gruppen, stieg jedoch in der Placebo-Gruppe kontinuierlich an (Abb. 13), was sich auch in der Regressionsanalyse widerspiegelte: Der log(TfR/F) stieg in der Placebo-Gruppe von Spende zu Spende um 0,09 an, änderte sich jedoch in beiden Eisen-Gruppen nur marginal. Beide Eisen-Gruppen unterschieden sich signifikant von der Placebo-Gruppe (Tab. 9)

Tab. 8: Ferritin-Konzentration (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), Anzahl von Spendern mit erschöpftem Eisenspeicher (Ferritin  $< 12 \mu\text{g/l}$ ), Konzentration des löslichen Transferrin-Rezeptor TfR und Logarithmus des Quotienten aus Transferrin-Rezeptor und Ferritin  $\log(\text{TfR}/\text{F})$

	Termin	Ferritin [ $\mu\text{g/l}$ ]	erschöpfte Eisen- speicher	TfR [mg/l]	$\log(\text{TfR}/\text{F})$
<b>Männer</b>					
40 mg iron	0	$32,7 \pm 27,5$	26,3 % (20/76)	$1,54 \pm 0,51$	$1,81 \pm 0,49$
	1	$31,4 \pm 18,8$	16,2 % (12/74)	$1,47 \pm 0,49$	$1,73 \pm 0,39$
	2	$30,2 \pm 20,8$	17,9 % (10/56)	$1,50 \pm 0,51$	$1,78 \pm 0,39$
	3	$33,2 \pm 26,7$	13,0 % (7/54)	$1,52 \pm 0,55$	$1,77 \pm 0,44$
20 mg iron	0	$34,7 \pm 36,3$	25,3 % (20/79)	$1,48 \pm 0,48$	$1,80 \pm 0,50$
	1	$33,1 \pm 33,3$	21,8 % (17/78)	$1,46 \pm 0,44$	$1,78 \pm 0,43$
	2	$30,2 \pm 32,7$	25,4 % (15/59)	$1,47 \pm 0,45$	$1,83 \pm 0,45$
	3	$25,0 \pm 19,8$	24,5 % (13/53)	$1,52 \pm 0,47$	$1,88 \pm 0,40$
0 mg iron (Placebo)	0	$35,1 \pm 32,4$	19,7 % (14/71)	$1,55 \pm 0,50$	$1,78 \pm 0,45$
	1	$27,5 \pm 27,9$	30,9 % (21/68)	$1,61 \pm 0,45$	$1,90 \pm 0,41$
	2	$24,9 \pm 24,7$	29,8 % (14/47)	$1,60 \pm 0,52$	$1,94 \pm 0,42$
	3	$21,4 \pm 27,5$	53,9 % (21/39)	$1,67 \pm 0,53$	$2,07 \pm 0,46$
<b>Frauen</b>					
40 mg iron	0	$19,3 \pm 15,0$	39,4 % (26/66)	$1,43 \pm 0,65$	$1,95 \pm 0,39$
	1	$28,5 \pm 19,8$	15,2 % (10/66)	$1,26 \pm 0,49$	$1,71 \pm 0,31$
	2	$31,4 \pm 19,4$	14,0 % (8/57)	$1,29 \pm 0,54$	$1,67 \pm 0,32$
20 mg iron	0	$20,0 \pm 32,3$	54,6 % (30/55)	$1,38 \pm 0,46$	$2,03 \pm 0,46$
	1	$23,3 \pm 27,9$	45,1 % (23/51)	$1,36 \pm 0,42$	$1,93 \pm 0,47$
	2	$23,5 \pm 26,1$	34,1 % (15/44)	$1,35 \pm 0,49$	$1,89 \pm 0,46$
0 mg iron (Placebo)	0	$17,7 \pm 15,0$	48,9 % (23/47)	$1,39 \pm 0,65$	$2,00 \pm 0,45$
	1	$17,6 \pm 14,5$	44,2 % (19/43)	$1,40 \pm 0,42$	$2,01 \pm 0,44$
	2	$15,1 \pm 12,3$	48,7 % (19/39)	$1,55 \pm 0,66$	$2,13 \pm 0,50$

Tab. 9: Regressionmodell für die Änderung des  $\log(\text{TfR}/\text{F})$

Prädiktor	Koeffizient	95%-Konfidenz-Intervall	p
<b>Männer</b>			
20 mg Eisen	- 0,074	[- 0,121; - 0,028]	0,002
40 mg Eisen	- 0,118	[- 0,168; - 0,068]	< 0,001
Konstante	+ 0,091	[+ 0,058; + 0,123]	< 0,001
<b>Frauen</b>			
20 mg Eisen	- 0,150	[- 0,238; - 0,061]	0,001
40 mg Eisen	- 0,209	[- 0,292; - 0,127]	< 0,001
Konstante	+ 0,086	[+ 0,018; + 0,153]	0,012

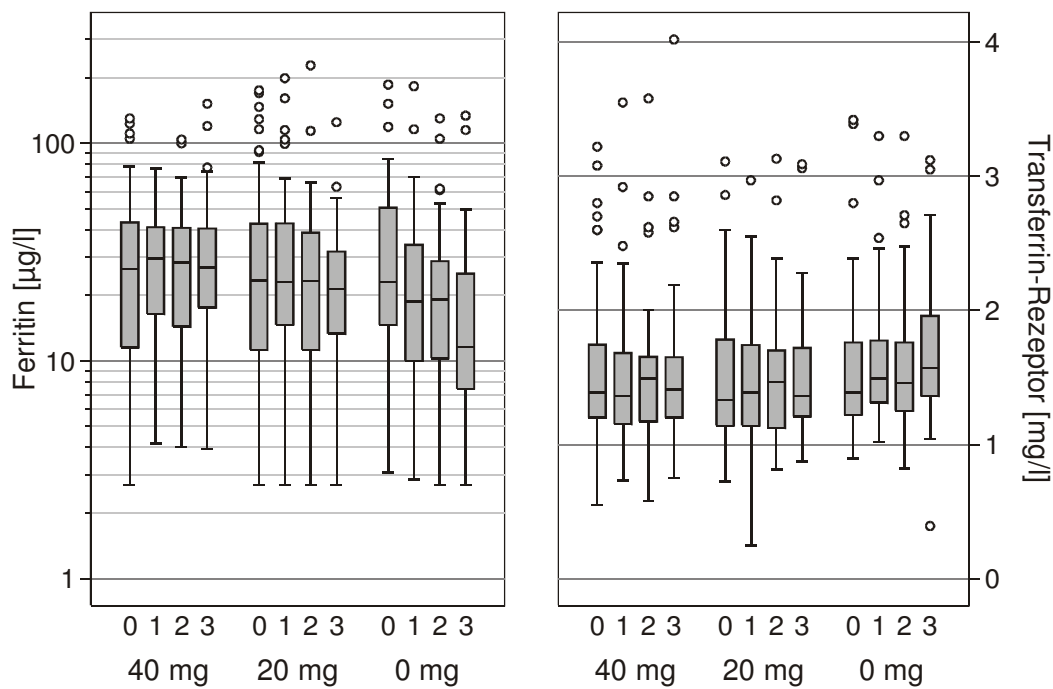


Abb. 11: Konzentration von Ferritin und löslichem Transferrin-Rezeptor in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt und von der täglichen Eisen-Substitution für alle männlichen Probanden mit mindestens einem Nachfolgetermin

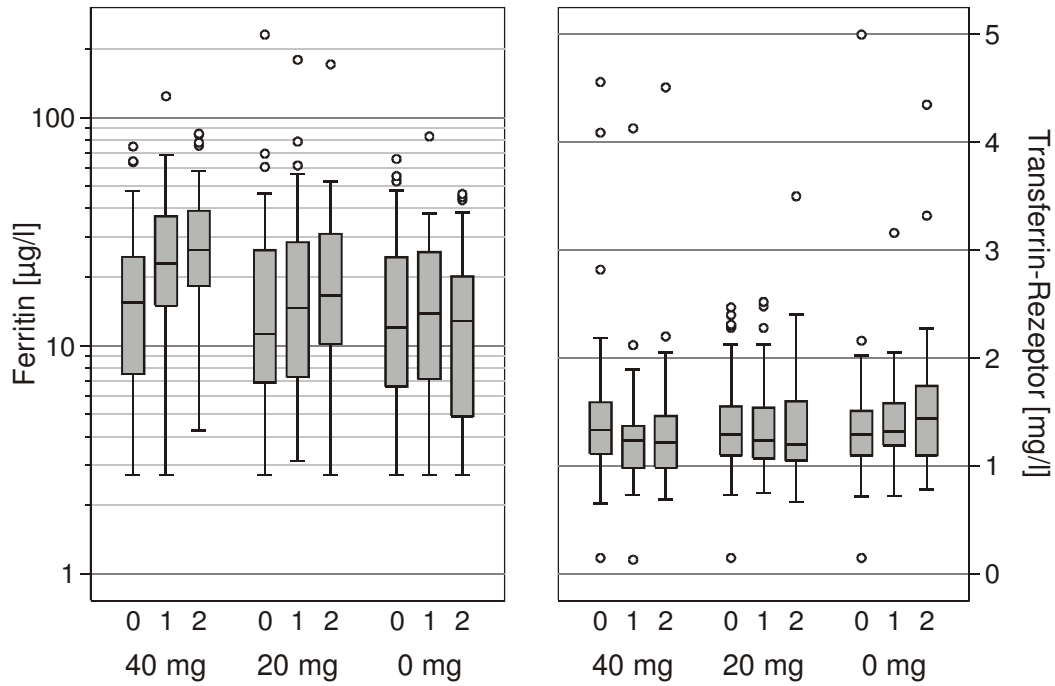


Abb. 12: Konzentration von Ferritin und löslichem Transferrin-Rezeptor in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt und von der täglichen Eisen-Substitution für alle weiblichen Probanden mit mindestens einem Nachfolgetermin

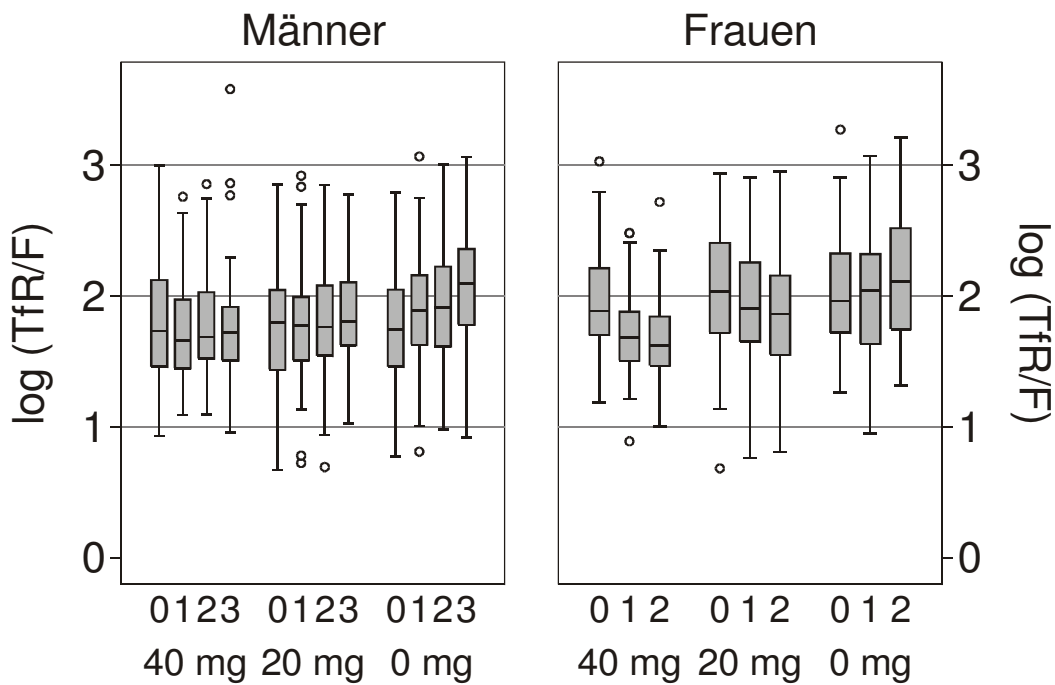


Abb. 13:  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt und von der täglichen Eisen-Substitution für alle Probanden mit mindestens einem Nachfolgetermin



Von den 237 in die Studie eingeschlossenen weiblichen Dauerspendern (Alter 19 bis 65 Jahre) beendeten 96 (41%) die Studie nicht: Die Dropout-Rate lag in der Gruppe mit einer täglichen Eisen-Substitution von 40 mg bei 28%, in der 20 mg Eisen-Gruppe bei 44% und in der Placebo-Gruppe bei 49% ( $p = 0,015$ ; Fishers exakter Test). 72% der Studienabbrüche fanden bereits vor dem ersten Nachfolgetermin statt (Abb. 10, Tab. 7). Das mittlere Zeitintervall zwischen den Terminen bzw. Vollblutspenden lag bei 88 Tagen. Spenderrückstellungen wegen unzureichender Hämoglobin-Konzentration traten bei 13 der 546 Termine (2,4%) auf und waren in der Placebo-Gruppe signifikant häufiger als in der 20 mg und 40 mg Eisen-Gruppe (10 vs. 2 vs. 1;  $p = 0,001$ ; Fishers exakter Test). Die Compliance wurde in etwa einem Viertel der Probanden als schlecht eingestuft.

In der Placebo-Gruppe der Frauen fiel die mittlere Ferritin-Konzentration von einem Ausgangswert von 18  $\mu\text{g/l}$  auf 15  $\mu\text{g/l}$  beim letzten Termin ab. Die Anzahl weiblicher Spender mit erschöpftem Speichereisen (Ferritin  $< 12 \mu\text{g/l}$ ) blieb konstant bei 49%, die mittlere Konzentration des löslichen Transferrin-Rezeptors (TfR) stieg von 1,4 mg/l auf 1,6 mg/l an (Tab. 8, Abb. 12).

In der 20 mg Eisen-Gruppe der Frauen stieg die mittlere Ferritin-Konzentration von 20  $\mu\text{g/l}$  auf 24  $\mu\text{g/l}$  an, die Anzahl weiblicher Spender mit erschöpftem Speichereisen fiel von 55% auf 34% und die mittlere TfR-Konzentration (1,4 mg/l) blieb nahezu unverändert.

In der 40 mg Eisen-Gruppe der Frauen stieg die mittlere Ferritin-Konzentration von 19  $\mu\text{g/l}$  auf 31  $\mu\text{g/l}$ , die Anzahl weiblicher Spender mit erschöpftem Speichereisen fiel von 39% auf 14% und die mittlere TfR-Konzentration sank von 1,4 mg/l geringfügig auf 1,3 mg/l ab.

Der  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  fiel bei den weiblichen Spendern in beiden Eisen-Gruppen ab, stieg jedoch in der Placebo-Gruppe kontinuierlich an (Abb. 13), was sich auch in der Regressionsanalyse widerspiegelte: Der  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  stieg in der Placebo-Gruppe von Spende zu Spende um 0,09 an, aber nahm in der 20 mg bzw. 40 mg Eisen-Gruppe um etwa 0,06 bzw. 0,12 pro Spende ab (Tab. 9).

Die meisten männlichen und weiblichen Probanden (60%) gaben keinerlei Nebenwirkungen an. Es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den drei Behandlungsgruppen. Insbesondere die Häufigkeit gastrointestinaler Beschwerden waren niedrig (11% in der 40 mg Eisen-Gruppe, 13% in der 20 mg Eisen-Gruppe und 11% in der Placebo-Gruppe).

## 5.4. Diskussion der Ergebnisse

Regelmäßige Vollblutspenden in den zulässigen Spendeintervallen können zu einer negativen Eisenbilanz führen.<sup>34,35,48,86</sup> Die Substitution von Eisen im Intervall zwischen den Spenden kann einer Eisendepletion vorbeugen,<sup>22,38,91</sup> allerdings ist die minimal notwendige Dosis zur Kompensation des Eisenverlustes nach einer Vollblutspende nicht bekannt. Umstritten ist auch, ob eine Eisen-Substitution bei männlichen Dauerspendern sinnvoll ist. Um diesen Fragen nachzugehen, wurden in der vorliegenden Studie männliche und weibliche Dauerspender in drei Gruppen randomisiert. Die erste Gruppe erhielt 40 mg elementares Eisen täglich als Dauertherapie. Diese Dosis wurde bereits von Simon et al.<sup>91</sup> als ausreichend zur Kompensation des Eisenverlustes nach Vollblutspende beschrieben. Die zweite Gruppe erhielt mit 20 mg Eisen täglich die halbe Dosis. Die dritte Gruppe erhielt kein Eisen und entspricht somit dem Standardspender ohne Eisen-Substitution. Als Maß für das Speichereisen wurde der  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  bestimmt: Diese Größe stellt derzeit den Laborparameter mit der größten Validität zur Erfassung des Speichereisens dar.<sup>31,94</sup>

Wie erwartet führte die regelmäßige Vollblutspende ohne Eisen-Substitution in den zulässigen Mindestintervallen bei Männern und Frauen zu einem signifikanten Abfall des mittleren Speichereisens. Hingegen resultierte eine tägliche Substitution mit 20 mg oder 40 mg elementarem Eisen in einer positiven Eisenbilanz und einem Anstieg des Speichereisens bei den weiblichen und einer ausgeglichenen Eisenbilanz bei den männlichen Dauerspendern. Das unterschiedliche Verhalten des Speichereisens bei Männern und Frauen ist durch die kürzeren Spendeintervalle und die kürzere Substitutionsdauer bei den Männern zu erklären (zwei Monate vs. drei Monate). Der Zusatz von 400 mg Ascorbinsäure dürfte zu einer Steigerung der Eisen-Resorptionsrate um etwa 50% führen.<sup>18</sup> Die Wirkung der anderen Vitamine im Prüfpräparat ist spekulativ. Ein wesentlicher Grund für ihren Zusatz war der Wunsch, die Compliance zu verbessern, da viele Probanden an einen positiven Einfluss von Vitamin-Präparaten glauben.

Unerwartet war die niedrige Frequenz von Nebenwirkungen durch das Prüfpräparat, die sich nicht zwischen der Placebo-Gruppe und den beiden Eisen-Gruppen unterschied. Insbesondere die Häufigkeit gastrointestinaler Beschwerden in den beiden Eisen-Gruppen (12%) war sehr niedrig. In der Literatur<sup>9,33</sup> werden häufig höhere Nebenwirkungsfrequenzen angegeben, was möglicherweise auf die dort verwendeten höhere Eisen-Dosierungen zurückzuführen ist.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen klar, dass bei männlichen Dauerspendern 20 mg Eisen täglich über zwei Monate ausreichten, um den Eisenverlust durch die Vollblutspende zu

kompensieren. Bei den weiblichen Dauerspendern führten bereits 20 mg Eisen täglich über drei Monate zu einer Überkompensation des Eisenverlustes und kontinuierlich ansteigendem Speichereisen.