

Aus dem Institut für Transfusionsmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**„Der Einfluss einer intermittierenden  
Eisensubstitution  
auf den Eisenhaushalt von Blutspendern bei  
maximaler Spendefrequenz“**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

**Nancy Kelle**

aus Lutherstadt Wittenberg

Datum der Promotion: 05.06.2016

# Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	IV
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	VI
<b>Abstracts</b> .....	VII
<b>1 Einleitung</b> .....	1
1.1 Eisen im menschlichen Organismus .....	1
1.1.1 Ein Überblick zu den biologischen Funktionen des Eisens .....	1
1.1.2 Die Erythropoese .....	1
1.1.3 Der Eisenstoffwechsel.....	2
1.2 Labortechnische Bestimmungsmethoden zur Beurteilung des Eisenspeichers .....	13
1.3 Eisenmangel und Eisenmangelanämie.....	15
1.4 Blutprodukte und ihre Bedeutung für die heutige Gesellschaft .....	15
1.5 Blutspenden und Eisenhaushalt .....	16
1.5.1 Der Eisenverlust bei Blutspendern .....	16
1.5.2 Eisensubstitution bei Blutspendern .....	18
1.5.3 Studien zur Eisensubstitution bei Blutspendern .....	21
<b>2 Fragestellung</b> .....	26
<b>3 Material und Methodik</b> .....	27
3.1 Für die Studie geltende Rahmenbedingungen.....	27
3.2 Studiendesign und Studiendurchführung .....	29
3.3 Zusammensetzung der Prüfpräparate .....	30
3.4 Laborparameter .....	31
3.4.1 Bestimmung von Hämoglobin und Hämatokrit .....	31
3.4.2 Bestimmung von Hämoglobinäquivalent der Retikulozyten (Ret-He) und Erythrozyten (RBC-He) .....	32
3.4.3 Bestimmung der Ferritin-Konzentration im Serum .....	33

---

3.5	Erfassung unerwünschter Begleiterscheinungen und der Compliance .....	34
3.6	Statistik .....	35
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>37</b>
4.1	Demographische Charakteristika der Studienteilnehmer .....	37
4.2	Spendeintervall .....	38
4.3	Spendepausen (Rückstellungen von der Spende).....	38
4.4	Studienabbrüche (Drop outs).....	40
4.5	Compliance.....	42
4.6	Ferritin-Konzentration .....	45
4.6.1	Ergebnisse für weibliche Studienteilnehmer .....	45
4.6.2	Ergebnisse für männliche Studienteilnehmer.....	50
4.7	Hämoglobin-Konzentration und neue erythrozytäre Parameter (RBC-He, Ret-He) .....	53
4.7.1	Ergebnisse für weibliche Studienteilnehmer .....	53
4.7.2	Ergebnisse für männliche Studienteilnehmer.....	57
4.8	Unerwünschte Begleiterscheinungen .....	60
4.8.1	Unerwünschte Begleiterscheinungen weiblicher Probanden .....	60
4.8.2	Unerwünschte Begleiterscheinungen männlicher Probanden.....	61
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>63</b>
5.1	Drop out-Rate .....	63
5.2	Eisenstatus der Probanden zu Beginn der Studie .....	64
5.3	Einfluss der Studienmedikation auf die Änderung der Ferritin-Konzentration im Studienverlauf .....	65
5.3.1	Ergebnisse für weibliche Studienteilnehmer .....	65
5.3.2	Ergebnisse für männliche Studienteilnehmer.....	67
5.4	Einfluss von Ascorbinsäure, Ferritin-Ausgangskonzentration und Alter der Studienteilnehmer auf die Änderung der Ferritin-Konzentration .....	68
5.5	Hämoglobinkonzentration, RBC-He und RET-He im Verlauf der Studie.....	70
5.6	Auftreten unerwünschter Ereignisse in den drei Medikationsgruppen .....	73
5.7	Beurteilung der Compliance.....	75

---

<b>6 Zusammenfassung</b> .....	76
<b>Literaturverzeichnis</b> .....	78
<b>Anlagenverzeichnis</b> .....	86
<b>Anlagen</b> .....	87
Anlage 1: Probandeninformation .....	87
Anlage 2: Probanden-Einwilligungserklärung .....	92
Anlage 3: Ethik-Votum, Antragsnr. EA 1/100/09 .....	94
Anlage 4: Studientagebuch .....	95
Anlage 5: Fragebogen zur Erfassung unerwünschter Ereignisse .....	99
<b>Eidesstattliche Versicherung</b> .....	103
<b>Lebenslauf</b> .....	104
<b>Publikationen</b> .....	106
<b>Danksagung</b> .....	107

## Abbildungsverzeichnis

	<u>Seite</u>
<b>Abbildung 1:</b> Hepcidin in Interaktion mit Ferroportin als Haupt-Kontrollmechanismus der Abgabe von Eisen ins Plasma .....	4
<b>Abbildung 2:</b> Überblicksdarstellung zur Eisenhomöostase und des Eisenfluss im Organismus.....	7
<b>Abbildung 3:</b> Hepcidin und Hämochromatose .....	12
<b>Abbildung 4:</b> Altersverteilung der weiblichen Studienteilnehmer.....	37
<b>Abbildung 5:</b> Altersverteilung der männlichen Studienteilnehmer .....	38
<b>Abbildung 6:</b> Übersicht zu Spenden, Abbrüchen und Rückstellungen bei weiblichen Probanden an Termin 1 bis 3 für die drei Randomisierungsgruppen .....	41
<b>Abbildung 7:</b> Übersicht zu Spenden, Abbrüchen und Rückstellungen bei männlichen Probanden an Termin 1 bis 3 für die drei Randomisierungsgruppen .....	42
<b>Abbildung 8:</b> Compliance der Frauen im 1. Einnahmezyklus nach Randomisierungsgruppe .....	43
<b>Abbildung 9:</b> Compliance der Frauen im 2. Einnahmezyklus nach Randomisierungsgruppe .....	44
<b>Abbildung 10:</b> Compliance der Männer im 1. Einnahmezyklus nach Randomisierungsgruppe .....	44
<b>Abbildung 11:</b> Compliance der Männer im 2. Einnahmezyklus nach Randomisierungsgruppe .....	45
<b>Abbildung 12:</b> Box-Whisker-Plot der Ferritin-Ausgangskonzentrationen in den drei Randomisierungsgruppen für Frauen.....	46
<b>Abbildung 13:</b> Mittelwerte und Standardabweichung der Ferritin-Konzentration [ $\mu\text{g/l}$ ] der Frauen an Termin 1 bis 3 getrennt nach Randomisierungsgruppen .....	47
<b>Abbildung 14:</b> Anteil der Frauen mit Ferritin-Konzentrationen $< 12 \mu\text{g/l}$ absolut und bezogen auf die Gesamtanzahl aller Frauen der jeweiligen Randomisierungsgruppe an den Terminen 1-3 .....	49
<b>Abbildung 15:</b> Box-Whisker-Plot der Ferritin-Ausgangskonzentrationen in den drei Randomisierungsgruppen für Männer.....	50

---

<b>Abbildung 16:</b> Mittelwerte und Standardabweichung der Ferritin-Konzentration [ $\mu\text{g/l}$ ] der Männer an Termin 1 bis 3 getrennt nach Randomisierungsgruppen .....	51
<b>Abbildung 17:</b> Anteil der Männer mit Ferritin-Konzentrationen $< 12 \mu\text{g/l}$ absolut und bezogen auf die Gesamtanzahl aller Männer der jeweiligen Randomisierungsgruppe an den Terminen 1-3 und bezogen .....	53
<b>Abbildung 18:</b> Box-Whisker-Plot: Ret-He [amol] im Studienverlauf für die drei Randomisierungsgruppen der weiblichen Probanden .....	56
<b>Abbildung 19:</b> Box-Whisker-Plot: RBC-He [amol] im Studienverlauf für die drei Randomisierungsgruppen der weiblichen Probanden .....	56
<b>Abbildung 20:</b> Box-Whisker-Plot: Ret-He [amol] im Studienverlauf für die drei Randomisierungsgruppen der männlichen Probanden .....	59
<b>Abbildung 21:</b> Box-Whisker-Plot: RBC-He [amol] im Studienverlauf für die drei Randomisierungsgruppen der männlichen Probanden3 .....	60

## Tabellenverzeichnis

	<u>Seite</u>
<b>Tabelle 1:</b> Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie .....	28
<b>Tabelle 2:</b> Abbruchkriterien und Verhaltensregeln der Studie .....	29
<b>Tabelle 3:</b> Spendeausen weiblicher Probanden an beiden Folgeterminen nach Randomisierungsgruppe.....	39
<b>Tabelle 4:</b> Spendeausen männlicher Probanden an beiden Folgeterminen nach Randomisierungsgruppe.....	39
<b>Tabelle 5:</b> Regressionsanalyse mit der abhängigen Variable „Mittlere Änderung der Ferritin-Konzentration“ beim 1. und 2. Kontrolltermin und den unabhängigen Variablen „Medikation“ (Verum1 bzw. 2 im Vergleich zum Placebo), „Kontrolltermin“, „Alter“, „Ferritin-Ausgangswert“, „Spendeabstand“, „Spendepause“ und „Compliance“ für weibliche Studienteilnehmer.....	48
<b>Tabelle 6:</b> Regressionsanalyse mit der abhängigen Variable „Mittlere Änderung der Ferritin-Konzentration“ beim 1. und 2. Kontrolltermin und den unabhängigen Variablen „Medikation“ (Verum1 bzw. 2 im Vergleich zum Placebo), „Kontrolltermin“, „Alter“, „Ferritin-Ausgangswert“, „Spendeabstand“, „Spendepause“ und „Compliance“ für männliche Studienteilnehmer.....	52
<b>Tabelle 7:</b> Mittelwerte und Standardabweichung von Hämoglobin, RBC-He und RET-He an Termin 1 bis 3 getrennt nach Gruppen für Frauen.....	55
<b>Tabelle 8:</b> Mittelwerte und Standardabweichung von Hämoglobin, RBC-He und RET-He an Termin 1 bis 3 getrennt nach Gruppen für Männer.....	58
<b>Tabelle 9:</b> Nebenwirkungen insgesamt und gastrointestinale Nebenwirkungen in Absolutzahlen und prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der ausgewerteten Probanden der jeweiligen Gruppe (Frauen) .....	61
<b>Tabelle 10:</b> Nebenwirkungen insgesamt und gastrointestinale Nebenwirkungen in Absolutzahlen und prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der ausgewerteten Probanden der jeweiligen Gruppe (Männer) .....	62

## **Abstracts**

### **Introduction:**

The collection of blood or blood components is mandatory for securing patients' medical care.

A large number of regular blood donors develop an iron deficiency, which leads to deferral from blood donation. Temporary deferral has a strong influence on donor contentment and often results in a more rapid loss of these donors.

Not least there is the ethical responsibility for protecting donors' health.

This leads to the necessity of providing donors with oral iron supplementation, but the exact dose of iron required for compensating the iron loss from whole-blood donation is not yet known.

### **Study Design and Methods:**

As part of a randomized, placebo-controlled double-blind trial 621 regular blood donors (366 male and 255 female) were examined.

The study participants were randomly assigned to treatment with either 0 mg, 20 mg of elemental iron as ferrous gluconate or 20 mg of elemental iron ferrous gluconate plus 400 mg ascorbic acid.

In total there were three visits in intervals of eight weeks (males) or twelve weeks (females) on which whole blood should be collected.

Hemoglobin levels, serum ferritin, and hemoglobin content of reticulocytes and red blood cells (RET-He and RBC-He) were measured before each donation.

The aim of the study was to investigate if an overall dose of 600 mg of elemental iron is sufficient for fully compensating the iron loss from whole-blood donation and avoiding the emptying of body iron stores in male and female blood donors.

Furthermore it should be examined if there is any benefit by additional administration of ascorbic acid to the donor.

### **Results:**

An overall dose of 600 mg of elemental iron per day seems not appropriate to fully compensate the iron loss due to whole- blood donation at intervals of eight weeks in males and at intervals of twelve weeks in females. This result was unaffected by whether ascorbic acid was given additionally or not.



Nevertheless a positive effect of oral iron supplementation on body iron stores was found.

A small part (2,5 %) of the participants who received iron had severe gastrointestinal side effects which led to a drop out.

In this study the overall drop out-rate in both male and female was higher than the estimated rate of 40 %.

Therefore the results of this study have to be critically evaluated.

**Conclusion:**

A standardized protocol for oral iron substitution blood donors is urgently needed to reassure supplying the population with blood products in the future.

However, further research is necessary to set the appropriate dose and the ideal interval for such standardized substitution.

**Einleitung:**

Die Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen durch Spenden ist essenziell für die Sicherung der medizinischen Versorgung von Patienten.

Eine große Anzahl der regelmäßigen Blutspender entwickelt einen Eisenmangel, der zur Rückstellung von der Spende führt. Temporäre Rückstellung hat einen starken Einfluss auf die Zufriedenheit der Spender und führt häufig zu einem schnelleren Verlust an Blutspendern.

Nicht zuletzt besteht die ethische Verpflichtung, den Spender vor gesundheitlichen Schäden zu bewahren.

Die notwendige Konsequenz ist eine Eisensubstitution, jedoch ist bisher nicht bekannt, welche exakte Menge erforderlich ist, um diese Eisenverluste adäquat auszugleichen.

**Studiendesign und Methoden:**

Im Rahmen einer randomisierten Placebo-kontrollierten Doppelblind-Studie wurden insgesamt 621 Dauerblutspender (366 Männer und 255 Frauen) untersucht.

Die Studienteilnehmer wurden in einen von drei Studienarmen randomisiert und erhielten entweder 0 mg, 20 mg elementares Eisen oder 20 mg elementares Eisen plus 400 mg Ascorbinsäure pro Tag als Eisengluconat über jeweils zweimal 30 Tage nach dem ersten bzw. zweiten Studientermin. Die Teilnehmer stellten sich insgesamt dreimal, jeweils im Abstand von acht Wochen (Männer) bzw. zwölf Wochen (Frauen), zur Spende vor.

Vor jeder Blutspende wurden Hämoglobinwert, Serumferritin und Hämoglobinäquivalent der Retikulozyten (RET-He) und Erythrozyten (RBC-He) bestimmt.

Ziel war es, zu ermitteln, ob eine Gesamtdosis von 600 mg elementarem Eisen in einem Substitutionsintervall von 30 Tagen ausreichend ist, um die Eisen-Verluste männlicher und weiblicher Spender bei maximaler Blutspendefrequenz auszugleichen und der Entleerung der Eisenspeicher entgegenzuwirken. Weiterhin galt es zu untersuchen, ob die gleichzeitige Gabe von Vitamin C einen Vorteil erbringt.

**Ergebnisse:**

Es zeigte sich, dass bei maximaler Spendefrequenz eine Substitution mit 600 mg Eisen mit und ohne Ascorbinsäure sowohl bei männlichen als auch weiblichen Blutspenderinnen nicht ausreichend zu sein scheint, um die Verluste durch die Blutspenden vollständig auszugleichen. Nur in der Tendenz war ein positiver Effekt der Eisengabe auf den Eisenspeicher zu beobachten.

Bei einem kleinen Teil der Probanden der Verum-Gruppen (2,5 %) traten ausgeprägte gastrointestinale Begleiterscheinungen auf, die zu einem Abbruch der Studie führten. Die Rate der Studienabbrüche lag in dieser Studie für beide Geschlechter höher als die erwartete Rate von 40 %.

Aufgrund des geringeren auswertbaren Stichprobenumfanges sind die Ergebnisse dieser Studie kritisch zu betrachten.

**Schlussfolgerung:**

Ein einheitliches Schema zur Eisensubstitution für alle Blutspender ist dringend erforderlich, möchte man auch in Zukunft die Versorgung der Bevölkerung mit Blutprodukten sichern.

Es ist jedoch weitere Forschung nötig, um die geeignete Dosis und das ideale Intervall für eine solche standardisierte Substitution festlegen zu können.

# 1 Einleitung

## 1.1 Eisen im menschlichen Organismus

### 1.1.1 Ein Überblick zu den biologischen Funktionen des Eisens

Eisen erfüllt im menschlichen Organismus vielfältige Aufgaben.

Als essentielles Spurenelement spielt es eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung zahlreicher Stoffwechselprozesse. So bilden Eisen-Ionen in Zytochromen und Eisen-Schwefel-Proteinen (Ferredoxine) Redoxsysteme, in denen zweiwertige Eisen-Ionen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) als Donator und dreiwertige Eisen-Ionen ( $\text{Fe}^{3+}$ ) als Akzeptor für Elektronen fungieren. Unter dem Valenzwechsel der Eisen-Ionen unterliegen die negativ geladenen Teilchen innerhalb der enzymatischen Reaktion einem ständigen Fluss vom Wasserstoff zum Sauerstoff und ermöglichen so das Katalysieren biochemischer Prozesse.

Die häminhaltigen ( $\text{Fe}^{3+}$ ) Enzyme Katalase und Peroxidase sowie freies  $\text{Fe}^{2+}$  ermöglichen die Zerlegung des bei vielen Stoffwechselfvorgängen entstehenden zelltoxischen Wasserstoffperoxids.

Nicht zuletzt ist das zweiwertige Eisen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) im Häm des Hämoglobin und Myoglobin Voraussetzung für das Funktionieren des Prinzips der aeroben Atmung. Es besitzt im Gegensatz zu dem Eisen in vielen Zytochromen ein freies Elektronenpaar, an dem Sauerstoff ( $\text{O}_2$ ) reversibel als Ligand binden kann und ermöglicht dadurch den Transport und die Speicherung von Sauerstoff im Körper (1).

### 1.1.2 Die Erythropoese

Für den Sauerstofftransport in höheren Lebensformen wird Blut als Transportmedium genutzt. 1 Milliliter Blut enthält ca. 5 Milliarden Erythrozyten, deren Lebensdauer im Mittel 120 Tage umfasst. Pro Sekunde bildet der menschliche Körper unter Normbedingungen etwa 3 Millionen neue rote Blutkörperchen.

Die Erythropoese beginnt mit der Bildung von Proerythroblasten aus pluripotenten Stammzellen im Knochenmark. Diese kernhaltigen Vorläuferzellen sind intensiv zur Zellteilung befähigt. Das überwiegend in Niere und zum Teil auch in Leber und anderen Organen gebildete Hormon Erythropoetin hat an dieser Stelle Einfluss auf die Zellteilungsrate. Es wird unter Hypoxiebedingungen im Gewebe vermehrt gebildet und

in das Blut abgegeben, kann die Proliferationsrate der Proerythroblasten steigern und so die Bildung roter Blutkörperchen dem Bedarf des Organismus anpassen. Durch diese Zellteilung entstehen die sogenannten Erythroblasten. Diese haben bereits wesentlich kleinere Zellkerne, allerdings ein großes Polyribosomennetz. Hier erfolgt die Bildung des roten Blutfarbstoffs Hämoglobin.

In weiteren Schritten bilden sich kernlose, jugendliche Formen, die noch Reste von RNA und Zellorganellen enthalten, die sogenannten Retikulozyten. Diese werden in das Blut abgegeben und reifen dort zu Normozyten heran.

Ein reifer Erythrozyt enthält in etwa 300 Millionen Hämoglobinmoleküle, keine RNA und Zellorganellreste und besitzt ein extrem flexibles Zytoskelett. Dadurch ist ihm eine Verformungsfähigkeit zu Eigen, die es ermöglicht, die Viskosität des Blutes den Strömungsbedingungen im Körper anzupassen. Ältere Erythrozyten besitzen eine verminderte Flexibilität, dies führt auch dazu, dass sie das enge Trabekelnetzwerk in der Milz nicht mehr passieren können und dort im Rahmen der „Zellmauserung“ durch RES-Makrophagen abgebaut werden (1).

### **1.1.3 Der Eisenstoffwechsel**

Eine 70 kg schwere Person hat einen Gesamtkörper-eisenbestand von durchschnittlich 4 g.

Davon entfallen 800-1000 mg auf das sogenannte Speichereisen (Ferritin, Hämosiderin). Frauen haben in der Regel eine kleinere Speichereisenreserve als Männer. Das Transporteisen in Form des Transferrin repräsentiert einen Anteil von nur 6-8 mg. Den Hauptanteil des Gesamtkörper-eisenbestandes bildet der Funktionseisenpool. Hiervon wiederum macht das Hämoglobin den größten Anteil mit ca. 2,5 bis 3 g aus. Der Rest des Funktionseisens liegt in Form oben beschriebener Ferredoxine, des Myoglobins und der Häm-Proteine vor.

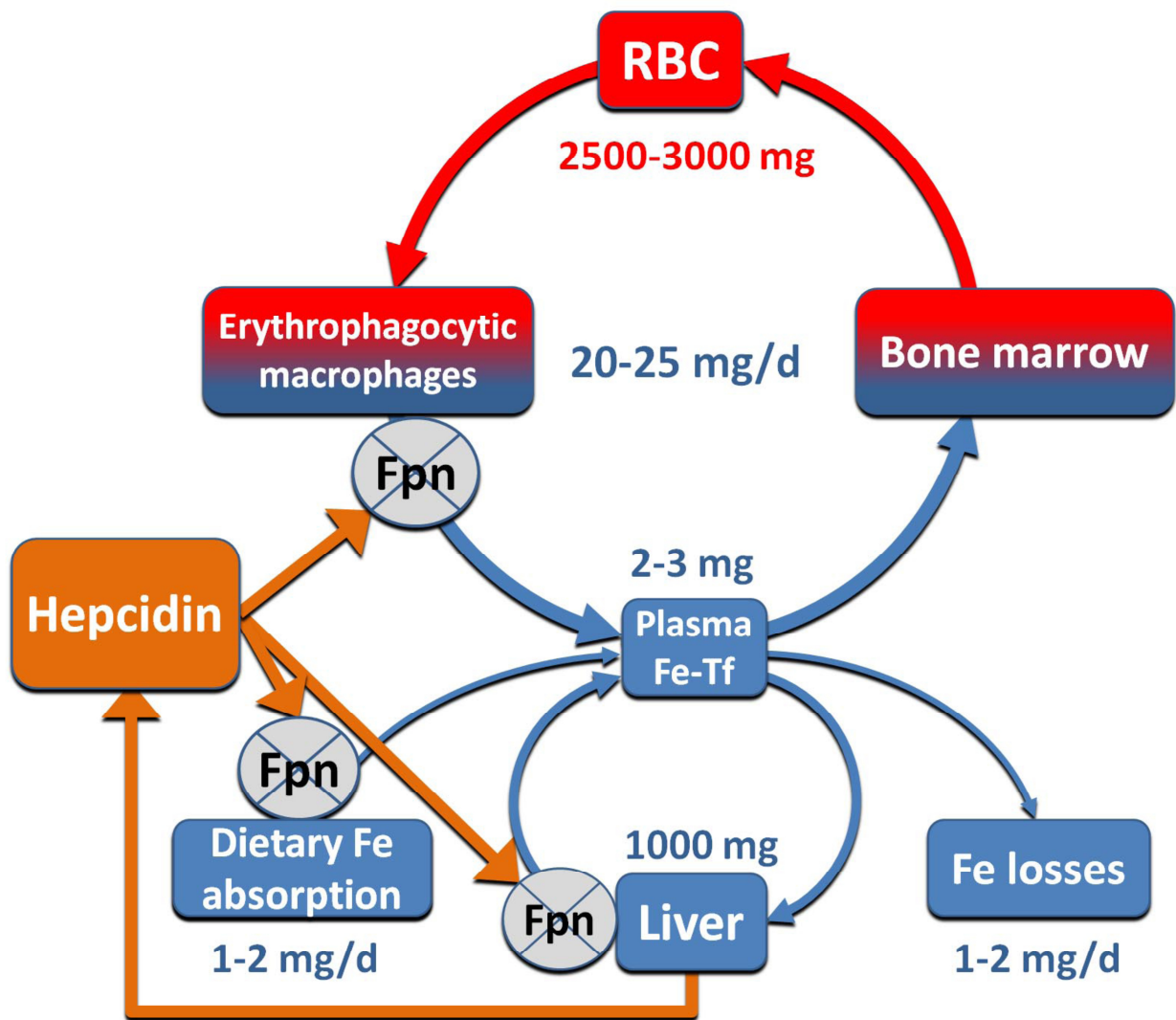
Der Eisenkreislauf ist ein weitgehend geschlossener Kreislauf und funktioniert über das Recycling des Funktionseisens. Unter physiologischen Bedingungen nehmen wir daher täglich lediglich etwa 1-2 mg Eisen, entsprechend 0,02 % des Gesamtkörper-eisenbestands (GKE), mit der Nahrung auf. Dies geschieht um den gleichgroßen täglichen Verlust von 1-2 mg Eisen durch Abschilferung von Darm- und Hautepithelien zu kompensieren. Um die Resorption dieser Menge zu gewährleisten, muss der Nahrungsbrei aufgrund der schlechten Bioverfügbarkeit des Spurenelements bereits

einen Mindest-Eisengehalt von 10 mg aufweisen. Die verbleibenden 9 mg werden über die Faeces ausgeschieden.

Es besteht ein ständiger täglicher Turnover von etwa 0,6 % des GKE.

20-25 mg Eisen pro Tag werden für die Hämsynthese im Erythroblasten benötigt, die gleiche Menge fällt beim Häm-Abbau im Rahmen des Zellmauserungsprozesses alter Erythrozyten durch die Makrophagen im RES der Milz an. In Form des Transferrins zirkuliert diese Menge täglich zwischen Speichereisen- und Funktionseisenpool [Abbildung 1].

Ein akuter oder chronischer Blutverlust, auch im Rahmen von Blutspenden, führt zum Öffnen dieses Kreislaufs und zu einer Steigerung des Eisenbedarfs.



**Abbildung 1:** Hepcidin in Interaktion mit Ferroportin als Haupt-Kontrollmechanismus der Abgabe von Eisen ins Plasma

Eisen-Abgabe und Eisen-Reservoir sind in blau, Eisen im Hämoglobin in rot und Hepcidin und sein Effekt in orange dargestellt.

RBC= Rote Blutzellen, Fpn= Ferroportin

(Original Abbildung aus (2))

Eisen aus der Nahrung ist nur schlecht bioverfügbar.

Eisen liegt in pflanzlicher Nahrung vor allem in Form unlöslicher  $\text{Fe}^{3+}$ -Verbindungen (z.B.  $\text{Fe}^{3+}$ -Hydroxide) vor. Dreiwertiges Eisen ist deutlich schlechter löslich als zweiwertiges Eisen. Der Löslichkeitskoeffizient von  $\text{Fe}^{3+}$  in wässriger Lösung steigt mit sinkendem pH-Wert. In saurem Milieu ist Eisen daher besonders gut löslich.

Es kommt hinzu, dass Eisen-Ionen mit verschiedenen Substanzen aus der Nahrung Komplexe bilden können. So z.B. werden  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen von Oxalsäure zu  $\text{Fe}^{2+}$  reduziert und anschließend in Form eines  $\text{Fe}^{2+}$ -Oxalates in einem schwer aufschließbaren Komplex ausgefällt. Weitere derartige Komplexbildner sind beispielsweise Tannine in schwarzem Tee, Phytate in Getreiden und Hülsenfrüchten oder Phosphate in Getränken wie Cola. Auch das  $\text{Fe}^{2+}$  oraler Eisenpräparate bildet derartige Komplexe. Das Eisen liegt so in einer unlöslichen, nicht mehr resorbierbaren Form vor (3).

In tierischen Nahrungsquellen liegt das Spurenelement entweder als  $\text{Fe}^{2+}$  im Häm-Eisen des Hämoglobin oder Myoglobin (Muskelfleisch, Fisch, Blutwurst) oder als  $\text{Fe}^{3+}$  in Form von Ferritin (Leber) vor. Letzteres fällt im Darm analog dem pflanzlichen Eisen in Eisen(III)-hydroxid aus und ist daher ebenfalls schlechter resorbierbar.

Das Häm wird durch Enzyme im alkalischen Darmsaft vom Globinanteil abgespalten und kann dann mittels eines eigenen Aufnahmeweges über das Haem-carrier-protein 1 (HCP1) in die Zelle transportiert werden. Die Bindung im Häm-Porphyrinring verhindert außerdem obig beschriebene Komplexbildung mit anderen Substanzen. Eisen ist daher als Häm deutlich besser bioverfügbar als in den anderen in der Nahrung auftretenden Formen.

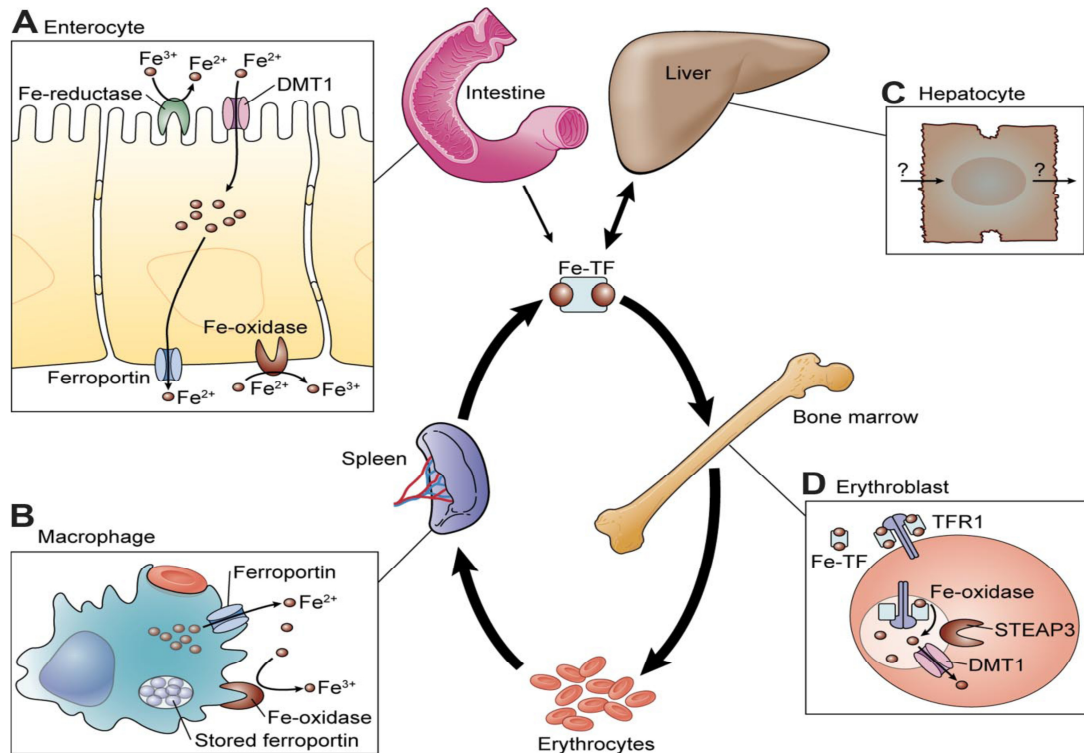
Eine absorptionsfördernde Wirkung von Ascorbinsäure auf das Eisen wird ursächlich in zwei Eigenschaften des Vitamin C begründet. Zum einen ist Hydro-Ascorbinsäure als starkes Reduktionsmittel in der Lage,  $\text{Fe}^{3+}$  spontan zu  $\text{Fe}^{2+}$  zu reduzieren. Dabei entsteht Dehydro-Ascorbinsäure. Zum anderen bildet die Ascorbinsäure mit Eisen(II) Ionen gut lösliche Eisen (III)-Komplexe und verhindert so die Ausfällung zu schwerlöslichen Eisen(III)-hydroxiden. Eine absorptionsfördernde Wirkung auf zweiwertiges Eisen konnte in Studien nachgewiesen werden (4-9), ohne dabei zu unerwünschter Eisenüberladung zu führen (10).

Das Anpassen der intestinalen Absorption an den Eisenbedarf des Organismus als wichtiger Teil der Regulation der Eisenhomöostase wird im Kapitel „Eisenhomöostase und die zentrale Rolle des Regulatorpeptids Hcpidin“ erläutert.



Die Resorption des Eisens in Form von Häm kann im Duodenum und unteren Jejunum wie oben beschrieben direkt erfolgen. Das Häm wird durch das HCP1 vom Enterozyten aufgenommen. Im Zytosol wird das  $\text{Fe}^{2+}$  des Häms durch die Hämoxygenase-1 (HMOX-1) freigesetzt (11).

Nicht in Häm vorliegendes Eisen in Form von  $\text{Fe}^{3+}$  muss zunächst mittels des Enzyms Ferrireduktase, auch als duodenal cytochrome B (dcbt) bezeichnet, im Darmlumen zu  $\text{Fe}^{2+}$  reduziert werden. Anschließend kann die Aufnahme des Eisens über den Divalenten Metalltransporter (DMT1) in die Darmzelle erfolgen. Dies geschieht im Kotransport mit Wasserstoffionen. Der DMT1 arbeitet am effektivsten in einer Umgebung mit niedrigem pH-Wert. Antazida, die den pH-Wert des Magens anheben, bewirken eine Abgabe eines alkalisierten Nahrungsbreis in das Duodenum, aus dem die Resorption des Eisens dann nur noch erschwert möglich ist. Zum Transport des Eisens im Zytosol wird es an Proteine gebunden. Darauf wird es dann entweder in Form von  $\text{Fe}^{3+}$  im Ferritin gespeichert oder mit Hilfe des Eisenexporters Ferroportin in das Blut abgegeben (12). An dieser Stelle ist anzumerken, dass Ferroportin ausschließlich in Zellen exprimiert wird, die Eisen in den Blutkreislauf sezernieren (Enterozyten, Makrophagen, plazentare Zellen) [Abbildung 2].



**Abbildung 2:** Überblicksdarstellung zur Eisenhomöostase und des Eisenfluss im Organismus

Im zentralen Teil der Abbildung ist dargestellt:

Die Aufnahme des Eisens erfolgt im Duodenum und unteren Jejunum. Eisen wird aus den Enterozyten ins Blutplasma abgegeben und an Transferrin (Tf) gebunden. Das transferrin-gebundene Eisen (Fe-Tf) wird zum Hauptsyntheseort der roten Blutzellen (rotes Knochenmark) und von dort in den zirkulierenden Erythrozyten zu den Gewebsmakrophagen der Milz transportiert. Dort finden die Phagozytose alternder roter Zellen und das Eisenrecycling aus Hämoglobin statt. Danach wird Eisen wieder als Fe-Tf im Blutplasma zum Hauptspeicherort in der Leber transportiert. Dort wird Eisen je nach Bedarf aus den Speichern mobilisiert. Der Kreislauf beginnt erneut.

A) Aufnahme von nicht-Hämgebundenem Eisen in die Enterozyten. Transportmechanismen innerhalb der Zelle und Freisetzung von Eisen ins Blutplasma.

B) Erythrophagozytose und Eisenrecycling im Gewebsmakrophagen der Milz. Das hellblaue Oval stellt ein Speicherdepot an Ferroportin-Protein innerhalb der Zelle dar.

C) Eisentransportmechanismen im Hepatozyten

D) Eisen-Aufnahme über den Transferrin-Zyklus in den Erythroblasten.

**Original Abbildung aus (13)**

Eisen wird, nachdem es durch Ferroportin in das Blut abgegeben wurde, in Form von  $\text{Fe}^{3+}$  an das Molekül Apo-Transferrin (Apo-Tf) gebunden. Apo-Tf ist ein in der Leber gebildetes Glykoprotein, welches zwei Bindungsstellen für  $\text{Fe}^{3+}$  besitzt. Nach Bindung ist die toxische Wirkung des  $\text{Fe}^{3+}$  neutralisiert und ein Transport im Blutplasma ist möglich. Das nun entstandene Transferrin ( $\text{Fe}_2\text{Tf}$ ) gebundene Eisen gelangt in dieser Form zu den Zielgeweben, zum einen an die Syntheseorte des Funktionseisenpools, so z.B. in das Knochenmark für die Erythropoese oder die quergestreifte Muskulatur für die Bildung des Myoglobins, zum anderen zu Leber, Milz und Knochenmark, wo die Speicherung des Eisens in Form von Ferritin erfolgt. Das Transportmolekül ist unter physiologischen Bedingungen in deutlichem Überschuss zum Eisen vorhanden und nur maximal 40% davon liegen in der mit Eisen beladenen Form vor.

An den Zielzellen angekommen bindet das  $\text{Fe}_2\text{Tf}$  an den Transferrin-Rezeptor (TfR), welcher an der Zelloberfläche von Erythroblasten, Hepatozyten oder den Makrophagen des RES exprimiert ist. Es wird ein Komplex ( $\text{TfR} (\text{Fe}_2\text{Tf})_2$ ) gebildet, welcher anschließend durch Endozytose in das Zytoplasma gelangt. Mittels einer Protonenpumpe werden Wasserstoff-Ionen in das Endosom gefördert. Das Ansäuern hat eine Freisetzung des Eisens aus dem Komplex zur Folge. Nach Reduktion zu  $\text{Fe}^{2+}$  verlassen die Ionen das Endosom über den DMT1.

Im Zytoplasma werden sie entweder als Ferritin gespeichert oder an die Funktionsstellen (Mitochondrien) verteilt.

Apo-Tf und Tf-R werden zur Zelloberfläche gebracht. Der Tf-R wird durch Exozytose in den extrazellulären Raum abgegeben und liegt dort als löslicher (solubler) Transferrin-Rezeptor (sTfR) vor.

In etwa 1 g des Gesamtkörperisenebestandes entfällt auf das Speichereisen. Der Anteil variiert jedoch in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht.

60% der Speichereisenreserve befinden sich in der Leber. Der überwiegende Teil davon in den Hepatozyten an Ferritin gebunden. Unter physiologischen Bedingungen wird nur ein sehr kleiner Anteil (ca. 30 mg) in den Kupfer-Zellen als Hämosiderin abgelagert.

40% des Speichereisens befindet sich in den Makrophagen (RES) und im Muskelgewebe. Es liegt dort ebenfalls als Ferritin vor.

Das Ferritinmolekül ist ein aus 24 Untereinheiten vom H- und L- Typ aufgebautes Heteropolymer. Es bildet eine Art Käfig in dessen Innerem bis zu 4500 Eisenatome in einer nanokristallinen Struktur als Ferrihydrit gespeichert werden können.  $\text{Fe}^{2+}$  betritt

das Molekül durch entsprechende Kanäle der Ferroxidase enthaltenden H-Untereinheiten, wird zu  $\text{Fe}^{3+}$  oxidiert und kann so im Hohlraum in seiner Speicherform gebunden werden. Beim Austritt wird es analog wieder reduziert (13).

Der größte Anteil des Ferritins liegt intrazellulär in Leber, Milz und Knochenmark vor. Ein sehr kleiner Teil davon tritt in das Blutserum über. Dieser Teil ist proportional zum Gesamt-Ferritin im Körper und findet daher als labormedizinischer Parameter zur Bestimmung des Speichereisens Anwendung (siehe Kapitel Labortechnische Bestimmungsmethoden zur Beurteilung des Eisenspeichers).

Die systemische Regulierung des Eisenstoffwechsels ist ein komplexes, bedarfsorientiertes Zusammenspiel zwischen der Eisenabsorption im Dünndarm, dem Auffüllen und Aktivieren der Speichereisenreserven, dem Eisenrecycling bei der Erythrozytenmauserung sowie einer effektiven Erythropoese [Abbildung 2].

An der apikalen Oberfläche der Enterozyten in den Krypten der Darmzotten befinden sich Sensoren zur Erfassung des Eisenbedarfs. An der Zottenspitze sind die Zellen lokalisiert, die für die Absorption zuständig sind. Es sind drei wesentliche Mechanismen der Regulation der Eisenabsorption bekannt (14).

Der Mukosablock bewirkt, dass nach hohem Eisenanteil in der vorherigen Nahrung die Enterozyten in einen Refraktärzustand übergehen, der eine Eisenabsorption aus der folgenden Nahrung verhindert. Ursächlich ist eine Erhöhung des Ferritingehalts des Enterozyten beteiligt. Ein zweiter Mechanismus ist die durch die Transferrinsättigung beeinflusste Speicher-Regulation der Kryptzellen. Eine Depletion des Eisenspeichers steigert die Resorptionsrate von Eisen im Duodenum und Jejunum (15).

Zu beachten ist jedoch die vorher beschriebene geringe Bioverfügbarkeit des Eisens aus der Nahrung. So können etwa nur maximal 20% des mit der Nahrung aufgenommenen Eisens bzw. etwa 3 bis 4 mg Eisen täglich resorbiert werden.

An dritter Stelle greift die Erythropoese in die Regulation der Eisenabsorption ein. Im Knochenmark heranreifende Vorläuferzellen der roten Zellreihe stimulieren die Absorption von Eisen aus der Nahrung. Neueste Erkenntnisse zeigen, dass hierbei der Wachstumsdifferenzierungsfaktor GDF15 eine wesentliche Rolle spielen könnte. In vitro konnte man einen suppressiven Effekt des GDF15 auf die Hepcidinsynthese nachweisen (16).

Die Makrophagen des RES in Milz und Leber nehmen alternde oder defekte Erythrozyten auf und bauen sie ab. Durch die Häm-Oxygenase wird aus dem Häm des

Hämoglobin  $\text{Fe}^{2+}$  freigesetzt, welches innerhalb des Makrophagen als Ferritin gespeichert wird und über Ferroportin in die Blutbahn abgegeben werden kann.

Der Hepatozyt greift an mehreren Stellen in den Eisenhaushalt ein. Zum einen werden für den Eisenstoffwechsel essentielle Proteine wie Transferrin und Heparin in der Leber synthetisiert, zum anderen ist er Hauptspeicherort. Der Hepatozyt nimmt den Komplex (TfR ( $\text{Fe}_2\text{Tf}$ )<sub>2</sub>) auf und gibt Eisen ebenso wie der Makrophage über Ferroportin wieder ab.

In den Erythroblasten wird durch das Enzym  $\epsilon$ -Aminolävulinsäure-Synthase ( $\epsilon$ -ALAS) die Hämoglobin-Synthese initiiert.

$\epsilon$ -ALAS-, Transferrin-Rezeptor- und Ferritin-Expression in den Zellen werden bedarfsorientiert über im Zytosol befindliche Eisensensoren den Iron Regulatory Proteins (IRPs) und Iron Responsive Elements (IREs) gesteuert. Die Menge des freien Eisens im Zellplasma ist hierbei die wesentliche Einflussgröße (13).

Eine Verringerung des Eisenangebotes führt zu verstärkter Expression von TfR (Erhöhung der Aufnahme von Eisen in die Zelle), Herunterregulieren der Apoferritin-Synthese mit verminderter Speicherung von Eisen in Form von Ferritin und Verminderung der  $\epsilon$ -ALAS, was eine Hemmung der Hämoglobinsynthese zur Folge hat. Bei Erhöhung der Menge an freiem Eisen erfolgt der umgekehrte Vorgang (15).

#### Die zentrale Rolle des Regulatorpeptids Heparin

Bei der Untersuchung antimikrobieller Eigenschaften verschiedener Körperflüssigkeiten gelang es im Jahr 2000 einer Arbeitsgruppe der School of Medicine, Los Angeles, California ein cysteinreiches Peptid aus Urinproben gesunder Probanden zu isolieren. Die zwei vorherrschenden Formen bestanden aus jeweils 20 bzw. 25 Aminosäuren. Es konnte ein korrespondierender Genort auf Chromosom 19 ermittelt werden. Der Hauptort der mRNA Expression lag in den Hepatozyten. Das dort gebildete Prepropeptid enthielt 84 Aminosäuren. Der Synthesort sowie eine, dem neu entdeckten Peptid nachgewiesene antimykotische und antibakterielle Wirkung führten zu seiner Namensgebung (Heparin) (17).

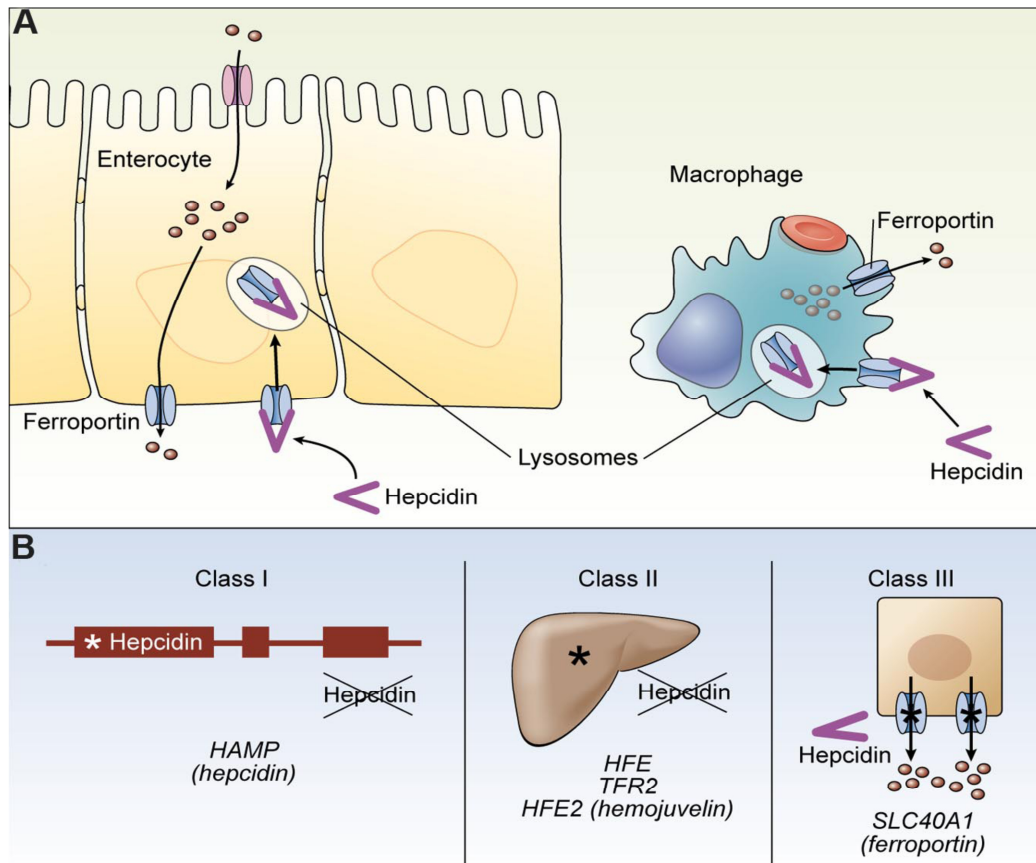
Die Existenz eines Eisen-Regulator-Hormons wurde schon seit mehreren Jahren angenommen, der wissenschaftliche Beweis durch Nachweis einer entsprechenden Substanz mit den vermuteten Eigenschaften gelang jedoch nicht.

Welche zentrale Rolle dem Hepcidin bei der Pathogenese der Entzündungsanämie, der hereditären Hämochromatose und der Regulation der Eisenabsorption zukommt, wurde erst im Folgenden entdeckt (2, 17-23).

Hepcidin bindet an der Zelloberfläche eisenexportierender Zellen an Ferroportin und führt dadurch zur Phosphorylierung, anschließender Endozytose und zum lysosomalen Abbau des Hepcidin-Ferroportin-Komplexes. Eisen kann somit nicht mehr über die basolaterale Membran der Zelle in die Blutbahn ausgeschleust werden. In den Darmzellen führt dieser Mechanismus dazu, dass sich Eisen in der Zelle anreichert und zum größten Teil mit der Abschilferung der Darmzellen über die Faeces verloren geht. Ebenso kann in den Makrophagen beim Erythrozytenabbau gewonnenes Eisen nicht mehr sezerniert werden. In den Hepatozyten wird die Speichereisenreserve nicht mobilisiert.

Die Folge aller beschriebenen Vorgänge ist ein Sinken des Serumeisenspiegels (2, 13). Die Eisenhomöostase wird über die Expression von Hepcidin geregelt. Dabei nehmen verschiedene Faktoren Einfluss. Ein erhöhter Serumeisenspiegel führt zu einer Steigerung der Hepcidinsynthese. Interleukin 6 hat im Rahmen des Akute-Phase-Geschehens ebenfalls eine Steigerung der Hepcidinbildung zur Folge, was ursächlich an der Pathogenese der Entzündungsanämie beteiligt ist (20).

Hypoxämie, Blutungs- und hämolytische Anämien und infolge dessen gesteigerte Erythropoese hingegen haben eine Hemmung der Hepcidinsynthese zur Folge (21).



**Abbildung 3:** Hepcidin und Hämochromatose

A) Dargestellt ist die Aktivität des Hepcidins.

Ferroportin auf Enterozyten und Makrophagen als Ziel für die Bindung des Hepcidin-Moleküls. Durch Bindung von Hepcidin an Ferroportin wird die Internalisierung und der lysosomale Abbau von Ferroportin initialisiert.

B) Drei Klassen der Hämochromatose-Erkrankung, die in den Hepcidin/Ferroportin-Regulationsprozess eingreifen

Klasse I: Defekt im Hepcidin Gen (HAMP). Verhindert die Produktion eines intakten Hepcidin-Moleküls  
Klasse II: Defekte in HFE, TFR2 oder HFE2 verhindern eine normale hepatische Regulation der Hepcidin-Expression

Klasse III: Defekte im Ferroportin-Molekül. Keine normale Regulation durch Hepcidin möglich.

**Original-Abbildung aus (13)**

## 1.2 Labortechnische Bestimmungsmethoden zur Beurteilung des Eisenspeichers

Die alleinige Bestimmung des Serumeisens ist heute nur noch von untergeordneter Bedeutung. Der Eisengehalt des Serums unterliegt starken zirkadianen Schwankungen und ist nahrungsabhängig (24). Zur Beurteilung des Gesamtkörperereisenbestandes müssen andere Parameter, wie Serum-Ferritin oder Transferrinsättigung hinzugezogen werden.

Die totale Eisenbindungskapazität (TEBK) gibt an, wie viel freies Eisen maximal im Serum gebunden werden kann. Die freie Eisenbindungskapazität (FEBK) gibt den Anteil an Transferrin-Molekülen an, welche nicht mit Eisen beladen sind (16). Die TEBK verhält sich im Prinzip proportional zur Transferrin-Konzentration im Serum und ist heutzutage weitestgehend durch die Bestimmung derselben abgelöst worden.

Aus der Serum-Ferritin-Konzentration kann die Menge an Speichereisen im Körper abgeleitet werden. 1 µg/l Ferritin entspricht etwa 8-10 mg Speichereisen (16), allerdings ist Ferritin auch bei völliger Erschöpfung des Speichereisens noch in einer Restkonzentration unter 12 – 15 µg/l nachweisbar. Die Referenzwerte für Männer liegen zwischen 30-400 µg/l für Frauen bei 15-150 µg/l. Zu beachten ist jedoch, dass Ferritin als ein Akut-Phase-Protein entzündungsmediert oder im Rahmen von Tumoranämien erhöht sein kann. Es kann also trotz normaler oder erhöhter Ferritinwerte ein funktioneller Eisenmangel vorliegen, bei dem die Freisetzung des Eisens aus den Speichern und die Abgabe ins Blut gestört sind. Ist Ferritin erniedrigt spricht dies immer für einen Eisenmangel(15) (siehe Kapitel Eisenmangelanämie).

Die Transferrinsättigung (TfS) entspricht dem Serumeisen geteilt durch die TEBK. Die Normwerte liegen zwischen 16-45%. Eine erniedrigte TfS in Verbindung mit deutlich erhöhten Ferritin-Konzentrationen im Serum spricht für einen funktionellen Eisenmangel.

Der lösliche Transferrinrezeptor (sTfR) ist ein Parameter des Eisenstoffwechsels, welcher eine von entzündlichen Vorgängen im Körper weniger abhängige Beurteilung des Eisenstatus zulässt. Er dient der Erfassung eines funktionellen Eisenmangels. Bis zu 80% der TFR werden auf der Zellmembran erythropoetischer Vorläuferzellen exprimiert und regelmäßig ins Blutplasma abgegeben. Bei zu geringem Eisenangebot steigen die Zahl der exprimierten Transferrinrezeptoren an der Zelloberfläche und somit



ebenfalls deren löslicher Anteil im Blut. Er ist erhöht, wenn ein gesteigerter Eisenbedarf für die Erythropoese besteht (16).

Zu beachten ist jedoch, dass die Messung des sTfR nicht standardisiert ist. Somit sind in verschiedenen Laboren gemessene Werte nur bedingt miteinander vergleichbar.

Der sTfR-Index ist der Quotient aus sTfR und dem Logarithmus der Serum-Ferritin-Konzentration. Er ermöglicht die weitere differentialdiagnostische Abklärung von Anämieformen, die durch normale oder erhöhte Ferritin-Konzentrationen „maskiert“ werden. Ein Funktionseisenmangel lässt sich durch die sTfR-Bestimmung von einem tatsächlichen Eisenmangel, durch vermindertes Eisenangebot ausgelöst, unterscheiden.

Die durchflußzytometrische Bestimmung des Retikulozytenhämoglobin (CHR, Ret-He) in geeigneten Blutbildautomaten ist ein relativ neuer Parameter in der Diagnostik des Eisenmangels. Der wesentliche Nachteil der Bestimmung des Gesamthämoglobin und der gängigen Erythrozytenindices (MCV, MCHC, MCH) besteht darin, dass aufgrund der langen Lebensdauer der Erythrozyten (120d) erst verzögert eine Aussage zum Eisenstatus getroffen werden kann. Der Zeitpunkt eines beginnenden Eisenmangels im Vergleich zum Gesunden kann so nicht hinreichend erfasst werden. Ebenso ist auf diesem Wege kein geeignetes Monitoring des Erfolgs einer Substitutionstherapie möglich. Retikulozyten hingegen reifen innerhalb von etwa zwei Tagen zum Erythrozyten heran, ihr Hämoglobin-Gehalt spiegelt somit direkt und zeitnah die Eisenversorgung der Erythropoese wider. Werte <28 pg weisen auf einen funktionellen Eisenmangel hin.

Hepcidin kann molekularbiologisch durch Nachweis der Hepcidin-mRNA in der Leber mittels PCR bestimmt werden. In den vergangenen drei Jahren wurden Immunoassays zur direkten Bestimmung des Hepcidin im Serum entwickelt und validiert. Eine dritte Methode ist die Erfassung der Hepcidin-Konzentration im Urin. Bei Verwendung verschiedener diagnostischer Methoden zeigte sich in ersten Studien eine direkte Korrelation mit der Serum-Ferritin-Konzentration (20, 25-27).

Es ist zu erwarten, dass die Bestimmung des Hepcidins als noch relativ jungem Parameter des Eisenstoffwechsels in naher Zukunft auch Einzug in die Routinediagnostik des Eisenstatus halten wird.

### **1.3 Eisenmangel und Eisenmangelanämie**

Die WHO definiert die Anämie als einen Zustand, bei dem der Hämoglobingehalt des Blutes unter dem Normwert liegt. Durchschnittlich 1,62 Milliarden Menschen der Weltbevölkerung weisen eine Anämie auf. Schätzungsweise 50% der Anämien werden durch einen Eisenmangel verursacht. Der Eisenmangel ist die häufigste und am weitesten verbreitete Ernährungsstörung der Welt (28).

Die Prävalenz eines Eisenmangels ohne Anämie, auch als latenter oder milder Eisenmangel bezeichnet, liegt nach Meinung verschiedener Experten deutlich höher (29).

Er ist durch einen Mangel an Speichereisen definiert und lässt sich daher am ehesten durch ein Serum-Ferritin unterhalb der Norm charakterisieren. Für die Erythropoese reicht das Eisenangebot hierbei noch aus, so dass TfS und Hämoglobinwert noch innerhalb des Referenzbereiches liegen. Eine Serum-Ferritin-Konzentration unter 10 bis 15 µg/l entspricht einer vollständigen Entleerung der Speicherreserven. Der angegebene Schwellenwert variiert geringfügig je nach Quelle (30-36).

Die Eisenmangelanämie, als schwere Form des Eisenmangels, ist dadurch definiert, dass zusätzlich zum Speichereisenmangel noch eine Mangelversorgung der Erythropoese mit Eisen vorliegt. Die Folge dieser ineffizienten Erythropoese ist ein Absinken des Hämoglobingehaltes (16, 37). Andere Parameter des Eisenstatus wie TfS liegen hier meist ebenfalls außerhalb der Norm. Mittels Bestimmung des Ret-He lässt sich u.a. der Übergang von milder zu schwerer Anämie erfassen (siehe Kapitel 1.2 Labortechnische Bestimmungsmethoden zur Beurteilung des Eisenspeichers).

### **1.4 Blutprodukte und ihre Bedeutung für die heutige Gesellschaft**

Der Verlust von Blut ist die Hauptursache für die Entwicklung eines Eisenmangels. Somit kann die Blutspende zur Entwicklung eines Eisenmangels führen. Trotz dieser Gefahr, stellt die Gewinnung von Blut durch Spenden eine Notwendigkeit für die Sicherung der medizinischen Versorgung von Patienten dar.

Nur ca. 3% der Gesamtbevölkerung Deutschlands spenden mehr als einmal Blut in ihrem Leben (38). Im Jahr 2009 wurden in Deutschland 4.863.335 Vollblutspenden von Fremdblutspendern gewonnen und 4.129.874 daraus gewonnene Erythrozytenkonzentrate transfundiert (39, 40).

Derzeit lässt sich der Bedarf an benötigten Blutkonserven noch decken. Das Spenderaufkommen schwankt jedoch über das Jahr, z.B. sinkt es in den Sommermonaten oder in Ferienzeiten. So kommt es zeitweise zu Blutknappheit, elektive Operationen müssen verschoben werden.

Blickt man in die Zukunft, so werden soziodemographische Veränderungen, wie z.B. das Sinken der Geburtenrate, zu einer Abnahme des Anteils an spendefähigen Menschen führen. Auf der anderen Seite ist zu erwarten, dass es aufgrund des zunehmenden „Alterns“ der Bevölkerung insgesamt zu einem weiteren Anstieg des Blutkonservenverbrauchs kommt. Auch die Anwendung neuer Therapieformen und minimalinvasiver Operationstechniken konnte eine diesbezügliche Entwicklung in den vergangenen Jahren nicht verhindern.

Trotz intensiver Forschung auf dem Gebiet der Entwicklung künstlicher Blutersatzstoffe und dem Versuch Blut aus Stammzellen herzustellen, ist in den nächsten Jahren noch nicht mit einer Alternative zur Gabe von Spendern stammender Blutkonserven zu rechnen (40, 41).

Diesem Prozess versucht man zum einen auf Seiten des Blutkonservenverbrauchs entgegenzuwirken, so z.B. durch optimiertes Transfusionsmanagements (42). Zum anderen ist es Ziel, neue Spender zu gewinnen und diese zur regelmäßigen Blutspende zu motivieren. Darin liegt beispielsweise das Anheben der Altersgrenze für Erstspender auf 68 Jahre begründet. Ein sehr wichtiger Aspekt ist es hierbei, bereits gewonnene Dauerspender vor Nebenwirkungen wie der Entwicklung eines Eisenmangels zu schützen. Dieser führt zu einer Rückstellung von der Spende und erhöht zusätzlich die Wahrscheinlichkeit eines Spenderverlustes (siehe Kapitel 1.5.1 Der Eisenverlust bei Blutspendern).

## **1.5 Blutspenden und Eisenhaushalt**

### **1.5.1 Der Eisenverlust bei Blutspendern**

Bei einer Vollblutspende verliert ein Spender ca. 215 mg bis 270 mg Eisen.

Das entspricht 5% bis 7% des Gesamtkörper-eisenbestandes eines erwachsenen Mannes bzw. 9% bis 13% einer erwachsenen Frau (43).

Die Folge daraus ist, dass Blutspender im Vergleich zu nicht Nicht-Blutspendern häufiger einen Eisenmangel entwickeln (31).

Eine Studie an 2425 Blutspendern zeigte, dass unter den weiblichen Dauerspenderinnen zwei Drittel der Frauen (66%) und fast die Hälfte der Männer ein signifikantes Eisendefizit entwickelten. Der tatsächliche Anteil wurde sogar höher vermutet, da Spendewillige, die aufgrund eines zu niedrigen Hämoglobinwertes abgelehnt worden waren, nicht berücksichtigt wurden (44).

Als insbesondere für die Ausbildung eines Eisenmangels gefährdet gelten junge Frauen im gebärfähigen Alter (43). Durch die Menstruation erhöhte Blutverluste resultieren in einem gesteigerten täglichen Bedarf an Eisen. Im Gegensatz hierzu stehen die Essgewohnheiten einer durchschnittlichen westeuropäischen Frau. Kleinere Nahrungsportionen und weniger Fleischkost im Vergleich zu Männern erschweren den Ausgleich dieses gesteigerten Eisenbedarfs (45).

Es ist davon auszugehen, dass Frauen mit ihrer Kost durchschnittlich 11 mg Eisen pro Tag aufnehmen, im Gegensatz zu Männern mit 16,5 mg Eisen pro Tag. Von dieser Gesamtmenge werden im Durchschnitt nur 10% resorbiert (46).

Eine Untersuchung des Serum-Ferritins von 817 weiblichen Erstspenderinnen zeigte, dass ein Anteil von 6% bereits vor der ersten Spende den Wert von 12 µg/l unterschritt. Fast zwei Drittel dieser Frauen waren jünger als 30 Jahre (34).

Mit zunehmender Spendefrequenz sinkt das Serum-Ferritin-Level zunehmend und der Prozentsatz eisendepletierter Spender steigt an (30, 33, 34, 43, 44, 47, 48).

Eine Studie zeigte, dass bereits bei einer Blutspende im Jahr der basale Eisenbedarf eines Mannes von durchschnittlich 0,9 g/d um zusätzliche 0,65 g/d steigt und die Konzentration des Ferritin im Serum halbiert wird. Bei drei Vollblutspenden im Jahr erhöht sich der Tagesbedarf auf 2,9 g und die Ferritin-Konzentration im Serum sinkt auf nur noch ein Viertel des Ausgangswertes ab. Der Anteil von Spendern mit entleerten Eisenspeichern stieg von 0% bei den männlichen Erstspendern auf 12,7% bei Spendern mit mehr als drei Vollblutspenden pro Jahr (33).

Analog zeigten Untersuchungen einen deutlichen Anstieg des Anteils eisendepletierter Frauen bereits ab ein bis zwei Vollblutspenden pro Jahr (34, 35, 46).

Wird der Eisenspeicher kleiner, erhöht sich die Absorptionsrate von Eisen aus der Nahrung (49-51). Es konnte sogar nachgewiesen werden, dass Blutspender im Vergleich zu Nicht-Blutspendern gleichen Serum-Ferritin-Levels eine signifikant gesteigerte Resorptionsrate an Eisen haben und möglicherweise sogar eine erhöhte Aktivität der Erythropoese aufweisen (52, 53). Dennoch ist die Resorption aufgrund der schlechten Bioverfügbarkeit des Nahrungseisens auf ca. 3-4 mg/d begrenzt, wie in den

Ausführungen zum Eisenstoffwechsel beschrieben. Bei mehr als vier Blutspenden pro Jahr bei Männern und zwei Blutspenden pro Jahr bei Frauen ist somit die Obergrenze des aus der Nahrung resorbierbaren Eisens überschritten. Der tägliche zusätzliche Eisenbedarf kann nur durch Zufuhr von Eisen, z.B. in Form von Eisen-Salzen gedeckt werden. Zweiwertiges Eisen wird deutlich besser resorbiert als dreiwertiges Eisen. Bei Entleerung des Eisenspeichers kann die Resorptionsrate von zweiwertigem Eisen auf bis zu 90% gesteigert werden.

Andere Autoren empfehlen bei mehr als einer Spende jährlich die zusätzliche Bestimmung der Konzentration des Serum-Ferritins vor der nächsten Spende, um einem bevorstehenden Eisendefizit rechtzeitig entgegenwirken zu können (32, 36, 54). Eine routinemäßige Bestimmung des Serum-Ferritins bei Dauerspendern hat sich jedoch aus Kostengründen bisher nicht durchsetzen können.

Dass die Gesamtspendenanzahl weniger Einfluss auf die Entwicklung eines Eisendefizits hat als die Spendefrequenz, belegte eine Studie aus dem Jahre 1981. Man zog als Lösungsmöglichkeit in Betracht, die Spendemenge pro Jahr für menstruierende Frauen auf ein bis zwei Spenden pro Jahr zu begrenzen.

### **1.5.2 Eisensubstitution bei Blutspendern**

Das Pro und Kontra einer Eisensubstitution bei Blutspendern wird bereits mehrere Jahrzehnte lang diskutiert.

Klar für eine Substitution mit Eisen spricht der ethische Grundsatz, den Spender vor den gesundheitlichen Schäden infolge eines Eisenmangels zu bewahren. Bereits ein nicht anämisches Eisendefizit kann mit Erschöpfung, Sinken der physischen Ausdauer und körperlichen Leistungsfähigkeit oder verminderten kognitiven Funktionen verbunden sein (55-59). Auch ein Zusammenhang von Eisenmangel und gesteigerter Inzidenz des Restless Leg Syndroms konnte nachgewiesen werden (60, 61).

Ein weiterer wichtiger Punkt ist, die Aufrechterhaltung der Versorgung mit Blutprodukten zu sichern. Unterhalb der für die Zulassung zur Spende geforderten Grenze liegende Hämoglobin- oder Hämatokrit-Werte gehören zu den häufigsten Gründen für eine temporäre Rückstellung von der Blutspende, insbesondere bei jungen Frauen (62, 63), (27, 64).

Rückstellen von Spendern führt zu einer Verringerung der Wiederkehr-Rate und somit zu einem gesteigerten Spenderverlust (62, 65-67). Weiterhin besteht zwischen

Spendearzt und Blutspender kein typisches Arzt-Patient-Verhältnis. So fehlt auf Seiten des Spenders häufig das Verständnis für die Einnahme einer Medikation.

Ein möglicher Nachteil ist das Maskieren von gastrointestinalen Blutungen oder Tumoranämien.

Weiter kann eine orale Eisensubstitution mit möglichen Nebenwirkungen verbunden sein. Diese treten meist in Form von gastrointestinalen Beschwerden wie Sodbrennen, abdominalen Schmerzen, Obstipation oder Diarrhoe auf (68, 69). Ursache hierfür ist eine dosisabhängige lokale Reizung der Schleimhaut des Magen-Darm-Trakts durch ionisiertes Eisen. Die Häufigkeit des Auftretens gastrointestinaler Nebenwirkungen unterliegt einer sehr großen Schwankungsbreite, wenn man verschiedene Studien zur Eisensubstitution betrachtet. Selbst beim Vergleich ähnlicher Tagesdosen variieren die angegebenen Prozentsätze stark.

In einigen der folgenden Studien wurde Carbonyleisen-Pulver zur Eisensubstitution verwendet. Hierbei handelt es sich um ein hochreines elementares Eisen, das hauptsächlich in den U.S.A zur Behandlung eines Eisenmangels eingesetzt wird. In Deutschland kommt es diesbezüglich nicht zur Anwendung. Carbonyleisen besitzt nur etwa 70 Prozent der Bioverfügbarkeit von Eisensulfat. Es werden jedoch im Vergleich zu Eisensalzen deutlich höhere Dosen toleriert (70).

In einer Studie von Gordeuk et al. aus dem Jahre 1987 liegt der Anteil von gastrointestinalen Nebenwirkungen bei Gabe von 600 mg Carbonyleisen bzw. 180 mg Eisen in Form von Eisensulfat täglich über eine Woche in den beiden Verum-Gruppen bei 91% bzw. 75 % (71).

Bei Maghsudlu et al. wird bei einer Tagesdosis von 150 mg Eisensulfat über denselben Zeitraum bei jedem Termin nur eine Nebenwirkungsrate von ca. 16 % beobachtet (72).

In einer Studie von Liguori et al. traten bei täglicher Gabe von 105 mg Eisen als Eisensulfat die typischen Nebenwirkungen bei ca. 25% der Probanden auf (73). Dagegen liegt der Anteil bei Gordeuk et al. (100 mg Carbonyl-Eisen) deutlich höher bei 78 % für milde und moderate und bei 37 % für ausgeprägte gastrointestinale Nebenwirkungen (74).

Die Studienlage zeigt hingegen einheitlich, dass niedrigere Tagesdosen von 40 mg gut vertragen werden (75, 76).

Die Toxizität des Eisens bei Überdosierung (77) und die potentielle Gefahr einer Eisenüberladung sind weitere Kontrapunkte einer Eisensubstitution. Die

Berücksichtigung dieser beiden Aspekte und das Ziel einer möglichst geringen Rate an Nebenwirkungen führen zu dem Bestreben, eine möglichst niedrige Tagesdosis an Eisen zu verabreichen. Eine intermittierende Gabe könnte zu einer Verbesserung der Compliance führen (89).

Ein Zusammenhang zwischen niedrigem Körpereisenbestand und sinkendem Risiko kardiovaskulärer Ereignisse wurde in der Vergangenheit kontrovers diskutiert, konnte jedoch in keiner Studie eindeutig belegt werden (78, 79).

Dieses Für und Wider spiegelte sich in den Meinungen der Experten zur Eisensubstitution wider.

Bucher postulierte 1972, eine Eisensubstitution solle einem gewissen Stamm an Spendern vorbehalten bleiben: Eine Eisensubstitution sollte nur bei Spendern mit grenzwertigen oder in der Tendenz fallenden HB-Werten, sowie Spendern mit einer Spendefrequenz über dreimal jährlich (Männer) bzw. einmal jährlich (Frauen) durchgeführt werden. Er hielt eine drei- bis vierwöchige Substitution mit zwei Tagesdosen von je 30-50 mg für geeignet, entsprechend einer Gesamtdosis von 1260 - 2800 mg (80).

Heinrich dagegen vertrat die Meinung, dass jeder Blutspender eine orale Eisensubstitution in Form eines gut resorbierbaren Eisensulfat-Präparates erhalten sollte. Selbst bei Tolerierung eines prälatenten Eisenmangelzustandes entspräche die zu substituierende Menge bei einem zweimonatigem Spendeintervall 3,3 g pro Jahr für Männer und analog 4 g pro Jahr für Frauen bei dreimonatigem Spendeintervall (46).

2001 fand in Bethesda, MD ein Workshop des National Heart, Lung, and Blood Institute, der American Association of Blood Banks, der Amerikanischen Blutspendezentren und des Amerikanischen Roten Kreuz statt.

Thematisiert wurden Notwendigkeit, Risiken, Durchführbarkeit sowie Kosten-Nutzen-Effekt eines nationalen Programmes zur Prävention des Eisenmangels bei weiblichen Blutspendern im gebärfähigen Alter.

Im Ergebnis konnte keine Einigung erzielt werden. Es wurde jedoch Übereinstimmung erzielt, dass eine Eisensubstitution im Rahmen eines Blutspendeprogrammes auf Forschungsbasis nach oben genannten Gesichtspunkten getestet werden solle (69).

In einem ein Jahr später veröffentlichten Editorial kritisierte der Autor die Vorgehensweise, Eisensubstitution bei Blutspendern lediglich in Form eines Pilotprojektes durchzuführen. Die Datenlage bezüglich der Sicherheit und des Nutzens

einer Eisensubstitution spräche bereits jetzt eindeutig für die Notwendigkeit der Einführung eines breitangelegten Substitutionsprogramms (81).

Newman griff diesen Gedanken 2006 in einem Kommentar wieder auf und erweiterte ihn unter Betrachtung aktuellster Forschungsergebnisse. In Studien wurde belegt, dass durch Anwendung einer Kurzzeittherapie das Risiko von Nebenwirkungen wie das Maskieren von Tumoranämien und die Möglichkeit einer Eisenüberladung sicher minimiert werden kann.

Daten hingegen belegten den negativen Einfluss eines Eisenmangel oder einer Eisenmangelanämie auf z.B. kognitive Funktionen (82).

Newman schlug vor, allen weiblichen menstruierenden Blutspendern eine Eisensubstitution anzubieten. Perspektivisch könne das ein Herabsetzen der Zulassungsgrenze für den HB- Wert bei Frauen möglich machen (83).

### **1.5.3 Studien zur Eisensubstitution bei Blutspendern**

Zu Dauer, Darreichungsform und Dosis einer möglichen Substitution von Eisen wurden seit Beginn der siebziger Jahre zahlreiche Studien durchgeführt.

Diese wiesen Unterschiede hinsichtlich der Studienbedingungen und der Methoden auf. Es kamen verschiedene Eisenverbindungen zum Einsatz. Sowohl dreiwertige als auch zweiwertige Darreichungsformen in Form von Eisensalzen wurden angewandt.

Dosis, Verabreichungszeitraum und zulässiges Spendeintervall variierten ebenfalls.

Die ermittelten Parameter zur Einschätzung des Eisenstatus waren unterschiedlich. So wurden insbesondere in älteren Studien Serum-Eisen-Gehalt oder Transferrinsättigung bestimmt. Später setzte sich die Bestimmung der Serum-Ferritin-Konzentration als Standardparameter des Eisenstatus durch.

In den jüngsten Studien wurden zusätzlich zum Serum-Ferritin die neuen erythrozytären Marker verwendet.

Die Ergebnisse dieser Studien sind daher insgesamt nur bedingt miteinander vergleichbar.

Der überwiegende Teil dieser Studien untersuchte den Einfluss einer Eisensubstitution auf den Eisenstatus menstruierender weiblicher Blutspender. Der Grund hierfür ist, dass Blutspenderinnen im gebärfähigen Alter für die Entwicklung eines Eisenmangels besonders gefährdet sind wie oben bereits beschrieben wurde.



### Studien zur Eisensubstitution an Frauen

In einer randomisierten Placebo-kontrollierten Studie an weiblichen Blutspendern wurde die Gabe einer Minimaldosis von 39 mg elementarem Eisen täglich über das gesamte Spendeintervall von 8 Wochen untersucht. Eine Medikationsgruppe enthielt 39 mg Eisen+ 75 mg Vitamin C. Die Studiendauer betrug 1 Jahr. Im Fazit zeigte sich, dass durch die Zufuhr einer Gesamtdosis von 2184 mg Eisen pro Spendeintervall eine Aufrechterhaltung des Körpereisenbestandes, eine positive Eisenbilanz und ein Anstieg der Hämoglobin-Konzentration erreicht werden konnte. Die zusätzliche Verabreichung von 75 mg Vitamin C erbrachte keinen signifikanten Vorteil (75).

1987 wurde in einer randomisiert dreiarmligen doppelblinden Studie der Effekt einer Kurzzeithochdosistherapie untersucht. Die Frauen erhielten Carbonyl-Eisen 600 mg oder 300 mg Eisensulfat (60 mg Fe<sup>2+</sup>) oder Placebo dreimal täglich über die Dauer von einer Woche nach Blutspende. In der Carbonyleisen-Gruppe (Gesamtdosis 12600 mg) konnte keiner der Laborparameter eine Veränderung des Eisenstatus belegen, was einen vollständigen Ausgleich der Eisenverluste und keine Eisenüberladung aufzeigt. In der Eisensulfat-Gruppe (Gesamtdosis 1260 mg) wurde zumindest eine Teilkompensation erreicht. In der Kontrollgruppe kam es zu einem signifikanten Abfall aller gemessenen Parameter des Eisenstatus (84).

1990 veröffentlichte dieselbe Arbeitsgruppe die Ergebnisse einer Studie zur Langzeit-Gabe einer kleineren Dosis Carbonyleisen (100 mg) täglich über 56 Tage nach Blutspende (Gesamtdosis 5600 mg). In der Carbonyleisen-Gruppe konnte bei 85% der Studienteilnehmerinnen der Eisenverlust durch die Blutspende substituiert werden, 83% entwickelten keinen Eisenmangel und nur 8% wurden von der Folge-Blutspende zurückgestellt. In der Placebo-Gruppe konnte ein Ausgleich der Eisenverluste nur bei 25% erreicht werden, 13% entwickelten keinen Eisenmangel und 36% konnten nicht zur Folgeblutspende zugelassen werden. Allerdings lag der Anteil gastrointestinaler Nebenwirkungen in Form von Diarrhö bei Probanden der Carbonyleisen-Gruppe relativ hoch bei 20% (74).

In einer weiteren randomisierten Studie an Frauen mit niedrigen Hämatokrit-Werten (33% bis 41%) wurde die Gabe von 75 mg Eisengluconat täglich untersucht. Das Spendeintervall betrug 8 Wochen. Die Gesamtdosis an substituiertem Eisen entsprach 4500 mg. Die Spenderinnen stellten sich an fünf Terminen vor. Die Ferritin-Konzentration im Serum war bereits ab dem zweiten Termin in der Eisengluconat-Gruppe signifikant höher als in der Placebo-Gruppe. Am Termin 5 kam es zu einem

leichten signifikanten Anstieg der Hämoglobin-Konzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe. In beiden Gruppen wurde zu keiner Zeit eine Erhöhung der Spendefähigkeit erzielt (85).

2008 zeigten Maghsudlu et al., in einer Studie an iranischen Blutspenderinnen, dass eine geringere Gesamtdosis von 1050 mg Eisen als Eisensalz über eine Woche eine Konstanthaltung des Ferritin-Konzentration im Serum bewirken kann. Im Vergleich dazu kam es in der Placebogruppe zu einem signifikanten Abfall des Serum-Ferritins. Ein Abfall des Hb-Wertes konnte durch die Substitution jedoch nicht verhindert werden. Diese sehr niedrige Gesamtdosis führte somit nur zu einer Teilkompensation der Eisenverluste (72).

In Basel wurde 2010 ein 16-wöchiges Pilot-Substitutionsprogramm beendet. Hier wurde weiblichen Blutspendern mit ausreichenden HB-Werten und einem Serum-Ferritin  $< 10 \mu\text{g/l}$  80 mg Eisen(II)-sulfat täglich über jeweils zweimal 60 Tage verabreicht. Zusätzlich wurden die Spendeintervalle auf 4 Monate und 6 Monate verlängert. Keine der Spenderinnen entwickelte eine Anämie. Die Serum-Ferritin-Konzentration stieg durchschnittlich von 7,12 auf 25,2  $\mu\text{g/l}$  an. Ein signifikanter Rückgang typischer Symptome eines Eisenmangels wie Schlafstörungen, Müdigkeit und Erschöpfung konnte im Vergleich zu einer retrospektiven Kontrollgruppe verzeichnet werden (86).

#### Studien zur Eisensubstitution an Männern

Eine skandinavische Arbeitsgruppe um Gudrun Lieden untersuchte 1973 die Gabe einer Niedrigdosis von insgesamt 600 mg  $\text{Fe}^{2+}$  in Form von Eisensalzen pro Spendeintervall auf den Eisenstatus männlicher Blutspendern.

Im Fazit zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe eine leicht verbesserte Regeneration der Hämoglobin-Werte. Diese Dosis war jedoch offensichtlich zu klein, um den Eisenspeicher konstant zu halten (52).

1975 verglich dieselbe Arbeitsgruppe nun die kontinuierliche Langzeitgabe höherer Dosen von 20 mg Eisen täglich und 100 mg Eisen täglich in Form von Eisencarbonat bei männlichen Blutspendern mit sechs Spenden pro Jahr. Dies entspricht einer Jahresdosis von 7200 mg bzw. 36000 mg Eisen und einer Spendeintervall-Dosis von 1200 mg bzw. 6000 mg. Bei Akzeptanz verringerter Eisenspeicherreserven im Knochenmark waren bereits 20 mg täglich ausreichend um den Verlust durch die Blutspenden auszugleichen. Nach vier Spenden ohne Substitution in einem zweimonatigen Intervall waren die Eisenspeicher praktisch erschöpft. (Kontrollgruppe).

Beide Eisendosen waren jedoch nicht ausreichend, um den Eisenspeicher stabil aufrechtzuerhalten (87).

Im selben Jahr wurde eine zweite Versuchsreihe zur Untersuchung des Effekts einer intermittierenden Eisensubstitution angeschlossen. Diese zeigte im Ergebnis, dass eine Substitution von 2000 mg Eisen in den ersten zwei Wochen nach Blutspende ausreichend zu sein scheint, um den Eisenspeicher konstant zu halten, wenn das Intervall zwischen zwei Spenden auf 16 Wochen angehoben wird (88).

In allen drei Studien wurde die Bestimmung des Serumeisens, der TIBC und des färbbaren Eisens zur Abschätzung des Eisenstatus herangezogen.

Eine weitere Studie aus dem Jahre 1988 untersuchte die Gabe von 100 mg elementarem Eisen für 56 Tage (Entsprechend einer relativ hohen von Gesamtdosis 5600 mg). Es wurden hier Spender mit und ohne Eisendepletion verglichen.

In der Gruppe eisendepletierter Spende kam es zu einem signifikanten Anstieg der Hämoglobin-Konzentration und des Serum-Ferritin. In der Vergleichsgruppe (Spender ohne Eisendepletion) konnte kein signifikanter Unterschied zur Placebo-Gruppe ermittelt werden (51). Dies ist ein weiterer Beleg dafür, dass die Eisenresorption bei niedrigerem Eisenspeicher gesteigert ist (die Eisensubstitution hier also effektiver ausfällt).

#### Studien zur Eisensubstitution an beiden Geschlechtern

Im Jahre 2000 wurde eine Studie zum routinemäßigen Erfassen der Ferritin-Werte weiblicher und männlicher Dauerblutspender durchgeführt.

Spender, die grenzwertige Hämoglobinwerte ( $<12,5$  g/dl) und Ferritin-Werte  $\leq 30\mu\text{g/l}$  aufwiesen erhielten eine Gesamtdosis von 2000 mg elementarem Eisen in Form von Eisensalzen über 20 Tage nach der Spende. Dies führte in dieser Spendergruppe zu einer raschen Erhöhung der Hämoglobin-Werte bei den Folgespenden (36).

Eine weitere randomisierte, doppel-blinde, Placebo-kontrollierte Studie der Charité - Universitätsmedizin Berlin an weiblichen und männlichen Blutspendern untersuchte die Gabe von niedrigdosiertem Eisengluconat 40 mg bzw. 20 mg täglich über 6 Monate. Das Spendeintervall betrug 8 Wochen für Männer und 12 Wochen für Frauen. Es zeigte sich, dass bereits 20 mg täglich (1120 mg Gesamtdosis) ausreichten, um den Eisenverlust der männlichen Blutspender auszugleichen. Bei den Frauen konnte bei einer Gesamtdosis von 1680 mg oraler Eisensubstitution zusätzlich ein Anstieg der Speicherreserven erreicht werden. In beiden Eisen-Gruppen war die Rate an

gastrointestinalen Nebenwirkungen nur leicht erhöht im Vergleich zur Placebo-Gruppe (76).

Eine prospektive randomisierte Studie aus dem Jahr 2009 befasste sich ebenfalls mit der Kurzzeitgabe von Eisen nach erfolgter Blutspende. Über eine Dauer von acht Tagen wurden insgesamt 800 mg Eisen verabreicht.

Der Eisenstatus besserte sich signifikant im Vergleich zur Placebo-Gruppe. CHr erwies sich als ein effizienter Frühmarker zur Beurteilung der Effizienz der Erythropoese. Weiterhin wurde auch in dieser Studie eine Abhängigkeit des Effekts der Substitution vom Ferritin-Ausgangswert festgestellt (89).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bereits relativ geringe Gesamtdosen Eisen im Mengenbereich von 1100 bis 2200 mg pro Spendeintervall ausreichend sind, um die Verluste der Blutspenden auszugleichen und teilweise sogar einen Anstieg des Speichereisens zu bewirken. Für Gesamtdosen bis 1000 mg konnte dieser gewünschte Effekt bisher nicht hinreichend erwiesen werden. Weiterhin ist auch der Verabreichungszeitraum von entscheidender Bedeutung. Eine Gabe über 7-8 Tage könnte aufgrund der maximal möglichen Eisenresorption pro Tag zu kurz sein. Hingegen scheint ein Substitutionsintervall von 8 bis 12 Wochen und somit möglichen niedrigen Tagesdosen von 20 bis 40 mg Eisen ausreichend. Die Studienlage gibt nur wenig Auskunft über Verabreichungszeiträume größer 8 Tage bis kleiner 8 Wochen.

## 2 Fragestellung

Die neueren Studien zeigten, dass bereits relativ geringe Gesamtdosen an elementarem Eisen ausreichend erscheinen, um den Eisenverlust der Blutspende auszugleichen und sogar einen Anstieg der Speichereisenreserve zu erzielen (76).

Geringere Dosen bedeuten eine geringere Rate an unerwünschten Nebenwirkungen, und müssten folglich zu verbesserter Compliance führen. Weiterhin ist die potentielle Gefährdung einer Eisenüberladung, insbesondere bei Spendern mit einer undiagnostizierten Hämochromatose durch eine geringere Gesamtdosis deutlich reduziert.

Eine intermittierende im Gegensatz zu einer kontinuierlichen Gabe legt ebenso einen Vorteil bezüglich der Compliance nahe. Die Studien aus dem Jahre 2008 und 2009 belegen jedoch, dass ein Substitutions-Intervall von 7-8 Tagen offensichtlich zu kurz ist (89, 90).

In dieser Studie ist es ein Ziel zu ermitteln, ob eine Minimal-Gesamtdosis von 600 mg elementarem Eisen in einem Substitutionsintervall von 30 Tagen ausreichend ist, um die Eisen-Verluste männlicher und weiblicher Spender bei maximaler Blutspendefrequenz auszugleichen und der Entleerung der Eisenspeicher entgegenzuwirken. Zusätzlich sollen die Rate an unerwünschten Begleiterscheinungen sowie die Compliance ausgewertet werden und mit den Ergebnissen von Studien, in denen höhere Gesamtdosen verabreicht wurden, verglichen werden.

Zweites Ziel dieser Studie ist es, zu untersuchen, ob die zusätzliche Verabreichung von 400 mg Vitamin C einen Vorteil gegenüber der Eisenzufuhr ohne Vitamin C aufzeigt. Eine frühere Studie mit kleineren Dosen Vitamin C bewiesen keinen positiven Effekt (75). Jedoch ist die absorptionsfördernde Wirkung der Ascorbinsäure im Eisenstoffwechsel vielfach belegt worden (4, 5, 9, 10, 91-94).

## **3 Material und Methodik**

### **3.1 Für die Studie geltende Rahmenbedingungen**

An der Durchführung der Studie beteiligten sich insgesamt 8 Blutspendezentren des unabhängigen Blutspendedienstes Haema AG.

Es handelte sich dabei um Einrichtungen in Berlin, Brandenburg und Sachsen.

Ein Teil der Spenden wurde bei den mobilen Blutspendeterminen dieser Spendeeinrichtungen gewonnen.

Es wurden insgesamt 621 Dauerblutspender (366 Männer und 255 Frauen) in die Studie eingeschlossen (zur Fallzahlschätzung siehe Kapitel 3.6 Statistik).

Der Begriff Dauerblutspender bezeichnet in diesem Fall einen Spender, der vor Einschluss in die Studie bereits mindestens eine Vollblutspende in einem Haema Blutspendezentrum absolviert hatte, diese durfte nicht länger als ein Jahr zurückliegen.

Die Probanden und Probandinnen mussten für eine erfolgreiche Aufnahme in die Studie definierte Einschlusskriterien erfüllen. Ebenso wurden alle Spender auf das Vorliegen im Studienprotokoll festgelegter Ausschlusskriterien geprüft [Tabelle 1 Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie]. Vor jeder Spende erfolgten ein Spendergespräch und eine erneute Prüfung auf Vorliegen von Spendetauglichkeit und etwaigen Abbruchkriterien.

<b>Einschlusskriterien</b>	<b>Ausschlusskriterien</b>
Mindestens eine Vollblutspende im Prüfzentrum im vergangenen Jahr	Teilnahme an anderen klinischen Studien während der Dauer dieser Studie und/oder innerhalb der letzten 30 Tage
Spendetauglichkeit gemäß der „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) in der aktuellen Fassung“ (95)	Fehlende Spendetauglichkeit gemäß der „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) in der aktuellen Fassung“ (95)
Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung	Geistige Verwirrtheitszustände
	Bekannte Allergie oder Unverträglichkeiten gegen das Prüfpräparat
	Eisenkumulation (Hämochromatose, Häm siderose)
	Gastrointestinale Erkrankungen
	Chronische Obstipation
	Gleichzeitige Einnahme von Antazida, Tetracyclinen und/oder Cholestyramin
	Gleichzeitige Einnahme von Eisen-Präparaten

**Tabelle 1:** Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie

Jeder Proband wurde vor Einschluss in die Studie anhand einer Probandeninformation über Ablauf und Inhalt der Studie sowie mögliche Risiken und Nebenwirkungen der Prüfpräparate aufgeklärt. Jeder Proband gab vor Beginn der Studie sein schriftliches Einverständnis (siehe Anlage 1 und 2 „Probandeninformation“ und „Probanden-Einwilligungserklärung“).

Der Proband wurde in Form der Probandeninformation weiterhin über das Einhalten von Verhaltensregeln hingewiesen.

Die Studienteilnahme erfolgte freiwillig und ein Rücktritt bzw. Abbruch der Studie durch den Spender war zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen möglich [Tabelle 2 Abbruchkriterien und Verhaltensregeln].

<b>Abbruchkriterien</b>	<b>Verhaltensregeln</b>
Es liegen persönliche Gründe des Probanden vor	Keine anderen Spendeformen (z.B Apherese) für den Zeitraum der Studiendauer
Es treten nicht tolerierbare Beschwerden oder Nebenwirkungen auf	Nicht erlaubte Medikamente (s. Ausschlußkriterien) dürfen während der Dauer der Studie nicht eingenommen werden
Die Sicherheit des Probanden ist nicht gewährleistet	Alkoholkonsum > 30g/d ist nicht gestattet
	Das Gewicht sollte während der Dauer der Studie konstant gehalten werden

**Tabelle 2:** Abbruchkriterien und Verhaltensregeln der Studie

Vor Studienbeginn lag ein positives Ethik-Votum der Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin vor (s. Anlage 3: Ethik-Votum, Antragsnr. EA 1/100/09).

Die Studienteilnehmer wurden gemäß § 40 Abs.1 Nr. 8 und Abs. 3 des Arzneimittelgesetzes gegen Schäden aus der Anwendung des Prüfpräparates durch die Betriebshaftpflicht der Haema AG versichert.

Die Probanden wurden informiert, dass den in der Bundesrepublik Deutschland geltenden Regelungen zum Datenschutz nachgekommen wird.

### 3.2 Studiendesign und Studiendurchführung

Die Studie wurde als dreiarmer randomisierter Placebo-kontrollierter Parallelgruppenvergleich als Doppelblind-Studie durchgeführt.

Die Studienteilnehmer wurden an Termin 1 in einen von drei Studienarmen randomisiert. Ihnen wurde getrennt nach Geschlecht eine fortlaufende Identifikations-Nummer zugeordnet (M1 bis M366, für männliche Probanden, F1 bis F255 für weibliche Probanden) und das zur entsprechenden Identifikations-Nummer gehörige Präparat ausgehändigt.

Die Probanden nahmen eine Kapsel der Studienmedikation über jeweils zweimal 30 Tage ein.

Die Einnahme der zur jeweiligen Identifikationsnummer gehörenden Studienmedikation wurde am Tag der ersten Vollblutspende (Termin 1) begonnen, endete am Tag 30 und wurde dann bis zum ersten Folgespendetermin (Termin 2) pausiert. Der Termin 2 fand für Männer acht und für Frauen zwölf Wochen nach der ersten Vollblutspende statt. An



Termin 2 wurde die Einnahme des Prüfpräparates für weitere 30 Tage fortgesetzt. Nach erneuten acht bzw. zwölf Wochen fand ein Abschluss-Blutspendetermin (Termin 3) statt.

Die Abstände zwischen zwei Blutspenden entsprachen gemäß Richtlinien den minimal zulässigen Spendeintervallen (95).

Bei jeder Vorstellung (Termin 1 bis 3) wurden dem Probanden venöse und kapilläre Blutproben entnommen. Dies diente der Bestimmung der Konzentration von Hämoglobin und Hämatokrit im kapillären und venösen Blut, des Hämoglobinäquivalents der Retikulozyten sowie der Erythrozyten (Ret-He und RBC-He) im venösen Blut und der Konzentration von Ferritin im Serum (siehe Kapitel 3.4 Laborparameter).

Lag an Termin 2 bei Studienteilnehmern eine Hämoglobin-Konzentration unterhalb des für die Zulassung zur Spende vorgeschriebenen Normbereiches (Normbereich: Hb  $\geq$  8,4 mmol/l für Männer; HB  $\geq$  7,8 mmol/l für Frauen) vor, wurde keine Spende durchgeführt. Es wurde jedoch eine zusätzliche Venenpunktion zur Abnahme der Röhrchen für Blutbild und Serum-Ferritin durchgeführt. Eine erneute Vorstellung fand regulär erst nach acht bzw. zwölf Wochen zum Termin 3 statt.

Somit betrug die Studiendauer vier Monate für die männlichen und sechs Monate für die weiblichen Probanden.

An Termin 1 und Termin 2 wurde den Probanden ein Studientagebuch zur Dokumentation der Einnahme und Erfassung von unerwünschten Begleiterscheinungen ausgehändigt (siehe Anlage 4 Studientagebuch 1 und 2; siehe Kapitel 3.6 Erfassung unerwünschter Begleiterscheinungen und der Compliance).

### **3.3 Zusammensetzung der Prüfpräparate**

Das Prüfpräparat wurde von der Phyt-Immun GmbH, Homburg, Deutschland hergestellt und bestand aus äußerlich identischen Kapseln in verschließbaren Kunststoffdosen. Eine Dose enthielt je 60 Kapseln jeweils eines der zwei möglichen Verum-Rezepturen bzw. des Placebos.

Die Kunststoffdosen waren mit einer Identifikations-Nummer (M1 bis M366 bzw. F1 bis F255) versehen.

Als Verum 2 wurde ein kommerziell erhältliches Präparat verwendet, welches daher zusätzlich zum hochdosierten Vitamin C auch B Vitamine und Folsäure enthielt.

### *Zusammensetzung der Kapselinhalte*

#### **Verum 1**

160 mg Eisen-(II)-Gluconat (enthält 20 mg Elementareisen)

#### **Verum 2**

160 mg Eisen-(II)-Gluconat (enthält 20 mg Elementareisen)

400 mg Ascorbinsäure

10 mg Pyridoxalphosphat

10 µg Cyanocobalamin

600 µg Folsäure

75 µg Biotin

#### **Placebo**

Milchzucker

Bei den Prüfpräparaten handelt es sich nicht um Arzneimittel, sondern um diätetische Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke (bilanzierte Diät) gemäß der Zwölften Verordnung zur Änderung der Diätverordnung vom 31.03.2003 (96).

Diese sind somit nicht apotheken- oder rezeptpflichtig.

## **3.4 Laborparameter**

### **3.4.1 Bestimmung von Hämoglobin und Hämatokrit**

An Termin 1 bis 3 wurde für jeden Probanden eine venöse Bestimmung der Hämoglobin und Hämatokrit-Werte durchgeführt.

Der Spendeablauf machte eine zusätzliche Bestimmung des kapillären Hb-Wertes vor der Spende notwendig, da für das Zulassungsprozedere kein venöser Wert vorgesehen war. Im Rahmen dieser Studie wurden diese Werte miterfasst.

Die Kapillarblutproben wurden vor der Spende in sitzender Position durch Punktion der Fingerbeere mit einer Safety-Lanzette (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) unter Verwendung eines Kapillargefäßes mit EDTA di-Kaliumsalz Zusatz (Kabe Labortechnik GmbH, Nümbrecht, Deutschland) gewonnen. Im Anschluß wurden die kapilläre Hämoglobinkonzentration und der Hämatokrit mittels der zyanid-freien Photometrie

bzw. Impulshöhenaddition in einem KX-21 N Blutbildanalysegerät (Sysmex GmbH, Norderstedt, Deutschland) bestimmt.

Die venöse Hämoglobin-Konzentration wurde bei Zulassung zur Vollblutspende aus dem „Predonation sampling bag“ des verwendeten Entnahmesets gewonnen. Bei kapillären Hämoglobinkonzentrationen bzw. Hämatokrit-Werten unterhalb der für die Zulassung zur Spende geforderten Grenzwerte (95) erfolgte eine Rückstellung von der Spende. In diesem Fall wurde eine zusätzliche Punktion der Cubitalvene durchgeführt. In beiden Fällen wurde ein Vacutainer mit EDTA als Additiv verwendet (BD, Heidelberg, Deutschland). Die anschließende Bestimmung der Werte erfolgte im XT-2000i RET Master Blutbildanalysegerät (Sysmex GmbH, Norderstedt, Deutschland) mittels zyanidfreier SLS Methode für die Hämoglobinkonzentration bzw. Impedanzmessung für den Hämatokrit.

### **3.4.2 Bestimmung von Hämoglobinäquivalent der Retikulozyten (Ret-He) und Erythrozyten (RBC-He)**

Das Hämoglobinäquivalent der Retikulozyten (Ret-He) entspricht dem mittleren Hämoglobingehalt der retikulozytären Vorläuferzellen. Das Hämoglobinäquivalent der Erythrozyten (RBC-He) gibt den durchschnittlichen Hämoglobingehalt der reifen Erythrozyten an. Beide Laborparameter gehören zu den neuen erythrozytären Parametern. Die Neuerung liegt hier in der direkten Messung des Hämoglobingehaltes in den einzelnen Retikulozyten bzw. reifen Erythrozyten.

Diese neuen erythrozytären Parameter wurden in dieser Studie zusätzlich aus dem venösen Blutbild ermittelt (siehe Kapitel 3.4.1. Bestimmung von Hämoglobin und Hämatokrit).

Das Ret-He gibt eine zeitnahe Information (etwa 72 Stunden) über die Eisenversorgung in der Erythropoese und ist im Gegensatz zum Ferritin nicht von akuten Phase Proteinen beeinflusst (97, 98).

Das RBC-He entspricht dem direkt gemessenen durchschnittlichen Hämoglobingehalt reifer roter Zellen wie oben bereits beschrieben. Dies ist insbesondere im Vergleich zum Erythrozytenindex MCH (mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt) hervorzuheben, der einen aus Gesamthämoglobin und Erythrozytenzahl errechnen Parameter darstellt.

Änderungen des RBC-He sind aufgrund der langen Lebensdauer der adulten Erythrozyten (bis zu 120 Tage) erst später messbar.

Der Referenzbereich für Ret-He liegt bei 1738–2172 amol (28-35 pg). Ein Normbereich für den RBC-He ist aufgrund fehlender Standardisierung der Messmethoden nicht definiert.

Beide Größen wurden im XT-2000i Ret Master mittels Fluoreszenz-Durchflusszytometrie aus den Vorwärts-Streulichtsignalen der Retikulozyten und Erythrozyten aus dem Retikulozyten-Kanal ermittelt.

Bei normaler oder gesteigerter Erythropoese und dabei nicht ausreichender Versorgung der Erythropoese mit Eisen werden vermehrt Retikulozyten mit niedrigem Hämoglobingehalt (hypochrome Retikulozyten) gebildet, die zu Erythrozyten mit niedrigem Hämoglobingehalt heranreifen. Diese Mangelversorgung der Erythropoese mit Eisen (funktioneller Eisenmangel) kann durch einen zu niedrigen Eisenspeicher (Ferritin), mangelnde Eisenzufuhr oder/und durch ein inadäquates Freisetzen des Eisens aus dem Speicher (bei z.B. chronisch entzündlichen Prozessen) bedingt sein. Ein unterhalb des Normwertes ( $< 28\text{pg} \triangleq 1738 \text{ amol}$ ) liegender RET-He und/oder RBC-He Wert weist auf einen solchen funktionellen Eisenmangel hin (siehe Kapitel 1.2 Labortechnische Bestimmungsmethoden ).

#### Durchflusszytometrisches Messprinzip zur Ermittlung von RET-He und RBC-He

Für die Bestimmung des RET-He und RBC-He wird die EDTA Blutprobe nach dem Ansaugen durch die Kapillare im Sysmex XT 2000i mit einem RNA-bindenden Farbstoff inkubiert und durchflußzytometrisch gezählt.

Durch Auswertung des Streulichtverhaltens und der Fluoreszenzintensität, werden die absolute und relative Konzentration der Retikulozyten und Erythrozyten in der Probe ermittelt. Aus diesen Konzentrationen werden RET-He und RBC-He automatisch rechnerisch ermittelt (99).

#### **3.4.3 Bestimmung der Ferritin-Konzentration im Serum**

Hierzu wurde bei jeder Spende aus dem „Predonation sampling bag“ des Entnahmesets zu Beginn der Blutspende eine venöse Blutprobe entnommen. Es wurde ein 8,5 ml polymergelhaltiges Röhrchen zur Serumpräparation (BD, Heidelberg, Deutschland) verwendet. Bei Rückstellung von der Spende erfolgte eine zusätzliche Punktion der Cubitalvene. Das Röhrchen wurde unmittelbar im Anschluss an die Entnahme zentrifugiert (Hettich Tischzentrifuge Universal 320, Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen,

Deutschland) Das gewonnene Serum wurde anschließend in einen Vacutainer ohne Additiv (BD, Heidelberg, Deutschland) umpipettiert. Dieses wurde innerhalb von 24 Stunden bei mindestens  $-30^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren. Die Röhrchen wurden so maximal sechs Monate gelagert und vor der Messung aufgetaut. Nach erneutem Zentrifugieren wurde die Messung des Serum-Ferritins mittels immunoturbidometrischer Assays (OSR61203, Olympus Diagnostica, Lismeehan, Irland; Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) in einem AU400 Analyse-Automaten (Olympus Diagnostica) durchgeführt.

Die Kalibrierung der verwendeten Olympus Ferritin Assays war mit der internationalen Referenz Präparation der WHO abgeglichen.

#### Immunturbimetrisches Messprinzip zur Bestimmung des Serum-Ferritin

Im Olympus Testreagenz befindliche mit polyklonalen Anti-Ferritin-Antikörpern beschichte Polystyrol-Latexpartikel reagieren mit dem als Antigen fungierenden Ferritin im Serum. Es entstehen Immunkomplexe, welche Licht proportional zu ihrer Größe und Konzentration absorbieren und streuen. Das Turbidimeter misst die Schwächung des einfallenden Lichts (Lichtintensitätsabfall) und ermittelt daraus die Konzentration des im Serum vorhandenen Ferritins.

### **3.5 Erfassung unerwünschter Begleiterscheinungen und der Compliance**

Den Probanden wurde an Termin 1 und 2 ein Studientagebuch ausgehändigt, in dem vom Studienteilnehmer der Zeitpunkt der Einnahme der Studienmedikation in Bezug auf Tageszeit und Nahrungsaufnahme für je 30 Tage zu dokumentieren war. Es enthielt außerdem Felder für jeden Tag der Einnahme, in denen alle unerwünschten Begleiterscheinungen angegeben werden sollten (99).

Die Tagebücher wurden zum Folgetermin vom Prüfarzt eingesammelt. Es fand des Weiteren eine Befragung des Probanden zur Regelmäßigkeit der Einnahme und Vollständigkeit der Angaben statt.

Traten unerwünschte Ereignisse auf, füllten die Probanden an Termin 2 und/oder an Termin 3 einen „Fragebogen zur Erfassung unerwünschter Ereignisse“ aus. (s. Anlage 5) In diesem Fragebogen wurden Ausmaß und Schweregrad dieser Ereignisse dokumentiert.

Die einzelnen unerwünschten Begleiterscheinungen wurden hierzu in verschiedene Kategorien eingeteilt: Gastrointestinale Symptome, neurologisch-vegetative Symptome,

Veränderungen des Hautbildes, Steigerung bzw. Minderung von Appetit und/oder Durst. Die Erfassung neurologisch vegetativer Beschwerden (Müdigkeit, Kopfschmerz, Schwindel) wurde vordergründig in Hinblick auf etwaige Folgen eines Eisenmangels ohne Änämie erfasst.

### 3.6 Statistik

Der Fallzahlberechnung wurden die Ergebnisse der Vorstudien zugrunde gelegt (76, 100). Konfirmatorische Zielgröße ist die Ferritin-Konzentration als Maß für das Speichereisen. Als relevante minimale Differenz zwischen den Behandlungsgruppen am Ende der Studie wurde einer Differenz der Ferritin-Konzentration von 10 µg/l bei den männlichen und 8 µg/l bei den weiblichen Probanden festgelegt.

Unter Annahme einer Teststärke von 0,8, einem Signifikanzniveau von 0,0167 (Bonferroni-Adjustierung für drei Gruppen), zwei Folgeuntersuchungen, einem intraindividuellen Korrelationskoeffizienten von 0,7 und einer Standardabweichung der Ferritin-Konzentration von 36 µg/l (Placebo) bzw. 25 µg/l (Eisen) für Männer und 25 µg/l bzw. 15 µg/l für Frauen berechnet.

Unter Erwartung einer Dropout-Rate von 40% ergab sich eine Fallzahl von 366 Männern und 255 Frauen (122 bzw. 85 Probanden pro Behandlungsgruppe).

Der Randomisationsplan wurde mit Hilfe einer Blockrandomisierung mit variabler Blocklänge erstellt. Die Prüfmedikation wurde an Hand dieses Randomisationsplans zusammengestellt und mit der Identifikations-Nummer auf dem Etikett gekennzeichnet.

Die konfirmatorische statistische Analyse erfolgte für alle Probanden, die mindestens zu einem Folgetermin erschienen waren. Es handelt sich somit weder um eine „intent-to-treat“-Analyse, noch um eine „per-protocol“-Analyse. Eine „intent-to-treat“-Analyse war nicht sinnvoll, weil für die meisten Studienabbrecher ausschließlich Ausgangsdaten vor Studienbeginn vorlagen. Die statistische Auswertung erfolgte getrennt für Frauen und Männer unter Verwendung einer linearen Regressionsanalyse mit Korrektur der Standardfehler für die Messwiederholungen innerhalb der Probanden (verbundene Stichproben). Zielgröße war die Veränderung (Differenz zum Vorwert) der Ferritin-Konzentration als Maß für das Speichereisen. Messzeitpunkt, Art der Medikation, Ausgangswert der Ferritin-Konzentration, Alter der Probanden, Spendeaussetzungen, und Spendeabstand waren die unabhängige Variablen. Die statistische Auswertung der Messgrößen Ret-He, RBC-He und venöser Hb erfolgte ebenfalls getrennt für beide

Geschlechter unter Verwendung einer linearen Regressionsanalyse mit Korrektur der Standardfehler für die Messwiederholungen innerhalb der Probanden (verbundene Stichproben). Zielgröße war die Veränderung (Differenz zum Vorwert) der jeweiligen Messgröße. Messzeitpunkt und Art der Medikation waren hier unabhängige Variablen.

Für die statistische Auswertung wurde die Software Stata for Windows, Version 10 (Stata Corp., College Station, Texas, USA).

Für die orientierende Signifikanzprüfung der nicht- konfirmatorischen Messgrößen wurden Häufigkeitsverteilungen mit dem Chi<sup>2</sup>-Test (Anteil eisendepletierter Spender, Auftreten von Nebenwirkungen) bzw. Fishers exaktem-Test (Anteil der Spendepausen) untersucht. Die Vergleichbarkeit der Ferritin-Ausgangskonzentrationen der verschiedenen Gruppen wurde anhand von Varianzanalysen (ANOVA) überprüft.

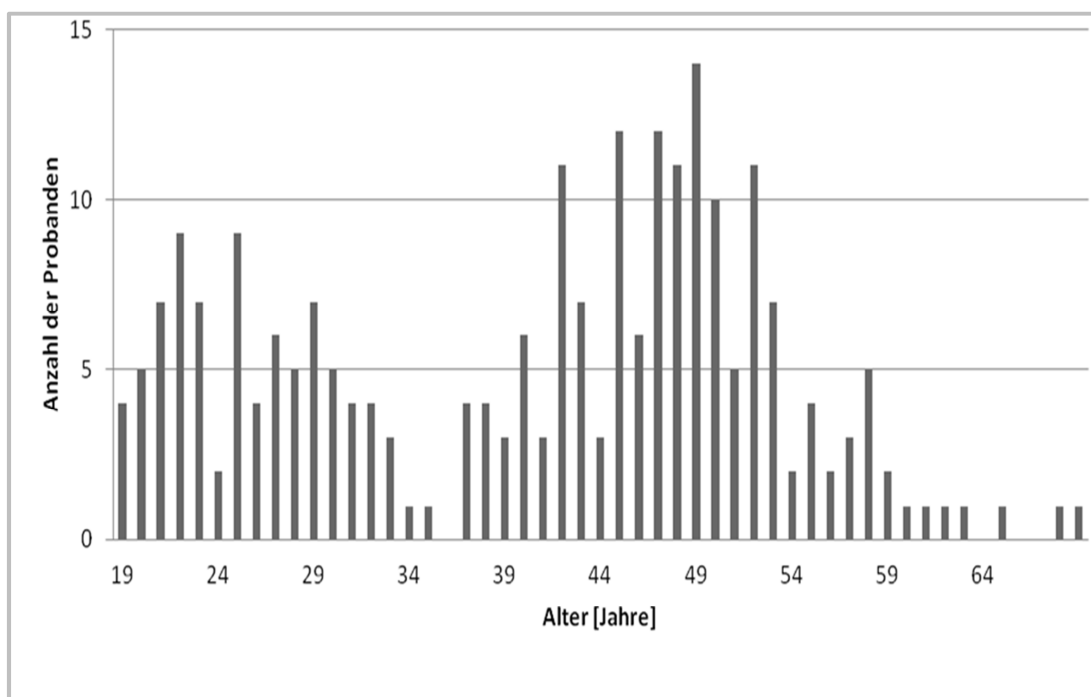
Es wurde hierfür die Software WinSTAT für Microsoft Excel, Version 2012.1 (R. Fitch Software, Bad Krozingen, Germany) verwendet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Demographische Charakteristika der Studienteilnehmer

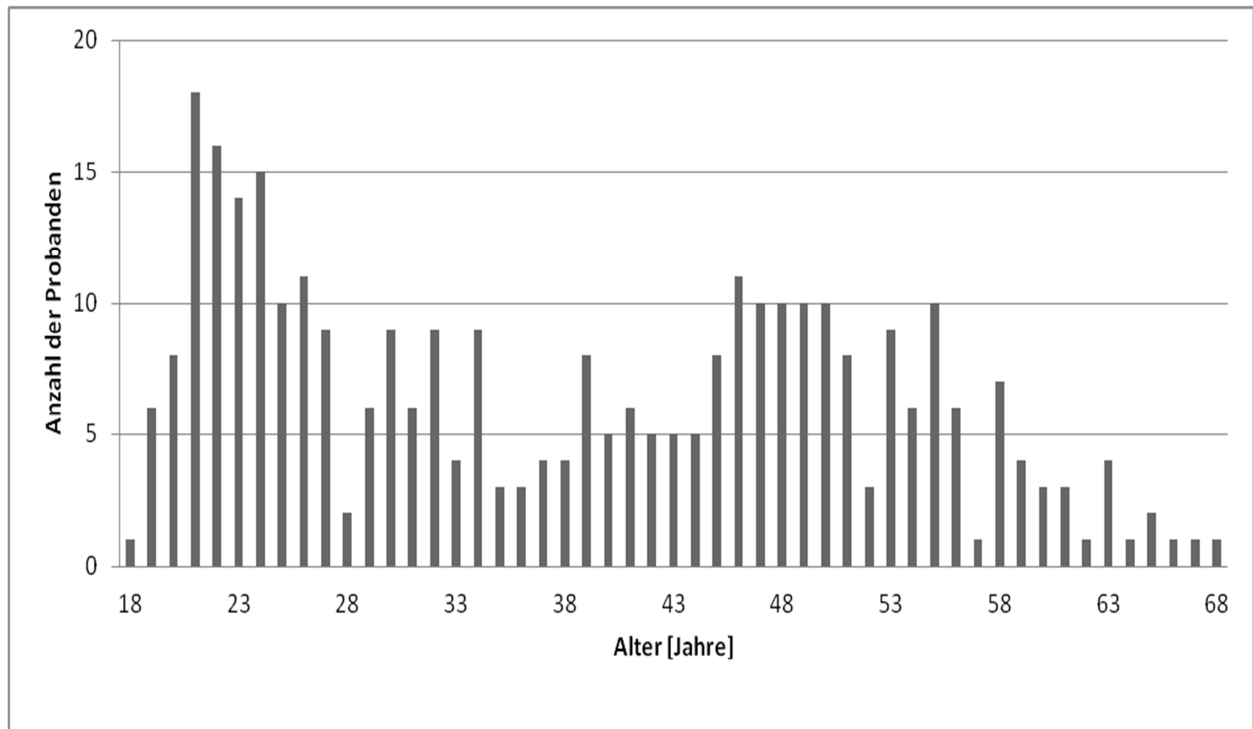
Insgesamt wurden 255 weibliche und 366 männliche Probanden in die Studie eingeschlossen.

Der Altersmedian lag bei 43 Jahren für die weiblichen Probanden (Altersrange 19 bis 69 Jahre) und bei 38 Jahren für die männlichen Probanden (Altersrange 18 bis 68 Jahre) [Abbildung 4 und 5].



**Abbildung 4:** Altersverteilung der weiblichen Studienteilnehmer





**Abbildung 5:** Altersverteilung der männlichen Studienteilnehmer

## 4.2 Spendeintervall

Der Median für den Abstand zwischen zwei Vollblutspenden lag bei 91 Tagen (Range 57-165 Tage) für Frauen und 60 Tagen (Range 55- 207 Tage) für Männer.

Die große Variationsbreite für den Spendeabstand ist durch wenige Probanden bedingt, die ihre Spende aufgrund eines Verfahrensfehlers zu früh absolvierten bzw. erst deutlich nach dem geplanten Termin wieder zur Spende antraten. Die Daten dieser Probanden wurden ebenfalls in die folgenden Auswertungen einbezogen. Im Rahmen der Regressionsanalyse wurde geprüft, ob der Spendeabstand in unserer Studie einen signifikanten Einfluss auf die Änderung der Ferritin-Konzentration ausübte (Siehe Kapitel: [4.6 Ferritin-Konzentration](#)).

## 4.3 Spendepausen (Rückstellungen von der Spende)

Der Grund für die im Folgenden beschriebenen Rückstellungen von der Spende war in allen Fällen ein zu niedriger Hämoglobinwert. Über den Studienzeitraum mussten insgesamt 28 Frauen eine Spendepause einlegen. Davon entfiel der größte Anteil mit 17 Probandinnen auf die Kontrollgruppe.

In Gruppe A (Verum 1) wurden 8 Frauen temporär von der Spende zurückgestellt. In Gruppe B (Verum 2) waren es nur 3 Frauen (Siehe Tabelle 1).

Die folgende statistische Auswertung ergab, dass Frauen in der Kontrollgruppe signifikant häufiger von der Spende zurückgestellt wurden (Fishers exakter Test,  $p = 0,002$ ).

Zwischen den Gruppen A und B fand sich hingegen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der eingelegten Spendeausen (Fishers exakter Test,  $p=0,134$ ).

Bei den männlichen Probanden erfolgten analog 14 temporäre Rückstellungen aufgrund zu niedriger Hämoglobinwerte. Jeweils 8 in der Kontrollgruppe, 2 in der Gruppe A und 4 in der Gruppe B. Im Gegensatz zu den Frauen zeigte sich hier in keiner der drei Gruppen ein statistisch signifikant häufigeres Auftreten von Spendeausen (Fishers exakter Test,  $p=0,148$ , siehe Tabelle 2).

Der Einfluss eingelegter Spendeausen auf die Änderung der Ferritin-Konzentration wird im Kapitel 4.6 Ferritin-Konzentration dargelegt.

	<b>Gesamt (Spendepausen und Spenden)</b>	<b>Spendepausen</b>	<b>Spenden</b>
<b>Kontrollgruppe</b>	99	17	82
<b>Gruppe A</b>	104	8	96
<b>Gruppe B</b>	105	3	102
<b>Gesamt</b>	<i>308</i>	<i>28</i>	<i>280</i>

**Tabelle 3:** Spendeausen weiblicher Probanden an beiden Folgeterminen nach Randomisierungsgruppe

	<b>Gesamt (Spendepausen und Spenden)</b>	<b>Spendepausen</b>	<b>Spenden</b>
<b>Kontrollgruppe</b>	137	8	129
<b>Gruppe A</b>	134	2	132
<b>Gruppe B</b>	133	4	129
<b>Gesamt</b>	<i>404</i>	<i>14</i>	<i>390</i>

**Tabelle 4:** Spendeausen männlicher Probanden an beiden Folgeterminen nach Randomisierungsgruppe

#### 4.4 Studienabbrüche (Drop outs)

Von 255 weiblichen Studienteilnehmern beendeten nur 138 die Studie. Das entspricht einer Dropout-Rate von 46%.

73% aller Abbrüche fanden vor dem 2.Termin statt.

Von den 366 männlichen Probanden schlossen nur 179 die Studie ab. Hier liegt die Drop-out-Rate bei 51% und somit höher als bei den Frauen. Auch hier fanden Dreiviertel aller Abbrüche bereits nach Einschluss in die Studie vor Termin 2 statt.

Die Dropout-Rate für beide Geschlechter war höher als die erwartete Rate von 40 %, die als Grundlage der Fallzahlberechnung dieser Studie diente.

Der überwiegende Anteil der Abbrüche fand sowohl bei Männern als auch bei Frauen ohne Angabe von Gründen statt. Die Spender traten ohne Rückmeldung nicht mehr zur Spende an.

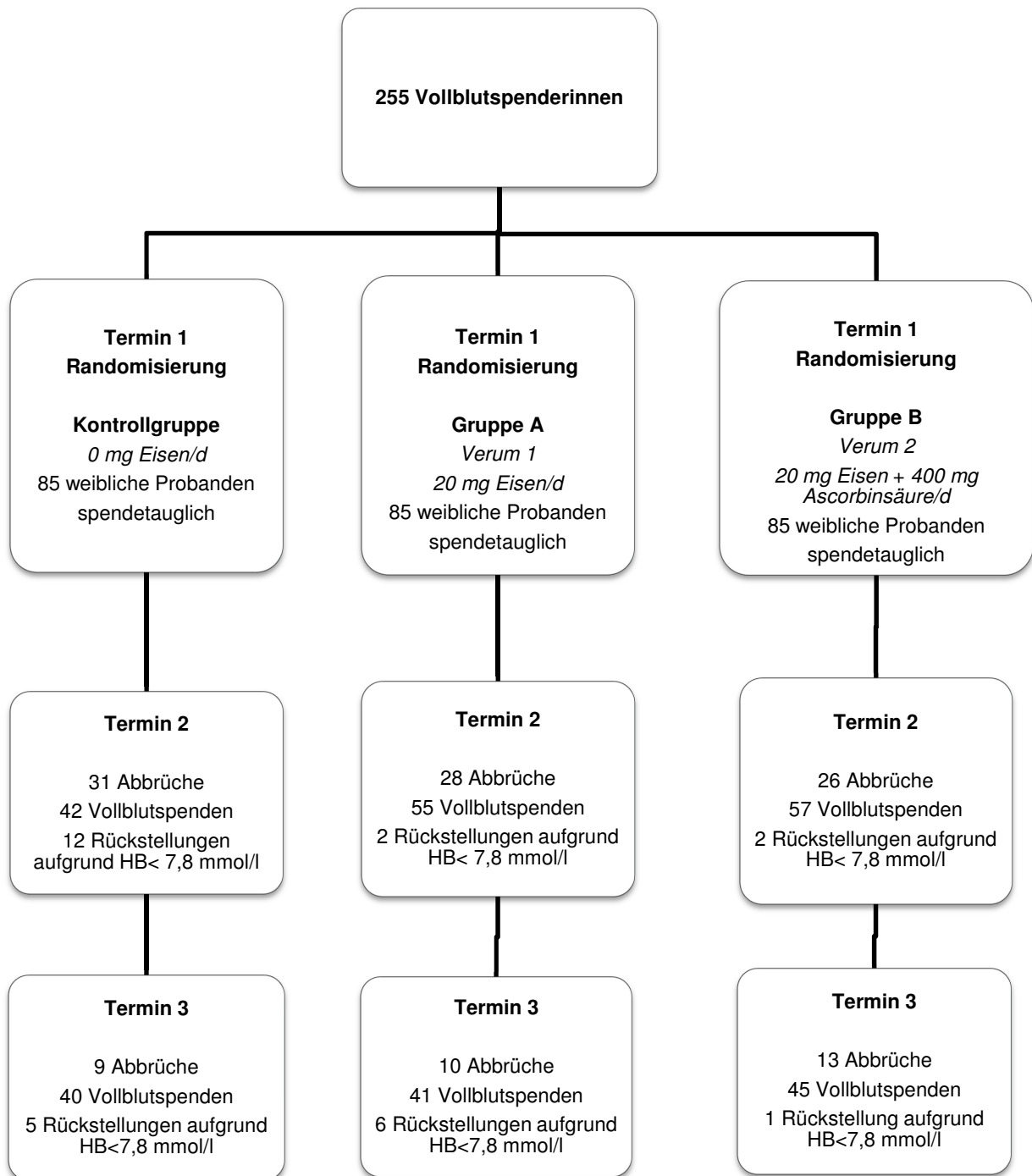
In Einzelfällen wurden telefonisch eine Schwangerschaft, ein Wohnortswechsel, eine neue Arbeitsstelle, ein Unfall und eine elektive endoskopische Operation als Grund für den Abbruch der Studie angegeben.

Weiterhin wurden insgesamt 14 Abbrüche wegen möglicher unerwünschter Begleiterscheinungen erfasst. Diese fanden sowohl spenderseitig als auch durch den Prüfarzt veranlasst statt.

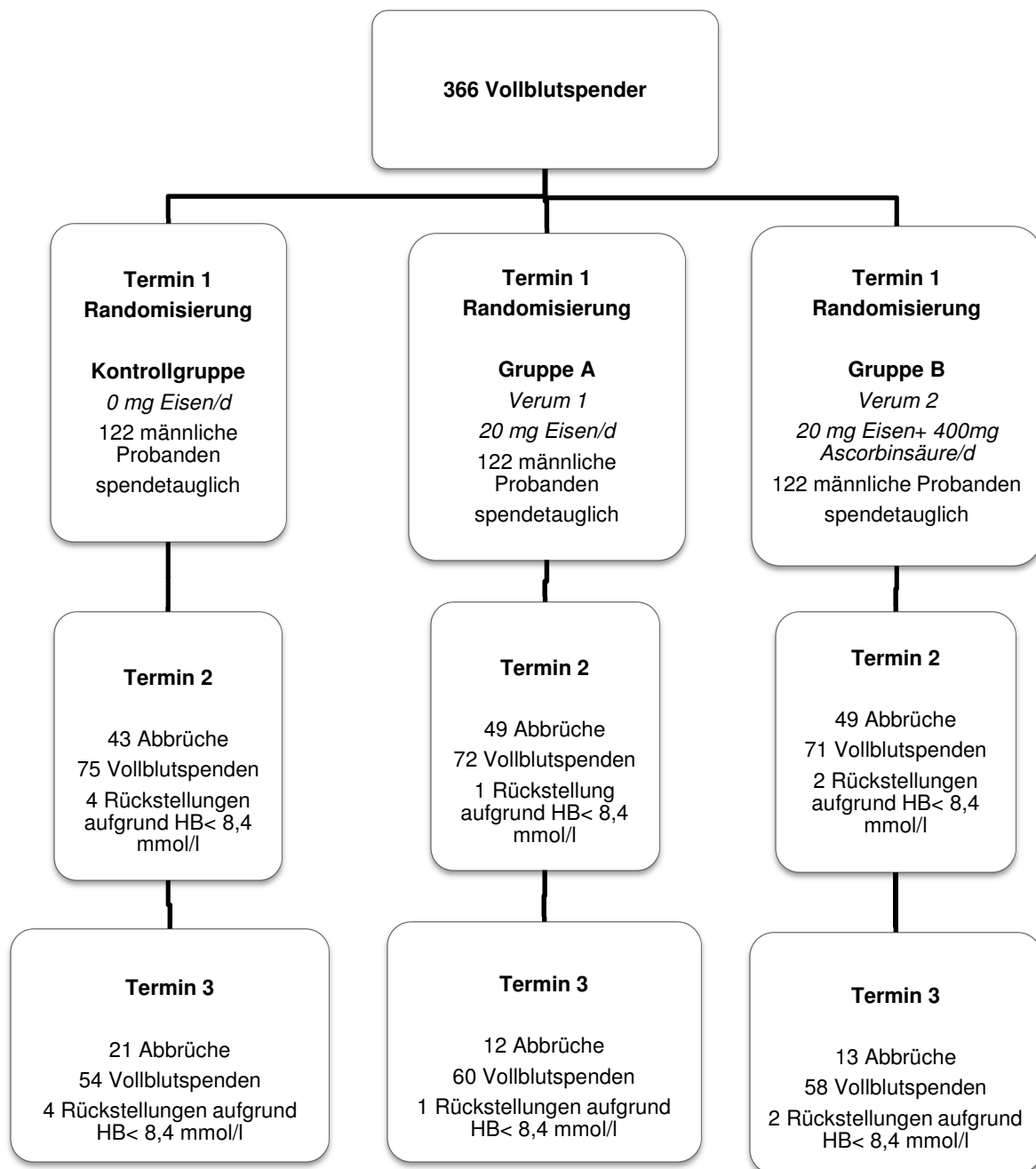
Der tatsächliche Anteil an Abbrüchen wegen möglicher Nebenwirkungen wird höher vermutet, konnte aber aufgrund des fehlenden Feedbacks seitens der Probanden nicht ermittelt werden. Im Kapitel 4.8 Unerwünschte Begleiterscheinungen wird die Verteilung der Abbrüche aufgrund potentieller Nebenwirkungen auf die einzelnen Studiengruppen explizit betrachtet.

Analysiert man die Verteilung der gesamten Dropouts auf die einzelnen Studiengruppen zeigt sich für beide Geschlechter eine annähernde Gleichverteilung.

Bei den Frauen betrug sie 47% in der Kontrollgruppe, 45% in der Gruppe A und 46% in der Gruppe B. Bei den Männern lag sie analog bei 52 % in der Kontrollgruppe, 50 % in der Gruppe A und 51 % in der Gruppe B [Abbildung 6 und 7].



**Abbildung 6:** Übersicht zu Spenden, Abbrüchen und Rückstellungen bei weiblichen Probanden an Termin 1 bis 3 für die drei Randomisierungsgruppen



**Abbildung 7:** Übersicht zu Spenden, Abbrüchen und Rückstellungen bei männlichen Probanden an Termin 1 bis 3 für die drei Randomisierungsgruppen

## 4.5 Compliance

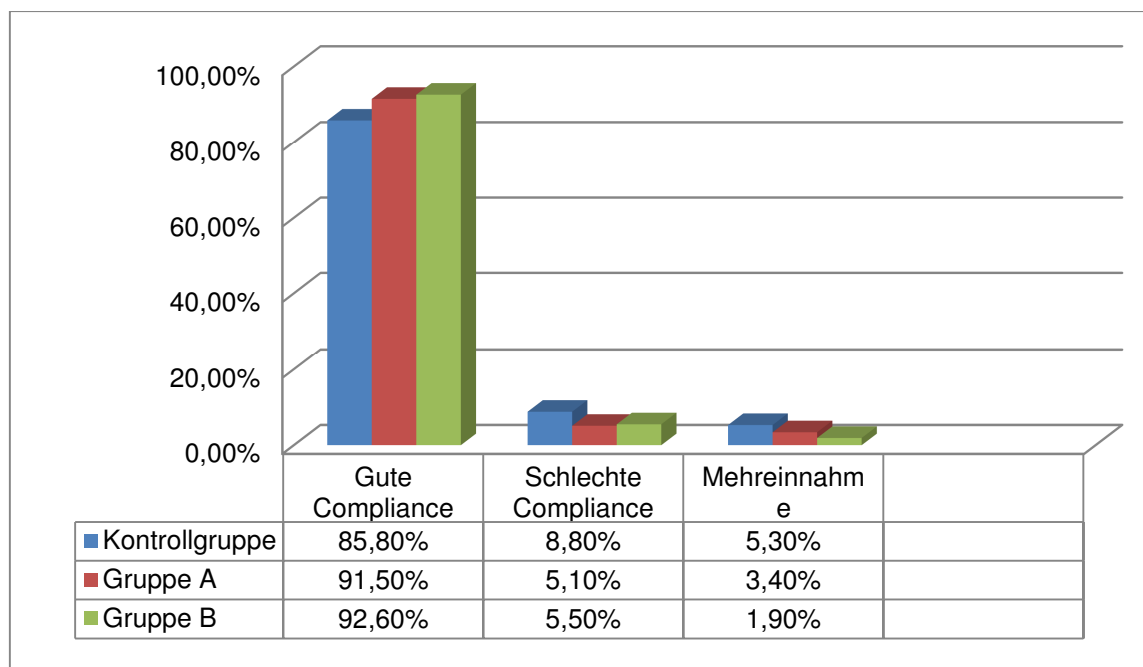
Die Compliance wurde für die beiden Einnahmezyklen jeweils getrennt ausgewertet. Dies machte unter anderem die Erfassung einer Mehreinnahme (über 100% entsprechend 31-60 Kapseln) im ersten Einnahmezyklus möglich.

Als gute Compliance wurde eine Einnahme von 80% bis 100% der Studienmedikation gewertet. Analog entsprachen unter 80% einer schlechten Compliance und über 100% einer Mehreinnahme.

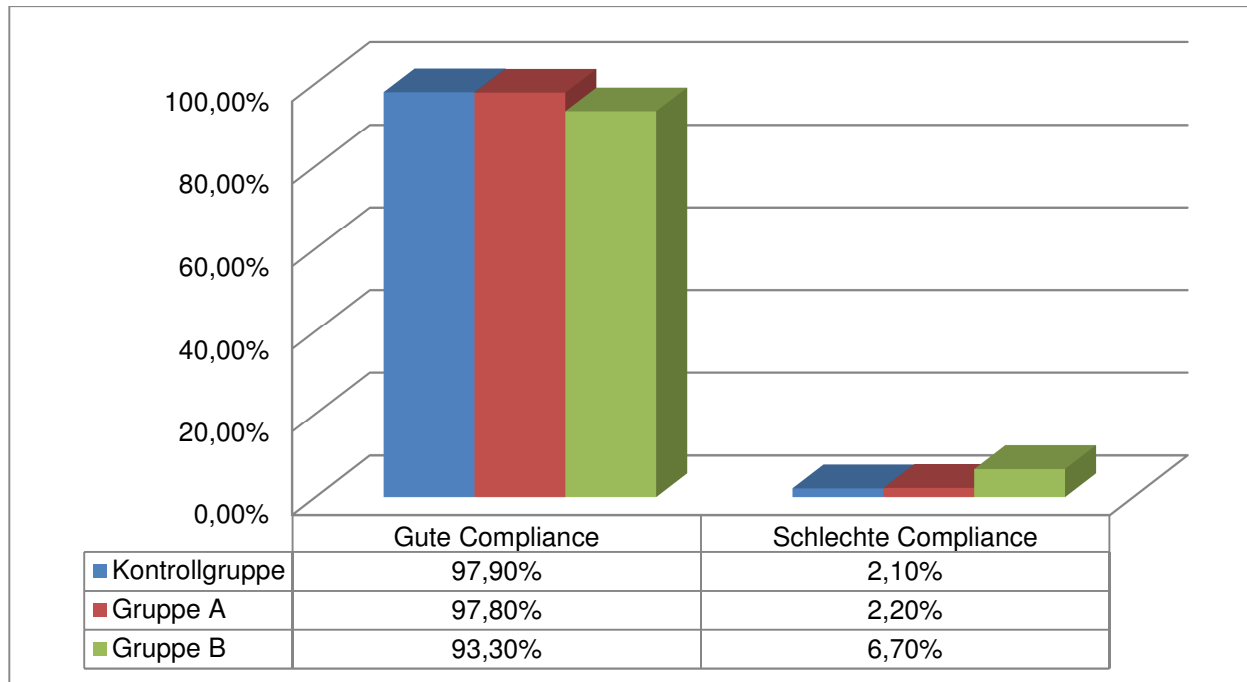
Im ersten Einnahmezyklus wurden 225 Männer und 170 Frauen bezüglich ihrer Compliance ausgewertet. Dies entspricht der Anzahl der Probanden, die nach der Randomisierung mindestens an Termin 2 vorstellig wurden. Für die Compliance des zweiten Einnahmezyklus wurden die 179 Männer und 138 Frauen betrachtet, welche sich auch an Termin 3 vorstellten.

Bei den weiblichen Probanden lag der Anteil der Studienteilnehmer mit guter Compliance im ersten Einnahmezyklus bei durchschnittlich 90% und im zweiten Einnahmezyklus bei 93,3%. Eine Mehreinnahme erfolgte bei 3,5 % der Probandinnen. Bei den männlichen Studienteilnehmern ergaben sich analog durchschnittliche Werte von 89,8% im ersten und 95% im zweiten Einnahmezyklus. Hier nahmen 4,4 % der Probanden bereits mehr als 30 Kapseln im ersten Zyklus ein.

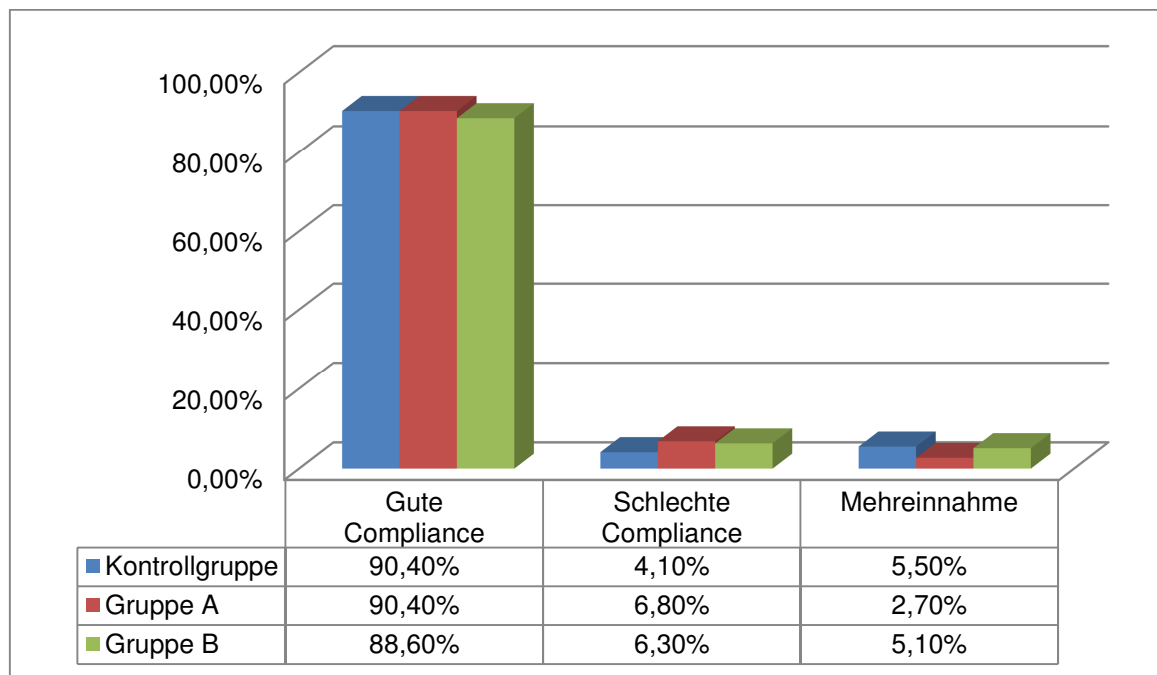
Die einzelnen Randomisierungsgruppen unterschieden sich sowohl bei den weiblichen als auch bei den männlichen Studienteilnehmern nicht signifikant hinsichtlich der Compliance [Abbildungen 8-11].



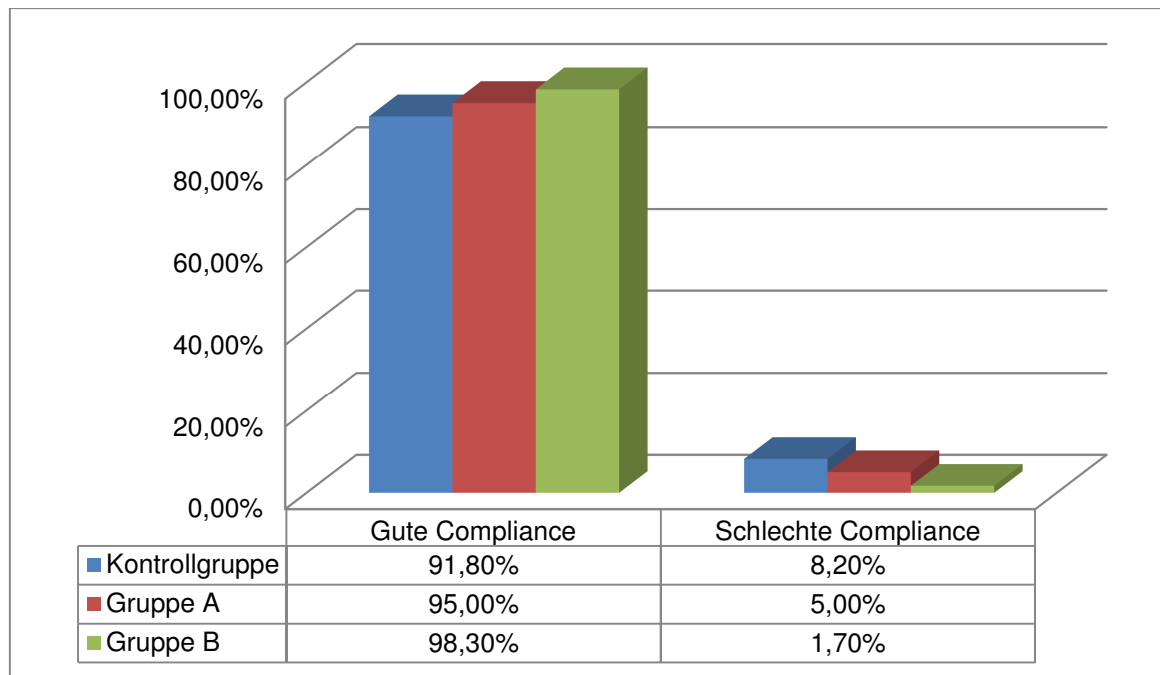
**Abbildung 8:** Compliance der Frauen im 1. Einnahmezyklus nach Randomisierungsgruppe



**Abbildung 9:** Compliance der Frauen im 2. Einnahmezyklus nach Randomisierungsgruppe



**Abbildung 10:** Compliance der Männer im 1. Einnahmezyklus nach Randomisierungsgruppe



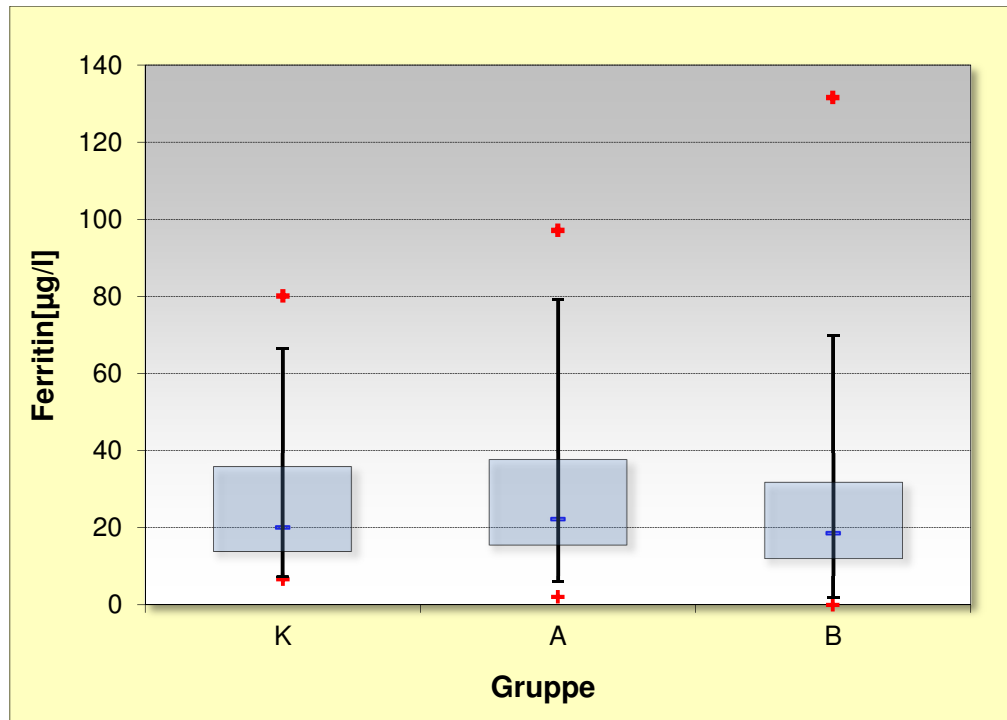
**Abbildung 11:** Compliance der Männer im 2. Einnahmezyklus nach Randomisierungsgruppe

## 4.6 Ferritin-Konzentration

### 4.6.1 Ergebnisse für weibliche Studienteilnehmer

Hinsichtlich der mittleren Ferritin-Ausgangskonzentrationen unterschieden sich die drei Studiengruppen nicht signifikant voneinander (Anova  $p=0,28$ ) [Abbildung 12].

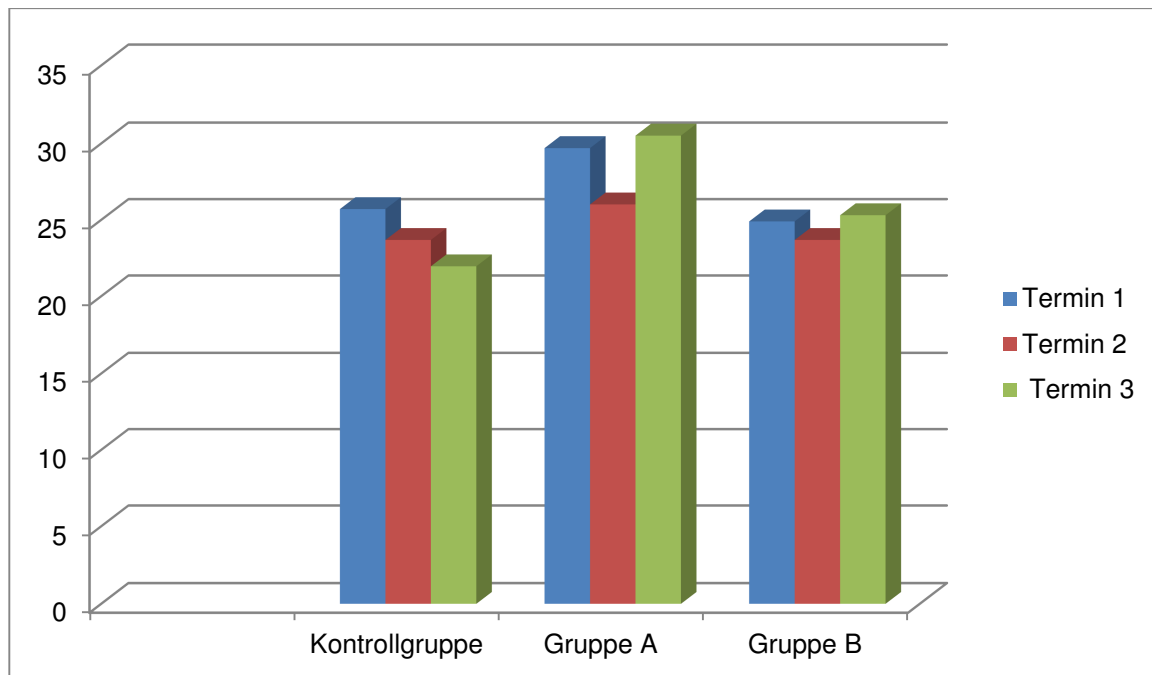




**Abbildung 12:** Box-Whisker-Plot der Ferritin-Ausgangskonzentrationen in den drei Randomisierungsgruppen für Frauen

Bei der Betrachtung der mittleren Ferritin-Konzentrationen über den gesamten Studienverlauf, zeigte sich in der Kontrollgruppe ein stetiger diskreter Abfall an den Folgeterminen. Die Konzentration an Termin 3 lag hier im Mittel etwa  $3,7 \mu\text{g/l}$  unter der Ausgangskonzentration.

Im Vergleich dazu erhielt man für die Gruppen A und B ein anderes Ergebnis. Hier kam es in beiden Gruppen ebenfalls zu einem Abfall der Konzentration an Termin 2. Am letzten Studientermin zeigte sich jedoch ein Wiederanstieg der Ferritin-Werte diskret über den Wert der jeweiligen mittleren Ausgangskonzentration der Gruppe hinaus. In Gruppe A waren sowohl der Abfall als auch der Wiederanstieg deutlicher ausgeprägt. Im Mittel fiel die Konzentration hier um  $3,7 \mu\text{g/l}$  und stieg wieder um  $4,5 \mu\text{g/l}$  an. In Gruppe B fiel sie analog nur um  $1,2 \mu\text{g/l}$ , um dann am letzten Spendetermin wieder um  $1,6 \mu\text{g/l}$  anzusteigen [Abbildung 13].



<b>Termin 1</b>	25,7 ± 17,1	29,7 ± 21,3	24,9 ± 20,7
<b>Termin 2</b>	23,7 ± 29,6	26,0 ± 18,0	23,7 ± 16,2
<b>Termin 3</b>	22,0 ± 15,7	30,5 ± 42,9	25,3 ± 18,3

**Abbildung 13:** Mittelwerte und Standardabweichung der Ferritin-Konzentration [µg/l] der Frauen an Termin 1 bis 3 getrennt nach Randomisierungsgruppen

Die Regressionsanalyse zeigte, dass die Unterschiede hinsichtlich der mittleren Ferritin-Konzentrationen zwischen allen drei Gruppen keine statistische Signifikanz erreichten. Die Medikation übte somit keinen Einfluss auf die Änderung der Ferritin-Konzentration aus (Verum 1 vs. Placebo:  $p=0,54$ ; Verum 2 vs. Placebo:  $p=0,69$ ). In der Kontrollgruppe bei mittlerem Alter, mittlerer Ferritin-Ausgangskonzentration, mittlerem Spendeabstand fiel die Ferritin-Konzentration im Mittel über beide Spenden nur tendenziell ab ( $p=0,19$ ).

Alter, Spendeabstand und Compliance waren ebenfalls ohne signifikanten Einfluss.

Es zeigte sich jedoch, dass höhere Ferritin-Ausgangswerte, einen stärkeren Abfall der Konzentration zur Folge hatten ( $p<0,000$ ).

Der Abfall der Ferritin-Konzentration war ebenfalls signifikant höher bei den Frauen, die an Termin 2 eine Spende pause einlegen mussten ( $p<0,001$ ) [Tabelle 3].

Unabhängige Variable	Koeffizient	p	95%- Konfidenzintervall
Verum 1	2,059	0,540	[-4,563; 8,681]
Verum 2	-0,715	0,690	[-4,250; 2,821]
Kontrolltermin	6,864	0,156	[-2,654; 16,381]
Alter	0,202	0,153	[-0,758; 0,481]
Ferritin-Ausgangswert	-0,319	0,000	[-0,428; -0,210]
Spendeabstand	0,096	0,153	[-0,036; 0,228]
Spendepause	-7,939	0,000	[-11,906; -3,973]
Compliance gut	0,433	0,880	[-5,235; 6,100]
Compliance schlecht	-1,708	0,729	[-11,431; 8,014]
Mehreinnahme	7,247	0,325	[-7,254; 21,749]
Konstante (Kontrollgruppe)	-18,169	0,191	[-45,478; 9,139]

**Tabelle 5:** Regressionsanalyse mit der abhängigen Variable „Mittlere Änderung der Ferritin-Konzentration“ beim 1. und 2. Kontrolltermin und den unabhängigen Variablen „Medikation“ (Verum1 bzw. 2 im Vergleich zum Placebo), „Kontrolltermin“, „Alter“, „Ferritin-Ausgangswert“, „Spendeabstand“, „Spendepause“ und „Compliance“ für weibliche Studienteilnehmer

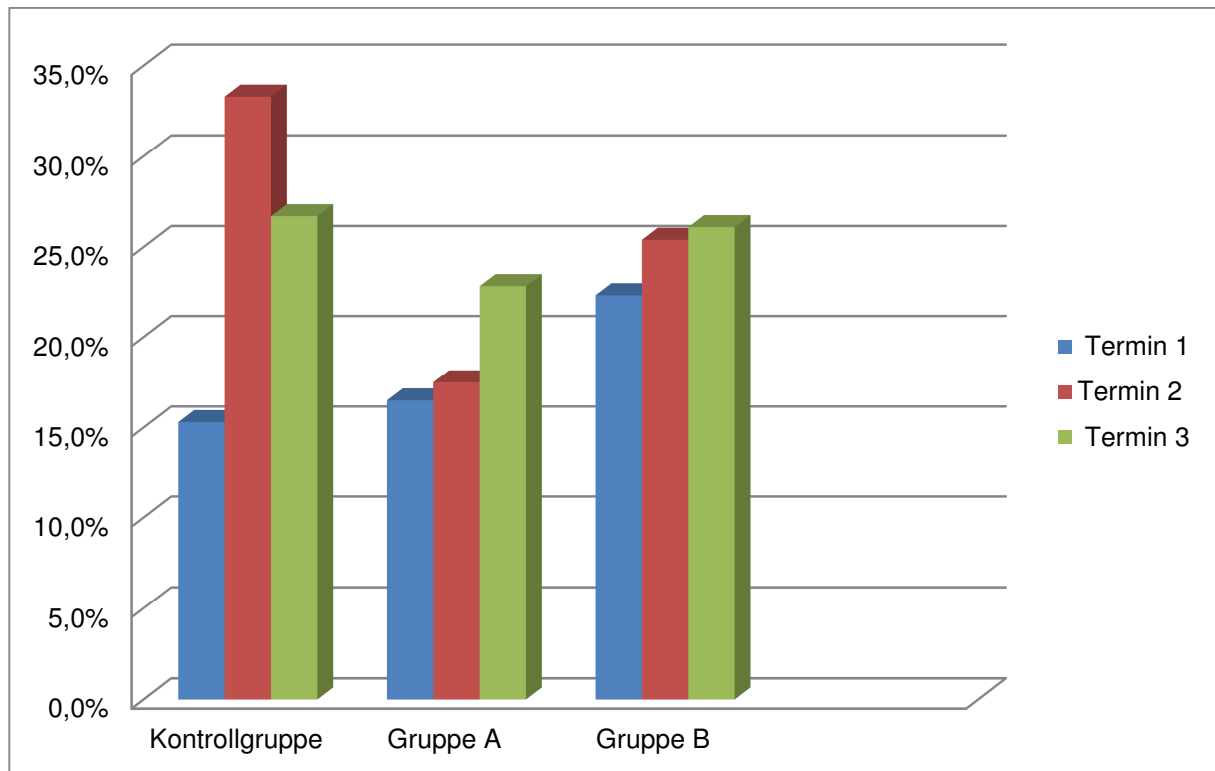
Ein Ausgangs-Ferritinwert  $<15 \mu\text{g/l}$  ließ sich bei 25% aller Frauen nachweisen, Ausgangswerte unter  $12 \mu\text{g/l}$  entsprechend einer vollständigen Eisendepletion fanden sich bei 18% der Probandinnen.

In Gruppe A blieb der Anteil der Probandinnen mit vollständig entleerten Eisenspeichern an den ersten beiden Terminen annähernd konstant. An Termin 3 stieg er nur diskret an um 5,3 % auf 22,8%. In Gruppe B erhöhte sich der Prozentsatz an Termin 2 nur geringfügig gegenüber dem Ausgangswert um 3,1 % und blieb dann in etwa konstant bei 26,1 % am letzten Termin. Er lag somit in beiden Gruppen an Termin 3 diskret über dem Ausgangswert. Ein Abfall des Anteils der eisendepletierten Probanden parallel zu den leicht ansteigenden mittleren Ferritinwerten dieser Gruppen am letzten Studientermin ließ sich nicht nachweisen.

Im Gegensatz zu den beiden Verum-Gruppen verdoppelte sich der Anteil der Frauen mit vollständiger Eisendepletion in der Kontrollgruppe von initial 15,3% an Termin 1 auf 33,3% an Termin 2. Diesem deutlichen Anstieg des Prozentsatzes in der Kontrollgruppe zum Termin 2 folgte ein erneutes Absinken am letzten Studientermin auf 26,7 %. Es zeigte sich kein kontinuierlicher Anstieg des Anteils entsprechend der Tendenz der

mittleren Ferritinwerte in der Kontrollgruppe. An Termin 3 waren die Anteile der eisendepletierten Frauen in allen drei Gruppen in etwa gleich groß. Bei Vergleich von Ausgangsanteil und Prozentsatz am Ende der Studie ließ sich für die Kontrollgruppe der stärkste Anstieg nachweisen.

Der steile Anstieg des Anteils eisendepletierter Frauen in der Kontrollgruppe an Termin 2 erwies sich als statistisch nicht signifikant ( $\text{Chi}^2 p=0,26$ ) [Abbildung 14].



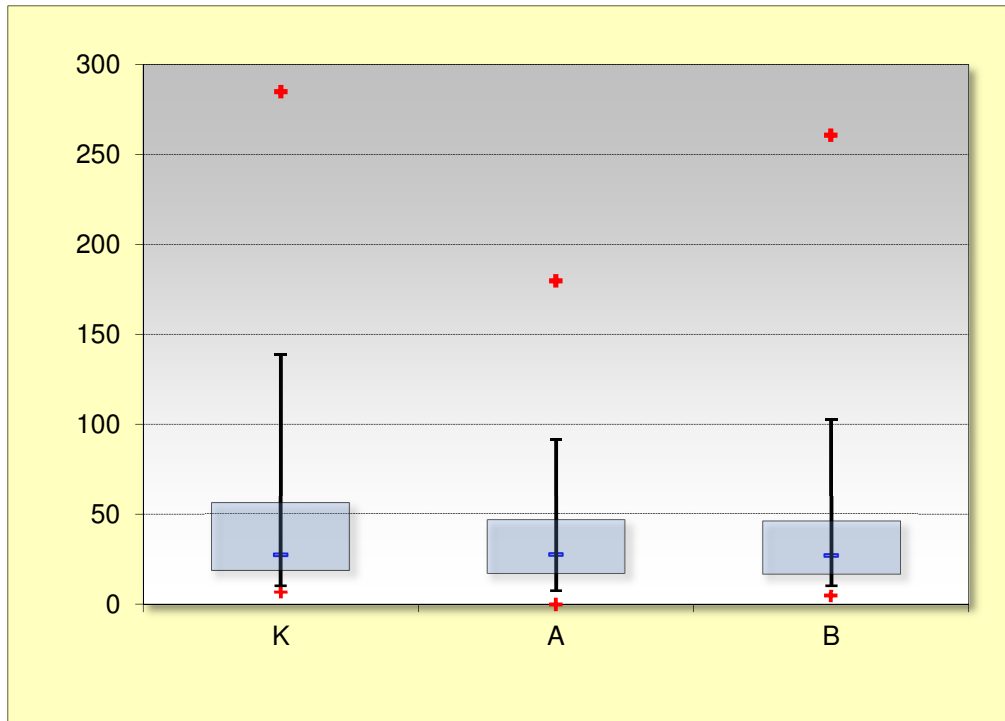
	Ferritin < 12 µg/l		
	Termin 1	Termin 2	Termin 3
<b>Kontrollgruppe</b>	13 (15,3%)	18 (33,3%)	12 (26,7%)
<b>Gruppe A</b>	14 (16,5%)	10 (17,5%)	13 (22,8%)
<b>Gruppe B</b>	19 (22,3%)	15 (25,4%)	12 (26,1%)

**Abbildung 14:**

Anteil der Frauen mit Ferritin-Konzentrationen < 12 µg/l absolut und bezogen auf die Gesamtanzahl aller Frauen der jeweiligen Randomisierungsgruppe an den Terminen 1-3

#### 4.6.2 Ergebnisse für männliche Studienteilnehmer

Die mittleren Ferritin-Ausgangskonzentrationen der drei Studiengruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander (Anova  $p=0,16$ ) [Abbildung 15].

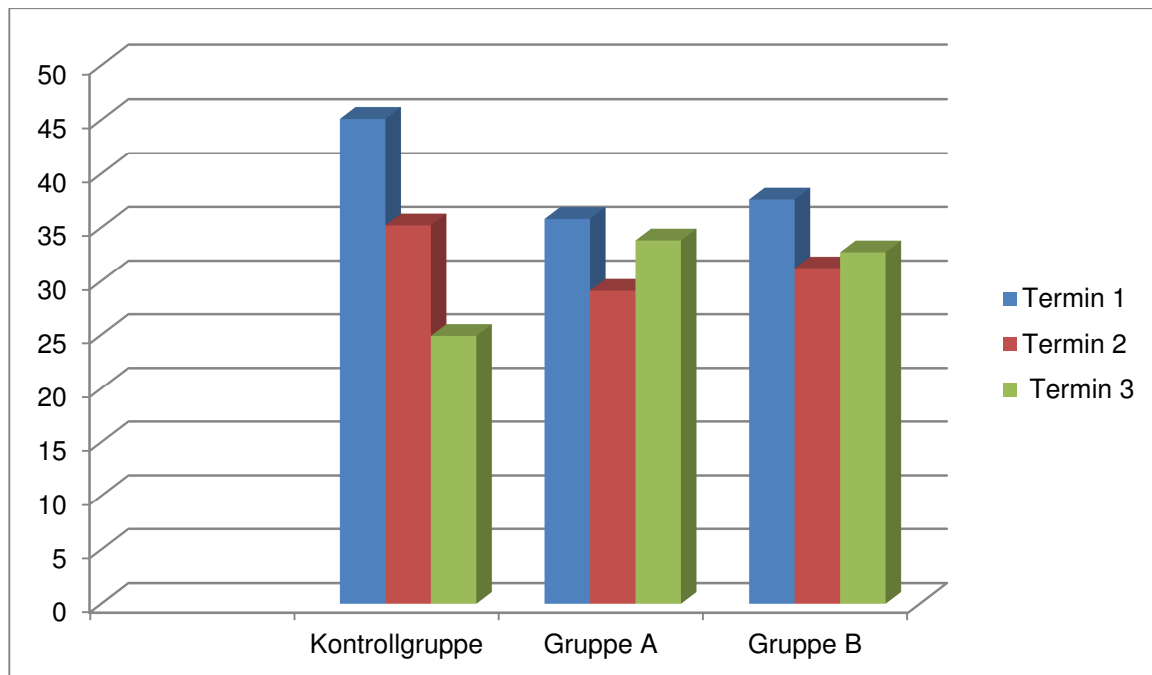


**Abbildung 15:** Box-Whisker-Plot der Ferritin-Ausgangskonzentrationen in den drei Randomisierungsgruppen für Männer

Bei der Betrachtung der mittleren Ferritin-Konzentrationen über den Studienverlauf, zeigte sich für die Kontrollgruppe ein kontinuierlicher Abfall der Werte.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen in der Kontrollgruppe der Frauen war der Abfall der mittleren Ferritin-Werte bei den Männern wesentlich deutlicher ausgeprägt. Die Konzentration sank an Termin 2 im Mittel um etwa  $9,9 \mu\text{g/l}$ . Am letzten Studientermin lag sie durchschnittlich  $20,2 \mu\text{g/l}$  unter dem mittleren Ausgangswert dieser Gruppe.

Dagegen zeigten die Gruppen A und B eine andere Entwicklung der mittleren Ferritinwerte über den Verlauf. In beiden Gruppen kommt es wie in der Kontrollgruppe zunächst zu einem Abfall der mittleren Ferritin-Konzentrationen an Termin 2. In Gruppe A sank die Konzentration hier im Mittel um  $6,7 \mu\text{g/l}$ . In der Gruppe B fiel sie um  $6,4 \mu\text{g/l}$  ab. Am letzten Studientermin kam es im Gegensatz zur Kontrollgruppe nicht zu einem weiteren Abfall. In beiden Verum-Gruppen stieg die Konzentration im Vergleich zum Termin 2 wieder an, In Gruppe A um  $3,7 \mu\text{g/l}$ , in Gruppe B nur sehr diskret um  $1,5 \mu\text{g/l}$  [Abbildung 16].



<b>Termin 1</b>	45,1 ± 46,8	35,8 ± 27,9	37,6 ± 35,6
<b>Termin 2</b>	35,2 ± 46,3	29,1 ± 19,9	31,2 ± 20,5
<b>Termin 3</b>	24,9 ± 18,8	33,8 ± 26,8	32,7 ± 15,4

**Abbildung 16:** Mittelwerte und Standardabweichung der Ferritin-Konzentration [µg/l] der Männer an Termin 1 bis 3 getrennt nach Randomisierungsgruppen

Die Regressionsanalyse ergab, dass auch bei den männlichen Probanden die Medikation keinen signifikanten Einfluss auf die Änderung der Ferritin-Konzentration ausübte (Verum 1 vs. Placebo:  $p=0,57$ , Verum 2 vs. Placebo:  $0,67$ ). Weiterhin zeigte sich, dass in der Kontrollgruppe bei mittlerem Alter, mittlerer Ferritin-Ausgangskonzentration, mittlerem Spendeabstand die Ferritin-Konzentration im Mittel über beide Spenden tendenziell, jedoch nicht signifikant abfiel ( $p=0,180$ ).

Entsprechend den Daten der deskriptiven Statistik ließ sich ein im Trend stärkerer Anstieg der Ferritin-Konzentration bei Termin 3 belegen ( $p= 0,079$ ). Compliance und Spendeabstand waren ohne signifikanten Einfluss. Jedoch stieg die Ferritin-Konzentration tendenziell bei älteren Spendern stärker an ( $p= 0,068$ ).

Analog den Ergebnissen der Frauen ergab sich auch bei den Männern, dass ein höherer Ferritin-Ausgangswert einen stärkeren Abfall der Ferritin-Werte durch die Spenden nach sich zog. ( $p<0,001$ ). Der Abfall der Ferritin-Konzentration war signifikant höher bei den Männern, die am ersten Kontrolltermin eine Spendepause einlegen mussten ( $p=0,022$ ) [Tabelle 4].

Unabhängige Variable	Koeffizient	p	95%- Konfidenzintervall
Verum 1	1,788	0,571	[-4,418; 7,993]
Verum 2	1,304	0,671	[-4,744; 7,352]
Kontrolltermin	4,854	0,079	[-0,570; 10,278]
Alter	0,136	0,068	[-0,010; 0,282]
Ferritin-Ausgangswert	-0,263	0,000	[-0,365; -0,161]
Spendeabstand	0,065	0,343	[-0,070; 0,199]
Spendepause	-10,516	0,022	[-19,502; -1,530]
Compliance gut	-0,75	0,843	[-8,233; 6,732]
Compliance schlecht	-		
Mehreinnahme	0,467	0,960	[-17,880; 18,812]
Konstante (Kontrollgruppe)	-9,214	0,180	[-22,723; 4,295]

**Tabelle 6:** Regressionsanalyse mit der abhängigen Variable „Mittlere Änderung der Ferritin-Konzentration“ beim 1. und 2. Kontrolltermin und den unabhängigen Variablen „Medikation“ (Verum1 bzw. 2 im Vergleich zum Placebo), „Kontrolltermin“, „Alter“, „Ferritin-Ausgangswert“, „Spendeabstand“, „Spendepause“ und „Compliance“ für männliche Studienteilnehmer

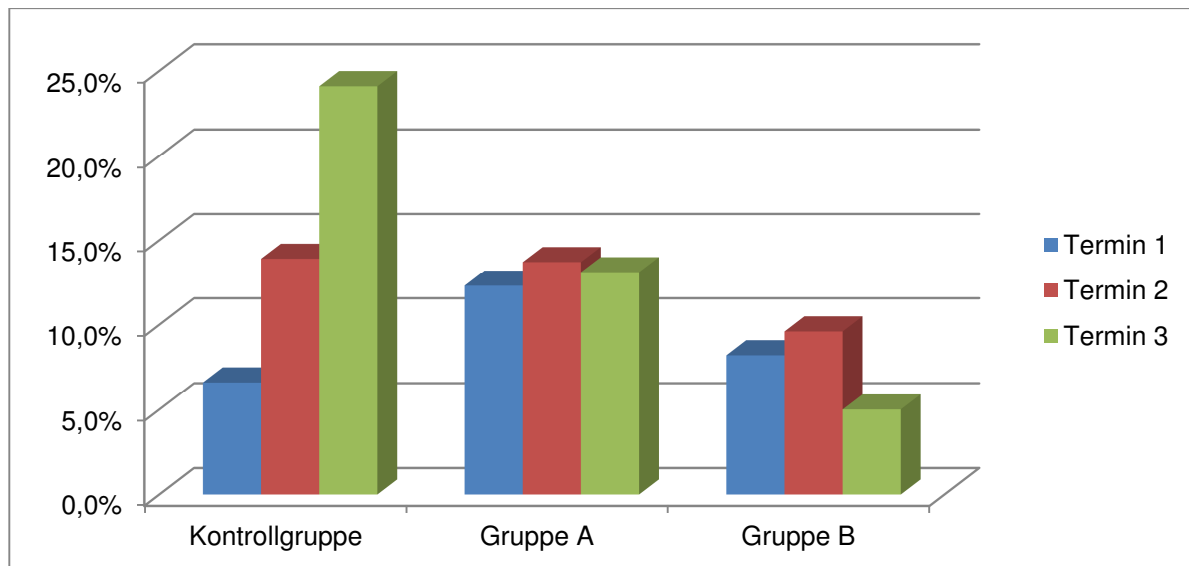
Ein Ferritin-Ausgangswert  $<15 \mu\text{g/l}$  ließ sich bei 18% der Männer nachweisen, Ausgangswerte unter  $12 \mu\text{g/l}$  fanden sich bei 9% der männlichen Probanden.

Der Prozentsatz vollständig eisendepletierter Spender (Ferritin-Konzentrationen  $< 12 \mu\text{g/l}$ ) war an Termin 1 in allen drei Gruppen annähernd gleich ( $\text{Chi}^2$ -Test,  $p=0,45$ ).

Der Anteil stieg in der Kontrollgruppe im Studienverlauf entsprechend den sinkenden mittleren Ferritin-Werten kontinuierlich an von initial 6,6% auf zuletzt 24,1%. Die Steigerung war hier deutlicher als in der Kontrollgruppe der Frauen. An Termin 3 war der Anteil der Männer mit entleerten Eisenspeichern hochsignifikant größer als in den anderen beiden Gruppen ( $\text{Chi}^2$ -Test,  $p=0,007$ ).

In der Gruppe A blieb der Anteil im Studienverlauf in etwa gleich bei im Mittel 13% ( $\text{Chi}^2$ -Test,  $p=0,45$ ).

In Gruppe B hielt sich der Prozentsatz an den ersten beiden Terminen in etwa konstant (8,2 % Termin 1 und 9,6% Termin 2). Am letzten Termin kam es zu einem diskreten nicht signifikanten Abfall auf 5 %. ( $\text{Chi}^2$ -Test,  $p=0,38$ ) [Abbildung 17].



	Ferritin < 12 µg/l		
	Termin 1	Termin 2	Termin 3
<b>Kontrollgruppe</b>	8 (6,6%)	11 (13,9%)	14 (24,1%)
<b>Gruppe A</b>	15 (12,3%)	10 (13,7%)	8 (13,1%)
<b>Gruppe B</b>	10 (8,2%)	7 (9,6%)	3 (5,0%)

**Abbildung 17:** Anteil der Männer mit Ferritin-Konzentrationen < 12 µg/l absolut und bezogen auf die Gesamtanzahl aller Männer der jeweiligen Randomisierungsgruppe an den Terminen 1-3 und bezogen

## 4.7 Hämoglobin-Konzentration und neue erythrozytäre Parameter (RBC-He, Ret-He)

### 4.7.1 Ergebnisse für weibliche Studienteilnehmer

Die mittleren venösen Hämoglobin-Ausgangskonzentrationen der drei Gruppen unterschieden sich statistisch nicht voneinander (ANOVA Frauen  $p=0,78$ ).

Bei den Frauen der Gruppe A lagen die Mittelwerte über den Studienverlauf konstant bei durchschnittlich 8,3 mmol/l. In der Gruppe B zeigten sich ebenfalls nur geringfügige Schwankungen an den 3 Terminen. In der Kontrollgruppe lag die venöse Hämoglobin-Konzentration an Termin 2 durchschnittlich 0,2 mmol/l niedriger als der mittlere Ausgangswert. An Termin 3 kam es jedoch zu einem Wiederanstieg auf das Ausgangsniveau [Tabelle 5].



In der Regressionsanalyse zeigte sich, dass die Veränderungen der venösen Hämoglobin-Werte sich zwischen den einzelnen Gruppen nicht unterschieden.

In dieser Studie konnte keine signifikante Korrelation der neuen erythrozytären Parameter mit den Ferritin-Werten der Spenderinnen nachgewiesen werden (mittlerer Pearson-Korrelationskoeffizient-RET-He,-RBC-He = 0,14).

Das mittlere RET-He lag zu jedem Messzeitpunkt in allen Randomisierungsgruppen innerhalb des Normbereiches.

Im Mittel lagen die RET-He Werte in der Kontrollgruppe an Termin 2 und 3 bei Frauen unter den Mittelwerten der Gruppen A und B [Tabelle 5, Abbildung 18].

Die Regressionsanalyse zeigte, dass die Veränderung des RET-He über die Studiendauer sich signifikant zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe B unterschied ( $p = 0,017$ ). Während RET-He in der Kontrollgruppe abnimmt, nimmt es in der Gruppe B geringfügig zu. Gruppe A unterschied sich nicht signifikant von den anderen beiden Gruppen.

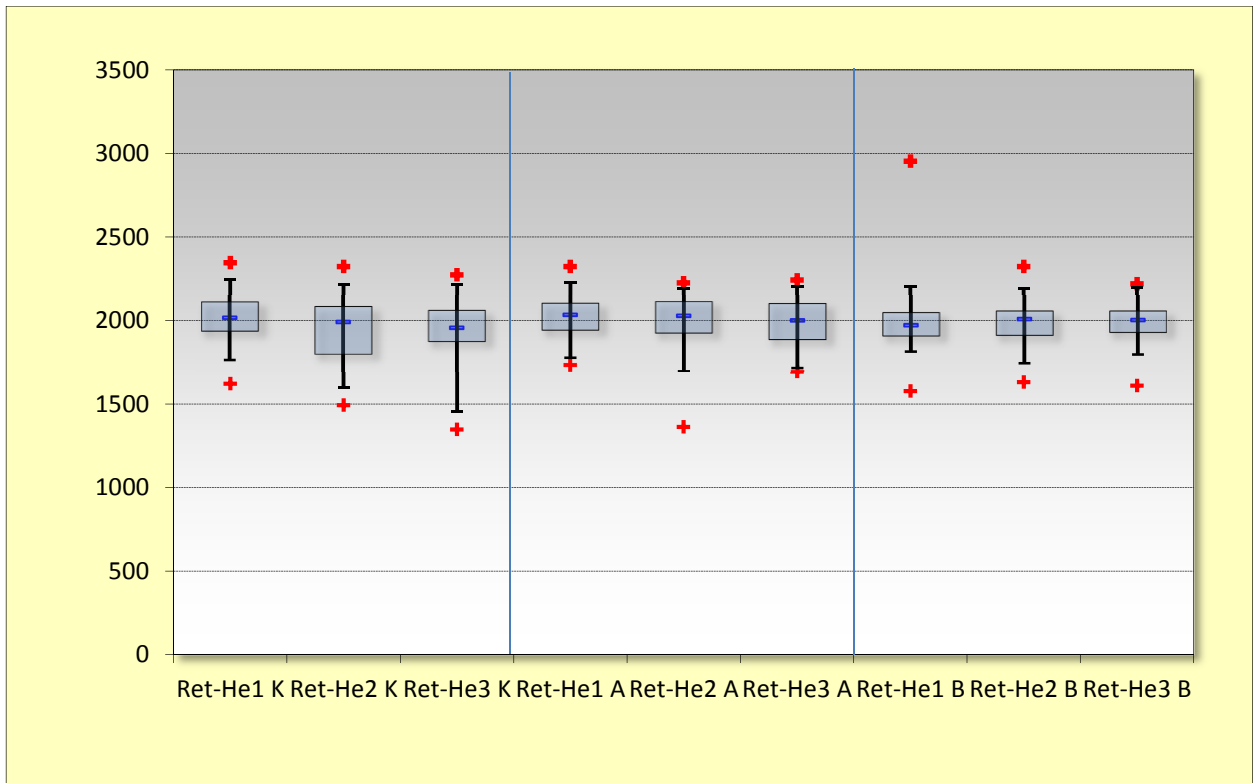
Das mittlere RBC-He lag zu jedem Messzeitpunkt bei den Frauen aller Gruppen im unteren Normbereich oder unterschritt diesen sogar.

Bei den Frauen der Kontrollgruppe wurde der untere Grenzwert für das RBC-He ( $1738 \text{ amol} = 28 \text{ pg}$ ) im Mittel jeweils an Termin 2 ( $1712 \pm 157 \text{ amol}$ ) und Termin 3 ( $1698 \pm 140 \text{ amol}$ ) unterschritten [Abbildung 19, Tabelle 5].

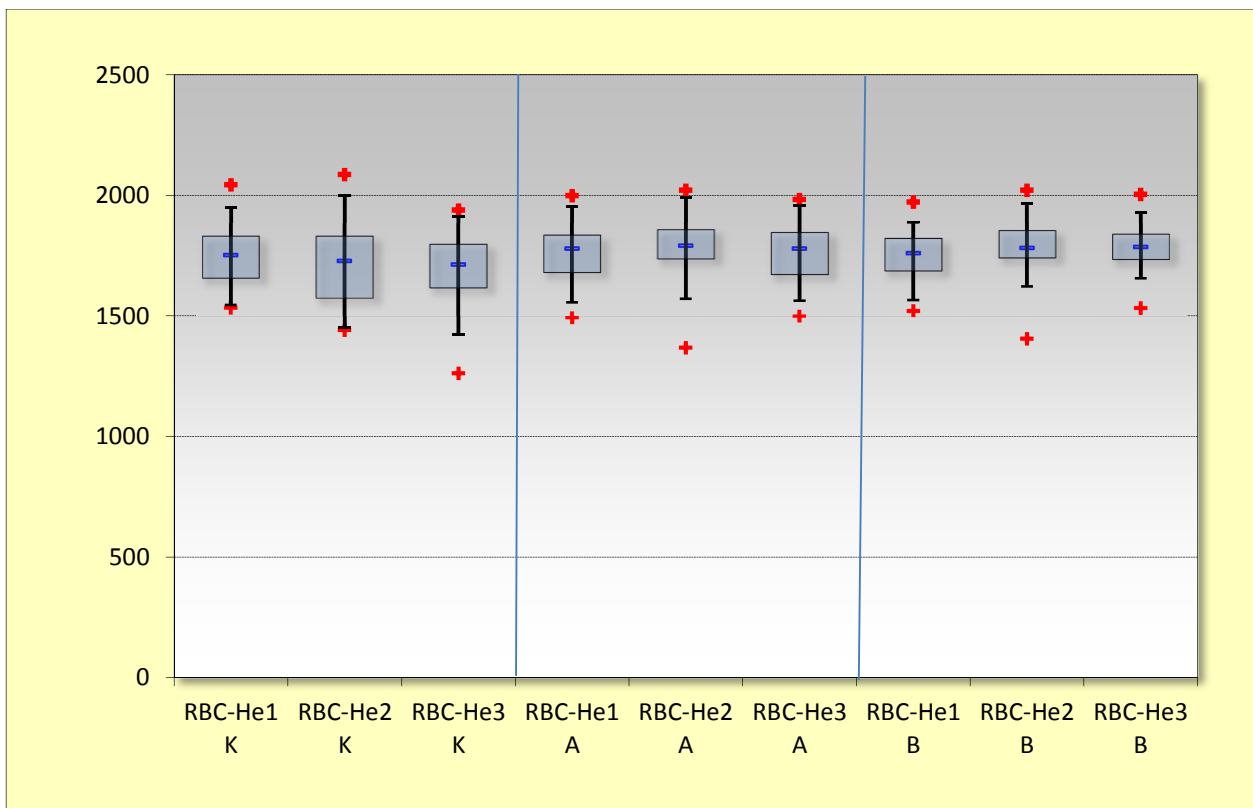
Auch hier zeigten sich in der Regressionsanalyse signifikante Unterschiede hinsichtlich der Änderung des RBC-He sowohl zwischen der Kontrollgruppe und Gruppe (A) ( $p = 0,003$ ), als auch zwischen der Kontrollgruppe und Gruppe (B) ( $p < 0,001$ ). Während RBC-He in der Kontrollgruppe abnimmt, nimmt es in Gruppe A geringfügig und in Gruppe B deutlicher zu. Der Unterschied zwischen Gruppe A und Gruppe B erwies sich jedoch als nicht signifikant.

	Termin	ven HB [mmol/l]	RBC-He [amol]	RET-He [amol]
<b>Frauen</b>				
	<b>1</b>			
<b>Kontrollgruppe</b>		8,2 ± 0,6	1752 ± 117	2019 ± 142
<b>Gruppe A</b>		8,3 ± 0,5	1763 ± 112	2019 ± 130
<b>Gruppe B</b>		8,3 ± 0,6	1748 ± 97	1991 ± 163
	<b>2</b>			
<b>Kontrollgruppe</b>		8,0 ± 0,6	1712 ± 157	1949 ± 190
<b>Gruppe A</b>		8,3 ± 0,6	1791 ± 115	1998 ± 155
<b>Gruppe B</b>		8,4 ± 0,6	1785 ± 101	1987 ± 127
	<b>3</b>			
<b>Kontrollgruppe</b>		8,2 ± 0,7	1698 ± 140	1945 ± 191
<b>Gruppe A</b>		8,3 ± 0,6	1767 ± 115	1982 ± 142
<b>Gruppe B</b>		8,4 ± 0,6	1785 ± 83	2000 ± 115

**Tabelle 7:** Mittelwerte und Standardabweichung von Hämoglobin, RBC-He und RET-He an Termin 1 bis 3 getrennt nach Gruppen für Frauen



**Abbildung 18:** Box-Whisker-Plot: Ret-He [amol] im Studienverlauf für die drei Randomisierungsgruppen der weiblichen Probanden



**Abbildung 19:** Box-Whisker-Plot: RBC-He [amol] im Studienverlauf für die drei Randomisierungsgruppen der weiblichen Probanden

#### 4.7.2 Ergebnisse für männliche Studienteilnehmer

Die mittleren venösen Hämoglobin-Ausgangskonzentrationen der drei Gruppen unterschieden sich auch hier statistisch nicht voneinander (ANOVA  $p=0,85$ ).

In der Gruppe A und B der Männer nahmen die mittleren Hämoglobin-Werte im Verlauf der Studie diskret zu.

In der Kontrollgruppe kam es im Gegensatz zu den beiden Verum-Gruppen zu einem deutlichen kontinuierlichen Abfall der Hämoglobin-Konzentration von durchschnittlich 9,3 mmol/l auf 8,9 mmol/l [Tabelle 6].

Die Regressionsanalyse ergab, dass sich diese Veränderungen der venösen Hämoglobin-Werte in der Kontrollgruppe signifikant von den Änderungen in der Gruppe A ( $p<0,001$ ) und der Gruppe B ( $p<0,001$ ) unterschieden.

Der Unterschied zwischen Gruppe A und Gruppe B ist jedoch nicht signifikant.

Auch für die Männer konnte keine signifikante Korrelation der neuen erythrozytären Parameter mit den Ferritin-Werten der Spender nachgewiesen werden (mittlerer Pearson-Korrelationskoeffizient- RET-He = 0,19, -RBC-He = 0,18).

Die Änderung des RET-He im Studienverlauf unterscheidet sich signifikant zwischen der Kontrollgruppe und Gruppe A ( $p=0,028$ ) bzw. der Kontrollgruppe und Gruppe B ( $p=0,010$ ), was sich im Ergebnis der Regressionsanalyse zeigte.

Während das RET-He in der Kontrollgruppe deutlich abnimmt, nimmt es in Gruppe A nur minimal ab und in Gruppe B sogar zu. Der Unterschied zwischen Gruppe A und Gruppe B ist jedoch nicht signifikant [Tabelle 6, Abbildung 20].

Bei der Betrachtung der mittleren RBC-He-Werte innerhalb der einzelnen Gruppen, zeigte sich folgendes Ergebnis:

In der Kontrollgruppe fand ein stetiger Abfall statt. In den Gruppen A und B stiegen die Werte über den Studienverlauf an.

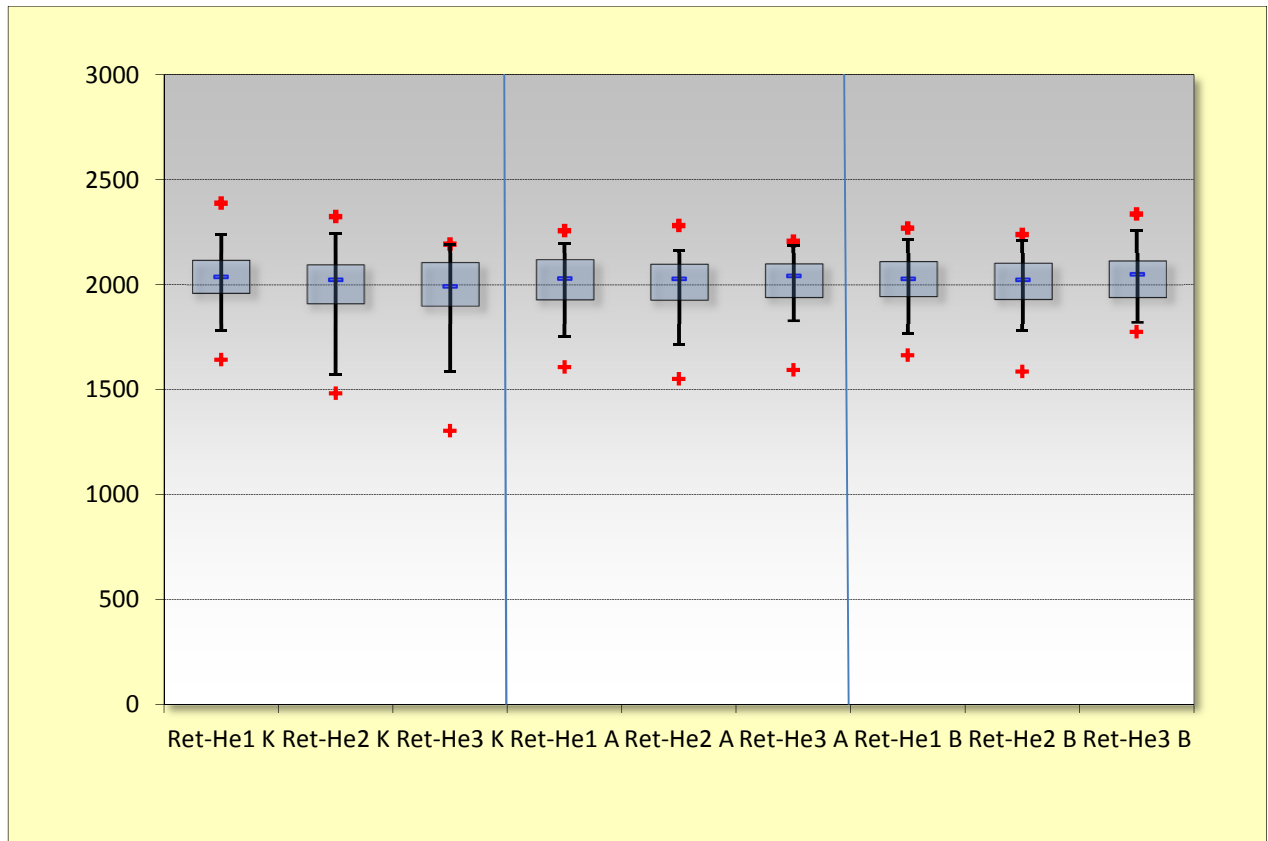
Bei den Männern wurde der untere Grenzwert für das RBC-He in der Kontrollgruppe an Termin 3 ( $1729 \pm 142$  amol) im Mittel unterschritten [Abbildung 21, Tabelle 6].

Die Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und Gruppe A ( $p=0,009$ ) und der Kontrollgruppe und Gruppe B ( $p<0,001$ ) wiesen statistische Signifikanz auf.

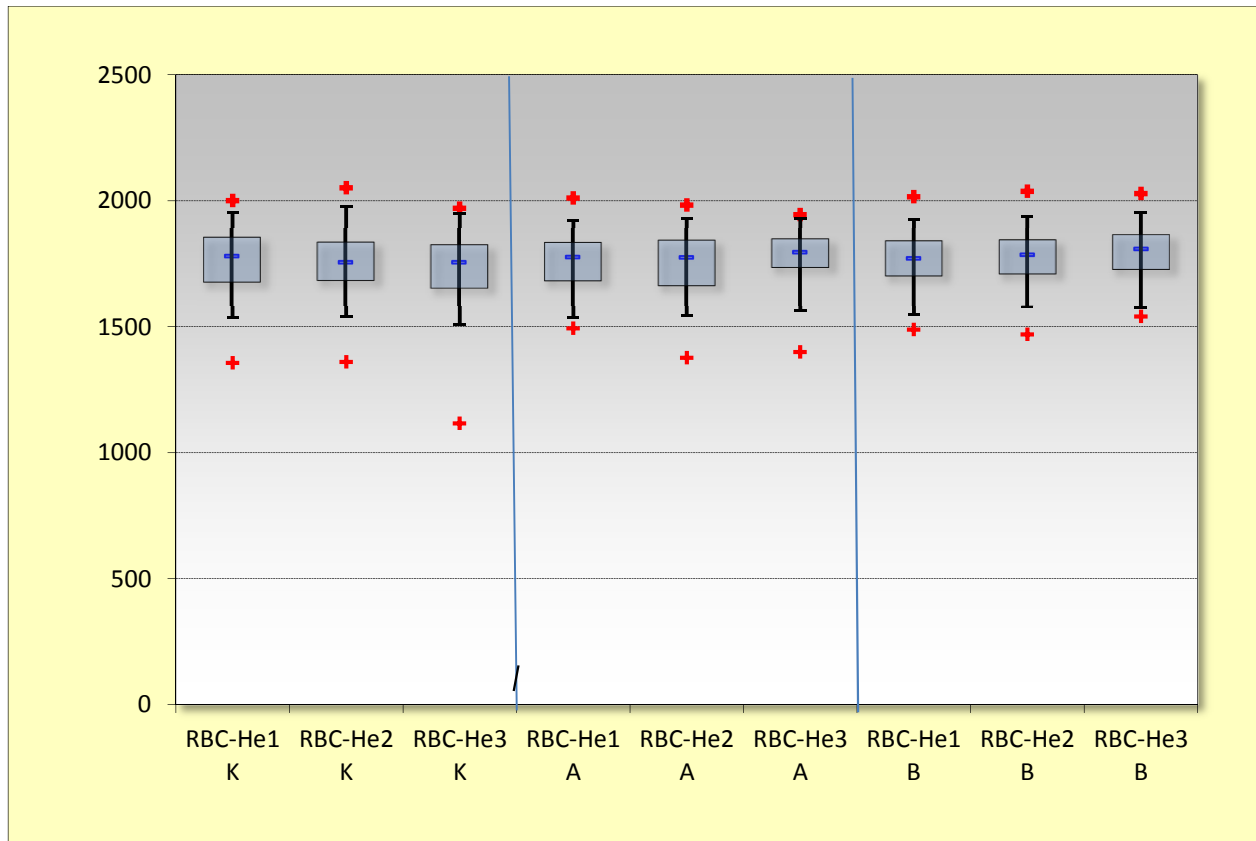
Die Gruppen A und B unterschieden sich hingegen nicht signifikant voneinander.

	Termin	ven HB [mmol/l]	RBC-He [amol]	RET-He [amol]
<b>Männer</b>				
	<b>1</b>			
<b>Kontrollgruppe</b>		9,2 ± 0,6	1763 ± 125	2030 ± 137
<b>Gruppe A</b>		9,2 ± 0,6	1757 ± 116	2016 ± 139
<b>Gruppe B</b>		9,2 ± 0,6	1759 ± 107	2022 ± 122
	<b>2</b>			
<b>Kontrollgruppe</b>		9,0 ± 0,6	1757 ± 130	1996 ± 168
<b>Gruppe A</b>		9,2 ± 0,6	1756 ± 120	2002 ± 137
<b>Gruppe B</b>		9,3 ± 0,5	1774 ± 105	2015 ± 126
	<b>3</b>			
<b>Kontrollgruppe</b>		8,9 ± 0,6	1729 ± 143	1971 ± 173
<b>Gruppe A</b>		9,3 ± 0,6	1776 ± 104	2018 ± 117
<b>Gruppe B</b>		9,3 ± 0,6	1796 ± 104	2033 ± 120

**Tabelle 8:** Mittelwerte und Standardabweichung von Hämoglobin, RBC-He und RET-He an Termin 1 bis 3 getrennt nach Gruppen für Männer



**Abbildung 20:** Box-Whisker-Plot: Ret-He [amol] im Studienverlauf für die drei Randomisierungsgruppen der männlichen Probanden



**Abbildung 21:** Box-Whisker-Plot: RBC-He [amol] im Studienverlauf für die drei Randomisierungsgruppen der männlichen Probanden<sup>3</sup>

## 4.8 Unerwünschte Begleiterscheinungen

### 4.8.1 Unerwünschte Begleiterscheinungen weiblicher Probanden

Insgesamt wurden die Angaben von 170 Frauen hinsichtlich möglicher Nebenwirkungen ausgewertet. Davon gaben 103 Frauen (61%) an keine Begleiterscheinungen beobachtet zu haben.

67 Frauen (39%) gaben eventuelle Nebenwirkungen mindestens einer Kategorie an. Der überwiegende Anteil dieser Frauen (50 Probandinnen) berichtete von gastrointestinalen Beschwerden.

Bei 64% aller angegebenen Nebenwirkungen handelte es sich um gastrointestinale Beschwerden wie Übelkeit, Sodbrennen, Obstipation Diarrhoe. 22% entfielen auf neurologisch-vegetative (Kopfschmerz, Schwindel, Müdigkeit), 9% auf dermatologische (Veränderungen des Hautbildes, Exantheme) Symptome und 5% auf eine Steigerung von Appetit und/oder Durst.

Es erfolgten insgesamt 6 Abbrüche aufgrund gastrointestinaler Symptome, davon drei in der Gruppe A, zwei in der Gruppe B und einer in der Kontrollgruppe. Ein weiterer

Abbruch erfolgte aufgrund eines neu aufgetretenen stark juckenden Exanthems einer Probandin in der Kontrollgruppe.

Die gastrointestinalen Begleiterscheinungen, der 170 Frauen verteilten sich wie folgt auf die drei Gruppen: 25% in der Kontrollgruppe, 35% in der Gruppe A und 28% in der Gruppe B. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen hinsichtlich der gesamten und der gastrointestinalen Nebenwirkungen erwiesen sich jedoch nicht als statistisch signifikant ( $\chi^2$   $p=0,58$  und  $p=0,50$ ) [Tabelle 7].

Randomisierungsgruppe	Gastrointestinale Nebenwirkungen		Nebenwirkungen alle Kategorien	
	ja	nein	ja	nein
<b>Kontrollgruppe</b>	13 (25%)	40 (75%)	19 (36%)	34 (64%)
<b>Gruppe A</b>	20 (35%)	37 (65%)	27 (47%)	30 (53%)
<b>Gruppe B</b>	17 (28%)	43 (72%)	21 (35%)	39 (65%)

**Tabelle 9:** Nebenwirkungen insgesamt und gastrointestinale Nebenwirkungen in Absolutzahlen und prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der ausgewerteten Probanden der jeweiligen Gruppe (Frauen)

#### 4.8.2 Unerwünschte Begleiterscheinungen männlicher Probanden

Insgesamt wurden die Angaben von 223 männlichen Probanden hinsichtlich möglicher Nebenwirkungen ausgewertet. 157 Männer (70,4%) gaben an keine unerwünschten Begleiterscheinungen beobachtet zu haben.

66 Männer (29,6%) berichteten von eventuellen Nebenwirkungen mindestens einer Kategorie. Auch hier gab der größte Anteil dieser Probanden (51 Männer) gastrointestinale Begleiterscheinungen an.

Bei 65,4% aller angegebenen unerwünschten Begleiterscheinungen handelte es sich um gastrointestinale Beschwerden, 26,9% entfielen auf neurologisch-vegetative Beschwerden (Kopfschmerz, Schwindel, Müdigkeit), 7,7% auf Veränderungen des Hautbildes (Exantheme).

Es erfolgten wie bei den Frauen insgesamt 6 Abbrüche aufgrund gastrointestinaler Beschwerden, davon einer in der Kontrollgruppe, zwei in Gruppe A und drei in Gruppe B. Ein weiterer Abbruch entfiel auf die Kontrollgruppe. Hier gab der Proband gesteigerte Nervosität als mögliche Nebenwirkung an.



Die gastrointestinalen Begleiterscheinungen, der 223 Männer verteilten sich wie folgt auf die drei Gruppen: 21% in der Kontrollgruppe, 23% in der Gruppe A und 24 % in der Gruppe B.

Zwischen den einzelnen Gruppen zeigten sich bezüglich der gesamten und der gastrointestinalen Nebenwirkungen keine signifikanten Unterschiede ( $\text{Chi}^2$  jeweils  $p=0,91$ ) [Tabelle 8].

Randomisierungsgruppe	Gastrointestinale Nebenwirkungen		Nebenwirkungen alle Kategorien	
	ja	nein	ja	nein
<b>Kontrollgruppe</b>	16 (21%)	60 (79%)	21 (28%)	55 (72%)
<b>Gruppe A</b>	17 (23%)	56 (77%)	21 (29%)	52 (71%)
<b>Gruppe B</b>	18 (24%)	56 (76%)	24 (32%)	50 (68%)

**Tabelle 10:** Nebenwirkungen insgesamt und gastrointestinale Nebenwirkungen in Absolutzahlen und prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der ausgewerteten Probanden der jeweiligen Gruppe (Männer)

## 5 Diskussion

### 5.1 Drop out-Rate

Die Rate der Studienabbrüche insgesamt lag in dieser Studie für die Frauen bei 46% und für die Männer bei 51%.

Die Dropout- Rate für beide Geschlechter war somit höher als die erwartete Rate von 40 %, die als Grundlage der Fallzahlberechnung dieser Studie diente. Dies führte insgesamt zu einem kleineren auswertbaren Stichprobenumfang als vorab kalkuliert. Studienergebnisse, die sich hier nur in einer Tendenz widerspiegeln, hätten bei höherer Fallzahl in der Auswertung möglicherweise Signifikanz erreicht. Die Schlussfolgerungen dieser Studie sollten unter dieser Prämisse kritisch betrachtet werden. In Folgestudien müssen geeignete Maßnahmen ergriffen werden, um die Drop-out-Rate zu senken.

Die Vergleichbarkeit der einzelnen Kollektive untereinander wurde wahrscheinlich nicht beeinflusst, da sich die Drop out-Raten der Gruppen annähernd gleichverteilten.

Eine mögliche Erklärung für die erhöhte Rate an Studienabbrüchen könnte sein, dass ein nicht unerheblicher Teil der Probanden auf mobilen Blutspendeterminen und in relativ neuen Spendeeinrichtungen der Haema AG rekrutiert wurde. Es besteht die Annahme, dass dort die Spenderbindung nicht so hoch ist wie in den älteren Blutspendezentren, die über eine Spenderklientel verfügen, die bereits seit Jahren regelmäßig Blut spendet.

Die Ursachen für die Abbrüche sind in den meisten Fällen wegen fehlender Rückmeldung unbekannt. 14 Abbrüche wegen möglicher Nebenwirkungen der Studienmedikation wurden erfasst. Die wahre Rate wird zwar höher vermutet, jedoch nicht als Hauptursache für die hohe Drop out-Rate angesehen. Hierfür spricht auch die Gleichverteilung der Abbrüche auf die einzelnen Gruppen.

Etwa Dreiviertel der Abbrüche erfolgten vor dem 2. Studientermin. In der Studie von Radtke et al. ergab sich für die Frauen ein ebenso hoher Prozentsatz (76). Möglicherweise wäre diese hohe Rate durch eine noch intensivere Betreuung und Motivation der Probanden zu vermeiden gewesen. Vorstellbar wäre hier beispielsweise eine fixe telefonische Rücksprache nach dem ersten Termin, um eventuell neu aufgetretene Probleme und Fragen zu klären und so einem Abbruch der Studie entgegenzuwirken. In Folgestudien sollte dies berücksichtigt und optimiert werden.

Insgesamt lässt sich jedoch aus der hohen Rate an Studienabbrüchen schlussfolgern, dass die Akzeptanz einer regelmäßigen Einnahme von Tabletten durch gesunde Blutspender ohne Leidensdruck eine besondere Herausforderung für den Spendearzt darstellt. Gezielte Aufklärung der Spender über die Notwendigkeit der Eisensubstitution, individuelle Spenderführung und Spenderbindung sind notwendige Konsequenzen, um die Akzeptanz zu erhöhen und möglichst wenig Blutspender zu verlieren.

## 5.2 Eisenstatus der Probanden zu Beginn der Studie

Durch den hohen Verlust von bis zu 270 mg Eisen pro Vollblutspende sind regelmäßige Blutspender in besonders hohem Maße gefährdet, einen Eisenmangel und infolgedessen eine Eisenmangelanämie zu entwickeln (30, 31, 33, 34, 43, 44, 54, 101-103).

Bereits zu Beginn der Studie lag der Anteil an Probanden mit Ausgangs-Ferritinwerten  $< 12 \mu\text{g/l}$  bei 18% der weiblichen und 9% der männlichen Studienteilnehmer.

Ein Ausgangs-Ferritin-Wert  $< 15 \mu\text{g/l}$  ließ sich bei 25% der teilnehmenden Frauen und 18% der Männer nachweisen.

Der Prozentsatz an weiblichen Blutspendern mit Ferritinwerten  $< 15 \mu\text{g/l}$  ist in etwa vergleichbar mit den Ergebnissen von Milman und Kirchhoff aus dem Jahr 1991. Dort lag der Anteil eisendepletierter prämenopausaler Frauen bei 31%, der postmenopausaler bei 7%, entsprechend einem Gesamtanteil von 24% aller untersuchten Blutspenderinnen (31). Der Anteil männlicher Blutspender mit Ferritinwerten  $< 15 \mu\text{g/l}$  lag in den Studien von Milman et al. mit 6% der Dauerspender deutlich unter unseren Werten (30).

Bei Alvarez-Ossorio et al. war der Prozentsatz eisendepletierter sowohl weiblicher als auch männlicher Dauerspender deutlich höher (30% der Frauen und 24% der Männer) (36).

Wie in der Einleitung bereits beschrieben wurde in mehreren Studien nachgewiesen, dass das Speichereisen im Sinne einer negativen Korrelation mit steigender Anzahl der Blutspenden pro Jahr weiter absinkt (33-35, 46). In dieser Studie wurden Blutspender eingeschlossen, die bereits vor dem Studienbeginn in einer maximalen Spendefrequenz pro Jahr gespendet hatten, so dass der relativ hohe Anteil an Probanden mit vollständig entleerten Eisenspeichern aufgrund dieser negativen Korrelation zu erwarten war.

Ein weiterer Aspekt, der auf einen reduzierten Eisenstatus der Blutspenderpopulation hinweist, sind die im Mittel vergleichsweise niedrigen Ausgangs-RBC-He Level (1748-1763 amol), die sich in allen Randomisierungsgruppen wiederfanden.

Ein Vergleich absoluter RBC-He Werte unterschiedlicher Messmethoden ist aufgrund fehlender Standardisierung kritisch zu sehen, kann jedoch einen indirekten Hinweis auf den Eisenstatus der Probanden geben.

Schoorl et al. ermittelten innerhalb ihrer Referenzgruppe (gesunde Erwachsene) am Sysmex XE 2100 einen mittleren RBC-He von 1876 amol, der somit deutlich höher liegt als bei unseren Blutspendern (104).

Bei Brugnara et al lag der mittlere RBC-He einer gesunden Referenzpopulation ebenfalls höher bei 1818 amol (29 pg). In beiden Studien korrelierte der RBC-He eng mit dem MCH (97).

### **5.3 Einfluss der Studienmedikation auf die Änderung der Ferritin-Konzentration im Studienverlauf**

#### **5.3.1 Ergebnisse für weibliche Studienteilnehmer**

Bei den weiblichen Studienteilnehmern zeigte die Regressionsanalyse, dass die Medikation keinen signifikanten Einfluss auf die mittlere Änderung der Ferritin-Konzentration hatte.

Es fällt jedoch auf, dass die Werte in der Kontrollgruppe von Termin 1 bis 3 stetig abfielen, während sie in den Gruppen A und B nach Absinken an Termin 2 wieder leicht anstiegen. Obgleich die Entwicklung des Anteils vollständig eisendepletierter Frauen sich bei Betrachtung der einzelnen Studientermine nicht vollständig analog der mittleren Ferritinwerte entwickelte, zeigte sich jedoch der stärkste Anstieg ebenfalls in der Kontrollgruppe. Es konnte in den Verum-Gruppen jedoch kein signifikant höheres Speichereisen im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden.

Insgesamt muss man daher den Schluss ziehen, dass eine Eisensubstitution von 600 mg mit oder ohne Zusatz von Ascorbinsäure nicht ausreichend erscheint um den Abfall des Speichereisens von Blutspenderinnen vollständig auszugleichen.

Es lässt sich nur in der Tendenz ein positiver Einfluss der Eisensubstitution auf den Eisenstatus der Spenderinnen erkennen.

Legt man die bisherigen Studien zum Thema Eisensubstitution mit Eisensalzen bei weiblichen Blutspendern zugrunde, stehen unsere Ergebnisse dennoch weitgehend in

Einklang mit den dort ermittelten Resultaten. Die Unterschiede sind wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die substituierten Gesamtmengen an Eisen in allen früheren Studien höher als 600 mg waren.

Bei Substitution mit relativ hohen Eisendosen konnte wie bei Simon et al. (Gesamtdosis Eisen 2184 mg) eine positive Eisenbilanz und ein vollständiges Ausgleichen der Eisenverluste durch die Blutspende erzielt werden (75). Ähnlich positive Ergebnisse konnten Cable et al. nachweisen. Doch in dieser Studie wurden sogar insgesamt 4500 mg Eisen substituiert (85).

Maghsudlu et al. konnten in ihrer Studie aus dem Jahre 2008 zeigen, dass eine Gesamtdosis von 1050 mg elementaren Eisens eine Konstanthaltung des Ferritinwertes bewirken kann. Ein Abfall des Hb-Wertes konnte durch die Substitution jedoch nicht verhindert werden. Im Vergleich dazu kam es in der Placebogruppe zu einem signifikanten Abfall des Serum-Ferritins. Wie in unserer Studie kam es hier ebenfalls zu einer Verdopplung des Anteils eisendepletierter Frauen in der Kontrollgruppe. In der Verum-Gruppe sank der Anteil jedoch, während er bei uns diskret anstieg (72). Bei Gordeuk et al. (verabreichte Gesamtdosis 1260 mg) konnte ebenfalls nur eine Teilkompensation der Eisenverluste erzielt werden (84). In der Studie von Røsvik et al. ließen sich im Gegensatz zu unseren Resultaten zwischen Verum- und Kontrollgruppe signifikante Unterschiede hinsichtlich aller gemessenen Parameter des Eisenstatus inklusive des Serum-Ferritins ermitteln. Auch hier wurde jedoch eine höhere Gesamtdosis (800 mg Eisen) als in unserer Studie verabreicht, zudem handelte es sich um keine Doppelblind-Studie (89).

In der Studie von Radtke et al., die im Design unserer Studie ähnlich war, konnten ein vollständiges Ausgleichen der Eisenverluste durch die Blutspende und eine positive Eisenbilanz erzielt werden. Hier wurde jedoch im Gegensatz zur vorliegenden Studie über das gesamte Spendeintervall von 12 Wochen Eisen substituiert, was annähernd der dreifachen Gesamtmenge, der in unserer Studie verabreichten Menge entsprach (76).

Im Fazit lässt sich sagen, dass eine höhere Gesamtdosis Eisen zur Substitution notwendig zu sein scheint, um die Eisenverluste der Vollblutspenden vollständig auszugleichen. Für den Einsatz niedriger Tagesdosen von 20 mg Eisen würde dies ein Verlängern des Einnahmeintervalls über 30 Tage hinaus bedeuten.

### 5.3.2 Ergebnisse für männliche Studienteilnehmer

Die Regressionsanalyse für die männlichen Studienteilnehmer ergab wie bei den Frauen, dass die Medikation keinen signifikanten Einfluss auf die Änderung der Ferritin-Konzentration aufwies.

Jedoch sank auch bei den Männern die mittlere Ferritin-Konzentration in der Kontrollgruppe tendenziell stärker ab. Bei der Betrachtung des Anteils vollständig eisendepletierter Spender zeigte sich ein anderes Ergebnis als bei den Frauen. In der Kontrollgruppe kam es hier entsprechend den fallenden mittleren Ferritin-Werten zu einem signifikanten kontinuierlichen Anstieg des Prozentsatzes der Männer mit vollständig entleerten Eisenspeichern. In der Gruppe A blieb er näherungsweise konstant. In der Gruppe B sank er an Termin 3 diskret ab. Die Änderungen in Gruppe B sind nur geringfügig und nicht statistisch signifikant. Sie werden daher nicht in Diskrepanz zu den ebenfalls nur geringfügigen Änderungen der mittleren Ferritin-Konzentrationen dieser Gruppe gesehen. Das kürzere Spendeintervall der Männer von 8 Wochen könnte eine Begründung für den signifikanten Anstieg des Anteils vollständig eisendepletierter Spender in der Kontrollgruppe darstellen.

Zusammengefasst lassen diese Ergebnisse darauf schließen, dass die Gabe von 600 mg Eisen mit und ohne Ascorbinsäure auch bei den Männern einen positiven Einfluss auf den Eisenstatus der männlichen Spender hat, diese Menge aber nicht ausreichen scheint um die Eisenverluste der Vollblutspende bei maximaler Spendefrequenz vollständig auszugleichen.

Lieden et. al kamen 1973 zu einem vergleichbaren Ergebnis. Auch hier wurden 600 mg elementares Eisen in Form von Eisenfumarat an männliche Blutspender verabreicht. Im Resultat zeigte sich bei fünf Spenden pro Jahr ein etwas verbesserter Eisenstatus der Spender im Vergleich zur Gruppe ohne Eisensubstitution. Die substituierte Menge reichte jedoch ebenfalls nicht aus um die Eisenspeicher aufrechtzuerhalten (52).

Eine Untersuchung des Effekts einer intermittierenden Eisensubstitution auf den Eisenhaushalt männlicher Blutspender derselben Arbeitsgruppe führte zu dem Ergebnis, dass eine Substitution von 2000 mg Eisen in den ersten zwei Wochen nach Blutspende ausreichend ist, um den Eisenspeicher konstant zu halten. Allerdings unter der Voraussetzung, dass das Spendeintervall 16 Wochen beträgt (88). Das entspräche dann der fast dreieinhalb-fachen Dosis, der bei uns verabreichten Menge.

Ergebnisse jüngerer Studien wiesen allerdings darauf hin, dass die intermittierende

Gabe von wesentlich geringeren Dosen bereits einen messbaren Einfluss auf die Eisenspeicherreserve von männlichen Blutspendern hat. So zeigten Radtke et al., dass schon 20 mg täglich über acht Wochen verabreicht (entsprechend einer Gesamtdosis von 1200 mg) ausreichten, um den Eisenverlust durch die Blutspende vollständig auszugleichen. Auch hier war allerdings eine leichte Reduktion der mittleren Ferritin-Konzentrationen messbar. Die Zufuhr von 20 mg Eisen war bei den männlichen Probanden (im Gegensatz zu den weiblichen Probanden) nicht ausreichend eine positive Eisenbilanz herzustellen. Eine mögliche Begründung dafür war das kürzere Spendeintervall von 8 Wochen. Analog zu unseren Ergebnissen blieb in dieser Studie der Anteil an eisendepletierten Spendern, die 20 mg Eisen erhielten, praktisch unverändert. Erst die Gabe von 40 mg Eisen täglich (Gesamtdosis 2400 mg) führte bei den Männern zu einem Abfall des Anteils an Spendern mit vollständig entleerten Eisenspeichern und einer Aufrechterhaltung der Eisenspeicher-Reserve (76).

Zusammenfassend lässt sich auch für die männlichen Spender schlussfolgern, dass eine höhere Gesamtdosis Eisen zur Substitution eingesetzt werden muss, um die Eisenverluste der Vollblutspenden vollständig auszugleichen. Für den Einsatz niedriger Tagesdosen von 20 mg Eisen würde auch hier ein Verlängern des Einnahmeintervalls über 30 Tage hinaus notwendig sein.

#### **5.4 Einfluss von Ascorbinsäure, Ferritin-Ausgangskonzentration und Alter der Studienteilnehmer auf die Änderung der Ferritin-Konzentration**

##### Einfluss der Ascorbinsäure

Die resorptionsfördernde Wirkung ausreichender Mengen von Ascorbinsäure bei gleichzeitiger Verabreichung mit Eisensalzen ist schon seit den 1960er Jahren bekannt (4). Untersuchungen zum potentiellen Gesundheitsrisiko (Zelltoxizität) solcher Resorptionsverstärker durch eventuelles Erhöhen des Nicht-Transferrin-gebundenen Eisens (NTBI) ergaben kein erhöhtes Risiko (10). Viele Nahrungsergänzungsmittel und Medikamente, die der Eisensubstitution dienen, enthalten heute daher verschieden hohe Dosen an Vitamin C.

Studien, die sich explizit mit dem Vergleich Eisensubstitution mit und ohne Ascorbinsäure beschäftigen, gibt es bisher kaum.

Das Ergebnis der Regressionsanalyse in unserer Studie zeigte keinen Einfluss der Medikation auf die Änderung der Ferritin-Konzentration. Die zusätzliche Gabe von

Ascorbinsäure erbrachte hier also keinen nachweisbaren Vorteil beim Ausgleich der Eisenverluste durch die Blutspenden.

Eine Studie von Simon et al. aus dem Jahre 1984 untersuchte den Effekt von 39 mg elementarem Eisen täglich über ein Intervall von 8 Wochen. Ein Studienarm erhielt eine Präparation von 39 mg Eisen+ 75 mg Ascorbinsäure im Unterschied zu 39 mg ohne Zusatz von Vitamin C im anderen Studienarm. Beide Substitutionen erwiesen sich als gleich effektiv. Es zeigte sich wie in unserer Studie kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Präparationen hinsichtlich des Einflusses auf das Speichereisen (75).

Das Ergebnis lässt sich allerdings nur bedingt mit unserem vergleichen. Es handelt sich bei Simon et al. insgesamt um eine größere Menge an substituiertem Eisen und weiterhin eine kleinere Menge an zugesetztem Vitamin C.

Möglicherweise könnte bei Substitution einer größeren Eisenmenge ein positiver Effekt der Ascorbinsäure auf die Resorption des Eisens in Form eines messbaren Anstiegs der Ferritinwerte nachzuweisen sein. Dies könnte das Ziel von Folgestudien zu diesem Thema sein.

#### Einfluss der Ferritin-Ausgangskonzentration der Studienteilnehmer(innen)

Die Regressionsanalyse ergab, dass die Ferritin-Ausgangskonzentration einen signifikanten Einfluss auf die Änderung der Ferritin-Konzentration hat. Je höher der Ausgangswert, desto stärker fällt die Konzentration im Verlauf der Studie ab.

Diese Beobachtung wurde schon in früheren Studien beschrieben. So postulierten Røsvik et al., dass Spender mit höheren Ferritin-Werten zuerst die körpereigenen Eisenreserven utilisieren, um den Eisen-Verlust durch die Blutspende auszugleichen und einem Abfall der Hämoglobin-Konzentration entgegen zu wirken (89).

Im Gegensatz dazu verwerfen Spender mit geringeren Eisenreserven durch die gesteigerte Resorptionsrate deutlich größere Mengen des zugeführten Eisens (65-68). Ein weiterer Aspekt könnte hierbei durchaus eine erhöhte Aktivität der Erythropoese bei geringerem Speichereisen spielen wie Borch-Johnsen et al vermuteten (53).

#### Einfluss des Alters der Studienteilnehmer(innen)

Bei den weiblichen Probanden war das Alter ohne Einfluss.

Bei den männlichen Probanden stieg die Ferritin-Konzentration tendenziell bei älteren Spendern stärker an ( $p = 0,068$ ).



Ein schlüssiger Erklärungsansatz für diesen stärkeren Anstieg bei älteren männlichen Spendern ließ sich in unserer Studie nicht ermitteln. Es handelt sich daher hierbei am ehesten um ein zufälliges Ereignis.

Untersuchungen von Garry et al. an älteren Blutspendern zeigten zwar, dass es bei maximaler Spendefrequenz zu einem starken Abfall der Ferritin-Konzentration und einer raschen Erhöhung des Anteils an eisendepletierten Spendern kam, das Vergleichskollektiv waren jedoch keine jüngeren Spender, sondern Nicht-Spender vergleichbaren Alters, so dass die Ergebnisse natürlich keinen Rückschluss auf den Eisenstoffwechsel älterer Blutspender im Vergleich zu jüngeren Spendern zulassen. Es wäre jedoch durchaus denkbar, dass ältere Menschen hochfrequentes Blutspenden weniger tolerieren. Garry et al. empfahlen daher die Spendefrequenz älterer Menschen zu limitieren oder eine ausreichende Eisenprophylaxe durchzuführen (105, 106).

## **5.5 Hämoglobinkonzentration, RBC-He und RET-He im Verlauf der Studie**

### Hämoglobin-Konzentration

Bei den Frauen ließ sich in keiner Gruppe eine signifikante Änderung der Hämoglobin-Konzentration nachweisen. Bei den männlichen Studienteilnehmern kam es jedoch innerhalb der Kontrollgruppe analog des deutlicheren Abfalls der mittleren Ferritinwerte zu einem signifikanten Abfall der mittleren Hämoglobin-Konzentration von initial 9,3 mmol/l auf zuletzt 8,9 mmol/l. Gegenüber steht ein geringfügiger Anstieg der Hämoglobin-Werte in den beiden Verum-Gruppen.

Der Unterschied zu den Frauen ist auch hier am ehesten in Zusammenhang mit dem kürzeren Spendeintervall der Männer zu sehen. Betrachtet man den hohen Anteil eisendepletierter Spender beider Geschlechter im Vergleich zu der relativ geringen Anzahl an Rückstellungen aufgrund zu niedriger Hämoglobinwerte, belegt auch diese Studie, dass ein reduzierter Eisenstatus sich vielfach erst spät in einem Abfall der Hämoglobin-Konzentration widerspiegelt (31, 33, 107). Aufgrund dieser Tatsache und weil eine Routine-Bestimmung der Ferritinwerte in der Blutspende derzeit noch nicht durchgeführt wird, ist eine regelmäßige orale Eisensubstitution für alle Blutspender einer Substitution nur bei Spender-Rückstellungen oder niedrigen Hämoglobin-Werten vorzuziehen.

### RET-He und RBC-He

In zahlreichen Studien erwies sich die Bestimmung der neuen Erythrozyten-Parameter Ret-He oder CHr als effiziente Methode einen Eisenmangelzustand schnell zu identifizieren (89, 97). Die Parameter wurden im Rahmen dieser Untersuchungen meist in Kombination mit dem Anteil hypochromer roter Blutzellen (%Hypo) oder dem löslichen Transferrin-Rezeptor sTfR ermittelt (108-110).

In einer Studie von Radtke et al. zeigte sich in diesem Zusammenhang eine deutliche Überlegenheit des  $\log(\text{TfR}/\text{F})$  gegenüber den erythrozytären Parametern bei der Ermittlung eisendefizienter Zustände. Die Sensitivität von Ferritin lag bei 89 %, die des CHr nur bei 57%.

In der vorliegenden Studie zeigte sich diese Tendenz ebenfalls. 9% der Männer und 18% der Frauen wiesen Ausgangs-Ferritin-Ausgangskonzentrationen  $< 12 \mu\text{g/l}$  auf, was einer vollständigen Eisendepletion entspricht. Gleichzeitig lagen jedoch nur bei 3% der männlichen und 2,4% der weiblichen Teilnehmerinnen die Ausgangs-RET-He Werte unterhalb der unteren Normgrenze von 1738 amol (28pg).

Betrachtet man allerdings die Änderung des RET-He im Studienverlauf, so ließ sich bei den Männern der Kontrollgruppe ein im Vergleich zu beiden Verum-Gruppen signifikanter Abfall der Werte nachweisen. Die beiden Verum-Gruppen unterschieden sich im Vergleich jedoch nicht signifikant. Dies beweist eine weniger effiziente Eisenversorgung der Erythropoese bei Spendern ohne Eisensubstitution in dieser Studie. Ein Vorteil für die zusätzliche Gabe von Ascorbinsäure lässt sich aufgrund der fehlenden signifikanten Unterschiede zwischen Gruppe A und B nicht belegen. Die Tendenz spricht jedoch für ein mögliches Benefit des Vitamin C. Dies zu untersuchen, sollte Ziel von Folgestudien mit höherer Gesamtmenge an verabreichtem Eisen sein. Die Werte für das RBC-He verhielten sich bei den männlichen Probanden analog dem RET-He. Aufgrund der fehlenden Standardisierung des RBC-He sind daraus resultierende Rückschlüsse jedoch kritisch zu bewerten.

Für die weiblichen Probanden zeigte sich ein analoges Resultat für das RBC-He.

Beim RET-He ließen sich die Ergebnisse der männlichen Probanden nicht vollständig wiederfinden. Signifikante Unterschiede zeigten sich hier nur zwischen Gruppe B und der Kontrollgruppe. In der Tendenz ist jedoch die gleiche Schlussfolgerung wie bei den männlichen Probanden zu ziehen.

Zu diesen Ergebnissen passt die tendenzielle Entwicklung der mittleren Ferritinwerte,

jedoch konnte nur für die neuen erythrozytären Parameter ein signifikantes Resultat erzielt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass RET-He zwar eine tendenzielle Aussage über die Versorgung der Erythropoese mit Eisen zulässt, jedoch die Bestimmung des Ferritins zur Beurteilung des Eisenstatus derzeit nicht ersetzen kann.

#### Rückstellungen von der Spende aufgrund zu niedriger Hämoglobin-Konzentrationen

Hinsichtlich der Spender-Rückstellungen aufgrund zu niedriger Hämoglobin-Werte (<7,8 mmol/l für Frauen und < 8,4 mmol/l für Männer) zeigte sich bei den weiblichen Studienteilnehmern ein signifikant erhöhter Anteil von insgesamt 17 Spender-Rückstellungen innerhalb der Kontrollgruppe. Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass die Zufuhr von 600 mg Eisen zwar die Verluste durch die Blutspende nicht ausgleichen kann (s. Kapitel 4.2 Einfluss der Studienmedikation auf die Änderung der Ferritin-Konzentration im Studienverlauf), jedoch bei einzelnen bereits eisendepletierten Frauen ausreichend ist, um einem Abfall der Hämoglobin-Konzentration effizient entgegenzuwirken.

Bei den männlichen Probanden ließ sich dieser Effekt nicht nachweisen. Hier zeigte die Medikation keinen signifikanten Einfluss auf die Rate der Spender-Rückstellungen trotz des signifikanten Absinkens der Hämoglobin-Werte in der Kontrollgruppe. Bei den Männern war der fehlende Einfluss auf die Rückstellrate dennoch zu erwarten, da der Anteil bereits vollständig eisendepletierter Probanden bei der 1. Spende nur halb so groß war wie bei den Frauen. Insgesamt lagen die durchschnittlichen Hämoglobin-Ausgangskonzentrationen der Männer in allen drei Gruppen weiter über der Zulassungsgrenze für die Spende als bei den Frauen.

In der Regressionsanalyse zeigte sich, dass bei beiden Geschlechtern der Abfall der Ferritin-Konzentration signifikant höher war, wenn an Termin 2 eine Spendepause eingelegt werden musste.

Dies betraf 7 Männer und 16 Frauen. Zwölf der Frauen befanden sich in der Kontrollgruppe. Der Anteil an Rückstellungen war in der Kontrollgruppe der Frauen signifikant höher als in den beiden Medikationsgruppen.

Es scheint sich hierbei insgesamt um Spender zu handeln, die einen Spendeabstand von acht bzw. zwölf Wochen nicht tolerieren und mit einem raschen massiven Abfall des Speichereisens sowie der Hämoglobin-Konzentration reagieren. Für solche Spender wäre eine orale Eisensubstitution in ausreichender Menge von besonderem

Nutzen, möchte man die maximale Blutspendefrequenz beibehalten. Die Alternative wäre ein individuelles Verlängern der Spendeabstände für diese Personen.

Diese Spender werden meist erst detektiert, wenn ein zu niedriger Hämoglobinwert gemessen wurde, welcher dann eine temporäre Rückstellung bedingte.

Da jede Rückstellung ein hohes Risiko birgt, den Spender für weitere Spenden zu verlieren (63, 65-67, 111), werden die Vorteile einer prophylaktischen Eisensubstitution hier klar hervorgehoben.

Hier zeigt sich außerdem die große Bedeutung der individuellen Spenderführung durch den Spendearzt. Spender mit wiederholten Rückstellungen aufgrund zu niedriger Hämoglobinwerte müssen den Spendearzt aufmerksam machen. Er muss hier abgesehen von der Konsequenz einer oralen Eisensubstitution auch den Schluss ziehen, dass diese Spender eben nicht bereits nach 8 bzw. 12 Wochen zur nächsten Spende vorstellig werden dürfen. Dies sollte dem Spender im Gespräch vermittelt werden.

Eine routinemäßige Ferritinbestimmung in bestimmten Intervallen bei Spendern mit erhöhter Rückstellrate wäre zur Erleichterung der Spenderführung durchaus zu empfehlen und sicher auch wirtschaftlich zu vertreten.

## **5.6 Auftreten unerwünschter Ereignisse in den drei Medikationsgruppen**

Insgesamt gaben 39% der weiblichen und 29,6 % der männlichen Probanden unerwünschte Begleiterscheinungen an. Gastrointestinale Symptome traten bei 29% der Frauen und 22,9% der Männer auf. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Medikationsgruppen waren jedoch statistisch nicht signifikant. Es erfolgten zwölf Abbrüche aufgrund starker unerwünschter gastrointestinaler Begleiterscheinungen (Diarrhoen, Übelkeit, Magenkrämpfe). Zehn dieser Probanden befanden sich in einer der beiden Verum-Gruppen.

In einer Studie von Gordeuk et al. aus dem Jahre 1987 liegt der Anteil gastrointestinaler Symptome bei Gabe von 1260 mg Eisen als Eisensulfat täglich über eine Woche bei 75 % und somit wesentlich höher als in unserer Studie (71).

Die Rate an gastrointestinalen Nebenwirkungen liegt in der unserer Studie in etwa im Bereich der bei Liguori et al. beobachteten Rate. Jedoch wurde hier eine wesentlich höhere Tagesdosis von 105 mg verabreicht (73).

Dagegen wird bei Maghsudlu et al. (Gesamtdosis 1050 mg Eisen als Eisensulfat) nur eine Rate von 16 % beobachtet (72). Bei Radtke et al. lag sie sogar noch niedriger. Hier gaben bei Verabreichung von 20 mg Eisen pro Tag nur 13 % der Probanden gastrointestinale Nebenwirkungen an. Die Substitution erfolgte wie in unserer Studie ebenfalls mittels Eisen-Gluconat. Auch hier waren die Unterschiede zwischen den drei Gruppen nicht statistisch signifikant (76).

Aufgrund der Studie von Radtke et al. wären für unsere Studie deutlich niedrigere Nebenwirkungsraten zu erwarten gewesen. Beweisend für eine schlechtere Verträglichkeit der Medikation in unserer Studie wäre allerdings ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Kontrollgruppe und den Verum-Gruppen. Dieser ließ sich jedoch nicht ermitteln. Eine mögliche Erklärung für die Diskrepanzen der Raten an gastrointestinalen Begleiterscheinungen in den verschiedenen Studien, könnten unterschiedliche Methodiken zur Erfassung der möglichen Nebenwirkungen sein (anderer Fragebogen, intensivere Befragung).

Von allen angegebenen unerwünschten Begleiterscheinungen entfiel natürlich der größte Anteil auf die gastrointestinalen (64,5% für Männer, 64% für Frauen). Ein nicht unerheblicher Anteil (26,9% bzw. 22%) waren jedoch Angaben wie verstärkter Kopfschmerz, Müdigkeit oder Schwindel. Hierbei könnte es sich um mögliche Symptome eines Eisenmangels ohne Anämie handeln wie vielfach in der Literatur beschrieben (56, 57, 59, 112, 113). Es fehlt hier jedoch der Vergleich zu Nicht-Blutspendern oder zu einer Probandengruppe mit höheren mittleren Ferritin-Werten.

Die Angaben zu dermatologischen Hautveränderungen waren selten und können daher keine statistisch verwertbare Aussage bedingen.

Im Fazit lassen sich viele der mildereren Nebenwirkungen, die keinen Studienabbruch zur Folge hatten, nicht eindeutig auf die Eiseneinnahme zurückführen. Bei einem kleinen Teil der Probanden der Verum-Gruppen (2,5 %) traten jedoch ausgeprägte gastrointestinale Begleiterscheinungen auf, die zu einem Abbruch der Studie führten. Als ursächlich hierfür wird eindeutig die orale Eisensubstitution angesehen.

Insgesamt lässt die hohe Drop-Out-Rate mit fehlender Rückmeldung einer Anzahl an Probanden jedoch nur eine eingeschränkte Aussage bezüglich des Auftretens unerwünschter Ereignisse in dieser Studie zu.

## 5.7 Beurteilung der Compliance

Trotz der Tatsache, dass die Rate an unerwünschten Begleiterscheinungen in dieser Studie im Vergleich recht hoch war, wiesen für beide Einnahmezyklen im Mittel 92,4 % der Frauen und 91,7% der Männer eine „gute“ Compliance auf (siehe Kapitel 4.8 Auftreten unerwünschter Ereignisse in den drei Medikationsgruppen).

3,5 % der Frauen und 4,4% der Männer nahmen trotz entsprechender Aufklärung bereits im ersten Einnahmezyklus mehr als die vorgesehenen 30 Kapseln ein.

Diese Mehreinnahme wäre durch eine getrennte Ausgabe der Kapseln für beide Zyklen zu vermeiden gewesen und stellt somit eine durch die Methodik bedingte Fehlerquelle dar. Der hohe Anteil an Spendern mit guter Compliance ist möglicherweise auf die intermittierende Gabe zurückzuführen.

Die Regressionsanalyse ergab, dass die Compliance keinen Einfluss auf die Änderung der Ferritin-Konzentration hatte. Das bedeutet, dass die Einnahme einer geringeren Eisendosis bei schlechter Compliance keinen stärkeren Abfall der Ferritin-Konzentration zur Folge hatte.

Die einzelnen Randomisierungsgruppen unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich ihrer Compliance.

## 6 Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei maximaler Spendefrequenz eine Substitution mit 600 mg Eisen über ein Intervall von 30 Tagen mit und ohne Ascorbinsäure sowohl bei männlichen als auch weiblichen Blutspenderinnen nicht ausreichend zu sein scheint, um die Verluste durch die Blutspenden vollständig auszugleichen. Tendenziell war allerdings ein positiver Effekt der Eisengabe auf den Eisenspeicher zu beobachten. Kritisch ist jedoch der geringe auswertbare Stichprobenumfang dieser Studie zu betrachten, der durch die erhöhte Rate an Drop-outs entstanden ist.

Insgesamt traten mit einem prozentualen Anteil von durchschnittlich 26% im Vergleich zu früheren Studien zur Eisensubstitution mit so geringen Dosen gehäuft gastrointestinale Beschwerden auf.

Die Häufigkeit des Auftretens von gastrointestinalen Begleitsymptomen unterschied sich zwischen den einzelnen Gruppen statistisch nicht signifikant. Es wird daher keine schlechtere Verträglichkeit der Studienmedikation angenommen. Die Unterschiede werden am ehesten durch eine andere Methodik in der Erfassung der Nebenwirkungen erklärt.

Ein kleiner Anteil von 2,5 % der Probanden der Verum-Gruppen brach die Studie aufgrund starker gastrointestinaler Symptome ab. Diese Abbrüche wegen typischer Begleiterscheinungen werden eindeutig auf die orale Eisensubstitution zurückgeführt.

Ein nicht unerheblicher Anteil der Spender und Spenderinnen von 24% machte Angaben zu Symptomen wie Schwindel, Müdigkeit und Kopfschmerz. Dies könnte ein Hinweis auf das Auftreten einer Begleitsymptomatik bei Eisenmangel sein. Unser Studiendesign lässt allerdings keine statistisch verwertbare Aussage zu. Untersuchungen mit Vergleichskollektiven aus Nicht-Blutspendern könnten Antworten auf diese offene Frage geben und wären sicher von hohem gesundheitspolitischen Interesse.

Ein Benefit durch die zusätzliche Gabe von Vitamin C auf die Ferritin-Konzentration ließ sich nicht belegen. Auch bei der Betrachtung des RET-He im Studienverlauf fehlen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Verum-Gruppen. Die Tendenz spricht hier jedoch für einen möglichen Vorteil der zusätzlichen Gabe von Ascorbinsäure.

Folgestudien mit höherer Gesamtdosis an verabreichtem Eisen könnten hier Aufschluss geben.

Eine Beurteilung des Nutzens der neuen erythrozytären Parameter zum Detektieren eines Eisenmangelzustandes war in dieser Studie nur eingeschränkt möglich. Auffallend ist auch die Diskrepanz zwischen dem vergleichsweise hohen Anteil an eisendepletierten Spendern und dem geringen Anteil an Spendern mit RET-He Werten unterhalb der Norm. Es ließ sich zwar eine effektivere Versorgung der Erythropoese mit Eisen in den beiden Verum-Gruppen anhand des RET-He ableiten, jedoch fehlte die Korrelation zu den Ferritinwerten. Um den Eisenstatus eines Spenders vollständig zu beurteilen, kann derzeit nicht auf eine Bestimmung des Ferritins zu Gunsten des RET-He verzichtet werden.

Abschließend kann man sagen, dass nicht zuletzt der hohe Prozentsatz an eisendepletierten Spendern in dieser Studie nur ein weiterer Beleg dafür ist, dass ein einheitliches Schema zur Eisensubstitution für alle Blutspender dringend notwendig ist, möchte man auch in Zukunft die Versorgung der Bevölkerung mit Blut und Blutprodukten sichern.

Es ist jedoch weitere Forschung nötig, um die geeignete Dosis und das ideale Intervall für eine solche standardisierte Substitution festlegen zu können.



## Literaturverzeichnis

1. Scholz R. Medizinische Biochemie - Ein Lernbuch in Einzeldarstellungen. Kapitel 5/6: Häm und Hämoglobin, Eisen und Eisenstoffwechsel: Zuckschwerdt Verlag; 2003.
2. Ganz T. Heparin and iron regulation, 10 years later. *Blood*. 2011;117(17):4425-33.
3. Jin F, Frohman C, Thannhauser TW, et al. Effects of ascorbic acid, phytic acid and tannic acid on iron bioavailability from reconstituted ferritin measured by an in vitro digestion–Caco-2 cell model. *British Journal of Nutrition*. 2009;101:972–81.
4. Brise H, Hallberg L. Effect Of Ascorbic Acid On Iron Absorption. *Acta Medica Scandinavica*. 1962;171(S376):51-8.
5. Cook JD, Watson SS, Simpson KM, et al. The effect of high ascorbic acid supplementation on body iron stores. *Blood*. 1984;64:721-6.
6. Hunt JR, Mullen LM, Lykken GI, et al. Ascorbic acid: effect on ongoing iron absorption and status in iron-depleted young women. *Am J Clin Nutr*. 1990;51:649-55.
7. Kim EY, Ham SK, Bradke D, et al. Ascorbic acid offsets the inhibitory effect of bioactive dietary polyphenolic compounds on transepithelial iron transport in Caco-2 intestinal cells. *J Nutr*. 2011 May;141(5):828-34.
8. Haro-Vicente JF, Perez-Conesa D, Rincon F, et al. Does ascorbic acid supplementation affect iron bioavailability in rats fed micronized dispersible ferric pyrophosphate fortified fruit juice? *Eur J Nutr*. 2008 Dec;47(8):470-8.
9. Fidler MC, Davidsson L, Zeder C, et al. Iron absorption from ferrous fumarate in adult women is influenced by ascorbic acid but not by Na<sub>2</sub>EDTA. *British Journal of Nutrition*. 2003;90:1081–5.
10. Troesch B, Egli I, Zeder C, et al. Fortification Iron as Ferrous Sulfate Plus Ascorbic Acid Is More Rapidly Absorbed Than as Sodium Iron EDTA but Neither Increases Serum Nontransferrin-Bound Iron in Women. *The Journal of Nutrition*. 2011;141:822–7.
11. Conrad ME, Umbreit JN. Iron Absorption and Transport—An Update. *American Journal of Hematology*. 2000;64:287–98.
12. Donovan A. The Ins and Outs of Iron Homeostasis. *Physiology*. 2006;21(2):115-23.
13. Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood*. 2008;112(2):219-30.

14. Andrews NC. A genetic view of iron homeostasis. *Semin Hematol.* 2002 Oct;39(4):227-34.
15. Thomas L. Kapitel 7.1 Eisenstoffwechsel und Störungen. In: Thomas L. Labor und Diagnose. 7. Aufl. Frankfurt/Main, Deutschland: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 2008 :379-397.
16. Schuff-Werner P. Kapitel 9 "Eisenstoffwechsel". In: Kiefel V. Transfusionsmedizin und Immunhämatologie. 4. Aufl. : Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010.
17. Park CH. Heparin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver. *Journal of Biological Chemistry.* 2000;276(11):7806-10.
18. Ganz T. Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood.* 2003;102(3):783-8.
19. Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Heparin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*290:199-203.
20. Ferrucci L, Semba RD, Guralnik JM, et al. Proinflammatory state, heparin, and anemia in older persons. *Blood.* 2010;115:3810-6.
21. Nicolas G. The gene encoding the iron regulatory peptide heparin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *Journal of Clinical Investigation.* 2002;110(7):1037-44.
22. Nicolas G. Heparin, a candidate modifier of the hemochromatosis phenotype in mice. *Blood.* 2004;103(7):2841-3.
23. Zhang DL, Senecal T, Ghosh MC, et al. Heparin regulates ferroportin expression and intracellular iron homeostasis of erythroblasts. *Blood.* 2011;118(10):2868-77.
24. Cavill I. Assessment of Iron Status-an Historical Perspective. *Sysmex Journal International.* 2009;19(1).
25. Galesloot TE, Vermeulen SH, Geurts-Moespot AJ, et al. Serum heparin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood.* 2011;117(25):e218-e25.
26. Ganz T, Olbina G, Girelli D, et al. Immunoassay for human serum heparin. *Blood.* 2008;112(10):4292-97.
27. Pasricha S-R, McQuilten ZK, Keller AJ, et al. Hemoglobin and iron indices in nonanemic premenopausal blood donors predict future deferral from whole blood donation. *Transfusion.* 2011;51:2709-13.
28. De Benoist B, McLean E, Egli I, et al., editors. Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005. WHO Global Database on Anaemia Geneva, World Health Organization, 2008
29. Stoltzfus RJ. Defining Iron-Deficiency Anemia in Public Health Terms: A Time for Reflection. *J Nutr.* 2001;131:565–7.

30. Milmann N, Sondberg DM. Iron stores in male blood donors evaluated by serum ferritin. *Transfusion*. 1984;24:464-8.
31. Milman N, Kirchhoff M. The influence of blood donation on iron stores assessed by serum ferritin and hemoglobin in a population survey of 1359 Danish women. *Ann Hematol*. 1991;63:27-32.
32. Jeremiah ZA, Koate BB. Anaemia, iron deficiency and iron deficiency anaemia among blood donors in Port Harcourt, Nigeria. *Blood Transfus*. 2010;8:113-7.
33. Jaime JC, Cazarezm R, Mares A, et al. Iron stores in remunerated blood donors as evaluated by plasma ferritin levels. *Transfusion*. 1988;28:62-5.
34. Finch CA, Cook JD, Labbe RF, et al. Effect of blood donation on iron stores as evaluated by serum ferritin. *Blood*. 1977;50:441-7.
35. Cançado RD, Chiattonne CS, Alonso FF, et al. Iron deficiency in blood donors. *Sao Paulo Med J/Rev Paul Med*. 2001;119(4):132-4.
36. Alvarez-Ossorio L, Kirchner H, Klüter H, et al. Low ferritin levels indicate the need for iron supplementation: strategy to minimize iron-depletion in regular blood donors. *Transfusion Medicine*. 2000;10:107-12.
37. Looker AC, Dallman PR, Carroll MD, et al. Prevalence of iron deficiency in the United States. *JAMA*. 1997 Mar 26;277(12):973-6.
38. European Comitee on Blood Transfusion (EDQM). The Collection Testing and Use of Blood and Blood Components in Europe. Report 2008.
39. Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen (Anzahl und je 100.000 Einwohner) Stand Jahr 2009 (Primärquellen: Bericht zur Meldung nach § 21 Transfusionsgesetz, Paul-Ehrlich-Institut; Fortschreibung des Bevölkerungsstandes, Statistisches Bundesamt) .In [www.gbe-bund.de](http://www.gbe-bund.de). Abrufdatum: 16.03.2012.
40. Seifried E, Klueter H, Weidmann C, et al. How much blood is needed? *Vox Sanguinis*. 2011;100(1):10-21.
41. Greinacher A, Fendrich K, Brzenska R, et al. Implications of demographics on future blood supply: a population-based cross-sectional study. *Transfusion*. 2011;51(4):702-9.
42. McClelland D, Pirie E, Franklin I, et al. *Manual of Optimal Blood Use: Scottish National Blood Transfusion Service*; 2010.
43. Skikne B, Lynch S, Borek D, et al. Iron and blood donation. *Clin Haematol*. 1984 Feb;13(1):271-87.
44. Cable RG, Glynn SA, Kiss JE, et al. Iron deficiency in blood donors: analysis of enrollment data from the REDS-II Donor Iron Status Evaluation (RISE) study. *Transfusion*. 2011;51(3):511-22.

45. Israeli E, Merkel D, Constantini N, et al. Iron deficiency and the role of nutrition among female military recruits. *Med Sci Sports Exerc.* 2008 Nov;40(11 Suppl):685-90.
46. Heinrich HC, Oppitz K-H, Busch H. Eisenmangel und Eisenprophylaxe bei Blutspendern. *Klin Wschr.* 1973;51:101-7.
47. Saleh MA. The effect of repeated blood donations on the iron status of male Saudi blood donors. *Blood Transfus.* 2011;9:167-71.
48. Mahida VI, Bhatti A, Gupte SC. Iron status of regular voluntary blood donors. *Asian J Transf Sci.* 2000;2(1).
49. Höglund S, Reizenstein P. Studies in Iron Absorption V. Effect of Gastrointestinal Factors on Iron Absorption. *Blood.* 1969;34:496-504.
50. Höglund S. Studies in Iron Absorption VI. Transitory Effect of Oral Administration of Iron on Iron Absorption. *Blood.* 1969;34:505-10.
51. Mackintosh W, Jacobs P. Response in Serum Ferritin and Haemoglobin to Iron Therapy in Blood Donors. *American Journal of Hematology.* 1988;27:17-9.
52. Lieden G. Iron State in Regular Blood Donors. *Scand J Haemat.* 1973;11:342-9.
53. Borch-Johnsen B, Halvorsen R, Stenberg V, et al. The effect of daily low-dose iron supplements in female blood donors with depleted iron stores: comparison with female non-donors. *Scand J Clin Lab Invest* 1993; 53:789-91.
54. Mozaheb Z, Khayami M, Sayadpoor D. Iron Balance in Regular Blood Donors. *Transfusion Medicine and Hemotherapy.* 2011;38(3):190–4.
55. Beutler E, Larsh SE, Gurney CW. Iron therapy in chronically fatigued, nonanemic women: a double-blind study. *Ann Intern Med.* 1960 Feb;52:378-94.
56. Dellavalle DM, Haas JD. Impact of iron depletion without anemia on performance in trained endurance athletes at the beginning of a training season: a study of female collegiate rowers in central NY state. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2011 Oct 4.
57. Bruner AB, Joffe A, Duggan AK, et al. Randomised study of cognitive effects of iron supplementation in non-anaemic iron-deficient adolescent girls. *The Lancet.* 1996;348(9033):992-6.
58. Murray-Kolb LE, Beard JL. Iron treatment normalizes cognitive functioning in young women. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:778-87.
59. Murray-Kolb LE. Iron Status and Neuropsychological Consequences in Women of Reproductive Age: What Do We Know and Where Are We Headed? *Journal of Nutrition.* 2011;141(4):747S-55S.

60. Silber MH, MBCHB, Jarrett W, et al. Multiple Blood Donations Associated With Iron Deficiency in Patients With Restless Legs Syndrom. *Mayo Clin Proc.* 2003;78:52-4.
61. Birgegård G, Schneider K, Ulfberg J. High incidence of iron depletion and restless leg syndrome (RLS) in regular blood donors: intravenous iron sucrose substitution more effective than oral iron. *Vox Sanguinis.* 2010;99(4):354-61.
62. Custer B, Johnson ES, Sullivan SD, et al. Quantifying losses to the donated blood supply due to donor deferral and miscollection. *Transfusion.* 2004;44:1417-26.
63. Custer B, Schlumpf KS, Wright D, et al. Donor return after temporary deferral. *Transfusion.* 2011;51(6):1188-96.
64. Røsvik AS, Hervig T, Wentzel-Larsen T, et al. Iron status in Norwegian blood donors: comparison of iron status in new blood donors registered in 1993-1997 and in 2005-2006. *Vox Sanguinis.* 2009;96(1):49-55.
65. Piliavin JA. Temporary deferral and donor return. *Transfusion.* 1987;27:199-200.
66. Gorlin J. Blood donor deferrals: biting the hand that feeds us! *Transfusion.* 2008;48:2484-6.
67. Hillgrove T, Moore V, Doherty K, et al. The impact of temporary deferral due to low hemoglobin: future return, time to return, and frequency of subsequent donation. *Transfusion.* 2011;51(3):539-47.
68. Schumann K. Safety aspects of iron in food. *Ann Nutr Metab.* 2001;45(3):91-101.
69. Bianco C, Brittenham G, Gilcher RO, et al. Maintaining iron balance in women blood donors of childbearing age: summary of a workshop. *Transfusion.* 2002;42:798-805.
70. Devasthali SD, Gordeuk VR, Brittenham GM, et al. Bioavailability of carbonyl iron: a randomized, double-blind study. *Eur J Haematol.* 1991 May;46(5):272-8.
71. Gordeuk V, Brittenham G, Hughes M, et al. Carbonyl iron for short-term supplementation in female blood donors. *Transfusion.* 1987;27:80-5.
72. Maghsudlu M, Nasizadeh S, Toogeh GR, et al. Short-term ferrous sulfate supplementation in female blood donors. *Transfusion.* 2008;48(6):1192-7.
73. Liguori L. Iron protein succinylate in the treatment of iron deficiency: controlled, double-blind, multicenter clinical trial on over 1,000 patients. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 1993 Mar;31(3):103-23.
74. Gordeuk V, Brittenham G, Bravo J, et al. Prevention of iron deficiency with carbonyl iron in female blood donors. *Transfusion.* 1990;30:239-45.
75. Simon TL, Hunt WC, Garry PJ. Iron supplementation for menstruating female blood donors. *Transfusion.* 1984 Nov-Dec;24(6):469-72.

76. Radtke H, Tegtmeier J, Röcker L, et al. Daily doses of 20 mg of elemental iron compensate for iron loss in regular blood donors: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Transfusion*. 2004;44:1427-32.
77. Schumann K, Ettl T, Szegner B, et al. On risks and benefits of iron supplementation recommendations for iron intake revisited. *J Trace Elem Med Biol*. 2007;21(3):147-68.
78. David G. Meyers KCJ, and Jay E. Menitove. A historical cohort study of the effect of lowering body iron through blood donation on incident cardiac events. *Transfusion*. 2002;42:1135-9.
79. Zacharski LR, Shamayeva G, Chow BK. Effect of controlled reduction of body iron stores on clinical outcomes in peripheral arterial disease. *American Heart Journal*. 2011;162(5):949-57.e1.
80. Bucher U, Finch CA. Which Measures Should Be Taken in order to Prevent Iron Deficiency in Blood Donors? *Vox Sang*. 1972;23:238-48.
81. Simon TL. Iron, iron everywhere but not enough to donate. *Transfusion*. 2002;42:664-5.
82. Scholl T, Hediger M, Fischer R, et al. Anemia vs iron deficiency: increased risk of preterm delivery in a prospective study. *Am J Clin Nutr*. 1992;5:985-8.
83. Newman B. Iron depletion by whole-blood donation harms menstruating females: The current whole-blood-collection paradigm needs to be changed. *Transfusion*. 2006;46(10):1667-81.
84. Gordeuk V, Brittenham G, Hughes M, et al. Carbonyl iron for short-term supplementation in female blood donors *Transfusion*. 1987;27(1):80-5.
85. Cable RG, Morse E, J . Keltonic, et al. Iron supplementation in female blood donors deferred by copper sulfate screening. *Transfusion*. 1988;28:422-6.
86. Pittori C, Buser A, Gasser UE, et al. A pilot Iron Substitution Programme in female blood donors with iron deficiency without anaemia. *Vox Sanguinis*. 2011;100(3):303-11.
87. Lieden G, Höglund S, Ehn L. Iron Supplement To Blood Donors II. Effect of Continuous Iron Supply. *Acta med scand*. 1975;197:37-41.
88. Lieden G. Iron Supplement To Blood Donors I. Trials with Intermittent Iron Supply. *Acta med scand*. 1975;197:31-6.
89. Røsvik AS, Hervig T, Wentzel-Larsen T, et al. Effect of iron supplementation on iron status during the first week after blood donation. *Vox Sanguinis*. 2009:1423-0410.
90. Maghsudlu M, Nasizadeh S, Toogeh GR, et al. Short-term ferrous sulfate supplementation in female blood donors. *Transfusion*. 2008;48:1192-7.

91. Collis CS, Yang M, Diplock AT, et al. Effects of Co-Supplementation of Iron with Ascorbic Acid on Antioxidant-Pro-Oxidant Balance in the Guinea Pig. *Free Radic Res.* 1997;27:113-21.
92. Lipschitz DA, Bothwell TH, Seftel HC, et al. The Role of Ascorbic Acid in the Metabolism of Storage Iron. *British Journal of Haematology.* 1971;20:155.
93. Hunt JR, S. K. Gallagher, Johnson LK. Effect of ascorbic acid on apparent iron absorption by women with low iron stores. *Am J Clin Nutr.* 1994;59:1381-1385.
94. Atanassova BD, Tzatchev KN. Ascorbic acid--important for iron metabolism. *Folia Med (Plovdiv).* 2008 Oct-Dec;50(4):11-6.
95. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). Zweite Richtlinienanpassung 2010: Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz.
96. Zwölfte Verordnung zur Änderung der Diätverordnung vom 31. März 2003, Bundesgesetzblatt Jahrgang 2003 Teil I Nr. 13, ausgegeben zu Bonn am 08. April 2003.
97. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clinical and Laboratory Haematology.* 2006;28(5):303-8.
98. Buttarello M, Temporin V, Ceravolo R, et al. The New Reticulocyte Parameter (RET-Y) of the Sysmex XE 2100: Its Use in the Diagnosis and Monitoring of Posttreatment Sideropenic Anemia. *Am J Clin Pathol.* 2004;121:489-95.
99. Sysmex Deutschland GmbH. Der Retikulozyt und seine Bedeutung. *Sysmex Xtra.1*(2007).
100. Radtke H, MD, Tegtmeier J, Röcker L, MD, et al. Letters To The Editor:Compensating for iron loss in regular blood donors using ferrous gluconate and ascorbic acid. *Transfusion.* 2005;45:1236-7.
101. Birgegård G, Högman C, Killander A, et al. Serum Ferritin Levels in Male Blood Donors. *Vox Sang.* 1978;34:65-70.
102. Brittenham GM, MD. Iron deficiency in whole blood donors. *Transfusion.* 2011;51:459.
103. Farrugia A. Iron and blood donation- an under-recognised safety issue. *Dev Biol (Basel).* 2007;127:137-46.
104. Schoorl M, Schoorl M, Nubé MJ, et al. Erythropoiesis Activity, Iron Availability and Reticulocyte Hemoglobinization during Treatment with Hemodialysis and in Subjects with Uremia. *Clin Lab Haem.* 2006;52:621-9.
105. Garry PJ, Vanderjagts DJ, Wayne J, et al. A prospective study of blood donations in healthy elderly persons. *Transfusion.* 1991;31:686-92.

106. Garry PJ, Koehler KM, Simon TL. Iron stores and iron absorption: effects of repeated blood donations. *Am J Clin Nutr.* 1995;62:611-20.
107. Kotisaari S, Romppanen J, Ulla Ågren, et al. Reticulocyte indices rapidly reflect an increase in iron availability for erythropoiesis. *Haematologica/Journal of hematology* 2003; 88(12):1422-3.
108. Thomas L, Franck S, Messinger M, et al. Reticulocyte hemoglobin measurement--comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(11):1193-202.
109. Wish JB. Assessing Iron Status: Beyond Serum Ferritin and Transferrin Saturation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 2006;1(Supplement 1):S4-S8.
110. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Erythrocyte and Reticulocyte Indices on the LH 750 as Potential Markers of Functional Iron Deficiency. *Hindawi Publishing Corporation Anemia.* 2010.
111. Mast AE, Schlumpf KS, Wright DJ, et al. Demographic correlates of low hemoglobin deferral among prospective whole blood donors. *Transfusion.* 2010;50(8):1794-802.
112. Shah A. Iron Deficiency Anemia-Part-1. *Indian Journal of Medical Sciences.* 2004;58:79-81
113. Pittori C, Buser A, Gasser UE, et al. A pilot Iron Substitution Programme in female blood donors with iron deficiency without anaemia. *Vox Sanguinis* 2011;100:303–11.



## **Anlagenverzeichnis**

<b>Anlage 1:</b> Probandeninformation .....	87
<b>Anlage 2:</b> Probanden-Einwilligungserklärung .....	92
<b>Anlage 3:</b> Ethik-Votum, Antragsnr. EA 1/100/09 .....	94
<b>Anlage 4:</b> Studenttagebuch.....	95
<b>Anlage 5:</b> Fragebogen zur Erfassung unerwünschter Ereignisse .....	99

## Anlagen

### Anlage 1: Probandeninformation

#### PROBANDENINFORMATION

Probandennummer: \_\_\_\_\_

Proband: \_\_\_\_\_  
Name Vorname

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_  
Tag Monat Jahr

#### Die Studie

„Einfluss einer intermittierenden Substitution von 20 mg Eisen täglich als Eisen-(II)-Gluconat über 30 Tage mit oder ohne Kombination mit Ascorbinsäure auf das Speichereisen bei männlichen und weiblichen Blutspendern bei maximaler Blutspendefrequenz: Eine randomisierte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie“

wird nach den Prinzipien des Weltärztebundes, niedergelegt in der Deklaration von Helsinki/ Hongkong in Übereinstimmung mit der ärztlichen Berufsordnung und der GCP-Richtlinien, sowie nach Beratung durch die Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin durchgeführt.

## 1. Einleitung

Die o.g. Studie wird von der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Transfusionsmedizin in Zusammenarbeit mit dem Haema Blutspendezentrum Berlin-Marzahn durchgeführt. Studienleiter und –initiator ist Prof. Dr. Dr. H. Kiesewetter, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Transfusionsmedizin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Tel. 030/450525122. Die zuständige Studienärztin vor Ort ist Frau N. Kelle, Haema AG, Haema Blutspendezentrum Berlin-Marzahn, Havemannstr. 12 b, 12689 Berlin, Tel. 030/936410. Die Studienpräparate werden von der PHYT-IMMUN GmbH, Michelinstr. 10, 66424 Homburg zur Verfügung gestellt.

## 2. Zweck der Studie

Ziel der Studie ist der Nachweis, dass bei einer Spendehäufigkeit von vier (Frauen) bzw. sechs (Männer) Vollblutspenden pro Jahr die Eisenspeicher nicht entleert werden, wenn über einen Zeitraum von einem Monat nach der Spende zusätzlich Eisen in Form von Kapseln zugeführt wird.

Nach zufälliger Zuordnung, die auch der Spendearzt nicht kennt, erhalten die Studienteilnehmer entweder reine Eisen-Kapseln oder Eisen-Kapseln in Kombination mit Vitaminen oder nur Milchzucker-Kapseln ohne Eisen über jeweils 30 Tage nach der Spende. Das Speichereisen wird indirekt durch eine Laboruntersuchung aus dem Blut gemessen. Daneben werden die Verträglichkeit des Präparates und das Blutbild erfaßt.

## 3. Studienablauf

Die Probanden werden zu Beginn über die geplante Studie und über mögliche Nebenwirkungen aufgeklärt und geben ihre schriftliche Einverständnis zur Durchführung der Untersuchung ab. Alle Probanden erhalten eine Kopie ihrer Einverständniserklärung.

366 männliche und 255 weibliche Blutspender spenden im Abstand von zwei Monaten (Männer) bzw. drei Monaten (Frauen) insgesamt dreimal Vollblut. Die Probanden bekommen getrennt nach Geschlecht eine fortlaufende Identifikationsnummer (M1 ... M366, W1 ... W85). Nach der ersten und zweiten Spende erhalten die Probanden das Studienpräparat, das zu der jeweiligen Probandennummer gehört. Vor jeder der drei Spenden wird eine Probe von 10 ml zur Bestimmung der Laborwerte entnommen. Vor der zweiten und dritten Spende müssen die Probanden einen Fragebogen zu möglichen Nebenwirkungen und zur Regelmäßigkeit der Einnahme des Studienpräparates beantworten. Sollte bei der Vorstellung zur zweiten oder dritten Spende aufgrund einer zu niedrigen Konzentration des roten Blutfarbstoffes (Hämoglobin) keine Spendetauglichkeit vorliegen, wird an diesem Termin keine Blutspende durchgeführt. Die Untersuchung ist für männliche Spende nach vier Monaten, für weibliche Spender nach sechs Monaten beendet.

#### 4. Studienpräparate

Bei den Studienpräparaten handelt es sich nicht um Arzneimittel, sondern um ein Nahrungsergänzungsmittel. Die Studienpräparate haben folgende Zusammensetzung:

Studienpräparat 1:

Eisen-(II)-Gluconat 160 mg (= 20 mg Fe<sup>2+</sup>)

Studienpräparat 2:

Eisen-(II)-Gluconat 160 mg (= 20 mg Fe<sup>2+</sup>)

Pyridoxalphosphat 10 mg

Cyanocobalamin 10 µg

Ascorbinsäure 400 mg

Folsäure 600 µg

Biotin 75 µg

Studienpräparat 3:

Milchzucker

## 5. Art der Anwendung und mögliche Nebenwirkungen

Die Probanden nehmen täglich eine Kapseln unzerkaut mit reichlich Wasser ein. Die Einnahme sollte mit zeitlichem Abstand zu den Mahlzeiten erfolgen (beispielsweise 1/2 bis 1 Stunde vor oder ca. 3 Stunden nach einer Mahlzeit), da die Aufnahme in den Körper durch andere Nahrungsbestandteile verringert werden kann. Während der Studie dürfen keine Tetracycline (Antibiotika), Antacida (Magensäurebinder), Cholestyramin (Fettsenker) oder andere Eisen-Präparate eingenommen werden.

Die möglichen Nebenwirkungen von eisenhaltigen Präparaten sind dosisabhängig und sehr unterschiedlich: Insbesondere Nebenwirkungen am Magen-Darm-Trakt in Form von Sodbrennen, abdominellen Schmerzen, Verstopfung und Durchfällen stehen im Vordergrund. Es kann es zu einer Dunkelfärbung des Stuhles kommen, der keine versteckte Magen-Darm-Blutung zugrundeliegt. Die Häufigkeit von milden Nebenwirkungen lag in der Vorgängerstudie bei 11 bis 13% und unterschied sich nicht signifikant zwischen den Probanden, die das eisenhaltige Verum oder das eisenfrei Placebo eingenommen hatten.

## 6. Untersuchungsmethoden

Während dieser Studie werden aus dem Probenbeutel zu Beginn der Spende zusätzlich zu den bei jeder Blutspende notwendigen Blutproben eine Probe von 10 ml zur Bestimmung des Speichereisens und zur Analyse des Blutbildes entnommen. Nur wenn bei der zweiten oder dritten Spende keine Spendetauglichkeit vorliegen sollte (z.B. wegen einer zu niedrigen Konzentration des roten Blutfarbstoffes), erfolgt eine zusätzliche Venenpunktion zur Entnahme der Blutproben.

## 7. Verhaltensregeln

Bezüglich der Ernährung bestehen für die Dauer der Untersuchung folgende Einschränkungen:

- Alkoholkonsum über 30 g/d (entsprechend ca. 1/4 l Wein oder Sekt bzw. 3/4 l Bier) ist nicht gestattet.
- Das Gewicht sollte für die Dauer der Studie konstant gehalten werden.
- Nicht erlaubte Medikamente (siehe 4.) dürfen während der Studie nicht eingenommen werden.

## 8. Versicherungsschutz

Die Studienteilnehmer werden gegen Schäden aus der Anwendung des Studienpräparates bei der Funk Hospital Versicherungsmakler GmbH, Postfach 311760, 20306 Hamburg versichert.

## 9. Freiwilligkeit der Teilnahme

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig und kann jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne irgendwelche Nachteile beendet werden.

## 10. Datenschutz

Durch Ihre Unterschrift auf der Einwilligungserklärung erklären Sie sich damit einverstanden, dass der Studienarzt und seine Mitarbeiter Ihre personenbezogenen Daten zum Zweck der o.g. Studie erheben und verarbeiten dürfen. Personenbezogene Daten sind z.B. Ihr Name, Geburtsdatum, Ihre Adresse und Daten zu Ihrer Gesundheit oder andere persönliche Daten, die während Ihrer Teilnahme an der Studie oder bei einer der Folgeuntersuchungen zweckgebunden erhoben wurden. Der Studienarzt wird Ihre personenbezogenen Daten für Zwecke der Verwaltung und Durchführung der Studie benutzen und diese, einem Pseudonym zugeordnet, für Zwecke der Forschung und statistischen Auswertung verwenden.

Die Daten, die im Rahmen der Studie erhoben werden (einschließlich Angaben zu Geschlecht, Alter, Gewicht und Körpergröße) werden der Herstellerfirma des Studienpräparates (PHYT-IMMUN GmbH) zur Auswertung zur Verfügung gestellt. Diese weitergegebenen studienbezogenen Daten enthalten nicht Ihren Namen oder Ihre Adresse. Stattdessen versieht der Studienarzt die Studiendaten mit einer Codenummer (Pseudonymisierung der Daten). Auf den Codeschlüssel, der es erlaubt, die studienbezogenen Daten mit Ihnen in Verbindung zu bringen, haben nur der Studienarzt und seine Mitarbeiter Zugriff.

Sie haben das Recht auf Auskunft über alle beim Studienarzt oder dem Auftraggeber der Studie vorhandenen personenbezogenen Daten über Sie. Sie haben auch das Recht auf Berichtigung unrichtiger personenbezogener Daten. In diesen Fällen wenden Sie sich bitte an den Studienarzt.

Bitte beachten Sie, dass die Ergebnisse der Studie in der medizinischen Fachliteratur veröffentlicht werden können, wobei Ihre Identität jedoch anonym bleibt.

Die Ihnen im Rahmen der o.g. Studie entnommenen Blutproben werden ebenfalls pseudonymisiert an das infektionsserologische Labor der Charite – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Transfusionsmedizin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin zur dortigen Untersuchung zum Zweck der o.g. Studie übermittelt.

Sie können jederzeit der Weiterverarbeitung Ihrer im Rahmen der o.g. Studie erhobenen Daten und/oder weiteren Untersuchung der Ihnen entnommenen Proben widersprechen und ihre Löschung bzw. Vernichtung verlangen.

## 11. Fragen

Das Aufklärungsblatt wurde erstellt, um Sie über die Zielsetzung und die Bedingungen der Studie zu informieren. Sie können nun alle von Ihnen gewünschte Fragen äußern:

Notizen zu den Fragen und Antworten:

**Anlage 2: Probanden-Einwilligungserklärung****EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG**

Probandennummer: \_\_\_\_\_

Proband: \_\_\_\_\_  
Name VornameGeburtsdatum: \_\_\_\_\_  
Tag Monat Jahr

**Titel der Studie: „Einfluss einer intermittierenden Substitution von 20 mg Eisen täglich als Eisen-(II)-Gluconat über 30 Tage mit oder ohne Kombination mit Ascorbinsäure auf das Speichereisen bei männlichen und weiblichen Blutspendern bei maximaler Blutspendefrequenz: Eine randomisierte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie“**

Ich bin am \_\_\_\_\_ durch den Studienarzt \_\_\_\_\_ mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie informiert worden und hatte ausreichend Gelegenheit, meine Fragen hierzu in einem Gespräch mit dem Studienarzt zu klären.

Ich habe insbesondere die mir vorgelegte Probandeninformation in der Version vom 14.07.2009 verstanden und eine Ausfertigung derselben und dieser Einwilligungserklärung erhalten.

Mir ist bekannt, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich zurückziehen und einer Weiterverarbeitung meiner Daten und Proben jederzeit widersprechen und ihre Löschung bzw. Vernichtung verlangen kann.

Ich versichere, daß ich in den letzten 30 Tagen an keiner Studie oder klinischen Prüfung teilgenommen habe. Ich erkläre mich dazu bereit, die mir von dem Studienarzt gegebenen Instruktionen während und nach der Studie genau zu befolgen, so dass die Studie korrekt durchgeführt und meine eigene Sicherheit nicht gefährdet wird. Mir ist bekannt, daß eine Abweichung von den Bedingungen der Studie oder eine Verschleierung der Wahrheit meine Gesundheit gefährden kann.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie mich betreffende personenbezogene Daten/Angaben durch den Studienarzt erhoben, pseudonymisiert auf elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und verarbeitet werden dürfen. Ich bin auch damit einverstanden, dass die Studienergebnisse in anonymer Form, die keinen Rückschluss auf meine Person zulassen, veröffentlicht werden.

Ich bin bereit, an der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie teilzunehmen.

\_\_\_\_\_, den \_\_\_\_\_  
Ort Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Probanden

Hiermit erkläre ich, den o.g. Teilnehmer über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken der o.g. Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Ausfertigung der Information sowie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

\_\_\_\_\_, den \_\_\_\_\_  
Ort Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Studienarztes



**Anlage\_3: Ethik-Votum, Antragsnr. EA 1/100/09**

Clerik | 10117 Berlin

Herrn Professor  
Dr. Dr. H. Kiesewetter  
Institut für Transfusionsmedizin

CCM

Ethikkommission  
Ethikausschuss 1 am Campus Charité - Mitte

Vorsitzender: Prof. Dr. B. Diehlhack

Geschäftsleitung: Dr. med. Katja Duschlewski  
ethikkommission@charite.de

Konferenzadresse: Charité-Aud 1, 10117 Berlin  
Tele: 030-450-217222  
Fax: 030450-3-7032

[www.charite.de/ethikkommission](http://www.charite.de/ethikkommission)

Datum: 04.08.09

Einfluss einer intermittierenden Substitution von 20 mg elementarem Eisen täglich über 30 Tage mit oder ohne Kombination mit Ascorbinsäure auf das Speichereisen bei männlichen und weiblichen Blutspendern bei maximaler Blutspendefrequenz: Eine randomisierte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie

**Antragsnummer: EA1/100/09**

Sehr geehrter Herr Professor Kiesewetter,

die von Ihnen eingereichte o.g. Studie wurde durch den Ethikausschuss 1 der Ethikkommission auf der Sitzung am 30.07.09 beraten.

Die Ethikkommission stimmt dem o.g. Vorhaben unter Erteilung nachfolgender Aufgaben zu:

- Antragstext, Punkt 7: "Haemo Plus Vitalkapseln ohne Vitamine" gibt es nicht; das Präparat von Verum 1 ist zu nennen

Nach diesseitiger Bestätigung der Erfüllung vorstehender Aufgaben wird das abschließende Votum erteilt werden. Bitte reichen Sie hierzu 1 Exemplar der geänderten Unterlagen bei der Geschäftsstelle ein.

Folgende Unterlagen wurden zur Begutachtung eingereicht:

- Antragstext vom 16.07.09
- Studienprotokoll vom 16.07.09
- Probandeninformation Version vom 14.07.09
- Einwilligungserklärung, nicht datiert
- Versicherungsbestätigung

## Anlage 4: Studientagebuch

### Studientagebuch 1

Identnr.:

**Wenn eine Einnahme der Studienmedikation erfolgt ist, bitte jeweils pro Tag 1 Kästchen für die Tageszeit und ein 2. für die Einnahme in Bezug auf die Nahrungsaufnahme ankreuzen. Sollte die Einnahme vergessen werden, bleiben die Kästchen für diesen Tag frei.**

## Studientagebuch 2

Identnr.:

**Wenn eine Einnahme der Studienmedikation erfolgt ist, bitte jeweils pro Tag 1 Kästchen für die Tageszeit und ein 2. für die Einnahme in Bezug auf die Nahrungsaufnahme ankreuzen. Sollte die Einnahme vergessen werden, bleiben die Kästchen für diesen Tag frei.**



Notizen zu aufgetretenen Beschwerden			
Tag		Tag	
1		16	
2		17	
3		18	
4		19	
5		20	
6		21	
7		22	
8		23	
9		24	
10		25	
11		26	
12		27	
13		28	
14		29	
15		30	
<p>Hier bitte die am jeweiligen Tag der Einnahme aufgetretenen körperlichen und sonstigen Beschwerden notieren. Dies erleichtert das Ausfüllen des Ihnen beim nächsten Termin diesbezüglich ausgehändigten Fragebogens.</p>			

## Anlage 5: Fragebogen zur Erfassung unerwünschter Ereignisse

*Fragebogen zur Erfassung von Nebenwirkungen und unerwünschten Ereignissen*

*im Rahmen der klinischen Studie:*

„Einfluss einer intermittierenden Substitution von 20 mg elementarem Eisen täglich über 30 Tage mit oder ohne Kombination mit Ascorbinsäure auf das Speichereisen bei männlichen und weiblichen Blutspendern bei maximaler Blutspendefrequenz: Eine randomisierte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie“

Probandennummer \_\_\_\_\_

Anzahl im Rahmen der Studie bisher erfolgter Spenden: \_\_\_\_\_

**Bitte füllen Sie folgende Tabelle sorgfältig aus**, indem Sie die Zahlen entsprechend Häufigkeit und Schweregrad der **während der gesamten bisherigen Studienzeit** aufgetretenen Nebenwirkungen in die entsprechenden Felder eintragen!

Beachten Sie, dass mit „ **Sonstige**“ gekennzeichnete Felder eines von Ihnen zu ergänzenden Eintrags bedürfen. Hiermit sind nicht gesondert aufgeführte aufgetretene Nebenwirkungen gemeint.

<b>ART DES UNERWÜNSCHTEN EREIGNISSES / DER NEBENWIRKUNG</b>	<i>Häufigkeit</i>  1 = TÄGLICH  2 = MEHR ALS /GLEICH 2-3 MAL PRO WOCHE  3 = 1 MAL PRO WOCHE UND SELTENER  4 = NIE	<i>Schweregrad</i>  1 = SEHR STARK  2 = STARK  3 = MITTELGRADIG  4 = SCHWACH
<b>GASTROINTESTINALE BESCHWERDEN</b>		
Übelkeit		
Erbrechen		
Dunkelfärbung des Stuhlgangs		
Verstopfung		
Durchfälle		
Oberbauchbeschwerden / Koliken		
Sonstige:		
<b>ZENTRALNERVÖSE BESCHWERDEN</b>		
Kopfschmerzen		

Müdigkeit		
Kreislaufprobleme		
Schwindel		
Leistungsschwäche		
Schlafstörungen		
Depressive Verstimmungen		
Sehstörungen		
Sonstige:		
<b>VERÄNDERUNGEN DES HAUTBILDES/ALLERGISCHE REAKTIONEN/ PULMONALE BESCHWERDEN</b>		
Ekzem( Hautausschlag) An welcher Stelle des Körpers?		
Atembeschwerden:		
<b>ÖDEME( SCHWELLUNGEN)</b>		
An welcher Stelle des Körpers?		
Sonstige:		



<b><i>BEMERKUNGEN :</i></b> <b>(Proband)</b>	<b>Bemerkungen:</b> <b>(Prüfarzt)</b>
---	--

Datum:

Ort:

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Nancy Kelle, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

„Der Einfluss einer intermittierenden Eisensubstitution auf den Eisenhaushalt von Blutspendern bei maximaler Spendefrequenz“

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum:

Unterschrift:

## Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

.

.

.



## Publikationen

1. "Attenuation of the low hemoglobin level caused donor deferral rate in plasmapheresis donors", 41. Jahreskongress der DGTI, 2008, Posterbeitrag
2. "Donor return rate after unexpected events during blood and plasma donations", 21<sup>st</sup> Regional Congress of the ISBT, 2011, Posterbeitrag

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die durch ihre Unterstützung dazu beigetragen haben, dass ich diese Promotion zu einem guten Abschluss bringen konnte. Insbesondere danke ich Herrn PD Dr. Radtke für die jahrelange sehr gute Betreuung.

Meinem Arbeitgeber, der Haema AG, danke ich dafür, dass mir die Möglichkeit zur Erstellung dieser Arbeit gegeben wurde.

Meinen besonderen Dank möchte ich an die Mitarbeiter des Haema-Blutspendezentrums Berlin-Hellersdorf richten und hier zuerst an Frau Cathrin Platta, die mich stetig unterstützt hat.

Ein besonderes Dankeschön geht an meine Familie sowie meine Freundin Anke, die immer für mich da waren, wenn es wieder einmal besonders schwierig wurde.

Von ganzem Herzen gilt hier mein größter Dank meinem Freund Herrn Dr. med. Krause, der mich über all die Jahre hinweg beständig motivierte, so dass ich die vorliegende Promotionsarbeit nun letztendlich fertigstellen konnte.