

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I

der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl

**Erythropoietin und Inflammation bei diabetischer Nephropathie**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Katharina Rauh

aus Poxdorf

Würzburg, Mai 2011

Referent: Prof. Dr. L. Schramm

Koreferent: Prof. Dr. C. Wanner

Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 22.11.2011

Die Promovendin ist Ärztin.

## **MEINEN ELTERN**

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Epidemiologie	1
1.2 Anämie und Diabetes	1
1.2.1 Prävalenz	1
1.2.2 Folgen der Anämie bei Diabetes	2
1.3 Erythropoietin	3
1.3.1 Physiologie	3
1.3.2 Erythropoietin-Mangel – renale Anämie	4
1.4 Anämie chronischer Krankheiten	5
1.4.1 Dysregulation der Eisenhomöostase	5
1.4.2 Eingeschränkte Proliferation erythroider Progenitorzellen	7
1.4.3 Abgestumpfte Erythropoietin-Antwort	7
1.4.4 Laborchemische Kennzeichen der Anämie chronischer Krankheiten	8
1.5 Beeinflussung der Inflammation und Anämie durch Medikamente	9
1.5.1 Statine	9
1.5.2 ACE-Inhibitoren und Angiotensin-II-Rezeptorblocker	10
1.6 Zielsetzung	10
<b>2. Methoden</b>	<b>12</b>
2.1 Studienpopulation	12
2.2 Studienbesuch	13
2.3 Datenerhebung	13
2.4 Laborparameter	14
2.5 Definitionen	14
2.6 Eisenmangel	15
2.7 Statistische Auswertung	15
2.8 Rolle des Sponsors	17

<b>3. Ergebnisse</b>	<b>18</b>
3.1 Studienpopulation	18
3.2 Erythropoietinspiegel der Studienteilnehmer	19
3.3 Prädiktoren der Erythropoietinspiegel	21
3.3.1 Univariate Analyse	21
3.3.2 Multivariate Analyse	21
3.4 Interaktionsterme	24
3.4.1 Zusammenhang zwischen Erythropoietin und Hämoglobin bei chronischer Niereninsuffizienz	24
3.4.2 Zusammenhang zwischen Erythropoietin und C-reaktivem Protein bei chronischer Niereninsuffizienz	24
3.4.3 Zusammenhang zwischen Erythropoietin und Hämoglobin bei Statinbehandlung	25
3.4.4 Zusammenhang zwischen Erythropoietin und glomerulärer Filtrationsrate bei Statinbehandlung	26
<b>4. Diskussion</b>	<b>28</b>
4.1 Anämie und Nierenfunktion	28
4.2 Erythropoietin und Nierenfunktion	28
4.3 Erythropoietin, Eisenstatus und Inflammation	30
4.4 Erythropoietin und Hämatopoese	31
4.5 Erythropoietin-Mangel und Erythropoietin-Resistenz bei Anämie chronischer Krankheiten	31
4.6 Die Rolle der Statin- und ACE-Inhibitor-/Angiotensin-II-Rezeptorblocker-Behandlung	34
4.7 Stärken und Einschränkungen	35
4.8 Schlussfolgerung	35
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>37</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>38</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ACD	Anemia of chronic disease (Anämie chronischer Krankheiten)
ACE-I	Angiotensin-Conversions-Enzym-Inhibitoren
Ac-SDKP	N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-prolin
ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalyse)
ARB	Angiotensin-II-Rezeptorblocker
BMI	Body mass index
CNI	Chronische Niereninsuffizienz
CRP	C-reaktives Protein
DM	Diabetes mellitus
DMT 1	Divalent metal transporter 1
EPO	Erythropoietin
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
Hb	Hämoglobin
HIF	Hypoxie-induzierter Faktor
IFN $\gamma$	Interferon $\gamma$
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
LPS	Lipopolysaccharid
PRIND	Prolongiertes reversibles ischämisch-neurologisches Defizit
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
rHuEPO	Rekombinantes humanes Erythropoietin
sTFR	Soluble transferrinreceptor (löslicher Transferrinrezeptor)
TIA	Transitorisch ischämische Attacke
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$

## **1. Einleitung**

### **1.1 Epidemiologie**

Laut einer kürzlich von der Weltgesundheitsorganisation WHO veröffentlichten Statistik sind derzeit mehr als 180 Millionen Menschen weltweit an Diabetes erkrankt. Die Organisation geht davon aus, dass sich diese Zahl bis zum Jahr 2030 verdoppeln wird. In hoch entwickelten Ländern ist die Mehrzahl der Diabetiker älter als 65 Jahre, in weniger entwickelten Ländern werden zum Großteil die produktiven Bevölkerungsschichten zwischen 34 und 65 Jahren betroffen sein. Dort werden die Diabeteserkrankung und ihre Komplikationen deshalb neben der Beeinträchtigung der Gesundheit des Einzelnen auch zu enormen sozioökonomischen Problemen führen.[1]

Gleichzeitig steigt in den westlichen Ländern durch verbesserte Behandlungsmöglichkeiten die Überlebenszeit der Diabetiker [2], was zur Folge hat, dass immer mehr Patienten die Spätkomplikationen ihrer Erkrankung erleben. Nach 20 Jahren entwickeln ungefähr 20 Prozent aller Diabetiker (Typ I und II) eine diabetische Nephropathie, die zur dialysepflichtigen terminalen Niereninsuffizienz fortschreiten kann. In den letzten zehn Jahren hat sich so in den westlichen Ländern die Zahl der dialysepflichtigen Patienten mit Diabetes als Grunderkrankung mehr als verdreifacht [3]. Damit ist Diabetes, insbesondere Diabetes Typ 2, mit Abstand die häufigste Ursache der terminalen Niereninsuffizienz [4]. Auch wenn der dramatische Anstieg der Häufigkeit der Niereninsuffizienz bei Typ 2-Diabetikern [5] paradoxerweise indirekt das Ergebnis medizinischen Fortschritts ist, wird er als "medizinische Katastrophe weltweiten Ausmaßes"[6] bezeichnet, insbesondere im Hinblick auf die enorme gesundheitspolitische Bedeutung aufgrund der beträchtlichen Behandlungskosten [2, 7].

### **1.2 Anämie und Diabetes**

#### **1.2.1 Prävalenz**

Ein Problem dieses wachsenden Kollektivs von Diabetikern und insbesondere Diabetikern mit manifester Nierenerkrankung ist oftmals die Anämie. Anämie kommt bei Typ 2-Diabetikern häufig vor (ca. 20%). [8, 9]

In diesem Kontext konnte kürzlich das Auftreten einer normochromen, normozytären Anämie noch vor dem Nachweis einer Einschränkung der Nierenfunktion belegt werden [10].

Verglichen mit Patienten, die eine chronische Nierenerkrankung anderer Genese haben, ist bei Diabetikern mit chronischer Niereninsuffizienz (CNI) die Anämie bereits in früheren Stadien feststellbar und dann meist schwerer ausgeprägt [9, 11, 12].

Da die Nierenfunktion oftmals bei Beginn der Anämie erst geringgradig eingeschränkt ist, werden viele der Patienten von den betreuenden Ärzten nur unzureichend auf eine Anämie kontrolliert. Auch für die Patienten selbst stellt die Anämie eine weitgehend unbekannt Komplikation ihrer Erkrankung dar [13]. Aufgrund dieser Tatsachen bleibt die Anämie bei Diabetes daher weiterhin oft unerkannt und unbehandelt [4].

### **1.2.2 Folgen der Anämie bei Diabetes**

Auch wenn sich die Prognose von Diabetikern mit Niereninsuffizienz inzwischen verbessert hat [14, 15], besteht für diese Gruppe weiterhin eine 70-100 mal höhere Morbidität und Mortalität in Bezug auf die Allgemeinbevölkerung [3], die vor allem in einer exzessiv erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität begründet ist [16]. In den letzten Jahren erforschte man die Rolle der Anämie im Zusammenhang mit kardiovaskulären Komplikationen genauer [17] und identifizierte die Anämie als unabhängigen Risikofaktor für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse und Tod [18-21]. Somit beeinträchtigt Anämie bei Diabetes also nicht nur die körperliche Leistungsfähigkeit und Lebensqualität der Patienten, sondern stellt auch einen entscheidenden prognostischen Faktor dar.

Zu einer Schädigung des Herz-Kreislauf-Systems durch Anämie [22, 23] kommt es durch folgende Anpassungsmechanismen: Kurzfristig wird die Sauerstoffausschöpfung des Blutes und vor allem das Herzminutenvolumen gesteigert, um eine adäquate Sauerstoffversorgung der Gewebe zu gewährleisten. Langfristig kommt es zur linksventrikulären Hypertrophie, also einer strukturellen Veränderung des Herzmuskels, die nachweislich das Risiko für ischämische Ereignisse, Herzinsuffizienz oder Tod erhöht [17, 24]. Daneben prädisponiert Anämie durch zusätzliche Reduktion der Koronarreserve zu Ischämien und Arrhythmien [17, 25].

Auch andere typische Komplikationen des Diabetes werden durch Anämie in ihrer Progression beeinflusst, wie z.B. die diabetische Mikroangiopathie. So wurde ein erhöhtes Risiko für eine diabetische Retinopathie beobachtet, deren Schweregrad direkt mit dem Grad der Anämie korrelierte [26, 27]. Außerdem wiesen anämische Diabetiker eine raschere Nephropathieprogression als Patienten ohne Anämie auf [28, 29]. Darüber hinaus kann Anämie laborchemisch zu einer fälschlichen Erniedrigung der HbA1c-Werte führen. Eine daraus resultierende unzureichende Behandlung der Hyperglykämie begünstigt zusätzlich das Fortschreiten diabetischer Komplikationen [30].

Das Vorliegen einer Anämie identifiziert also Diabetiker mit einem erhöhten Risiko, die besonderer ärztlicher Fürsorge bedürfen. Im Folgenden werden verschiedene Aspekte, die eine Rolle für die Entstehung der Anämie spielen könnten, kurz dargestellt.

### **1.3 Erythropoietin**

#### **1.3.1 Physiologie**

Erythropoietin (EPO), ein Glykoprotein, ist das Schlüsselhormon der Hämatopoese. Während es in der Fetalzeit vor allem in der Leber synthetisiert wird [31], übernehmen diese Funktion im Erwachsenenalter peritubuläre interstitielle Zellen der Niere (90 %). Nur ein kleiner Teil (10 %) wird auch im Erwachsenenalter weiterhin in der Leber gebildet. Eine Speicherung von EPO ist nicht vorgesehen, so dass die Produktion ausschließlich bei Bedarf erfolgt [32].

EPO ist der essentielle Wachstums- und Überlebensfaktor für die späten erythroiden Vorläuferzellen "burst-forming unit erythroid" (BFU-E) und "colony-forming unit erythroid" (CFU-E) im Knochenmark. Die Neubildungsrate roter Blutzellen wird somit normalerweise durch die EPO-Konzentration im Serum bestimmt. Die Plasmakonzentration Gesunder liegt circa zwischen 8 und 18 mU/ml und kann, ausgelöst durch Hypoxämie, exponentiell auf das Tausendfache ansteigen [33].

Die Bindung von EPO an spezifische Oberflächenrezeptoren der erythroiden Progenitorzellen bewirkt über Signalkaskaden die Verhinderung der Apoptose, des vorprogrammierten Zelltods, und ermöglicht dadurch eine Ausdifferenzierung zu Retikulozyten und schließlich zu reifen Erythrozyten [34]. Synergistisch agieren dabei

verschiedene Wachstumsfaktoren wie z.B. der Insulin-like growth factor (IGF-1) und diverse Interleukine (IL-3, IL-4, IL-9), die vor allem zur weiteren Reifung und Differenzierung der Entwicklungsstufen beitragen [35].

Die EPO-Synthese wird auf Ebene der Gentranskription reguliert. Gewebshypoxie als Hauptstimulus reguliert die Menge und Aktivität des Hypoxie-induzierten Faktors (HIF), des wichtigsten Enhancers der EPO-Gen-Transkription [36]. HIF besteht aus einer konstitutiven  $\beta$ -Untereinheit und einer der zwei alternativen sauerstoffabhängigen  $\alpha$ -Untereinheiten (HIF-1 $\alpha$  , HIF-2 $\alpha$ ) [37]. Bei Normoxie befindet sich die  $\alpha$ -Untereinheit in einem hydroxylierten Zustand, der HIF dem proteasomalen Abbau zuführt. Bei Hypoxie kann durch Mangel an molekularem Sauerstoff die  $\alpha$ -Untereinheit nicht hydroxyliert werden und bleibt stabil, so dass HIF seine Wirkung als Transkriptionsfaktor entfaltet [38]. Kürzlich erschienenen Studien zufolge ist vermutlich HIF-2 $\alpha$  entscheidend für die Regulation der Erythropoese [39]. In geringerem Maß kann die EPO-Produktion wohl auch durch Vasokonstriktion angeregt werden [35, 38, 40].

Die so induzierte Erythropoietinproduktion führt zu einer vermehrten Bildung von Erythrozyten und folglich zu einer erhöhten Sauerstoffbindungskapazität des Blutes. So wird die Hypoxie als ursächlicher Stimulus der Erythropoietinproduktion reduziert, wodurch sich der Kreis im Sinne eines negativen Feedback-Mechanismus schließt [41].

### **1.3.2 Erythropoietin-Mangel – renale Anämie**

Nachdem 1836 durch Bright [42] erstmals der Zusammenhang zwischen Nierenerkrankungen und Anämie beschrieben wurde, gilt die Anämie heute als typische Begleiterscheinung der chronischen Niereninsuffizienz. Dabei bedingt EPO-Mangel einen Abfall des Hämoglobins im Sinne einer normochromen, normozytären Anämie [43].

Bei fortgeschrittener Nierenerkrankung kann die Fähigkeit zur EPO-Produktion durch renale interstitielle Fibrose eingeschränkt sein [44]. Zwei große Studien zeigten, dass das Anämierisiko signifikant anstieg, wenn die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) eine Schwelle von 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> unterschritt [11, 45]. Als entscheidender pathogenetischer Faktor für die Entstehung der renalen Anämie wird die, bezogen auf den Grad der Anämie, inadäquate EPO-Produktion der Niere angesehen [46].

Dennoch gibt es auch Studien, die im Vergleich zur Normalbevölkerung fünffach erhöhte EPO-Spiegel bei Patienten mit CNI belegen [47]. Die Anämie könnte in diesem Patientenkollektiv auch durch eine Hemmung der Erythropoese durch urämische Toxine mitverursacht sein [48].

Das typische Muster der renalen Anämie (normochrom, normozytär) lässt sich allerdings manchmal auch schon in frühen Stadien der CNI nachweisen. Zu einem solchen Zeitpunkt ist es jedoch unwahrscheinlich, dass die mild bis mäßig eingeschränkte Nierenfunktion und die damit verbundene inadäquate EPO-Produktion den einzigen Grund für den Abfall des Hämoglobins (Hb) darstellt.[12, 49, 50]

#### **1.4 Anämie chronischer Krankheiten**

Anämie tritt auch häufig im Rahmen verschiedener chronischer Krankheiten auf. Beispiele sind chronisch virale oder bakterielle Infektionen, Krebs, Autoimmunkrankheiten (chronisch entzündliche Darmerkrankungen, rheumatoide Arthritis, Vaskulitiden usw.), aber auch chronische Herzinsuffizienz [51, 52] und Diabetes [20]. Man spricht von der "anemia of chronic disease" (ACD), die nach der Eisenmangelanämie die zweithäufigste Anämieform weltweit darstellt [53]. Aufgrund der dabei entscheidenden Rolle proinflammatorischer Zytokine wird diese Form der Anämie auch "anemia of inflammation" genannt [40, 52, 54].

Sowohl Diabetes als auch die CNI [55] gelten als Krankheiten mit erhöhter Aktivität des Immunsystems. Interessanterweise sind auch Übergewicht, Insulinresistenz und mangelnde Blutzuckerkontrolle, also typische Komponenten des Typ 2-Diabetes, mit erhöhter Inflammation verbunden [56, 57].

Verschiedene Teilaspekte tragen zur Entwicklung der ACD bei und werden in den folgenden Abschnitten genauer erläutert.

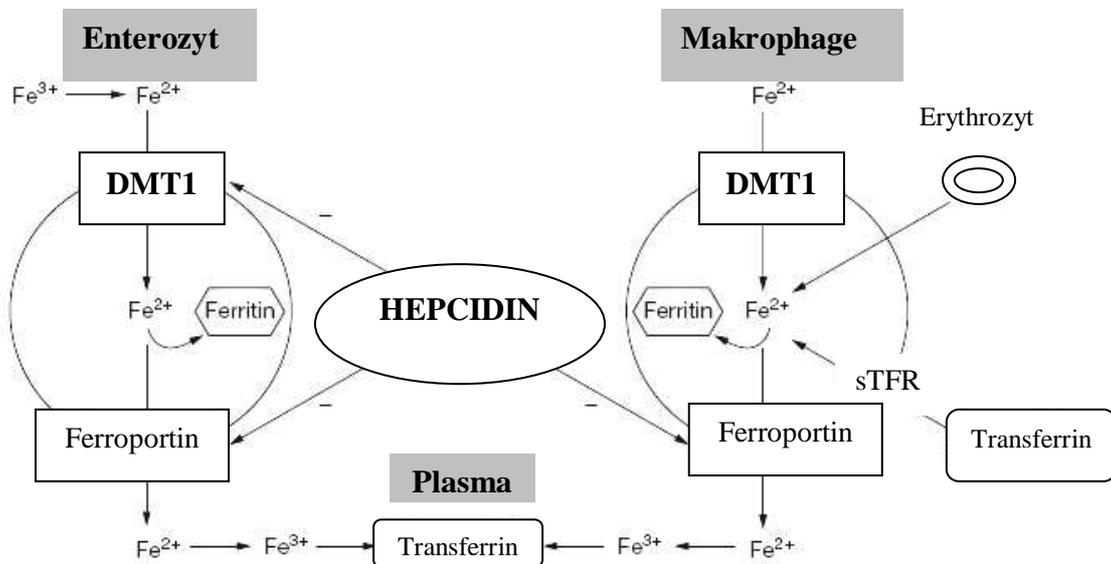
##### **1.4.1 Dysregulation der Eisenhomöostase**

Pathophysiologischer Schlüsselmechanismus der ACD ist vermutlich eine Dysregulation der Eisenhomöostase. Dabei kommt es zur erhöhten Eisenaufnahme und nachfolgend einer Eisenretention in Zellen des retikuloendothelialen Systems, woraus sich eine Ver-

schiebung des Eisens von der Zirkulation in die intrazellulären Eisenspeicher ergibt. Hypoferrämie und damit ein funktioneller Eisenmangel entstehen. Die Erythropoese ist in diesem Fall eisenlimitiert, da für die Hämoglobinsynthese nicht genügend Eisen mobilisiert werden kann. [40]

Auf molekularer Ebene führt Zytokin-induzierte Veränderung der Expression verschiedener Eisentransporter zur Hypoferrämie. Die proinflammatorischen Zytokine Interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), Lipopolysaccharid (LPS) und Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) bewirken eine transkriptionelle Hochregulation des Importers "divalent metal transporter 1" (DMT1) und damit eine gesteigerte Eisenaufnahme in aktivierte Makrophagen. Durch eine gleichzeitig verminderte Expression von Ferroportin, einem transmembranösen Exporter, sorgen die oben genannten Zytokine für eine vermehrte Eisenretention. [58]

Eine zentrale Rolle im Eisenhaushalt nimmt das Akute-Phase-Protein Hepcidin, das vornehmlich in Hepatozyten produziert wird, ein [59]. Seine Expression wird stimuliert durch LPS und Interleukin-6 und gehemmt durch TNF $\alpha$ . Hepcidin führt zu verminderter Eisenresorption aus dem Dünndarm und zu einer verringerten Eisenfreisetzung aus retikuloendothelialen Zellen durch Internalisation und Degradation des oben beschriebenen Exporters Ferroportin (vgl. Abbildung 1)[60-62].



**Abbildung 1:**

*Eisenhaushalt und die Rolle von Hepcidin, modifiziert nach van der Putten K, 2008[63]  
Abkürzungen: DMT1: divalent metal transporter 1, sTFR: löslicher Transferrinrezeptor*

Ebenfalls Zytokin-vermittelt wird vermehrt Ferritin, das Speicherprotein für Eisen, produziert [64].

#### **1.4.2 Eingeschränkte Proliferation erythroider Progenitorzellen**

Zur ACD trägt neben der Dysregulation der Eisenhomöostase auch eine eingeschränkte Proliferation der erythroiden Progenitorzellen bei [65]. Zytokin-induzierte Apoptose der Vorstufen, verminderte Expression von EPO-Rezeptoren auf der Oberfläche erythroider Progenitorzellen sowie eingeschränkte biologische Aktivität von EPO werden in diesem Zusammenhang vermutet [65-67]. Außerdem können die Zytokine durch die Bildung freier Radikale direkt toxisch auf die erythroiden Progenitorzellen wirken [68].

#### **1.4.3 Abgestumpfte Erythropoietin-Antwort**

Wie bereits erwähnt, reguliert Erythropoietin entscheidend die Proliferation erythroider Progenitorzellen. Dabei ist die Expression von EPO invers mit der Sauerstoffsättigung des Gewebes korreliert. Normalerweise besteht zwischen der EPO-Antwort (log) und dem Grad der Anämie (linear) eine semilogarithmische Beziehung. In den meisten Fällen von ACD fällt die EPO-Antwort jedoch in Bezug auf den Grad der Anämie unangemessen niedrig aus [69, 70]. In der englischen Literatur spricht man von einer "blunted EPO-response" [40].

Außerdem scheint die Ansprechbarkeit erythroider Progenitorzellen auf EPO umso geringer zu sein, je schwerwiegender die chronische Grunderkrankung ist und je höher die Menge zirkulierender Zytokine ist [71]. Damit übereinstimmende Ergebnisse brachten Untersuchungen bei Patienten mit renaler Anämie in fortgeschrittenen Stadien der Niereninsuffizienz und unter Dialyse. Um dieselben Hämoglobinzielwerte zu erreichen, wurden bei Patienten mit erhöhter Entzündungsaktivität höhere Dosen rekombinanten Erythropoietins (rHuEPO) benötigt, als bei Patienten ohne derartige Entzündungsaktivität. Dieses Phänomen wird derzeit auch als EPO-Resistenz aufgrund von Entzündung diskutiert.[43, 72]

Die Antwort auf EPO wird bei der ACD letztendlich auch durch eine verringerte Lebensdauer der Erythrozyten abgeschwächt. Gründe sind die vermehrte Phagozytose durch Makrophagen und direkte Schädigung der Erythrozyten durch freie Radikale und Zytokine [73, 74].

#### 1.4.4 Laborchemische Kennzeichen der Anämie chronischer Krankheiten

Laborchemisch findet sich bei der ACD charakteristischer Weise eine normochrome, normozytäre Anämie, die meist nur mild (Hb 9,5 mg/dl) bis mäßig (Hb 8 mg/dl) ausgeprägt ist. Um eine Eisenmangel-Anämie, im Sinne eines absoluten Eisenmangels auszuschließen, sollte stets ein Gesamtkörper-Eisenstatus erhoben werden. Bei beiden Anämieformen sind im Serum Eisen und Transferrinsättigung erniedrigt.[65, 75, 76]

Variable	Indikator	ACD	Eisenmangel-anämie	ACD +Eisenmangelanämie
<i>Eisen i.S.</i>		↓	↓	↓
<i>Transferrin</i>	Transporteisen	↓ bzw. ↔	↑	↓
<i>Transferrin-sättigung</i>	Eisenumsatz	↓	↓	↓
<i>Ferritin</i>	Speichereisen	↔ bzw. ↑	↓	↓ bzw. ↔
<i>sTFR</i>	Eisenversorgung Erythropoese	↔	↑	↔ bzw. ↑
<i>sTFR/logFerritin</i>	Eisenversorgung Erythropoese	<1	>2	>2
<i>Zytokinspiegel</i>	Entzündung	↑	↔	↑

#### Abbildung 2:

*Serumspiegel, die eine Unterscheidung zwischen ACD und Eisenmangelanämie ermöglichen, modifiziert nach Weiss G 2005 [40]*

Im Gegensatz zur klassischen Eisenmangelanämie ist Ferritin, das Speicherprotein, bei der ACD jedoch normal bis erhöht [64].

Eine weitere Unterscheidungsmöglichkeit bietet sich durch Messung des löslichen Transferrinrezeptors (sTFR), der bei Eisenmangelanämie erhöht ist.

## **1.5 Beeinflussung der Inflammation und Anämie durch Medikamente**

### **1.5.1 Statine**

Diabetes mellitus (DM) und CNI gelten als Erkrankungen mit chronischer Inflammation und repräsentieren so eine Hochrisikogruppe für kardiovaskuläre Ereignisse [77-79]. Statine finden deshalb oft Anwendung bei Patienten mit DM und CNI. Statine haben vielfältige Effekte, so können sie neben der Lipidsenkung sich auch positiv auf inflammatorische Prozesse auswirken. In einer Reihe verschiedener Patientenpopulationen führten Statine beispielsweise zu einer Senkung des C-reaktiven Proteins (CRP) [80, 81].

Da bekannt ist, dass erhöhtes CRP ein unabhängiger Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse ist [79], wurde in der 4D Studie (Die Deutsche Diabetes Dialyse Studie: Atorvastatin in patients with type 2 diabetes on hemodialysis) der Effekt einer Atorvastatin-Behandlung bei dialysepflichtigen Typ 2-Diabetikern auf die Inflammation und das Outcome untersucht. Das Ergebnis zeigte CRP als klar prädiktiv für das Outcome. Überraschenderweise reduzierte die Behandlung mit Atorvastatin jedoch nicht das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse und beeinflusste auch nicht die Überlebenszeit. Die Autoren vermuteten, dass in dieser speziellen Population mit langer Diabeteslaufzeit und CNI die Inflammation bereits einen "point of no return" erreicht oder überschritten hatte, so dass der protektive Effekt der Statine aufgehoben sein könnte.[78]

Dagegen konnte in der JUPITER-Studie (Justification for the Use of Statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin) für, bis auf erhöhte CRP-Spiegel, offenbar gesunde Patienten ein entscheidender Benefit durch eine Behandlung mit Rosuvastatin bezüglich des ersten Auftretens eines kardiovaskulären Ereignisses nachgewiesen werden.[82]

Zum klinischen Benefit der Statine tragen also womöglich sowohl die Senkung der LDL-Spiegel als auch die Senkung der CRP-Spiegel bei [83-85].

### **1.5.2 ACE-Inhibitoren und Angiotensin-II-Rezeptorblocker**

Angiotensin II, das Schlüsselpeptid des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), ist zusammen mit entzündlichen Vorgängen maßgeblich an der Entstehung und der Aufrechterhaltung kardiovaskulärer Krankheiten beteiligt [86]. Da Diabetes nachweislich eine Erhöhung der Entzündungsaktivität, des oxidativen Stresses und eine gesteigerte Sympathikusaktivität hervorrufen kann, ist dieses Kollektiv im Hinblick auf kardiovaskuläre Ereignisse besonders gefährdet. Angiotensin-Conversions-Enzym-Inhibitoren (ACE-I) und Angiotensin-II-Rezeptorblocker (ARB), Inhibitoren des RAAS und weitverbreitete Medikamente in dieser Patientengruppe, konnten in Studien signifikant Inflammation und Peroxide senken und gleichzeitig die Arteriosklerose günstig beeinflussen.[87]

Ein seit langem bekannter, allerdings unerwünschter Effekt der Inhibition des RAAS mittels ACE-I besteht in der Beeinträchtigung der Hämatopoese [88, 89]. Es wurde nachgewiesen, dass N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-prolin (Ac-SDKP), ein starker Inhibitor hämatopoetischer Stammzellen, nahezu ausschließlich durch ACE abgebaut wird. In der Tat belegten einige Studien, dass ACE-I zu einem deutlichen Anstieg der Ac-SDKP-Konzentration führten und gleichzeitig die hämatopoetische Aktivität reduzierten.[90, 91]

### **1.6 Zielsetzung**

Da die Rolle endogenen Erythropoietins in der Pathophysiologie der ACD, insbesondere im Rahmen von Diabetes und CNI, noch ungenügend verstanden ist, ist es Ziel der vorliegenden Studie, die EPO-Spiegel bei Diabetikern mit chronischer Niereninsuffizienz genauer zu charakterisieren. Von der Analyse ausgenommen wurden Patienten mit schwerem Eisenmangel (Ferritin < 30 µg/ml) und Patienten, deren Anämie behandelt wurde.

In Rahmen dieser Aufgabenstellung galt es herauszufinden, welche Faktoren mit den EPO-Spiegeln unmittelbar verknüpft waren. Besonderes Augenmerk lag dabei auf einem möglichen Zusammenhang mit CNI und Entzündungsmarkern.

Gleichzeitig wurde untersucht, ob eine Statinbehandlung die Beziehung zwischen EPO und Hämoglobin bzw. EPO und Nierenfunktion (GFR) bei DM veränderte, da diese Medikamentengruppe nachweislich chronische Entzündungszustände beeinflussen kann.

## 2. Methoden

### 2.1 Studienpopulation

Die vorliegende Querschnittsstudie erfasste 255 Typ 2-Diabetiker im Zeitraum von Dezember 2003 bis Februar 2005. Die Studie wurde nach den Richtlinien der Helsinki-Deklaration durchgeführt und von der Ethikkommission der Universität Würzburg genehmigt.

Die Patienten wurden in den vier folgenden nephrologischen Ambulanzen betreut:

- Praxis Prof. Dr. Schramm, Dr. Zimmermann, PD Dr. Netzer, Dr. Heyd-Schramm, Würzburg;
- Nephrologische Ambulanz der Universitätsklinik Würzburg, Prof. Dr. Wanner;
- Praxis Dr. Kulzer, Dr. Warsitz, Dr. Naujoks, Marktheidenfeld;
- Praxis Dr. Harlos, Dr. Berweck, PD Dr. Schwedler, Schweinfurt.

Aus praktischen Gründen wurden die Patientendaten in zwei unterschiedlichen, jedoch sich überlappenden Zeiträumen, erhoben. Die der Arbeit zugrunde liegende Datenbank setzt sich ursprünglich aus zwei Datenbanken zusammen:

- Gruppe 1: Diabetiker (n = 144) mit Kreatinin im Serum > 1,5 mg/dl
- Gruppe 2: Diabetiker (n = 111) mit Kreatinin im Serum < 1,5 mg/dl

In die aktuelle Analyse gingen nur Typ 2-Diabetiker in allen Stadien der Niereninsuffizienz ein, die nach ärztlicher Aufklärung schriftlich ihr Einverständnis erklärten.

Patienten, die zum Untersuchungszeitpunkt bzw. innerhalb der drei vorangehenden Wochen wegen einer Anämie behandelt wurden (Therapie mit rHuEPO, Eisen-/ Vitamin B 12-/ Folsäuretherapie), wurden von der Analyse ausgeschlossen. Nicht berücksichtigt wurden auch Patienten mit offensichtlichem Eisenmangel (d.h. Ferritin < 30 µg/l) [92], dialysepflichtige, nierentransplantierte oder innerhalb der letzten drei Wochen mit Erythrozytenkonzentraten transfundierte Patienten. Um infektiöse Gründe der Inflammation auszuschließen, wurden antibiotisch behandelte Patienten nicht in die Analyse miteinbezogen.

224 Teilnehmer erfüllten die beschriebenen Kriterien und stellten von nun an die Studienpopulation dar.

## **2.2 Studienbesuch**

Im Rahmen des Studienbesuchs erfolgte eine klinische Untersuchung, einschließlich zweimaliger Blutdruckmessung im Sitzen, BMI-Berechnung, Schreiben eines Elektrokardiogramms, Durchführung eines Stimmgabel-Vibrationstests, einer detaillierten Fußinspektion sowie der ProSci-Card-Untersuchung zur Objektivierung der kardialen autonomen Neuropathie. Die Ergebnisse der ProSciCard-Untersuchung wurden in der vorangehenden Promotion von Christine Penka ausgewertet. Der Studienbesuch beinhaltete außerdem eine Blutentnahme und die Abgabe eines 24 h-Sammelurins.

## **2.3 Datenerhebung**

Mit Hilfe eines für die Studie entworfenen, standardisierten Fragebogens wurden die Patientendaten vervollständigt und in eine vorbereitete Excel-Tabelle zur statistischen Auswertung übertragen. Die notwendigen Informationen waren den digitalisierten Patientenakten (SAP), bzw. dem Mikrofilmarchiv bei Patienten der nephrologischen Ambulanz der Universitätsklinik Würzburg zu entnehmen.

Konkret handelte es sich dabei um folgende Informationen: Alter des Patienten, Diabeteslaufzeit, Diabetes-Typ (zur Kontrolle) und Raucherstatus. Studienteilnehmer, die seit mehr als fünf Jahren Nikotin abstinent waren, wurden als Nichtraucher eingestuft. Das Vorliegen einer Hypertonie und einer Hyperlipidämie wurde gegebenenfalls registriert. Außerdem wurde der individuelle Krankheitsverlauf auf das Vorhandensein diabetischer Spätkomplikationen geprüft: kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte wie Angina pectoris, Myokardinfarkt, transitorisch ischämische Attacke (TIA), prolongiertes reversibles ischämisch neurologisches Defizit (PRIND), Apoplex; periphere Polyneuropathie; diabetische Retinopathie; diabetisches Ulcus bzw. diabetischer Fuß. Zusätzlich war die gesamte aktuelle Medikation, insbesondere die Form der Diabetesbehandlung, Antihypertensiva und Statine zu erfassen.

Soweit im betreffenden Untersuchungszeitraum (+/- 1 Jahr) durchgeführt und in der Patientenakte dokumentiert, wurden auch Echokardiographiebefunde der Patienten in die Datenbank eingetragen. Die Befunde der Echokardiographie werden in zukünftigen Projekten ausgewertet.

## 2.4 Laborparameter

Die Laboruntersuchungen, mit Ausnahme der Bestimmung der EPO-Spiegel, waren Teil des üblichen Standardprogramms. Die Untersuchung der Blutproben erfolgte nicht zentral, sondern durch das an die jeweilige Praxis angeschlossene Labor.

Die Messung der Erythropoietinspiegel aus den Serumproben mittels Quantikine® IVD® (Human EPO Immunoassay, ELISA) wurde im Molekularbiologischen Forschungslabor des Universitätsklinikums der Humboldt-Universität zu Berlin unter der Leitung von Prof. Dr. med. Gross durchgeführt.

Der Messbereich des Tests befindet sich zwischen 2,5-200 U/L Erythropoietin (Quantifizierungsgrenzen) bei einer Intra-Assay-Varianz von 2,7-7,1 % und einer Inter-Assay-Varianz von 1,9-8,3 %. Die untere Nachweisgrenze des Tests liegt bei 0,24 U/L (Quantikine® IVD®, Human EPO Immunoassay, DEP00)

## 2.5 Definitionen

Die Diagnosen Hypertonie, Hyperlipidämie, diabetische Retinopathie sowie die Diabeteslaufzeit und Angaben über den Nikotinabusus wurden der Patientenakte entnommen oder wurden gegebenenfalls, wenn dort nicht dokumentiert, von den Patienten erfragt. Als kardiovaskuläres Ereignis in der Vorgeschichte galten Angina pectoris, Myokardinfarkt, TIA, PRIND und Apoplex.

Die GFR als wichtigstes Maß für die Beurteilung der Nierenfunktion, wurde aus dem Mittel der im 24 h-Sammelurin bestimmten Kreatinin- und Harnstoff-Clearance, angepasst an die Körperoberfläche, berechnet [93].

Glomeruläre Filtrationsrate:

$$GFR \text{ (ml / min/ } 1,73 \text{ m}^2\text{)} = \frac{\text{Kreatininclearance} + \text{Harnstoffclearance}}{2}$$

Wenn kein 24 h-Sammelurin zur Berechnung verfügbar war (4,9 % der Kohorte), wurde ersatzweise die "estimated GFR" (eGFR) verwendet. Diese basiert auf Serumkreatinin, Alter, Geschlecht und Rasse gemäß der vereinfachten MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)-Formel [94]:

$$GFR \text{ (ml / min / 1,73 m}^2\text{)} = 186 \times (\text{Serumkreatinin})^{-1,154} \times (\text{Alter})^{0,203} \times (0,742 \text{ bei Frauen}) \times (1,21 \text{ bei Pat. mit schwarzer Hautfarbe})$$

GFR und Proteinurie (> 30 mg/Tag) bildeten entsprechend den K/DOQI-Guidelines [94] die Basis für die Stratifizierung der CNI-Stadien: CNI-Stadium 1: GFR > 90 ml/min und Proteinurie, CNI-Stadium 2: GFR 60-90 ml/min, CNI-Stadium 3: GFR 30-59 ml/min, CNI-Stadium 4: 15-29 ml/min, CNI-Stadium 5: < 15 ml/min. Daneben wurde CNI auch als binäre Variable bei GFR < 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> gebraucht.

Anämie wurde nach den Kriterien der K/DOQI-Guidelines als Hämoglobin < 12 g/dl bei Frauen und Hämoglobin < 13,5 g/dl bei Männern definiert [43].

## 2.6 Eisenmangel

Diese Studie hatte zum Ziel, in einem Kollektiv aus Diabetikern mit CNI die EPO-Spiegel zu charakterisieren unter Fokussierung auf die ACD. Insbesondere sollten in der Studie Patienten, bei denen im Rahmen der Abklärung keine andere Ursache der Anämie gefunden werden konnte, analysiert werden. In diesem Sinn wurden Patienten, bei denen die Ursache bekannt war und die dementsprechend behandelt wurden (Eisen-, Vitamin B12-, Folsäure- oder rHuEPO-Therapie), von der Untersuchung ausgenommen. In der Datenbank blieben so jedoch weiterhin Patienten mit Eisenmangelanämie, die nicht behandelt wurden. Deshalb wurden Patienten mit Ferritinspiegeln < 30 µg/l, bei denen also definitionsgemäß ein Eisenmangel vorlag [92], ebenfalls von der Studie ausgeschlossen. In solchen Fällen ist damit zu rechnen, dass die EPO-Spiegel als Reaktion auf die aufgrund des Eisenmangels erniedrigten Hämoglobinspiegel erhöht sind.

## 2.7 Statistische Auswertung

Alle statistischen Analysen wurden mit SAS 9.1 durchgeführt. Zweiseitige p-Werte von < 0,05 galten als signifikant. Die Merkmale der Studienteilnehmer wurden für kontinuierliche Variablen als Mittelwert (± Standardabweichung) bei Normalverteilung bezie-

ungsweise als Median (Interquartilenabstand) bei nicht-normaler Verteilung angegeben. Binäre oder kategoriale Merkmale wurden in Prozent dargestellt.

Um die Merkmale quer durch die verschiedenen EPO-Tertile ( $\leq 10,6$  U/L;  $10,7-15,9$  U/L;  $\geq 16,0$  U/L) vergleichen zu können, wurden je nach Zweckmäßigkeit ANOVA (Analysis of Variance), Kruskal-Wallis-Test und  $\chi^2$ -Test angewendet. Die Anämieprävalenz wurde nach CNI-Stadien tabellarisch geordnet und die Signifikanz mit Hilfe des Cochran-Armitage-Trend-Tests geprüft.

Um die Prädiktoren der EPO-Spiegel (abhängige Variable) zu identifizieren, wurden verschiedene erklärende Variablen (unabhängige Variablen) in einem multivariaten Regressionsmodell geprüft.

Die Untersuchung der mit den EPO-Werten verknüpften Faktoren erfolgte schrittweise durch lineare Regressionsanalyse ( $p < 0,2$  notwendig für Ein- bzw. Ausschluss). Sämtliche unabhängigen Variablen wurden auf Normalverteilung und lineare Beziehung zur abhängigen Variable überprüft. Beides sind zwingende Voraussetzungen für eine lineare Regressionsanalyse. Um annähernd eine Normalverteilung zu erreichen, mussten einige Variablen transformiert werden. Der natürliche Logarithmus eignete sich für EPO, CRP, Body mass index (BMI), Ferritin und Proteinurie. Alter und Albumin wurden für die Analyse quadriert und Cholesterin ging als Kehrwert ( $1/\text{Cholesterin}$ ) ein.

Variablen, die in der univariaten Analyse mit  $\ln$ -EPO assoziiert waren und bei denen ein klinischer Zusammenhang mit EPO denkbar war, gingen im ersten Schritt in das multivariate Regressionsmodell ein (kardiovaskuläres Ereignis, Hypertension, GFR,  $\ln$ -CRP,  $\ln$ -Ferritin,  $\text{Albumin}^2$ ,  $\text{Alter}^2$ ,  $\ln$ -BMI,  $1/\text{Cholesterin}$ ; vgl. Tabelle 2, Modell 1). Anschließend wurden Statinbehandlung und ACE-I-/ARB-Behandlung zur Regressionsanalyse hinzugefügt (vgl. Tabelle 2, Modell 2). Da EPO in seiner Eigenschaft als Hormon die Hämatopoese anregt [40], wurde als dritter Schritt Hämoglobin in das Modell eingeschlossen (Tabelle 2, Modell 3).

Ob sich eine Beziehung zwischen erklärender und Outcome-Variable in bestimmten Patientensubgruppen unterscheidet, kann durch Einschluss von Interaktionstermen in das Regressionsmodell untersucht werden. Ein Interaktionsterm ist eine Variable, die sich durch Multiplikation aus zwei erklärenden Variablen ergibt, so dass in diesem Modell insgesamt mindestens drei Variablen getestet werden (Variable 1, Variable 2 und Variable 1 x 2). Deshalb wurde unter Einbeziehung separater Interaktionsterme geprüft,

ob je nach Nierenfunktion ein unterschiedlicher Zusammenhang zwischen Hämoglobin und ln-EPO bzw. ln-CRP und ln-EPO besteht. Weitere Interaktionsterme untersuchten unter Stratifizierung der Patienten nach Statinbehandlung den Zusammenhang zwischen Hämoglobin und ln-EPO bzw. GFR und ln-EPO.

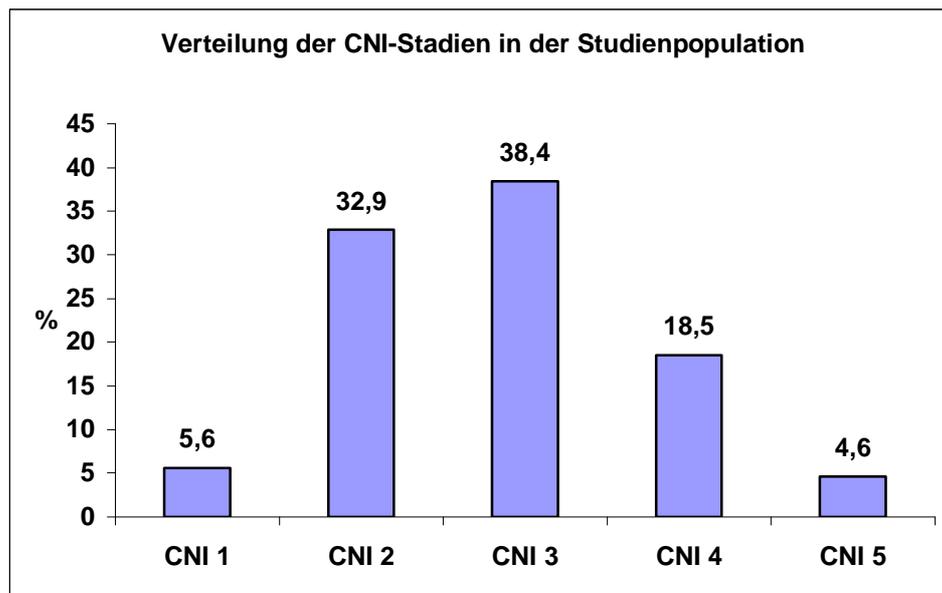
## **2.8 Rolle des Sponsors**

Die Datensammlung und die Bestimmung der EPO-Werte wurden von Roche Deutschland finanziell unterstützt. Jedoch hatte Roche Deutschland keinerlei Einfluss auf die Durchführung der Studie, die Analyse der Daten sowie deren Interpretation.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Studienpopulation

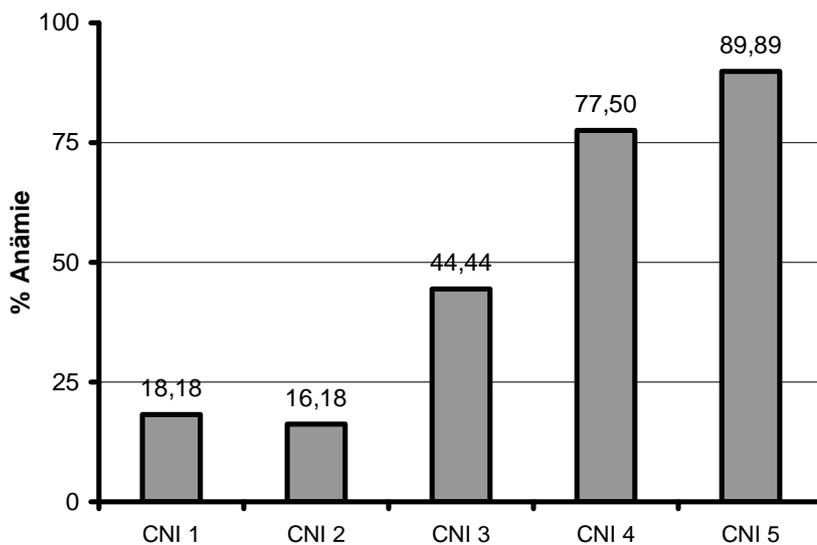
Das mediane Alter in der gesamten Kohorte betrug 67 Jahre. 54 % der Patienten waren männlich mit einem medianen BMI von 29,7 kg/m<sup>2</sup>. Die von den Patienten berichtete mittlere Dauer der Diabeteserkrankung lag bei zehn Jahren. Der mediane HbA1c-Wert lag bei 6,9 % und die mediane GFR der Gesamtkohorte belief sich auf 49 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Die Nierenfunktion der meisten Patienten war mild bis mäßig eingeschränkt (Stadium 2 und 3), so dass sich folgende Verteilung der Patienten auf die jeweiligen CNI-Stadien ergab: Stadium 1: 5,6 %; Stadium 2: 32,9 %; Stadium 3: 38,4 %; Stadium 4: 18,5 %; Stadium 5: 4,6 % (vgl. Abbildung 3).



**Abbildung 3:** Verteilung der CNI-Stadien innerhalb der Studienpopulation

*CNI-Stadium 1: GFR > 90ml/min und Proteinurie, CNI 2: 60-90 ml/min und Proteinurie, CNI 3: 30-59 ml/min, CNI 4: 15-29 ml/min, CNI 5: <15 ml/min.*

41 % aller Patienten hatten Hämoglobinspiegel, die nach K/DOQI-Definition im anämischen Bereich lagen. Die Anämiehäufigkeit stieg erwartungsgemäß mit abnehmender Nierenfunktion von 44 % in der Gruppe der Patienten mit CNI-Stadium 3 auf knapp 90 % bei Patienten mit CNI-Stadium 5 an (vgl. Abbildung 4).



**Abbildung 4:** Anämieprävalenz nach CNI-Stadien

Prävalenz der Anämie, definiert als Hämoglobin < 12 g/dl für Frauen und Hämoglobin < 13,5 g/dl für Männer, bezogen auf die verschiedenen Grade der chronischen Niereninsuffizienz.

Absolutzahlen: CNI 1: n = 11, CNI 2: n = 68, CNI 3: n = 81, CNI 4: n = 40, CNI 5: n = 9.

p-Wert < 0,001.

### 3.2 Erythropoietinspiegel der Studienteilnehmer

Da derzeit kein EPO-Normbereich für ältere Patienten mit Diabetes mellitus etabliert ist, abgesehen von der Tatsache, dass EPO-Werte > 30 U/L generell als "hoch" anzusehen sind [50], wurden die Merkmale der Studienteilnehmer stratifiziert nach EPO-Tertilen dargestellt (Tabelle 1). Im Patientenkollektiv betrug der mediane EPO-Wert im niedrigsten Tertil 8,2 U/L, im mittleren Tertil 13,6 U/L und im höchsten Tertil 20,0 U/L.

Patienten im höchsten EPO-Tertil waren durchschnittlich älter und ihre Nierenfunktion war stärker eingeschränkt. Des Weiteren zeigte sich für diese Patientengruppe eine höhere Prävalenz kardiovaskulärer Ereignisse in der Vorgeschichte. Ebenso fielen erhöhte CRP-Werte und erniedrigte Albuminwerte als Ausdruck eines fortgeschrittenen Entzündungsstatus [95] in diesem Tertil besonders auf. Da kardiovaskuläre Erkrankungen in engem Zusammenhang mit inflammatorischen Prozessen stehen [77], schien hier eine

multivariate Regressionsanalyse besonders interessant.

Bemerkenswerter Weise variierten die Hämoglobinwerte nicht signifikant zwischen den EPO-Tertilen, wohingegen der mittlere Ferritinspiegel im höchsten EPO-Tertil am niedrigsten lag.

**Table 1: Merkmale der Studienteilnehmer stratifiziert nach EPO-Tertilen**

	EPO-Tertile			p-Wert
	≤10,6 U/L	10,7-15,9 U/L	≥16,0 U/L	
Alter, Jahre	65,5 (55,5-72,9)	66,6 (57,2-73,3)	69,2 (63,9-76,1)	0,04
Geschlecht, männlich	52,1 %	55,6 %	51,4 %	ns
BMI, kg/m <sup>2</sup>	29,9 (26,9-33,1)	29,2 (27,2-33,5)	30,1 (27,5-36,0)	ns
Diabeteslaufzeit, Jahre *	10 (3-19)	10 (4-16)	11 (5-20)	ns
Orale Antidiabetika	67,6 %	62,5 %	61,1 %	ns
Insulin	64,8 %	63,9 %	68,1 %	ns
HbA1c, %	6,8 (6,4-8,0)	7,2 (6,4-8,2)	7,1 (6,5-7,9)	ns
Kardiovask. Ereignis †	25,4 %	27,8 %	51,4 %	0,001
Diab. Retinopathie *	31,0 %	33,3 %	26,4 %	ns
Nikotinabusus ‡	22,4 %	35,7 %	30,4 %	ns
Hypertension *	81,7 %	81,9 %	91,7 %	ns (0,16)
Hyperlipidämie *	35,2 %	43,1 %	44,4 %	ns
Statinbehandlung	42,3 %	49,3 %	44,4 %	ns
Cholesterin (ges.), mg/dl	200 (177-237)	194 (173-226)	190 (164-215)	ns (0,14)
GFR, ml/min/1.73m <sup>2</sup>	57 (33-76)	58 (34-76)	41 (27-65)	0,04
Proteinurie, mg/Tag	193 (114-850)	177 (101-838)	180 (119-1951)	ns
CRP, mg/dl	2,5 (1,1-5,8)	3,3 (1,4-6,0)	6,3 (2,3-14,5)	<0,001
Albumin, g/dl	4,2 (3,9-4,7)	4,1 (3,9-4,4)	4,0 (3,7-4,3)	0,02
Hämoglobin, g/l	130 ± 20	133 ± 18	130 ± 20	ns
Ferritin, µg/l	166 (109-280)	164,5 (107-241)	118 (66-190)	0,02

Die Daten sind angegeben als Mittelwert (± Standardabweichung), Median (Interquartilsabstand) oder soweit angebracht als Prozentsatz (%).

\* anamnestisch berichtet oder der Patientenakte entnommen

† anamnestisch berichtet oder der Patientenakte entnommen: kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte (Angina pectoris, Myokardinfarkt, TIA, PRIND, Apoplex)

‡ *Raucher oder abstinent seit weniger als fünf Jahren*  
ns: *nicht signifikant ( $p > 0,05$ )*

### **3.3 Prädiktoren der Erythropoietinspiegel**

#### **3.3.1 Univariate Analyse**

In der univariaten Analyse waren folgende Variablen mit höheren EPO-Werten assoziiert: fortgeschrittenes Alter, höherer BMI, kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte und verschiedene Laborparameter wie erhöhtes CRP, erniedrigtes Albumin, niedriges Ferritin und Cholesterin. Fortgeschrittene Stadien der Niereninsuffizienz, gekennzeichnet durch niedrige GFR, korrelierten mit höheren EPO-Spiegeln. Keine signifikante Beziehung war zwischen Hämoglobin und EPO festzustellen. (Tabelle 2, Univariate Analyse)

#### **3.3.2 Multivariate Analyse**

Nach Adjustierung für diese Variablen und aufgrund ihrer klinischen Bedeutung zusätzlich für die Faktoren Geschlecht und Proteinurie waren im initialen multivariaten Regressionsmodell nur noch CRP, Ferritin, kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte und Hypertension unabhängig mit den EPO-Werten assoziiert, während Albumin sich dem Signifikanzniveau nur annäherte (Tabelle 2, Modell 1). Die GFR verlor ihre signifikante inverse Assoziation zu ln-EPO nach Kontrolle für die oben beschriebenen Variablen.

Statine können unabhängig von der Lipidsenkung auch entzündungsmodulierende Effekte haben [78, 82, 96] und auch von ACE-I sowie ARB ist bekannt, dass sie Hämatopoese und Entzündung beeinflussen [86, 87]. Daher wurden diese Behandlungsparameter als Variablen in das Regressionsmodell, zusätzlich zu allen Variablen des Modells 1, miteingeschlossen. Zwischen EPO-Werten und Statin- oder ACE-Hemmer-/ARB-Behandlung konnte keine signifikante Beziehung nachgewiesen werden. Die Assoziationen zwischen EPO-Spiegeln und CRP, Ferritin, kardiovaskulä-

ren Ereignissen und Hypertension blieben unverändert, sowie auch die grenzwertig nicht-signifikanten Ergebnisse für Albumin. (Tabelle 2, Modell 2)

Das Hormon EPO regt das Knochenmark dazu an, rote Blutkörperchen und Hämoglobin zu synthetisieren. Ein negativer Rückkopplungsmechanismus über Hämoglobin für die EPO-Konzentration im Blut existiert jedoch nicht. Die EPO-Spiegel werden über Gewebshypoxie und Vasokonstriktion, die indirekt auch mit der Hämoglobinkonzentration zusammenhängen können, reguliert [35, 38]. Da Hämoglobin das entscheidende Definitionskriterium für Anämie darstellt, wurde als letzter Schritt Hämoglobin in das Regressionsmodell miteinbezogen. Eine signifikante Beziehung zwischen EPO-Werten und Hämoglobinwerten ließ sich mit den beschriebenen Variablen nicht nachweisen (Tabelle 2, Modell 3). Selbst der erzwungene Einschluss von Hämoglobin in der Regressionsanalyse änderte nichts an den Ergebnissen und Koeffizienten. Dieses letzte Regressionsmodell erklärte schließlich 22 % der Variation von ln-EPO ( $R^2 = 0,22$ ).

**Tabelle 2:** Assoziationen von ln-EPO mit demographischen und klinischen Variablen (lineare Regressionsanalyse)

	Univariate Analyse		Modell 1		Modell 2		Modell 3	
	$\beta$ -Koeffizient	p-Wert						
kardiovask.Ereignis	0,24	0,002	0,14	0,02	0,14	0,02	0,14	0,02
Hypertension	0,16	ns (0,12)	0,19	0,04	0,19	0,04	0,20	0,04
GFR	-0,004	0,009	--	ns	--	ns	--	ns
ln-CRP	0,14	<0,001	0,13	<0,001	0,13	<0,001	0,14	<0,001
ln-Ferritin	-0,11	0,01	-0,12	0,002	-0,12	0,005	-0,13	0,004
Albumin <sup>2</sup>	-0,03	0,001	-0,01	ns (0,08)	-0,01	ns (0,08)	-0,02	ns (0,07)
Alter <sup>2</sup>	0,0001	0,007	--	ns	--	ns	--	ns
ln-BMI	0,42	0,05	--	ns	--	ns	--	ns
1/Cholesterin	73,1	0,03	--	ns	--	ns	--	ns

ns: nicht signifikant ( $p > 0,05$ )

Modell 1: Alle in der univariaten Analyse signifikanten Variablen wurden in das multivariate Modell übernommen, zusammen mit den Merkmalen Geschlecht und Proteinurie.

Modell 2: Variablen von Modell 1, zusammen mit Statin- bzw. ACE-I-/ARB-Behandlung

Modell 3: Variablen von Modell 2, zusammen mit Hämoglobin

### **3.4 Interaktionsterme**

#### **3.4.1 Zusammenhang zwischen Erythropoietin und Hämoglobin bei chronischer Niereninsuffizienz**

Um zu prüfen, ob zwischen Hämoglobin und EPO je nach Nierenfunktion ein unterschiedlicher Zusammenhang besteht, wurde der Interaktionsterm von Hämoglobin und CNI getestet. Dabei wurde die GFR einerseits dichotomisiert bei 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, andererseits auch als kontinuierliche Variable verwendet.

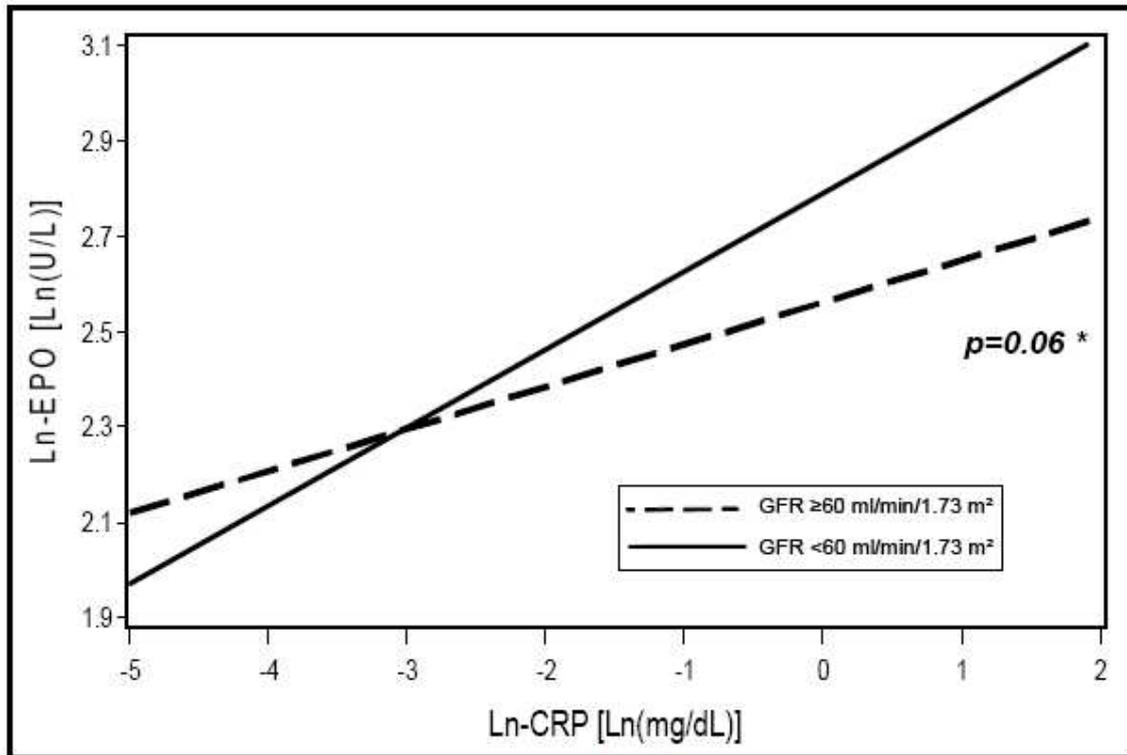
Diese Interaktionsterme erwiesen sich jedoch nicht als signifikant. Dies galt sowohl bei ausschließlicher Testung mit Hämoglobin und GFR im Modell, als auch nach Adjustierung für die beschriebenen Variablen.

Insgesamt ließ sich also kein Hinweis für einen andersartigen Zusammenhang zwischen EPO und Hämoglobin bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion finden.

#### **3.4.2 Zusammenhang zwischen Erythropoietin und C-reaktivem Protein bei chronischer Niereninsuffizienz**

EPO wird hauptsächlich in der Niere produziert. Aus diesem Grund waren die Ergebnisse der Regressionsanalyse unerwartet: Die GFR zeigte sich nur in der univariaten Analyse mit den EPO-Spiegeln verknüpft. Nach Adjustierung in der multivariaten Analyse verlor diese Assoziation ihre Signifikanz, und vor allem CRP war mit erhöhten EPO-Spiegeln assoziiert. Dies wies daraufhin, dass der Einfluss der Nierenfunktion auf die EPO-Spiegel vorwiegend durch inflammatorische Marker erklärt wird. Deshalb wurde auch eine mögliche Wechselwirkung der Inflammation mit der Beziehung zwischen Nierenfunktion und EPO-Werten untersucht.

Der Interaktionsterm von CRP und CNI, dichotomisiert bei einer GFR von 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, wurde in das Modell miteingeschlossen und erreichte beinahe Signifikanz ( $p = 0,06$ ) nach Adjustierung für Ferritin, kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte und Hypertension (vgl. Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Zusammenhang zwischen EPO-Spiegeln und CRP, stratifiziert nach CNI EPO-Spiegel nach CRP-Spiegeln für Patienten mit  $GFR < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  (durchgezogene Linie) und Patienten mit  $GFR \geq 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  (gestrichelte Linie), adjustiert für  $\ln$ -Ferritin, kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte und Hypertension.

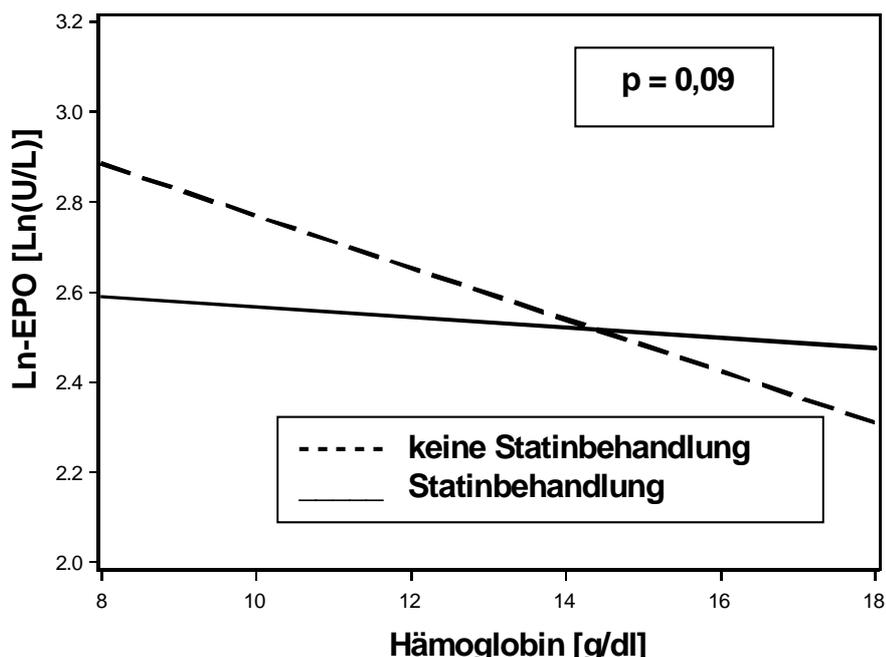
\* $p$ -Wert des Interaktionsterms von  $\ln$ -CRP und CNI bei Einschluss in das multivariate lineare Regressionsmodell.

Dabei wurde die Assoziation zwischen EPO-Spiegeln und CRP je nach Nierenfunktion verstärkt. Eine ähnliche Interaktion zeigte sich bei Verwendung der GFR als kontinuierliche Variable ( $p = 0,07$ ). Es ist zu erwähnen, dass die CRP-Spiegel bei Patienten mit einer  $GFR < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  höher im Vergleich zu Patienten mit einer  $GFR \geq 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  ( $0,42 \text{ mg/dl}$  vs.  $0,30 \text{ mg/dl}$ ;  $p = 0,02$ ) waren.

### 3.4.3 Zusammenhang zwischen Erythropoietin und Hämoglobin bei Statinbehandlung

Obwohl in der univariaten Analyse, wie auch im multivariaten Regressionsmodell, für die Statinbehandlung keine signifikante Verknüpfung mit den EPO-Spiegeln nachweisbar war, wurde nun geprüft, ob sich bei Stratifizierung der Patienten nach Statinbehand-

lung ein unterschiedlicher Zusammenhang zwischen EPO-Spiegeln und Hämoglobin zeigte. Nach Adjustierung für CRP, Albumin, kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte und Cholesterin näherte sich der Interaktionsterm von Hämoglobin und Statinbehandlung der Signifikanz an ( $p = 0,09$ ), wie in der folgenden Abbildung (vgl. Abbildung 6) dargestellt. Dies deutete darauf hin, dass bei Patienten, die mit Statinen behandelt wurden, die EPO-Spiegel weniger erhöht waren.



**Abbildung 6:**

*Die Beziehung zwischen EPO-Spiegeln und Hämoglobinkonzentration stratifiziert nach Statinbehandlung*

*EPO-Spiegel nach Hämoglobin bei Patienten mit Statinbehandlung (durchgezogene Linie) und Patienten ohne derartige Behandlung (gestrichelte Linie).*

*Adjustiert für kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte,  $\ln$ -CRP,  $\text{Albumin}^2$  und  $1/\text{Cholesterin}$ .*

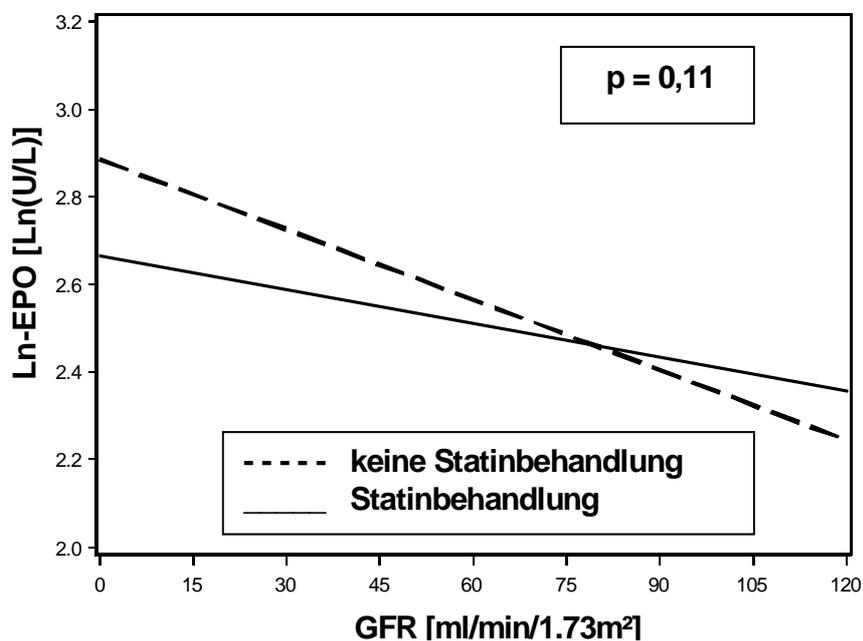
*p-Wert des Interaktionsterms gebildet aus Hämoglobin und Statinbehandlung bei Einschluss in das multivariate Regressionsmodell*

### **3.4.4 Zusammenhang zwischen Erythropoietin und glomerulärer Filtrationsrate bei Statinbehandlung**

Ähnliche Ergebnisse erbrachte der Interaktionsterm von GFR und Statinbehandlung ( $p = 0,11$ ) nach Adjustierung für CRP, Albumin, kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte und Cholesterin. Dieser Interaktionsterm wies auf eine unterschiedliche Bezie-

hung zwischen EPO-Spiegeln und GFR bei Stratifizierung der Patienten nach Statinbehandlung hin. Genauer genommen zeigte sich also bei Patienten unter Statintherapie eine geringer ausgeprägte Erhöhung der EPO-Spiegel bei schlechter Nierenfunktion (vgl. Abbildung 7).

Außerdem lag der mediane CRP-Wert in der Gruppe der mit Statinen behandelten Patienten niedriger im Vergleich zur Gruppe der nicht mit Statinen behandelten Patienten (2,9 vs. 4,2 mg/l,  $p = 0,01$ ). Die Albuminwerte jedoch unterschieden sich nicht zwischen diesen beiden Gruppen (41,0 vs. 41,3 g/dl,  $p =$  nicht signifikant).



**Abbildung 7:**

*Die Beziehung zwischen EPO-Spiegeln und GFR, stratifiziert nach Statinbehandlung*

*EPO-Spiegel nach GFR bei Patienten mit Statinbehandlung (durchgezogene Linie) und Patienten ohne derartige Behandlung (gestrichelte Linie).*

*Adjustiert für kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte, ln-CRP, Albumin<sup>2</sup> und I/Cholesterin.*

*p-Wert des Interaktionsterms gebildet aus GFR und Statinbehandlung bei Einschluss in das multivariate Regressionsmodell*

## **4. Diskussion**

In der vorliegenden Studie fanden sich bei schlechter Nierenfunktion, anstatt absoluten EPO-Mangels, höhere EPO-Spiegel. Diese Beziehung zwischen Nierenfunktion und EPO-Spiegeln war mit dem Entzündungsstatus verknüpft. Der Entzündungsstatus wurde durch Messung von CRP und Albumin bestimmt. Als mögliche Erklärung für die oben beschriebenen Ergebnisse könnte eine Kombination aus limitierter Eisenverfügbarkeit und entzündungsvermittelter Resistenz des Knochenmarks gegenüber endogenem EPO dienen.

Verglichen mit Patienten mit normaler Nierenfunktion, waren bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion die CRP-Spiegel stark mit erhöhten EPO-Werten assoziiert.

### **4.1 Anämie und Nierenfunktion**

In der Kohorte nierenkranker Diabetiker war Anämie häufig (41 %), wobei die Prävalenz in fortgeschrittenen CNI-Stadien höher lag. Im Einklang damit stand die signifikante Korrelation der GFR mit Hämoglobin.

Bezüglich bisher veröffentlichter Daten zur Anämieprävalenz bei Diabetikern (15-25 %) erscheint diese Zahl relativ hoch [50, 97]. Da aber sämtliche Patienten, deren Anämie behandelt wurde, von der Studie ausgeschlossen wurden, könnte dieses Modell den natürlichen Verlauf der Anämie bei CNI wiedergeben. Zugegebenermaßen befanden sich in der Studienpopulation jedoch relativ wenig Patienten im CNI-Stadium 5 (n = 9). Diese grundlegenden Ergebnisse decken sich also weitgehend mit dazu veröffentlichter Literatur und deuten damit auf externe Validität der Daten hin.

### **4.2 Erythropoietin und Nierenfunktion**

Die EPO-Spiegel zeigten sich in der univariaten Analyse negativ mit GFR korreliert. Das bedeutet, dass die EPO-Spiegel mit Abnahme der Nierenfunktion anstiegen.

Diese Tatsache ist besonders erstaunlich, da in der Literatur EPO-Mangel bei CNI zumindest teilweise durch eine mit sinkender GFR zunehmend eingeschränkte renale EPO-Produktion begründet wird [94]. Diese Hypothese eines absoluten oder relativen

EPO-Mangels bei CNI ließ sich in dieser Studie nicht bestätigen. Die EPO-Werte befanden sich vorwiegend innerhalb des in der gesunden Bevölkerung als normal erachteten Bereichs.

Jedoch gilt zu beachten, dass derzeit kein allgemein gültiger Normbereich für EPO-Spiegel bei Diabetikern mit chronischer Niereninsuffizienz etabliert ist [50]. Da die Ergebnisse nicht mittels einer Kontrollgruppe überprüft wurden, können sie auch nicht mit denen nicht-diabetischer Patienten verglichen oder auf solche übertragen werden. Aus den gleichen Gründen lassen sich die EPO-Level nicht generell als absolut "hoch" oder absolut "niedrig" definieren. Aufgrund der Auswahlkriterien bezüglich der Studienpopulation waren die EPO-Spiegel jedoch unabhängig von Blutungen, Malnutrition und Verzerrungen durch Behandlung der Anämie. Trotz der beschriebenen Einschränkungen lässt sich somit klar nachweisen, dass im Rahmen dieser Studie die EPO-Spiegel in fortgeschrittenen Stadien der Niereninsuffizienz im Vergleich zum Stadium 1 oder 2 der Niereninsuffizienz erhöht waren.

In Übereinstimmung mit früheren Berichten [49] verschwand die Signifikanz der Beziehung zwischen EPO-Spiegeln und GFR nach der Adjustierung für demographische Variablen, Komorbidität, Entzündungsparameter wie CRP und Albumin, sowie für den Eisenstatus völlig, so dass die gefundene Beziehung zu großen Teilen durch inflammatorische Prozesse bestimmt zu sein scheint.

Interessanterweise fand sich so auch ein stärker ausgeprägter Zusammenhang zwischen CRP und EPO bei der Untersuchung der Rolle der Niereninsuffizienz (vgl. Abbildung 5). Obwohl sich dieses Phänomen aktuell nur unzureichend erklären lässt, demonstriert die Analyse, dass ungenügende EPO-Produktion in fortgeschrittenen Stadien der Niereninsuffizienz womöglich eine weniger bedeutende Rolle spielt, als zunächst angenommen. Das gilt insbesondere für Patienten mit deutlicher Inflammation.

Natürlich darf dieses unerwartete Resultat nicht für alle Patienten mit CNI verallgemeinert werden, da Patienten, die eine Anämietherapie erhielten, ausgeschlossen wurden. Dadurch beziehen sich die Ergebnisse also vor allem auf Patienten mit mildereren Anämieformen.

### 4.3 Erythropoietin, Eisenstatus und Inflammation

Eine Dysregulation des Eisenhaushaltes wird als Schlüsselmechanismus der ACD angesehen. Dabei ist die Eisenaufnahme des Körpers zwar erhöht, aber das Eisen bleibt in seinen Speichern, vornehmlich den Zellen des retikuloendothelialen Systems, gefangen. Als Folge nimmt der Betrag frei zirkulierenden Eisens ab und Eisen steht somit nicht mehr ausreichend für die Hämoglobinsynthese zur Verfügung [40, 98]. Die beschriebene Umverteilung im Eisenhaushalt ist abhängig von der Anwesenheit inflammatorischer Zytokine. Unter ihnen scheint das Akute-Phase-Protein Hepcidin, das selbst wiederum durch Eisen und Entzündungsmarker wie beispielsweise IL-6 reguliert wird, eine herausragende Rolle zu spielen [59, 60, 98]. Weiterhin ist allgemein anerkannt, dass sich inflammatorische Vorgänge auch auf bestimmte Organsysteme, einschließlich das Blutkörperchen produzierende Knochenmark [40], auswirken können. Da DM und CNI als Krankheiten mit schweren entzündlichen Vorgängen gelten [77-79], kann in der Studienpopulation von einem Einfluss der Inflammation auf das Knochenmark ausgegangen werden.

In allen multivariaten Analysen erwiesen sich erhöhte CRP-Werte, niedrige Albumin- und niedrige Ferritinwerte als starke und unabhängige Prädiktoren von höheren EPO-Werten. Erhöhte EPO-Spiegel sind also, neben den Entzündungsmarkern CRP und Albumin, auch mit gleichzeitig niedrigen Ferritinspiegeln verknüpft. Da wir Patienten mit absolutem Eisenmangel (Ferritin < 30 µg/l) ausschlossen [92], bewegten sich die Ferritinwerte aller in der Studie verbleibenden Patienten innerhalb des Normbereiches. Es liegt die Vermutung nahe, dass dieser relative Eisenmangel reaktiv, als eine Art physiologische Antwort, zu höheren EPO-Spiegel führen könnte.

Ferner blieben in allen Analysen Hypertonie und kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte mit den EPO-Werten stark assoziiert. Insbesondere die Variable "kardiovaskuläre Ereignisse" fasst Krankheiten zusammen, bei denen Inflammation kausal oder als Folge des Ereignisses von Bedeutung ist [77, 95]. Die beiden Variablen könnten aber auch als Hinweis auf "kränkere" Patienten betrachtet werden, die aus verschiedenen Gründen kardiovaskuläre oder zerebrovaskuläre Komplikationen entwickelten.

#### **4.4 Erythropoietin und Hämatopoese**

Auch wenn EPO die Erythrozyten- und Hämoglobinsynthese stimuliert, wird es nicht direkt im Sinne eines negativen Feedbackmechanismus durch Hämoglobinspiegel reguliert. Stattdessen wird die Produktion und Freisetzung durch Gewebshypoxie und Vasokonstriktion angeregt, die zwar durch niedrige Hämoglobinspiegel, aber eben auch durch eine Vielzahl anderer Mechanismen bedingt sein können [35, 38, 40].

Typischerweise existiert eine inverse log/lineare Korrelation zwischen Hämoglobinspiegeln und EPO bei Patienten ohne DM [99]. Spallone et al. belegten den Verlust dieser Korrelation bei Typ 2-Diabetikern schon vor Nachweis einer Nephropathie und fanden dabei eine signifikante Assoziation zwischen Hb und autonomer Neuropathie [100]. Bekanntermaßen unterliegen die renale Durchblutung und die tubuläre Funktion einer neuralen Kontrolle [101]. Daneben unterstreichen experimentelle Daten aber auch die Bedeutung der renalen sympathischen Innervation für die Regulation der EPO-Produktion [102, 103]. Klinisch ließ sich in diesem Kontext Anämie mit relativem EPO-Mangel bei Patienten mit Dysautonomien beobachten [104-106]. Die fehlende inverse Korrelation zwischen Hb und EPO bei DM wurde als eine durch die autonome Neuropathie abgestumpfte, also inadäquat niedrige EPO-Antwort auf niedrige Hämoglobinwerte interpretiert [100].

In unserem Patientengut, bei dem gemäß den Ausschlusskriterien kein ersichtlicher Grund für eine Anämie bestand, war für Hämoglobin keine Assoziation mit EPO-Werten nachzuweisen. Dies änderte sich auch nicht nach Adjustierung für demographische Variablen, Komorbidität, Nierenfunktion, Ferritin und Entzündungsmarker.

Ebenso fand sich keine unterschiedliche Beziehung zwischen EPO-Werten und Hämoglobin bezüglich der verschiedenen CNI-Stadien (vgl. 3.4.1).

#### **4.5 Erythropoietin-Mangel und Erythropoietin-Resistenz bei Anämie chronischer Krankheiten**

Die Berichte über die Rolle von Erythropoietin bei Anämie sind unterschiedlich. Die genaue Pathophysiologie von EPO und ACD bleibt insbesondere bei Patienten mit CNI und DM noch vage.

Die EPO-Spiegel könnten bei älteren und an Diabetes mellitus erkrankten Menschen generell niedriger liegen. Mögliche Ursache dafür könnte ein früher tubulointerstitieller Schaden bei diabetischer Nephropathie sein, der sich schon vor Einschränkung der Nierenfunktion nachweisen lässt. Das entstehende hypoxische Milieu wird durch die bei chronischer Hyperglykämie veränderten roten Blutzellen, oxidativen Stress und Diabetes-induzierte Apoptose der tubulären Zellen zusätzlich verschlimmert [107]. Durch frühzeitigen Untergang der EPO-produzierenden Zellen und gleichzeitige Dysfunktion des EPO-Rezeptors könnten lokal trophische Effekte von EPO verringert werden und damit die strukturelle und funktionelle Integrität des Parenchyms gefährden. Diese Mechanismen könnten zur Verschlechterung der Nierenfunktion beitragen. Als unmittelbare Folge würden sich auch die Hämoglobinspiegel dieser Patienten im unteren Bereich bewegen [49, 107, 108]. Jedoch ließ sich in unserer Kohorte diabetischer Patienten diese Hypothese erniedrigter EPO-Spiegel nicht bestätigen.

Andere Studien berichteten über funktionellen EPO-Mangel, also niedrige Hämoglobinspiegel trotz normaler oder sogar leicht erhöhter EPO-Spiegel, als Hauptursache der Anämie bei Patienten mit diabetischer Nephropathie. Die Autoren fanden dabei Assoziationen zu Albuminurie und Entzündungsmarkern, die die insuffiziente EPO-Produktion als Antwort auf niedrige Hämoglobinspiegel erklärten [50].

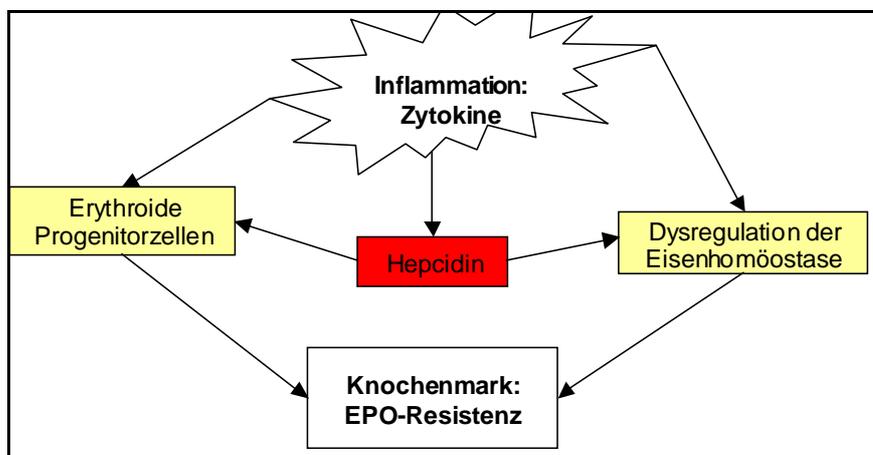
Das geschilderte Szenario niedriger Hämoglobinspiegel trotz normaler oder sogar erhöhter EPO-Werte kann aber auch als Resistenz des Knochenmarks gegenüber dem Einfluss endogenen EPOs verstanden werden. Dieses Phänomen der EPO-Resistenz wurde bereits mehrfach bei Patienten mit chronischen Krankheiten wie chronisch entzündlicher Darmerkrankung oder chronischer Herzinsuffizienz beschrieben [109, 110].

Bei einem Vergleich der EPO-Spiegel von gesunden Patienten mit den EPO-Spiegeln von Patienten mit chronischer Nierenerkrankung fiel auf, dass die mittleren EPO-Spiegel in der Gruppe mit CNI mehr als fünfmal so hoch lagen und dennoch die Anämie weiterbestand. Diese Disparität deutet daraufhin, dass zusätzlich zum relativen Eisenmangel, die EPO-Antwort des Knochenmarks bei CNI unterdrückt wird.[47, 111]

Ähnliche Ergebnisse ergaben auch Beobachtungen bei mit rekombinantem EPO behandelten anämischen Patienten, deren Niereninsuffizienz bereits fortgeschritten war oder die schon dialysepflichtig waren. Wenn die Entzündungsmarker erhöht sind, werden höhere Dosen rHuEPO notwendig, um dieselben Hämoglobin-Zielwerte zu erreichen,

verglichen mit Patienten ohne Anzeichen einer Entzündungsaktivität. Diese klinische Beobachtung wird als EPO-Resistenz infolge von Inflammation beschrieben [43, 72]. Bis zu 10 % aller mit rHuEPO behandelten Patienten zeigen ein inadäquates Ansprechen auf die Therapie [112]. Klinische Bedeutung erlangt diese Tatsache, da gezeigt werden konnte, dass EPO-Resistenz bei CNI mit einer erhöhten Mortalität verbunden ist, die auch noch nach Adjustierung für den generell in dieser Population erniedrigten Hämatokrit besteht [113].

Die Ergebnisse zeigen, dass CRP, Ferritin, Albumin und Hypertension sowie kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte stark und unabhängig mit erhöhten EPO-Spiegeln, trotz gleichzeitig niedriger Hämoglobinwerte, assoziiert sind. Es ist anzunehmen, dass Entzündungsvorgänge in dieser Kohorte niereninsuffizienter Diabetiker eine große Rolle spielen. Möglicherweise führt die Inflammation zu einer Resistenz des Knochenmarks gegenüber endogenem EPO sowie zu relativem Eisenmangel. Diese Kombination könnte die hohe Anämieprävalenz nierenkranker Diabetiker erklären (vgl. Abbildung 8).



**Abbildung 8:**

*Rolle der Zytokine im Zusammenhang mit EPO-Resistenz, modifiziert nach: van der Putten K., 2008 [63]*

*Proinflammatorische Zytokine induzieren EPO-Resistenz durch direkt inhibitorische Effekte auf erythroide Progenitorzellen und indirekt inhibitorische Effekte über Hochregulation von Hepcidin.*

*EPO-Resistenz entsteht andererseits über eine Dysregulation der Eisenhomöostase, die direkt durch den Einfluss proinflammatorischer Zytokine oder durch vermehrte Hepcidinexpression zustande kommt.*

#### **4.6 Die Rolle der Statin- und ACE-Inhibitor-/Angiotensin-II-Rezeptorblocker-Behandlung**

Möglicherweise unabhängig von ihrer lipidsenkenden Potenz, sind Statine in der Lage durch pleiotrope Effekte entzündliche Prozesse zu beeinflussen [78, 82, 96]. In diesem Zusammenhang wies kürzlich eine randomisierte Studie nach, dass Fluvastatin direkt den Prohepcidinspiegel, ein Prohormon von Hepsidin, senkte und somit unmittelbar zu geringerer Resistenz gegenüber endogenem und rekombinatem EPO führte [114].

In den multivariablen Regressionsmodellen dieser Studie konnte allerdings kein Effekt der Statin- oder ACE-I-/ARB-Behandlung auf die EPO-Spiegel der Kohorte nachgewiesen werden.

Jedoch wurde im Rahmen unserer Analysen die Beziehung zwischen EPO-Spiegel und Nierenfunktion getrennt in zwei Gruppen untersucht: jeweils mit und ohne Statin-Behandlung unter Einschluss des Interaktionsterms in das Regressionsmodell. Dabei lagen bei mit Statinen behandelten Patienten die CRP-Werte niedriger als bei Patienten ohne derartige Behandlung. Zusätzlich unterschied sich in dieser Analyse die Beziehung zwischen EPO und Hämoglobin, sowie auch die Beziehung zwischen EPO und GFR (p-Werte < 0,1 werden bei Interaktionstermen allgemein als signifikante Ergebnisse anerkannt). Die EPO-Spiegel in fortgeschrittenen Stadien der Niereninsuffizienz waren also bei mit Statinen behandelten Patienten etwas niedriger als bei Patienten ohne eine derartige Behandlung.

Diese Ergebnisse könnten durch eine verringerte EPO-Resistenz erklärt sein und bestanden auch bei Adjustierung für Cholesterin und CRP weiter. Dies deutet darauf hin, dass womöglich eine Verknüpfung zwischen EPO und Statinbehandlung besteht, die unabhängig von CRP und der Lipidsenkung ist.

Natürlich kann, wie in jeder nicht-randomisierten Studie, der tatsächliche Effekt der Behandlung nicht eindeutig nachgewiesen werden, da immer die Gefahr einer Verzerrung durch die jeweilige Indikationsstellung besteht. Statine finden heutzutage weitverbreitete Anwendung und werden aus den unterschiedlichsten Gründen (Hypercholesterinämie, Re-Infarkt-Prophylaxe etc.) verschrieben. Da das Modell aber für Cholesterin und kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte adjustiert wurde,

könnte man trotz allem einen unabhängigen Effekt der Statine auf die EPO-Spiegel, der eventuell durch Entzündung vermittelt wird, vermuten.

#### **4.7 Stärken und Einschränkungen**

Bei der Interpretation der gewonnenen Ergebnisse sind einige Einschränkungen dieser Studie zu beachten. Wie in jeder Querschnittsanalyse kann die Kausalität der gefundenen Zusammenhänge nicht bewiesen werden. Das heißt, die Richtung einer Assoziation kann nicht genügend erforscht werden und jeglicher Behandlungseffekt nur zu einer Hypothese führen.

Ziel war es, die Rolle von EPO bei ACD genauer zu analysieren. Folglich schlossen wir Patienten mit Eisenmangel und solche, die eine Form von Anämietherapie erhielten, aus. In der klinischen Routine bestand jedoch die Schwierigkeit absoluten Eisenmangel von der Eisenhaushaltsdysregulation unter dem Einfluss der Inflammation zu unterscheiden, da keine Messung des löslichen Transferrinrezeptors oder der Hepcidinkonzentration durchgeführt wurde. Ferner kann eine Knochenmarksresistenz gegenüber EPO lediglich vermutet werden, da keine Retikulozytenzählung für die Auswertung zur Verfügung stand.

Ogleich die Ergebnisse nicht mit denen einer Kontrollgruppe verglichen wurden, blieben die Prädiktoren der EPO-Spiegel durch die ganze Analyse hindurch stark und unabhängig. Außerdem sind wir durch unsere Ausschlusskriterien in der Lage, EPO-Spiegel in einem Setting zu beschreiben, dass den naturgemäßen Verlauf der diabetischen Nephropathie widerspiegeln dürfte.

#### **4.8 Schlussfolgerung**

In der untersuchten Kohorte, bestehend aus Typ 2-Diabetikern mit chronischer Niereninsuffizienz, waren die EPO-Spiegel im Wesentlichen durch Entzündungsparameter vorausgesagt und weitgehend unabhängig von Nierenfunktion und Hämoglobin.

Neben funktionellem EPO-Mangel und relativem Eisenmangel, könnte die Resistenz des Knochenmarks gegen den Einfluss des Erythropoietins die bereits bestehende Beeinträchtigung der Hämoglobinregulation zusätzlich verschlimmern.

Eine Behandlung mit Statinen kann möglicherweise über eine Verringerung der Inflammation die EPO-Resistenz günstig beeinflussen. Diese Hypothesen müssen allerdings in Längsschnittuntersuchungen und in Interventionsstudien noch bewiesen werden. Dennoch könnten sie in Zukunft neue Therapiechancen für Patienten mit Diabetes mellitus bieten.

## 5. Zusammenfassung

Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und chronischer Niereninsuffizienz ist Anämie häufig. Zum Teil ist sie durch ungenügende EPO-Produktion bedingt. Zusätzlich wird die Hämoglobinsynthese, wie bei der Anämie chronischer Krankheiten (anemia of chronic disease, ACD) beschrieben, durch entzündliche Vorgänge unterdrückt. Der Stellenwert endogenen Erythropoietins bei Patienten mit diabetischer Nephropathie und ACD bleibt noch unsicher sowie auch der Zusammenhang zwischen EPO und der Nierenfunktion.

Diese Querschnittsanalyse schloss 244 Patienten mit Typ 2-Diabetes in allen Stadien chronischer Niereninsuffizienz (CNI-Stadium 1-5) ein. Das mediane Alter betrug 67 Jahre, 54 % waren männlich und die mediane GFR lag bei 49 ml/min. Gemäß den Definitionen der K/DOQI-Richtlinien waren 41 % der Patienten anämisch. Von der Studie ausgeschlossen wurden wegen der Anämie behandelte Patienten und solche mit Eisenmangel. Prädiktoren der log-transformierten EPO-Spiegel wurden unter Benutzung multivariater linearer Regressionsmodelle ausgewertet.

Die univariate und inverse Beziehung zwischen GFR und EPO-Spiegeln ( $p = 0,009$ ) wurde in der multivariaten Analyse nicht-signifikant. Erhöhtes CRP ( $p < 0,001$ ), niedriges Ferritin ( $p = 0,002$ ), kardiovaskuläre Ereignisse in der Vorgeschichte ( $p = 0,02$ ) und Hypertension ( $p = 0,04$ ) waren nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, Hb, GFR und andere klinische Faktoren unabhängig mit erhöhten EPO-Spiegeln assoziiert. In der untersuchten Population fand sich kein Zusammenhang zwischen EPO-Spiegeln und Hämoglobin.

Bei diabetischen Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz werden die EPO-Spiegel trotz gleichzeitig niedriger Hämoglobinspiegel vor allem durch Entzündungsparameter und den Eisenstatus vorhergesagt und sind dabei unabhängig von der Nierenfunktion. Deshalb könnte die Anämie bei Patienten mit diabetischer Nephropathie hauptsächlich durch Inflammation entstehen, die zu einem relativen Eisenmangel und einer Resistenz des Knochenmarks gegenüber endogenem EPO führt.

## 6. Literaturverzeichnis

1. WHO, [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/print.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/print.html). 2008.
2. Hasslacher C, Borgholte G, Panradl U und Wahl P, *Improved prognosis of Type I and Type II diabetics with nephropathy*. Med Klin (Munich), 1990. **85**(11): p. 643-6.
3. Chantrel F, Enache I, Bouiller M, Kolb I, Kunz K, Petitjean P, Moulin B und Hannedouche T, *Abysmal prognosis of patients with type 2 diabetes entering dialysis*. Nephrol Dial Transplant, 1999. **14**(1): p. 129-36.
4. Deray G, Heurtier A, Grimaldi A, Launay Vacher V und Isnard Bagnis C, *Anemia and diabetes*. Am J Nephrol, 2004. **24**(5): p. 522-6.
5. Scherbaum W. und Ritz E, *Prävention und Therapie der diabetischen Nephropathie*. Dtsch Arztebl, 2005. **102 Suppl. 3**: p. A 137-143.
6. Ritz E, Rychlik I, Locatelli F und Halimi S, *End-stage renal failure in type 2 diabetes: A medical catastrophe of worldwide dimensions*. Am J Kidney Dis, 1999. **34**(5): p. 795-808.
7. Liebl A, Spannheimer A, Reitberger U und Gortz A, *[Costs of long-term complications in type 2 diabetes patients in Germany. Results of the CODE-2 Study]*. Med Klin (Munich), 2002. **97**(12): p. 713-9.
8. Thomas MC, MacIsaac RJ, Tsalamandris C, Molyneaux L, Goubina I, Fulcher G, Yue D und Jerums G, *The burden of anaemia in type 2 diabetes and the role of nephropathy: a cross-sectional audit*. Nephrol Dial Transplant, 2004. **19**(7): p. 1792-7.
9. Thomas MC, MacIsaac RJ, Tsalamandris C, Power D und Jerums G, *Unrecognized anemia in patients with diabetes: a cross-sectional survey*. Diabetes Care, 2003. **26**(4): p. 1164-9.
10. Craig KJ, Williams JD, Riley SG, Smith H, Owens DR, Worthing D, Cavill I und Phillips AO, *Anemia and diabetes in the absence of nephropathy*. Diabetes Care, 2005. **28**(5): p. 1118-23.
11. Astor BC, Muntner P, Levin A, Eustace JA und Coresh J, *Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994)*. Arch Intern Med, 2002. **162**(12): p. 1401-8.

12. Ritz E und Haxsen V, *Diabetic nephropathy and anaemia*. Eur J Clin Invest, 2005. **35 Suppl 3**: p. 66-74.
13. Stevens PE, O'Donoghue DJ und Lameire NR, *Anaemia in patients with diabetes: unrecognised, undetected and untreated?* Curr Med Res Opin, 2003. **19(5)**: p. 395-401.
14. Marcelli D, Spotti D, Conte F, Limido A, Lonati F, Malberti F und Locatelli F, *Prognosis of diabetic patients on dialysis: analysis of Lombardy Registry data*. Nephrol Dial Transplant, 1995. **10(10)**: p. 1895-900.
15. Ghavamian M, Gutch CF, Kopp KF und Kolff WJ, *The sad truth about hemodialysis in diabetic nephropathy*. JAMA, 1972. **222(11)**: p. 1386-9.
16. Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB und Smith DH, *Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization*. Arch Intern Med, 2004. **164(6)**: p. 659-63.
17. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Murray DC und Barre PE, *The impact of anemia on cardiomyopathy, morbidity, and mortality in end-stage renal disease*. Am J Kidney Dis, 1996. **28(1)**: p. 53-61.
18. Foley RN, Murray AM, Li S, Herzog CA, McBean AM, Eggers PW und Collins AJ, *Chronic kidney disease and the risk for cardiovascular disease, renal replacement, and death in the United States Medicare population, 1998 to 1999*. J Am Soc Nephrol, 2005. **16(2)**: p. 489-95.
19. Joss N, Patel R, Paterson K, Simpson K, Perry C und Stirling C, *Anaemia is common and predicts mortality in diabetic nephropathy*. QJM, 2007. **100(10)**: p. 641-7.
20. Vlagopoulos PT, Tighiouart H, Weiner DE, Griffith J, Pettitt D, Salem DN, Levey AS und Sarnak MJ, *Anemia as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality in diabetes: the impact of chronic kidney disease*. J Am Soc Nephrol, 2005. **16(11)**: p. 3403-10.
21. Weiner DE, Tighiouart H, Vlagopoulos PT, Griffith JL, Salem DN, Levey AS und Sarnak MJ, *Effects of anemia and left ventricular hypertrophy on cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease*. J Am Soc Nephrol, 2005. **16(6)**: p. 1803-10.
22. Eckardt KU, *Cardiovascular consequences of renal anaemia and erythropoietin therapy*. Nephrol Dial Transplant, 1999. **14(5)**: p. 1317-23.

23. London GM, *Left ventricular alterations and end-stage renal disease*. Nephrol Dial Transplant, 2002. **17 Suppl 1**: p. 29-36.
24. Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD, Kent GM, Murray DC und Barre PE, *Outcome and risk factors for left ventricular disorders in chronic uraemia*. Nephrol Dial Transplant, 1996. **11(7)**: p. 1277-85.
25. Levin A, *Anemia and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease populations: a review of the current state of knowledge*. Kidney Int Suppl, 2002(80): p. 35-8.
26. Qiao Q, Keinanen-Kiukaanniemi S und Laara E, *The relationship between hemoglobin levels and diabetic retinopathy*. J Clin Epidemiol, 1997. **50(2)**: p. 153-8.
27. Davis MD, Fisher MR, Gangnon RE, Barton F, Aiello LM, Chew EY, Ferris FL, 3rd und Knatterud GL, *Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report #18*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998. **39(2)**: p. 233-52.
28. Breyer JA, Bain RP, Evans JK, Nahman NS, Jr., Lewis EJ, Cooper M, McGill J und Berl T, *Predictors of the progression of renal insufficiency in patients with insulin-dependent diabetes and overt diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group*. Kidney Int, 1996. **50(5)**: p. 1651-8.
29. Keane WF, Brenner BM, de Zeeuw D, Grunfeld JP, McGill J, Mitch WE, Ribeiro AB, Shahinfar S, Simpson RL, Snapinn SM und Toto R, *The risk of developing end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy: the RENAAL study*. Kidney Int, 2003. **63(4)**: p. 1499-507.
30. Camargo JL und Gross JL, *Conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method*. J Clin Pathol, 2004. **57(4)**: p. 346-9.
31. Zanjani ED, Poster J, Burlington H, Mann LI und Wasserman LR, *Liver as the primary site of erythropoietin formation in the fetus*. J Lab Clin Med, 1977. **89(3)**: p. 640-4.
32. Nangaku M und Eckardt KU, *Pathogenesis of renal anemia*. Semin Nephrol, 2006. **26(4)**: p. 261-8.
33. Erslev AJ, Caro J, Miller O und Silver R, *Plasma erythropoietin in health and disease*. Ann Clin Lab Sci, 1980. **10(3)**: p. 250-7.

34. Koury MJ und Bondurant MC, *Control of red cell production: the roles of programmed cell death (apoptosis) and erythropoietin*. Transfusion, 1990. **30**(8): p. 673-4.
35. Fisher JW, *Erythropoietin: physiology and pharmacology update*. Exp Biol Med (Maywood), 2003. **228**(1): p. 1-14.
36. Semenza GL und Wang GL, *A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation*. Mol Cell Biol, 1992. **12**(12): p. 5447-54.
37. Nangaku M, Inagi R, Miyata T und Fujita T, *Hypoxia and hypoxia-inducible factor in renal disease*. Nephron Exp Nephrol, 2008. **110**(1): p. e1-7.
38. Stockmann C und Fandrey J, *Hypoxia-induced erythropoietin production: a paradigm for oxygen-regulated gene expression*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2006. **33**(10): p. 968-79.
39. Eckardt KU und Kurtz A, *Regulation of erythropoietin production*. Eur J Clin Invest, 2005. **35 Suppl 3**: p. 13-9.
40. Weiss G und Goodnough LT, *Anemia of chronic disease*. N Engl J Med, 2005. **352**(10): p. 1011-23.
41. Seldin DW und Giebisch GH, *The kidney : physiology and pathophysiology*. 2nd ed. 1992, New York: Raven Press. 3 Bde. (XXXI, 3816 S.).
42. Bright R, *Cases and observations, illustrative of renal disease accompanied with the secretion of albuminous urine*. Guys Hops Rep, 1836: p. 338-400.
43. *KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease*. Am J Kidney Dis, 2006. **47**(5 Suppl 3): p. S11-145.
44. Fioretto P, Mauer M, Brocco E, Velussi M, Frigato F, Muollo B, Sambataro M, Abaterusso C, Baggio B, Crepaldi G und Nosadini R, *Patterns of renal injury in NIDDM patients with microalbuminuria*. Diabetologia, 1996. **39**(12): p. 1569-76.
45. *K/DOQI clinical practice guidelines for cardiovascular disease in dialysis patients*. Am J Kidney Dis, 2005. **45**(4 Suppl 3): p. S1-153.
46. Eschbach JW, *The anemia of chronic renal failure: pathophysiology and the effects of recombinant erythropoietin*. Kidney Int, 1989. **35**(1): p. 134-48.

47. Mason-Garcia M, Beckman BS, Brookins JW, Powell JS, Lanham W, Blaisdell S, Keay L, Li SC und Fisher JW, *Development of a new radioimmunoassay for erythropoietin using recombinant erythropoietin*. *Kidney Int*, 1990. **38**(5): p. 969-75.
48. Eckardt KU, *Pathophysiology of renal anemia*. *Clin Nephrol*, 2000. **53**(1 Suppl): p. S2-8.
49. Bosman DR, Winkler AS, Marsden JT, Macdougall IC und Watkins PJ, *Anemia with erythropoietin deficiency occurs early in diabetic nephropathy*. *Diabetes Care*, 2001. **24**(3): p. 495-9.
50. Thomas MC, Tsalamandris C, Macisaac R und Jerums G, *Functional erythropoietin deficiency in patients with Type 2 diabetes and anaemia*. *Diabet Med*, 2006. **23**(5): p. 502-9.
51. Anand I, McMurray JJ, Whitmore J, Warren M, Pham A, McCamish MA und Burton PB, *Anemia and its relationship to clinical outcome in heart failure*. *Circulation*, 2004. **110**(2): p. 149-54.
52. Ezekowitz JA, McAlister FA und Armstrong PW, *Anemia is common in heart failure and is associated with poor outcomes: insights from a cohort of 12 065 patients with new-onset heart failure*. *Circulation*, 2003. **107**(2): p. 223-5.
53. Means RT, Jr. und Krantz SB, *Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease*. *Blood*, 1992. **80**(7): p. 1639-47.
54. Herzog CA, Muster HA, Li S und Collins AJ, *Impact of congestive heart failure, chronic kidney disease, and anemia on survival in the Medicare population*. *J Card Fail*, 2004. **10**(6): p. 467-72.
55. Eschbach JW, *Anemia management in chronic kidney disease: role of factors affecting epoetin responsiveness*. *J Am Soc Nephrol*, 2002. **13**(5): p. 1412-4.
56. King DE, Mainous AG, 3rd, Buchanan TA und Pearson WS, *C-reactive protein and glycemic control in adults with diabetes*. *Diabetes Care*, 2003. **26**(5): p. 1535-9.
57. Wellen KE und Hotamisligil GS, *Inflammation, stress, and diabetes*. *J Clin Invest*, 2005. **115**(5): p. 1111-9.
58. Ludwiczek S, Aigner E, Theurl I und Weiss G, *Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells*. *Blood*, 2003. **101**(10): p. 4148-54.

59. Andrews NC, *Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link*. J Clin Invest, 2004. **113**(9): p. 1251-3.
60. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK und Ganz T, *IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin*. J Clin Invest, 2004. **113**(9): p. 1271-6.
61. Laftah AH, Ramesh B, Simpson RJ, Solanky N, Bahram S, Schumann K, Debnam ES und Srail SK, *Effect of hepcidin on intestinal iron absorption in mice*. Blood, 2004. **103**(10): p. 3940-4.
62. Knudson M, Kulkarni S, Ballas ZK, Bessler M und Goldman F, *Association of immune abnormalities with telomere shortening in autosomal-dominant dyskeratosis congenita*. Blood, 2005. **105**(2): p. 682-8.
63. van der Putten K, Braam B, Jie KE und Gaillard CA, *Mechanisms of Disease: erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure*. Nat Clin Pract Nephrol, 2008. **4**(1): p. 47-57.
64. Torti FM und Torti SV, *Regulation of ferritin genes and protein*. Blood, 2002. **99**(10): p. 3505-16.
65. Means RT, Jr., *Recent developments in the anemia of chronic disease*. Curr Hematol Rep, 2003. **2**(2): p. 116-21.
66. Wang CQ, Udupa KB und Lipschitz DA, *Interferon-gamma exerts its negative regulatory effect primarily on the earliest stages of murine erythroid progenitor cell development*. J Cell Physiol, 1995. **162**(1): p. 134-8.
67. Taniguchi S, Dai CH, Price JO und Krantz SB, *Interferon gamma downregulates stem cell factor and erythropoietin receptors but not insulin-like growth factor-I receptors in human erythroid colony-forming cells*. Blood, 1997. **90**(6): p. 2244-52.
68. Maciejewski JP, Selleri C, Sato T, Cho HJ, Keefer LK, Nathan CF und Young NS, *Nitric oxide suppression of human hematopoiesis in vitro. Contribution to inhibitory action of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha*. J Clin Invest, 1995. **96**(2): p. 1085-92.
69. Miller CB, Jones RJ, Piantadosi S, Abeloff MD und Spivak JL, *Decreased erythropoietin response in patients with the anemia of cancer*. N Engl J Med, 1990. **322**(24): p. 1689-92.
70. Cazzola M, Ponchio L, de Benedetti F, Ravelli A, Rosti V, Beguin Y, Invernizzi R, Barosi G und Martini A, *Defective iron supply for erythropoiesis and*

*adequate endogenous erythropoietin production in the anemia associated with systemic-onset juvenile chronic arthritis.* Blood, 1996. **87**(11): p. 4824-30.

71. Means RT, Jr. und Krantz SB, *Inhibition of human erythroid colony-forming units by gamma interferon can be corrected by recombinant human erythropoietin.* Blood, 1991. **78**(10): p. 2564-7.
72. Locatelli F, Andrulli S, Memoli B, Maffei C, Del Vecchio L, Aterini S, De Simone W, Mandalari A, Brunori G, Amato M, Cianciaruso B und Zoccali C, *Nutritional-inflammation status and resistance to erythropoietin therapy in haemodialysis patients.* Nephrol Dial Transplant, 2006. **21**(4): p. 991-8.
73. Moldawer LL, Marano MA, Wei H, Fong Y, Silen ML, Kuo G, Manogue KR, Vlassara H, Cohen H, Cerami A und et al., *Cachectin/tumor necrosis factor-alpha alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo.* FASEB J, 1989. **3**(5): p. 1637-43.
74. Spivak JL, *Iron and the anemia of chronic disease.* Oncology (Williston Park), 2002. **16**(9 Suppl 10): p. 25-33.
75. Matzner Y, Levy S, Grossowicz N, Izak G und Hershko C, *Prevalence and causes of anemia in elderly hospitalized patients.* Gerontology, 1979. **25**(2): p. 113-9.
76. Weiss G, *Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease.* Blood Rev, 2002. **16**(2): p. 87-96.
77. Soriano S, Gonzalez L, Martin-Malo A, Rodriguez M und Aljama P, *C-reactive protein and low albumin are predictors of morbidity and cardiovascular events in chronic kidney disease (CKD) 3-5 patients.* Clin Nephrol, 2007. **67**(6): p. 352-7.
78. Wanner C, Krane V, Marz W, Olschewski M, Mann JF, Ruf G und Ritz E, *Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis.* N Engl J Med, 2005. **353**(3): p. 238-48.
79. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T und Wanner C, *Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients.* Kidney Int, 1999. **55**(2): p. 648-58.
80. Genser B, Grammer TB, Stojakovic T, Siekmeier R und Maerz W, *Effect of HMG CoA reductase inhibitors on low-density lipoprotein cholesterol and C-reactive protein: systematic review and meta-analysis.* Int J Clin Pharmacol Ther, 2008. **Volume 46**(October): p. 497-510.

81. Albert MA, Danielson E, Rifai N und Ridker PM, *Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study*. JAMA, 2001. **286**(1): p. 64-70.
82. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT und Glynn RJ, *Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein*. N Engl J Med, 2008. **359**(21): p. 2195-207.
83. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS und Gotto AM, Jr., *Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events*. N Engl J Med, 2001. **344**(26): p. 1959-65.
84. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moye LA, Goldman S, Flaker GC und Braunwald E, *Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators*. Circulation, 1998. **98**(9): p. 839-44.
85. Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, Wiviott SD, Blazing MA, Shui A, Rifai N, Califf RM und Braunwald E, *Clinical relevance of C-reactive protein during follow-up of patients with acute coronary syndromes in the Aggrastat-to-Zocor Trial*. Circulation, 2006. **114**(4): p. 281-8.
86. Ferrario CM und Strawn WB, *Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and proinflammatory mediators in cardiovascular disease*. Am J Cardiol, 2006. **98**(1): p. 121-8.
87. Marketou ME, Zacharis EA, Koukouraki S, Stathaki MI, Arfanakis DA, Kochiadakis GE, Chlouverakis G, Karkavitsas NS und Vardas PE, *Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on systemic inflammation and myocardial sympathetic innervation in normotensive patients with type 2 diabetes mellitus*. J Hum Hypertens, 2008. **22**(3): p. 191-6.
88. Cleland JG, Dargie HJ, Hodsmen GP, Ball SG, Robertson JI, Morton JJ, East BW, Robertson I, Murray GD und Gillen G, *Captopril in heart failure. A double blind controlled trial*. Br Heart J, 1984. **52**(5): p. 530-5.
89. Cleland JG, Gillen G und Dargie HJ, *The effects of frusemide and angiotensin-converting enzyme inhibitors and their combination on cardiac and renal haemodynamics in heart failure*. Eur Heart J, 1988. **9**(2): p. 132-41.

90. Azizi M, Rousseau A, Ezan E, Guyene TT, Michelet S, Grognet JM, Lenfant M, Corvol P und Menard J, *Acute angiotensin-converting enzyme inhibition increases the plasma level of the natural stem cell regulator N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline*. J Clin Invest, 1996. **97**(3): p. 839-44.
91. van der Meer P, Lipsic E, Westenbrink BD, van de Wal RM, Schoemaker RG, Vellenga E, van Veldhuisen DJ, Voors AA und van Gilst WH, *Levels of hematopoiesis inhibitor N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline partially explain the occurrence of anemia in heart failure*. Circulation, 2005. **112**(12): p. 1743-7.
92. Mast AE, Blinder MA, Gronowski AM, Chumley C und Scott MG, *Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations*. Clin Chem, 1998. **44**(1): p. 45-51.
93. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N und Roth D, *A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group*. Ann Intern Med, 1999. **130**(6): p. 461-70.
94. *K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification*. Am J Kidney Dis, 2002. **39**(2 Suppl 1): p. S1-266.
95. Menon V, Wang X, Greene T, Beck GJ, Kusek JW, Marcovina SM, Levey AS und Sarnak MJ, *Relationship between C-reactive protein, albumin, and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease*. Am J Kidney Dis, 2003. **42**(1): p. 44-52.
96. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HA, Livingstone SJ, Thomason MJ, Mackness MI, Charlton-Menys V und Fuller JH, *Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial*. Lancet, 2004. **364**(9435): p. 685-96.
97. McGill JB und Bell DS, *Anemia and the role of erythropoietin in diabetes*. J Diabetes Complications, 2006. **20**(4): p. 262-72.
98. Ganz T, *Molecular control of iron transport*. J Am Soc Nephrol, 2007. **18**(2): p. 394-400.
99. Erslev AJ, *Erythropoietin*. N Engl J Med, 1991. **324**(19): p. 1339-44.
100. Spallone V, Maiello MR, Kurukulasuriya N, Barini A, Lovecchio M, Tartaglione R, Mennuni G und Menzinger G, *Does autonomic neuropathy play*

*a role in erythropoietin regulation in non-proteinuric Type 2 diabetic patients?*  
Diabet Med, 2004. **21**(11): p. 1174-80.

101. Mathias CJ und Bannister R, *Autonomic failure : a textbook of clinical disorders of the autonomic nervous system*. 4th ed. Oxford medical publications. 1999, Oxford: Oxford University Press. xxix, 562 p.
102. Fink GD und Fisher JW, *Erythropoietin production after renal denervation or beta-adrenergic blockade*. Am J Physiol, 1976. **230**(2): p. 508-13.
103. Beynon G, *The influence of the autonomic nervous system in the control of erythropoietin secretion in the hypoxic rat*. J Physiol, 1977. **266**(2): p. 347-60.
104. Biaggioni I, Robertson D, Krantz S, Jones M und Haile V, *The anemia of primary autonomic failure and its reversal with recombinant erythropoietin*. Ann Intern Med, 1994. **121**(3): p. 181-6.
105. Perera R, Isola L und Kaufmann H, *Effect of recombinant erythropoietin on anemia and orthostatic hypotension in primary autonomic failure*. Clin Auton Res, 1995. **5**(4): p. 211-3.
106. Ando Y, Asahara K, Obayashi K, Suhr O, Yonemitsu M, Yamashita T, Tashima K, Uchino M und Ando M, *Autonomic dysfunction and anemia in neurologic disorders*. J Auton Nerv Syst, 1996. **61**(2): p. 145-8.
107. Singh DK, Winocour P und Farrington K, *Mechanisms of disease: the hypoxic tubular hypothesis of diabetic nephropathy*. Nat Clin Pract Nephrol, 2008. **4**(4): p. 216-26.
108. Ferrucci L, Guralnik JM, Bandinelli S, Semba RD, Lauretani F, Corsi A, Ruggiero C, Ershler WB und Longo DL, *Unexplained anaemia in older persons is characterised by low erythropoietin and low levels of pro-inflammatory markers*. Br J Haematol, 2007. **136**(6): p. 849-55.
109. Tsitsika A, Stamoulakatou A, Kafritsa Y, Paleologos G, Panayotou I, Premetis E, Roma E und Papassotiriou I, *Erythropoietin levels in children and adolescents with inflammatory bowel disease*. J Pediatr Hematol Oncol, 2005. **27**(2): p. 93-6.
110. van der Meer P, Lok DJ, Januzzi JL, de la Porte PW, Lipsic E, van Wijngaarden J, Voors AA, van Gilst WH und van Veldhuisen DJ, *Adequacy of endogenous erythropoietin levels and mortality in anaemic heart failure patients*. Eur Heart J, 2008. **29**(12): p. 1510-5.

111. Caro J, Brown S, Miller O, Murray T und Erslev AJ, *Erythropoietin levels in uremic nephric and anephric patients*. J Lab Clin Med, 1979. **93**(3): p. 449-58.
112. Macdougall IC, *Poor response to erythropoietin: practical guidelines on investigation and management*. Nephrol Dial Transplant, 1995. **10**(5): p. 607-14.
113. Regidor DL, Kopple JD, Kovesdy CP, Kilpatrick RD, McAllister CJ, Aronovitz J, Greenland S und Kalantar-Zadeh K, *Associations between changes in hemoglobin and administered erythropoiesis-stimulating agent and survival in hemodialysis patients*. J Am Soc Nephrol, 2006. **17**(4): p. 1181-91.
114. Arabul M, Gullulu M, Yilmaz Y, Akdag I, Kahvecioglu S, Eren MA und Dilek K, *Effect of fluvastatin on serum prohepcidin levels in patients with end-stage renal disease*. Clin Biochem, 2008. **41**(13): p. 1055-8.

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. L. Schramm für die Überlassung des Themas sowie für die überaus hilfsbereite und freundliche Betreuung bedanken.

Besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. M. Wagner für seine kompetenten fachlichen Anregungen und die herzliche Betreuung.

Herrn Prof. Dr. C Wanner danke ich für die Übernahme des Koreferates und die unkomplizierte, sehr gute Zusammenarbeit mit der Medizinischen Klinik I der Universität Würzburg.

Herrn Professor Dr. med. G. Ertl, Direktor der Medizinischen Klinik und Poliklinik I der Universität Würzburg, danke ich für die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Klinik anfertigen zu können.

Für die Unterstützung bei der Datenerhebung gilt mein aufrichtiger Dank dem gesamten Praxisteam der Praxis Prof. Dr. Schramm, Dr. Zimmermann, Priv.-Doz. Dr. Netzer, Dr. Heyd-Schramm in Würzburg, Frau Irmeler-Mercier von der Nephrologischen Ambulanz der Universitätsklinik Würzburg sowie Herrn Kress und Frau Münzer vom Dokumentenservice des Erthal Sozialwerks.

Abschließend danke ich besonders meiner Familie und David für ihre moralische Unterstützung.