

Institut für klinische Transfusionsmedizin

und Immungenetik

Universität Ulm

Direktor: Prof. Dr. med. Hubert Schrezenmeier

**Hepcidin-Ferritin-Quotient als Vorhersageprädiktor für die
spontane Regeneration des Eisenverlustes nach einer
Blutspende**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Christine Kroll
geboren in Ludwigsburg

2015

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

Erster Berichterstatter: Prof. Dr. Ramin Lotfi

Zweiter Berichterstatter: Prof. Dr. Marion Schneider

Tag der Promotion: 07.07.2016

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	7
2.1. Probanden	7
2.2. Blutproben	7
2.3. Statistik	8
3. Ergebnisse	9
3.1. Subklinischer Eisenmangel zeigt sich zehnmal häufiger bei Dauerspendern als in der Normalbevölkerung	9
3.2. Ohne orale Eisensubstitution erholen sich Spender in unterschiedlichem Ausmaß von der Eisendepletion	13
3.3. Blutspender mit einem Hcpidin-Ferritin-Quotient $<0,3$ erholen sich signifikant besser vom Eisenverlust	15
4. Diskussion	19
5. Zusammenfassung	23
6. Literaturverzeichnis	24
Lebenslauf	28

Abkürzungsverzeichnis

BMI:	Body Mass Index
DMT:	divalenter Metalltransporter
ELISA:	Enzymgekoppelter Immunoabsorptionstest
EPO:	Erythropoietin
GDF-15:	Growth Differentiation Factor 15
Hb:	Hämoglobin
SID:	“subclinical iron deficiency” = Subklinischer Eisenmangel
Trf:	Transferrin
Trf-R:	Transferrin-Rezeptor
TWSG1:	“twisted gastrulation protein homolog 1”

1. Einleitung

Die Bestimmung des Hämoglobin-Wertes (Hb) vor einer Blutspende ist das Standardvorgehen, um Blutspender vor einer kritischen Anämisierung zu schützen; der Grenzwert für die Zulassung zur Blutspende in Deutschland ist gemäß der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten der Bundesärztekammer derzeit ein Mindest-Hb-Wert von 13,5 g/dl für Männer und 12,5 g/dl für Frauen. Der Hb-Wert von potentiellen Blutspendern wird dabei üblicherweise durch eine kapilläre Blutabnahme mittels der Fingerstichmethode gemessen. Ungeachtet der Tatsache dessen, dass die Zuverlässigkeit der kapillären Hb-Messung kontrovers diskutiert wird [6;17;21;28] kann ein subklinischer Eisenmangel („subclinical iron deficiency“: SID) bei Blutspendern durch Messung des Hb-Wertes nicht festgestellt werden. Eine Vollblutspende von ca. 500 ml geht mit einem Eisenverlust von ungefähr 200 - 250 mg einher [30], ein engagierter Mehrfachblutspender ist somit durch seine regelmäßige Spendetätigkeit - insbesondere bei einem kurzen Spendeintervall - durch den mit dem Blutverlust einhergehenden Eisenverlust anfällig für einen Hb-Abfall unterhalb der für eine Blutspende zulässigen Hb-Grenze. Etwa 10% der Spender, deren Hb-Wert sie für eine Blutspende qualifiziert, weisen dennoch einen SID auf [3]. Eine frühzeitige Erkennung und Vorbeugung einer blutspendebedingten Eisendepletion mit konsekutiver Anämieentwicklung sollte somit eines der Hauptanliegen der Blutspendeeinrichtungen sein. Diese Art der Prophylaxe dient letztendlich nicht nur dem Spenderschutz sondern auch der Allgemeinheit durch die Sicherung der anhaltenden Blutversorgung eines Landes. Der niedrige Hb-Wert ist der häufigste Grund für eine Rückstellung eines Spendewilligen von der Blutspende [29]. Eine orale Eisensubstitution wird autologen Blutspendern vor einer chirurgischen Intervention sowie Personen, die häufig Blut spenden, empfohlen. Gleichwohl ist der Begriff „häufig“ nicht gut definiert und die Effizienz einer solchen Empfehlung zur Eiseneinnahme kaum überwacht.

Angesichts der Tatsache dessen, dass es große interindividuelle Unterschiede in der intestinalen Eisenresorption des oral verabreichten Eisens gibt [12], scheint es sinnvoll, näher zu bestimmen, welcher Spender von einer oralen Eisensubstitution

profitiert und welcher Spender hingegen eher von einem längeren Intervall zwischen den einzelnen Blutspenden.

Erythropoietin (EPO), Ferritin, Transferrin (Trf) und sein Rezeptor (Trf-R), Hpcidin, „growth differentiation factor 15“ (GDF-15) und „twisted gastrulation protein homolog 1“ (TWSG1) gehören zu den Faktoren, die eine wichtige Rolle in der Hämatopoese und im Eisenhaushalt spielen, der Hb-Gehalt der Retikulozyten (HbReti) ist ein früher und sensitiver Indikator des funktionellen Eisenmangels während der Erythropoese [36].

EPO steigt als Folge der Anämie-bedingten Hypoxie bei einem Hb-Abfall rapide an und normalisiert sich nach einem Hb-Ausgleich [18].

Ferritin ist ein ubiquitäres intrazelluläres Protein, das der Eisenspeicherung und der kontrollierten Freisetzung von Eisen dient. Der Plasmaferritinspiegel ist außerdem ein indirekter Marker des gesamten Körperspeichereisens und wird daher zur Diagnose eines Eisenmangels bestimmt.

Hpcidin wird überwiegend von Hepatozyten gebildet und reguliert die Eisenresorption und -wiederverwertung über seine Wirkung auf DMT1 (divalenter Metalltransporter 1) und Ferroportin, das zelluläre Eisenexportprotein [11]. DMT1 erleichtert die Aufnahme des zweiwertigen Eisens aus dem Darmlumen in die Enterozyten [7].

DÜNNDARMLUMEN

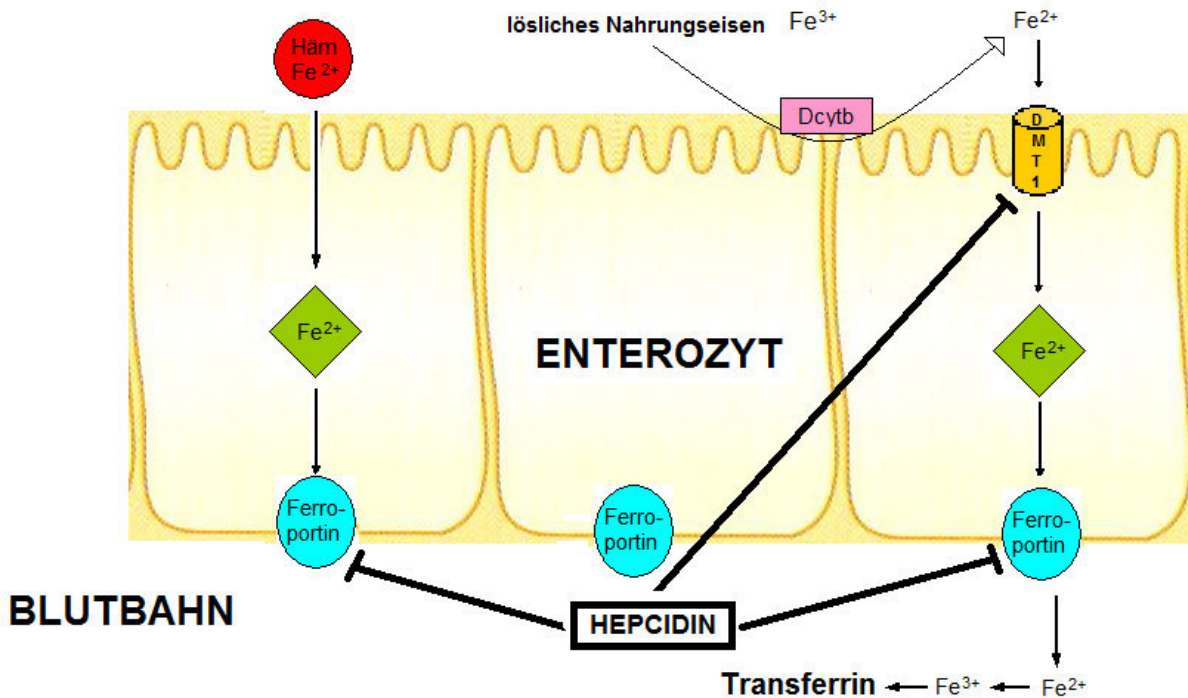


Abbildung 1: Lösliches Nahrungseisen, überwiegend als dreiwertiges Eisen vorliegend, wird nach Reduktion durch das duodenale membranständige Cytochrom B (Dcytb) mittels des Transportproteins divalenter Metalltransporter (DMT1) an der apikalen Zellmembran in die Darmzelle aufgenommen. Das im Nahrungseisen in den Hämgruppen vorliegende zweiwertige Eisen gelangt im Gesamtmolekül in die Darmzelle und wird dort freigesetzt. Durch Ferroportin gelangt das zweiwertige cytosolische Eisen, das nicht in Form von intrazellulärem Ferritin gespeichert wird, anschließend auf der basolateralen Seite der Darmzelle in die Blutbahn, wo es nach Oxidation zu dreiwertigem Eisen an das Transportprotein Transferrin gebunden wird. Ferroportin und DMT1 werden durch Hepcidin gehemmt.

Verschiedene Regulationsmechanismen, bei denen Hepcidin eine Schlüsselfunktion hat, tragen zur Steuerung des Eisenhaushaltes bei. Bei einem erniedrigten Hepcidinspiegel wird die intestinale Resorption des Eisens via Ferroportin gesteigert und zudem die Eisenfreisetzung aus den Makrophagen (und somit die Eisenwiederverwertung) gefördert, wohingegen ein erhöhter Hepcidinspiegel die lysosomale Degradation und Internalisierung des Ferroportins bewirkt, was mit einer Abnahme der Eisenresorption und der Eisenwiederverwertung einhergeht [24]. Die Hepcidinbildung selbst wird durch

Hypoxie und Eisenmangel supprimiert und durch Eisenüberladung und Entzündungsprozesse gesteigert [10;13;20;25;38].

Obwohl EPO den Hepcidinspiegel signifikant senken kann [2], scheint EPO nicht der direkte Regulator des Hepcidins zu sein [26], sondern wirkt indirekt über ein Hormon namens Erythroferrone (ERFE), das von Erythroblasten gebildet wird [19]. Durch eine Transkriptomanalyse wurden GDF-15 und TWSG1 als mögliche Faktoren beschrieben, die von Erythroblasten stammen und den Hepcidinspiegel beeinflussen [31]. Rekombinantes GDF-15 hemmt die Hepcidinexpression in Leberzelllinien [31]. Die Expression von GDF-15 ist am höchsten in reiferen Erythroblasten und zudem assoziiert mit der Apoptose dieser Zellen [32]. Basierend auf Studien mit Patienten mit Beta-Thalassämie und anderen Eisenspeicherkrankheiten sowie entsprechenden Tiermodellen und zellbasierten *in vitro* Versuchen wurde angenommen, dass EPO-stimulierte Erythroblasten Mediatoren freisetzen, die die Hepcidinexpression in der Leber hemmen. Im Falle von Beta-Thalassämie wurde postuliert, dass GDF-15 und TWSG1 als Hepcidinsuppressoren fungieren [31;33].

Trf-R wird in Erythroblasten gebildet [4]. Seine Expression steigt bis zu mittleren Erythroblasten-Reifungsstufen, um anschließend wieder abzunehmen. Somit spiegelt Trf-R die Anzahl unreifer Erythroblasten wider [16].

Dem Logarithmus des Quotienten von Trf-R/Ferritin ($\log[\text{TfR}/\text{F}]$) wurde bereits eine hohe lineare Korrelation zum Körpereisenspeicher zugesprochen, so dass dieser Parameter derzeit als präzisester Wert für die Schätzung des Gesamtkörpereisens gilt [27].

Unterschiedliche Muster der Expression von EPO, Trf-R, und GDF-15 repräsentieren die individuelle physiologische Bedeutung dieser Faktoren und geben einen Einblick in die Erythropoese und Eisenhomöostase: höhere EPO-Spiegel weisen auf eine (relative) Anämie hin, können aber auch eine Suppression der erythroiden Zellen anzeigen. Die Konzentration von Trf-R gibt zwar die gesamterthropoetische Aktivität wider, sagt aber wenig aus über eine ineffektive Erythropoese oder Dyserthropoese, die hingegen am besten mit GDF-15 korrelieren.

Veränderungen der Leber- und Nierenfunktion haben Auswirkungen auf die Konzentration der am Eisenstoffwechsel beteiligten Faktoren. So beeinflussen Lebererkrankungen den Eisenstoffwechsel und die Erythropoese durch die

veränderte Expression von Heparin, EPO, Ferritin und Tfr; deshalb muss beim Messen der Konzentration der erwähnten Faktoren immer eine Parallelbestimmung der Leberenzyme [Alanin-Amino-Transferase (ALT) und Aspartat-Amino-Transferase (AST)] erfolgen.

Da Heparin überwiegend renal ausgeschieden wird, weisen Patienten mit einer Niereninsuffizienz höhere Plasmaheparinspiegel auf [38]. EPO wird in der Niere gebildet, somit zeigen jene Patienten mit einer eingeschränkten Nierenfunktion auch eine inadäquate EPO-Konzentration. Aus den genannten Gründen muss immer eine Kreatininbestimmung erfolgen, wenn EPO- und Heparin-Werte gemessen werden.

Die Bestimmung der Leukozytenzahl im Blutbild sowie die Konzentration von C-reaktivem Protein (CRP) ist begleitend zur Bestimmung der Plasmakonzentrationen von Ferritin und Heparin notwendig, da deren Plasmakonzentrationen sich im Rahmen von Infektionen und sonstigen entzündlichen Prozessen verändern [24].

In dieser Arbeit sollte ein Parameter oder ein Algorithmus definiert werden, um die individuelle Regeneration von blutspendebedingtem Eisenverlust besser vorherzusagen zu können, und dementsprechend eine fundiertere Entscheidung treffen zu können, ob einem Spender die orale Eisensubstitution oder ein längeres Spendeintervall empfohlen werden soll. Um einen entsprechenden Algorithmus zu identifizieren, wurden die oben genannten Faktoren, die mit der Erythropoese und Eisenhomöostase in Zusammenhang stehen, bei Blutspendern untersucht. Der in dieser Arbeit vorgestellte Quotient Heparin/Ferritin qualifiziert als ein solcher Prädiktor.

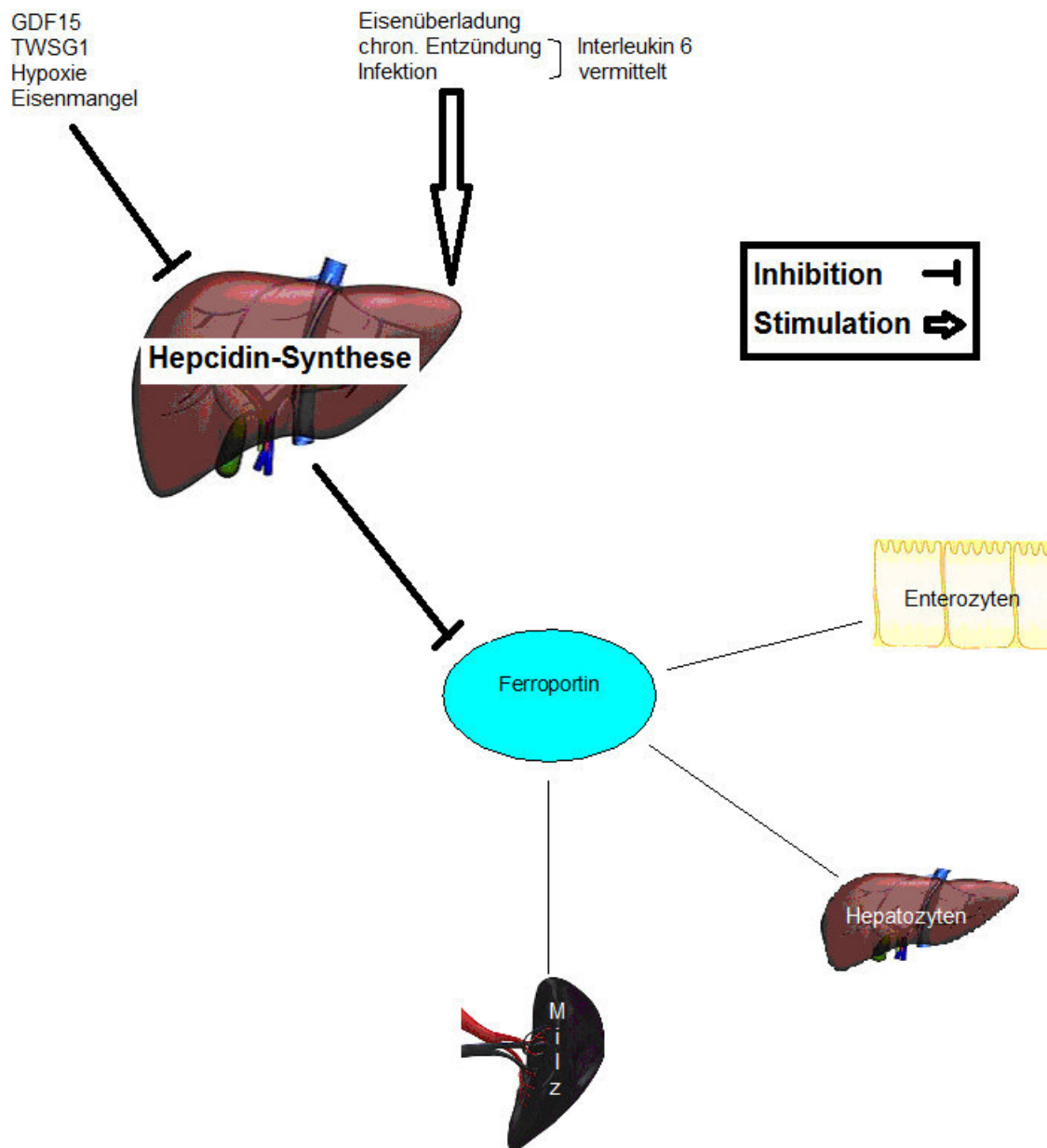


Abbildung 2: Die Hepcidinsynthese wird auf dem Niveau der Transkription durch verschiedene Einflüsse reguliert. Inflammatorische Prozesse sowie eine Eisenüberladung haben einen steigernden Effekt auf die Hepcidinbildung, wohingegen Eisenmangel, Hypoxie und Faktoren, die in erythropoetischen Vorläuferzellen gebildet werden wie GDF-15 und TWSG1 einen hemmenden Effekt auf die Hepcidinbildung haben. Letztendlich wirkt dieses hemmend auf das Ferroportin in verschiedenen Organsystemen.

2. Material und Methoden

2.1 Probanden

Die Studie wurde entsprechend der Statuten durchgeführt, die in der Deklaration von Helsinki festgelegt sind. Das positive Votum der Ethikkommission der Universität Ulm lag vor Studienbeginn vor. Alle eingeschlossenen Blutspender gaben ihre schriftliche Einwilligung zur Blutspende und zur Sammlung der Blutproben.

Die Studie bestand aus einem retrospektiven und einem prospektiven Teil.

Bei der retrospektiven Untersuchung wurden Ferritinwerte von 1664 männlichen Erstspendern mit den Werten von 5073 männlichen Wiederholungsspendern verglichen, die mindestens 10 Blutspenden in der Vorgeschichte aufwiesen. Ein Plasmaferritinwert unter 15 ng/ml wurde als SID definiert.

Die prospektive Untersuchung wurde im Zeitraum vom 01.03.2012 – 31.01.2013 an 27 männlichen, gesunden und regulären Blutspendern durchgeführt, die in den vergangenen 4 Monaten kein Ereignis eines Blutverlustes aufwiesen (wie beispielsweise einen chirurgischen Eingriff oder eine Blutspende). Alle waren Nichtvegetarier und wurden angehalten, während der Dauer der Studie ihre Nahrungsgewohnheiten beizubehalten sowie auf eine orale Eisensubstitution während des Beobachtungszeitraumes zu verzichten. Da Serumhepcidin zirkadiane Schwankungen aufweist, erfolgte die Blutabnahme jeweils im Zeitraum von 07:30 Uhr – 13:30 Uhr. Am Tag der Blutspende betrug die entnommene Menge 530 ml (inklusive der Laborproben).

Unter der Berücksichtigung der Tatsache, dass Entzündungsprozesse Auswirkungen auf den Eisenhaushalt einschließlich der Konzentration des Ferritins sowie des Hpcidins haben, wurden Daten jener Spender mit einem erhöhten CRP-Wert (i.e.: > 5mg/ml) oder einer Leukozytose (i.e.: > 10 K/ μ l) von der Analyse ausgeschlossen.

2.2 Blutproben

Blutproben (10 ml) wurden am Tag der Blutspende (Tag 0), ebenso wie an den Tagen 1, 3, 7, 10 und 56 danach abgenommen, um folgende Parameter zu messen: Erythrozyten, Leukozyten (einschließlich der Granulozyten, Lymphozyten,

Monozyten), Thrombozyten, Hb, Retikulozyten (Reti), HbReti, EPO, Ferritin, TWSG1, GDF-15, Trf, Trf-R, Hpcidin, CRP, ALT, AST und Kreatinin.

Die Bestimmung folgender Werte erfolgte gemäß der Anleitungen der Hersteller mittels enzymgekoppelter Immunoabsorptionstests (ELISA): GDF-15 (R&D Systems, Wiesbaden-Nordenstadt, Deutschland), TWSG1 (Hölzel Diagnostika, Köln, Deutschland) und Hpcidin (DRG Diagnostik, Marburg, Deutschland). Hierbei kam das Plattenlesegerät POLARstar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Deutschland) zum Einsatz, um die Absorption zu messen.

Die Blutbildmessung erfolgte mit dem automatischen Blutanalysegerät CELL-DYN (Abbott, Wiesbaden, Deutschland).

CRP, ALT, AST und Trf-Spiegel wurden mit dem ABX pentra 400 (HORIBA Medical, Axon Lab AG, Deutschland) gemessen unter Verwendung von Reagenzien des Herstellers DiaSys Greiner GmbH (Flacht, Deutschland). Der Ferritinwert wurde mit dem Architect i1000 SR gemessen unter Einsatz von Reagenzien von Abbott (Abbott, Wiesbaden, Deutschland), nach den Angaben des Herstellers.

EPO wurde mit Hilfe des DXI800i (Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland) unter Zusatz des Access EPO Tests von Beckmann Coulter nach den Angaben des Herstellers gemessen. HbReti wurde mit Hilfe des hämatologischen Analysegerätes XE-2100 (Sysmex Europe GmbH, Norderstedt, Deutschland) bestimmt.

2.3 Statistik

Pearson's Product-Moment Korrelation und Student's T-Test wurden unter Verwendung der R Statistical Software berechnet und ein p-Wert $\leq 0,05$ als statistisch signifikant bewertet.

3. Ergebnisse

3.1. Subklinischer Eisenmangel zeigt sich zehnmal häufiger bei Dauerspendern als in der Normalbevölkerung

Im retrospektiven Teil der Studie mit insgesamt 6737 männlichen Spendern lag der durchschnittliche Plasmaferritinspiegel von 1664 männlichen Erstspendern (welche die männliche Allgemeinbevölkerung repräsentieren) bei 107,9 ng/ml (SD = 76,2), hierbei wiesen 1,3% der Individuen einen SID auf (Ferritinspiegel unter 15 ng/ml). Auf der anderen Seite – und in Übereinstimmung mit bereits veröffentlichten Daten [3;23] – zeigten 15% der Mehrfachspender (n = 5073) mit einer Spenderhistorie von mindestens 10 Blutspenden einen SID. Der durchschnittliche Ferritinspiegel dieser Population war mit 49,63 ng/ml (SD=46,5) signifikant niedriger als der durchschnittliche Wert bei Erstspendern (Abb. 3).

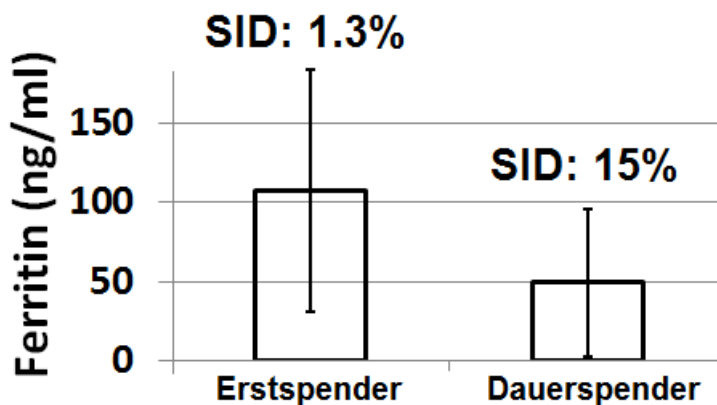


Abbildung 3: Das Auftreten eines latenten Eisenmangels (SID) ist in der Gruppe der Blutspender signifikant höher als in der Allgemeinbevölkerung.

Die Ferritinplasmakonzentration von 1664 männlichen Erstspendern (die männliche Allgemeinbevölkerung repräsentierend) im Vergleich zu 5073 männlichen Mehrfachblutspendern mit einer Anamnese von wenigstens 10 Blutspenden.

Der prospektive Teil der Studie wurde an 27 männlichen Blutspendern mit einem Durchschnittsalter von 34 Jahren (19-53 Jahre, Modalwert: 22) und einem durchschnittlichen Body-Mass-Index (BMI) von 26 (21-32, Modalwert: 26) durchgeführt. Es zeigte sich kein klinischer oder laborchemischer Hinweis auf eine

Infektion oder Entzündung. Leber- und Nierenwerte befanden sich im Normbereich, und alle Spender erfüllten die Kriterien für eine Blutspende mit einem durchschnittlichen Hb-Wert von 160 g/l (140-185 g/l, Modalwert: 161). In dieser Gruppe war ein subklinischer Eisenmangel bei 15% der Blutspender nachweisbar, die dennoch die Eingangskriterien für eine Blutspende bei der Hb-Messung erfüllten (Tabelle1).

Tabelle 1a: Spendermerkmale von 27 männlichen Nichtvegetariern am Tag der Blutspende (Tag 0). Die Daten sind entsprechend der Höhe des Ferritinspiegels sortiert, der mit der Anzahl der vorangehenden Blutspenden korreliert. Vier der 27 (15%) Blutspender zeigten einen latenten Eisenmangel mit einem Ferritinspiegel unter 15 ng/ml, erfüllten aber dennoch die Hb-Kriterien für die Zulassung zur Blutspende.

	Alter (Jahre)	Bisherige Spenden	Größe (m)	Gewicht (kg)	BMI (kg/qm²)	Hb (g/L)	Ferritin (ng/ml)
	21	11	1.80	80	25	140	3
	21	10	1.90	95	26	157	7
	47	27	1.80	83	26	146	8
	25	7	1.85	90	26	152	12
	26	23	1.82	74	22	147	17
	42	50	1.92	117	32	154	20
	30	42	1.76	78	25	162	20
	53	66	1.78	82	26	150	25
	20	11	1.84	95	28	161	27
	22	2	1.74	65	21	163	27
	24	18	1.83	90	27	165	37
	33	28	1.84	90	27	156	39
	41	1	1.72	78	26	146	40
	29	25	1.79	94	29	161	40
	49	13	1.71	67	23	185	41
	46	3	1.84	84	25	155	48
	28	23	1.78	91	29	162	49
	51	10	1.74	76	25	168	52
	41	21	1.77	80	26	171	54
	22	15	1.69	75	26	166	57
	19	1	1.78	80	25	163	62
	28	19	1.84	88	26	168	75
	48	1	1.83	92	27	160	76
	24	1	1.89	84	24	165	77
	22	2	1.77	86	27	177	111
	45	1	1.74	87	29	166	161
	34	3	1.82	88	27	161	237
Mittelwert	33	16	1.80	85	26	160	53
SD	11	16	0.06	10	2	10	50
Median	29	11	1.80	84	26	161	40
Max	53	66	1.92	117	32	185	237
Min	19	1	1.69	65	21	140	3

Tabelle 1b: Relativer Blutverlust durch Blutspende von 530 ml (inkl. Laborproben)

Proband ID-Nr.	Blutvolumen (ml)	relativer Blutverlust (%)
1	6023	8,80
2	7125	7,44
3	6225	8,51
4	6750	7,85
5	5550	9,55
6	8775	6,04
7	5850	9,06
8	6150	8,62
9	7125	7,44
10	4875	10,87
11	6750	7,85
12	6750	7,85
13	5850	9,06
14	7050	7,52
15	5025	10,55
16	6300	8,41
17	6825	7,77
18	5700	9,30
19	6000	8,83
20	5625	9,42
21	6000	8,83
22	6600	8,03
23	6900	7,68
24	6300	8,41
25	6450	8,22
26	6525	8,12
27	6600	8,03
Mittelwert	6359	8,45
SD	764	0,99
Median	6300	8,41
Max	8775	10,87
Min	4875	6,04

3.2. Ohne orale Eisensubstitution erholen sich Spender in unterschiedlichem Ausmaß von der Eisendepletion

Die durchschnittliche Plasmaferritinkonzentration der Blutspender ohne SID (n=23) fiel 56 Tage nach der Blutspende auf 55 % des Ausgangswertes (SD=15%) ab verglichen mit dem Wert vor der Blutspende (Abbildung 4).

Der Logarithmus des Quotienten von Trf-R/Ferritin ($\log[\text{Trf-R}/\text{F}]$) zeigte bereits an Tag 3 einen Abfall im Vergleich zum Wert vor der Blutspende, diese Entwicklung verlief zwar parallel zur Entwicklung der Ferritinwerte, erreichte jedoch deutlich früher eine Signifikanz.

Einen Tag nach der Blutspende (Tag 1) erreichte der EPO-Spiegel sein Maximum (190% verglichen mit dem Ausgangswert an Tag 0), blieb bis Tag 10 auf signifikant höherem Niveau, um dann wieder abzufallen (Abbildung 4). Dementsprechend stiegen die Retikulozytenzahlen bis auf 150% an Tag 7 an und normalisierten sich bis Tag 56. Zu diesem Zeitpunkt normalisierte sich auch der Hb-Wert (Abbildung 4).

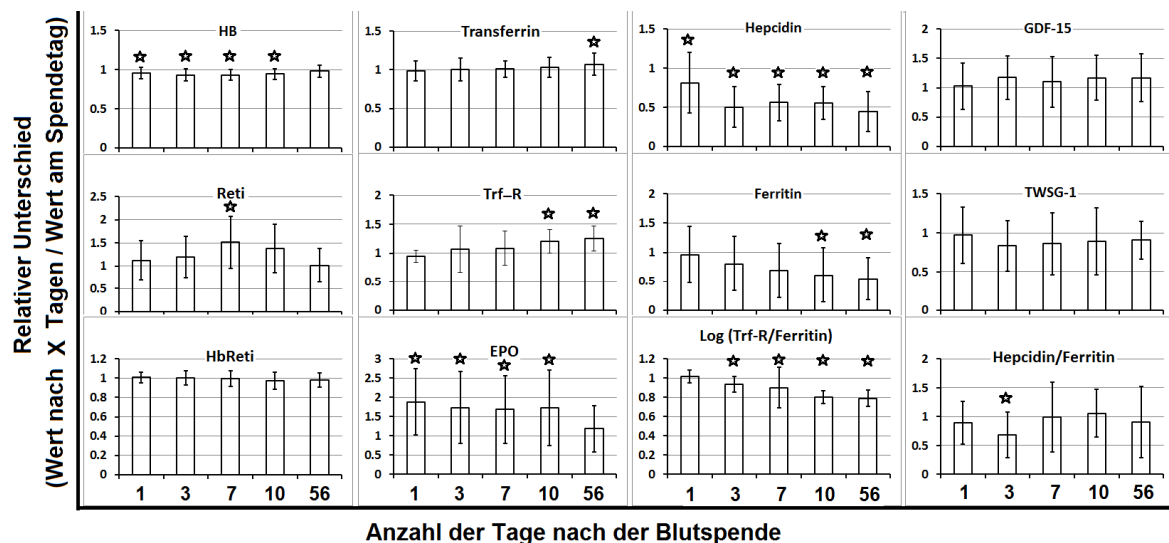


Abbildung 4: Zwei Monate sind nicht ausreichend, um den Eisenverlust nach einer Blutspende wieder auszugleichen. Hinweisführende Parameter wurden im Plasma der Blutspender am Tag der Blutspende (Tag 0), ebenso wie an den Tagen 1, 3, 7, 10 und 56 gemessen.

Konsistent mit dem Anstieg der Retikulozytenzahl stieg die Plasmakonzentration von Trf-R konstant an und erreichte einen signifikant erhöhten Wert 10 Tage nach der Blutspende (Abbildung 4). Der durchschnittliche Trf-R Wert 56 Tage nach der

Spende unterschied sich lediglich um 10% verglichen mit dem Wert am Tag der Blutspende, auch wenn dieser Anstieg signifikant war. Der Transferrinwert stieg nur geringfügig im Verlauf von Tag 1 bis Tag 10 an, erst an Tag 56 nach der Blutspende zeigte sich bei diesem Parameter ein statistisch signifikanter Anstieg im Vergleich zum Tag der Blutspende um ca. 10%. Keine statistisch signifikanten Unterschiede zeigten sich für HbReti, GDF-15 und TWSG1. Verglichen mit allen getesteten Parametern waren für Hepcidin die höchsten und signifikantesten Unterschiede (im Vergleich zu den Werten vor Spende) festzustellen. Diese Unterschiede zeigten sich bereits einen Tag nach der Blutspende und blieben bis zum letzten Tag der Beobachtung (Tag 56) signifikant (Abbildung 4). Die durchschnittlichen Ferritin- und Hepcidinplasmakonzentrationen nahmen konstant ab, die Ferritinspiegel erreichten signifikant niedrige Spiegel nach 10 Tagen, während der Abfall der PlasmahepcidinKonzentration bereits an Tag 1 signifikant war (Abbildung 4).

Obwohl sich ein signifikanter Abfall des durchschnittlichen Ferritinwertes zeigte ($p=0.02$), waren große interindividuelle Unterschiede hinsichtlich der Regeneration vom Eisenverlust festzustellen. Somit schwankte der individuelle Ferritin-Quotient (Ferritin am Tag 56 / Ferritin am Tag 0) von 30% bis 100% (arithmetischer Mittelwert: 55%) (Tabelle 2).

Aus diesem Grund wurden Spender mit dem Ferritin-Quotienten $<55\%$ (unterdurchschnittliche Erholung) mit denjenigen mit einem Quotienten $\geq 55\%$ verglichen, und es wurde die prädiktive Aussagekraft des Hepcidin- und Ferritinwertes an Tag 3 untersucht. Aus keinem der Einzelwerte (Ferritin oder Hepcidin an Tag 3) konnte eine Vorhersage zur Regenerationsfähigkeit des jeweiligen Spenders getroffen werden (Abbildung 5).

Allerdings korrelierte der Hepcidinspiegel mit dem absoluten Ferritinwert an Tag 56 sowie mit dem Ferritin-Quotienten (Tag 56/Tag 0) ($p=0,05$, $r=0,3$).

Somit ergab sich die Hypothese, dass sich bei Spendern mit guter Regeneration der Hepcidinspiegel deutlich besser an den veränderten Ferritinwert anpasst als bei Spendern mit relativ schlechter Regeneration.

Der durchschnittliche Hepcidin-Ferritin-Quotient der Spender erreichte sein niedrigstes Niveau an Tag 3 (Mittelwert: $0,25 \pm 0,1$) und unterschied sich damit signifikant von den Werten an Tag 0 (Abbildung 4).

3.3 Blutspender mit einem Hepcidin-Ferritin-Quotient $<0,3$ erholen sich signifikant besser vom Eisenverlust

Blutspender mit einem Hepcidin-Ferritin-Quotient $<0,3$ zeigten einen signifikant höheren durchschnittlichen absoluten Ferritinwert an Tag 56 und erreichten im Durchschnitt 60% (SD: 17%) ihres initialen Eisenwertes nach 56 Tagen, während jene mit einem Quotienten $\geq 0,3$ weniger als 50% (49 % $\pm 11\%$) ihres Ausgangswertes erreichten. Diese Unterschiede waren statistisch signifikant (Abbildung 5).

Übereinstimmend hiermit lag an Tag 3 nach der Blutspende der durchschnittliche Hepcidin-Ferritin-Quotient von primär eisendefizienten Spendern bei 0,5 (SD=0,2) und unterschied sich signifikant ($p=0,001$) von den übrigen Spendern, die einen durchschnittlichen Quotienten von 0,2 (SD=0,1) aufwiesen.

Tabelle 2: Veränderung von Faktoren, die in die Hämatopoese sowie den Eisenhaushalt eingebunden sind. Die Daten sind nach steigendem Hepcidin-Ferritin-Quotient an Tag 3 sortiert. Die relativen Ferritinänderungen von 30% bis 100% [Ferritinspiegel an Tag 56 geteilt durch den Ferritinspiegel am Tag der Blutspende (Tag 0)] zeigen große interindividuelle Unterschiede bezüglich des Ausgleichs des Eisenverlustes.

	Ferritin-Quotient (Tag 56 / Tag 0)	Ferritin		Hb	Reti	HbReti	Transf	Hepcidin	Hep/Fer	
		(ng/ml)								g/L
		Tag 0	Tag56	Tag 3						
	0.3	57.2	19.5	43.1	147.0	1.2	32.4	2.6	1.8	0.04
	0.5	237.1	122.5	186.1	145.0	1.4	31.2	2.0	11.5	0.06
	0.4	48.3	21.6	37.2	154.0	1.2	28.9	2.7	2.5	0.07
	0.5	161.1	77.7	110.8	148.0	1.5	36.1	2.2	8.0	0.07
	0.6	51.7	29.3	42.2	156.0	1.7	32.1	3.0	3.8	0.09
	0.5	110.8	56.7	84.5	170.0	2.4	32.7	2.7	10.9	0.13
	0.8	77.0	60.1	65.7	160.0	1.3	33.2	2.5	8.9	0.14
	0.8	61.6	47.2	64.4	158.0	1.0	33.6	2.8	9.7	0.15
	0.7	16.8	12.3	26.0	134.0	0.7	29.3	3.2	4.7	0.18
	0.6	76.1	49.3	67.9	145.0	1.4	31.9	2.6	12.7	0.19
	0.5	48.8	23.2	34.3	151.0	2.4	36.8	2.5	7.1	0.21
	0.9	40.4	37.4	43.4	165.0	1.4	33.0	3.1	9.0	0.21
	0.7	11.8	8.1	7.5	136.0	1.0	29.8	3.3	1.8	0.25
	0.6	54.5	30.3	58.3	157.0	1.3	32.2	3.1	14.4	0.25
	0.6	75.1	42.8	57.3	152.0	0.7	31.8	2.2	14.6	0.25
	0.4	37.1	16.6	26.0	151.0	1.0	32.9	2.3	6.7	0.26
	0.4	39.4	17.3	26.2	145.0	1.3	32.3	2.0	7.7	0.29
	0.3	40.9	12.7	26.1	157.0	1.0	31.7	2.5	7.7	0.30
	0.4	39.7	14.0	25.8	131.0	0.8	31.3	2.2	7.7	0.30
	0.5	27.0	13.4	21.7	149.0	0.6	31.5	2.6	6.6	0.30
	0.5	20.5	10.0	15.7	160.0	1.2	31.2	2.6	5.0	0.32
	0.5	6.5	3.5	5.4	159.0	0.8	32.0	3.1	1.7	0.32
	0.6	20.2	11.4	19.7	146.0	0.6	32.7	3.1	6.6	0.33
	0.5	26.6	13.7	17.5	153.0	2.0	32.2	3.0	6.1	0.35
	0.7	25.3	17.1	19.3	143.0	1.1	29.9	2.9	7.6	0.40
	1.0	8.4	8.4	8.3	138.0	0.9	28.0	3.1	4.8	0.58
	0.9	3.5	3.1	2.7	131.0	1.2	26.1	3.5	1.9	0.69
Mittelwert	0.6	52.5	29.2	42.3	149.8	1.2	31.7	2.7	7.3	0.26
SD	0.2	51.2	27.2	39.4	10.2	0.5	2.2	0.4	3.6	0.15
Median	0.5	40.1	17.2	26.1	151.0	1.2	32.0	2.7	7.4	0.25
Max	1.0	237.1	122.5	186.1	170.0	2.4	36.8	3.5	14.6	0.69
Min	0.3	3.5	3.1	2.7	131.0	0.6	26.1	2.0	1.7	0.06

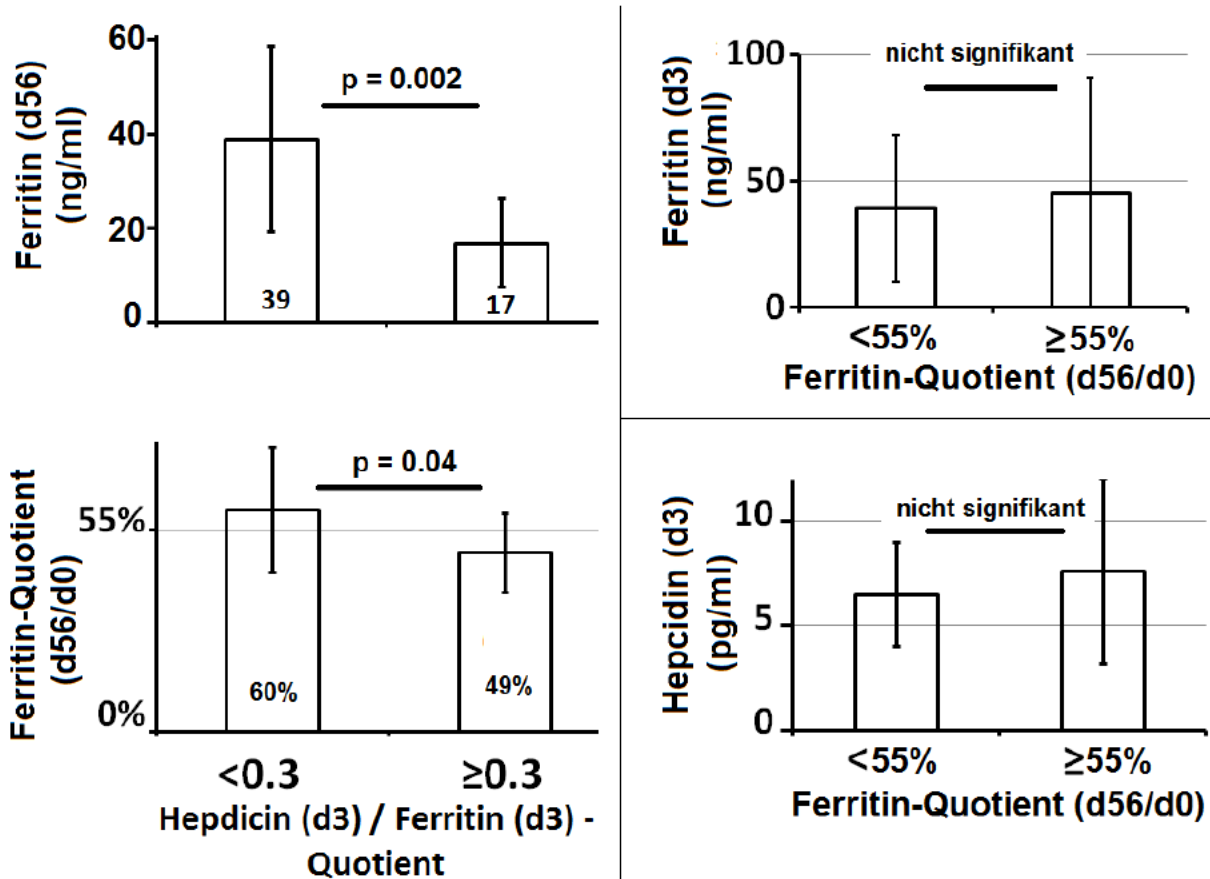


Abbildung 5: Der Hepcidin-Ferritin-Quotient an Tag 3 hilft bei der Vorhersage der Regeneration des Eisenhaushaltes nach einem Eisenverlust. Hepcidin- und Ferritinplasmakonzentrationen wurden 3 Tage (d3) nach der Blutspende gemessen und der Quotient Hepcidin/Ferritin gebildet. Dieser Quotient wurde mit dem absoluten Ferritinspiegel an Tag 56 sowie mit der relativen Änderung des Ferritinspiegels verglichen, wobei sich die relative Änderung des Ferritinspiegels durch den Quotienten Ferritin(d56)/Ferritin(d0) errechnet. Spender (n=17), die einen Hepcidin-Ferritin-Quotienten <0.3 drei Tage nach der Blutspende aufwiesen, zeigten eine signifikant bessere Erholung vom Eisenverlust als jene Personen (n=10), die einen Quotienten ≥ 0.3 aufwiesen.

Darüber hinaus lag der Hepcidin-Ferritin-Quotient an Tag 0 von Blutspendern mit einem SID (Ferritinwert vor der Blutspende unter 15 ng/ml) bei 1,42, wohingegen Spender ohne ein SID (dies betrifft die restlichen Spender) einen signifikant ($p=0,005$) niedrigeren Quotienten von 0,26 zeigten (Abbildung 6).

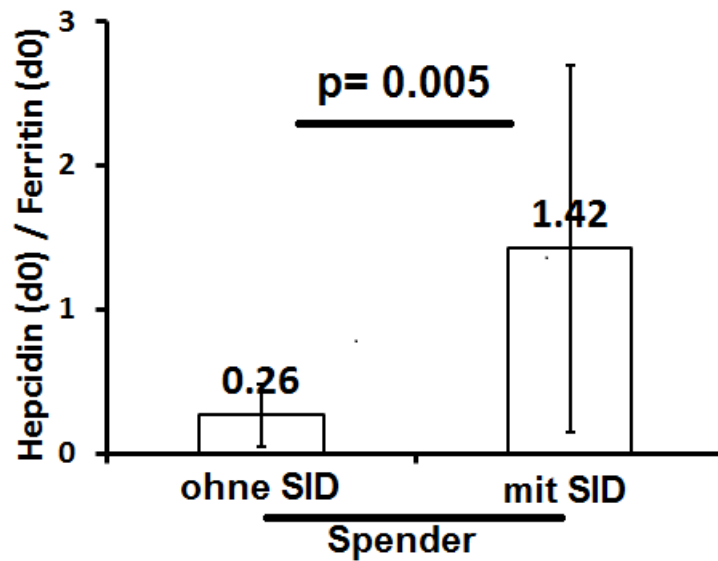


Abbildung 6: Bereits vor einer Blutspende zeigten sich signifikante Unterschiede hinsichtlich des Hepcidin-Ferritin-Quotienten zwischen den Spendern (n=23) ohne subklinischen Eisenmangel (ohne SID) und Spendern (n=4) mit subklinischem Eisenmangel (mit SID).

Obwohl die GDF-15 und Hepcidin-Werte an Tag 3 signifikant miteinander korrelierten, ($p=0,035$), war die Pearson's Produkt-Moment-Korrelation schwach ($r=0.34$), und bestätigt hiermit bereits publizierte Daten, dass GDF-15 die Hepcidinspiegel nicht direkt beeinflussen dürfte.

4. Diskussion

Basierend auf einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Doppelblindstudie, die aufzeigte, dass eine tägliche orale Einnahme von 20 mg Eisen bei beiden Geschlechtern den Eisenverlust dieser Blutspender, die bis zu 4 (Frauen) bzw. 6 (Männer) Spenden jährlich leisteten, adäquat kompensieren kann [27], wird Blutspendern generell eine orale Eisensubstitution empfohlen, obwohl es bekannt ist, dass es große interindividuelle Unterschiede in der intestinalen Eisenresorption gibt [12]. Zudem identifizierten Mast und Kollegen [22] eine Subgruppe von Blutspendern, die trotz regelmäßiger und häufiger Blutspende keinen SID entwickelten, ohne dass sie eine orale Eisensubstitution erhielten. Diese Subpopulation ist heterozygot für die H63D-Mutation im *HFE*-Gen und zeigt eine signifikant niedrige Plasmakonzentration von Hepcidin sowie einen niedrigen Hepcidin-Ferritin-Quotient im Vergleich zur Normalbevölkerung.

Die hier dargestellten Ergebnisse zu Ferritinwerten von Dauerspendern im Vergleich zur Normalbevölkerung (Abbildung 3) decken sich mit veröffentlichten Daten [3;23] und weisen darauf hin, dass 56 Tage nicht ausreichen, um sich von einem blutspendebedingten Eisenverlust zu erholen, solange keine konsequente und lang anhaltende orale Eisensubstitution erfolgt.

Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigten, dass sich Spender sehr unterschiedlich vom Eisenverlust nach der Blutspende erholten. Die Beobachtung, dass der Hepcidinspiegel sowohl mit dem absoluten Ferritinwert an Tag 56 sowie mit der relativen Ferritinänderung (Tag56/Tag0) korrelierte, gab Anlass zu glauben, dass sich bei Spendern mit guter Regeneration der Hepcidinspiegel deutlich besser an den veränderten Ferritinwert anpasst als bei Spendern mit relativ schlechter Regeneration. Der durchschnittliche Hepcidin-Ferritin-Quotient der Spender erreichte sein niedrigstes Niveau an Tag 3 (Mittelwert: $0,25 \pm 0,1$) und unterschied sich damit signifikant von den Werten an Tag 0. Tag 3 ist zugleich ein früher Zeitpunkt für die Erkennung bzw. Kategorisierung des jeweiligen Spenders. Aus diesem Grund bot sich der Hepcidin-Ferritin-Quotient als ein geeigneter Parameter an, um einen Algorithmus zu finden, der erlaubt zu unterscheiden, ob ein Spender eher von der oralen Eisensubstitution oder von einem längeren Spendeintervall profitiert.

Die weiteren, ebenfalls untersuchten Parameter wie Trf, Trf-R, GDF-15, TWSG1 sowie HbReti zeigten keine signifikanten (oder im Studienverlauf erst sehr späte signifikante Veränderungen der Werte), sodass sie zur Erstellung eines frühzeitigen, prädiktiven Algorithmus nicht in Frage kamen.

Durch die Testung eines breiten Spektrums von Parametern sollte sichergestellt werden, dass:

- 1.) die erhaltenen Messwerte zuverlässig sind und nicht durch Infektionen, Entzündungen, Leber- oder Nierenerkrankungen verzerrt werden.
- 2.) die (normale) Erythropoese und ihr Einfluss auf den Eisenhaushalt mitberücksichtigt wird, und
- 3.) die Wahrscheinlichkeit maximiert wird, den gesuchten Faktor bzw. Algorithmus zu identifizieren.

Da es nicht klar war, wie weit das diagnostische Fenster für den gesuchten Faktor/Algorithmus ist, wurde beschlossen, die Studie mit Verzicht auf eine orale Eisensubstitution durchzuführen, um nicht durch eine schnellere Erholung von der Eisendepletion das diagnostische Fenster zur Detektion interindividueller Unterschiede für die untersuchten Parameter zu verkleinern oder gar zu verschließen.

Dennoch ist eine weiterführende Studie mit einer größeren Fallzahl notwendig, worin Spender mit und ohne orale Eisensubstitution verglichen werden, um den prädiktiven Wert des hier postulierten Algorithmus zu überprüfen.

Die vorliegende Studie wurde nur an Männern ähnlicher Größe und Body-Mass-Indices durchgeführt, um Störfaktoren wie menstruelle Blutung, relativen Blutverlust im Rahmen der Spende, unterschiedliche Nahrungsgewohnheiten beider Geschlechter etc. möglichst auszuschließen bzw. einzugrenzen. Allerdings scheint sich der Eisenstoffwechsel zwischen den beiden Geschlechtern zu unterscheiden [12], so dass weiterführende Studien auch das weibliche Geschlecht berücksichtigen sollten.

Für den Logarithmus des Quotienten von Trf-R/Ferritin ($\log[\text{TrfR}/\text{F}]$) wurde bereits eine hohe lineare Korrelation zum Körpereisenspeicher nachgewiesen, so dass dieser Parameter derzeit als präzisester Wert für die Schätzung des Gesamtkörpereisens gilt [27], daher untersuchten wir auch diesen Parameter und bestätigten die Aussage, dass sich ohne orale Eisensubstitution Blutspender nicht spontan von der Eisendepletion erholen können (Abbildung 4).

Unsere Ergebnisse mit dem Nachweis einer eher schwachen Korrelation zwischen GDF-15 und Heparin bestätigten publizierte Daten [23;35], die vermuten lassen, dass GDF-15 nur indirekt den Heparinspiegel beeinflusst [5;34].

Das Aufdecken eines SID bei Blutspendern ist nicht nur wichtig, um den Spender vor einer sekundären Anämisierung zu bewahren, sondern auch wegen der Beeinflussung zahlreicher weiterer zellulärer Prozesse durch eine Eisendepletion, da Eisen ein wichtiger Bestandteil einer Reihe von Enzymen ist. Beispielsweise kann ein Eisenmangel eine ungünstige Auswirkung auf die DNA-Synthese haben [9;15], zudem wird das Immunsystem [37] und der Energiemetabolismus durch einen eingeschränkten mitochondrialen Elektronentransport bei Eisenmangel negativ beeinflusst [1;8].

Blutspender, die regelmäßig und häufig spenden, spielen eine wichtige Rolle für die Aufrechterhaltung der Blutversorgung eines Landes. Studien zeigen jedoch, dass ca. 15% dieser Spender unter einem latenten Eisenmangel leiden [3;23]. Dieser Umstand kann nicht nur gesundheitliche Folgen für den Spender haben, sondern erhöht auch die Wahrscheinlichkeit, dass der Spender durch einen langsamen, aber kontinuierlichen Abfall seines Hämoglobin-Wertes die Erfahrung macht, von einer Spende zurückgestellt zu werden. Angesichts der Beobachtung, dass ca. 40% der Spender nach einer solchen Erfahrung nicht wiederkommen [14], stellt sich hier auch die ökonomische Frage, ob die Aushändigung von Eisenpräparaten nicht deutlich kostengünstiger ist als die Ausgaben für eine Erstspenderrekrutierung. Die Sorge der jeweiligen Blutspendeeinrichtung um das gesundheitliche Wohl des Spenders, die durch die individualisierte Empfehlung/Aushändigung der oralen Eisensubstitution zum Ausdruck kommt, hat auch Auswirkungen auf die Motivation zur Blutspende und die Außenwirkung der jeweiligen Einrichtung. Die Anhebung des durchschnittlichen Hämoglobin-Wertes der Spender durch eine konsequente orale Eisensubstitution erhöht zugleich den durchschnittlichen Hb-Gehalt in den Erythrozytenkonzentraten, wovon der Transfusionsempfänger und das Gesundheitssystem profitieren.

Auch wenn die Eigenblutspende zunehmend an Bedeutung verliert, haben die Ergebnisse dieser Studie ebenfalls hierfür eine wichtige Bedeutung.

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen qualifiziert der Heparin-Ferritin-Quotient als Entscheidungshilfe, ob einem Spender die orale Eisensubstitution oder ein längeres Spenderintervall empfohlen wird.

Unter der Annahme, dass sich die individuelle Hcpidinantwort auf einen Eisenverlust nicht ändert, scheint es ökonomisch sinnvoll, den vorgeschlagenen Quotienten nur für Mehrfachspender, die mindestens vier Blutspenden geleistet haben, zu kalkulieren und eine entsprechende Empfehlung auszusprechen.

5. Zusammenfassung

Die Bestimmung des Hb-Wertes (Hb) vor einer Blutspende ist das Standardvorgehen, um Blutspender vor einer kritischen Anämisierung zu schützen. Doch kann ein subklinischer Eisenmangel („subclinical iron deficiency“: SID) bei Blut Spendern durch Messung des Hb-Wertes nicht festgestellt werden. Eine Vollblutspende von ca. 500 ml geht mit einem Eisenverlust von ungefähr 200 - 250 mg einher, somit ist ein engagierter Mehrfachblutspender durch seine regelmäßige Spendetätigkeit, insbesondere bei Spenden mit einem kurzen Spendeintervall, durch den mit dem Blutverlust einhergehenden Eisenverlust anfällig für einen Hb-Abfall unterhalb der für eine Blutspende zulässigen Hb-Grenze. Der niedrige Hb-Wert ist der häufigste Grund für eine Rückstellung eines Spendewilligen von der Blutspende. Eine orale Eisensubstitution wird Personen, die häufig Blut spenden, empfohlen. Angesichts der Tatsache, dass es große interindividuelle Unterschiede in der intestinalen Eisenresorption des oral verabreichten Eisens gibt, stellt sich die Frage, welcher Spender von einer oralen Eisensubstitution profitiert und welcher hingegen eher von einem längerem Intervall zwischen den einzelnen Blutspenden. Um einen Algorithmus zu entwickeln, der dabei hilft, diese Frage zu beantworten, wurden bei 27 männlichen Spendern 1, 3, 7, 10 und 56 Tage nach der Blutspende folgende laborchemische Parameter bestimmt, die mit der Erythropoese und Eisenhomöostase assoziiert sind: Ferritin, Hcpidin, Transferrin, Transferrin Rezeptor, Hämoglobin, Erythropoietin, Retikulozytenzahl, Hämoglobin in Retikulozyten, twisted gastrulation protein homolog 1 (TWSG1), und growth differentiation factor-15 (GDF-15).

Basierend auf den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit bietet der Hcpidin-Ferritin-Quotient die Grundlage für die Beantwortung der gestellten Frage, wobei Spender mit einem Quotient <0.3 von einer oralen Eisensubstitution profitieren, während Spender mit einem Quotient ≥ 0.3 eher ein längeres Spenderintervall benötigen.

Die Ergebnisse dieser Studie wurden von der Zeitschrift „Transfusion Medicine and Hemotherapy“ zur Publikation angenommen.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Ackrell BA, Maguire JJ, Dallman PR, Kearney EB: Effect of iron deficiency on succinate- and NADH-ubiquinone oxidoreductases in skeletal muscle mitochondria. *J Biol Chem* 1984;259:10053-10059.
- 2 Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD, Taube DH, Bloom SR, Tam FW, Chapman R, Maxwell PH, Choi P: Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica* 2010;95:505-508.
- 3 Baart AM, van Noord PA, Vergouwe Y, Moons KG, Swinkels DW, Wiegerinck ET, de Kort WL, Atsma F: High prevalence of subclinical iron deficiency in whole blood donors not deferred for low hemoglobin. *Transfusion* 2013;53:1670-1677.
- 4 Beguin Y: Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clin Chim Acta* 2003;329:9-22.
- 5 Casanovas G, Spasic MV, Casu C, Rivella S, Strelau J, Unsicker K, Muckenthaler MU: The murine growth differentiation factor 15 is not essential for systemic iron homeostasis in phlebotomized mice. *Haematologica* 2013;98(3):444-447.
- 6 Chen PP, Short TG, Leung DH, Oh TE: A clinical evaluation of the Hemocue haemoglobinometer using capillary, venous and arterial samples. *Anaesth Intensive Care* 1992;20:497-500.
- 7 Conrad ME, Umbreit JN: Iron absorption and transport-an update. *Am J Hematol* 2000;64:287-298.
- 8 Finch CA, Miller LR, Inamdar AR, Person R, Seiler K, Mackler B: Iron deficiency in the rat. Physiological and biochemical studies of muscle dysfunction. *J Clin Invest* 1976;58:447-453.
- 9 Furukawa T, Naitoh Y, Kohno H, Tokunaga R, Taketani S: Iron deprivation decreases ribonucleotide reductase activity and DNA synthesis. *Life Sci* 1992;50:2059-2065.

- 10 Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M: Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008;112:4292-4297.
- 11 Gardenghi S, Marongiu MF, Ramos P, Guy E, Breda L, Chadburn A, Liu Y, Amariglio N, Rechavi G, Rachmilewitz EA, Breuer W, Cabantchik ZI, Wrighting DM, Andrews NC, de SM, Giardina PJ, Grady RW, Rivella S: Ineffective erythropoiesis in beta-thalassemia is characterized by increased iron absorption mediated by down-regulation of hepcidin and up-regulation of ferroportin. *Blood* 2007;109:5027-5035.
- 12 Garry PJ, Koehler KM, Simon TL: Iron stores and iron absorption: effects of repeated blood donations. *Am J Clin Nutr* 1995;62:611-620.
- 13 Ginzburg Y, Rivella S: beta-thalassemia: a model for elucidating the dynamic regulation of ineffective erythropoiesis and iron metabolism. *Blood* 2011;118:4321-4330.
- 14 Hillgrove T, Moore V, Doherty K, Ryan P: The impact of temporary deferral due to low hemoglobin: future return, time to return, and frequency of subsequent donation. *Transfusion* 2011;51:539-547.
- 15 Hoffbrand AV, Ganeshaguru K, Hooton JW, Tattersall MH: Effect of iron deficiency and desferrioxamine on DNA synthesis in human cells. *Br J Haematol* 1976;33:517-526.
- 16 Huebers HA, Beguin Y, Pootrakul P, Einspahr D, Finch CA: Intact transferrin receptors in human plasma and their relation to erythropoiesis. *Blood* 1990;75:102-107.
- 17 James V, Jones KF, Turner EM, Sokol RJ: Statistical analysis of inappropriate results from current Hb screening methods for blood donors. *Transfusion* 2003;43:400-404.
- 18 Jelkmann W: Regulation of erythropoietin production. *J Physiol* 2011;589:1251-1258.
- 19 Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T: Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet* 2014;46:678-684.

- 20 Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der Hoeven H, Swinkels D: Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 2005;106:1864-1866.
- 21 Lotfi R, Wernet D, Starke U, Northoff H, Cassens U: A noninvasive strategy for screening prospective blood donors for anemia. *Transfusion* 2005;45:1585-1592.
- 22 Mast AE, Foster TM, Pinder HL, Beczkiewicz CA, Bellissimo DB, Murphy AT, Kovacevic S, Wroblewski VJ, Witcher DR: Behavioral, biochemical, and genetic analysis of iron metabolism in high-intensity blood donors. *Transfusion* 2008;48:2197-2204.
- 23 Mast AE, Schlumpf KS, Wright DJ, Custer B, Spencer B, Murphy EL, Simon TL: Demographic correlates of low hemoglobin deferral among prospective whole blood donors. *Transfusion* 2010;50:1794-1802.
- 24 Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganz T, Kaplan J: Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004;306:2090-2093.
- 25 Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T: Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003;101:2461-2463.
- 26 Pak M, Lopez MA, Gabayan V, Ganz T, Rivera S: Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006;108:3730-3735.
- 27 Radtke H, Tegtmeier J, Rucker L, Salama A, Kiesewetter H: Daily doses of 20 mg of elemental iron compensate for iron loss in regular blood donors: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Transfusion* 2004;44:1427-1432.
- 28 Rippmann CE, Nett PC, Popovic D, Seifert B, Pasch T, Spahn DR: Hemocue, an accurate bedside method of hemoglobin measurement? *J Clin Monit* 1997;13:373-377.
- 29 Shaz BH, James AB, Hillyer KL, Schreiber GB, Hillyer CD: Demographic variations in blood donor deferrals in a major metropolitan area. *Transfusion* 2010;50:881-887.

- 30 Simon TL: Iron, iron everywhere but not enough to donate. *Transfusion* 2002;42:664.
- 31 Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, Goh SH, Staker P, Lee YT, Moroney JW, Reed CH, Luban NL, Wang RH, Eling TE, Childs R, Ganz T, Leitman SF, Fucharoen S, Miller JL: High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med* 2007;13:1096-1101.
- 32 Tanno T, Noel P, Miller JL: Growth differentiation factor 15 in erythroid health and disease. *Curr Opin Hematol* 2010;17:184-190.
- 33 Tanno T, Porayette P, Sripichai O, Noh SJ, Byrnes C, Bhupatiraju A, Lee YT, Goodnough JB, Harandi O, Ganz T, Paulson RF, Miller JL: Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood* 2009;114:181-186.
- 34 Tanno T, Rabel A, Lee YT, Yau YY, Leitman SF, Miller JL: Expression of growth differentiation factor 15 is not elevated in individuals with iron deficiency secondary to volunteer blood donation. *Transfusion* 2010;50:1532-1535.
- 35 Tarkun P, Mehtap O, Atesoglu EB, Geduk A, Musul MM, Hacıhanefioglu A: Serum hepcidin and growth differentiation factor-15 (GDF-15) levels in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Eur J Haematol* 2013;91:228-235.
- 36 Thomas C, Thomas L: Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem* 2002;48:1066-1076.
- 37 Ward RJ, Crichton RR, Taylor DL, Della CL, Srai SK, Dexter DT: Iron and the immune system. *J Neural Transm* 2011;118:315-328.
- 38 Zaritsky J, Young B, Wang HJ, Westerman M, Olbina G, Nemeth E, Ganz T, Rivera S, Nissenson AR, Salusky IB: Hepcidin--a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1051-1056.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Datenschutzgründen entfernt.

Ulm, 29.07.2015