Ines Cornelia Ellermann

Die Arzneimittelsicherheit einer intravenösen Eisengabe

2018

Klinische Pharmazie

Die Arzneimittelsicherheit einer intravenösen Eisengabe

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften im Fachbereich Chemie und Pharmazie
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Ines Cornelia Ellermann

aus Lingen (Ems)

– 2018 –

Dekan:	Prof. Dr. Uwe Karst
Erster Gutachter:	Prof. Dr. Georg Hempel
Zweite Gutachterin:	PD. Dr. Andrea U. Steinbicker
Tag der mündlichen Prüfung:	_____
Tag der Promotion:	_____

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS I

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS III

1. ZUSAMMENFASSUNG 1

2. EINLEITUNG 3

2.1. Die physiologische Eisenhomöostase 3

2.2. Die Regulation des Eisenaushaltes bei Tumorerkrankungen 5

2.3. Formen der Anämie 9
2.3.1 Eisenmangelanämie 9
2.3.2 Anämie der chronischen Erkrankung 10

2.4. Präoperative Anämie 14

2.5. Eisenpräparate 15
2.5.1 Orale Eisenpräparate 16
2.5.2 Intravenöse Eisenpräparate 18

2.6. Ziel der vorgelegten Arbeit 22

3. MATERIAL UND METHODEN 23

3.1. Material 23

3.2. *In vitro* Zellversuche 25
3.2.1 Zellkultur 25
3.2.2 Analyse der Hepcidin Expression mittels qPCR 25
3.2.3 Zellproliferation 28
3.2.4 Reaktive Sauerstoffspezies 29

3.3. Humanes Tumorgewebe 30

3.4. Patientenbefragungen 31
3.4.1 Anästhesie/ PBM Sprechstunde 31
3.4.2 Telefoninterview 35

3.5. Statistische Analysen 37

4. ERGEBNISSE 38

4.1. *In vitro* Zellversuche 38
4.1.1 Analyse der Hepcidin Expression mittels qPCR ----- 38
4.1.2 Zellproliferation ----- 42
4.1.3 Qualitative Bestimmung reaktiver Sauerstoffspezies ----- 46

4.2. Humanes Tumorgewebe 48
4.2.1 Patientenkollektiv ----- 48
4.2.2 Vergleich der Genexpression von Nierenzelltumoren zu nicht malignem Gewebe ----- 52
4.2.3 Auswirkung einer FCM Gabe auf die Genexpression von Nierenzelltumoren ----- 53

4.3. Patientenbefragungen 56
4.3.1 Patientenkollektiv ----- 56
4.3.2 Nebenwirkungen und Ereignisse ----- 60
4.3.3 Infektions-relevante ICD-Codes ----- 68
4.3.4 Überleben ----- 69

5. DISKUSSION 71
5.1. *In vitro* Zellversuche ----- 71
5.2. Humanes Tumorgewebe ----- 75
5.3. Patientenbefragungen ----- 81
5.4. Fazit ----- 86

6. LITERATURVERZEICHNIS 88

7. LEBENSLAUF 100

8. PUBLIKATIONEN UND VORTRÄGE 102
8.1. Zeitschriftenartikel ----- 102
8.2. Vorträge ----- 102
8.3. Poster Präsentationen ----- 103

9. DANKSAGUNG 104

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG 105

Abkürzungsverzeichnis

ACD	Anämie der chronischen Erkrankung (anemia of chronic disease)
Hb	Hämoglobin
cDNA	Komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CRP	C-reaktives Protein
CYBRD1	Cytochrom B Reduktase 1
DMT1	divalenter Metallionen Transporter 1
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EKs	Erythrozytenkonzentrate
ESA	Erythropoese-stimulierende Substanzen
FAC	Ammoniumeisen(III)-citrat
FBS	Fetal Bovine Sera
FCM	Eisencarboxymaltose
Hb	Hämoglobin
HILPDA	Hypoxia-inducible lipid droplet-associated protein
Hkt	Hämatokrit
IBD	entzündliche Darmerkrankungen (inflammatory bowel disease)
ICD Code	International classification of disease Code
IDA	Eisenmangelanämie (iron deficiency anemia)
IL-6	Interleukin 6
i.v.	intravenös
LIP	labiler Eisenpool (labile iron pool)
MCH	mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	mittleres korpuskulare Volumen
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
NTBI	nicht-Transferrin gebundenes Eisen
OPS	Operationen- und Prozedurenschlüssel
PBM	Patient Blood Management
PBS	Dulbecco’s Phosphate Buffered Saline
qPCR	quantitative Polymerasekettenreaktion
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RPI	Retikulozytenproduktionsindex
TfR1	Transferrin Rezeptor 1
TSAT	Transferrinsättigung
VEGFA	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor

1. Zusammenfassung

Ein entscheidender Prädiktor für eine erhöhte Morbidität und Mortalität stellt sowohl die präoperative Anämie, wie auch die Tumoranämie dar.[1,2] Liegt der Anämie ein Eisenmangel zu Grunde, kann eine Behandlung mit intravenösem (i.v.) Eisen erfolgen. Bei älteren Präparaten, wie Eisen Dextran, kam es jedoch nach der i.v. Eisengabe zu vermehrtem Auftreten von Hypersensitivitätsreaktionen.[3] Obwohl es mit neueren Präparaten, wie der 2007 zugelassenen hochkomplexen Eisencarboxymaltose, nur noch sehr selten zu Hypersensitivitätsreaktionen kommt, wird ihr Einsatz lediglich bei schweren Formen der Anämie empfohlen.[4] Zudem ist die Evidenzlage bezüglich der Auswirkung von komplexgebundenem Eisen auf das Wachstum von Tumoren immer noch ungenügend. Auch die Langzeitsicherheit einer i.v. Eisengabe im Rahmen einer präoperativen Eisenmangelbehandlung ist noch unbekannt. In dieser Arbeit wurde daher mit Hilfe von *in vitro* und *in vivo* Versuchen, sowie mit Hilfe einer Patientenbefragung, die Arzneimittelsicherheit einer intravenösen Eisengabe untersucht.

Die *in vitro* Zellversuche zeigten, dass die Hepcidin mRNA Expression in Tumorzellen weder durch die Gabe von freiem Eisen noch durch die Gabe von komplexgebundenem Eisen in Form von Eisencarboxymaltose erhöht wurde. Auch eine Eisengabe in Kombination mit Interleukin-6 führte nicht zu einer höheren Hepcidin mRNA Expression als eine alleinige Interleukin-6 Gabe. Jedoch wirkte eine hohe Konzentration von freiem Eisen stark proliferationshemmend und toxisch auf die Zellen. Dieser Effekt war mit der äquivalenten Dosis Eisencarboxymaltose nicht zu beobachten. Eine verstärkte Viabilität der Tumorzellen war weder mit freiem Eisen, noch mit Eisencarboxymaltose zu beobachten. Des Weiteren führte eine Stimulation mit Eisencarboxymaltose, im Gegensatz zu freiem Eisen, nicht zu einem vermehrten Auftreten von reaktiven Sauerstoffspezies und somit nicht zu einer Erhöhung des oxidativen Stresses. Die Analyse von primärem Tumormaterial des Nierenzellkarzinoms ergab zu einem, dass die Expression von Genen, die einen großen Einfluss auf den Eisenmetabolismus haben, wie *HAMP*, *SLC40A1* oder *FTH*, zwischen Tumorgewebe und nicht malignem Gewebe ähnlich war.

Auch eine i.v. Eisengabe führte nicht zu einer Veränderung der Expression dieser Gene. Zum anderen zeigte das Tumorgewebe von Patienten, die eine i.v. Eisengabe erhalten hatten, keine Veränderung der Gene *EML1*, *SLC18A2*, *ACACA* und *CDH13*, deren Expression durch ROS verändert werden kann. Des Weiteren konnte im Tumorgewebe der mit Eisencarboxymaltose behandelten Patienten keine Veränderung der Expression der Gene *MKI67* und *CA9* beobachtet werden, deren Erhöhung, bzw. Erniedrigung mit einem verringerten Überleben assoziiert sind.

Die Telefonbefragung der Patienten aus der Anästhesie/ *Patient Blood Management* Sprechstunde konnte zeigen, dass die Behandlung einer präoperativen Anämie eine nebenwirkungsarme Therapie darstellte. Es traten weder kurz- noch langfristig unerwünschte, gesundheitsbezogene Ereignisse auf. Auch führte eine Eisengabe nicht zu einer Erhöhung der Infektionsrate. Das Mortalitätsrisiko von anämischen Patienten war höher als jenes von nicht anämischen Patienten, unabhängig von einer Eisensubstitution.

Somit stellt die Eisencarboxymaltose Gabe, sowohl für eine Tumoranämie, wie auch für eine präoperative Anämie, eine sichere Behandlung dar.

2. Einleitung

2.1. Die physiologische Eisenhomöostase

Eisen ist ein essentielles Spurenelement für den menschlichen Organismus. Die Hauptaufgabe des Eisens ist die Bildung des Hämoglobins. Von den ca. 3 bis 5 g Eisen, die ein menschlicher Körper enthält, befinden sich gut zwei Drittel des Eisens im Hämoglobin (Hb).[5] Dort spielt es für den Transport des Sauerstoffes eine wichtige Rolle. Des Weiteren liegt Eisen in Form von Ferritin als Speichereisen in Leber und Makrophagen vor. Nur ein sehr kleiner Anteil des Eisens ist in der Zirkulation, in Form von Transferrin, dem Transportprotein von Eisen, zu finden.[6]

Die tägliche, durchschnittliche Nahrung eines Menschen enthält ungefähr 10 bis 12 mg Eisen, von denen nur 10 bis 15% im oberen Dünndarm absorbiert werden. Etwa die gleiche Menge an Eisen wird täglich durch kleine Blutungen oder Hautabschilferungen verloren.[5] Einen aktiven Exkretionsmechanismus für Eisen gibt es nicht. Daher ist die Regulation der Eisenaufnahme von zentraler Bedeutung, um einen Eisenmangel oder aber eine Eisenüberladung zu verhindern.

Die Aufnahme des Eisens in die Enterozyten kann sowohl als freies, zweiwertiges Eisen (Fe^{2+}) als auch als Häm-Eisen erfolgen. Häm-Eisen, welches vor allem in Fleisch enthalten ist, wird über einen Häm-Transporter in den Enterozyten aufgenommen. Mit Hilfe der Hämoxygenase wird das Eisen aus dem Häm-Komplex gelöst und in dem Glykoprotein Apoferritin als Ferritin gespeichert. In vegetarischer Nahrung liegt das Eisen zumeist in ionisierter, dreiwertiger Form (Fe^{3+}) vor. Da dieses ionisierte, dreiwertige Eisen nur bei einem pH-Wert von unter 3 vollständig in Lösung vorliegt, fördern saure oder reduzierende Substanzen, wie Ascorbinsäure, die Löslichkeit und somit die Aufnahme des Eisens. Mit Hilfe der Membran-assoziierten Eisen-Reduktase Cytochrom B Reduktase 1 (CYBRD1) kann dreiwertiges Eisen zu zweiwertigem Eisen reduziert werden. Das zweiwertige Eisen wird dann mit dem unspezifischen, divalenten Metallionentransporter 1 (DMT1) in die Enterozyten befördert. Dort wird es wie das Häm-Eisen als Ferritin gespeichert. Aus dem Enterozyten in das Blut gelangt das Eisen durch den Transporter Ferroportin.

Die Multikupfer-Oxidase Hephaestin oxidiert das zweiwertige Eisen an der basolateralen Seite und integriert zwei Eisenmoleküle in das Transportprotein Transferrin (Abbildung 1). Das Eisen kann nun von den eisenverwertenden Zellen, welche Transferrin-Rezeptoren besitzen, aufgenommen und verwendet werden.[5]

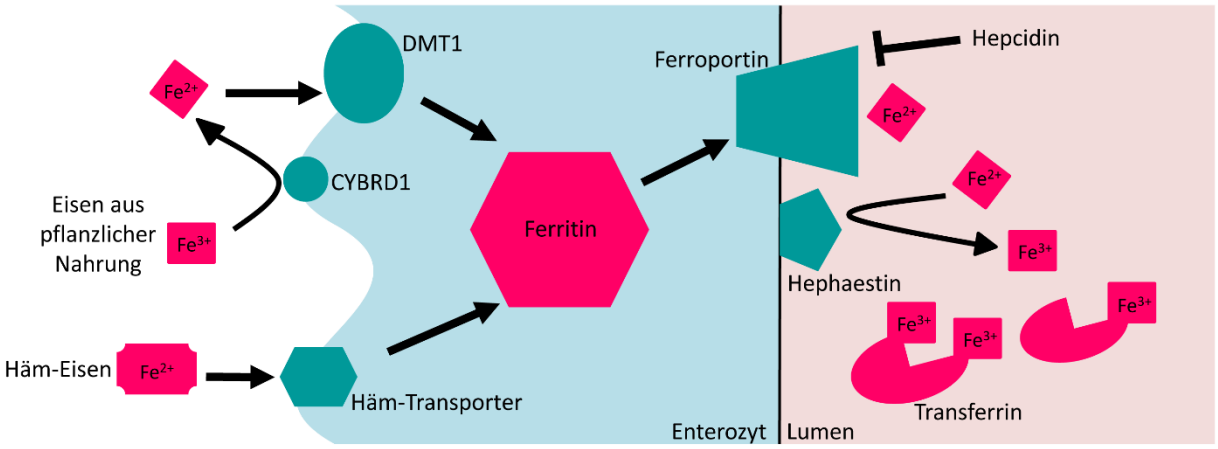

Abbildung 1. Regulation der Eisenaufnahme
In der Nahrung liegt Eisen in Form von Häm-Eisen oder als freies Eisen vor. Häm-Eisen wird mit Hilfe eines Häm-Transporter in den Enterozyten aufgenommen. Freies, dreiwertiges Eisen wird zunächst durch die Membran-assoziierte Eisen-Reduktase CYBRD1 zu zweiwertigem Eisen reduziert. Das zweiwertige Eisen wird mit Hilfe des DMT1 Transporters in die Enterozyten aufgenommen. Im Enterozyt wird das Eisen in Form des Speichereisens Ferritin gespeichert. Aus dem Enterozyt in das Blut gelangt das Eisen über das Transportprotein Ferroportin. Das zweiwertige Eisen wird mit Hilfe von Hephaestin zu dreiwertigem Eisen oxidiert und dann in das Transportprotein Transferrin eingebaut. Das Peptidhormon Hepcidin führt zur einer Degradation und Internalisierung von Ferroportin (Abbildung modifiziert nach Steinbicker *et al.*[5])

Verschiedene Faktoren nehmen Einfluss auf diesen Ablauf. Der wichtigste Regulator des Eisenhaushaltes ist das Peptidhormon Hepcidin, welches vor allem in den Hepatozyten produziert wird. Darüber hinaus wird es auch in geringen Maßen in anderen Zellen und Organen, wie in Monozyten, Makrophagen, Herz, Niere, Gehirn, und im Fettgewebe, synthetisiert. Die Ausscheidung des Hepcidins erfolgt über die Niere. Das in der Zirkulation befindliche Hepcidin ist an α-2-Macrogloblin gebunden.

Indem das Hepcidin an Ferroportin bindet, induziert es die Internalisierung und den Abbau des Ferroportins an der basolateralen Seite der Enterozyten, der Leber und der Makrophagen und verhindert so die Aufnahme des Eisens in die Zirkulation.
An Transferrin gebundenes Eisen aktiviert die Hepcidin Transkription in der Leber und führt somit zu einem negativen Feedback Mechanismus, da eine erhöhte Eisenverfügbarkeit zu einer verringerten Eisen Resorption aus der Nahrung und einer reduzierten Eisen Abgabe aus den Makrophagen und den Hepatozyten führt. Des Weiteren wird die Hepcidin Synthese durch inflammatorische Stimuli, z.B. Interleukin-6 (IL-6), sowie über den *Bone Morphogenetic Proteine Signalling Pathway* stimuliert. Gehemmt werden kann die Hepcidin Synthese durch Hypoxie, erhöhte Erythropoese und endokrine Signale, z.B. durch Estrogen, Testosteron und Wachstumsfaktoren.[5,6]
Neben dem wichtigen Peptidhormon Hepcidin, können noch weitere Faktoren den Eisenmetabolismus regulieren. Der *hypoxia inducible factor* 2 kontrolliert die Transkription verschiedener Gene, die unter anderem für die Expression von CYBRD1, DMT1, Ferroportin und der Hämoxygenase 1 verantwortlich sind. Das *iron regulated protein* bindet an die *iron responsive elements* in regulierender *messenger* Ribonukleinsäure (mRNA) und kontrolliert so die Expression von DMT1, Ferritin und Ferroportin.
Insgesamt stehen dem menschlichen Organismus somit eine Vielzahl von Regulationsmechanismen zu Verfügung, um eine engmaschige Kontrolle des Eisenhaushaltes zu gewährleisten.

2.2. Die Regulation des Eisenaushaltes bei Tumorerkrankungen

Bei verschiedenen malignen Erkrankungen werden von Tumorzellen vermehrt Proteine exprimiert, die für die Eisenaufnahme von Bedeutung sind. Die Expression der Proteine, die für die Eisenexkretion eine wichtige Rolle spielen, sind hingegen vermindert. So konnte bei kolorektalen Tumoren eine erhöhte Expression der Transferrin Rezeptoren 1 (TfR1), sowie eine erhöhte Expression von DMT1 beobachtet werden.[7]

Zudem konnte bei Mammakarzinomen eine Verminderung der Ferroportin Expression festgestellt werden.[8] Insgesamt führt dies zu einer Erhöhung des labilen Eisenpools (LIP) in Tumorzellen (Abbildung 2).[9] Der LIP ist ein Pool aus redox-aktiven Eisen Komplexen. Im Gegensatz zu Ferritin ist Eisen in Form von LIP sehr viel reaktiver und kann vermehrt die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) fördern.[10]

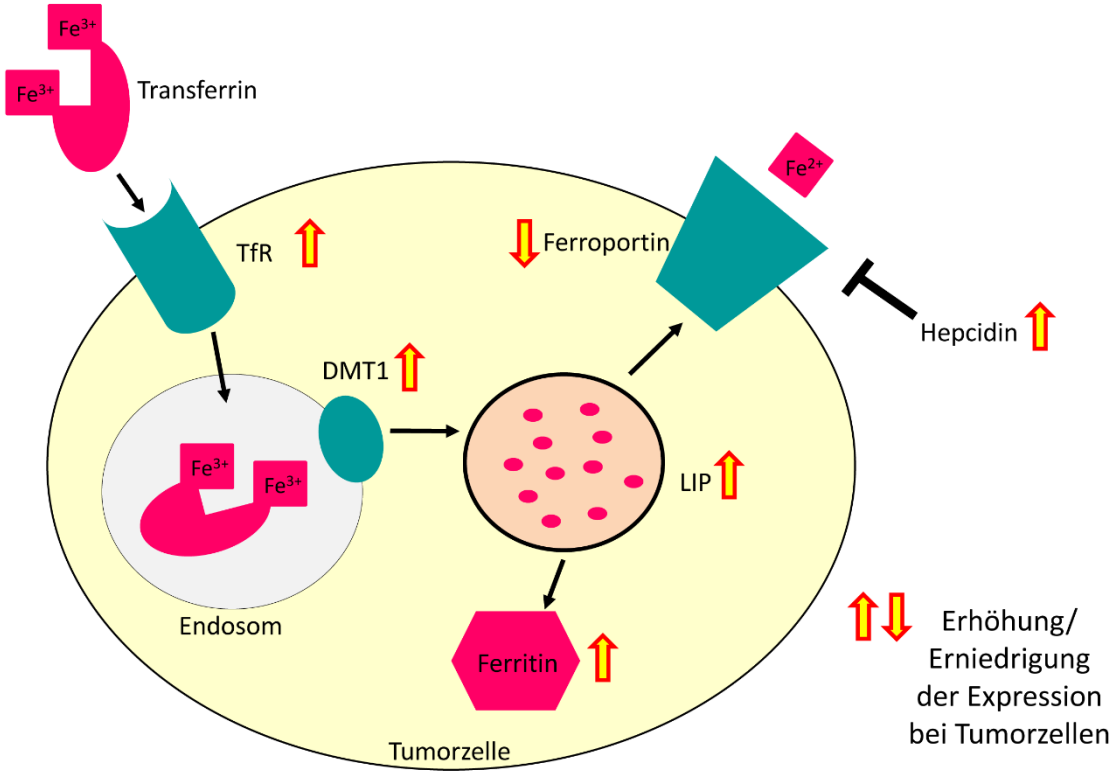

Abbildung 2. Veränderung des Eisenmetabolismus in Tumorzellen
In Tumorzellen kann der Eisenmetabolismus im Vergleich zu nicht malignen Zellen verändert sein. So kann es zu einer erhöhten Expression der Transferrin Rezeptoren (TfR) kommen, welche für die Bindung und Internalisierung von Transferrin verantwortlich sind. Ebenfalls häufig erhöht ist bei Tumorzellen die Expression des Transporters DMT1, welcher das Eisen in die Zelle entlässt. Ferroportin hingegen, welches für den Eisen Efflux aus der Zelle verantwortlich ist, wird in Tumorzellen oft vermindert exprimiert. Zusätzlich wurden häufig erhöhte Hepcidin Spiegel bei Tumorpatienten gefunden, die zusätzlich zu einer Internalisierung und Degradation des Ferroportins führen. Insgesamt führt dies in Tumorzellen zu einer Erhöhung des LIPs und des Ferritins (Abbildung modifiziert nach Beguin *et al.*[11])

Bei Patienten mit einem Mammakarzinom korreliert zudem die Höhe der TfR1 Expression mit einer schlechteren Prognose für den Patienten.[12]

Auch eine erniedrigte Ferroportin Expression ist bei Mammakarzinom Patienten mit einem reduzierten Metastasen-freien Überleben assoziiert.[8]
Eine Ursache für die veränderte Expression der Proteine könnten erhöhte Hepcidin Spiegel sein, die bei vielen Krebspatienten gefunden wurden.[12] So synthetisieren Prostatakarzinome Hepcidin, welches zu einer Degradation des Ferroportins führt. Bei metastasierenden Prostatakarzinomen ist die Erhöhung der Hepcidin Expression und die Ferroportin Degradation nochmals verstärkt im Vergleich zu nicht-metastasierenden Prostatakarzinomen.[13] Höhere Hepcidin Spiegel bei Patienten mit Prostatakarzinomen sind zudem mit einem kürzeren Überleben assoziiert.[14] Auch Brustkrebszellen zeigen einen Hepcidin vermittelten Abbau von Ferroportin und den damit verbundenen Anstieg an Ferritin und LIP. Auch korreliert Hepcidin bei Brustkrebspatienten mit einem reduzierten Metastasen-freien Überleben.[8] Hinzu kommt die häufig sauerstoffarme Umgebung von soliden Tumoren, die zusätzlich den Eisenmetabolismus des Tumors modulieren kann.[15]

Auch bei der Entstehung von malignen Erkrankungen spielt Eisen eine wichtige Rolle. In einem murinen Modell konnte gezeigt werden, dass eine erhöhte Eisenzufuhr zu einem häufigeren Auftreten von hepatozellulären Tumoren führt.[16] Bei Menschen ist eine pathologische Eisenüberladung mit einem erhöhten Krebsrisiko assoziiert. So sind eine eisenreiche Ernährung, erhöhte Eisen Spiegel und Kolonkrebs positiv miteinander assoziiert.[15] Für Hämochromatose Patienten ist unter anderem das Risiko an hepatozellulären, gastrointestinalen oder Kolon-Tumoren zu erkranken, erhöht.[15,17] Gesteigerte Serum Eisen Spiegel von über 141 µg/dl und eine gesteigerte Transferrin Sättigung über 37,9% erhöhen zudem das Risiko aufgrund eines Tumors, unterschiedlichster Entität, zu versterben.[18]

Für die Kanzerogenität von Eisen werden verschiedenen Mechanismen diskutiert. Zum einen ist Eisen essentiell für das Wachstum der Zellen und fördert somit, z.B. in Form von Ferritin, die Proliferation von Tumorzellen.[2] Zum anderen kann Eisen via der Fenton Reaktion die Entstehung von ROS fördern (Abbildung 3).

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^{-}$$

Abbildung 3. Fenton Reaktion
Zweiwertiges Eisen kann mit Wasserstoffperoxid zu dreiwertigen Eisen und einem hochreaktiven Hydroxyl-Radikal reagieren.

Diese ROS können Lipide, Proteine und Desoxyribonukleinsäure (DNA) schädigen. Aber nicht nur durch direkte ROS Einwirkung kann die Tumorentstehung gefördert werden. Auch können verschiedene Transkriptionen durch ROS oder Eisen aktiviert oder moduliert werden, z.B. der NFkB Signalweg.[15] Zudem wird diskutiert, dass Eisen über eine Modulierung des Immunsystems das Wachstum von Tumoren begünstigen kann.[15]

Werden die Ferritin Spiegel mit Hilfe der Phlebotomie erniedrigt, kann dies zu einer Reduzierung des Krebsrisikos und somit zu einer geringeren Tumor-assoziierten Mortalität, wie auch Gesamtmortalität führen.[19]

Inwieweit eine intravenöse (i.v.) Substitution von hochkomplexen Eisenpräparaten im therapeutischen Bereich, in gleichem Ausmaß wie freies Eisen, die Entstehung und Progression eines Tumors fördert, ist ungewiss. Bei einer 5-jährigen Nachbeobachtung von Patienten mit multiplem Myelom oder Lymphomen bewirkte eine i.v. Eisen(III)oxid-Saccharose Behandlung keine Verschlechterung des Überlebens.[20] Ob diese Ergebnisse auch auf andere Tumorentitäten und andere i.v. Eisenpräparate zutreffen, ist jedoch noch Bestandteil der Forschung.

Da Eisen und der Eisenhaushalt eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Tumoren und dessen Wachstums spielen, ist ein detailliertes Verständnis der Mechanismen für eine adäquate Prävention und Behandlung von Tumoren essentiell.

2.3. Formen der Anämie

Eine Dysbalance des feinregulierten Eisenhaushaltes kann eine Anämie verursachen. Laut Definition der Weltgesundheitsorganisation liegt eine Anämie vor, wenn der Hb Wert bei Frauen unter 12 g/dl und bei Männern unter 13 g/dl liegt.

Die Prävalenz einer Anämie beträgt laut Weltgesundheitsorganisation geschätzt knapp ein Viertel der Weltbevölkerung. Somit stellt die Anämie ein globales Gesundheitsproblem dar, das sowohl in den Entwicklungsländern wie auch in den Industrieländern auftritt. Besonders bei Säuglinge und Kleinkinder konnte eine hohe Anämieprävalenz festgestellt werden.[21]

Bei einer Anämie können unterschiedliche Symptome auftreten, die entweder eine direkte Folge der Hypoxie sind oder Kompensationsmechanismen der Hypoxie, wie ein erhöhtes Herzzeitvolumen. Oft treten zunächst Allgemeinsymptome, wie Blässe, Fatigue, Konzentrationsschwäche, Dyspnoe und Kopfschmerzen auf. Langzeitfolgen können sich in Herzinsuffizienz und kardialer Hypertrophie widerspiegeln.[22]

Die Ursachen und eine mögliche Behandlung können je nach Anämieform unterschiedlich sein. Die häufigsten Anämieformen sind die Eisenmangelanämie (*iron deficiency anemia*, IDA) und die Anämie der chronischen Erkrankung (*anemia of chronic disease*, ACD). Nur ein kleiner Teil der Anämien wird durch einen Mangel an verschiedenen Vitaminen, wie Vitamin B12 oder Folsäure, verursacht.[5]

2.3.1 Eisenmangelanämie

Die Ursachen einer IDA können vielseitig sein. Zum einen kann die Eisenaufnahme, z.B. durch Mangelernährung oder Absorptionsstörungen, vermindert sein. Auch kann ein erhöhter Eisenverbrauch, wie bei Schwangerschaft oder Wachstum, vorliegen. Des Weiteren kann ein erhöhter Verlust von Eisen, verursacht z.B. durch vermehrte Blutungen, zu einer Eisenmangelanämie führen.

Der Schweregrad eines Eisenmangels kann in drei verschiedene Stadien unterteilt werden. Bei einer negativen Eisenbilanz tritt zunächst ein Speichereisenmangel auf, der durch erniedrigte Ferritin Spiegel charakterisiert ist, jedoch noch nicht zu einer Beeinträchtigung der Erythropoese mit einem Abfall im Hb Wert führt.

Bei weiterer Progredienz kann sich ein funktioneller Eisenmangel manifestieren und eine eisendefizitäre Erythropoese verursachen, so dass es zu einer unzureichenden Bildung von erythropoetischen Vorläuferzellen im Knochenmark kommt. Wenn der Hb Wert unter den Normwert von 12 g/dl für Frauen und 13 g/dl für Männer abfällt, spricht man von einer Eisenmangelanämie, bzw. einem absoluten Eisenmangel.[4,23]

Die Diagnose einer IDA kann, neben einem erniedrigten Hb Wert anhand erniedrigter Serum Ferritin Spiegel, erhöhter Transferrin Werte und einer erniedrigten Transferrin-sättigung (TSAT) erfolgen.[24] Zudem ist eine IDA zu meist hypochrom und das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV) ist erniedrigt.[25]

Ist eine IDA festgestellt, sollte eine adäquate Behandlung erfolgen. Dies ist notwendig, da eine IDA und die damit verbundenen Symptome einer Anämie zu einer Verminderung der Lebensqualität und zu einer Erhöhung der Morbidität und Mortalität führen.[24,25] Zur Behandlung eines Eisenmangels ist orales Eisen(II)sulfat in einer Dosis von 2 bis 6 mg/kg Körpergewicht täglich, Mittel der ersten Wahl. Die Dauer der Behandlung beträgt bei einem manifesten Eisenmangel in der Regel mindestens 3 Monate und sollte anhand des Hb, MCV und des Serum Ferritin-Wertes überprüft werden. Eine parenterale Eisengabe ist, trotz des schnelleren Hb Anstiegs, bisher nur bei schwerer und nicht behandelbarer Resorptionsstörung indiziert, da der Nutzen einer i.v. Eisenbehandlung dem Risiko einer seltenen anaphylaktischen Reaktion (≥1/10.000) oder der möglichen Eisenüberladung gegenüber gestellt werden muss.[4,26]

2.3.2 Anämie der chronischen Erkrankung

Die Prävalenz einer ACD variiert stark je nach vorliegender Erkrankung. So wird bei allgemeinen akuten und chronischen Infektionen eine ACD-Prävalenz von 18-95% angegeben, bei Autoimmunerkrankungen von 8-71%, bei entzündlichen Darmerkrankungen (IBD) von 75% und bei chronischen Nierenerkrankungen von 23-50%.[27,28]

Die Ursachen einer ACD können vielfältig sein. So können chronische Infektionen oder auch Tumorerkrankungen eine ACD verursachen.

Die akute oder chronische Inflammation bewirkt eine Steigerung der Hepcidin Expression und führt so zu einer vermehrten Degradation und Internalisierung des Eisentransporters Ferroportin. Hierdurch wird zum einen die Eisenabsorption aus dem Dünndarm erniedrigt und zum anderen kann das vorhandene, gespeicherte Eisen nicht mehr in die Zirkulation gelangen. Somit steht das Eisen auch nicht mehr für die Erythropoese zu Verfügung und es kann sich ein funktionaler Eisenmangel mit noch normwertigem Hb entwickeln. Zudem kommen weitere Faktoren wie die Erniedrigung der DMT1 und Ferroportin Expression durch den Tumornekrosefaktor α, die ebenfalls zu einer vermehrten Abnahme der Eisenkonzentration führen.[28,29]

Ein Patient mit einer ACD weist normale bis erhöhte Ferritin Spiegel auf, reduzierte bis normale Transferrin Werte und eine verminderte TSAT. Zumeist weisen ACD Patienten normochrome bis hypochrome Erythrozyten mit einem normalen MCV auf.[26,28]

Das Vorliegen einer ACD kann die Diagnose einer Eisenmangelanämie erschweren. Zum einen können die entzündlichen und maligen Erkrankungen, trotz eines Speichereisenmangels, zu einer Erhöhung der Ferritin Werte führen und somit einen Eisenmangel maskieren. Zum anderen können Patienten mit einer ACD, trotz adäquaten Eisenspeichern, eine erniedrigte TSAT aufweisen. Um einen Eisenmangel auch bei Vorliegen einer ACD sicher zu diagnostizieren, kann zusätzlich der lösliche Transferrin Rezeptor, bzw. das Verhältnis vom löslichen Transferrin Rezeptor zum logarithmierten Ferritin Wert bestimmt werden.[25] Auch Hepcidin kann für die Unterscheidung zwischen IDA und ACD ein wichtiger Marker sein. Eine ACD ohne einen Eisenmangel weist sehr viel höhere Hepcidin Spiegel auf als eine ACD mit einem Eisenmangel oder eine alleinige IDA.[30] Problematisch sind einheitliche Grenzwert für die Hepcidin Spiegel, sowie die dafür notwendige Harmonisierung der entsprechenden Analysen zur Quantifizierung des Hepcidins.[30] In einer Studie von Karlsson *et al.*, in der die Quantifizierung des Hepcidins mittels eines *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* erfolgte, lag der optimale Grenzwert für Hepcidin bei 21 µg/L um eine ACD von der Kombination IDA plus ACD zu unterscheiden.[31]

Eine Form der ACD stellt die Tumoranämie dar. Durch inflammatorische Prozesse kann sich ein funktionaler Eisenmangel manifestieren, der durch einen chronischen Blutverlust verstärkt werden kann und so zu einem absoluten Eisenmangel führen kann. Hinzu kommt, dass Tumortherapien zu einer Myelosuppression führen können und so die Entstehung einer Anämie zusätzlich fördern.[32,33]

Die Prävalenz einer Tumoranämie variiert stark je nach Tumorentität. Im Mittel sind rund 40-60% der Krebspatienten anämisch und ca. 65-75% aller Patienten, die eine Tumortherapie erhalten, weisen eine Anämie auf.[26,34] Die Prävalenz einer Anämie bei Patienten mit einer radikalen Nephrektomie oder Zystektomie ist mit 35%, bzw. 45% ebenfalls hoch.[35] Bei Patienten mit Kolontumoren sind sogar 30-75% der Patienten anämisch.[36]

Eine Anämie und erniedrigte Hb Werte sind auch bei Krebspatienten mit einer höheren Mortalität assoziiert. Zudem beeinträchtigt eine Anämie die Lebensqualität und verschlechtert das Outcome der Patienten.[2,37] Bei Patienten, die sich aufgrund eines Blasentumors einer radikalen Zystektomie unterziehen müssen, ist die Anämie ein unabhängiger Prädiktor für das Auftreten eines Rezidivs, die Tumor-spezifische Mortalität und die Gesamtmortalität.[38] Auch anämische Patienten, bei denen aufgrund eines Nierenzellkarzinoms eine Nephrektomie durchgeführt werden muss, weisen ein kürzeres Überleben und eine schnellere Metastasierung des Tumors auf als nicht anämische Patienten.[39] Ferner konnte bei Patienten mit einem Kolontumor gezeigt werden, dass eine präoperative Anämie die postoperative Infektionsrate erhöht.[36]

Eine Behandlung der Tumoranämie ist vor allem bei einer symptomatischen Anämie indiziert, die durch Komorbiditäten, wie eine koronare Herzkrankheit oder eine chronisch obstruktive Lungenerkrankung, verstärkt werden kann.[26] Behandlungsmöglichkeiten einer Tumoranämie stellen Erythrozyten Konzentrate (EKs), Erythropoese-stimulierende Substanzen (*erythropoiesis stimulating agents*, ESA) und i.v. Eisen dar. Eine Gabe von oralem Eisen ist pathophysiologisch bei einer Tumoranämie nicht sinnvoll, da aufgrund der erhöhten Hepcidin Expression die Absorption des Eisens und somit das hämatologische Ansprechen auf die Therapie erniedrigt ist.[36] Die Gabe von EKs sollte restriktiv erfolgen, da sie die Morbidität und Mortalität erhöhen können.[2]

Zudem sind EKs mit weiteren Risiken, wie einem schlechterem Outcome, vermehrten Infektionen, längeren Krankenhausaufenthalten und erhöhten Rezidivraten, verbunden.[36]

Eine Therapie mit ESA zur Behandlung einer Chemotherapie-induzierten Anämie kann ab einem Hb Wert von unter 10 g/dl erfolgen. Vor dem Therapiestart sollte jedoch der potentielle Nutzen einer ESA Gabe, wie eine Erhöhung des Hb Wertes, eine Verminderung der Transfusionsrate und eine Steigerung der Lebensqualität, gegenüber den möglichen Risiken, wie thromboembolische Ereignisse, Bluthochdruck und eine erhöhte Mortalität, abgewogen werden.[26,40,41] Auch sprechen nur 30-75% der Krebspatienten auf eine ESA Therapie an und das Gesamtüberleben kann durch eine ESA Therapie nicht beeinflusst werden.[2,26] Da eine ESA Therapie zudem das Tumorwachstum verstärken kann, sollte der Einsatz, vor allem bei einer kurativen Chemotherapie, restriktiv und mit Vorsicht erfolgen.[32,33]

Eine zusätzliche i.v. Eisengabe führt bei Krebspatienten zu einer Erhöhung des Hb Wertes und einer verminderten Transfusionsrate, ohne ein vermehrtes Auftreten von Nebenwirkungen zu produzieren.[2,42,43] Zudem führt eine i.v. Eisengabe zu einer Verringerung an postoperativen Komplikationen und einer Verkürzung der Krankenhausaufenthaltsdauer bei Patienten mit Kolontumoren.[44] Vor allem Patienten mit niedrigen Ferritin Spiegeln und einer niedrigen TSAT profitieren von einer i.v. Eisengabe.[33,43] Zusätzlich kann bei einer Kombination der ESA Therapie mit i.v. Eisen die ESA Dosis erniedrigt werden.[33,45]

Kurzzeitrisiken einer i.v. Eisengabe bei Tumorpatienten sind Infusionsbedingte Nebenwirkungen, wie Extravasation und Infektionen.[46] Zudem muss auf mögliche Interaktionen von Eisen mit weiteren Arzneimitteln, insbesondere Chemotherapeutika, geachtet werden. So kann die gleichzeitige Gabe von Eisen mit Anthrazyklinen oder Platin eine Erhöhung des oxidativen Stresses bewirken.[33]

Die Evidenzlage für mögliche Langzeitrisiken einer i.v. Eisengabe bei Tumorpatienten ist unbefriedigend. Es werden eine erhöhte Infektionsrate, Organschäden, thromboembolische Ereignisse und eine erhöhte Mortalität diskutiert.[2,33,46] Zudem gibt es die Möglichkeit, einer erhöhten Tumorinzidenz, da Patienten mit einer Eisenüberladungsstörung ein erhöhtes Krebsrisiko aufweisen.[15]

In wie weit eine i.v. Eisensubstitution mit hochkomplexen Eisenpräparaten im therapeutische Bereich zu einer vermehrten Tumorprogression führt, ist jedoch ungewiss.

2.4. Präoperative Anämie

Die Prävalenz einer präoperativen Anämie ist hoch. In einer großen retrospektiven Auswertung der *European Surgical Outcome Study* aus Europa wiesen 31,1% der männlichen Patienten und 26,5% der weiblichen Patienten präoperativ ein Anämie auf.[1]

Eine präoperative moderate bis schwere Anämie führt zu einer längeren Aufenthaltsdauer im Krankenhaus und zu vermehrten postoperativen Verlegungen auf die Intensivstation.[1,47,48] Zudem steigert sie das Risiko für postoperative Komplikationen und erhöht die intraoperative Transfusionswahrscheinlichkeit.[49] Eine Transfusion von ein bis zwei EKs kann jedoch das Mortalitätsrisiko bereits signifikant anheben.[50] Insgesamt führt eine präoperative Anämie so zu einer erhöhten Morbidität und Mortalität.[1,47,48] Die Beziehung zwischen erniedrigten Hämatokrit-Werten, der Gabe von EKs und dem Outcome der Patienten wurde in einer Studie mit 7942 herzchirurgischen Patienten untersucht. Erhielten die Patienten mit einem Hämatokrit von unter 25% EKs war das Mortalitätsrisiko am höchsten. Zudem war das Mortalitätsrisiko bei Patienten, die EKs erhielten und einen Hämatokrit von über 25% aufwiesen größer als bei Patienten, die keine EKs erhielten, aber einen Hämatokrit von unter 25% aufwiesen.[51]

Wird präoperative eine Behandlung mit i.v. Eisen durchgeführt, kann dies zu einem Anstieg des Hb Spiegels, zu einem geringeren Verbrauch an EKs und zu einer Verbesserung des Outcomes des Patienten führen.[52]

Vor diesem Hintergrund wurde das *Patient Blood Management* (PBM) entwickelt, welches durch prä-, intra- und postoperative Maßnahmen das Outcome des Patienten verbessern soll.

Das PBM ist auf drei Säulen aufgebaut: Optimierung der Erythropoese, Minimierung des Blutverlustes und Ausschöpfung der individuellen Anämie Toleranz.[53] Zur Optimierung der Erythropoese gehört eine adäquate Behandlung von zuvor diagnostizierten, anämischen Patienten. Ein Eisenmangel wird hierbei mit i.v. Eisen behandelt, wenn keine entsprechenden Kontraindikationen vorliegen. Da die Zeitspanne zwischen der Diagnose der Anämie und der Operation häufig sehr kurz ist, ist eine Behandlung mit oralem Eisen zumeist nicht möglich.
Durch die Behandlung der präoperativen Anämie mit einer i.v. Eisengabe wird das Ziel verfolgt, den präoperativen Hb Wert zu steigern, die Gabe von EKs zu verringern und so die Morbidität und Mortalität der Patienten zu senken.

2.5. Eisenpräparate

In Deutschland sind verschiedene Eisenpräparate zugelassen, die oral oder intravenös appliziert werden dürfen. Das Anwendungsgebiet dieser Eisenpräparate ist die Eisenmangelanämie. Mit dem Einsatz eines Eisenpräparates wird eine Füllung und Erhöhung der Eisenspeicher bewirkt, um so eine Steigerung der Hämoglobinsynthese und eine Erhöhung des Hb Wertes zu erreichen. Somit liegt keine klassische Rezeptor-Ligand Wechselwirkung vor und die Plasmakonzentration des Arzneimittels spiegelt nicht stellvertretend die Konzentration am Wirkort wider. Die üblichen Angaben zur Charakterisierung eines Arzneimittels, wie die maximale Konzentration und das Ausmaß der Verfügbarkeit des Arzneimittels, sind somit bei Eisenpräparaten in Bezug auf dessen Wirkung nicht aussagekräftig. Daher wird für die Effektivität eines Eisenpräparates zumeist der Anstieg des Hb Wertes nach einer zuvor definierten Zeitspanne angegeben. Je nach Zeitintervall, Patientenkohorte und Begleit-Medikation, wie ESA, ist eine Vergleichbarkeit verschiedener Effektivitätsstudien daher nur bedingt möglich.
Für die Sicherheit und Verträglichkeit eines Eisenpräparates ist vor allem die Menge an freiem Eisen von Bedeutung. Eine Überdosierung eines Eisenpräparats kann zu einer Übersättigung des Transportproteins Transferrin führen.

Dieses führt zu einem Zuwachs an zweiwertigem, nicht-Transferrin gebundenen Eisen (NTBI), welches nur schwach an Albumin oder Citrat gebunden werden kann. Dadurch kann NTBI vermehrt von Leber, Herz und dem endokrinen System aufgenommen und als LIP gespeichert werden. Im Gegensatz zu der Speicherform Ferritin, ist Eisen in Form von LIP sehr viel reaktiver. Das zweiwertige Eisen kann so vermehrt mit Wasserstoffperoxid via der Fenton Reaktion zu dreiwertigem Eisen und hochreaktiven Hydroxyl-Radikalen reagieren. Das dabei entstehende Hydroxyl-Radikal ist ein starkes Oxidationsmittel, welches schnell mit vielen verschiedenen Molekülen, wie DNA, reagieren kann und somit potentiell schädlich für die Zellen ist und zur Alterung und Mutagenese beiträgt.[54] Das von den Organen aufgenommene NTBI kann nicht mehr abtransportiert werden und führt so bei höheren Dosen zu Organschäden.

2.5.1 Orale Eisenpräparate

In Deutschland sind orale Eisenpräparate mit zweiwertigem und dreiwertigem Eisen als Arzneimittel zugelassen (Tabelle 1). Zudem gibt es weitere orale Eisenpräparte, die mit Folsäure, Vitamin B12 oder Multivitaminen kombiniert werden.

Laut Leitlinie wird bei einer IDA eine tägliche orale Eisen Dosis von 2 bis 6 mg/kg Eisen empfohlen.[4] Orale Eisenpräparate, wie Ferro sanol® duodenal enthalten 100 mg Eisen. Hinzu kommen durchschnittlich ca. 10 bis 20 mg Eisen aus der täglichen Nahrung. Die aktiv im Dünndarm aufzunehmende Menge an Eisen wird somit um ein vielfaches überschritten und es gelangt vermehrt Eisen direkt über passive, parazelluläre Wege in die Zirkulation. Eine täglich erhöhte Zufuhr an Eisen führt zudem zu einer Erhöhung der Hepcidin Expression, die die aktive Eisen Absorption vermindern kann.[55] In der Zirkulation führt die vermehrte Zufuhr an Eisen zu einer Überladung des Transferrins und somit zu einer Erhöhung an potentiell schädlichem NTBI.[54,56] Zudem führen die hohen Mengen an freiem Eisen im Dünndarm und der damit verbundene erhöhte oxidative Stress zu vermehrten gastrointestinalen Beschwerden.[25,54] Des Weiteren können bei der Einnahme von Eisenpräparten Diarrhöen, Obstipation, Sodbrennen, Erbrechen, Nausea und Überempfindlichkeits-reaktionen der Haut auftreten.[56]

Tabelle 1. Orale Eisenpräparate, die in Deutschland als Arzneimittel zugelassen sind

Zweiwertiges Eisen	
Wirkstoff	**Präparate**
Eisen(II)glycinsulfat	Ferro sanol® (UCB Pharma GmbH)
Eisen(II)fumarat	Rulofer® N (Lomapharm); Ferrum Hausmann® (Vifor Pharma Deutschland GmbH)
Eisen(II)gluconat	Ferrum Verla® (Verla-Pharm), Lösferron® (mibe GmbH Arzneimittel)
Eisen(II)succinat	Ferrlecit® (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH)
Eisen(II)sulfat	Eryfer® Cheplapharma Arzneimittel GmbH), Tardyferon® (Pierre Fabre Pharma GmbH)
Dreiwertiges Eisen	
Wirkstoff	**Präparate**
Eisen(III)hydroxid-Polymaltose-Komplex	Ferrum Hausmann® (Vifor Pharma Deutschland GmbH)
Eisen(III)maltol	Feraccru® (Shield TX UK Limited)

Orale Eisenpräparate, die als Komplex vorliegen, wie der Eisen(III)hydroxid-Polymaltose Komplex, können aufgrund ihrer Größe nur geringfügig durch passive Diffusion aufgenommen werden.[56] Zusätzlich schützt eine gegen Redox-Reaktionen stabilisierende Hülle die Eisen(III)hydroxid-Polymaltose Komplexe. Infolgedessen weisen Eisen(III)hydroxid-Polymaltose Komplexe weniger Nebenwirkungen und eine geringere Toxizität auf. Die Eisen Plasmaspiegel sind nach einer Einnahme von Eisen(III)hydroxid-Polymaltose Komplex geringer als bei der Anwendung von zweiwertigen Eisensalzen.[54] Die Effektivität, gemessen als Hb Anstieg, ist zwischen den einzelnen Eisenpräparaten, trotz der unterschiedlichen Plasmakonzentrationen, jedoch vergleichbar.[54,56]

Liposomales Eisen, welches als Nahrungsergänzungsmittel in Deutschland eingestuft ist, weist im Gegensatz zu Eisensalzen ebenfalls weniger gastrointestinale Nebenwirkungen auf. Zudem ist die Absorption des Eisens durch die liposomale Hülle erhöht.

Die Evidenzlage in Bezug auf Sicherheit und Wirksamkeit ist für dieses neue Eisenpräparat jedoch gering. Auch ist der Mechanismus der Absorption des liposomalen Eisens noch nicht hinreichend geklärt.[25]

Bei der Anwendung von oralen Eisenpräparaten muss auf die Interaktion des Eisens mit verschiedenen Arzneimitteln und Nahrungsmitteln geachtet werden. Das Hauptproblem ist eine Komplexbildung des Eisens mit anderen Arzneimitteln, wie Schilddrüsenpräparaten und Antibiotika, die zu einer verminderten Absorption der betreffenden Arzneimittels führt. Des Weiteren verringern verschiedene Nahrungsmittel die Absorption von Eisen. So führt die Einnahme von Kaffee und Tee in Kombination mit Eisen zu einer verminderten Aufnahme des Eisens. Im Gegensatz hierzu erhöhen saure oder reduzierende Nahrungsmittel, wie Ascorbinsäure-haltige Getränke, die Absorption des Eisens.

Insgesamt stellt die orale Einnahme von Eisen somit eine beratungsintensive Behandlung dar. Die auftretenden Nebenwirkungen sind nur in seltenen Fällen schwerwiegend, jedoch führen die häufigen gastrointestinalen Nebenwirkungen zu einer Verringerung der Compliance. Der dadurch erniedrigte Erfolg einer oralen Eisentherapie wird zudem durch eine geringe Absorption der oralen Eisenpräparate verstärkt.

2.5.2 Intravenöse Eisenpräparate

Für die i.v. Gabe von Eisen sind in Deutschland verschiedene Eisenpräparate zugelassen, die sich unter anderem in ihrer Kohlenhydrathülle und ihrem Molekulargewicht unterscheiden (Tabelle 2). Das weltweit am meisten gebrauchte i.v. Eisenpräparat ist Eisen(III)oxid-Saccharose.[3] Alle Präparate fungieren als *Prodrug*, da für die Wirkung des Präparates das Eisen zunächst aus dem Komplex entlassen werden muss. Dies geschieht via Endozytose. Die Eisen-Komplexe werden hierfür von Makrophagen des Retikuloendothelialen Systems aufgenommen und das Eisen mit Hilfe der sauren und reduzierenden Umgebung des Endolysosomen aus dem Komplex entlassen. Das freie Eisen kann dann mit Hilfe des DMT1 in den LIP geschleust werden und als Ferritin gespeichert werden.[56]

Tabelle 2. Intravenöse Eisenpräparate, die in Deutschland als Arzneimittel zugelassen sind

Wirkstoff	Präparate
Eisen(III)carboxymaltose	Ferinject® (Vifor Pharma Deutschland GmbH)
Eisen(III)oxid-Saccharose	Venofer® (Vifor Pharma Deutschland GmbH), FerMed® (Medice Arzneimittel Pütter GmbH & Co. KG), Ferrologic® (Fresenius Medical Care Nephrologica Deutschland GmbH)
Eisen(III)hydroxid-Dextran	Cosmofer® (Emra Pharmacosmos A/S)
Eisen(III)-Derisomaltose	MonoFer® (Pharmacosmos A/S)
Eisen(III)natrium-Gluconat	Ferrlecit® (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH)

Die Einteilung und Charakterisierung der Eisenpräparate erfolgt häufig anhand ihrer kinetischen und thermodynamischen Eigenschaften.[56] Eisenpräparate mit einer geringen Stabilität, bei denen das Eisen nur schwach im Komplex gebunden ist, können schon im Plasma zerfallen und vermehrt freies Eisen in die Zirkulation abgegeben.[54] Diese erhöhte Konzentration von freiem Eisen im Plasma kann zu einer Sättigung des Transferrins führen und somit die Entstehung von NTBI begünstigen.[56]
Robuste Eisenpräparate weisen eine stärkere Bindung des Eisens im Komplex auf.[3,56] Ein Vorteil von robusten Komplexen, wie der Eisen(III)carboxymaltose (FCM), ist somit eine gute Verträglichkeit einer schnellen Infusion von hohen Eisen Konzentrationen, bei einem geringen Risiko von unerwünschten Wirkungen.[57,58] Labile Eisenpräparate hingegen, wie der Eisen(III)natrium-Gluconat-Komplex, weisen nur eine schwache Bindung des Eisens auf. Die Infusion dieser Präparate führt zu einer schnelleren Sättigung des Transferrins und somit zu einem höheren Anteil an NTBI mit entsprechenden Nebenwirkungen.[56] Die Applikation von labilen i.v. Eisenpräparaten darf somit nur langsam und in kleinen Einzeldosen erfolgen.[3] Des Weiteren ist die Ausscheidung je nach Komplex unterschiedlich. Robuste Komplexe mit einem hohen Molekulargewicht haben eine längere Eliminationshalbwertszeit als labile Komplexe mit einem niedrigen Molekulargewicht.[56]
Potentiell können alle Eisenpräparate lebensbedrohliche Nebenwirkungen, wie Hypersensitivitätsreaktionen, auslösen. Sie treten jedoch nur sehr selten auf.[59]

Vor allem Dextran-haltige Präparate können zu seltenen, aber schwerwiegenden anaphylaktischen Reaktionen führen.[3,26,60] Mögliche, häufig auftretende Nebenwirkungen einer i.v. Eisengabe sind Kopfschmerzen, Schwindel, Hypertonie, Übelkeit und Reaktionen an der Injektionsstelle (Tabelle 3).

Tabelle 3. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen von Eisencarboxymaltose (Ferinject®)

Systemorganklasse	Häufig (≥ 1/100, < 1/10)	Gelegentlich (≥ 1/1.000, < 1/100)	Selten (≥ 1/10.000, < 1/1.000)
Erkrankungen des Immunsystems		Überempfindlichkeit	Anaphylaktoide Reaktionen
Stoffwechselstörung	Hypophosphat-ämie		
Erkrankungen des Nervensystems	Kopfschmerzen, Schwindel	Parästhesie, Dysgeusie	Verlust des Bewusstseins
Psychiatrische Erkrankungen			Angst
Herzerkrankungen		Tachykardie	
Gefäßerkrankungen	Flush, Hypertonie	Hypotonie	Phlebitis, Synkope, Präsynkope
Erkrankungen der Atemwege		Dyspnoe	Bronchspasmen
Erkrankungen des Gastrointestinal Trakts	Übelkeit	Erbrechen, Dyspepsie, Abdominalschmerz, Obstipation, Diarrhoe	Flatulenz
Erkrankungen der Haut		Pruritus, Urtikaria, Erythem, Ausschlag[a]	Angioödem, Blässe, Gesichtsödem
Skelettmuskulatur-, Bindegewebs- und Knochenerkrankungen		Myalgie, Rückenschmerzen, Arthralgie, Schmerz in einer Extremität, Muskelspasmen	
Allgemeine Erkrankungen und Beschwerden am Verabreichungsort	Reaktionen an der Injektions-/ Infusionsstelle[b]	Fieber, Müdigkeit, Schmerzen im Brustkorb, peripheres Ödem, Schüttelfrost	Unwohlsein, grippeähnliche Erkrankungen
Untersuchungen		Abfall Serumphosphatspiegel; Anstieg Alaninaminotransferase, Aspartataminotransferase, Gammaglutamyltransferase, Lactatdehydrogenase und alkalischen Phosphatase	

[a]Beinhaltet die folgenden Begriffe: Ausschlag und erythematöser, generalisierter, makulöser, makulopapulöser, juckender Ausschlag; [b]Beinhaltet die folgenden Begriffe: Schmerzen, Hämatom, Verfärbung, Extravasation, Irritation, Reaktionen an der Injektions-/Infusionsstelle und Parästhesie an der Injektions-bzw. Infusionsstelle (modifiziert nach Vifor[64])

Bei Patienten, die mit FCM behandelt wurden, konnten zudem gelegentlich Hypophosphatämien beobachtet werden.[3] Diese werden über den *fibroblast growth factor 23* vermittelt, ein Phosphat-regulierendes Peptidhormon, welches von den Osteozyten gebildet wird.[61] Die Schwere der Hypophosphatämie korreliert dabei mit der applizierten FCM Dosis.[61] Klinische Konsequenzen sind jedoch sehr selten, jedoch können Patienten mit einer Hypophosphatämie vermehrt unter Fatigue leiden.[62] Eine Hypophosphatämie tritt bei der Gabe von anderen Eisenpräparaten wie der Eisen(III)-Derisomaltose seltener auf als mit FCM.[61,62] Eisen(III)-Derisomaltose führt jedoch im Vergleich zu FCM häufiger zu Hypersensitivitätsreaktionen.[63]

Eine intravenöse Eisensubstitution ist vor allem bei Unverträglichkeit einer oralen Eisentherapie oder schweren Formen der Anämien indiziert. Der intravenöse Eisenbedarf lässt sich nach der Ganzoni Formel[65] wie folgt berechnen:

Eisenbedarf (mg) = [Soll-Hb (g/dl) – Patienten-Hb (g/dl)] x Körpergewicht (kg) x 2,4 + Speichereisen (mg)

Im Vergleich zu einer oralen Eisentherapie weist eine i.v. Eisentherapie viele Vorteile auf. Zum einen ist die Compliance bei einer i.v. Eisentherapie im Vergleich zur oralen Eisengabe erhöht. Da zumeist nur eine Infusion notwendig und die Nebenwirkungsrate geringer ist, kommt es bei einer Behandlung mit i.v. Eisen seltener zu Therapieabbrüchen als bei einer oralen Behandlung.[66,67] Zum anderem ist mit einer i.v. Eisentherapie ein schnellerer und höherer Hb Anstieg zu erreichen als mit einer oralen Eisentherapie.[58,66-68]

Trotz dieser Vorteile ist bei einer Eisenmangelanämie nach Leitlinie die Standardtherapie eine orale Eisengabe.[4]

2.6. Ziel der vorgelegten Arbeit

Hochmolekulare i.v. Eisenpräparate stellen eine effektive Therapiemöglichkeit für anämische Patienten dar. Trotzdem wird ihr Einsatz aufgrund von möglichen Hypersensitivitätsreaktionen und unklaren Langzeitrisiken erst bei schweren Formen der Anämie empfohlen. Ein Einsatz von i.v. Eisenpräparaten könnte jedoch nicht nur bei schweren Formen einer Anämie, sondern auch bei einer Tumoranämie und einer präoperativen Anämie einen großen Benefit für diese Patientengruppen haben. Daher war das übergeordnete Ziel der vorgelegten Arbeit, die Sicherheit einer i.v. Eisengabe in *in vitro* und *in vivo* Studie zu untersuchen.

1.) Zum einen wurde die Sicherheit einer i.v. Eisengabe bei Tumorerkrankungen eruiert. Eisen spielt eine wichtige Rolle bei der Tumorentstehung und Progression. Ob eine Gabe von hochmolekularen Eisenpräparten, wie FCM, im gleichen Ausmaß wie freies Eisen das Tumorwachstum beeinflussen kann, ist jedoch zum aktuellen Zeitpunkt unklar. Mit Hilfe von *in vitro* Zellversuchen wurde untersucht, wie sich Tumorzellen nach einer Stimulation mit freiem und komplexgebundenen Eisen in Bezug auf die Hepcidin Expression und das Tumorwachstum verhalten. Zudem wurde anhand von *in vitro* Versuchen das Potenzial von Eisenkomplexen untersucht, schädliche ROS zu genieren.
2.) In einem zweiten Versuch wurden Nierenzellkarzinomproben von Patienten, die aufgrund einer Anämie entweder mit einer i.v. Eisengabe behandelt wurden oder unbehandelt waren, untersucht. Durch Genexpressionsanalysen wurde der Einfluss einer i.v. Eisengabe auf die Genexpression des Tumors analysiert.
3.) Des Weiteren wurde die Langzeitsicherheit einer i.v. Eisengabe unter normalen Bedingungen in der Klinikroutine untersucht, um übertragbare Ergebnisse für den Alltag zu erheben. Telefoninterviews ermöglichten eine Nachbeobachtung der Patienten über ein Jahr. So wurden mögliche Langzeitnebenwirkungen und der Effekt einer i.v. Eisengabe auf die Mortalität analysiert.

3. Material und Methoden

3.1. Material

Tabelle 4. Verwendete Reagenzien, Enzyme und Kits

Material	**Firma**
Ammoniumeisen(III)-citrat	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
Antiinfektivalösung (Antibiotic Antimycotic Solution)	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
1-Brom-3-chloropropane	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
CellTiter 96® AQ_{ueous} One Solution Cell Proliferation Assay	Promega (Mannheim, Deutschland)
Diethylpyrocarbonat	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
Deoxynucleotide Solution Mix	New England Biolabs (Ipswich, USA)
Dulbecco´s modified Eagle´s Medium	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
Dulbecco´s Phosphate Buffered Saline	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
Ethanol	SAV Liquid Production GmbH (Flintsbach am Inn, Deutschland)
Ferinject® (Eisen(III)carboxymaltose)	Vifor (München, Deutschland)
fetales Kälberserum (Fetal Bovine Serum)	Capricorn scientific (Ebsdorfergrund, Deutschland)
Interleukin-6	R&D Systems (Minneapolis, USA)
Isopropanol	Roth (Karlsruhe, Deutschland
iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix	Bio-Rad (München, Deutschland)
L-Glutamin	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
Minimum Essential Medium	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
M-MLV Reverse Transkriptase	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
M-MLV Reverse Transkriptase Puffer	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)

Natrium Chlorid 0,9%	B. Braun Melsungen AG (Melsungen, Deutschland)
Random Nonamers	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
RNase Inhibitor	New England Biolabs (Ipswich, USA)
RPMI-1640 Medium	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
TRI Reagent®	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)

Tabelle 5. Primersequenzen

qPCR Primer	Sequenz	Firma
Hepcidin forward	5´-CTGACCAGTGGCTCTGTTTTC-3´	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
Hepcidin reverse	5´-GAAGTGGGTGTCTCGCCTC-3´	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
S18 forward	5'-CGGCTACCACTCCAAGGAA-3'	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
S18 reverse	5'-GCTGGAATTACCGCGGCT-3'	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)

Tabelle 6. Instrumente

Instrument	Firma
CFX Connect™ Real Time System	Bio-Rad (München, Deutschland)
ELx808™ Absorptions-Reader	BioTek (Bad Friedrichshall, Deutschland).
EVOS® fl Fluoreszenzmikroskop	Life Technologies Corporation (Waltham, USA)
NanoDrop™ ND-1000 UV-Vis Spektrophotometer	Thermo (Scientific, Darmstadt, Deutschland)
Philips Monitor Mp2®	Philips GmbH (Hamburg, Deutschland)
Thermocycler	Eppendorf (Hamburg, Deutschland)

3.2. *In vitro* Zellversuche

3.2.1 Zellkultur

Für die *in-vitro* Zellkulturversuche wurde die humane Leberzellkarzinom Zelllinie HepG2, die humane Lungenkarzinom Zelllinie A549 und die humane Blasenkarzinom Zelllinie UM-UC-3 unter Standardbedingung bei 5% Kohlenstoffdioxid und 37°C kultiviert.

Als Medium wurde für die HepG2 Zellen RPMI-1640 Medium (Sigma-Aldrich, München, Deutschland), für die A549 Zellen Dulbecco´s modified Eagle´s Medium (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) und für die UM-UC-3 Zellen Minimum Essential Medium (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) benutzt. Alle Medien enthielten als Zusatz 10% fetales Kälberserum (*Fetal Bovine Serum*, FBS, Capricorn scientific, Ebsdorfergrund, Deutschland), 1% L-Glutamin (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) und 1% Antiinfektivalösung (*Antibiotic Antimycotic Solution*, Sigma-Aldrich, München, Deutschland).

Die Zellen wurden in einer 6-*Well* Platte mit einer Dichte von 9,6 * 10^5 Zellen pro *Well*, bzw. in einer 96-*Well* Platte mit einer Dichte von 10^4 Zellen pro *Well* ausgesät. Nach 24 Stunden Inkubation wurden die Zellen in ihrem jeweiligen Medium mit 0,1% FBS für 24 Stunden ausgehungert. Die anschließende Stimulation der Zellen mit der jeweiligen Testsubstanz betrug 90 Minuten, bei 5% Kohlenstoffdioxid und 37°C. Anschließend wurden die Zellen zweimal mit Pufferlösung (Dulbecco's *Phosphate Buffered Saline*, PBS, Sigma-Aldrich, München, Deutschland) gewaschen und entsprechend des jeweiligen Experimentes weiter behandelt.

3.2.2 Analyse der Hepcidin Expression mittels qPCR

Um die Hepcidinexpression verschiedener Tumorzelllinien nach einer Stimulation mit Eisen zu untersuchen, wurden die Zelllinien HepG2 und A549 mit zwei verschiedenen Eisenverbindungen behandelt. Hierfür wurde zum einen der Eisenkomplex FCM (Ferinject®, Vifor, München, Deutschland), und zum anderen freies Eisen, in Form von Ammoniumeisen(III)-citrat (FAC, Sigma-Aldrich, München, Deutschland) benutzt.

HepG2 Zellen wurde mit FCM und FAC in den Konzentrationen 26 µM, 260 µm und 180 mM, bezogen auf das in der Verbindung enthaltene Eisen, behandelt. A549 Zellen wurden mit FCM und FAC in einer Konzentration von 180 mM Eisen behandelt. Als Positivkontrolle wurden beide Zelllinien mit 100 ng/ml Interleukin-6 (*Recombinant Human IL-6 Protein*, IL-6, R&D Systems, Minneapolis, USA) stimuliert. PBS diente als Negativkontrolle.

Die anschließende RNA-Isolation erfolgte mit Hilfe von je 500 µl TRI Reagent® (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) pro *Well*. Nach dem Abschaben der Zellen und dem Überführen in einen Eppendorf Tube, wurde je 200 µl 1-Brom-3-chlorpropan (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) hinzugegeben und kräftig geschüttelt. Nach 3 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur und Zentrifugation (13000 rpm, 4°C) wurde der Überstand in ein Eppendorf Tube überführt. Anschließend wurde je 500 µl Isopropanol (Roth, Karlsruhe, Deutschland) hinzugegeben, 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend abermals zentrifugiert (13.000 rpm, 4°C). Der Überstand wurde verworfen, das entstandene Pellet mit 70% Ethanol (SAV Liquid Production GmbH, Flintsbach am Inn, Deutschland) gewaschen und in Diethylpyrocarbonat (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) enthaltenem Wasser (50 µl) resuspendiert. Die RNA wurde bei -80°C gelagert.

Die Qualität und die Quantität der RNA wurde mit Hilfe eines NanoDrop™ ND-1000 UV-Vis Spektrophotometers (Thermo Scientific, Darmstadt, Deutschland) gemessen. Die Absorption wurde bei 260 nm (RNA) und 280 nm (Proteine) vermessen. Für die cDNA-Synthese wurde 1 µg RNA mit 1 µl (10 mM) dNTP Mischung (*Deoxynucleotide Solution Mix*, New England Biolabs, Ipswich, USA) und 1 µl (50 µM) *Random Nonamers* (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) versetzt und der Ansatz mit Diethylpyrocarbonat-Wasser auf 10 µl aufgefüllt. Nach 10 Minuten Inkubation bei 70°C und anschließender, direkter Lagerung auf Eis wurde 1 µl (200 units/µl) M-MLV Reverse Transkriptase (Sigma-Aldrich, München, Deutschland), sowie 0,5 µl (40 units/µl) RNAse Inhibitor (New England Biolabs, Ipswich, USA), 2 µl 10 x M-MLV Reverse Transkriptase Puffer (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) und 6,5 µl Diethylpyrocarbonat-Wasser hinzugegeben.

Das Gemisch wurde anschließend im Thermocycler (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) zunächst für 10 Minuten bei 21°C, danach für 60 Minuten bei 37°C und abschließend für 10 Minuten bei 90°C inkubiert.

Um die relative Hepcidinexpression zu quantifizieren, wurde als letzter Schritt eine quantitative Polymerasekettenreaktion (qPCR) durchgeführt.
Für die Analyse der Probe wurde 10 µl iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, München, Deutschland) mit 2,5 µl 1:3 verdünnter cDNA, sowie 6,7 µl Diethylpyrocarbonat-Wasser und je 0,4 µl der entsprechenden Primer vermischt. Als Referenzgen wurde das ribosomale Protein S18 analysiert. Es wurden Primer mit folgenden Sequenzen benutzt: humanes Hepcidin forward 5'-CTGACCAGTG GCTCTGTTTTC-3', humanes Hepcidin reverse 5´-GAAGTGGGTGTCTCGCCTC-3'; S18 forward 5'-CGGCTACCACTCCAAGGAA-3', S18 reverse 5'-GCTGGAATT ACCGCGGCT-3'.[69]
Die anschließende qPCR wurde mit Hilfe des CFX Connect™ Real Time System (Bio-Rad, München, Deutschland) durchgeführt. Bei dem verwendeten Programm erfolgte zunächst eine Inkubation für 3 Minuten bei 95°C. Anschließend wurden die folgenden Schritte vierzigmal wiederholt: 15 Sekunden bei 95°C, 30 Sekunden bei 60°C, 30 Sekunden bei 72°C und anschließende Messung der Probe. Abschließend wurde die Platte für 30 Sekunden bei 95°C inkubiert und eine Schmelzkurvenbestimmung durchgeführt, indem die Platte von 65°C schrittweise, alle 5 Sekunden um 0,5°C bis 95°C erwärmt wurde.
Mit Hilfe der CFX Manager™ Software (Bio-Rad, München, Deutschland) wurden die Ct-Werte (Schwellenwert-Zyklus) bestimmt. Der Ct-Wert spiegelt den Wert wider, bei dem die Fluoreszenz erstmals exponentiell das Hintergrundsignal übersteigt und stellt den Wendepunkt der Kurve dar. Er dient somit der Quantifizierung. Dabei korreliert der Ct-Wert negativ mit der relativen Expression des eingesetzten Gens. Die Auswertung der Veränderung der Genexpression erfolgte mit Hilfe der $2^{-\Delta\Delta CT}$ Methode nach Pfaffl[70] mittels Excel® (Microsoft).

3.2.3 Zellproliferation

Um die Zellproliferation der Ziellinien nach einer Behandlung mit verschiedenen Eisenverbindungen zu analysieren, wurde eine Untersuchung der Zellviabilität durchgeführt. Hierfür wurde ein kolorimetrisches Verfahren mit Hilfe des CellTiter 96® AQ_{ueous} One Solution Cell Proliferation Assay (Promega, Mannheim, Deutschland) benutzt. Dieser Assay enthält 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxy-phenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) und Phenazin Ethosulfat. Die bei dem Wachstum von Zellen entstehenden Produkte, wie NADPH, reduzieren die MTS-Tetrazoliumverbindung zu einem gefärbten Formazan Produkt, welches im Zellkulturmedium löslich ist. Das Formazan kann bei einer Absorption von 490 nm detektiert werden, wobei die gemessene Menge Fluoreszenzintensität direkt proportional zur Anzahl der lebenden Zellen ist.

Für den Versuch wurden HepG2, A549 und UM-UC-3 Zellen in einer 96-*Well* Platte ausgesät und kultiviert.

Um die Zellproliferation bei verschiedenen Eisenkonzentrationen zu analysieren, wurde eine Konzentrationsreihe von FCM und FAC, mit einer Anfangskonzentration von 0,026 mM Eisen und einer Endkonzentration von 260 mM Eisen, bei einer schrittweisen Erhöhung um das 10-fache, eingesetzt.

Für die 90 minütige Stimulation wurde das Medium heraus pipettiert und 100 µl der entsprechenden Substanzmischung hinzugegeben. Als Negativkontrolle wurde PBS verwendet. Anschließend wurden die Zellen zweimal mit PBS gewaschen und in ihrem jeweiligen Medium für 48 Stunden inkubiert. Danach erfolgte die Zugabe von je 20 µl CellTiter 96® AQ_{ueous} One Solution Cell Proliferation Assay und eine Inkubation von zwei Stunden bei 5% Kohlenstoffdioxid und 37°C. Die abschließende Messung der Absorption erfolgte bei 490 nm mit Hilfe des ELx808™ Absorptions-Reader (BioTek, Bad Friedrichshall, Deutschland).

3.2.4 Reaktive Sauerstoffspezies

Freies Eisen kann die Bildung von ROS begünstigen. Um zu untersuchen, ob dies auch auf komplexgebundenes Eisen zutrifft, wurde die Bildung von ROS bei A549 Zellen nach einer Stimulation mit Eisen, in Form von FCM und FAC, untersucht.

Hierfür wurde 2′,7′-Dichlorodihydrofluorescindiacetat (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) eingesetzt und mit Modifikationen gemäß der Methode von Qian[71] verwendet. 2′,7′-Dichlorodihydrofluorescindiacetat wird zunächst mit Hilfe von Esterasen hydrolysiert und in die Zellen aufgenommen. Dort kann 2′,7′-Dichlorodihydrofluorescin dann mit Hilfe von ROS zu 2,7-Dichlorfluorescein oxidiert werden. 2,7-Dichlorfluorescein fluoresziert, wobei die zu messende Fluoreszenz-intensität proportional mit der Menge an ROS ansteigt.

Für den Versuch wurden A549 Zellen in 6-*Well* Platten ausgesät und kultiviert. Die Stimulation erfolgte mit FCM und FAC in einer Konzentration von jeweils 2,6 mM Eisen und 260 mM Eisen. Als Positivkontrolle wurde 10 mM Wasserstoffperoxid[71] verwendet und die Negativkontrolle wurde mit PBS durchgeführt.

Nach der Stimulation wurden die Zellen zweimal mit PBS gewaschen und je 500 µl Medium mit 0,1% FBS hinzugegeben. Anschließend wurde 10 µM 2′,7′-Dichlorodihydrofluorescindiacetate pro *Well* hinzugegeben. Nach 30 Minuten Inkubation bei 5% Kohlenstoffdioxid und 37°C wurden die Zellen zweimal mit PBS gewaschen und danach mit Hilfe des EVOS® fl Fluoreszenzmikroskop (Life Technologies Corporation, Waltham, USA) in Hinblick auf ihre Fluoreszenzintensität untersucht.

3.3. Humanes Tumorgewebe

Um die Auswirkung einer i.v. Eisengabe bei Tumorerkrankungen *in vivo* auf die Regulation des Tumorgewebes zu untersuchen, wurden Tumorproben von Patienten mit und ohne Eisenbehandlung mittels eines Microarrays analysiert.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe und der Westfälischen Wilhlems-Universität Münster (Studien-Nummer: 2014-181-f-S) genehmigt. Eingeschlossen wurden Patienten, bei denen aufgrund eines klarzelligen Nierenzellkarzinoms eine elektive Nephrektomie durchgeführt wurde. In einer schriftlichen Einverständniserklärung gemäß der Erklärung von Helsinki, die von allen eingeschlossenen Patienten vor Beginn der Untersuchungen unterschrieben wurde, stimmten die Patienten der Entnahme und der Untersuchung von Tumorgewebe zu.

Die eingeschlossenen Patienten wurden vor der Operation in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde behandelt. Dort erfolgte gegebenenfalls, nach Erhebung der Diagnose Eisenmangelanämie und dem Ausschluss von Kontraindikationen, eine einmalige FCM Infusion von 500 mg Eisen (detaillierter Ablauf s. 3.4.1 Anästhesie/ PBM Sprechstunde, S. 31). Die Tumorproben der Patienten wurden während der Operation vom behandelnden Chirurgen entnommen und auf Trockeneis ins Labor transportiert. Die Lagerung der Tumorproben erfolgte bei -80°C.

Die RNA Isolation und die Analyse der Genexpression mittels Microarray wurde von der Core Facility Genomik der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster durchgeführt. Die Prozessierung der Gewebeproben erfolgte mit einem *GeneChip™ Human Transcriptome Array* 2.0 der Firma ThermoFisher Scientific. Die Auswertung wurde mit Hilfe der Affymetrix® *Transcriptome Analysis Console* 4.0 (ThermoFisher Scientific) durchgeführt.

3.4. Patientenbefragungen

Die Studie über die Implementierung einer Anästhesie/ PBM Sprechstunde wurde bei clinicaltrial.gov unter NCT01820949 „Sicherheit und Wirksamkeit eines *Patient Blood Management* (PBM) Programms bei chirurgischen Patienten" von Prof. K. Zacharowski am 29.03.2013 registriert. Das Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe und die Westfälische Wilhelms-Universität wurden vor der retrospektiven Datenauswertung im Universitätsklinikum Münster (Studien-Nummer: 2013-217-b-S) konsultiert. Alle eingeschlossenen Patienten unterschrieben vor Beginn der Befragung und des Erhaltens von FCM eine schriftliche Einverständniserklärung gemäß der Erklärung von Helsinki, in der die Teilnahme an der Studie, die Gabe von FCM und die Teilnahme an einer Telefonbefragung zugestimmt wurde.

3.4.1 Anästhesie/ PBM Sprechstunde

In der Anästhesie/ PBM Sprechstunde wurden elektive Patienten behandelt, bei denen innerhalb von 1 bis 28 Tagen eine der in der Tabelle 7 gelisteten Operationen durchgeführt werden sollte. Bei diesen Operationen lag im Universitätsklinikum Münster im Jahr 2013 das Risiko eine Bluttransfusion zu erhalten bei über 10%.[72]

Der behandelnde Chirurg nahm nach der Indikationsstellung zwei Blutproben vom Patienten ab und ein kleines Blutbild sowie eine Anämie-Diagnostik wurden durchgeführt. Bei anämischen Patienten wurden zusätzlich Serum-Eisen, Ferritin, Transferrin und TSAT bestimmt. Anschließend stellte sich der Patient in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde vor. Hier erfolgte zunächst eine anästhesiologische Aufklärung über die anstehende Operation, sowie die Untersuchung auf Anämie durch einen Anästhesisten.[73,74]

Tabelle 7. Operationen am UKM, bei denen im Jahr 2013 eine Transfusionswahrscheinlichkeit von über 10% vorlag

Klinik	Operation
Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie	Elektive Operation an: • Magen • Dünndarm • Kolon • Rektum • Pankreas
Klinik für Urologie	• Zystektomie mit Conduit und/ oder Neoblase
Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie	• große Tumor Operationen mit Lappenplastik
Klinik für Allgemeine Orthopädie und Tumororthopädie	• Hüft/ Knie totalendoprothesen Revision • Tumorendoprothetik • Becken- und Weichteilsarkome • Wirbelsäulen Operation
Klinik für Herzchirurgie	• elektive Herzklappen Operation • elektive Bypass Operation • elektive Aneurysma Operation
Klinik für Unfallchirurgie	• Endoprothetik • Revisionsendoprothetik
Klinik für Neurochirurgie	• Spondylodesen
Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde	• große Tumoreingriffe mit Lappenplastik
Klinik für Vaskuläre und Endovaskuläre Chirurgie	• elektive, offene Aortenchirurgie
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe	• elektive Laparotomien • elektive Laparoskopien, bei denen der Operateur ein Risiko von über 30% sieht, dass die Operation zu einer Laparotomie konvertiert

Patienten, die einen Hämoglobinwert von unter 9 g/dl aufwiesen und/ oder ein Wert des kleinen Blutbildes pathologisch verändert war, wurden zur Abklärung der Anämie an die Medizinische Klinik A (Hämatologie, Hämostaseologie, Onkologie und Pneumologie, Universitätsklinikum Münster) verwiesen. Patienten mit einen Hämoglobinwert von 9 g/dl bis 13 g/dl (Männer) bzw. 12 g/dl (Frauen), sowie einem Ferritin Spiegel von unter 200 µg/l und einer TSAT von unter 20% wurden, bei Abwesenheit von Kontraindikationen, mit i.v. Eisen behandelt (Abbildung 4).

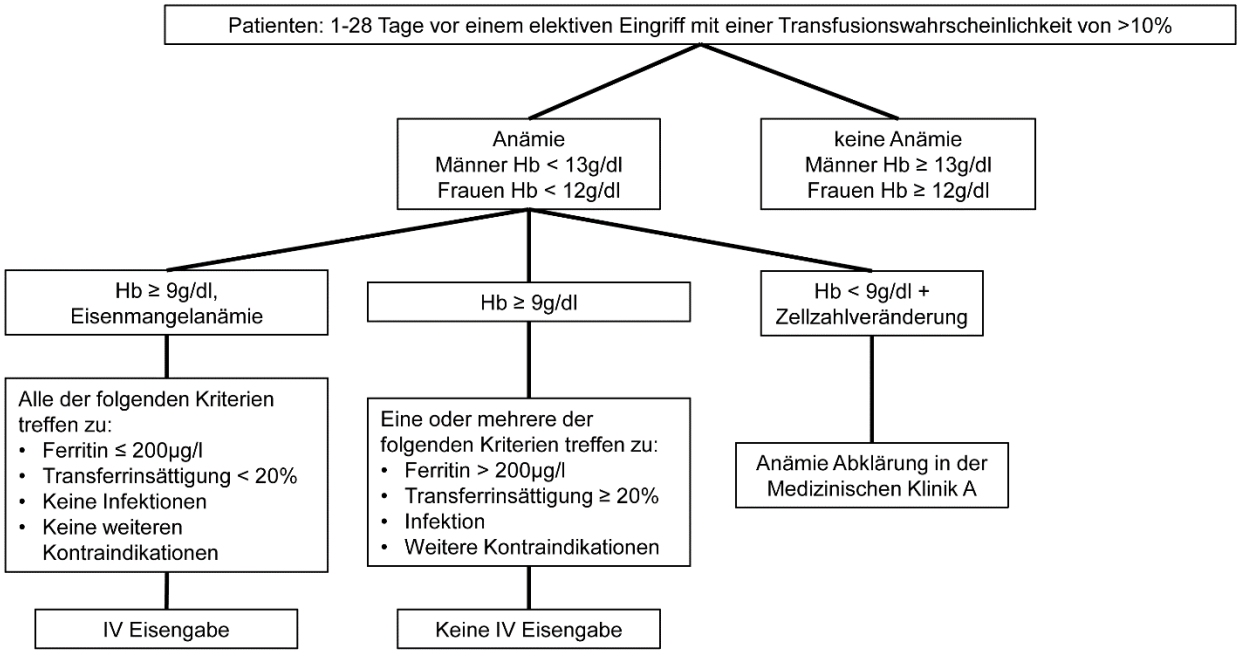

Abbildung 4. Ablauf der Anästhesie/ PBM Sprechstunde
Alle in der Studie eingeschlossenen Patienten wurden anhand ihrer Hb Werte in anämische und nicht anämische Patienten eingeteilt. Nur anämische Patienten mit einen Hb Wert ≥ 9 g/dl wurden mit i.v. Eisen behandelt, wenn sie zusätzlich einen Ferritin Spiegel von ≤ 200 µg/l, eine TSAT von < 20%, keine Infektionen und keine weiteren Kontraindikationen aufwiesen.

Ausgenommen von einer i.v. Eisen Behandlung waren Patienten bei denen eine absolute Kontraindikation vorlag (Tabelle 8). Bei Vorliegen einer relativen Kontraindikation erfolgte eine individuelle Abwägung einer i.v. Eisen Behandlung.

Tabelle 8. Absolute und relative Kontraindikationen für eine i.v. Eisengabe in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde

Absolute Kontraindikationen	**Relative Kontraindikation**
HIV Infektion, Malaria, enterohämorrhagische Escherichia coli, Sepsis, Hepatitis B und C, hepatozellulärer Tumor, Lebermetastasen, Porphyria cutanea tarda, chronische/ terminale Niereninsuffizienz, Status asthmaticus/ Bronchospasmus, Kinder (<18 Jahre), Schwangerschaft, Stillzeit, keine gleichzeitige orale oder i.v. Eisengabe, Allergie auf Eisen	Asthma bronchiale, Ekzeme oder andere atopische Allergien in der Vorgeschichte, systemisches Lupus erythematodes, Rheumatoide Arthritis

Die i.v. Eisen Behandlung erfolgte mit 500 mg FCM (Ferinject®, Vifor Pharma, München, Deutschland) in 100 ml Natriumchlorid 0,9% (B. Braun Melsungen AG, Deutschland). Die Infusionszeit betrug ca. 15 Minuten. Sieben Patienten wurde aufgrund einer TSAT von unter 3% mit 1000 mg FCM behandelt. Während der Behandlung wurden die Patienten mit Hilfe eines Elektrokardiogramms überwacht und der Blutdruck und die Sauerstoffsättigung mit Hilfe des Philips Monitor Mp2® kontrolliert.

Des Weiteren wurde mit Hilfe der elektronischen Patientenakte das Alter des Patienten, Geschlecht, Datum der Operation und ggf. Zeitpunkt des Todes erfasst.

Vom Medizincontrolling (Geschäftsbereich Medizinisches Management, Universitätsklinikum Münster) wurde zudem Hb Wert, Transferrin, Ferritin, Serum-Eisen, TSAT, Retikulozytenproduktionsindex (RPI), C-reaktives Protein (CRP), Leukozyten, Erythrozyten, Hämatokrit (Hkt), MCV, mittleres korpuskuläres Hämoglobin (MCH), mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC), Thrombozyten, sowie Operationen- und Prozedurenschlüssel (OPS) der durchgeführten Operationen bereitgestellt. Zusätzlich wurden vom Medizincontrolling infektionsrelevante *international classification of disease* (ICD)-Codes (Tabelle 9) zur Verfügung gestellt.

Tabelle 9. Infektions-relevante ICD-Codes (ICD 10 GM, Version 2016)

A00-A09, A15-A28, A30-A53, A55-A71, A74-A89, A92-A99, B00-B09, B15-B83, B85-B89, B95- B99, G00-G08, G97.1, G97.88, G97.9, H62.0, H62.1, H62.2, I00, I01, I02.0, I02.9, I05.1, I06, I09, I30.1, I32.0, I32.1, I33.0, I40.0, I41.0, I41.1, I41.2, I43.0, I52.0, I68.1, J00-J06, J09-J17, J18.0, J18.1, J18.8, J18.9, J20.0-J20.9, J22, J36, J39.0, J39.1, J40, J41.0, J41.1, J41.8, J44.0, J44.1, J85, J86, K12.2, K12.3, K65.0, K67.0, K67.1, K67.8, K77.0, K81.0, K83.0, K85.80, K85.81, K85.90, K85.91, L00-L04, L05.0, L08, M00, M01.0- M01.6, M01.8, M03.0-M03.2, M03.6, M13.0, M13.1, M13.8, M13.9, M49.0- M49.3, M63.0-M63.2, M65.0, M65.1, M68.0, M73.0, M73.1, M86, M90.0-M90.2, N08.0, N10, N15.1, N15.9, N16.0, N30, N33, N34.0, N35.1, N37.0, N39.0, N41, N45.0, N45.9, N49.0, N49.1, N51.0-N51.2, N51.8, N70-N72, N73.0, N73.2, N73.3, N73.5, N73.9, N74, N76, N77.0, N77.1, U69.00, U80-U83

3.4.2 Telefoninterview

Das Telefoninterview wurde 30 Tage, 90 Tage, und 1 Jahr (jeweils ± 5 Tage) nach dem Besuch des Patienten in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde durchgeführt (Abbildung 5).

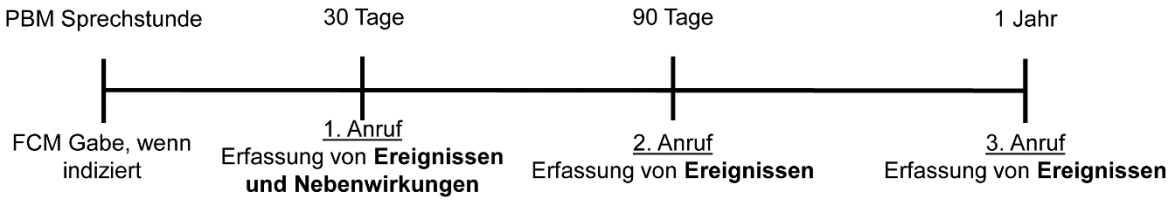

Abbildung 5. Studiendesign
Der Patient wurde 30 Tage, 90 Tage und ein Jahr nach seinem Besuch in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde bezüglich eingetretener Ereignisse befragt. Nach 30 Tagen wurden zusätzlich mögliche Nebenwirkungen abgefragt.

Befand sich der Patient zum betreffend Zeitpunkt im Universitätsklinikum Münster, wurde ein persönliches Gespräch durchgeführt. Das Gespräch wurde direkt mit dem Patienten oder mit einem Angehörigen, der die entsprechenden Informationen wiedergeben konnte, geführt.

Bei dem Telefoninterview wurden die Patienten nach möglichen Ereignissen in Bezug auf ihre Gesundheit befragt. Beim ersten Telefoninterview nach 30 Tagen wurden zusätzlich mögliche Nebenwirkungen, sowie die aktuelle Medikation erfragt (Tabelle 10).

5

Tabelle 10. Nebenwirkungen und Ereignisse, die beim Telefoninterview abgefragt wurden

Nebenwirkungen (ja/nein)	**Ereignisse** (ja/nein)
Pruritus, Urtikaria, Erytheme, Ödeme, Blässe, Übelkeit, Erbrechen, Abdominalschmerzen, Obstipation, Diarrhoe, Flatulenz, Dyspepsie, Dyspnoe, Kopfschmerzen, Schwindel, Parästhesien, Dysgeusie	Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt, Schlaganfall, Pneumonie, Nierenversagen, Infektionen, Sepsis, Fieber

Die in dieser Studie ausgewerteten Patienten wurden zudem in einer retrospektiven Studie über die Effektivität der Anästhesie/ PBM Sprechstunde eingeschlossenen. Die Ergebnisse dieser Studie, sowie die hier vorgestellten Ergebnisse der Telefonbefragung sind zur Publikation eingereicht. Das Patientenkollektiv der in dieser Arbeit vorgestellten Auswertung der Telefonbefragung stellt ein Subgruppenkollektiv der Gesamtkohorte der Studie dar. Außerdem werden die Veränderungen der Hb Werte der Patienten, sowie die Transfusionsereignisse in der Promotionsarbeit von Andreas Bückmann, Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie, analysiert.

3.5. Statistische Analysen

Die Daten wurden mit Hilfe von GraphPad Prism 6®, Microsoft® Excel 2010 und Affymetrix® Transcriptome Analysis Console 4.0 (Thermo ThermoFisher Scientific) analysiert.

Die Ergebnisse der *in vitro* Zellversuche sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt. Die Analyse erfolgte mit dem Kruskal-Wallis Test und dem Mann-Whitney-U Test mit einem zweiseitigen p-Wert.

Die Patientencharakteristika sind als Median und dem Interquartilsabstand (IQR) dargestellt. Die Analyse erfolgte mit dem Mann-Whitney-U Test mit einem zweiseitigen p-Wert.

Die Auswertung der differentiellen Genexpressionsanalyse erfolgte mittels der Transcriptome Analysis Console 4.0 (ThermoFisher Scientific). Nach der RMA Normalisierung wurde die Varianzanalyse (ANOVA) mit eBayes Korrektur durchgeführt. Unterschiede in der Genexpression mit einem p-Wert von kleiner 0,05 und einem *fold change* von größer 2 oder kleiner -2 wurden als signifikant definiert.

Die *Gene Ontology term enrichment* Analysen wurden mit Hilfe des DAVID *Functional Annotation Tool* und den exakten Fisher Test durchgeführt.

Die Ergebnisse der Patientenbefragungen wurden ebenfalls mit dem exakten Fisher Tests analysiert. Die Überlebenskurven sind als Kaplan-Meier-Kurven dargestellt und wurden mit dem log-rank Test untersucht.

4. Ergebnisse

4.1. *In vitro* Zellversuche

4.1.1 Analyse der Hepcidin Expression mittels qPCR

Um zu eruieren, wie sich verschiedene Eisenpräparate auf das eisenregulierende Peptidhormon Hepcidin auswirken, wurde die Hepcidin mRNA Expression in HepG2 Zellen und A549 Zellen nach 90 minütiger Stimulation mit FCM und FAC untersucht. Als Positivkontrolle wurde 100 ng/ml IL-6 verwendet und als Negativkontrolle PBS.

HepG2 Zellen wurden mit FCM und FAC in den Konzentrationen 26 µM Eisen und 260 µM Eisen stimuliert. Die Stimulationen mit den beiden Eisenverbindungen führten, im Gegensatz zur Positivkontrolle IL-6, jedoch nicht zu einem Anstieg der Hepcidinexpression (Abbildung 6A). Auch eine Erhöhung der Konzentration auf 180 mM Eisen führte nach 90 Minuten nicht zu einer erhöhten Hepcidin Expression (Abbildung 6B).

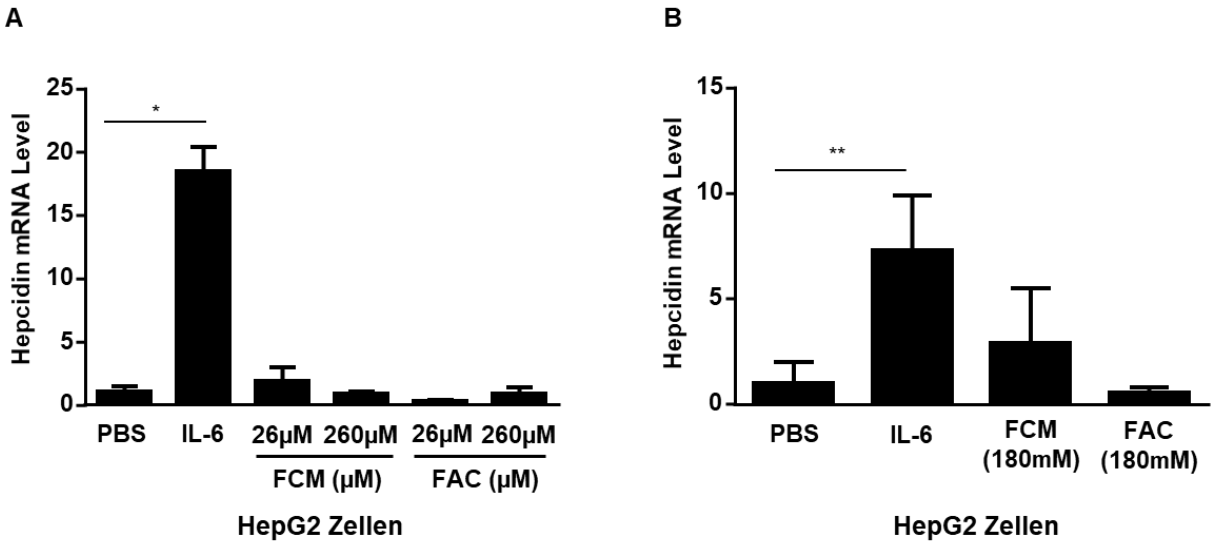

Abbildung 6. Hepcidin mRNA Expression von HepG2 Zellen nach einer Stimulation mit Eisen

Mittels qPCR wurde die Hepcidin mRNA Expression von HepG2 Zellen ermittelt (N=3 Versuche, n=6 pro Kondition). **A.)** Die Stimulation mit 26 µM und 260 µM FCM, bzw. FAC führte nicht einem Anstieg der Hepcidin mRNA Expression. Eine IL-6 Stimulation erhöhte die Hepcidin mRNA Expression (Kruskal-Wallis test: p=0,01; *p=0,029: IL-6 vs. PBS). **B.)** Auch 180mM FCM, bzw. FAC bewirkte, im Gegensatz zu IL-6, keinen Anstieg der Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zu PBS (Kruskal-Wallis test: p=0,001; **p=0,008: IL-6 vs. PBS).

Die Stimulation der A549 Zellen erfolgte ebenfalls mit 180 mM FCM bzw. FAC. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Anstieg der Hepcidinexpression im Vergleich zur Negativkontrolle PBS. Eine Stimulation der A549 Zellen mit IL-6 bewirkte hingegen einen signifikanten Anstieg der Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zu PBS (Abbildung 7).

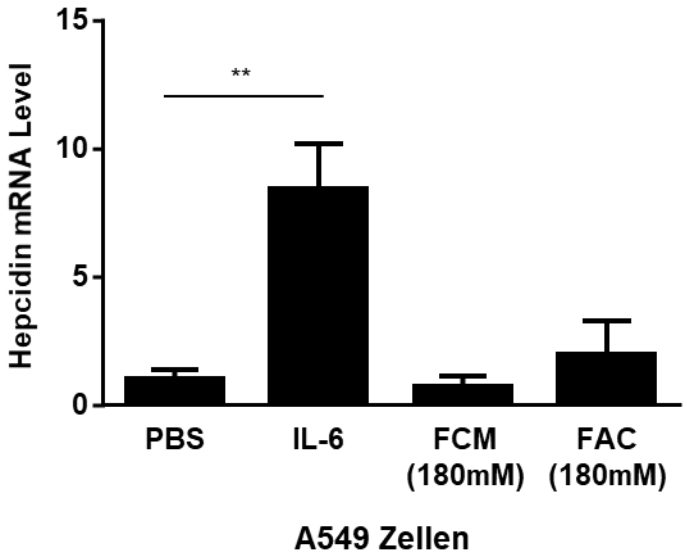

Abbildung 7. Hepcidin mRNA Expression von A549 Zellen nach einer Stimulation mit Eisen
Die Hepcidin mRNA Expression von A549 Zellen wurde mittels qPCR ermittelt (N=3 Versuche, n=6 pro Kondition; Kruskal-Wallis Test: p=0,005). Nach einer Stimulation mit IL-6 war die Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zur Negativkontrolle PBS erhöht (**p=0,01: IL-6 vs. PBS). Eine Stimulation mit 180 mM Eisen, in Form von FCM und FAC führte nicht zu einer Erhöhung der Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zur PBS Kontrolle.

Des Weiteren wurden HepG2 Zellen mit FCM und FAC in den Konzentrationen 2,6 mM und 26 mM Eisen, in Kombination mit IL-6 stimuliert. Hier zeigte sich, dass eine Stimulation mit 2,6 mM FCM und 26 mM FCM in Kombination mit IL-6, sowie auch eine alleinige Stimulation mit IL-6, zu einer signifikanten Erhöhung der Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zur Negativkontrolle PBS führte.

Die Stimulation mit 2,6 mM FAC in Kombination mit IL-6 zeigte einen Trend zu einer höheren Hepcidin mRNA Expression, wo hingegen die Stimulation mit der Kombination IL-6 plus 26 mM FAC zu keiner Veränderung der Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zu PBS führte.

Eine alleinige Stimulation mit FCM oder FAC ohne IL-6 bewirkte keinen Anstieg der Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zu PBS. Bei der Stimulation mit 26 mM FAC war sogar ein Abfall der Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zu PBS zu beobachten.

Die Kombination aus FCM bzw. FAC und IL-6 bewirkte sowohl in der Konzentration 2,6 mM, wie auch in der Konzentration 26 mM Eisen eine höhere Hepcidin mRNA Expression als die jeweilige alleinige Stimulation mit Eisen. Jedoch bewirkte die Kombination aus Eisen und IL-6 keinen höheren Anstieg der Hepcidin mRNA Expression als die alleinige Stimulation mit IL-6. Die Kombination aus 26mM FAC und IL-6 zeigte sogar eine signifikant niedrigere Hepcidin mRNA Expression als die alleinige Stimulation mit IL-6. Möglicherweise wirkte sich diese hohe Konzentration FAC alleine, wie auch in Kombination mit IL-6, hemmend bzw. toxisch auf die Zellen aus (Abbildung 8).

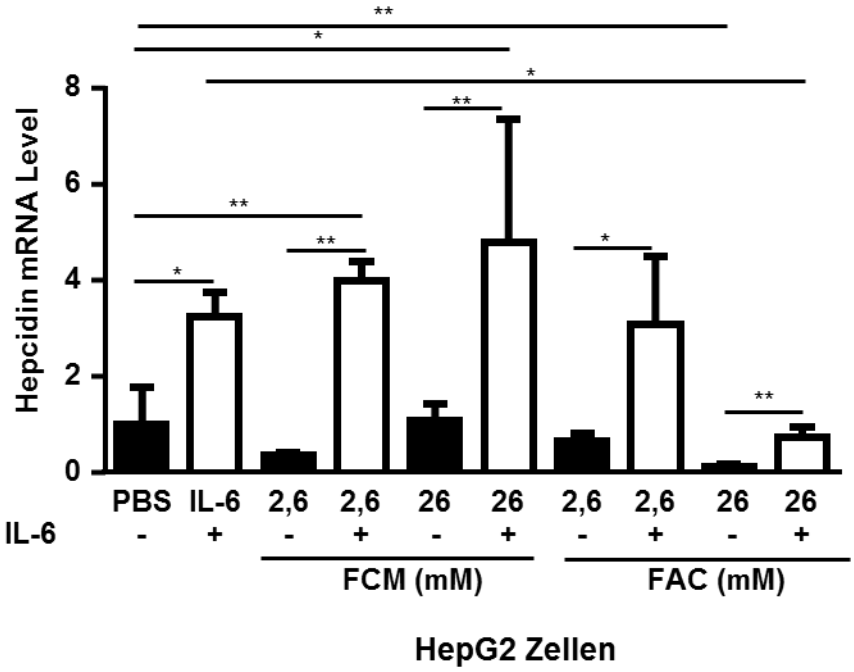

Abbildung 8. Hepcidin mRNA Expression von HepG2 Zellen nach einer Stimulation mit IL-6 und Eisen
Mittels qPCR wurde die Hepcidin mRNA Expression von HepG2 Zellen nach einer Stimulation mit IL-6 und FCM, bzw. FAC analysiert (N=2 Versuche, n=6 pro Kondition; Kruskal-Wallis Test: p<0,0001). Eine erhöhte Hepcidin mRNA Expression im Vergleich zur Negativkontrolle PBS war zu beobachten nach einer Stimulation mit IL-6 (*p=0,02: IL-6 vs. PBS) und mit der gleichzeitigen Gabe von IL-6 und 2,6 mM FCM (**p=0,008: IL-6 + 2,6 mM FCM vs. PBS), bzw. 26 mM FCM (*p=0,02: IL-6 + 26 mM FCM vs. PBS). Eine Stimulation mit 26 mM FAC alleine führte zu einer Erniedrigung der Hepcidin mRNA Expression (**p=0,004: 26 mM FAC vs. PBS; *p=0,02 IL-6 vs. IL-6 + 26 mM FAC). Die Kombination aus IL-6 und Eisen bewirkte eine höhere Hepcidin mRNA Expression als eine alleinige Stimulation mit Eisen (**p=0,004: IL-6 + 2,6 mM FCM vs. 2,6 mM FCM; **p=0,01: IL-6 + 26 mM FCM vs. 26 mM FCM; *p=0,024: IL-6 + 2,6 mM FAC vs. 2,6 mM FAC; ***p=0,043 IL-6 + 26 mM FAC vs. 26 mM FAC).

Die Versuche zeigen, dass bei HepG2 und A549 Zellen weder Stimulationen mit hochmolekularem Eisen, noch mit freiem Eisen, eine erhöhte Hepcidin mRNA Expression bewirkten. Auch eine Eisengabe in Kombination mit IL-6 führte im Vergleich zur alleinigen IL-6 Stimulation nicht zu einer additiven Erhöhung der Hepcidin mRNA Expression.

4.1.2 Zellproliferation

Mit Hilfe eines Zellproliferationsassays wurde die Auswirkung von Eisenverbindungen auf die Viabilität von Tumorzellen untersucht.

Hierfür wurden HepG2, A549 und UM-UC-3 Zellen für 90 Minuten mit FCM und FAC stimuliert. Um die Auswirkung verschiedener Eisenkonzentrationen auf die Zellen zu untersuchen, wurde eine Konzentrationsreihe von 0,026 mM bis 260 mM Eisen, mit einer schrittweisen Erhöhung um das 10-fache, verwendet. Als Kontrolle diente PBS.

Die Zellproliferation der HepG2 Zellen zeigte kleinere Schwankungen nach Stimulationen mit verschiedenen FCM und FAC Konzentrationen. So führten Stimulationen mit 2,6 mM und 26 mM FCM sowie eine Stimulation mit 26 mM FAC zu einer leichten Erhöhung der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle mit PBS. Verglichen zu der jeweils äquivalenten Menge FAC bzw. FCM zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede in der Zellproliferation. Eine Ausnahme stellte hier nur FAC in einer Konzentration von 260 mM Eisen dar. Diese Konzentration an FAC bewirkte einen starken Abfall der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle mit PBS und zur äquivalenten Menge FCM (Abbildung 9).

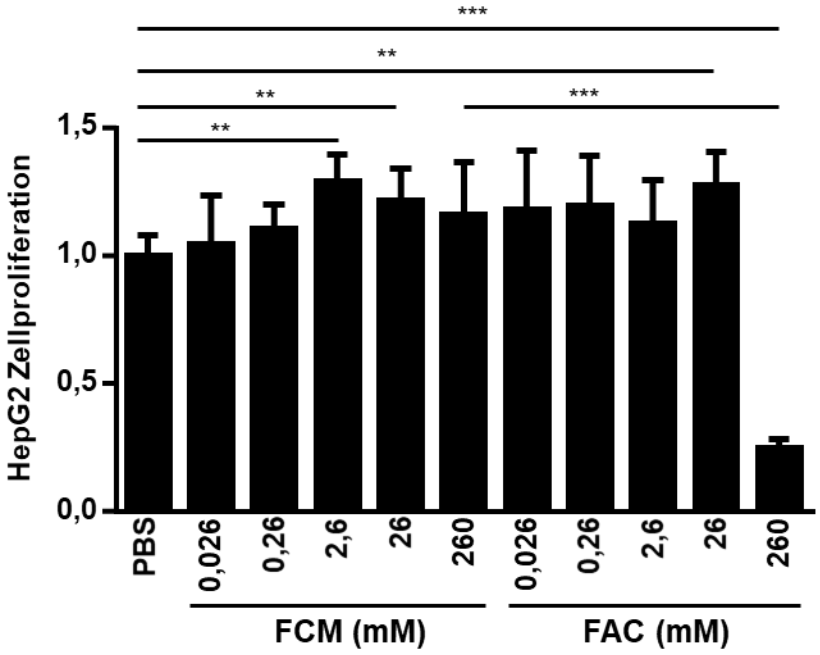

Abbildung 9. Zellproliferation von HepG2 Zellen
Mittels eines Zellproliferationsassay wurde die Zellproliferation von HepG2 Zellen nach einer Stimulation mit FCM und FAC analysiert (N=3 Versuche, n=4 pro Kondition; Kruskal-Wallis Test: p=0,0001). Eine Erhöhung der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle konnte nach einer Stimulation mit 2,6 mM FCM (**p=0,002: PBS vs. 2,6 mM FCM), 26 mM FCM (**p=0,008: PBS vs. 26 mM FCM) und 26 mM FAC (**p=0,009: PBS vs. 26 mM FAC) beobachtet werden. Eine Stimulation mit 260 mM FAC führte zu einem Abfall der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle (***p=0,0007: PBS vs. 260 mM FAC) und im Vergleich zur Stimulation mit 260 mM FCM (***p=0,0002: 260mM FAC vs. 260 mM FCM).

Bei der Stimulation von A549 Zellen mit 0,026 mM FCM und 26 mM FAC zeigte sich ein leichter Abfall der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle mit PBS, nicht jedoch zur jeweils äquivalenten Menge an FCM bzw. FAC. Eine starke Reduktion der Zellproliferation zeigte sich auch hier nur nach einer Stimulation der Zellen mit 260 mM FAC. Diese Reduktion der Zellproliferation war zudem auch signifikant niedriger als die Zellproliferation nach einer Stimulation mit 260 mM FCM (Abbildung 10).

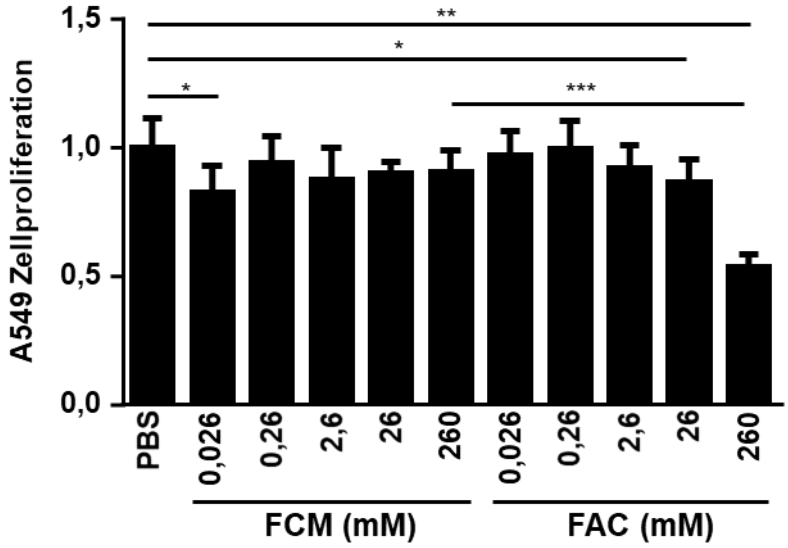

Abbildung 10. Zellproliferation von A549 Zellen
Die Zellproliferation von A549 Zellen nach einer Stimulation mit FCM und FAC wurde mittels Zellproliferationsassay analysiert (N=3 Versuche, n=4 pro Kondition, Kruskal-Wallis Test: p=0,0006). Einen Abfall der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle war nach einer Stimulation mit 0,026 mM FCM (*p=0,03: PBS vs. 0,026 mM FCM), mit 26 mM FAC (*p=0,04 PBS vs. 26 mM FAC) und mit 260 mM FAC (**p=0,001: PBS vs. 260 mM FAC; ***p=260mM FCM vs. 260 mM FAC) zu beobachten.

UM-UC-3 Zellen zeigten nach einer Stimulation mit 2,6 mM FCM einen leichten Abfall der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle und zur äquivalenten Menge an Eisen in Form von FAC. Jedoch zeigte eine Konzentration von 260 mM FAC einen signifikant stärkeren Abfall der Zellproliferation im Vergleich 2,6 mM FCM, sowie zur Kontrolle und der äquivalenten Menge an FCM (Abbildung 11).

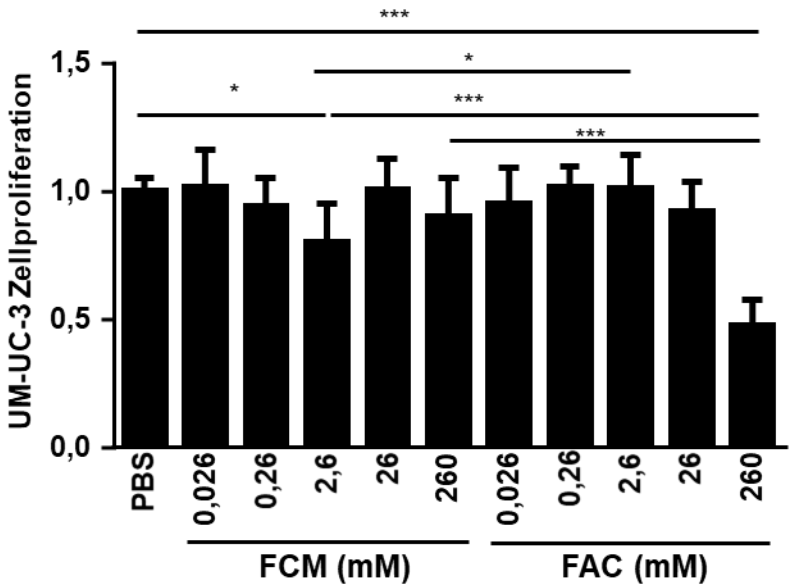

Abbildung 11. Zellproliferation von UM-UC-3 Zellen
Die Zellproliferation von UM-UC-3 Zellen nach einer Stimulation mit FCM und FAC wurde mit Hilfe eines Zellproliferationsassay ausgewertet (N=3 Versuche, n=4 pro Kondition; Kruskal-Wallis Test: p=0,0001). Eine Stimulation mit 2,6 mM FCM führte zu einem Abfall der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle (*p=0,01: PBS vs. 2,6 mM FCM) und im Vergleich zur Stimulation mit 2,6 mM FAC (*p=0,015: 2,6 mM FAC vs. 2,6 mM FCM). Eine Stimulation mit 260 mM FAC führte zu einem Abfall der Zellproliferation im Vergleich zur Kontrolle (***p=0,0007: PBS vs. 260 mM FAC), im Vergleich zur Stimulation mit 260 mM FCM (***p=0,0002: 260 mM FAC vs. 260 mM FCM) und im Vergleich zur Stimulation mit 2,6 mM FCM (***p=0,003: 2,6 mM FCM vs. 260 mM FAC).

Somit war bei allen drei Zelllinien die Zellproliferation nach eine Stimulation von 260 mM FAC im Vergleich zur Kontrolle und im Vergleich zur äquivalenten Menge an FCM stark reduziert. Dies macht deutlich, dass freies Eisen in einer Konzentration von 260 mM proliferationshemmend für Tumorzellen ist. Wenn die äquivalente Konzentration an Eisen jedoch an eine Kohlenhydrathülle gebunden ist, wie es bei FCM der Fall ist, bewirkt es keine Veränderung der Zellproliferation.
Des Weiteren führte weder freies, noch gebundenes Eisen in verschiedenen Konzentrationen zu einem stark vermehrten Wachstum der Tumorzellen.

4.1.3 Qualitative Bestimmung reaktiver Sauerstoffspezies

Eisen kann im menschlichen Körper die Bildung von ROS fördern. Um zu analysieren, in wie weit freies Eisen oder komplexgebundenes Eisen die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies in Tumorzellen fördert, wurden A549 Zellen mit 2′,7′-Dichlorodihydrofluoresceindiacetat behandelt. Die 90 minütige Stimulation mit freiem Eisen bzw. komplexgebundenen Eisen erfolgte mit 2,6 mM und 260 mM FAC bzw. FCM. Als Positivkontrolle diente Wasserstoffperoxid in einer Konzentration von 10 mM, da eine Stimulation mit Wasserstoffperoxid eine Zunahme an ROS bewirkt.[71] Die Negativkontrolle erfolgte mit PBS, welches keine Veränderung an ROS verursacht.

Unter dem Fluoreszenzmikroskop zeigten die A549 Zellen nach einer Stimulation mit 10 mM Wasserstoffperoxid die erwartete, starke Zunahme an Fluoreszenz. Nach einer Stimulation mit 2,6 mM FAC trat eine leicht erhöhte Fluoreszenz auf, die bei einer Stimulation mit 2,6 mM FCM nicht zu beobachten war. Auch bei einer Stimulation der A549 Zellen mit 260 mM FAC war eine leicht erhöhte Fluoreszenz zu beobachten, die bei einer Stimulation mit 260 mM FCM nicht auftrat (Abbildung 12).

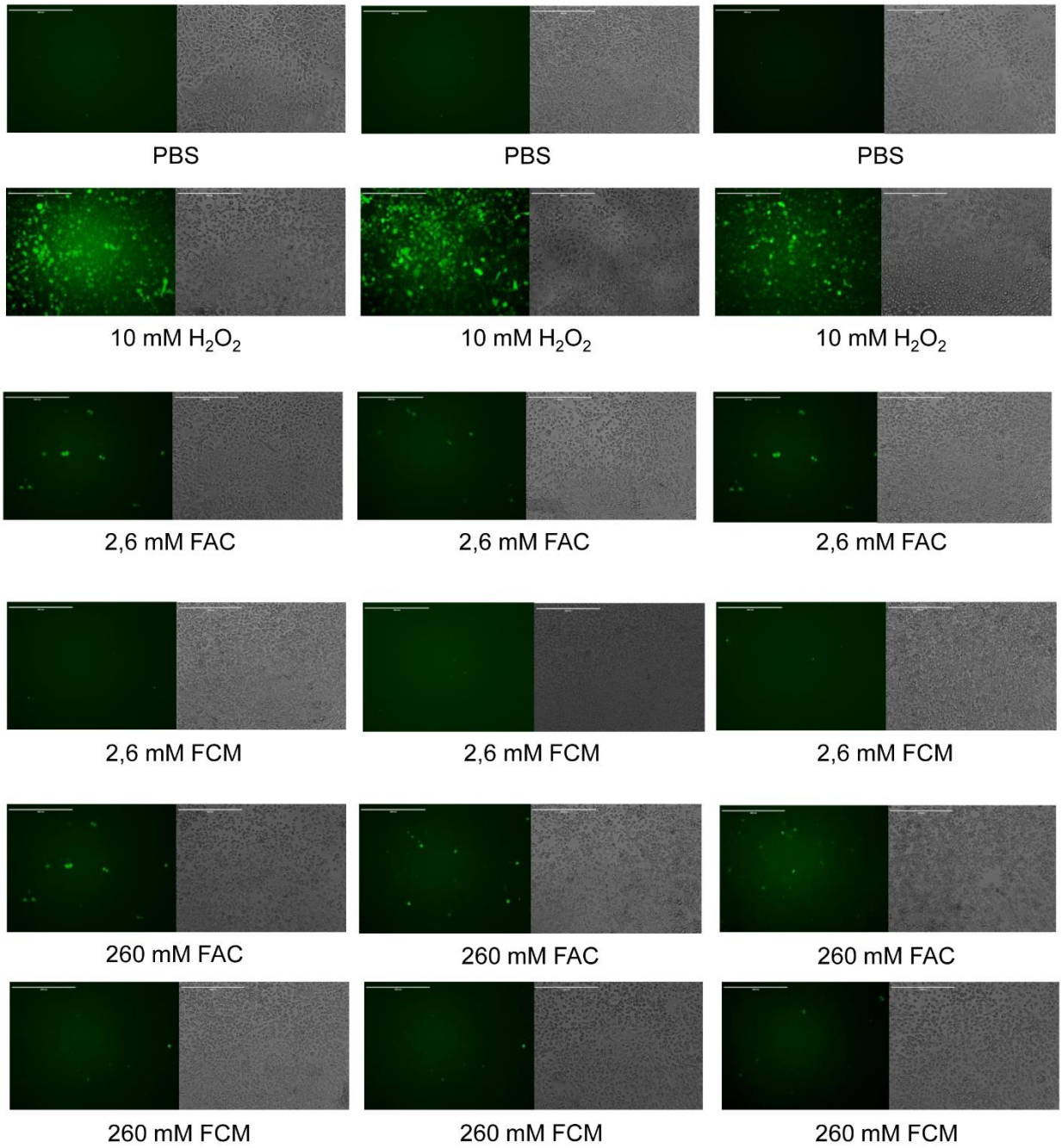

Abbildung 12. Reaktive Sauerstoffspezies nach einer Stimulation mit Eisen
Bei A549 Zellen wurden die Menge an ROS nach einer Stimulation mit FAC und FCM analysiert. Pro Kondition werden 3 repräsentative Abbildungen von je 6 Gesamtabbildungen pro Kondition abgebildet. Nach einer Stimulation mit 2,6 mM FCM und 260 mM FCM zeigte sich eine geringfüge Zunahme der Fluoreszenzintensität im Vergleich zu PBS. Eine Stimulation mit 2,6 mM FAC und 260 mM FAC zeigte im Vergleich zur Kontrolle und zu FCM eine stärkere Zunahme der Fluoreszenzintensität.

Diese Ergebnisse zeigen, dass komplexgebundenes Eisen in Form von FCM nicht zu einer vermehrten Bildung von ROS führte. In diesen Versuchen wurde somit durch eine FCM Stimulation der oxidative Stress in A549 Zellen nicht erhöht. Die Abbildungen deuten darauf hin, dass jedoch freies Eisen den oxidativen Stress in Zellen verstärkt, indem es zu einer Zunahme von ROS führt.

Insgesamt konnten die *in vitro* Zellversuche zeigen, dass in HepG2 Zellen und A549 Zellen eine Erhöhung der Hepcidin mRNA Expression weder mit FCM noch mit FAC zu beobachten war. Die Proliferation von HepG2, A549 und UM-UC-3 Zellen wurde durch eine FCM Stimulation, im Gegensatz zur Stimulation mit freiem Eisen nicht wesentlich beeinflusst und führte weder zu einem Absterben der Zellen, noch zu einem stark vermehrten Wachstum der Tumorzellen. Des Weiteren förderte FCM in Zellen nicht die Bildung von ROS und führte somit, im Gegensatz zu freiem Eisen, nicht zu vermehrtem oxidativen Stress.

4.2. Humanes Tumorgewebe

4.2.1 Patientenkollektiv

In die Auswertung der Genexpressionsanalyse wurden 10 Patienten eingeschlossenen, die in dem Zeitraum vom 16.06.2017 bis 28.09.2017 in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde vorstellig waren. Eine Übersicht der Patientencharakteristika ist in der Tabelle 11 abgebildet. Bei allen Patienten wurde aufgrund eines klarzelligen Nierenzellkarzinoms eine Nephrektomie durchgeführt. In die Gruppe „T1“ konnten drei anämische Patientinnen eingeschlossenen werden, die im Median 5 Tage (± 3,5) vor der Operation in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde i.v. 500mg FCM erhalten hatten. In die Gruppe „T2“ wurden drei anämische Patienten eingeschlossenen, die aufgrund von Kontraindikationen präoperativ nicht mit i.v. Eisen behandelt werden konnten. Des Weiteren wurden vier nicht anämische Patienten in die Studie eingeschlossenen.

Von drei dieser Patienten wurde sowohl Tumorgewebe (Gruppe „T3“), wie auch nicht malignes Gewebe (Gruppe „K“) untersucht. Vom vierten Patienten wurde nur das nicht maligne Gewebe analysiert.

Tabelle 11. Charakteristika der Patienten, die in die Auswertung der Genexpressionsanalyse eingeschlossenen wurden

	Gruppe T1	**Gruppe T2**	**Gruppe T3**	**Gruppe K**
Anzahl Patienten	3 (♀:3)	3 (♀:1; ♂:2)	3 (♀:1; ♂:2)	4 (♀:1; ♂:3)
Anämie	Ja	Ja	Nein	Nein
Hb (g/dl)	10,6 ± 0,9	10,4 ± 0,5	15,6 ± 1,3	14,6 ± 2,2
Eisengabe i.v.	Ja	Nein	Nein	Nein
Alter (Jahre)	71,4 ± 10,1	54,0 ± 9,9	54,4 ± 6,8	59,0 ± 10,3
Malignität[a,b]	T1-3, G2	T1-4, G2-G4	T1-T3, G2-G3	Keine Malignität

[a]T: Ausdehnung des Primärtumors nach der *Tumour-Node-Metastasis-Classification* der *Union International contre le Cancer*; [b]G: Malignitätsgrad nach der *World Health Organization, International Society of Uropathology*
Angabe von Hb Wert und Alter als Median ± IQR

Die Auswertung der Genexpression des Gewebes zeigte, dass sich die Expression des nicht malignen Gewebes der Gruppe K deutlich von der Expression des Tumorgewebes der Gruppe T1, T2 und T3 unterschied. Das nicht maligne Gewebe zeigte im Vergleich zum Tumorgewebe der Gruppe T3 bei 2451 Genen eine signifikant erhöhte und bei 1846 Genen eine signifikant erniedrigte Genexpression mit einem *fold change* von über 2, bzw. unter -2 (Abbildung 13A).

Der Vergleich der Tumorproben T1, T2 und T3 miteinander zeigte hingegen nur mehrere hundert Gene mit veränderter Expression, die einen großen, signifikanten *fold change* aufwiesen. Die Gruppe T1 wies 241 Gene mit einer erhöhten und 173 Gene mit einer erniedrigten Genexpression im Vergleich zu T2 auf (Abbildung 13B). Bei dem Vergleich T1 zu T3 konnten in der Gruppe T1 175 Gene mit einer erhöhten und 144 Gene mit einer erniedrigten Expression beobachtet werden (Abbildung 13C).

Die Gruppe T2 wies im Vergleich zur Gruppe T3 eine signifikante Expressionserhöhung bei 93 Genen und eine Erniedrigung der Expression von 143 Genen auf (Abbildung 13D).

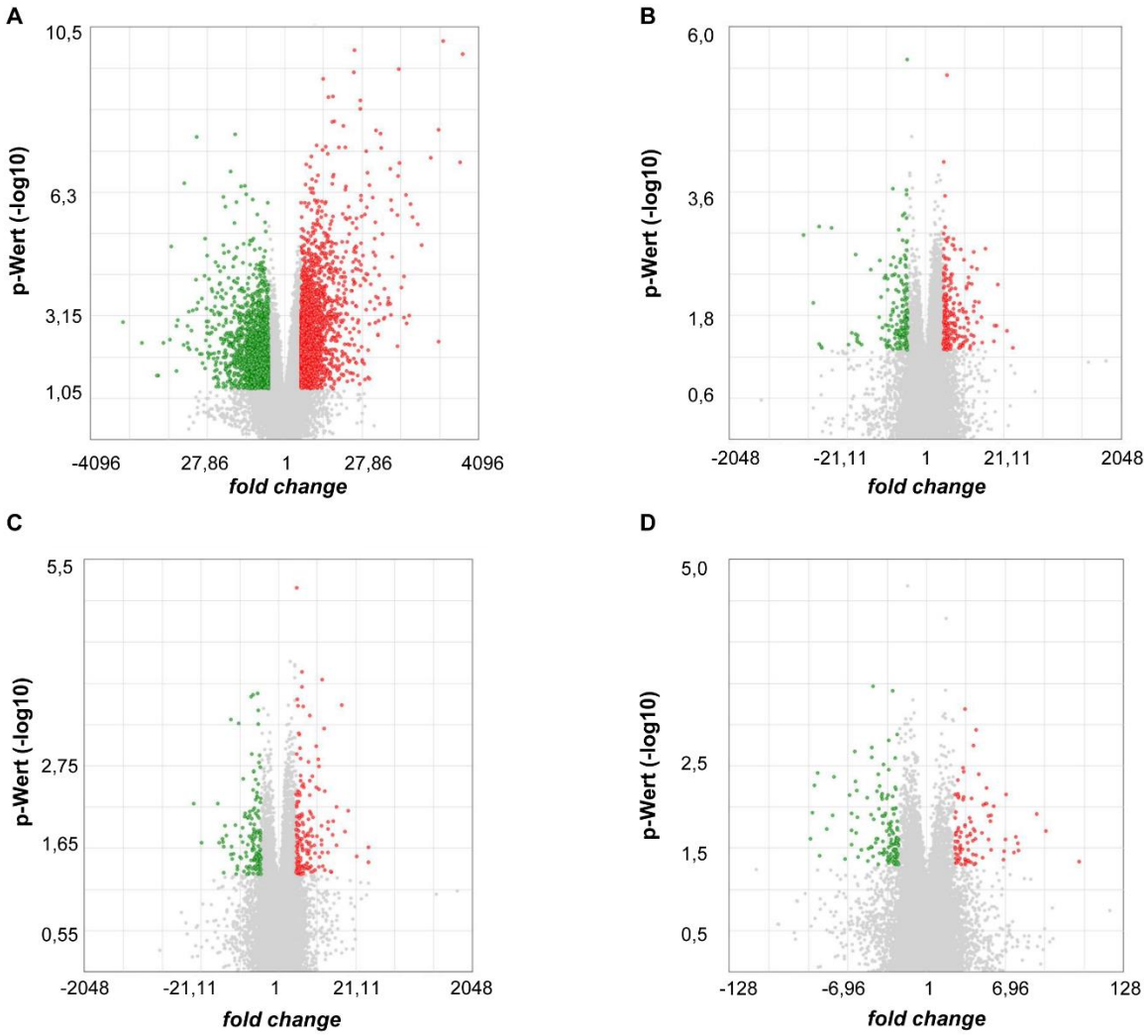

Abbildung 13. Auswertung der Genexpression
Mit Hilfe eines *Volcano plots* wurden die relevanten Veränderungen in der Genexpression dargestellt. In Grün sind signifikante (p<0,05, *fold change* <-2) Verminderungen der Genexpression und in Rot signifikante Genexpressionserhöhungen (p<0,05, *fold change* >2) abgebildet. **A.)** Vergleich des nicht malignen Gewebe der Gruppe K zum Tumorgewebe der nicht anämischen Patienten der Gruppe T3. **B.)** Vergleich des Tumorgewebes T1, der anämischen, mit FCM behandelten Patienten, zum Tumorgewebe T2, der anämischen Patienten ohne einer FCM Gabe. **C.)** Vergleich des Tumorgewebes T1 zum Tumorgewebe T3. **D.)** Vergleich des Tumorgewebes T2 zum Tumorgewebe T3.

Zudem zeigte die Auswertung der Genexpression des Tumorgewebes, dass in den Gruppen T1, T2 und T3 nur ein Gen, das Gen *HILPDA*, welches das *Hypoxia-inducible lipid droplet-associated protein* (HILPDA) kodiert, in allen drei Gruppen unterschiedlich stark exprimiert wurde (Abbildung 14). HILPDA ist ein Protein, welches die Triglyceridsekretion reguliert und zu einer Erhöhung der Triglyceridspeicher in der Leber führt.[75] Die Proben der mit FCM behandelten Patienten der Gruppe T1 zeigten die höchste Expression und die Gruppe T2, der anämischen, nicht mit FCM behandelten Patienten, die zweithöchste *HILPDA* Expression. Die niedrigste *HILPDA* Expression war im nicht malignen Gewebe der Gruppe K zu finden. Zu der Ursache und der Relevanz dieser Veränderung kann zum aktuellen Zeitpunkt keine Aussage gemacht werden.

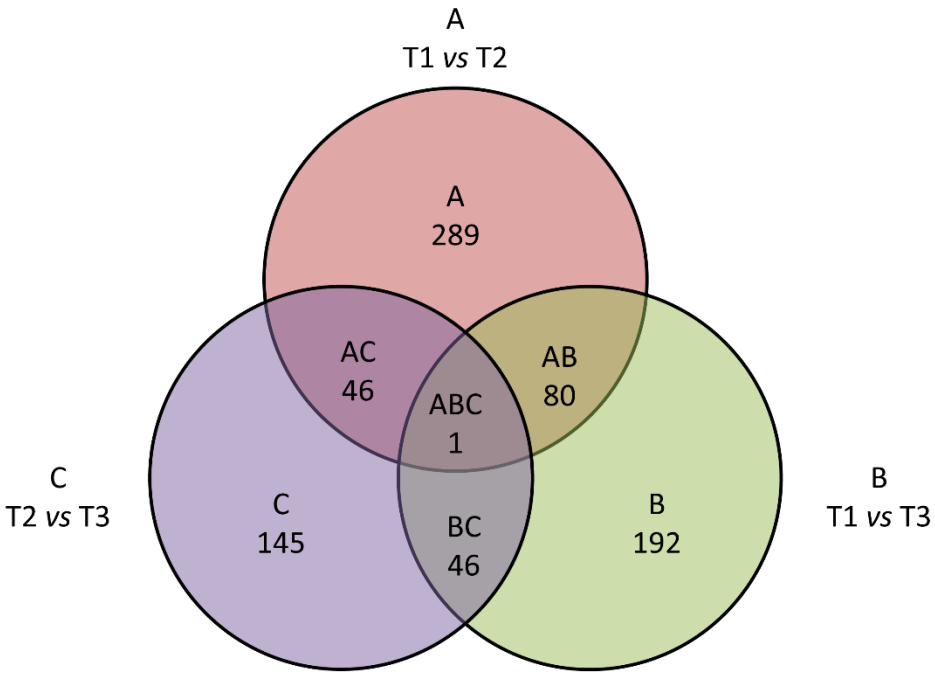

Abbildung 14. Veränderungen der Genexpressionen im Tumorgewebe
Innerhalb der Tumorgruppen T1, T2 und T3 zeigten insgesamt 973 Gene signifikante ($p<0.05$, *fold change* <-2 und >2) Veränderungen der Genexpression. Bei 46 Genen konnte eine veränderte Genexpression bei dem Vergleich T1 gegen T2 und dem Vergleich T2 gegen T3 beobachtete werden. Bei dem Vergleich der Genexpression von T2 gegen T3 und dem Vergleich T1 gegen T3 wiesen 46 gleiche Gene eine veränderte Genexpression auf. 80 Gene zeigten bei dem Vergleich T1 gegen T2 und bei dem Vergleich T1 gegen T3 eine veränderte Genexpression. Alle drei Tumorgruppen wiesen eine unterschiedlich starke Genexpression von *HILPDA* auf.

Insgesamt wird somit deutlich, dass die Genexpressionen der nicht malignen Proben sich klar von derjenigen der Tumorproben unterschieden. Der Unterschied zwischen den einzelnen Tumorgruppen T1 bis T3 war hingegen gering.

4.2.2 Vergleich der Genexpression von Nierenzelltumoren zu nicht malignem Gewebe

Um über- oder unterrepräsentierte Gen-Klassen zu identifizieren, die eine Assoziation mit bestimmten Krankheitsphänotypen aufweisen können, wurde eine *Gene Ontology term enrichment* Analyse durchgeführt.

Hier zeigte sich, dass die Tumorproben T3, der nicht anämischen Patienten, eine veränderte Genexpression des „*Chemical carcinogenesis*“ Signalweges aufwiesen im Vergleich zu den nicht malignen Proben der Gruppe K (*Enrichment*-Score: 3,63). Die Gene der Uridin-5'-diphospho-Glucuronosyltransferasen *UGT1A1, UGT1A3-A10, UGT2A1* und *UGT2A2*, der Alkoholdehydrogenasen *ADH1A, ADH1B, ADH1C, ADH6*, der Cytochrom P450 Enzyme *CYP3A4* und *CYP3A7*, sowie *GSTM3* (codiert die Glutathione S-transferase Mu 3) wurden im Tumorgewebe der Gruppe T3 vermindert exprimiert. *MGST1* (Microsomale Glutathion S-Transferase 1) wurde hingegen im Tumorgewebe vermehrt exprimiert.

Uridin-5'-diphospho-Glucuronosyltransferasen und Cytochrom P450 Enzyme spielen eine wichtige Rolle bei der Metabolisierung und anschließender Eliminierung von Xenobiotika und endogener Verbindungen. Alkoholdehydrogenasen katalysieren den Abbau von Alkoholen, sowie dessen Rückreaktion und die Glutathion S-transferase Mu 3, wie auch die Microsomale Glutathion S-Transferase 1 konjugieren reduziertes Glutathion an eine Vielzahl von hydrophoben Elektrophilen und tragen somit zum Abbau dieser Stoffe bei.

Zusätzlich konnte im Tumorgewebe der Gruppe T3 eine vermehrte Genexpression von *MET* (*Hepatocyte growth factor receptor*) und eine verminderte Genexpression von *MUC20* (Mucin-20) beobachtet werden. Beide Gene gehören zur MET-Signalkaskade, die invasives Wachstum fördert.[76]

Auch wurden im Tumorgewebe der Gruppe T3 im Vergleich zur Gruppe K insgesamt 12 Gene des „*Nuclear factor erythroid 2-related factor* 2 (NRF2)-Signalweges vermehrt und 18 Gene vermindert exprimiert. Der Nrf2-Signalweg spielt eine wichtige Rolle im Redox-Stoffwechsel und der antioxidativen Abwehr. Bei vielen Tumorentitäten kann eine Mutation des NRF2-Signalweges beobachtet werden.[77]

In Bezug auf das eisenregulierende Gen *HAMP*, welches Hepcidin kodiert, konnte kein Unterschied in der Genexpression zwischen dem nicht malignen Gewebe der Gruppe K und dem Tumorgewebe der nicht anämischen Patienten der Gruppe T3 beobachtet werden. Auch die Expression von *SLC40A1* (Ferroportin), *TFRC* (TfR1), *SLC11A2* (DMT1), *FTH* (Ferritin *heavy chain*) und *FTL* (Ferritin *light chain*) war zwischen der Gruppe K und T3 nicht signifikant unterschiedlich.
Im Tumorgewebe T3 war jedoch das Gen *ACO1* (*Cytoplasmic aconitate hydratase)* vermindert und *MCOLN1* (Mucolipin-1) verstärkt exprimiert. Je nach Höhe der zellulären Eisenspiegel fungiert die *Cytoplasmic aconitate hydratase* als Aconitase oder als *iron-responsive element*. Bei niedrigen Eisenspiegeln reguliert es als mRNA-bindendes Protein die Aufnahme, Sequestrierung und Verwendung von Eisen.[78] Das *MCOLN1* Gen kodiert ein Mitglied der Transient-Rezeptor-Potential-Kationenkanal-Genfamilie und ist unter anderem für Fe^{2+}durchlässig.[79]

4.2.3 Auswirkung einer FCM Gabe auf die Genexpression von Nierenzelltumoren

Bei der *Gene Ontology term enrichment* Analyse der Tumorgruppen T1, T2 und T3 zeigte sich ebenfalls eine veränderte Genexpression des „*Chemical carcinogenesis*“ Signalweges bei dem Vergleich der Tumorgruppen T1 zu T2 (Enrichment-Score: 3,40) und dem Vergleich T1 zu T3 (Enrichment-Score: 3,95). Die Tumorproben T1, der anämischen, mit FCM behandelten Patienten, zeigten im Vergleich zu T2 und T3 eine verminderte Expression der Gene der Uridin-5'-diphospho-Glucuronosyltransferasen *UGT1A1, UGT1A3-A10* und im Vergleich zu T2, den anämischen und nicht mit FCM behandelten Patienten, zusätzliche eine verminderte Genexpression von *GSTM1*.

Der Vergleich der Tumorgruppen bezüglich eisenregulierender Gene zeigte, dass das Tumorgewebe von Patienten mit einer Eisengabe keine veränderte Genexpression von *HAMP* im Vergleich zu den Tumorgruppen T2 und T3 aufwies. Die Expression von *SLC40A1, TFRC, SLC11A2, FTH* und *FTL* war zwischen der Tumorgruppen T1, T2 und T3 ebenfalls vergleichbar.
Das Tumorgewebe der anämischen, mit FCM behandelten Patienten der Tumorgruppe T1 zeigte im Gegensatz zur Tumorgruppe T2 und T3 jedoch eine Erhöhung von *BMPER* (BMP-*binding endothelial regulator protein*). Das BMP-*binding endothelial regulator protein* interagiert mit dem *bone morphogenetic protein* Rezeptor und kann so die Hepcidin Synthese inhibieren.

Ferner wurden die Gene *EML1* (*Echinoderm microtubule associated protein like* 1), *SLC18A2* (*Solute carrier family 18 vesicular monoamine member* 2), *ACACA* (Acetyl-Coenzyme A Carboxylase alpha) und *CDH13* (Cadherin 13) untersucht, da die Expression dieser Gene durch ROS verändert werden kann.[80] Das Tumorgewebe der anämischen Patienten mit einer Eisengabe der Gruppe T1 zeigte keine Veränderung dieser Gene im Vergleich zu den Tumorproben der Gruppe T2 und T3.

Außerdem wurde die Genexpression von *CDKN2A* (Cyclin-abhängiger Kinase Inhibitor 2A) und *CDKN2B* (Cyclin-abhängiger Kinase Inhibitor 2A), sowie die *MET* Expression der Tumorgruppe T1 mit den Tumorgruppen T2 und T3 verglichen, da Nierentumore, die bei Ratten als Folge einer Injektion eines Eisen-Nitrilotriacetatkomplexes entstanden waren, eine Deletion von *Cdkn2A, 2B* und eine Amplifikation von *Met* aufwiesen.[81] Bei dem Vergleich der Expression dieser Gene konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen T1, T2 und T3 festgestellt werden.

In den Tumorproben der Gruppe T1 konnte jedoch eine vermehrte Genexpression von *PTGS2* (Prostaglandin G/H Synthase 2) und *VEGFA* (vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor A) im Vergleich zur Gruppe T2 und T3 beobachtet werden. Prostaglandin G/H Synthasen können in einer Vielzahl von Geweben durch verschiedene Stimuli, wie Zytokine, induziert werden. Sie überführen die Arachidonsäure in cyclische Endoperoxide.

VEGFA spielt in der Angiogenese eine zentrale Rolle. Bei Sauerstoffmangel kommt es zu einer Aktivierung von VEGFA über den *hypoxia inducible factor* 1A (HIF1A). Einen Unterschied in der *HIF1A* Genexpression, welches den *hypoxia inducible factor* 1A kodiert, konnte jedoch nicht zwischen den Gruppen T1, T2 und T3 beobachtet werden.

Des Weiteren wurde die Expression von *CA9* und *MKI67* analysiert, zwei prognostische Marker, deren Erhöhung (MKI67) bzw. Erniedrigung (CA9) mit einem kürzen Überleben korrelieren.[82] Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Expression dieser Gene zwischen den drei Gruppen T1, T2 und T3 festgestellt werden.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass wichtige eisenregulierende Gene, wie *HAMP* und *TFRC*, in Nierenzellkarzinomen keine veränderte Genexpression im Vergleich zu gesundem Gewebe aufwiesen. Auch eine zusätzliche i.v. Eisengabe führte nicht zu einer Expressionsänderung dieser Gene. Ebenso beeinflusste eine i.v. Eisengabe auch nicht die Expression von ausgewählten Genen, deren Expression durch ROS verändert werden kann. Die Expression der Gene *CA9* und *MKI67*, deren Erhöhung, bzw. Erniedrigung mit einem verringerten Überleben assoziiert sind, wurde durch eine i.v. Eisengabe ebenfalls nicht beeinflusst. Aus der Genexpressionsanalyse ergibt sich somit kein Hinweis auf ein zusätzliches Risiko der i.v. Eisengabe bei anämischen Patienten mit einem klarzelligen Nierenzellkarzinom.

4.3. Patientenbefragungen

4.3.1 Patientenkollektiv

Patienten, die in der Anästhesie/PBM Sprechstunde bezüglich einer präoperativen Eisenmangelanämie und –therapie vorstellig wurden, willigten ein, 30, 90 und 356 Tage nach der Vorstellung in der Sprechstunde telefonisch interviewt zu werden. Das Telefoninterview wurde vom 01.11.2014 bis zum 30.11.2016 durchgeführt. Von insgesamt 1020 Patienten mussten 42 Patienten ausgeschlossen werden. Von diesen Patienten konnten 19 aufgrund einer falschen Telefonnummer nicht kontaktiert werden, 10 Patienten entschlossenen sich im Verlauf der Studie gegen die Teilnahme an einer Telefonbefragung, drei Patienten wurden doppelt in die Studie eingeschlossenen und sieben Patienten konnten aufgrund unzureichender Deutsch- oder Englischkenntnisse, bzw. aufgrund einer fortgeschrittenen Demenz, nicht befragt werden. Drei weitere Patienten erhielten bei relativem Eisenmangel eine i.v. Eisengabe und wiesen somit einen Hb Wert von über 13 g/dl (Männer), bzw. über 12 g/dl (Frauen) auf. Somit konnten 978 Patienten in diese Auswertung eingeschlossen werden (Abbildung 15).

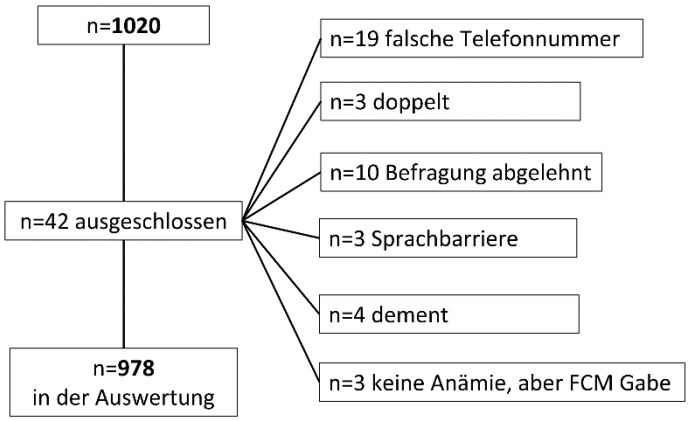

Abbildung 15. Eingeschlossene Patienten
Auflistung der aus- und eingeschlossenen Patienten der Telefonbefragung.

Eine Anämie wiesen 256 (26,7%) der 978 Patienten auf und ca. die Hälfte (124) der anämischen Patienten erhielten eine i.v. Eisengabe.

Die am häufigsten bei den Patienten durchgeführten Eingriffe waren Operationen am Herzen (n=576), gefolgt von Operationen am Verdauungstrakt (n=81) und Operationen an Lunge und Bronchus (n=56). Bei 86 Patienten musste die geplante Operation abgesagt werden (Abbildung 16).

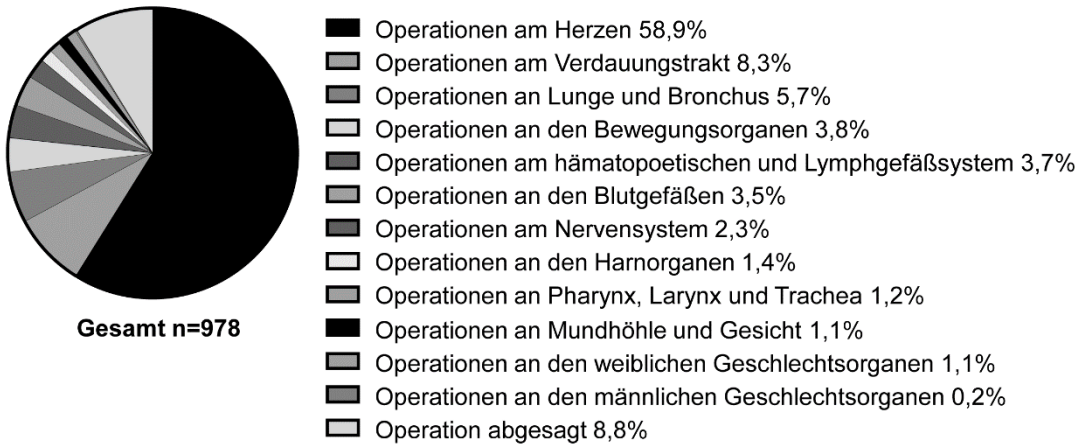

Abbildung 16. Operationen
In der Anästhesie/ PBM Sprechstunde wurden Patienten behandelt, bei denen eine Operation mit einer Transfusionswahrscheinlichkeit von über 10% (im Jahr 2013) geplant war. Die Auflistung bezieht sich nur auf die Patienten, die in die Auswertung der Telefonbefragung eingeschlossen wurden.

Eine Übersicht der Patientencharakteristika gibt die Tabelle 12. Ein Drittel (326) der eingeschlossenen Patienten war weiblich. Von den 89 anämischen Patientinnen konnten 53 Patientinnen mit FCM behandelt werden. Das Alter der Frauen war in allen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Der Hb Wert der weiblichen Patientinnen war erwartungsgemäß in der nicht anämischen Gruppe signifikant höher als in der anämischen Gruppen mit und ohne i.v. Eisengabe. Von den insgesamt 652 männlichen Patienten wiesen 167 Patienten eine Anämie auf. Eine i.v. Eisengabe erhielten 71 der männlichen Patienten. Die nicht anämischen wiesen im Vergleich zu den anämischen Männern ein geringeres Alter auf. Zudem wiesen die anämischen Männer, die mit FCM behandelt wurden, im Gegensatz zu den unbehandelten, anämischen Männern, geringere Hb Werte auf.

Tabelle 12. Charakteristika der Patienten, die in die Auswertung der Telefonbefragung eingeschlossenen wurden

	Frauen		
Parameter	**Keine Anämie**	**Anämie, kein FCM**	**Anämie + FCM**
Anzahl Patienten	237	36	53
Alter [Jahre]	66 ± 22	68 ± 18	66 ± 29
Hämoglobin [g/dl] (13 – 16.9)	13,5 ± 1,4*†	10,8± 1,5	10,8 ± 1,7
Transferrin [mg/dl] (200 - 360)	258 ± 53	231 ± 79†	290 ± 91
Ferritin [µg/l] (22 – 322)	68 ±120†	177 ± 284†	23 ± 44
Serumeisen [µg/dl] (80 – 150)	80 ± 29†	44 ± 57	39 ± 37
TSAT[a] [%] (16 – 45)	22 ± 11†	15 ± 12†	11 ± 10
RPI[b] [%] (2– 3)	0,9 ± 0,5	1,4 ± 0,5	0,9 ± 0,5
CRP[c] [mg/dl] (<0.5)	1,1 ± 1,1*	1,8 ± 3,1	2,0 ± 2,2
Leukozyten [1x10³/µl] (3.91 – 10.9)	7,1 ± 2,8	7,4 ± 5,5	6,5 ± 2,9
Erythrozyten [1x10⁶/µl] (4.4 – 5.6)	4,6 ± 0,6*†	3,8 ± 0,6†	4,1 ± 0,6
Hkt[d] [%] (40 – 49.4)	40,5 ± 3,8*†	33,1 ± 4,2	33,8 ± 4,7
MCV[e] [fl] (81.8 – 95.5)	88,3 ±5,4]†	86,1 ± 10,1†	84,0 ± 8,3
MCH[f] [pg] (27 – 32.3)	29,6 ± 2,1*†	28,1 ± 3,2†	27,0 ± 4,5
MCHC[g] [g/dl] (32.4 – 35)	33,4 ± 1,3*†	32,2 ± 1,2†	31,5 ± 1,8
Thrombozyten [1x10³/µl] (166–308)	254 ± 94†	256 ± 180	291 ± 112
	Männer		
Parameter	**Keine Anämie**	**Anämie, kein FCM**	**Anämie + FCM**
Anzahl Patienten	485	96	71
Alter [Jahre]	66 ± 17*†	74 ± 13	72 ± 14
Hämoglobin [g/dl] (13 – 16.9)	14,6 ± 1,5*†	11,9 ± 2,2†	10,9 ± 1,7
Transferrin [mg/dl] (200 - 360)	249 ± 59*†	236 ± 265†	275 ± 81
Ferritin [µg/l] (22 – 322)	139 ± 181*†	271 ± 298†	50 ± 86
Serumeisen [µg/dl] (80 – 150)	79 ± 39*†	69 ± 49†	45 ± 33
TSAT[a] [%] (16 – 45)	23 ± 13†	22 ± 13†	12 ± 9
RPI[b] [%] (2– 3)	0,7 ± 0,2	0,5 ± 0,3	0,7 ± 0,2
CRP[c] [mg/dl] (<0.5)	1,0 ± 1,2*†	2,2 ± 3,7	2,0 ± 1,4
Leukozyten [1x10³/µl] (3.91 – 10.9)	7,5 ± 2,7	7,1 ± 2,3	7,3 ± 3,2
Erythrozyten [1x10⁶/µl] (4.4 – 5.6)	4,9 ± 0,5*†	3,9 ± 0.7	4,1 ± 2,0
Hkt[d] [%] (40 – 49.4)	43,2 ± 4,2*†	35,8 ± 5,3	34,5 ± 5,1
MCV[e] [fl] (81.8 – 95.5)	59,6 ± 5,6†	89,7 ± 7,3†	86,9 ± 7,9
MCH[f] [pg] (27 – 32.3)	30,3 ± 2,2*†	29,2 ± 4,7†	28,1 ± 4,0
MCHC[g] [g/dl] (32.4 – 35)	33,9 ± 1,2*†	32,8 ± 1,5†	31,9 ± 2,1
Thrombozyten [1x10³/µl] (166–308)	216 ± 77†	218 ± 114†	260 ± 122

[a]Transferrinsättigung, [b]Retikulozytenproduktionsindex, [c]C-reaktives Protein, [d]Hämatokrit, [e]mittleres korpuskulare Volumen, [f]mittleres korpuskuläres Hämoglobin, [g]mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration;
*p<0,05 verglichen zu anämischen Frauen/Männer ohne i.v. Eisen, †p<0.05 verglichen zu anämischen Frauen/Männer mit i.v. Eisen Behandlung
Angaben als Median ± IQR, (Normwerte)

Das Verhältnis von Frauen zu Männern war in der Gruppe der Patienten ohne Anämie und in der Gruppe der Patienten mit Anämie, aber ohne FCM ca. 1:2, bzw. 1:2,7 und somit nicht signifikant unterschiedlich. Die Gruppe der anämischen Patienten mit einer i.v. Eisenbehandlung wies jedoch im Verhältnis zu den beiden anderen Gruppen, signifikant mehr Frauen auf, da hier das Verhältnis Frauen zu Männern bei 1:1,3 lag (Abbildung 17). Dieser Unterschied erklärt sich durch die herzchirurgischen und gynäkologischen Patienten. Von den anämischen, herzchirurgischen Patientinnen konnten 61% (17 Patientinnen) mit i.v. Eisen behandelt werden. Bei den anämischen, herzchirurgischen, männlichen Patienten wurden hingegen nur 33% (31 Patienten) mit i.v. Eisen behandelt. Hinzu kommen die gynäkologischen Patientinnen, von denen 79% (15 Patientinnen) eine i.v. Eisengabe bekamen.

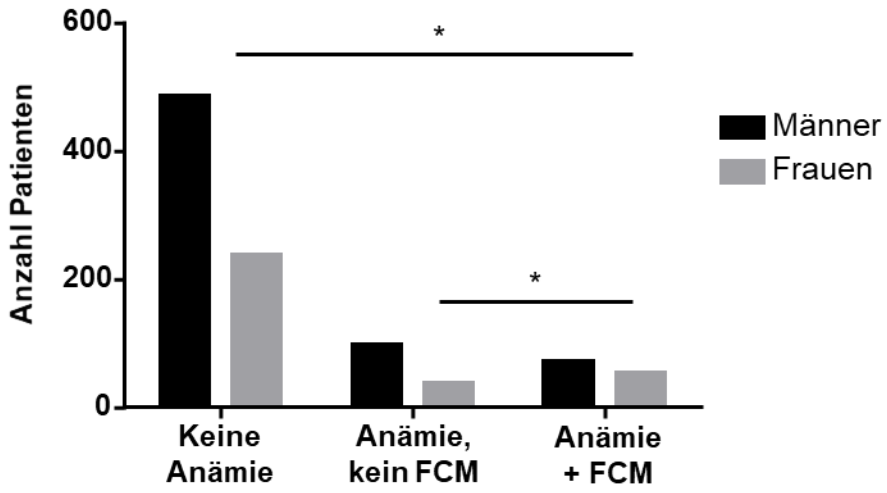

Abbildung 17. Anteil an eingeschlossenen Frauen und Männern in die Auswertung Telefonbefragung
In die anämische Gruppe mit FCM Behandlung wurden mehr Frauen eingeschlossen im Verhältnis zu der anämischen Gruppe ohne FCM Behandlung (*p=0,0124: Anämie, kein FCM vs. Anämie + FCM) und der Gruppe ohne Anämie (*p=0,0402: keine Anämie vs. Anämie + FCM).

Insgesamt konnten 90% der Befragungen erfolgreich durchgeführt werden. Beim ersten Anruf nach 30 Tagen konnten mit 84% die wenigsten Patienten erreicht werden.

Beim zweiten Anruf nach 90 Tagen waren es 92% der Patienten und beim dritten Anruf nach einem Jahr konnte mit 97% der Patienten die Telefonbefragung durchgeführt werden. Der Anteil der Patienten, die telefonisch nicht erreicht werden konnte, war bei allen drei Anrufen nicht signifikant unterschiedlich zwischen den drei Gruppen (Abbildung 18).

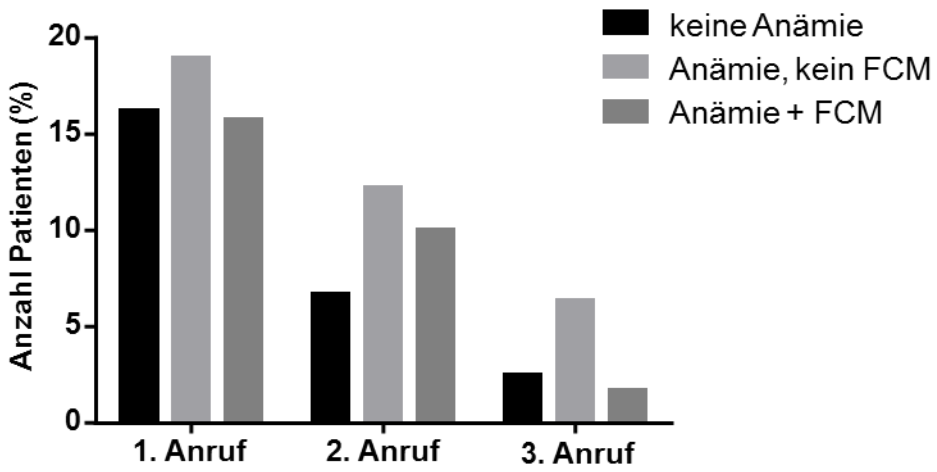

Abbildung 18. Anzahl der telefonisch nicht zu erreichenden Patienten
Insgesamt konnten 90% der Anrufe erfolgreich durchgeführt werden.

4.3.2 Nebenwirkungen und Ereignisse

Zur Erfassung von möglichen Nebenwirkungen und Ereignissen wurden die Patienten zu drei verschiedenen Zeitpunkten telefonisch kontaktiert und befragt.

Erster Anruf

Beim ersten Anruf nach 30 (± 5) Tagen wurden 978 Patienten angerufen. 158 Patienten konnten telefonisch nicht erreicht werden und 19 Patienten waren bereits zum Zeitpunkt des Anrufes verstorben. Somit konnten beim ersten Anruf 801 Patienten in die Analyse eingeschlossen werden. 205 dieser Patienten wiesen eine Anämie auf, von denen 102 Patienten mit FCM behandelt werden konnten (Abbildung 19).

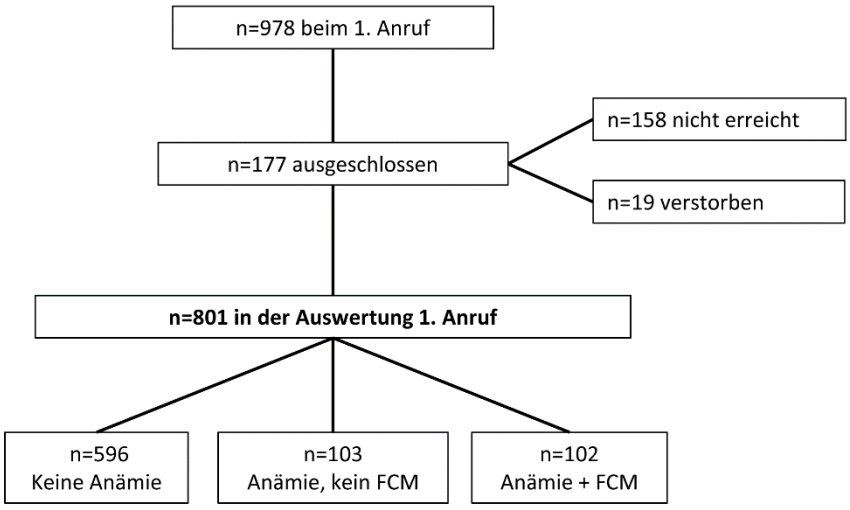

Abbildung 19. Eingeschlossene Patienten beim ersten Anruf

Beim ersten Anruf wurden die Patienten bezüglich verschiedener Nebenwirkungen, die innerhalb der letzten 30 Tage aufgetreten sein mussten, interviewt. Zum einen wurden die Patienten nach äußerlichen Veränderungen, wie Pruritus, Urtikaria, Erytheme, Ödeme oder Blässe, befragt. Hierbei zeigte sich zwischen den drei Gruppen kein Unterschied in der Häufigkeit der entsprechenden Nebenwirkungen. Des Weiteren wurden die Patienten nach Magen-Darm-Beschwerden, wie Übelkeit, Erbrechen, Abdominalschmerzen, Obstipation, Diarrhö oder Flatulenz, befragt. Auch hier zeigten sich zwischen den drei Gruppen keine Unterschiede in der Häufigkeit dieser Nebenwirkungen. Bei der Frage nach aufgetreten Dyspepsien oder Dyspnoe Beschwerden innerhalb der letzten 30 Tagen zeigte sich, dass anämische Patienten ohne i.v. Eisengabe und nicht anämische Patienten signifikant häufiger unter Dyspepsien und Dyspnoe litten als anämische Patienten mit einer i.v. Eisenbehandlung. In Bezug auf Kopfschmerzen, Schwindel oder Dysgeusien war wiederum kein Unterschied zwischen den drei Gruppen festzustellen. Auf die Frage nach aufgetretenen Parästhesien berichteten signifikant häufiger nicht anämische Patienten von einer Gefühlsstörung als anämische Patienten mit und ohne i.v. Eisenbehandlung. (Abbildung 20).

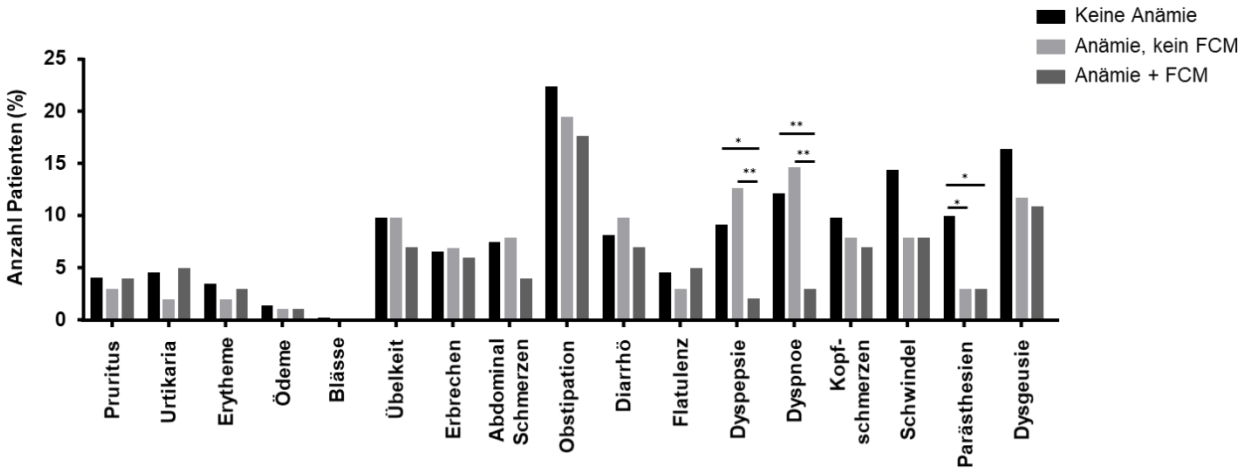

Abbildung 20. Nebenwirkungen innerhalb der ersten 30 Tage
Anämische Patienten mit einer i.v. Eisenbehandlung wiesen seltener Dyspepsien auf als anämischen Patienten, ohne i.v. Eisengabe (**p=0,005: Anämie, kein FCM vs. Anämie + FCM) und nicht anämische Patienten (*p=0,01: keine Anämie vs. Anämie + FCM) und litten seltener unter eine Dyspnoe als anämische Patienten, ohne i.v. Eisengabe (**p=0,005: Anämie, kein FCM vs. Anämie + FCM) und nicht anämische Patienten (**p=0,003: keine Anämie vs. Anämie + FCM). Patienten ohne eine Anämie litten häufiger unter Parästhesien als anämische Patienten mit einer i.v. Eisengabe (*p=0,02: keine Anämie vs. Anämie + FCM) und ohne eine i.v. Eisengabe (*p=0,02: keine Anämie vs. Anämie, kein FCM).

Um einen Einfluss der verschiedenen Operationen auf die Häufigkeit der abgefragten Nebenwirkungen auszuschließen, wurden zwei Subgruppen-Analysen durchgeführt.

Zum einen wurde für eine Subgruppen-Analyse der Nebenwirkungen „Übelkeit“, „Erbrechen“ und „Abdominalschmerzen“ nur Patienten eingeschlossen, bei denen eine transversale oder longitudinale Laparotomie durchgeführt wurde (OPS Code 05-42 bis 05-54, 05-60, 05-65, 05-68). Wie auch im Gesamtkollektiv zeigte sich bei der Auswertung dieser Subgruppe kein Unterschied in der Häufigkeit der aufgetreten Nebenwirkungen Übelkeit, Erbrechen oder Abdominalschmerzen zwischen den nicht anämischen Patienten und den anämischen Patienten mit i.v. Eisengabe und ohne i.v. Eisengabe (Abbildung 21A).

Bei der zweiten Subgruppen-Analyse der Nebenwirkung Dyspnoe wurden nur Patienten eingeschlossenen, bei denen eine Operation an Lunge, Bronchus oder Herzen durchgeführt wurde (OPS Code 05-32 bis 05-37).

Auch hier zeigte sich, wie im Gesamtkollektiv, dass anämische Patienten mit einer i.v. Eisengabe signifikant weniger häufig an Dyspnoe litten, als anämische Patienten ohne i.v. Eisengabe und nicht anämische Patienten (Abbildung 21B).

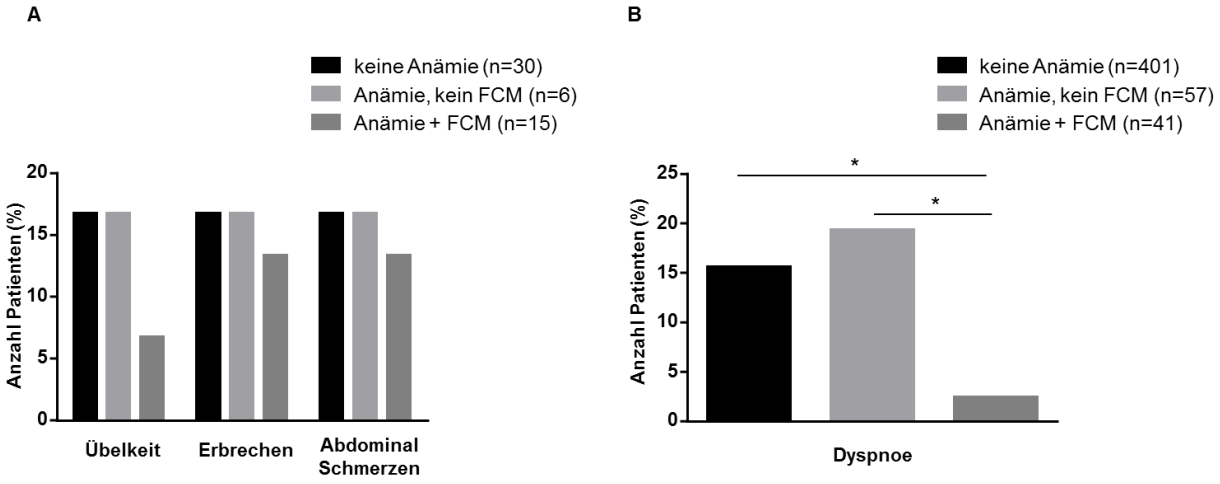

Abbildung 21. Subgruppen Analyse der Nebenwirkungen
Untersuchung des Einflusses der durchgeführten Operationen auf die Nebenwirkungen **A.)** Alle Patienten, bei denen eine transversale oder longitudinale Laparotomie (OPS Code 05-42 bis 05-54, 05-60, 05-65, 05-68) durchgeführt wurde, wurden in Bezug auf Übelkeit, Erbrechen und Abdominalschmerzen analysiert. Es konnte kein Unterschied zwischen den drei Gruppen festgestellt werden. **B.)** Alle Patienten, bei denen eine Operation an Lunge, Bronchus oder Herzen (OPS Code 05-32 bis 05-37) durchgeführt wurde, wurden in Bezug auf Dyspnoe analysiert. Anämische Patienten mit einer i.v. Eisengabe litten weniger häufig an Dyspnoe als anämische Patienten ohne einer i.v. Eisengabe (*p=0.013 Anämie, kein FCM vs. Anämie + FCM) und nicht anämische Patienten (*p=0.018 keine Anämie vs Anämie + FCM).

Des Weiteren wurden beim ersten Anruf gesundheitsbezogene Ereignisse, die innerhalb der letzten ersten 30 Tage aufgetreten waren, erfasst. Hierbei wurde zum einen nach einem Myokardinfarkt, einer neu aufgetretenen Herzinsuffizienz, einem Schlaganfall oder einem Nierenversagen gefragt. Zum anderen wurden die Patienten bezüglich einer aufgetreten Pneumonie, weiteren Infektionen, Fieber oder einer Sepsis befragt. Es zeigte sich kein Unterschied zwischen den drei Gruppen in Bezug auf die Häufigkeit dieser Ereignisse (Abbildung 22).

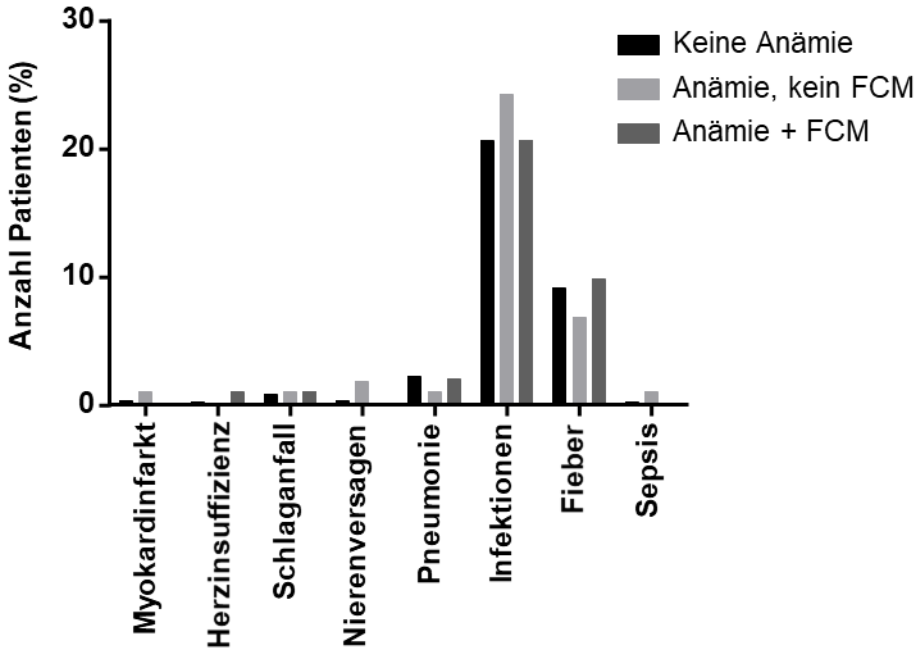

Abbildung 22. Ereignisse nach 30 Tagen
Zwischen den drei Gruppen war kein Unterschied in der Häufigkeit der gesundheitsbezogenen Ereignisse nach 30 Tagen festzustellen.

Zweiter Anruf

In das zweite Telefoninterview nach 90 (± 5) Tagen konnten Patienten eingeschlossenen werden, die bis einschließlich 30.08.2016 in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde behandelt wurden. Von diesen 903 Patienten mussten 68 Patienten ausgeschlossen werden, da sie telefonisch nicht zu erreichen waren. Zudem waren 34 Patienten bereits verstorben, so dass 801 Patienten in die Auswertung des zweiten Anrufes eingeschlossenen werden konnten. Insgesamt 200 dieser Patienten wiesen eine Anämie auf, von den 99 Patienten mit FCM behandelt wurden (Abbildung 23).

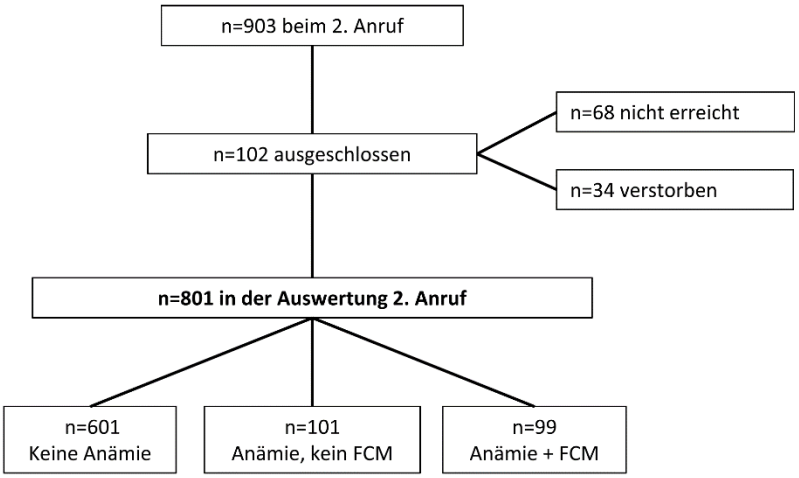

Abbildung 23. Eingeschlossene Patienten beim zweiten Anruf

Auch beim zweiten Anruf ergab die Analyse der Ereignisse „Myokardinfarkt“, „Herzinsuffizienz“, „Schlaganfall“ oder „Nierenversagen“ keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen. Auch die Häufigkeit der aufgetretenen Ereignisse „Pneumonie“, weitere „Infektionen“, „Fieber“ oder „Sepsis“, war zwischen den anämischen Patienten mit und ohne i.v. Eisengabe, sowie den nicht anämischen Patienten vergleichbar (Abbildung 24).

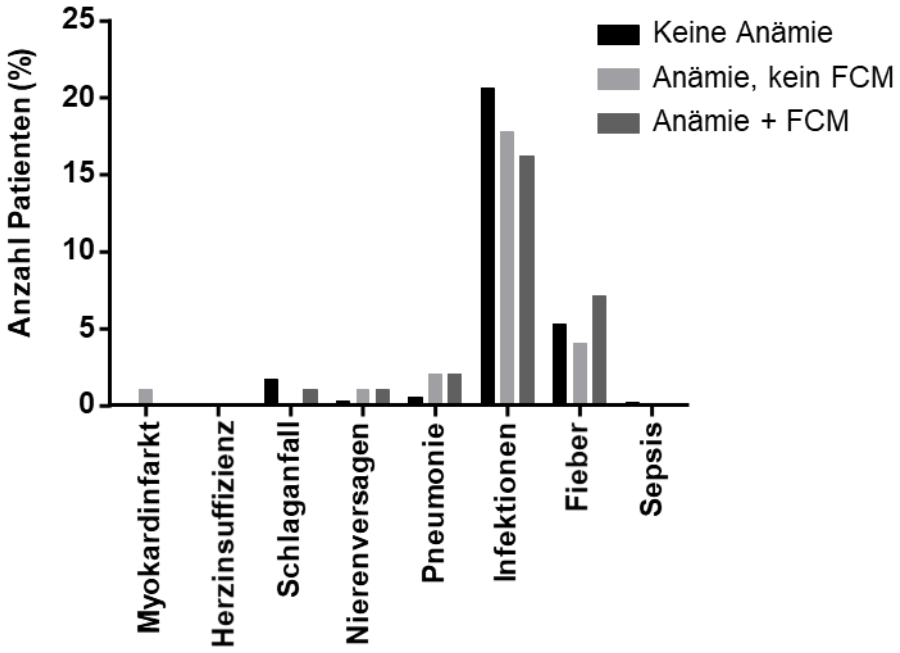

Abbildung 24. Ereignisse nach 90 Tagen
Zwischen den nicht anämischen Patienten, den anämischen Patienten ohne i.v. Eisengabe und den anämischen Patienten mit einer i.v. Eisengabe war kein Unterschied in der Häufigkeit der gesundheitsbezogenen Ereignisse nach 90 Tagen festzustellen.

Dritter Anruf

Der dritte Anruf erfolgte nach 365 (± 5) Tagen und schloss Patienten ein, die bis einschließlich 30.11.2015 in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde behandelt wurden. Insgesamt konnten von 557 Patienten 477 in die Analyse eingeschlossen werden. Von den 80 ausgeschlossenen Patienten waren 60 Patienten bereits verstorben und 14 Patienten konnten telefonisch nicht erreicht werden. Von den eingeschlossenen Patienten waren 118 Patienten anämisch, von denen wiederum die Hälfte mit FCM behandelt werden konnten. Die restlichen 359 Patienten wiesen keine Anämie auf (Abbildung 25).

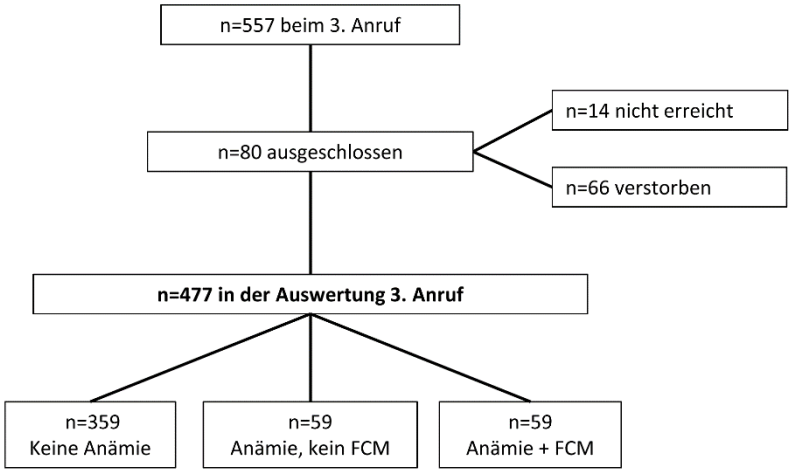

Abbildung 25. Eingeschlossene Patienten beim dritten Anruf

Die Analyse der erhobenen, gesundheitsbezogenen Ereignisse nach einem Jahr zeigte keinen Unterschied zwischen den anämischen Patienten mit und ohne i.v. Eisengabe, sowie den nicht anämischen Patienten in Bezug auf die Ereignisse „Myokardinfarkt“, „Herzinsuffizienz“, „Schlaganfall“ oder „Nierenversagen“. Auch wurde kein Unterschied in Bezug auf die Ereignisse „Pneumonie“, „Fieber“ oder „Sepsis“ festgestellt. Jedoch wiesen signifikant mehr anämische Patienten ohne eine FCM Gabe eine oder mehrere Infektion innerhalb des befragten Zeitraumes auf, als anämische Patienten mit einer i.v. Eisengabe oder nicht anämische Patienten (Abbildung 26).

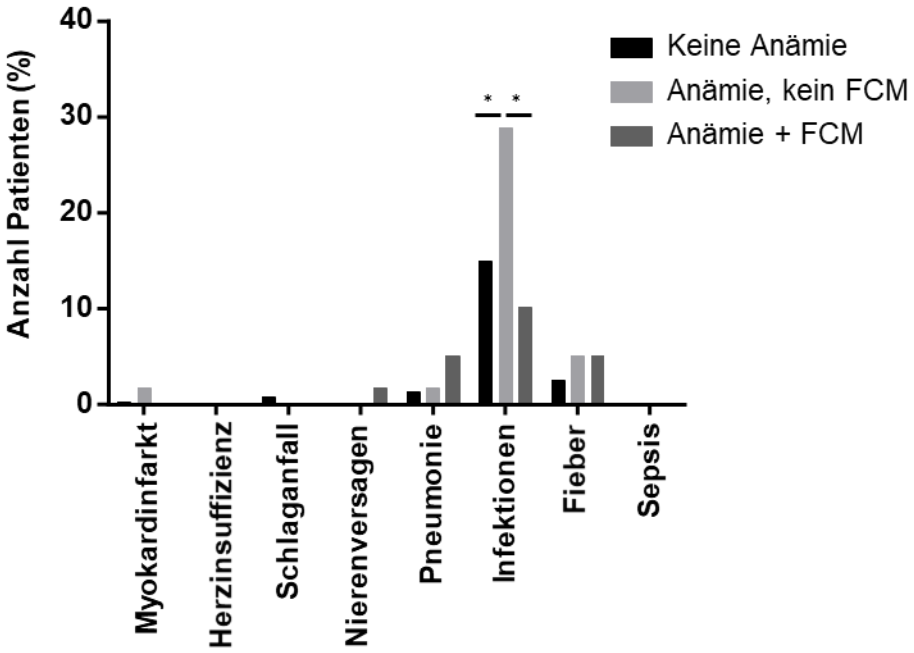

Abbildung 26. Ereignisse nach einem Jahr
Anämische Patienten ohne eine i.v. Eisengabe wiesen nach einem Jahr signifikant häufiger Infektionen auf, als anämische Patienten mit i.v. Eisenbehandlung (*p=0,02: Anämie, kein FCM vs. Anämie + FCM) und nicht anämische Patienten (*p=0,01 keine Anämie vs. Anämie, kein FCM).

Diese Daten zeigen, dass eine präoperative i.v. Eisengabe weder kurzfristig nach 30 Tagen, noch mittelfristig nach 90 Tagen, oder langfristig nach einem Jahr zu vermehrten gesundheitsbezogenen Ereignissen oder vermehrten Infektionen führte. Zudem wurde eine FCM Behandlung von den Patienten gut vertragen und führte nicht zu einem vermehrten Auftreten von unerwünschten Wirkungen.

4.3.3 Infektions-relevante ICD-Codes

Zusätzlich zum Telefoninterview wurden die Infektions-relevante ICD-Codes der Patienten während des Krankenhausaufenthaltes analysiert. Hierbei zeigte sich, dass bei 57,0% der anämischen Patienten ohne eine Eisengabe ein oder mehrere Infektions-relevante ICD-Codes diagnostiziert wurden.

Dahingegen wiesen nur 34,6% der anämischen Patienten mit einer i.v. Eisengabe und 31,0% der nicht anämischen Patienten ein oder mehrere Infektions-relevante ICD-Codes auf (Abbildung 27).

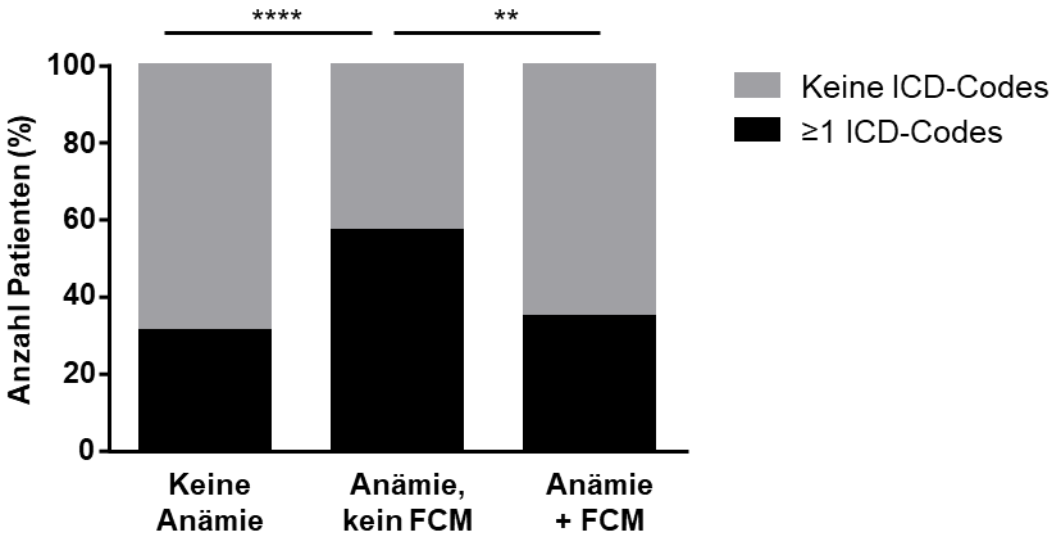

Abbildung 27. Infektions-relevante ICD-Codes
Bei anämische Patienten ohne i.v. Eisenbehandlung wurden signifikant häufiger ein oder mehrere Infektions-relevante ICD-Codes diagnostiziert als bei anämischen Patienten mit einer i.v. Eisengabe (**p=0.0014: Anämie, kein FCM vs. Anämie + FCM) und nicht anämischen Patienten (****p<0,0001: keine Anämie vs. Anämie, kein FCM)

Somit traten bei anämischen Patienten ohne eine Eisengabe signifikant häufiger Infektionen auf als bei anämischen Patienten mit einer i.v. Eisengabe oder nicht anämischen Patienten. Die Analyse der ICD-Codes bestätigte folglich das Ergebnis der Telefonbefragung.

4.3.4 Überleben

Um zu eruieren, ob eine Anämie ein Prädiktor für eine erhöhte Mortalität ist und ob eine FCM Gabe die Mortalität von anämischen Patienten verbessern kann, wurde das Überleben der Patienten analysiert.

Hierfür wurde mit Hilfe der elektronischen Patientenakte, sowie anhand des Telefoninterviews die Überlebensdaten der Patienten ermittelt und mit einer Kaplan-Meier Kurve dargestellt.

In der retrospektiven Auswertung zeigte sich, dass anämische Patienten im Vergleich zu nicht anämischen Patienten eine signifikant erhöhte Mortalität aufwiesen. Bei den anämischen Patienten zeigte sich kein Unterschied zwischen den Patienten, die mit FCM behandelt wurden und den Patienten ohne eine i.v. Eisengabe (Abbildung 28).

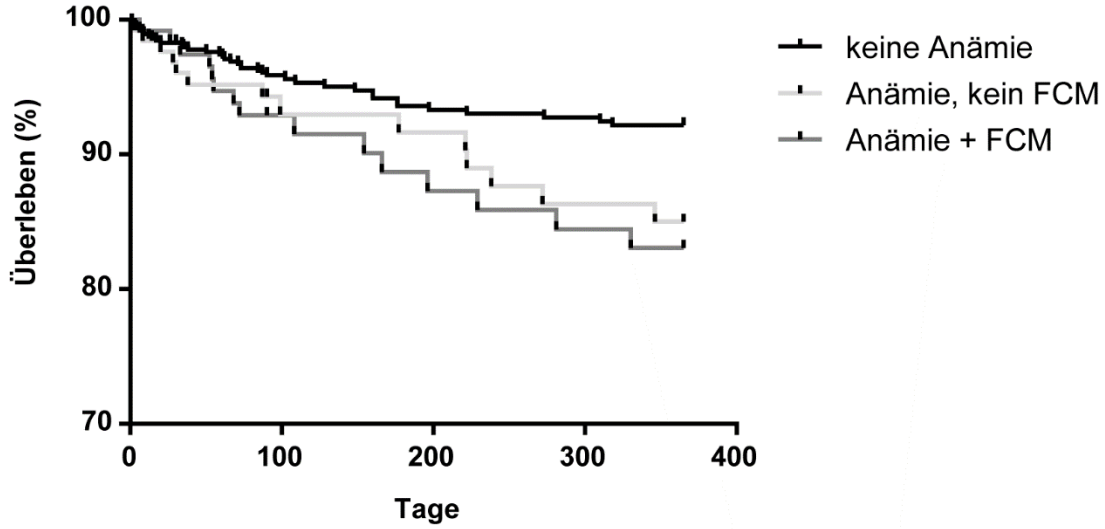

Abbildung 28. Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten
Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten wurde mittels des log-rank Tests analysiert. Nicht anämische Patienten wiesen eine höhere Überlebenswahrscheinlichkeit auf im Vergleich zu anämischen Patienten ohne i.v. Eisengabe (*p=0,0471: keine Anämie vs. Anämie, kein FCM) und anämischen Patienten mit i.v. Eisengabe (*p=0,0133: keine Anämie vs. Anämie + FCM).

Diese Daten zeigen, dass eine präoperative Anämie ein entscheidender Prädiktor für das Überleben der Patienten darstellte. Die Behandlung einer präoperativen Anämie ist somit sinnvoll und notwendig um das Outcome eines Patienten zu verbessern.

In der untersuchten Kohorte konnte eine einmalige Infusion von 500mg FCM jedoch keine Verbesserung des Mortalitätsrisikos bewirken.

5. Diskussion

Eine Tumoranämie, wie auch eine präoperative Anämie sind ein Prädiktor für eine erhöhte Morbidität und Mortalität.[1,2] Liegt eine IDA vor, kann diese mit i.v. Eisen behandelt werden. Aufgrund von möglichen Hypersensitivitätsreaktionen, die vor allem bei älteren Eisenpräparaten, wie Eisen-Dextran, auftraten, wird eine i.v. Eisengabe jedoch nur bei schweren Formen einer IDA empfohlen.[3,4] Zudem ist die Evidenzlage, bezüglich der Langzeitsicherheit einer i.v. Eisengabe und der Auswirkungen einer i.v. Eisengabe auf das Wachstum von Tumoren, immer noch nicht ausreichend. Daher wurde in dieser Arbeit mit Hilfe von *in vitro* und *in vivo* Versuchen, sowie mit Hilfe einer Patientenbefragung, die Arzneimittelsicherheit einer i.v. Eisengabe untersucht.

5.1. *In vitro* Zellversuche

Die *in vitro* Zellversuche zeigten, dass die Hepcidin-Expression in Tumorzellen weder durch die Gabe von freiem noch durch die Gabe von komplexgebundenen Eisen erhöht werden konnte. Auch eine Eisengabe in Kombination mit IL-6 führte nicht zu einer höheren Hepcidin Expression als die alleinige IL-6 Gabe. Jedoch wirkte eine hohe Konzentration von freiem Eisen stark proliferationshemmend und toxisch auf die Zellen. Dieser Effekt war mit der äquivalenten Dosis FCM nicht zu beobachten. Ein verstärktes Wachstum der Tumorzellen war weder mit freiem Eisen, noch mit FCM zu beobachten. Freies Eisen führte zudem tendenziell zu einer Erhöhung des oxidativen Stresses in Form von ROS. Komplexgebundenes Eisen in Form von FCM zeigt bei der äquivalenten Konzentration an Eisen keine Zunahme des oxidativen Stresses.

Die in den *in vitro* Zellversuchen benutzen Eisenkonzentrationen variierten von 0,026 mM bis 260 mM. Die physiologische Eisenkonzentration bei einem erwachsenen Menschen beträgt nach Gabe der maximalen FCM Dosis von 1000 mg 3,6 mM, wenn man ein Blutvolumen von etwa 5 L zu Grunde legt. Somit wurde bei den Zellversuchen sowohl der therapeutische Bereich, wie auch eine Unter- bzw. Überdosierung simuliert.

Ergebnisse aus *in vitro* Zellversuchen sind nur bedingt auf *in vivo* Modelle zu übertragen. Zudem spielt die verwendete Zelllinie eine entscheidende Rolle bei *in vitro* Versuchen und die Ergebnisse können je nach verwendeter Zelllinie variieren. Jedoch können *in vitro* Zellversuche schon erste und wichtige Hinweise für neue Zusammenhänge liefern, die dann *in vivo* verifiziert werden können.

Durch die Gabe von Eisen wurde eine Induktion von Hepcidin erwartet. Die hier gezeigte fehlende *in vitro* Erhöhung der Hepcidin Expression durch Eisen, konnte auch in anderen Studien nachgewiesen werden. So beschrieben Nemeth *et al.* eine Erniedrigung der Hepcidin Expression in humanen Hepatozytenzellen nach einer Stimulation mit 10 µM FAC und ein noch stärkeres Absinken der Hepcidin Expression nach einer Stimulation mit 10 mM FAC.[83] Im Gegensatz hierzu ist *in vivo* eine Erhöhung der Hepcidin Expression mit Eisen beschrieben worden. In einem Versuch von Pigeon *et al.* führte die Injektion von Eisen Dextran zu einer signifikanten Erhöhung der murinen Hepcidin Expression.[84] Auch Muckenthaler *et al.* konnten nach einer Stimulation mit Eisen Dextran eine Erhöhung der Hepcidin-Expression in Wildtyp Mäusen sehen.[85] Dies legt nahe, dass die für den negativen Feedbackmechanismus des Eisens notwendigen Signalwege nicht vollständig, bzw. nicht intakt in der Zelle einer Zellkultur vorliegen oder die zelluläre Homöostase anders abläuft als *in vivo*. Andere Signalwege hingegen, wie die Erhöhung der Hepcidin Expression durch eine IL-6 Stimulation, sind auch in den Zellen der Zellkultur intakt und führen zu einer adäquaten Reaktion.

Die Auswirkung verschiedener Eisenkomponenten auf das Wachstum von Zellen wurde u.a. auch von Gu *et al.* untersucht. Sie analysierten die Wachstumsveränderung von multiplen Myelomzellen nach einer Eisenstimulation mit 500 mM Eisen in Form von FAC und Eisen(III)chlorid. Auch bei dieser Versuchsanordnung konnten nur minimale Auswirkungen der Eisenstimulation auf das Zellwachstum beobachtet werden. Nach der Zugabe von 50 mM des Eisenchelators Deferoxamin konnte jedoch eine Hemmung des Zellwachstums beobachtet werden.[86] Auch Saeki *et al.* untersuchten die Zellproliferation von HepG2 nach der Zugabe eines Eisenchelators.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Gu *et al.* konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung der Zellen mit Deferasirox zu einer dosisabhängigen Inhibition des Zellwachstums führte.[87]

Dies könnte darauf hinweisen, dass die Zellen bereits intrazellulär mit Eisen gesättigt sind und eine zusätzliche Eisen Supplementation, im Gegensatz zu einem Eisenchelator, keinen Einfluss auf das Zellwachstum hat.

Dass Eisen für das Wachstum der Tumorzellen essentiell sein kann, beobachteten Jamnongkan *et al*.[88] Sie untersuchten in Cholangiokarzinom Zellen die Frage, ob eine Verminderung der TfR1 Expression der Zellen und somit eine signifikante Reduktion des labilen Eisenpools, das Zellwachstum beeinflussen kann. Es zeigte sich, dass Cholangiokarzinom Zellen mit einer erniedrigten TfR1 Expression eine verminderte Zellproliferation und ein verringertes Koloniewachstum aufwiesen.[88] Jeong *et al.* untersuchten Pankreaskarzinom Zellen (8988T PDAC Zellen), die ebenfalls eine verminderten Expression der Transferrin Rezeptoren (TfR1 KD Zellen) aufwiesen.[89] Auch hier zeigten TfR1 KD Zellen eine geringere Proliferation und ein geringeres Koloniewachstum als unveränderte Pankreaskarzinom Zellen. Durch Zugabe von FAC konnte in den TfR1 KD Zellen das Speichereisen Ferritin dosisabhängig erhöht werden. Jedoch wurde das Zellwachstum der TfR1 KD Zellen durch die Zugabe von FAC nicht wesentlich beeinflusst. Auch hohe FAC Dosen konnten den Wachstumsdefekt der TfR1 KD Zellen nicht beheben.[89] Somit ist nicht nur eine bestimmte Konzentration an Eisen für das Wachstum von Zellen von Bedeutung, sondern auch das Vorhandensein der eisenregulierenden Proteine und ein intakter Eisenmetabolismus.

Im Gegensatz hierzu stehen die Ergebnisse von Zhang *et al.* Sie untersuchten die Auswirkungen einer FAC Stimulation auf das Zellwachstum der humanen Brustkrebszellen 4T1. Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit gezeigten Ergebnissen stellten Zhang *et al.* eine Erhöhung des Zellwachstums von 4T1 Zellen nach einer Stimulation mit 32 µM FAC fest.[90] Auch Lu *et al*. konnten zeigen, dass die Zugabe von 5 bis 25 µM Eisen, jedoch in Form von Hämoglobin, die Zellviabilität von HepG2 Zellen signifikant erhöhen kann.[91]

Es lässt sich somit festhalten, dass der Eisenmetabolismus eine Rolle beim Wachstum von Tumorzellen spielt.

Die Ergebnisse sind bis jetzt jedoch noch nicht eindeutig und können je nach Tumorentität vaiieren. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Rolle verschiedener Eisenpräparate bei dem Wachstum von Tumoren zu eruieren.

In Bezug auf die Bildung von ROS durch freies Eisen konnten auch Zhang *et al.,* in Übereinstimmung mit den hier gezeigten Ergebnissen, erhöhte ROS Spiegel nach einer Stimulation mit FAC beobachten. Zhang *et al.* verwendeten die Brustkrebszellen MDA-MB-231 und eine Konzentration von 32 µM FAC.[90] Die Auswirkung von FCM im Vergleich zu Eisen(III)oxid-Saccharose auf den oxidativen Stress in HepG2 Zellen wurde von Praschberger *et al*. untersucht.[92] Hier zeigte sich eine dosisabhängige Erhöhung des oxidativen Stresses mit Eisen(III)oxid-Saccharose. Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit beschriebenen Ergebnissen konnte jedoch auch eine Erhöhung des oxidativen Stresses nach einer Eisenbehandlung mit 500 µM FCM beobachtet werden. Des Weiteren stieg der LIP sowohl nach einer Stimulation mit 600 µM Eisen(III)oxid-Saccharose, wie auch mit 600 µM FCM an. Mit Eisen(III)oxid-Saccharose war der Anstieg des LIP jedoch höher als mit FCM. Zudem konnte in HepG2 Zellen bereits 6 Stunden nach einer Stimulation mit 1200 µM Eisen(III)oxid-Saccharose ein Anstieg des Ferritins beobachtet werden. Bei einer Stimulation mit 1200 µM FCM war ein Ferritin Anstieg erst nach 24 Stunden zu beobachten.[92] Dies zeigt, dass das Eisen aus dem FCM Komplex langsamer abgegeben wird als bei Eisen(III)oxid-Saccharose und somit zu einem langsameren Anstieg des LIPs führt. Connor *et al.* verglichen FCM, Eisen(III)oxid-Saccharose, Eisen(III)natrium-Gluconat, Eisen Dextran, Eisen(III)-Derisomaltose und Ferumoxytol. Auch hier zeigten alle Verbindungen bei einer Konzentration von 1,8 mM Eisen in HK-2 Zellen eine erhöhte Lipidperoxidation und somit einen erhöhten Spiegel an oxidativem Stress.[93]
In vivo konnten Toblli *et al.* feststellen, dass eine Behandlung mit Ferumoxytol und niedermolekularem Eisen Dextran eine stärkere Lipidperoxidation hervorruft, als eine Behandlung mit FCM oder Eisen(III)oxid-Saccharose. Für diesen Versuch wurden nicht anämische weibliche Sprague-Dawley Ratten einmal wöchentlich für vier Wochen mit 40 mg Eisen pro kg Körpergewicht des jeweiligen Eisenpräparates behandelt.[94]

Bailie *et al.* untersuchten ebenfalls *in vivo,* in welchem Ausmaß die verschiedenen Eisenkomponenten FCM, Eisen(III)oxid-Saccharose, Eisen Dextran und Ferumoxytol oxidativen Stress verursachen. Für den Versuch wurden männliche Ratten einmal wöchentlich für vier Wochen mit 1 mg Eisen pro kg Körpergewicht behandelt. Anschließend wurde die Konzentration an Nitrotyrosin und Dinitrophenyl als Marker für oxidativen Stress im Gewebe von Herz, Lunge, Leber und Niere untersucht. Alle Eisenkomponenten führten im Vergleich zur Kontrolle zu erhöhtem oxidativen Stress. Eisen Dextran führte jedoch zu einem höheren Anstieg des oxidativen Stresses als die anderen Eisenpräparate.[95]
Somit spielt das Präparat eine entscheidende Rolle, in wie weit das darin enthaltene Eisen zu einer Erhöhung des oxidativen Stresses beiträgt.

Insgesamt wirkt komplexgebundenes Eisen in Form von FCM weniger toxisch auf die Zellen und verursacht weniger oxidativen Stress als freies Eisen oder niedermolekulare Eisenkomplexe.

5.2. Humanes Tumorgewebe

Die Ergebnisse der *in vitro* Versuche in der Zellkultur sollten im zweiten Teil der Arbeit an primären, humanen Tumorgewebe überprüft werden. Hierzu wurden Genexpressionsanalysen von Tumorgewebe durchgeführt. Eine i.v. Eisengabe bewirkte zum einen keine veränderte Expression wichtiger, eisenregulierender Gene, wie *HAMP*. Zum anderen zeigte das Tumorgewebe von Patienten, die eine i.v. Eisengabe erhalten hatten, keine Veränderung der Gene *EML1, SLC18A2, ACACA* und *CDH13*, deren Expression durch ROS verändert werden kann. Außerdem konnte im Tumorgewebe der mit FCM behandelten Patienten keine Veränderung der Expression der Gene *MKI67* und *CA9*, deren Erhöhung, bzw. Erniedrigung mit einem verringerten Überleben assoziiert sind, beobachtet werden.

Im Gegensatz zu den hier vorgestellten Ergebnissen konnten Kamai *et al.* eine Veränderung des Eisenmetabolismus in Nierenzelltumoren feststellen. Bei Patienten mit metastasierten Nierenzellkarzinomen wurde im Tumorgewebe eine niedrigere Hepcidin mRNA Expression beobachtet als in tumorfreiem Gewebe. Jedoch wiesen Patienten mit metastasierten Nierenzellkarzinomen höhere Serum Hepcidin-25 Konzentrationen und eine höhere Hepcidin mRNA Expression auf als Patienten ohne Metastasen. Zudem wiesen Tumorpatienten mit einer hohen Hepcidin mRNA Expression ein kürzeres Überleben auf als Tumorpatienten mit einer niedrigen Hepcidin mRNA Expression. Eine Korrelation zwischen Serum Hepcidin-25 Spiegel und Hepcidin mRNA Expression des Tumorgewebes konnte jedoch nicht festgestellt werden.[96]

Auch bei anderen Tumorentitäten konnte eine Veränderung des Eisenmetabolismus beobachtet werden. So wurde eine Anreicherung an Eisen und eine erhöhte Expression von Transferrin im Cholangiokarzinomgewebe gefunden, nicht jedoch in tumorfreien Gewebe. Die Ferritin, Ferroportin und Hepcidin-Expression war hingegen im Cholangiokarzinomgewebe erniedrigt.[88] Eine hohe Expression von TfR1 war bei Cholangiokarzinom Patienten außerdem mit dem Metastasen Stadium assoziiert. Transferrin, Ferritin, Ferroportin und Hepcidin zeigten jedoch keine Korrelation mit dem Metastasen Stadium.[88] Zhang et al. konnten eine erniedrigte Ferroportin Expression und eine erhöhte intrazellulare Eisenkonzentration in Mammakarzinomgewebe feststellen. Auch war die Serum Hepcidin Konzentration von Mammakarzinom-patienten erhöht.[90] Guo *et al*. stellten bei Mammakarzinompatienten fest, dass die Ferroportin mRNA Expression bei Patienten mit nodalen Metastasen geringer war, als bei Patienten ohne Lymphknotenbefall. Zudem kam es bei Mäusen mit einer erhöhten Ferroportin-Expression zu einem verminderten Auftreten von Tumoren.[86] Bei Kolorektal-Tumoren konnte gezeigt werden, dass im Tumorgewebe die Hepcidin Expression im Vergleich zum nicht malignen Gewebe stark erhöht war. Ferner war bei Tumoren des Stadiums T3 und T4 die Hepcidin Expression signifikant höher als bei Tumoren des Stadiums T1 und T2.[97]

Die in dieser Arbeit vorgestellte Genexpressionsanalyse konnte keinen Unterschied in der Expression des für Hepcidin kodierenden Gens *HAMP* zwischen Tumorgewebe und nicht malignem Gewebe feststellen.

Auch mit FCM behandelte Patienten zeigten keine veränderte Expression von *HAMP*. Jedoch wiesen Patienten, die eine i.v. Eisengabe erhalten hatten, eine erhöhte Expression von *BMPER* auf. Da das BMP-*binding endothelial regulator protein* durch eine Interaktion mit dem *bone morphogenetic protein* Rezeptor zu einer Erniedrigung der Hepcidin Synthese führt, könnte eine Erhöhung der *BMPER* Expression durch eine Eisengabe ein Kompensationsmechanismus darstellen, um eine Erhöhung der Hepcidin Synthese durch die i.v. Eisengabe entgegen zu wirken.
Da für die Untersuchung des Gewebes nur 3 bzw. 4 Proben pro Gruppe analysiert werden konnten, sind weiterführende Analysen mit einer größeren Probandenzahl notwendig, um die Ergebnisse zu bestätigen.

In Bezug auf die Auswirkung von Eisen auf das Tumorwachstum konnten in *in vivo* Versuchen anderer Investigatoren eine Erhöhung des Tumorwachstum nach Zugabe von Eisen festgestellt werden. So zeigten Xue *et al*., dass bei Mäusen (CDX2^{ERT2} *Apc*$^{F/+}$ Tumor Mäuse), die eine eisenreiche Nahrung mit 1000 mg Eisen pro kg erhielten, die Anzahl an Tumoren und die Größe der Tumoren im Gegensatz zu Mäusen, die eine eisenarme Nahrung mit 35 mg Eisen pro kg erhielten, erhöht war.[98] Auch eine wiederholte, wöchentliche intramuskuläre Injektion von 20 mg Eisen in Form von Eisen-Dextran führte bei Ratten nach 11 bis 16 Monaten zu einem vermehrten Auftreten von Tumoren im Bereich der Injektionsstelle.[99] Bhasin *et al*. untersuchten Mäuse mit chemisch induzierten Gesichtstumoren. Mäuse, die für 15 Tage täglich intramuskulär 1 mg Eisen in Form von Eisen Dextran erhielten, zeigten signifikant häufiger eine maligne Umwandlung der Tumore als Mäuse mit einer Kochsalz Injektion.[100]
Als Hauptmechanismus für die Kanzerogenität von Eisen wird die Förderung der Bildung von ROS und der daraus resultierende oxidative Stress verantwortlich gemacht.[15] In der hier vorgestellten Analyse führte eine i.v. Gabe von 500 mg FCM jedoch nicht zu einer erhöhten oder erniedrigten Expression der Gene *EML1, SLC18A2, ACACA* und *CDH13*, deren Expression durch ROS verändert werden kann.[80]
Ein weiterer Mechanismus, der die Kanzerogenität von Eisen steigern könnte, ist die Deletion von *CDKN2A/B*, bzw. die Amplifikation von *MET*.

Akatsuka *et al*. untersuchten an Ratten die Genexpression von Nierenzellkarzinomen, die sich aufgrund einer intraperitonealer Injektion von Eisen Nitrilotriacetat entwickelt hatten. Es zeigte sich, dass alle untersuchten Tumorproben eine Deletion von *Cdkn2A/B* oder eine Amplifikation von *Met* aufwiesen.[81] Die in dieser Arbeit untersuchten Tumorproben von Patienten, die eine therapeutische i.v. FCM Gabe erhalten hatten, zeigten jedoch keine Veränderungen der Genexpressionen von *CDKN2A/B* und *MET* im Vergleich zu Tumorproben von Patienten ohne eine i.v. Eisengabe.

Die Übertragbarkeit der Ergebnisse der hier diskutierten Studien auf eine therapeutische FCM Gabe ist somit fragwürdig. Weder die Applikationsart des Eisens, noch die verwendete Formulierung oder die applizierte Dosis in diesen Studien entsprechen einer therapeutischen FCM Gabe. Diese Faktoren könnten jedoch eine entscheidende Rolle bei der Tumorentstehung und Progression spielen. Da eine einmalige 500 mg i.v. FCM Gabe nicht zu einer Expressionsänderung der hier beschriebenen Gene führte, könnte dies ein Hinweis darauf sein, dass eine therapeutische i.v. FCM Gabe in der hier verwendeten Dosis ein Tumorwachstum nicht fördert. Der Applikationsweg mag ein weiterer Grund sein, da bei einer intramuskulären oder intraperitonealer Injektion von Eisen Dextran oder Eisen Nitrilotriacetat das Eisen nicht direkt an den Zielort gelangt.

Bedenklich ist jedoch die erhöhte Expression von *PTGS2* und *VEGFA* im Tumorgewebe der mit FCM behandelten Patienten. Die Prostaglandin G/H Synthase 2 wird nicht nur vermehrt bei Entzündungen, Schmerzreaktionen und anderen Gewebeschäden produziert, sondern auch vermehrt bei Adaptionsvorgängen in Gefäßendothelzellen gebildet.[101,102] So sind die Prostaglandin G/H Synthase 2 und ihre Prostanoid-Produkte auch in die Proliferation von Tumorzellen involviert, indem sie die Angiogenese und Gewebeinvasion von Tumoren, sowie die Apoptoseresistenz fördern.[103] Bei Patienten mit einem Nierenzellkarzinom konnten Tabriz *et al*. jedoch keine Korrelation zwischen der Prostaglandin G/H Synthase 2 Expression des Tumorgewebes und der Tumorgröße, Metastasierung oder dem Überleben feststellen.[104]

Kankuri-Tammilehto *et al*. konnten beobachten, dass eine Prostaglandin G/H Synthase 2 Expression bei metastasierten Nierenzelltumoren mit einer besser Prognose, sowie einer langsameren Entwicklung von Metastasen verbunden ist, im Vergleich zu metastasierten Nierenzelltumoren ohne eine Prostaglandin G/H Synthase 2 Expression.[105]

VEGFA ist ein Wachstumsfaktor und für die Bildung neuer Gefäße von entscheidender Bedeutung. Da für das Wachstum von Tumoren eine ausreichende Sauerstoffversorgung und somit eine adäquate Vaskularisierung essentiell ist, spielt VEGFA in der Tumorprogression eine wichtige Rolle.[106] So konnten Minardi *et al*. zeigen, dass bei Patienten mit einem klarzelligen Nierentumor eine hohe VEGFA Expression mit einem kürzen Gesamtüberleben assoziiert war.[107]

Djordjevic *et al*. konnten hingegen bei Patienten mit klarzelligen Nierentumoren nur eine signifikante Korrelation zwischen VEGFA und Tumorgröße beobachten. Jedoch korrelierte die VEGFA Expression nicht mit dem 5-Jahres Überleben der Patienten.[108]

Kim *et al*. konnten bei Patienten mit papillären Nierenzelltumoren ebenfalls keine Assoziation zwischen VEGFA Expression und Rezidiv-freiem Überleben, sowie Krebs-spezifischem Überleben feststellen.[109]

Ein Grund für die erhöhte *VEGFA* Expression im Tumorgewebe der anämischen, mit FCM behandelten Patienten könnte unter anderem die erhöhte *HILPDA* Expression in dieser Gruppe darstellen. In HeLa Zellen konnte gezeigt werden, dass eine Überexpression von HILPDA zu einer erhöhten Expression von VEGFA führte.[110] Eine generelle Erhöhung der Expression von *HILPDA* in Nierenzellkarzinomen im Vergleich zu gesundem Gewebe konnten, in Übereinstimmung mit den in dieser Arbeit präsentierten Ergebnissen, auch Togashi *et al*. finden.[111] In COS7 Zellen konnte zudem gezeigt werden, dass eine Expressionserhöhung von HILPDA zu einem vermehrten Zellwachstum führte.[111] Die von Togashi *et al*. beobachtete Aktivierung des Wnt-Signalwegs durch HILPDA, als Ursache für das vermehrte Wachstum, wurde jedoch von Grimm *et al*. wiederlegt.[110] Grimm *et al*. zeigten zudem in *in vitro* Versuchen, dass *HILPDA* ein Zielgen vom *Hypoxia-inducible factor* 1 darstellt und das HILPDA durch Hypoxie und 2,2´-Dipyridyl, einem Eisenchelator und *Hypoxia-inducible factor* Induktor, vermehrt exprimiert wird.[110]

Bei der hier vorgestellten Analyse konnte jedoch keine Veränderung der Genexpression von *HIF1A* beobachtet werden, dessen Protein sowohl *VEGFA*, wie auch *HILPDA* adressiert.
Die klinische Relevanz der erhöhten *VEGFA, PTGS2* und *HILPDA* Expressionen in dem Tumorgewebe der mit FCM behandelten Patienten ist somit nicht abschließend beurteilbar.

Im Gegensatz zur Sicherheit konnte in vielen Studien die Wirksamkeit einer i.v. Eisengabe bei Tumorpatienten nachgewiesen werden. So zeigte eine Studie mit Patienten, die solide Tumore oder maligne hämatologische Erkrankungen aufwiesen, dass eine Therapie mit Eisen(III)oxid-Saccharose zu einem vergleichbar hohen Hb Anstieg führte wie eine Therapie mit EKs. Bei beiden Behandlungen konnten zudem keine schweren Nebenwirkungen beobachtet werden.[112] Toledano *et al*. verglichen in einer prospektiven Studie eine alleinige FCM Therapie mit einer kombinierten Therapie aus FCM und ESA bei Patienten mit soliden Tumoren oder malignen hämatologischen Erkrankungen. Sie konnten zeigen, dass eine alleinige Infusion von FCM (im Median 1000 mg) zu vergleichbar hohen Hb Werten führte, wie eine kombinierte Therapie mit FCM und ESA. Auch Patienten mit einem erhöhten CRP von über 49 mg/l zeigten nach der FCM Behandlung erhöhte Hb Werte. Die häufigste Nebenwirkung in dieser Studie war die Hypophosphatämie, eine typische Nebenwirkung nach Gabe von FCM.[113] In einer Studie mit Patienten, die an einem bösartigen, lymphoproliferativen Tumor erkrankt waren, konnte zudem gezeigt werden, dass eine Gabe von i.v. Eisen(III)oxid-Saccharose in Kombination mit ESA zu einem schnelleren und höheren Hb Anstieg nach 8 Wochen führte, als eine alleinige Therapie mit ESA. Die allgemeine Nebenwirkungsrate wurde zudem durch die i.v. Eisengabe nicht erhöht.[114]
Insgesamt ist die Evidenzlage zur Frage, ob eine therapeutische i.v. FCM Gabe das Tumorwachstum bei Patienten mit Karzinomen erhöhen kann, zurzeit noch nicht hoch. Bei Patienten mit multiplen Myelomen oder Lymphomen, deren Anämie nach einer autologen Stammzelltransplantation mit ESA und i.v. Eisen(III)oxid-Saccharose behandelt wurde, konnte kein Effekt der Kombinationstherapie ESA und Eisen auf die Langzeitsicherheit, das 5-Jahres Überleben oder den Krankheitsverlauf gesehen werden.[20]

Gemici *et al*. untersuchten das Überleben von 63 Patienten mit verschiedenen soliden Tumoren, die eine Infusion von 100 mg Eisen(III)oxid-Saccharose erhalten hatten. Patienten, die nach der i.v. Eisen Infusion eine Erhöhung der Hb Werte zeigten, wiesen ein signifikant längeres Überleben auf, als Patienten, bei denen die i.v. Eisen Behandlung nicht zu einer Erhöhung der Hb Werte führte.[115] In wie weit diese Ergebnisse auch auf andere Tumorentitäten, wie das Nierenzellkarzinom, und auch auf andere Eisenpräparate, wie das FCM, zutreffen, kann zum aktuellen Zeitpunkt nicht beantwortet werden.

Die hier vorgestellte Genexpressionsanalyse konnte zeigen, dass das Tumorgewebe von Patienten mit einer Eisenbehandlung keine Veränderung von *MKI67* und *CA9* zeigten, deren Erhöhung bzw. Erniedrigung in anderen Studien mit einem kürzeren Überleben korrelieren.[82] Die Ergebnisse der Genexpressionsanalyse zeigen somit kein Hinweis auf ein zusätzliches Risiko der i.v. Eisengabe bei anämischen Patienten mit einem Nierenzellkarzinom. Sie deuten darauf hin, dass eine einmalige FCM Gabe von 500 mg, in Bezug auf die hier analysierten Gene, eine sichere Therapie für anämische Nierenzellkarzinompatienten darstellt.

5.3. Patientenbefragungen

Patienten, die sich zum präoperativen Anämie-Screening in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde vorstellten, wurden mittels einer Telefonbefragung 30 und 90 Tage, sowie ein Jahr nach der Vorstellung in der Sprechstunde zur Arzneimittelsicherheit interviewt. Die Telefonbefragung konnte zeigen, dass die Behandlung einer präoperativen Anämie eine nebenwirkungsarme Therapie darstellte. Es traten weder kurz- noch langfristig unerwünschte, gesundheitsbezogene Ereignisse auf. Auch führte eine Eisengabe nicht zu einer Erhöhung der Infektionsrate. Das Mortalitätsrisiko war bei anämischen Patienten höher als bei nicht anämischen. Eine FCM Gabe bewirkte bei den anämischen Patienten keinen Unterschied des Mortalitätsrisikos.

In die Auswertung der Patientenbefragung konnten beim ersten und zweiten Anruf mit 801 Patienten und beim dritten Anruf mit 477 Patienten jeweils ein großes Patientenkollektiv eingeschlossen werden. Ein Grund hierfür ist unter anderem die sehr hohe Rücklaufquote der Patientenbefragung von insgesamt 90%, die die durchschnittliche Rücklaufquote von Telefonbefragungen von unter 50% deutlich übersteigt.[116,117] Bei allen drei Anrufen zeigte sich zudem kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen, in Bezug auf die nicht erreichten Patienten. Eine Verzerrung der Ergebnisse durch die nicht befragten Patienten kann somit ausgeschlossenen werden.
Die Anämieprävalenz des Kollektivs war mit 26,7% etwas niedriger als die von Baron *et al*. im Rahmen der EUSOS Studie an 39309 Patienten in 28 europäischen Ländern erhobene präoperative Anämieprävalenz von 31,1%.[1] Die weiblichen Patienten wiesen zudem mit 27,3% eine höhere Anämieprävalenz auf als die männlichen Patienten (25,6%). Aufgrund des retrospektiven Charakters der Telefonbefragung konnte keine Randomisierung durchgeführt werden. Daher kann eine leichte Verzerrung der Ergebnisse durch die Ausschlusskriterien für eine i.v. Eisengabe nicht ausgeschlossen werden.

Die Ergebnisse der Patientenbefragung zeigten eine gute Verträglichkeit der i.v. Eisengabe und eine unveränderte Mortalitätsrate. Auch Keeler *et al*. stellten in einer randomisierten Studie keinen Unterschied bezüglich Mortalität, Krankenhaus-aufenthaltsdauer und Komplikationsrate zwischen einer i.v. FCM Gabe und einer oralen Eisengabe fest.[118] Bernabeu-Wittel *et al*. untersuchten in einer multizentrischen, randomisierten, Doppelblind-Studie bei Patienten mit Hüftfrakturen den Effekt einer präoperativen FCM Gabe mit und ohne ESA Gabe. Auch hier konnte kein Unterschied in Bezug auf Nebenwirkungen, Verbesserung der Lebensqualität und Mortalitätsrate zwischen den drei Gruppen, FCM plus Placebo, FCM plus ESA und Placebo plus Placebo, festgestellt werden.[119] In der Ironman Studie, einer verblindeten, randomisierten, Placebo kontrollierten Studie, wurde die Effektivität einer i.v. Eisengabe bei kritisch kranken Patienten untersucht. Eingeschlossen wurden 140 Patienten der Intensivstation mit einem Hb Wert von unter 10 g/dl.

Die verwendete FCM Dosis betrug 500 mg pro Gabe, wobei Mehrfachgaben möglich waren, wenn der Patient weiterhin den Einschlusskriterien entsprach. Auch hier war kein Unterschied in der Mortalitätsrate, sowie in der Dauer des Krankenhaus-aufenthaltes zwischen der FCM und der Placebo Gruppe festzustellen. Das Sicherheitsprofil, welches die Anzahl an Infektionen und schwerwiegenden Nebenwirkungen beinhaltet, war ebenfalls vergleichbar.[120] In einer multizentrischen Studie von Meybohm *et al*., in der auch das Universitätsklinikum Münster eingeschlossenen wurde, konnte gezeigt werden, dass die Inzidenz von akutem Nierenversagen in der PBM Kohorte signifikant erniedrigt war im Vergleich zu der Kontrollgruppe mit Standardbehandlung. Andere Endpunkte, wie Tod, Herzinfarkt, Lungenentzündungen oder Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation, wurden durch die Implementierung des PBMs jedoch nicht signifikant verändert.[75]

Auch bei orthopädischen Patienten führte die Einführung eines umfangreichen *Blood Management* Protokolls nicht zu einer Erniedrigung der Komplikationsrate oder einer Verkürzung der Krankenhausaufenthaltsdauer.[121] In der PROTECT Studie wurde als i.v. Eisenpräparat die Eisen(III)-Derisomaltose verwendet. Auch hier konnte kein Unterschied in Bezug auf schwerwiegende Nebenwirkungen zwischen den Patienten mit einer i.v. Eisen Behandlung und den Patienten der Placebo Gruppe festgestellt werden.[122]

Im Gegensatz hierzu konnten Cuenca *et al*. eine kürzere Krankenhausaufenthalts-dauer, sowie eine erniedrigte 30-Tages-Mortalität nach einer präoperativen Eisengabe von 200 bis 300 mg Eisen(III)oxid-Saccharose im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachten.[123] Roger *et al*. untersuchten in der prospektiven, randomisierten FIND-CKD Studie die Verträglichkeit von FCM im Vergleich zu oralem Eisen bei nicht-dialysepflichtigen, chronisch niereninsuffizienten Patienten. Die Inzidenz von einer oder mehreren unerwünschten Ereignissen war in dieser Studie mit Gabe von oralem Eisen doppelt so hoch im Vergleich zu der FCM Behandlung.[124]

Im Kontrast zu diesen Studien und den in dieser Arbeit erhobenen Ergebnisse zeigen einige Studien entscheidende Nachteile einer i.v. Eisengabe. So stellten Litton *et al*. in einer Metanalyse fest, dass eine i.v. Eisengabe das relative Risiko für Infektionen erhöht.[125]

Im *Fairy trail* wiesen Patienten mit einer FCM Infusion zudem signifikant mehr Nebenwirkungen auf als die Placebo Gruppe und es konnte kein Unterschied in der Lebensqualität gezeigt werden. Schwere Nebenwirkungen wurden jedoch nicht beobachtet.[68] In einer von Froessler *et al*. veröffentlichten, randomisierten, kontrollierten Studie litten drei von 32 Patienten, nach einer FCM Infusion von maximal 1000 mg unter milden Nebenwirkungen, wie Kopfschmerzen, Rückenschmerzen und leichter Benommenheit. Eine schwerwiegende Nebenwirkung konnte jedoch auch hier bei keinem der Patienten festgestellt werden. Zudem war die Anzahl an Infektionen, die Mortalität und die Morbidität vergleichbar zwischen der FCM und der Placebo Gruppe.[126]

Viele Studien verwenden 1000 mg anstatt 500 mg FCM. Ein Vorteil der höheren Dosis ist ein besseres Ansprechen auf die Eisentherapie. So konnte eine retrospektive Studie mit 459 Patienten zeigen, dass Patienten, die mit einer FCM Dosis von 1000 mg behandelt wurden, signifikant häufiger einen Hb Anstieg von über 2 g/dl aufwiesen, als Patienten, die mit 500 mg FCM behandelt wurden, bei vergleichbarer, guter Verträglichkeit.[127] Aufgrund der Gefahr einer akuten Eisenüberladung, die durch perioperativ erhaltene EKs weiter verstärkt werden kann, wurde in der Studie dieser Arbeit jedoch in der Regel nur eine Substitution von 500 mg FCM durchgeführt. Zudem konnten verschiedene Studien zeigen, dass eine Dosiserhöhung der Eisentherapie sich negativ auf das Outcome des Patienten auswirken kann. So zeigten Hämodialyse Patienten, die mit Eisen Gluconat, Eisen(III)oxid-Saccharose oder Eisen Dextran in einer Dosis von über 400 mg/Monat behandelt wurden, ein kürzeres Überleben als Patienten, die eine Eisen Dosis von bis zu maximal 400 mg/Monat erhielten. Serum-Ferritin Spiegel von 200 bis 1200 ng/ml und Serum-Eisen Werte von 60-120 µg/ml waren zudem mit der niedrigsten Gesamtmortalität, sowie dem niedrigsten kardiovaskulärem Mortalitätsrisiko assoziiert.[128] In einer Studie von Feldmann *et al*. wurde ebenfalls die Mortalitätsrate von 32566 Hämodialyse Patienten mit einer FCM Therapie untersucht. Es zeigte sich, dass Dosen von über 1000 mg Eisen über 6 Monate mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko assoziiert waren.[129]

Des Weiteren konnte Gaillard *et al*. in einer prospektiven, randomisierten Studie zeigen, dass eine Behandlung mit 1000 mg FCM zu signifikant höheren Hepcidin Spiegeln führte als eine Behandlung mit 200 mg FCM.[130] In wie weit diese hohen Hepcidin Spiegel einen Einfluss auf den klinischen Verlauf der Patienten haben, ist unklar.

Die unterschiedlichen Dosisregime, sowie die Verwendung unterschiedlicher i.v. Eisenpräparate erschweren die Vergleichbarkeit der verschiedenen Studien. Hinzu kommen die unterschiedlichen Einschlusskriterien der Patienten. Je nach Studie wird mehr oder weniger differenziert zwischen einer Eisenmangelanämie und einer ACD unterschieden. Eine frühzeitige und differenzierte Anämie Diagnostik ist jedoch essentiell, um vor einer Eisensubstitution den sichereren Nachweis eines Eisenmangels zu erbringen und eine möglich ACD auszuschließen. Nur dann kann eine i.v. Eisengabe eine effektive und sichere Maßnahme zur Behandlung einer präoperativen Anämie darstellen.
Des Weiteren weisen die Studien große Diskrepanzen in der Dauer der i.v. Eisenbehandlung auf. Der mediane Zeitabstand zwischen der Anästhesie/ PBM Sprechstunde und der Operation war in dieser Studie mit 2 Tagen sehr gering. Dies war vor allem durch die große Anzahl an herzchirurgischen Patienten bedingt, die häufig nur einen Tag vor der Operation in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde gesehen werden konnten. Patienten aus den übrigen Kliniken kamen im Median 9 Tage vor der Operation in die Anästhesie/ PBM Sprechstunde. Da eine Steigerung des Hb Wertes nicht unmittelbar nach einer i.v. Eisen Applikation eintritt, könnte für einen deutlicheren Effekt einer i.v. Eisengabe auf das postoperative Mortalitätsrisiko, eine längere präoperative Zeitspanne zwischen Behandlung und Operation von Nöten sein. Hinzu kommt in dieser Studie, dass lediglich eine einmalige Dosis von 500 mg Eisen angewendet wurde, so dass das auch in anderen Studien berichtete erhöhte Mortalitätsrisiko anämischer Patienten durch die einmalige i.v. Eisengabe in dieser Studie nicht erniedrigt werden konnte.[47]

Um eine adäquatere Anämiebehandlung zu erreichen, den Hb Wert zu steigern, weniger Bluttransfusionen zu benötigen und somit indirekt eine Senkung des Mortalitätsrisikos zu bewirken, könnte daher ein längerer Zeitabstand von der ersten Eisengabe zur Operation und gegebenenfalls auch wiederholte Eisengaben von Vorteil sein.

Insgesamt stellte die Therapie einer präoperativen Anämie mit i.v. Eisen eine sichere Behandlung dar. Zwar konnte die Mortalitätsrate der anämischen Patienten durch die einmalige FCM Gabe nicht beeinflusst werden, jedoch führte eine i.v. Eisengabe nicht zu einer erhöhten Nebenwirkungsrate oder Infektionen.

5.4. Fazit

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass komplexgebundenes Eisen *in vitro* für Zellen weniger toxisch ist als die äquivalente Dosis an freiem Eisen und weder zu einer starken Hemmung, noch zu einer starken Erhöhung der Zellproliferation von Tumorzellen führt. Auch bewirkte komplexgebundenes Eisen, im Gegensatz zu freiem Eisen in Zellen keine Erhöhung des oxidativen Stresses.

Die Analyse des humanen Tumorgewebes konnte zeigen, dass im Nierenzellkarzinomgewebe die Expression von wichtigen, eisenregulierenden Genen, wie *HAMP* im Vergleich zum nicht malignen Gewebe nicht verändert war. Auch eine i.v. Eisengabe führte nicht zu einer Expressionsveränderung dieser Gene. Zudem konnte im Tumorgewebe von Patienten, die eine i.v. Eisengabe erhalten hatten, keine Erhöhung der Gene *EML1, SLC18A2, ACACA* und *CDH13* beobachtet werden, deren Expression durch ROS verändert werden kann. Auch konnte im Tumorgewebe der mit FCM behandelten Patienten keine Veränderung der Expression der Gene *CA9* und *MKI67* beobachtet werden, deren Erniedrigung, bzw. Erhöhung mit einem verringerten Überleben assoziiert sind.

Für die Behandlung einer präoperativen Anämie stellt die Gabe von 500 mg FCM eine sichere und nebenwirkungsarme Therapie dar. Sie führte nicht zu einem vermehrten Auftreten von Nebenwirkungen und gesundheitsbezogenen Ereignissen.
Zudem war die Mortalitätsrate zwischen den anämischen Patienten, mit und ohne eine FCM Gabe, vergleichbar.
Insgesamt stellt eine FCM Gabe somit, sowohl für eine Tumoranämie, wie auch für eine präoperative Anämie, eine sichere Behandlung dar.

6. Literaturverzeichnis

1. Baron DM, Hochrieser H, Posch M, et al. Preoperative anaemia is associated with poor clinical outcome in non-cardiac surgery patients. *Br J Anaesth*. 2014;113(3):416-423. doi: 10.1093/bja/aeu098

2. Ludwig H, Evstatiev R, Kornek G, et al. Iron metabolism and iron supplementation in cancer patients. *Wien Klin Wochenschr*. 2015;127(23-24):907-919. doi: 10.1007/s00508-015-0842-3

3. Auerbach M, Macdougall I. The available intravenous iron formulations: History, efficacy, and toxicology. *Hemodial Int*. 2017;21 Suppl 1:S83-S92. doi: 10.1111/hdi.12560

4. Behnisch W, Muckenthaler M, Kulozik A. Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften; S1-leitlinie: Eisenmangelanämie, AWMF-Register Nr. 025/021. http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/025-021l_S1Eisenmangelanaemie_2016-01.pdf. Updated 2016. Accessed 08. August, 2017

5. Steinbicker AU, Muckenthaler MU. Out of balance--systemic iron homeostasis in iron-related disorders. *Nutrients*. 2013;5(8):3034-3061. doi: 10.3390/nu5083034

6. Ganz T. Systemic iron homeostasis. *Physiol Rev*. 2013;93(4):1721-1741. doi: 10.1152/physrev.00008.2013

7. Brookes MJ, Hughes S, Turner FE, et al. Modulation of iron transport proteins in human colorectal carcinogenesis. *Gut*. 2006;55(10):1449-1460. doi: gut.2006.094060

8. Pinnix ZK, Miller LD, Wang W, et al. Ferroportin and iron regulation in breast cancer progression and prognosis. *Sci Transl Med*. 2010;2(43):43ra56. doi: 10.1126/scisignal.3001127

9. Torti SV, Torti FM. Ironing out cancer. *Cancer Res*. 2011;71(5):1511-1514. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3614

10. Kakhlon O, Cabantchik ZI. The labile iron pool: Characterization, measurement, and participation in cellular processes(1). *Free Radic Biol Med*. 2002;33(8):1037-1046. doi: S0891584902010067

11. Beguin Y, Aapro M, Ludwig H, Mizzen L, Osterborg A. Epidemiological and nonclinical studies investigating effects of iron in carcinogenesis--a critical review. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2014;89(1):1-15. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.10.008

12. Manz DH, Blanchette NL, Paul BT, Torti FM, Torti SV. Iron and cancer: Recent insights. *Ann N Y Acad Sci*. 2016;1368(1):149-161. doi: 10.1111/nyas.13008

13. Tesfay L, Clausen KA, Kim JW, et al. Hepcidin regulation in prostate and its disruption in prostate cancer. *Cancer Res*. 2015;75(11):2254-2263. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2465

14. Winand FJ, Boegemann M, Gallitz I, et al. GDF15 and hepcidin as prognostic factors in patients with prostate cancer. *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis*. 2014;5(6):5-6

15. Huang X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: Evidence for iron as a carcinogenic metal. *Mutat Res*. 2003;533(1-2):153-171. doi: S0027510703002148

16. Fischer-Fodor E, Miklasova N, Berindan-Neagoe I, Saha B. Iron, inflammation and invasion of cancer cells. *Clujul Med*. 2015;88(3):272-277. doi: 10.15386/cjmed-492

17. Lagergren K, Wahlin K, Mattsson F, Alderson D, Lagergren J. Haemochromatosis and gastrointestinal cancer. *Int J Cancer*. 2016;139(8):1740-1743. doi: 10.1002/ijc.30229

18. Wu T, Sempos CT, Freudenheim JL, Muti P, Smit E. Serum iron, copper and zinc concentrations and risk of cancer mortality in US adults. *Ann Epidemiol*. 2004;14(3):195-201. doi: 10.1016/S1047-2797(03)00119-4

19. Zacharski LR, Chow BK, Howes PS, et al. Decreased cancer risk after iron reduction in patients with peripheral arterial disease: Results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(14):996-1002. doi: 10.1093/jnci/djn209

20. Jaspers A, Baron F, Maertens J, et al. Long-term safety follow-up of a randomized trial of darbepoetin alpha and intravenous iron following autologous hematopoietic cell transplantation. *Am J Hematol*. 2015;90(7):E133-4. doi: 10.1002/ajh.24013

21. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*. 2014;123(5):615-624. doi: 10.1182/blood-2013-06-508325

22. Koduru P, Abraham BP. The role of ferric carboxymaltose in the treatment of iron deficiency anemia in patients with gastrointestinal disease. *Therap Adv Gastroenterol*. 2016;9(1):76-85. doi: 10.1177/1756283X15616577

23. Thomas DW, Hinchliffe RF, Briggs C, et al. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *Br J Haematol*. 2013;161(5):639-648. doi: 10.1111/bjh.12311

24. Cappellini MD, Comin-Colet J, de Francisco A, et al. Iron deficiency across chronic inflammatory conditions: International expert opinion on definition, diagnosis, and management. *Am J Hematol*. 2017. doi: 10.1002/ajh.24820

25. Camaschella C. New insights into iron deficiency and iron deficiency anemia. *Blood Rev*. 2017;31(4):225-233. doi: S0268-960X(16)30078-9

26. Leitlinienprogramm Onkologie. Deutsche Krebsgesellschaft, Supportive Therapie bei onkologischen PatientInnen - Langversion 1.1, AWMF Register Nr.: 032/054OL. http://leitlinienprogrammonkologie.de/Supportive-Therapie.95.0.html. Updated 2017. Accessed 8. August, 2017

27. Lee TW, Kolber MR, Fedorak RN, van Zanten SV. Iron replacement therapy in inflammatory bowel disease patients with iron deficiency anemia: A systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 2012;6(3):267-275. doi: 10.1016/j.crohns.2011.09.010

28. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med*. 2005;352(10):1011-1023. doi: 352/10/1011

29. Verma S, Cherayil BJ. Iron and inflammation - the gut reaction. *Metallomics*. 2017;9(2):101-111. doi: 10.1039/c6mt00282j

30. Girelli D, Nemeth E, Swinkels DW. Hepcidin in the diagnosis of iron disorders. *Blood*. 2016;127(23):2809-2813. doi: 10.1182/blood-2015-12-639112

31. Karlsson T. Evaluation of a competitive hepcidin ELISA assay in the differential diagnosis of iron deficiency anaemia with concurrent inflammation and anaemia of inflammation in elderly patients. *J Inflamm (Lond)*. 2017;14:21-017-0166-3. eCollection 2017. doi: 10.1186/s12950-017-0166-3

32. Barni S, Gascon P, Petrelli F, et al. Position paper on management of iron deficiency in adult cancer patients. *Expert Rev Hematol*. 2017;10(8):685-695. doi: 10.1080/17474086.2017.1343140

33. Aapro M, Osterborg A, Gascon P, Ludwig H, Beguin Y. Prevalence and management of cancer-related anaemia, iron deficiency and the specific role of i.v. iron. *Ann Oncol*. 2012;23(8):1954-1962. doi: 10.1093/annonc/mds112

34. Steinmetz T, Schroder J, Plath M, et al. Antianemic treatment of cancer patients in german routine practice: Data from a prospective cohort study-the tumor anemia registry. *Anemia*. 2016;2016:8057650. doi: 10.1155/2016/8057650

35. Cui HW, Turney BW, Griffiths J. The preoperative assessment and optimization of patients undergoing major urological surgery. *Curr Urol Rep*. 2017;18(7):54-017-0701-z. doi: 10.1007/s11934-017-0701-z

36. Munoz M, Gomez-Ramirez S, Martin-Montanez E, Auerbach M. Perioperative anemia management in colorectal cancer patients: A pragmatic approach. *World J Gastroenterol*. 2014;20(8):1972-1985. doi: 10.3748/wjg.v20.i8.1972

37. Ludwig H, Van Belle S, Barrett-Lee P, et al. The european cancer anaemia survey (ECAS): A large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients. *Eur J Cancer*. 2004;40(15):2293-2306. doi: 10.1016/j.ejca.2004.06.019

38. Gierth M, Mayr R, Aziz A, et al. Preoperative anemia is associated with adverse outcome in patients with urothelial carcinoma of the bladder following radical cystectomy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2015;141(10):1819-1826. doi: 10.1007/s00432-015-1957-7

39. Xia L, Hu G, Guzzo TJ. Prognostic significance of preoperative anemia in patients undergoing surgery for renal cell carcinoma: A meta-analysis. *Anticancer Res*. 2017;37(6):3175-3181. doi: 37/6/3175

40. Bokemeyer C, Aapro MS, Courdi A, et al. EORTC guidelines for the use of erythropoietic proteins in anaemic patients with cancer. *Eur J Cancer*. 2004;40(15):2201-2216. doi: 10.1016/j.ejca.2004.07.015

41. Tonia T, Mettler A, Robert N, et al. Erythropoietin or darbepoetin for patients with cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;12:CD003407. doi: 10.1002/14651858.CD003407.pub5

42. Gafter-Gvili A, Rozen-Zvi B, Vidal L, et al. Intravenous iron supplementation for the treatment of chemotherapy-induced anaemia - systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Acta Oncol*. 2013;52(1):18-29. doi: 10.3109/0284186X.2012.702921

43. Steinmetz T, Tschechne B, Harlin O, et al. Clinical experience with ferric carboxymaltose in the treatment of cancer- and chemotherapy-associated anaemia. *Ann Oncol*. 2013;24(2):475-482. doi: 10.1093/annonc/mds338

44. Calleja JL, Delgado S, del Val A, et al. Ferric carboxymaltose reduces transfusions and hospital stay in patients with colon cancer and anemia. *Int J Colorectal Dis*. 2016;31(3):543-551. doi: 10.1007/s00384-015-2461-x

45. Lebrun F, Klastersky J, Levacq D, Wissam Y, Paesmans M. Intravenous iron therapy for anemic cancer patients: A review of recently published clinical studies. *Support Care Cancer*. 2017;25(7):2313-2319. doi: 10.1007/s00520-017-3672-1

46. Gilreath JA, Stenehjem DD, Rodgers GM. Total dose iron dextran infusion in cancer patients: Is it SaFe2+? *J Natl Compr Canc Netw*. 2012;10(5):669-676. doi: 10/5/669

47. Musallam KM, Tamim HM, Richards T, et al. Preoperative anaemia and postoperative outcomes in non-cardiac surgery: A retrospective cohort study. *Lancet*. 2011;378(9800):1396-1407. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61381-0

48. Ranucci M, Di Dedda U, Castelvecchio S, et al. Impact of preoperative anemia on outcome in adult cardiac surgery: A propensity-matched analysis. *Ann Thorac Surg*. 2012;94(4):1134-1141. doi: 10.1016/j.athoracsur.2012.04.042

49. Lasocki S, Krauspe R, von Heymann C, Mezzacasa A, Chainey S, Spahn DR. PREPARE: The prevalence of perioperative anaemia and need for patient blood management in elective orthopaedic surgery: A multicentre, observational study. *Eur J Anaesthesiol*. 2015;32(3):160-167. doi: 10.1097/EJA.0000000000000202

50. Paone G, Likosky DS, Brewer R, et al. Transfusion of 1 and 2 units of red blood cells is associated with increased morbidity and mortality. *Ann Thorac Surg*. 2014;97(1):87-93; discussion 93-4. doi: 10.1016/j.athoracsur.2013.07.020

51. Loor G, Rajeswaran J, Li L, et al. The least of 3 evils: Exposure to red blood cell transfusion, anemia, or both? *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2013;146(6):1480-1487.e6. doi: 10.1016/j.jtcvs.2013.06.033

52. Peters F, Ellermann I, Steinbicker AU. Intravenous iron for treatment of anemia in the 3 perisurgical phases: A review and analysis of the current literature. *Anesth Analg*. 2017. doi: 10.1213/ANE.0000000000002591

53. Clevenger B, Mallett SV, Klein AA, Richards T. Patient blood management to reduce surgical risk. *Br J Surg*. 2015;102(11):1325-37; discussion 1324. doi: 10.1002/bjs.9898

54. Koskenkorva-Frank TS, Weiss G, Koppenol WH, Burckhardt S. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: Insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. *Free Radic Biol Med*. 2013;65:1174-1194. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.09.001

55. Moretti D, Goede JS, Zeder C, et al. Oral iron supplements increase hepcidin and decrease iron absorption from daily or twice-daily doses in iron-depleted young women. *Blood*. 2015;126(17):1981-1989. doi: 10.1182/blood-2015-05-642223

56. Geisser P, Burckhardt S. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of iron preparations. *Pharmaceutics*. 2011;3(1):12-33. doi: 10.3390/pharmaceutics3010012

57. Bailie GR, Mason NA, Valaoras TG. Safety and tolerability of intravenous ferric carboxymaltose in patients with iron deficiency anemia. *Hemodial Int*. 2010;14(1):47-54. doi: 10.1111/j.1542-4758.2009.00409.x

58. Onken JE, Bregman DB, Harrington RA, et al. Ferric carboxymaltose in patients with iron-deficiency anemia and impaired renal function: The REPAIR-IDA trial. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(4):833-842. doi: 10.1093/ndt/gft251

59. Rampton D, Folkersen J, Fishbane S, et al. Hypersensitivity reactions to intravenous iron: Guidance for risk minimization and management. *Haematologica*. 2014;99(11):1671-1676. doi: 10.3324/haematol.2014.111492

60. Hamstra RD, Block MH, Schocket AL. Intravenous iron dextran in clinical medicine. *JAMA*. 1980;243(17):1726-1731.

61. Kalra PA, Bhandari S. Efficacy and safety of iron isomaltoside (monofer((R))) in the management of patients with iron deficiency anemia. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2016;9:53-64. doi: 10.2147/IJNRD.S89704

62. Hardy S, Vandemergel X. Intravenous iron administration and hypophosphatemia in clinical practice. *Int J Rheumatol*. 2015;2015:468675. doi: 10.1155/2015/468675

63. Bager P, Hvas CL, Dahlerup JF. Drug-specific hypophosphatemia and hypersensitivity reactions following different intravenous iron infusions. *Br J Clin Pharmacol*. 2017;83(5):1118-1125. doi: 10.1111/bcp.13189

64. Vifor. Fachinformation Ferinject 50mg Eisen/ml. file:///C:/Users/ines/AppData/Local/Microsoft/Windows/INetCache/IE/ZDL41YQI/Fachinformation%20Ferinject%202017%2004.pdf. Updated 2017. Accessed April, 2017

65. Ganzoni AM. Intravenous iron-dextran: Therapeutic and experimental possibilities. *Schweiz Med Wochenschr*. 1970;100(7):301-303

66. Macdougall IC, Bock AH, Carrera F, et al. FIND-CKD: A randomized trial of intravenous ferric carboxymaltose versus oral iron in patients with chronic kidney disease and iron deficiency anaemia. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(11):2075-2084. doi: 10.1093/ndt/gfu201

67. Munoz M, Gomez-Ramirez S, Garcia-Erce JA. Intravenous iron in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2009;15(37):4666-4674

68. Kim YW, Bae JM, Park YK, et al. Effect of intravenous ferric carboxymaltose on hemoglobin response among patients with acute isovolemic anemia following gastrectomy: The FAIRY randomized clinical trial. *JAMA*. 2017;317(20):2097-2104. doi: 10.1001/jama.2017.5703

69. Steinbicker AU, Sachidanandan C, Vonner AJ, et al. Inhibition of bone morphogenetic protein signaling attenuates anemia associated with inflammation. *Blood*. 2011;117(18):4915-4923. doi: 10.1182/blood-2010-10-313064

70. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*. 2001;29(9):e45

71. Qian Y, Zhang S, Guo W, et al. Polychlorinated biphenyls (PCBs) inhibit hepcidin expression through an estrogen-like effect associated with disordered systemic iron homeostasis. *Chem Res Toxicol*. 2015;28(4):629-640. doi: 10.1021/tx500428r

72. Steinbicker AU, Zurheiden N, Bückmann A, et al. Patient blood management – implementation within the anaesthesia clinic. *Anästhesiologie und Intensivmedizin*. 2014(55):1-8

73. Schopper C, Venherm S, Van Aken H, Ellermann I, Steinbicker A. Organization of an anaesthesia preoperative evaluation clinic - the anaesthesia/patient blood management clinic: One model. *Anasthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*. 2016;51(4):274-279. doi: 10.1055/s-0041-106676

74. Meybohm P, Herrmann E, Steinbicker AU, et al. Patient blood management is associated with a substantial reduction of red blood cell utilization and safe for patient's outcome: A prospective, multicenter cohort study with a noninferiority design. *Ann Surg*. 2016;264(2):203-211. doi: 10.1097/SLA.0000000000001747

75. Mattijssen F, Georgiadi A, Andasarie T, et al. Hypoxia-inducible lipid droplet-associated (HILPDA) is a novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) target involved in hepatic triglyceride secretion. *J Biol Chem*. 2014;289(28):19279-19293. doi: 10.1074/jbc.M114.570044

76. Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM. The met tyrosine kinase receptor in development and cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2008;27(1):85-94. doi: 10.1007/s10555-007-9107-6

77. Jung BJ, Yoo HS, Shin S, Park YJ, Jeon SM. Dysregulation of NRF2 in cancer: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Biomol Ther (Seoul)*. 2017. doi: 10.4062/biomolther.2017.195

78. Volz K. The functional duality of iron regulatory protein 1. *Curr Opin Struct Biol*. 2008;18(1):106-111. doi: 10.1016/j.sbi.2007.12.010

79. Wang W, Zhang X, Gao Q, Xu H. TRPML1: An ion channel in the lysosome. *Handb Exp Pharmacol*. 2014;222:631-645. doi: 10.1007/978-3-642-54215-2_24

80. Hagist S, Sultmann H, Millonig G, et al. In vitro-targeted gene identification in patients with hepatitis C using a genome-wide microarray technology. *Hepatology*. 2009;49(2):378-386. doi: 10.1002/hep.22677

81. Akatsuka S, Yamashita Y, Ohara H, et al. Fenton reaction induced cancer in wild type rats recapitulates genomic alterations observed in human cancer. *PLoS One*. 2012;7(8):e43403. doi: 10.1371/journal.pone.0043403

82. Bui MH, Visapaa H, Seligson D, et al. Prognostic value of carbonic anhydrase IX and KI67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. *J Urol*. 2004;171(6 Pt 1):2461-2466. doi: S0022534705622215

83. 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(7):2461-2463. doi: 10.1182/blood-2002-10-3235

84. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem*. 2001;276(11):7811-7819. doi: 10.1074/jbc.M008923200

85. Muckenthaler M, Roy CN, Custodio AO, et al. Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and Cybrd1 expression in mouse hemochromatosis. *Nat Genet*. 2003;34(1):102-107. doi: 10.1038/ng1152

86. Guo W, Zhang S, Chen Y, et al. An important role of the hepcidin-ferroportin signaling in affecting tumor growth and metastasis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2015;47(9):703-715. doi: 10.1093/abbs/gmv063

87. Saeki I, Yamamoto N, Yamasaki T, et al. Effects of an oral iron chelator, deferasirox, on advanced hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2016;22(40):8967-8977. doi: 10.3748/wjg.v22.i40.8967

88. Jamnongkan W, Thanan R, Techasen A, et al. Upregulation of transferrin receptor-1 induces cholangiocarcinoma progression via induction of labile iron pool. *Tumour Biol*. 2017;39(7):1010428317717655. doi: 10.1177/1010428317717655

89. Jeong SM, Hwang S, Seong RH. Transferrin receptor regulates pancreatic cancer growth by modulating mitochondrial respiration and ROS generation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;471(3):373-379. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.02.023

90. Zhang S, Chen Y, Guo W, et al. Disordered hepcidin-ferroportin signaling promotes breast cancer growth. *Cell Signal*. 2014;26(11):2539-2550. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.07.029

91. Lu N, Ding Y, Tian R, Yang Z, Chen J, Peng YY. Effects of pharmacological ascorbate on hemoglobin-induced cancer cell proliferation. *Int J Biol Macromol*. 2016;92:1215-1219. doi: S0141-8130(16)31191-6

92. Praschberger M, Haider K, Cornelius C, et al. Iron sucrose and ferric carboxymaltose: No correlation between physicochemical stability and biological activity. *Biometals*. 2015;28(1):35-50. doi: 10.1007/s10534-014-9801-0

93. Connor JR, Zhang X, Nixon AM, Webb B, Perno JR. Comparative evaluation of nephrotoxicity and management by macrophages of intravenous pharmaceutical iron formulations. *PLoS One*. 2015;10(5):e0125272. doi: 10.1371/journal.pone.0125272

94. Toblli JE, Cao G, Oliveri L, Angerosa M. Assessment of the extent of oxidative stress induced by intravenous ferumoxytol, ferric carboxymaltose, iron sucrose and iron dextran in a nonclinical model. *Arzneimittelforschung*. 2011;61(7):399-410. doi: 10.1055/s-0031-1296218

95. Bailie GR, Schuler C, Leggett RE, et al. Oxidative effect of several intravenous iron complexes in the rat. *Biometals*. 2013;26(3):473-478. doi: 10.1007/s10534-013-9632-4

96. Kamai T, Tomosugi N, Abe H, Arai K, Yoshida K. Increased serum hepcidin-25 level and increased tumor expression of hepcidin mRNA are associated with metastasis of renal cell carcinoma. *BMC Cancer*. 2009;9:270-2407-9-270. doi: 10.1186/1471-2407-9-270

97. Xiang-Tao P. Expression of hepcidin and neogenin in colorectal cancer. *Open Med (Wars)*. 2017;12:184-188. doi: 10.1515/med-2017-0027

98. Xue X, Ramakrishnan SK, Weisz K, et al. Iron uptake via DMT1 integrates cell cycle with JAK-STAT3 signaling to promote colorectal tumorigenesis. *Cell Metab*. 2016;24(3):447-461. doi: 10.1016/j.cmet.2016.07.015

99. Richmond HG. Induction of sarcoma in the rat by iron-dextran complex. *Br Med J*. 1959;1(5127):947-949

100. Bhasin G, Kauser H, Athar M. Free radical generating agents lead to the rapid progression of benign skin tumors to carcinoma in iron-overloaded mice. *Arch Toxicol*. 2004;78(3):139-146. doi: 10.1007/s00204-003-0525-0

101. Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem*. 1996;271(52):33157-33160

102. Salvado MD, Alfranca A, Haeggstrom JZ, Redondo JM. Prostanoids in tumor angiogenesis: Therapeutic intervention beyond COX-2. *Trends Mol Med*. 2012;18(4):233-243. doi: 10.1016/j.molmed.2012.02.002

103. Liu B, Qu L, Yan S. Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity. *Cancer Cell Int*. 2015;15:106-015-0260-7. eCollection 2015. doi: 10.1186/s12935-015-0260-7

104. Tabriz HM, Mirzaalizadeh M, Gooran S, Niki F, Jabri M. COX-2 expression in renal cell carcinoma and correlations with tumor grade, stage and patient prognosis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(2):535-538

105. Kankuri-Tammilehto MK, Soderstrom KO, Pelliniemi TT, Vahlberg T, Pyrhonen SO, Salminen EK. Prognostic evaluation of COX-2 expression in renal cell carcinoma. *Anticancer Res*. 2010;30(7):3023-3030. doi: 30/7/3023

106. Goodsell DS. The molecular perspective: VEGF and angiogenesis. *Stem Cells*. 2003;21(1):118-119. doi: 10.1634/stemcells.21-1-118

107. Minardi D, Santoni M, Lucarini G, et al. Tumor VEGF expression correlates with tumor stage and identifies prognostically different groups in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol*. 2015;33(3):113.e1-113.e7. doi: 10.1016/j.urolonc.2014.06.014

108. Djordjevic G, Mozetic V, Mozetic DV, et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in clear cell renal cell carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2007;203(2):99-106. doi: S0344-0338(06)00204-4

109. Kim M, Sohn M, Shim M, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptor 2, platelet-derived growth factor-beta (PDGF-beta), and PDGF-beta receptor expression in papillary renal cell carcinoma. *Hum Pathol*. 2017;61:78-89. doi: S0046-8177(16)30340-9

110. Gimm T, Wiese M, Teschemacher B, et al. Hypoxia-inducible protein 2 is a novel lipid droplet protein and a specific target gene of hypoxia-inducible factor-1. *FASEB J*. 2010;24(11):4443-4458. doi: 10.1096/fj.10-159806

111. Togashi A, Katagiri T, Ashida S, et al. Hypoxia-inducible protein 2 (HIG2), a novel diagnostic marker for renal cell carcinoma and potential target for molecular therapy. *Cancer Res*. 2005;65(11):4817-4826. doi: 65/11/4817

112. Luporsi E, Toledano A, Spaeth D, et al. Use of iron sucrose and red blood cell transfusions in anaemic cancer patients in france (OncoFer study). *Support Care Cancer*. 2017;25(3):973-982. doi: 10.1007/s00520-016-3489-3

113. Toledano A, Luporsi E, Morere JF, et al. Clinical use of ferric carboxymaltose in patients with solid tumours or haematological malignancies in france. *Support Care Cancer*. 2016;24(1):67-75. doi: 10.1007/s00520-015-2728-3

114. Hedenus M, Birgegard G, Nasman P, et al. Addition of intravenous iron to epoetin beta increases hemoglobin response and decreases epoetin dose requirement in anemic patients with lymphoproliferative malignancies: A randomized multicenter study. *Leukemia*. 2007;21(4):627-632. doi: 2404562

115. Gemici C, Yetmen O, Yaprak G, et al. Is there any role of intravenous iron for the treatment of anemia in cancer? *BMC Cancer*. 2016;16(1):661-016-2686-2. doi: 10.1186/s12885-016-2686-2

116. Baruch Y, Holtom BC. Survey response rate levels and trends in organizational research. *Human Relations*. 2008;8(61):1139-1160

117. Dillman DA, Phelps G, Tortora R, et al. Response rate and measurement differences in mixed-mode surveys using mail, telephone, interactive voice response (IVR) and the internet. *Social Science Research*. 2009;38(1):1-18

118. Keeler BD, Simpson JA, Ng O, et al. Randomized clinical trial of preoperative oral versus intravenous iron in anaemic patients with colorectal cancer. *Br J Surg*. 2017;104(3):214-221. doi: 10.1002/bjs.10328

119. Bernabeu-Wittel M, Romero M, Ollero-Baturone M, et al. Ferric carboxymaltose with or without erythropoietin in anemic patients with hip fracture: A randomized clinical trial. *Transfusion*. 2016;56(9):2199-2211. doi: 10.1111/trf.13624

120. IRONMAN Investigators, Litton E, Baker S, et al. Intravenous iron or placebo for anaemia in intensive care: The IRONMAN multicentre randomized blinded trial : A randomized trial of IV iron in critical illness. *Intensive Care Med*. 2016;42(11):1715-1722. doi: 10.1007/s00134-016-4465-6

121. Rineau E, Chaudet A, Chassier C, Bizot P, Lasocki S. Implementing a blood management protocol during the entire perioperative period allows a reduction in transfusion rate in major orthopedic surgery: A before-after study. *Transfusion*. 2016;56(3):673-681. doi: 10.1111/trf.13468

122. Johansson PI, Rasmussen AS, Thomsen LL. Intravenous iron isomaltoside 1000 (monofer(R)) reduces postoperative anaemia in preoperatively non-anaemic patients undergoing elective or subacute coronary artery bypass graft, valve replacement or a combination thereof: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial (the PROTECT trial). *Vox Sang*. 2015;109(3):257-266. doi: 10.1111/vox.12278

123. Cuenca J, Garcia-Erce JA, Martinez AA, Solano VM, Molina J, Munoz M. Role of parenteral iron in the management of anaemia in the elderly patient undergoing displaced subcapital hip fracture repair: Preliminary data. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2005;125(5):342-347. doi: 10.1007/s00402-005-0809-3

124. Roger SD, Gaillard CA, Bock AH, et al. Safety of intravenous ferric carboxymaltose versus oral iron in patients with nondialysis-dependent CKD: An analysis of the 1-year FIND-CKD trial. *Nephrol Dial Transplant*. 2017. doi: 10.1093/ndt/gfw264

125. Litton E, Xiao J, Ho KM. Safety and efficacy of intravenous iron therapy in reducing requirement for allogeneic blood transfusion: Systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *BMJ*. 2013;347:f4822. doi: 10.1136/bmj.f4822

126. Froessler B, Palm P, Weber I, Hodyl NA, Singh R, Murphy EM. The important role for intravenous iron in perioperative patient blood management in major abdominal surgery: A randomized controlled trial. *Ann Surg*. 2016;264(1):41-46. doi: 10.1097/SLA.0000000000001646

127. Robalo Nunes A, Palricas Costa A, Rocha SL, Garcia de Oliveira A. Efficacy and tolerability of intravenous ferric carboxymaltose in patients with iron deficiency at a hospital outpatient clinic: A retrospective cohort study of real-world clinical practice. *Anemia*. 2017;2017:3106890. doi: 10.1155/2017/3106890

128. Kalantar-Zadeh K, Regidor DL, McAllister CJ, Michael B, Warnock DG. Time-dependent associations between iron and mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(10):3070-3080. doi: ASN.2005040423

129. Feldman HI, Joffe M, Robinson B, et al. Administration of parenteral iron and mortality among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(6):1623-1632

130. Gaillard CA, Bock AH, Carrera F, et al. Hepcidin response to iron therapy in patients with non-dialysis dependent CKD: An analysis of the FIND-CKD trial. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157063. doi: 10.1371/journal.pone.0157063

7. Lebenslauf

Persönliche Daten

Nachname:	Ellermann
Vorname:	Ines Cornelia
Geburtstag	16.01.1990
Geburtsort	Lingen (Ems)
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Eltern:	Vater: Friedrich-Wilhelm Ellermann
	Mutter: Sylvia Ellermann, geb. Overbeck

Schulausbildung

1996 - 2000	Grundschule Neuenhaus
2000 - 2002	Orientierungsstufe Neuenhaus
2002 - 2009	Lise-Meitner-Gymnasium in Neuenhaus
17.06.2009	Allgemeine Hochschulreife (1,6)

Studium

01.10.2009 – 01.10.2013	Studium der Pharmazie an der WWU Münster
19.09.2011	Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung (3,00)
14.10.2013	Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung (2,20)
30.12.2014	Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung (1,50)
	Pharmazeutische Prüfung: Gesamtnote gut (2,22)
08.01.2015	Approbation als Apothekerin

Promotionsstudium

Seit 01.01.2015	Beginn der Dissertation am Institut für pharmazeutische und medizinische Chemie der WWU Münster unter der Betreuung von Prof. Dr. Georg Hempel, Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, und PD Dr. Andrea U. Steinbicker, Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Münster

Berufstätigkeit

22.02.2010 - 19.03.2010	Famulantin in der Pharmazeutischen Fabrik Kattwiga in Nordhorn
23.08.2010 - 17.09.2010	Famulantin in der Bookholter Apotheke in Nordhorn
01.11.2013 - 01.04.2014	Pharmazeutin im Praktikum im Wellington Hospital in London (Großbritannien)
01.05.2014 – 01.10.2014	Pharmazeutin im Praktikum in der Süd Apotheke in Münster
Seit 01.01.2015	Apothekerin am Universitätsklinikum in Münster

Münster, den

8. Publikationen und Vorträge

8.1. Zeitschriftenartikel

Schöpper C, Venherm S, Van Aken H, Ellermann I, Steinbicker AU; Organisation der Prämedikationsambulanz: Die Anästhesie- / Patient Blood Management-Sprechstunde: ein Modell; Anästhesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie 2016; 51: 274–279. doi: 10.1055/s-0041-106676

Peters F, Ellermann I, Steinbicker AU. Intravenous iron for treatment of anemia in the 3 perisurgical phases: A review and analysis of the current literature. Anesthesia & Analgesia. doi: 10.1213/ANE.0000000000002591

Ellermann I, Bueckmann A, Eveslage M, Buddendick H, Latal T, Niehoff D, Geissler G, Hempel G, Kerkhoff A, Berdel WE, Roeder N, Van Aken HK, Zarbock A, Steinbicker AU; Treating anemia in the pre-anesthesia assessment clinic: results of a retrospective evaluation; eingereicht zur Publikation bei Anesthesia & Analgesia, 06/2017

8.2. Vorträge

04/2016: Vortrag auf dem Deutschen Anästhesie Kongress in Leipzig; Titel: Das Konzept der Pharmazeutischen Aufnahme in der Anästhesie/ PBM Sprechstunde der Klinik für Anästhesiologie, operativen Intensivmedizin und Schmerztherapie am Universitätsklinikum Münster

05/2017: Vortrag auf dem Kongress der österreichischen Gesellschaft für Blutgruppenserologie, Transfusionsmedizin, regenerative Medizin und Immungenetik in Graz; Titel: Eisenstoffwechsel

8.3. Poster Präsentationen

Ellermann I; Krakow E, Steinbicker AU, Schoepper C, Klaas C; Titel: Die Pharmazeutische Aufnahme am Universitätsklinikum Münster; Kongress des Bundesverbandes der deutschen Krankenhausapotheker (ADKA) in Würzburg, 11. - 13.05.2017

9. Danksagung

Am Ende meiner Arbeit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während meiner Promotionszeit unterstützt und begleitet haben.

Zu allererst möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Hempel und Frau PD Dr. Steinbicker für die großartige Betreuung, für die vielen, hilfreichen Anregungen, die konstruktive Kritik und die große Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit bedanken.

Auch bei der Arbeitsgruppe von Prof. Hempel und der Arbeitsgruppe „Iron Signaling“ Frau PD Dr. Steinbicker, in der die *in vitro* Versuche durchgeführt wurden, möchte ich mich für eine tolle gemeinsame Zeit und eine gute Zusammenarbeit bedanken. Ein besonderer Dank geht hierbei an Lisa, die mir immer hilfsbereit zur Seite stand.

Außerdem möchte ich mich bei der Anästhesie/ PBM Sprechstunde für die Rekrutierung der PBM Patienten und die tolle, kollegiale Zusammenarbeit bedanken.

Für die Rekrutierung der urologischen Patienten und die gute Kollaboration möchte ich mich zudem bei der Klinik für Urologie des UKMs, insbesondere bei Herrn Prof. Schrader und bei Herrn Professor Herrmann, bedanken.

Ein großer Dank geht auch an Frau Eveslage (Institut für Biometrie und Klinische Forschung), an Herrn PD Dr. Heiduschka (Klinik für Augenheilkunde am UKM), an Herrn Dr. Latal (Medizincontrolling des UKM) und an die Core Facility Genomik der Medizinischen Fakultät Münster. Dank der guten Kooperationen konnte diese Arbeit verwirklicht werden.

Für die Forschungsunterstützung durch ein Stipendium möchte ich mich außerdem bei der Apothekerstiftung Westfalen-Lippe bedanken.

Des Weiteren möchte ich mich bei der Apotheke des Universitätsklinikums Münster für die tolle, kollegiale Zusammenarbeit bedanken.

Ein ganz liebes Dankeschön geht natürlich auch an meiner Familie und meine Freunde, für ihren Rückhalt und viele tolle, gemeinsame Stunden. Vor allem bei meinen Eltern und bei Berthold möchte ich mich für großartige Unterstützung bedanken.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt habe und mich mit dieser Dissertation erstmals um die Erlangung eines Doktorgrades bewerbe.

Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

_____ _____

Ort, Datum Unterschrift