

Aus dem Bereich Klinik für Innere Medizin IV
Nieren- und Hochdruckkrankheiten
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg / Saar
Direktor: Prof. Dr. med. Danilo Fliser

Epidemiologische Bedeutung von Heparin bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät**

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2020

vorgelegt von: Johanna Katharina Marie Wiedenroth
geboren 25.09.1994 in Hameln

Tag des Kolloquiums: 09.07.2020
Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger
1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Gunnar H. Heine
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Stefan Wagenpfeil

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	5
1 Zusammenfassung	7
2 Summary	9
3 Einleitung	11
3.1 Die chronische Nierenerkrankung	11
3.2 Kardiovaskuläre Risikofaktoren bei der CKD.....	12
3.3 Physiologie und Pathophysiologie von Heparin.....	13
3.4 Fragestellung der Promotionsarbeit	15
4 Material und Methoden	16
4.1 Patientenrekrutierung.....	16
4.1.1 Einschlusskriterien.....	16
4.1.2 Ausschlusskriterien	17
4.2 Untersuchungsablauf	17
4.2.1 Blut- und Urinentnahme.....	17
4.2.2 Erfassung kardiovaskulärer Komorbiditäten und der Medikation mittels standardisiertem Fragebogen.....	19
4.2.3 Anthropometrische Daten	20
4.2.4 Blutdruckmessung	20
4.2.5 Elektrokardiogramm	20
4.2.6 Knöchel-Arm-Index	21
4.2.7 Sonographische Untersuchung.....	21
4.3 Nachkontrollen	21
4.4 Studienendpunkte	22
4.5 Verwendete Materialien.....	22
4.6 Dokumentation und Statistik.....	23
5 Ergebnisse	24
5.1 Baselinecharakteristika.....	24
5.2 Heparin	29
5.2.1 Heparin und Eisenparameter	29
5.2.2 Heparin und Parameter der Nierenfunktion	31
5.2.3 Heparin und Entzündungsparameter	33
5.3 GFR.....	33
5.3.1 GFR und Parameter des Eisenstoffwechsels.....	33
5.3.2 GFR und Entzündungsparameter	36

Inhaltsverzeichnis

5.4	Ereignisfreies Überleben	37
5.4.1	Hepcidin als Prädiktor des kardialen Überlebens.....	37
5.4.2	eGFR als Prädiktor des kardialen Überlebens	40
5.5	Multivariate Cox-Regressionsanalysen	44
6	Diskussion.....	48
6.1	Einflussfaktoren der Hepcidin Plasmakonzentration	49
6.1.1	Wirkmechanismus von Hepcidin bei der CKD	49
6.1.2	Korrelation von Hepcidin und manifester Anämie.....	50
6.1.3	Hepcidin als Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse.....	52
6.2	Therapeutische Optionen	54
6.3	Schlussfolgerung und Ausblick	58
7	Literaturverzeichnis.....	59
8	Danksagung	65
9	Publikationen.....	67
10	Abbildungsverzeichnis.....	68
11	Tabellenverzeichnis.....	69
12	Anhang.....	70
12.1	Fragebogen zur Erfassung des kardiovaskulären Risikos.....	70
12.2	Einwilligungserklärung	75
12.3	Datenschutzerklärung.....	76

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
ABI	Ankle Brachial Index
AS	Atherosklerose
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
BMI	Body Mass Index
bspw.	beispielsweise
ca.	circa
CD	Kardiale Dekompensation
CD_D	Kardiale Dekompensation + Tod jedweder Genese
CIMT	Carotis-Intima-Media-Thickness
CKD	Chronic Kidney Disease
CRP	C-reaktives Protein
CVE	Kardiovaskuläres Ereignis
CVE_D	Kardiovaskuläres Ereignis + Tod jedweder Genese
CVE_ND	Nichtfetales kardiovaskuläres Ereignis
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eGFR	Estimated glomerular filtration rate (nach MDRD)
EKG	Elektrokardiogramm
EP	Endpunkt
EPO	Erythropoetin
ESA	Erythropoese-stimulierende Agenzien
FePi	Fraktionelle Phosphatausscheidung
FGF-23	Fibroblast growth factor 23
FU	Follow-up
Hb	Hämoglobin
HD	Hämodialyse
HDL	High Density Lipoprotein
Hep.	Hepcidin
I.E.	Internationale Einheiten
i.v.	intravenös
KD	Kardiale Dekompensation
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes

Abkürzungsverzeichnis

LDL	Low Density Lipoprotein
Neg.	negativ
NT-pro-BNP	N-terminal prohormone of Brain Natriuretic Peptide
P	p-Wert
Pat.	Patient
PI	Pulsatility Indices
RI	Resistive Indices
RR diastolisch	Diastolischer Blutdruck nach Riva Rocci
RR systolisch	Systolischer Blutdruck nach Riva Rocci
sig.	signifikant
sTfR	Soluble transferrin receptor
TSAT	Transferrinsättigung
vgl.	Vergleich

1 Zusammenfassung

Epidemiologische Bedeutung von Hepcidin bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung

Patienten mit chronischer Nierenerkrankung weisen ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen auf. Hierbei tragen neben den typischen kardiovaskulären Risikofaktoren insbesondere auch nicht-klassische Risikofaktoren zur Entstehung und Progredienz von Herz-Kreislaufkrankungen bei. Zu diesen Risikofaktoren zählt auch die bei chronisch nierenkranken Menschen mit hoher Prävalenz auftretende Anämie. Rezente Studien beobachteten wiederholt bei mittel- bis hochgradiger chronischer Nierenerkrankung eine höhere Plasmakonzentration von Hepcidin, welches eine Kernrolle im Eisenstoffwechsel hat. Unklar ist allerdings, ob diese Hepcidin Hochregulation zur gehäuften Komorbidität von anämischen, chronisch nierenkranken Menschen beiträgt. Insbesondere wurde bislang in nicht ausreichend großen Kohorten chronisch nierenkranker Menschen untersucht, inwieweit erhöhtes Plasma Hepcidin Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse ist.

Wir überprüften in unserer prospektiven CARE FOR HOME Studie, inwiefern

- (1) das Ausmaß der chronischen Nierenerkrankung mit einer fortgeschrittenen chronischen Inflammation und einer höheren Hepcidin Plasmakonzentration assoziiert ist;
- (2) eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration mit einer manifesten Eisenmangelanämie assoziiert ist;
- (3) Hepcidin ein Prädiktor für atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse ist.

Über einen Zeitraum von insgesamt zehn Jahren wurden 599 Patienten mit einer chronischen Nierenerkrankung der Stadien G 2 – G 4 am Universitätsklinikum des Saarlandes in die prospektive CARE FOR HOME Studie rekrutiert. Dabei erfolgte die Schätzung der glomerulären Filtrationsrate durch die MDRD-Formel. Bei 558 Patienten konnten die Hepcidin Plasmakonzentrationen aus den bei Studienbeginn asservierten Proben bestimmt werden. Im Nachbeobachtungszeitraum von $5,1 \pm 2,1$ Jahren wurden die Patienten jährlich im Hinblick auf das Auftreten von atherosklerotischen kardiovaskulären und renalen Ereignissen nachverfolgt.

Erwartungsgemäß zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen der Hepcidin Plasmakonzentration und der glomerulären Filtrationsrate ($r = -0,127$; $p < 0,001$). Allerdings konnte zwischen der Hämoglobinkonzentration und Plasma Hepcidin keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden ($r = -0,036$; $p = 0,213$). Plasma Hepcidin war weder in univariaten, noch in multivariaten Analysen ein Prädiktor der vordefinierten atherosklerotischen kardiovaskulären und renalen Studienendpunkte.

Zusammenfassung

Zusammenfassend wurde in der CARE FOR HOME Studie nachgewiesen, dass fortgeschrittene Stadien der chronischen Nierenerkrankung mit einer erhöhten Hepcidin Plasmakonzentration assoziiert sind. Entgegen unserer Erwartungen manifestiert sich eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration allerdings offenbar nicht in einer Anämie. Weiterhin prädiziert Plasma Hepcidin in CARE FOR HOME nicht das Auftreten von atherosklerotischen kardiovaskulären oder renalen Ereignissen. Nichtsdestotrotz könnte Hepcidin aufgrund seiner zentralen Rolle im Eisenstoffwechsel einen Angriffspunkt für die klinische Therapie der Anämie bei chronisch nierenkranken Patienten darstellen. Vor diesem Hintergrund werden Hepcidin-Antagonisten als potentiell nützliche Therapeutika diskutiert, um eine ausreichende Eisenverfügbarkeit für die im Rahmen der Anämie benötigte gesteigerte Erythropoese zu gewährleisten.

2 Summary

Epidemiological significance of hepcidin in patients with chronic kidney disease

Patient with chronic kidney disease exhibit an increased risk for cardiovascular diseases. In addition to classical cardiovascular risk factors, non-classical risk factors particularly contribute to the development and progression of cardiovascular diseases. Such non-classical risk factors in chronic kidney disease include a high prevalence of anaemia. Repetitively, recent studies of patients with moderate to severe chronic kidney disease observed high plasma hepcidin, which is a central regulation of iron metabolism. However, it is unclear in how far this hepcidin upregulation may contribute to the cumulative comorbidity of anaemic chronic kidney disease patients. Particularly no sufficiently large cohorts study has analysed if elevated plasma hepcidin predicts cardiovascular events in chronic kidney diseases patients.

Therefore we analysed in our prospective CARE FOR HOME study

- (1) if the severity of chronic kidney disease is associated with advanced chronic inflammation and higher hepcidin plasma concentrations;
- (2) if higher plasma hepcidin is associated with manifest iron deficiency anaemia;
- (3) if hepcidin is a predictor of atherosclerotic cardiovascular events.

During a period of ten years, 599 patients with chronic kidney disease stages G 2 – G 4 were recruited into the prospective CARE FORE HOME study at Saarland University Hospital. For estimating glomerular filtration rate (eGFR), the MDRD formula was applied. Plasma hepcidin could be determined in 558 patients from vials stored at study initiation. Patients have been followed for a mean of 5.1 ± 2.1 years for the occurrence of atherosclerotic cardiovascular event or CKD progression.

As expected, plasma hepcidin and the eGFR are negatively correlated ($r = -0.127$; $p < 0.001$). However there was no significant correlation between plasma hemoglobin and plasma hepcidin ($r = -0.036$; $p = 0.213$). Plasma hepcidin predicted atherosclerotic cardiovascular events or CKD progression neither in univariate nor in multivariate analysis.

In conclusion, the CARE FORE HOME study proved that advanced staged of chronic kidney diseases are associated with increased plasma hepcidin. Contrarily to our expectations, plasma hepcidin does apparently not result in anaemia. Furthermore plasma hepcidin is not a predictor for atherosclerotic cardiovascular events or CKD progression in CARE FOR HOME participants. Our data cannot exclude that hepcidin may nevertheless become a target for the clinical therapy of anaemia in patients

Summary

with chronic kidney disease, because of its central role in iron metabolism. Against this background hepcidin antagonists are discussed as a novel treatment strategy to allow sufficient iron availability for compensatory erythropoiesis which is needed in anaemia.

3 Einleitung

3.1 Die chronische Nierenerkrankung

Weltweit verzeichnet das Krankheitsbild der chronischen Nierenerkrankung (engl.: *Chronic Kidney Disease; CKD*) steigende Patientenzahlen und resultiert in einer wachsenden Herausforderung für die Humanmedizin und Gesundheitsökonomie [36].

Definiert man die CKD in Einklang mit der globalen KDIGO (engl.: *Kidney Disease Improving Global Outcomes*) als über drei Monate persistierende Reduktion der glomerulären Filtrationsrate (eGFR) $< 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ und / oder dem Nachweis funktioneller oder struktureller Nierenschädigungen (vgl. *Tabelle 1 und 2*) so liegt die Prävalenz der CKD global betrachtet derzeit bei ca. 10,4 % für die männliche und bei ca. 11,8 % für die weibliche Bevölkerung [36][35]. Weltweit sind insgesamt 497,5 Millionen Menschen (225,7 Millionen Männer und 271,8 Millionen Frauen) von einer CKD betroffen [36].

KDIGO eGFR-Kategorie	eGFR (ml/min/1,73 m²)
G 1	≥ 90
G 2	60 – 89
G 3a	45 – 59
G 3b	30 – 44
G 4	15 – 29
G 5	< 15

Tabelle 1: Stadieneinteilung der eGFR bei CKD nach KDIGO

KDIGO Albuminurie-Kategorie	Albuminurie (mg/g Kreatinin)
A1	< 30
A2	30 – 300
A3	> 300

Tabelle 2: Stadieneinteilung der Albuminurie bei CKD nach KDIGO

Epidemiologische Daten konnten für die Bundesrepublik Deutschland erstmals 2016 quantifiziert werden. In der bevölkerungsbasierten DEGS1 - Studie wurde beobachtet, dass von 7115 untersuchten Probanden der Altersgruppe 18 - 79 Jahre zum Untersuchungszeitpunkt 2,3 % eine eGFR von $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ und 11,5 % eine persistierende Albuminurie aufwiesen [18]. Berücksichtigt man zusätzlich die nicht in die Studie eingeschlossene Altersgruppe ≥ 80 Jahre, so kann in der Bundesrepublik die Anzahl der Menschen mit einer eGFR $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ auf über 2 Millionen geschätzt werden [18]. Da die CKD eine enge Korrelation zum Alter des Patienten aufweist ist vor dem Hintergrund des demographischen Wandels von einer Verdreifachung der

Bevölkerungspopulation der Altersklasse > 60 Jahre in den kommenden Dekaden auszugehen. Eine massiv steigenden Prävalenz der CKD ist daher zu erwarten [49].

Die Notwendigkeit von Nierenersatzverfahren, wie Dialysetherapien und allogenen Nierentransplantationen, stellen das Endstadium der CKD dar. Im Jahr 2016 wurden allein in Deutschland 85.341 dialysepflichtige Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz datiert [33]. Hinzu kommen die aufgrund einer terminalen Niereninsuffizienz transplantierten Patienten, welche näherungsweise auf über 20.000 geschätzt werden können [20]. Zusammengefasst befanden sich 2016 damit über 105.000 Patienten in einer kostenintensiven Therapie aufgrund einer Behandlung des Endstadiums der CKD.

Nichtdialysepflichtige chronisch nierenkranke Patienten (entsprechend einer eGFR < 60 ml/min/1,73m²) weisen stadienabhängig im Mittel eine 5,9 - fach erhöhte Gesamtmortalität im Vergleich zu nierengesunden Menschen auf [1].

Patienten in fortgeschrittenen Stadien der CKD, entsprechend G 3b – G 5, gelten aufgrund der massiv eingeschränkten eGFR sowie der auffälligen klinischen Symptomatik als Hochrisikopatienten für kardiovaskuläre Ereignisse [15]. Bei diesen Patienten mit fortgeschrittener CKD ist die Wahrscheinlichkeit aufgrund von kardiovaskulären Ereignissen zu versterben, oft höher als die Wahrscheinlichkeit durch Progredienz der Erkrankung die Dialysepflichtigkeit zu erreichen [15].

3.2 Kardiovaskuläre Risikofaktoren bei der CKD

Nach aktuellen Leitlinien zählen chronisch nierenkranke Patienten zu den Hochrisikogruppen für kardiovaskuläre Ereignisse und sind damit einhergehend einem erhöhten Mortalitätsrisiko ausgesetzt [12]. Neben klassischen Risikofaktoren wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie und Nikotinabusus existieren weitere, sogenannte nicht-klassische Risikofaktoren. Hierzu zählen:

- Oxidativer Stress,
- chronische Mikroinflammation,
- Anämie,
- Malnutrition,
- erhöhtes Homocystein und
- dysregulierter Mineral- und Knochenstoffwechsel [53].

Diese nicht-klassischen Risikofaktoren zeigen nach Adjustierung der klassischen Risikofaktoren eine Assoziation mit dem Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen [7]. Während oftmals im klinischen Alltag primär die klassischen Risikofaktoren für kardiovaskuläre Ereignisse im Fokus der Therapie

stehen, misst die CHOICE-Studie explizit den nicht-klassischen Risikofaktoren eine wachsende Bedeutung zu [27].

So können zwar bis zu 50% der Todesfälle nierenkranker Patienten im Endstadium auf klassische Risikofaktoren zurückgeführt werden [67], doch ist zudem ergänzend eine Abschätzung des individuellen kardiovaskulären Risikoprofils durch Beachtung nicht-klassische Risikofaktoren unumgänglich [67]. Wenn neben der Verhinderung der Progression der CKD ein primäres Behandlungsziel die frühzeitige kardiovaskuläre Prävention sein soll, muss eine Fokussierung auf nicht-klassische Risikofaktoren erfolgen. Aufgrund der ausgeprägten Vielfalt der nicht-klassischen Risikofaktoren birgt die Definition einer angemessenen Therapiestrategie und die Beurteilung ihrer Wirksamkeit jedoch eine enorme Herausforderung an die klinische Medizin.

Während für die meisten diskutierten nicht-klassischen Risikofaktoren keine pharmakologischen Interventionsmöglichkeiten bestehen, existieren für die Anämie bei CKD sowohl etablierte als auch innovative Therapiestrategien. Daher befindet sich die Therapie der Anämie stärker im Fokus der klinischen Nephrologie als andere nicht-klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren.

Die renale Anämie bei der CKD wird traditionell auf eine verminderte Erythropoese aufgrund eingeschränkter Erythropoetinproduktion (EPO-Mangel) zurückgeführt. Neben einem EPO-Mangel trägt jedoch häufig auch ein Eisenmangel zur Anämie bei CKD Patienten bei. Neben verschiedenen anderen Faktoren ist die Eisenmangelanämie bei chronisch nierenkranken Patienten insbesondere auf eine erhöhte Heparin Plasmakonzentration zurückzuführen [14]. Da Heparin zu den harnpflichtigen Substanzen zählt, wird es im Rahmen einer eingeschränkten Nierenfunktion nur bedingt eliminiert und akkumuliert daher im Plasma [58][61]. Das Hormon kann aufgrund seiner zentralen Rolle im Eisenstoffwechsel einen Eisenmangel bedingen, konsekutiv zu einer Eisenmangelanämie führen [43] und dadurch möglicherweise die Morbiditäts- und Mortalitätsraten von chronisch nierenkranken Patienten steigern [61]. Somit stellt eine erhöhte Heparin Plasmakonzentration und konsekutiv ein Eisenmangel einen möglicherweise wichtigen, nicht-klassischen Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse bei chronisch nierenkranken Menschen dar.

3.3 Physiologie und Pathophysiologie von Heparin

Eisen wird mit der Nahrung enteral über die Schleimhaut des Magen-Darm-Traktes aufgenommen. Das vom Enterozyten resorbierte Eisen wird einerseits in Form von intrazellulärem Ferritin gespeichert und andererseits weiter zur basolateralen Zellmembran transportiert [9]. Während im Darmepithel gespeichertes Eisen nach physiologischer Abschilferung dieser Zellen in das Darmlumen via Faeces ausgeschieden wird, kann das Eisen der basolateralen Zellmembran an Ferroportin gebunden in den Extrazellulärraum transportiert werden [9][25][50][40]. Heparin hemmt Ferroportin

Einleitung

und vermag somit über eine Reduktion der enteralen Eisenaufnahme frühzeitig in die Eisenhomöostase einzugreifen [43][10]. Das Hormon Hepcidin, welches hauptsächlich in der Leber synthetisiert wird, nimmt daher eine Kernrolle im Eisenstoffwechsel ein [43][10].

Einerseits wird bei aufgefüllten Eisenspeichern Hepcidin physiologisch hochreguliert, um einer dem Organismus schädigenden Eisenüberladung entgegenzuwirken. Andererseits wird die Hepcidinexpression durch das Hormon Erythroferron gehemmt, sobald ein Eisenmangel vorliegt oder die Erythropoese durch das Hormon Erythropoetin (bspw. aufgrund eines Blutverlustes) gesteigert wird [43]. Eine effektive Erythrozytenproduktion hängt enorm von einer adäquaten Eisenverfügbarkeit ab, weshalb die Erythropoese eine entscheidende Rolle in der Regulation der Eisenhomöostase spielt [43]. Laut Pasricha et al. induziert eine gesteigerte Erythropoese indirekt über Erythroferron eine Suppression von Hepcidin um ausreichend Eisen zur Verfügung zu stellen. Konsekutiv ist davon auszugehen, dass umgekehrt eine eingeschränkte Erythropoese (bspw. durch eine renale Anämie) zu einer vermehrten Expression von Hepcidin führt.

Bei einer CKD kann neben einer insuffizienten renalen Ausscheidung weiterhin die häufig zu beobachtende chronische Mikroinflammation ursächlich für den Anstieg von Hepcidin sein. Das Hormon zählt – wie etwa auch das Eisenspeicherhormon Ferritin – zu den Akute-Phase-Proteinen, welche bei Inflammationsreaktionen reaktiv ansteigen [61]. Eine physiologische Inflammationskaskade bedingt eine direkte Hochregulation von Hepcidin über eine Aktivierung von Interleukin-6 und -22, welche über den STAT3-Signalweg ihre Wirkung entfalten [55][39].

Das Transmembranprotein Ferroportin wird nicht nur auf den Oberflächen der Zellmembranen von Enterozyten sondern auch auf den Oberflächen von Hepatozyten und Makrophagen exprimiert. Als Konsequenz ist bei einer Erhöhung des Plasmahepcidins der Transport des in Makrophagen gespeicherten Eisens in den Extrazellulärraum nicht mehr gewährleistet. Durch die entstehende Eisenakkumulation im Makrophagen kann es insbesondere bei physiologischen Inflammationskaskaden zur Entstehung freier Sauerstoffradikale und somit zu oxidativem Stress kommen, welcher neben der Anämie einen weiteren nicht-klassischen Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse darstellt [61][16][53][38]. Hepcidin reguliert somit einerseits die intestinale Eisenabsorption und andererseits den Recyclingprozess von Eisen durch Makrophagen [43].

Fasst man die unterschiedlichen zuvor beschriebenen Einflussfaktoren von Hepcidin zusammen, lässt sich erschließen, dass das Hormon insbesondere bei Patienten mit chronischer Inflammation ein Prognosemarker für kardiovaskuläre Ereignisse sein könnte [61]. Vor diesem Hintergrund konnte bisher in epidemiologischen Studien noch nicht zusammenfassend dokumentiert werden, was als Hauptursache der erhöhten Hepcidin Konzentration bei chronisch nierenkranken Patienten zu evaluieren gilt: Einerseits ist die Hochregulation des Hormons als Resultat einer Akute-Phase-Reaktion im Rahmen einer chronischen Mikroinflammation zu werten [61], andererseits spielt die

eingeschränkte Nierenfunktion und die damit einhergehenden verminderte renale Ausscheidung von Hepcidin eine zentrale Rolle [58].

3.4 Fragestellung der Promotionsarbeit

Vor diesem Hintergrund soll im Rahmen der vorliegenden Promotionsarbeit der Hypothese nachgegangen werden, dass Hepcidin einen bedeutsamen Prognosemarker für die erhöhte kardiovaskuläre Morbidität sowie Mortalität bei chronisch nierenkranken Patienten darstellt.

Wir postulieren, dass:

- das Ausmaß der CKD mit einer fortgeschrittenen chronischen Inflammation und einer höheren Hepcidin Plasmakonzentration assoziiert ist;
- eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration mit einer manifesten Eisenmangelanämie assoziiert ist;
- Hepcidin ein Prädiktor für kardiovaskuläre atherosklerotische Ereignisse während der Nachbeobachtungszeit ist.

Diese Hypothesen sollen in der fortlaufenden CARE FOR HOME - Studie (*Cardiovascular and renal outcome in CKD 2 - 4 patients – The fourth Homburger evaluation*) beantwortet werden. Hierzu wurden aus bei Studieneinschluss asservierten Proben von 558 Patienten, Plasmahepcidin und konventionelle Parameter des Eisenstoffwechsels analysiert. Weiterhin wurde bei diesem Patientenkollektiv prospektiv das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse, unterteilt in kardiale Dekompensation und atherosklerotischen kardiovaskulären Ereignissen sowie Tod beobachtet.

4 Material und Methoden

4.1 Patientenrekrutierung

Über einen Zeitraum von September 2008 bis September 2018 wurden in die prospektive CARE FOR HOME - Studie 599 Patienten mit einer CKD in den Stadien G 2 – G 4 eingeschlossen. Die Patientenrekrutierung fand im Universitätsklinikum des Saarlandes in der nephrologischen Ambulanz der Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten statt.

Die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes prüfte und genehmigte das zugrundeliegende Untersuchungsprotokoll.

Potentielle Studienteilnehmer wurden einerseits durch die Ambulanzärzte der nephrologischen Ambulanz, andererseits durch die Verfasserin der Dissertationsarbeit mithilfe des SAP Computersystems identifiziert. Alle Patienten wurden in einem persönlichen Gespräch über den Untersuchungsablauf sowie die Ziele der CARE FOR HOME Studie aufgeklärt. Im Falle einer Zustimmung zur Studienteilnahme unterschrieb jeder Studienteilnehmer ein Einverständnisschreiben (*siehe Anhang*).

Von den insgesamt 599 Studienteilnehmer rekrutierte die Verfasserin der vorliegenden Dissertationsarbeit im Zeitraum von September 2017 bis September 2018 24 Patienten eigenständig. Der Studieneinschluss der übrigen 575 Patienten und die Erhebung der Follow-Up Daten erfolgte durch weitere Mitglieder der Arbeitsgemeinschaft.

4.1.1 Einschlusskriterien

In CARE FOR HOME eingeschlossen wurden Patienten mit einer CKD im Stadium G2 – G4, welche entweder eine eGFR $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (Stadium G 3 a – G 4) aufwiesen oder bei einer eGFR von $60 - 89 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ eines der folgenden Kriterien erfüllten:

- Proteinurie $> 300 \text{ mg/g}$ Kreatinin,
- Persistierende Albuminurie $> 17/25 \text{ mg/g}$ Kreatinin (Männer / Frauen),
- Glomeruläre Hämaturie,
- Erhöhtes Plasma Cystatin C ($> 1,05 \text{ mg/l}$),
- Erhöhtes Plasma Kreatinin $> 1,2 / 0,9 \text{ mg/l}$ (Männer / Frauen),
- Bioptisch gesicherte Nierenerkrankung und / oder Tubulopathie sowie
- Hereditäre Nierenerkrankung.

4.1.2 Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterien waren vordefiniert:

- eine CKD in den KDIGO Stadien G1 und G5 (eGFR > 90 ml/min/1,73 m² bzw. eGFR < 15 ml/min/1,73m²),
- die Einnahme von systemischen Immunsuppressiva innerhalb der letzten zehn Tage oder auch die Einnahme von Kortison innerhalb der letzten 21 Tage,
- eine gesicherte aktive onkologische oder hämatologische Systemerkrankung,
- eine HIV Infektion,
- ein klinisch apparter fieberhafter und / oder antibiotikapflichtiger Infekt innerhalb der letzten fünf Tage vor Studieneinschluss,
- eine klinisch inapparente Erhöhung des C-Reaktives Protein (CRP) > 50 mg/l sowie
- das Vorliegen einer akuten Nierenfunktionsverschlechterung (Innerhalb von vier Wochen vor Studieneinschluss ein Kreatininanstieg von > 50 %).

Bei den sonographischen Untersuchungen wurden bei Stenosen der Nierenarterien mit einer Flussbeschleunigung $V_{max} > 2,0$ m/s oder drittgradigem Harnstau die Widerstandsindices der betroffenen Niere, bei einer Flussbeschleunigung des Truncus coeliacus mit maximaler Geschwindigkeit $V_{max} > 2,0$ m/s und / oder einer Erweiterung der V. Portae > 15 mm die Widerstandsindices der Milz nicht verwertet.

4.2 Untersuchungsablauf

4.2.1 Blut- und Urinentnahme

Die Patienten erschienen vormittags, seit mindestens acht Stunden nüchtern, in der nephrologischen Ambulanz und wurden zunächst gebeten eine Spontanurinprobe (zumeist zweiter Morgenurin) abzugeben. Der Probe wurden neun Milliliter Urin entnommen, in Mikroreaktionsgefäße gefüllt und bei -80 °C für die Bestimmung von Biomarkern laborintern tiefgefroren. Der restliche Probenanteil wurde im Anschluss in das Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes zur Bestimmung von den in Tabelle 3 aufgeführten Parametern gesendet.

Probe	Bestimmte Parameter
Urin (Portion) (10-ml-Urin-Monovette)	Albumin; Chlorid; Eiweiß; Immunglobulin G; Kalium; Kalzium; Kreatinin; Mikroglobulin; Natrium; Phosphat; Sediment Status ; Transferrin

Tabelle 3: Urinproben und daraus bestimmte Parameter

Nach mindestens fünfminütiger Ruhephase im Sitzen wurde aus einer Armvene 54 ml venöses Vollblut entnommen. Im Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes erfolgte die Bestimmung der in Tabelle 4 aufgeführten Routinelaborparametern; weiterhin wurden Plasma- und Serumproben für die spätere Bestimmung von Biomarkern wie Hepsidin asserviert und bei -80° C gelagert.

Folgende Parameter wurden durch das Zentrallabor des Universitätsklinikum des Saarlandes (http://www.uniklinikum-saarland.de/einrichtungen/kliniken_institute/zentrallabor) standardisiert gemessen:

Blutprobe	Bestimmte Parameter
EDTA-Blut (2,7-ml-EDTA-Monovette)	Basophile Granulozyten; Eosinophile Granulozyten; Lymphozyten; Monozyten; Neutrophile Granulozyten
Plasma (4,7-ml-Lithium-Heparin-Monovette)	Albumin; ASAT; Cholesterin ; CRP; Eisen; Eiweiß; Ferritin; Glukose; Harnstoff; HDL-Cholesterin; Kalium; Kalzium; Kreatinin; LDL-Cholesterin; Natrium; Phosphat; Trigylzeride; Troponin T

Tabelle 4: Blutproben und daraus bestimmte Parameter

Um später die abgeschätzte glomeruläre Filtrationsrate („estimated glomerular filtration rate“, eGFR) zu berechnen wurde die korrigierte MDRD Formel nach Levey et al. genutzt [8]. So ermöglichte sich eine Quantifizierung der Nierenfunktion.

$$\text{GFR [ml/min/1,73m}^2\text{]} = 186 * (\text{Kreatinin [mg/dl]}^{-1,154} * \text{Alter [Jahre]}^{-0,203} * 0,742 \text{ [falls weiblicher Patient]} * 1,159 \text{ [falls Afroamerikaner]})$$

4.2.2 Erfassung kardiovaskulärer Komorbiditäten und der Medikation mittels standardisiertem Fragebogen

Ein standardisierter Fragebogen, welcher zu Beginn der Untersuchung in Kooperation zwischen Untersucher und Patient durchgeführt wurde, diente der Erfassung von kardiovaskulären Risikofaktoren und stattgehabten kardiovaskulären Ereignissen, sowie der aktuellen Medikation.

Dabei wurden als stattgehabte kardiovaskuläre Ereignisse definiert:

- eine koronararterielle Intervention (PTCA / Stent / Bypassoperation),
- ein Myokardinfarkt,
- eine peripher-arterielle Revaskularisation (PTA / Stent / Bypassoperation),
- eine nichttraumatische Amputation proximal des Fußgrundgelenkes,
- eine zerebrovaskuläre Revaskularisation (Carotis-Thrombendarterektomie / -stent) und
- ein Apoplex mit klinischen Symptomen, die mind. 24 Stunden persistierten.

Mittels Studiums von Arztbriefen aus der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin IV des Universitätsklinikums des Saarlandes wurden die Angaben des Patienten überprüft. Im Falle von Diskrepanzen wurden durch persönliche Anforderung von notwendigen Originaldokumenten aus externen Krankenhäusern oder Arztpraxen die angegebenen Patientendaten erneut validiert.

Zudem wurde die familiäre Belastung für vorzeitige kardiovaskuläre Ereignisse, der Nikotinkonsum, ein prävalenter Diabetes Mellitus, sowie körperliche (In-) Aktivität und Alkoholkonsum erfasst.

Als positive Familienanamnese wurde definiert, wenn ein Apoplex oder Myokardinfarkt bei Verwandten 1. Grades (Eltern bzw. Geschwister) vor dem 60. Lebensjahr aufgetreten ist. Als Raucher wurden Teilnehmer kategorisiert, wenn sie innerhalb der vergangenen 28 Tage mindestens eine Zigarette konsumierten. Weiterhin wurde die Zeitspanne des aktiven Rauchens, dem Zeitpunkt der letzten gerauchten Zigarette sowie der durchschnittlich gerauchten Päckchenanzahl pro Tag über die Dauer der insgesamt gerauchten Jahre erfragt.

Als Diabetiker wurden Studienteilnehmer im Falle eines Nüchtern-Blutzucker > 126 mg/dl, eines ärztlich diagnostizierten Diabetes mellitus und / oder einer bestehenden antidiabetischen Medikation definiert.

Zur Quantifizierung der körperlichen Aktivität wurde die Anzahl der Wochentage erfragt, an denen sich der Patient aktiv für mindestens 30 min in einer Intensität bewegt, welche in Schwitzen mündete. Im Gegensatz dazu wurde die körperliche Inaktivität durch die durchschnittlichen täglichen Fernsehstunden eingeschätzt.

Abschließend wurde mit dem Alkoholkonsum als durchschnittlicher täglicher Konsum von Rotwein, Weißwein, Bier und Spirituosen quantifiziert. Dabei wurde ein Glas Wein als 120 ml, ein Glas Bier als 350 ml sowie ein Glas Spirituosen als 45 ml definiert.

Bei der Anamneseerhebung wurde weiterhin das Vorhandensein von chronischen Darm- oder Lebererkrankung, einer akuten Infektionskrankheit in den letzten fünf Tagen vor Studieneinschluss sowie die aktuelle Medikation erfasst.

4.2.3 Anthropometrische Daten

Neben der Messung des Körpergewichtes auf einer geeichten digitalen Waage erfolgte die Bestimmung der Körpergröße. Hierzu wurde der Patient im aufrechten Stand barfüßig an einer Messlatte gemessen. Aus den beiden genannten Komponenten lässt sich der Body Mass Index (BMI) wie folgt berechnen:

$$\text{Body Mass Index} = \text{Körpergewicht [kg]} / (\text{Körpergröße [m]})^2$$

Weiterhin wurde mit einem flexiblen Maßband der Hüftumfang auf Höhe des Trochanter Major sowie der Taillenumfang in Expirationsstellung am Unterrand der zwölften Rippe gemessen. Hieraus wurde der Hüft-Taillen-Quotient (Waist-to-Hip-Ratio) quantifiziert:

$$\text{Hüft-Taillen-Quotient} = \text{Hüftumfang [cm]} / \text{Taillenumfang [cm]}$$

4.2.4 Blutdruckmessung

Mithilfe des automatischen Blutdruckmessgerätes (siehe Materialien) wurde nach je fünfminütiger Ruheperiode im Sitzen eine nicht invasive Blutdruckmessung durchgeführt (jeweils zweimalig mit einminütiger Pause / Latenz an beiden Armen). Anschließend wechselte der Patient die Körperlage, sodass die orthostatische Reaktion des Körpers im Stehen mithilfe einer Blutdruckmessung nach einer und nach fünf Minuten kontrolliert werden konnte. Die Untersuchung im Stehen wurde dabei jeweils nur am rechten Arm durchgeführt.

4.2.5 Elektrokardiogramm

Zur weiteren Abschätzung des kardiovaskulären Risikoprofils wurde ein Ruhe-Elektrokardiogramm (EKG) aufgezeichnet.

4.2.6 Knöchel-Arm-Index

Die Erfassung der systolischen Perfusionsdrücke von Aa.brachiales, Aa.tibiales posterior und Aa. dorsalis pedis erfolgte nach fünfminütiger Rückenlage des Probanden mithilfe einer Blutdruckmanschette und einer Dopplersonde (siehe Materialien).

Ein Knöchel-Arm-Index (*Ankle Brachial Index; ABI*) zwischen 0,9 - 1,2 gilt als Normwert, Werte < 0,9 weisen auf eine periphere arterielle Verschlusskrankheit und Werte > 1,2 auf eine Mönckeberg-Sklerose hin.

4.2.7 Sonographische Untersuchung

In der B-Bild Sonographie wurden zunächst Nierengröße, -breite und -tiefe gemessen; duplexsonographisch wurden in beiden Nieren jeweils drei Widerstandindices (*Resistive Indices; RI und Pulsatility Indices; PI*) erfasst. Hierzu wurden je eine Segmentarterie am Oberpol, interpolar und Unterpol beim Übertritt vom Nierenbecken in das Parenchym ausgewählt / gemessen.

In der Milz wurden ebenfalls drei Widerstandsindices bestimmt.

Im Anschluss erfolgte die Darstellung der Flussgeschwindigkeiten der Aa. renalis in Seitenlage des Patienten sowie des Truncus coeliacus in Patiententrückenlage. In dieser Position wurde zusätzlich der Diameter der V. cava inferior in Expirations- und Inspirationslage sowie andererseits der Diameter der V. Portae am Hilus des Leberparenchyms gemessen.

Anschließend wurde sonographisch die Intima Media Dicke sowie der Gefäßdurchmesser der Aa. carotis communis in Bulbusnähe dargestellt.

4.3 Nachkontrollen

Bei allen CARE FOR HOME Teilnehmern erfolgen jährliche Nachkontrollen in den ersten fünf Jahren nach Studieneinschluss. Die folgenden Untersuchungen beinhalten:

- Standardisierte Entnahme von 54 ml venösen Vollblut,
- Erfassung des aktuellen Körpergewichtes,
- Erhebung eines standardisierten Fragebogens im Interviewstil mit Erfassung von kardiovaskulären und renalen Ereignissen seit Studieneinschluss (*siehe Anhang*),
- Nicht-invasive Blutdruckmessung und
- Aufzeichnung eines Elektrokardiogramms.

Konnte der vereinbarte Termin nicht wahrgenommen werden, so erfolgte eine telefonische Kontaktaufnahme mit dem Studienteilnehmer. Weiterhin wurde durch den Hausarzt aktuelle Laborwerte und etwaige Arztbriefe angefordert.

Im Anschluss an den fünfjährigen Nachbeobachtungszeitraum wurden in der Zeitspanne von jeweils zwei Jahren Telefoninterviews mit den Studienteilnehmern arrangiert, in welchem kardiovaskuläre sowie renale Ereignisse erfragt wurden.

4.4 Studienendpunkte

Es existieren drei Studienendpunkte:

- Atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse inklusive Tod jedweder Genese (CVE_D) als primärer Endpunkt
- Atherosklerotische kardiovaskuläre Todesereignisse (CVE_DC) als sekundärer Endpunkt
- Halbierung der eGFR, Eintreten einer Dialysepflichtigkeit, Tod jedweder Genese (3D) als sekundärer renaler Endpunkt

4.5 Verwendete Materialien

Im Folgenden sind alle während der Datenerhebung verwendeten technischen Hilfsmittel tabellarisch aufgeführt.

Gerät	Eigenname	Hersteller	Standort des Herstellers
Automatische Blutdruckmessung	GE DINAMAP PROCARE Auscultatory 100	Soma Technology, Inc.	Bloomfield (CT), USA
Elisa Probenverwertung	SUNRISE-BASIC-TECAN	Tecan Austria GmbH	Grödig, Österreich
Sono Abdomen	Esaote Mylab 70	Esaotea Biomedica Deutschland GMBH	Genua, Italien
Sono ABI-Messung	ELCAT handydop	ELCAT GmbH	Wolfratshausen, Deutschland

Tabelle 5: Verwendete technische Geräte

4.6 Dokumentation und Statistik

Mittels Microsoft Excel (*Microsoft, Seattle, Washington, USA*) konnten die dokumentierten Messdaten verwaltet werden. Unter der Hilfenahme der Statistik Software SPSS (*Statistical Product and Service Solutions; Version 17.0 Chicago, Illinois, USA*) erfolgte die statistische Auswertung der erhobenen Daten. Bei Normalverteilung der kontinuierlichen Variablen konnten Mittelwerte \pm Standardabweichung genutzt werden, während bei Abweichung von der Normalverteilung der Median [25. + 75. Perzentile] zur Anwendung kam. Während diese kontinuierliche Variablen mittels T-Test (zwei Gruppen) oder ANOVA mit gewichtetem linearem Term ($>$ zwei Gruppen) verglichen werden konnten, wurde für den Vergleich der absoluten Werte der kategorialen Variablen der Chi-Quadrat-Test (χ^2 - Test) herangezogen.

Korrelierten zwei kontinuierliche Variablen miteinander, so wurden die Korrelationskoeffizienten nach Kendall-Tau analysiert.

Kaplan-Meier-Analysen stellen das Mittel der Wahl für Überlebensanalysen dar und wurden anschließend mit dem Breslow Test untersucht. Nach Korrektur der Nierenfunktion, sowie weiterer kardiovaskulärer Risikofaktoren konnten zusätzlich uni- und multivariate Cox-Regressionsanalysen durchgeführt werden. Vordefiniert wurden verschiedenste Adjustierungen, welche im Folgenden in vier Modellen aufgeführt werden. Modell a) stellt eine Adjustierung für die eGFR, sowie die log-transformierte Albuminurie dar. Während Diabetes mellitus, Alter, Geschlecht und prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen in Modell b) zusammenfassend adjustiert wurden, (KDIGO 2012 [35]) gab es für den BMI (Modell c) und das log-transformierte NT-pro-BNP (Modell d) eigene Modelle. Als statistische signifikant wird $p \leq 0,05$ bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% definiert.

5 Ergebnisse

5.1 Baselinecharakteristika

Die Baselinecharakteristika sind zur differenzierten Auswertung einerseits nach Hepcidin Tertilen (vgl. *Tabelle 6*; n = 558) und andererseits nach der eGFR (vgl. *Tabelle 7*; n = 575) stratifiziert. In Bezug auf die gesamte Studienkohorte (vgl. *Tabelle 7*; n = 575) konnten 240 Frauen in die Studie eingeschlossen werden, was einem Prozentsatz von 41,7 % entspricht. Das mittlere Alter der Teilnehmer beträgt 66 ± 12 Jahre, 10 % sind aktive Raucher, 39 % leiden an einem Diabetes mellitus und bei 32 % der Patienten konnte ein bereits stattgehabtes kardiovaskuläres Ereignis dokumentiert werden. Weiterhin weisen 19 % der Patienten eine familiäre Belastung mit vorzeitigen kardiovaskulären Ereignissen auf. Während insgesamt 22 Patienten oral Eisenpräparate substituieren, werden 14 Teilnehmer mit EPO therapiert, die mittlere Ferritinkonzentration betrug 148 (86 ; 268) ng/ml. Das mittlere Serumkreatinin lag bei $1,6 \pm 0,6$ mg/dl, das mittlere Cystatin-C bei $1,7 \pm 0,6$ mg/l. Nach Stratifizierung in die leitliniengerechten eGFR – Kategorien lässt sich der geringste Patientenanteil der Kategorie G 4 (104 Patienten) und der größte Anteil der Kategorie G 3 (G 3a 193 Patienten; G 3b 162 Patienten) zuordnen.

Wir konnten beobachten, dass Patienten im fortgeschrittenen Stadium der Niereninsuffizienz grundsätzlich häufiger EPO substituiert wird. Neben den Entzündungsparametern (Leukozytenzahl und CRP) steigt auch die Hepcidin Plasmakonzentration mit Progredienz der Erkrankung an. Weiterhin lassen sich eine Reduktion des Körpergewichtes sowie der Körpergröße und ein fallender Hämoglobinwert in höheren CKD Stadien nachweisen.

Die mittels ELISA bestimmte Hepcidin Plasmakonzentration wird in *Tabelle 6* ebenfalls als Baselinecharakteristika dargestellt. Die gesamten Kohorte (n = 558) wurde zur besseren Beurteilung in drei gleich große Tertile zu je 186 Patienten stratifiziert. Während im 1. Tertil die geschlechtliche Verteilung nahezu ausgeglichen scheint (50,5 % Männer und 49,5 % Frauen), steigt der Anteil der Männer im 3. Tertil auf 71,5 % an. Weiterhin konnte mit steigender Hepcidin Plasmakonzentration im Vergleich vom 1. zum 3. Tertil einerseits eine sinkende Prävalenz der kardiovaskulären Ereignisse um 8,1 % beobachtet werden und andererseits eine um 1,6 % geringere Komorbidität mit Diabetes mellitus festgestellt werden. Allerdings wird neben Eisenpräparaten auch EPO bei höherer Hepcidin Konzentration häufiger substituiert (im 3. Tertil erhalten 2,7 % mehr Patienten Eisenpräparate und 2,6 % mehr EPO). Das Verteilungsschema von HDL - zu LDL - Konzentration wird mit steigendem Tertil zu Gunsten des LDL verschoben. Neben der Ferritin - und Kreatininkonzentration steigt auch das C - reaktive Protein bei höherer Hepcidin Plasmakonzentration an.

Ergebnisse

	Gesamt (n = 558)	Hepcidin 1. Tertil (n = 186)	Hepcidin 2. Tertil (n = 186)	Hepcidin 3. Tertil (n = 186)	p
Geschlecht (weiblich)	232 (41,6 %)	92 (49,5 %)	87 (46,8 %)	53 (28,5 %)	< 0,001
CVE (ja)	180 (32,3 %)	66 (35,5 %)	63 (33,9 %)	51 (27,4 %)	0,212
Diabetes mellitus (ja)	218 (39,1 %)	75 (40,3 %)	71 (38,2 %)	72 (38,7 %)	0,907
Raucher (ja)	58 (10,4 %)	24 (12,9 %)	16 (8,6 %)	18 (9,7 %)	0,368
Fam. CVE (ja)	108 (19,4 %)	28 (15,1 %)	45 (24,2%)	35 (18,8%)	0,081
Orale Eisenaufnahme (ja)	22 (3,9 %)	7 (3,8 %)	3 (1,6 %)	12 (6,5 %)	0,056
EPO (ja)	14 (2,5 %)	4 (2,2 %)	1 (0,5 %)	9 (4,8 %)	0,028
Alter (Jahre)	65 ± 11,4	65 ± 13,3	65 ± 11,8	65 ± 11,4	0,644
BMI (kg/m ²)	30 ± 5,5	30 ± 5,2	31 ± 5,9	30 ± 5,3	0,437
Herzfrequenz (bpm)	66 ± 12	67 ± 11	65 ± 12	67 ± 12	0,746
RR systolisch (mmHg)	152 ± 23	151 ± 25	153 ± 23	152 ± 23	0,783
RR diastolisch (mmHg)	85 ± 13	85 ± 13	85 ± 13	86 ± 13	0,776
eGFR (ml/min/1,73m ²)	46 ± 16	48 ± 15	49 ± 15	41 ± 16	< 0,001
Vitamin D (ng/ml)	23 ± 14	23 ± 14	23 ± 13	25 ± 15	0,205
Apolipoprotein A (mg/dl)	166 ± 32	169 ± 33	165 ± 31	163 ± 32	0,078

Ergebnisse

Apolipoprotein B (mg/dl)	99 ± 26	96 ± 24	101 ± 28	99 ± 27	0,174
Phosphat (Serum) (mg/dl)	3,4 ± 0,7	3,4 ± 0,6	3,3 ± 0,6	3,5 ± 0,8	0,146
FePi (%)	0,25 ± 0,12	0,23 ± 0,11	0,23 ± 0,12	0,27 ± 0,13	0,001
Calcium (Plasma) (mmol/l)	2,38 ± 0,12	2,36 ± 0,11	2,38 ± 0,11	2,39 ± 0,14	0,019
Cholesterin (mg/dl)	190 ± 44	187 ± 39	195 ± 47	189 ± 44	0,628
HDL (mg/dl)	52 ± 17	54 ± 18	51 ± 17	50 ± 16	0,022
LDL (mg/dl)	114 ± 37	110 ± 36	115 ± 36	115 ± 37	0,182
Glukose (mg/dl)	119 ± 33	120 ± 35	116 ± 27	121 ± 36	0,864
Parathormon (pg/ml)	69 ± 53	66 ± 53	64 ± 44	77 ± 61	0,030
Hämoglobin (g/dl)	14 ± 2	14 ± 2	14 ± 1,5	13 ± 2	0,443
Ferritin (ng/ml)	138 (82; 254)	74 (37; 118)	154 (106; 239)	295 (184; 426)	< 0,001
CRP (mg/l)	1,6 (0,7; 4,5)	2,3 (1,0; 4,4)	2,6 (1,1; 5,3)	3,2 (1,5; 6,4)	0,005
Triglyceride (mg/dl)	128 (97; 158)	134 (92; 177)	141 (99; 205)	136 (99; 203)	0,326
Albuminurie (g/mg Kreatinin)	0,03 (0,02; 0,29)	0,03 (0,01; 0,19)	0,02 (0,01; 0,13)	0,05 (0,01; 0,30)	0,582

Tabelle 6: Baselinecharakteristika stratifiziert nach Hepcidin Tertilen

1.Tertil (0,56 - 26,73 ng/ml);

2.Tertil (26,84 – 58,70 ng/ml);

3. Tertil (59,08 – 332,19 ng/ml);

Dargestellt sind die Daten als Mittelwerte ± Standardabweichung; Anzahl (Prozent) oder Median (Interquartilrange) mittels Test mit linearem Trend ermittelt. Das Signifikanzniveau (p-Werte) wurden bei kategorischen Variablen mittels des Chi-Quadrat-Test, ansonsten mittels Test mit linearem Trend ermittelt.

Ergebnisse

	Gesamt (n = 575)	CKD G 2 (n = 116)	CKD G 3a (n = 193)	CKD G 3b (n = 162)	CKD G 4 (n = 104)	p
Geschlecht (weiblich)	240 (41,7 %)	40 (34,5 %)	86 (44,6 %)	70 (43,2 %)	44 (42,3 %)	0,347
CVE (ja)	185 (32,2 %)	18 (15,5 %)	62 (32,1 %)	70 (43,2 %)	35 (33,7 %)	< 0,001
Diabetes mellitus (ja)	224 (39,0 %)	40 (34,5 %)	75 (38,9 %)	63 (38,9 %)	46 (44,2 %)	0,533
Raucher (ja)	59 (10,3 %)	20 (17,2 %)	17 (8,8 %)	14 (8,6 %)	8 (7,7 %)	0,051
Fam. CVE (ja)	111 (19,3 %)	23 (19,8 %)	41 (21,2 %)	34 (21,0 %)	13 (12,5 %)	0,276
Orale Eisenaufnahme (ja)	22 (3,8 %)	2 (1,7 %)	6 (3,1 %)	6 (3,7 %)	8 (7,7 %)	0,117
EPO (ja)	14 (2,4 %)	0 (0,0 %)	1 (0,5 %)	6 (3,7 %)	7 (6,7 %)	0,002
Alter (Jahre)	66 ± 12	59 ± 12	65 ± 12	69 ± 11	68 ± 11	< 0,001
BMI (kg/m ²)	30 ± 5	30 ± 5	31 ± 6	31 ± 6	30 ± 5	0,199
Herzfrequenz (bpm)	66 ± 12	68 ± 12	66 ± 12	64 ± 10	67 ± 13	0,204
RR systolisch (mmHg)	152 ± 24	149 ± 21	156 ± 24	149 ± 23	155 ± 27	0,522
RR diastolisch (mmHg)	85 ± 13	88 ± 13	89 ± 13	81 ± 13	84 ± 12	< 0,001
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	46 ± 16	69 ± 7	52 ± 4	38 ± 4	23 ± 4	< 0,001
Vitamin D (ng/ml)	23,4 ± 13,7	23,7 ± 12,5	22,6 ± 13,5	24,1 ± 14,5	23,3 ± 14,3	0,850
Apolipoprotein A (mg/dl)	166 ± 32	166 ± 31	168 ± 31	165 ± 31	163 ± 35	0,337
Apolipoprotein B (mg/dl)	98 ± 26	99 ± 24	101 ± 27	96 ± 26	97 ± 27	0,315

Ergebnisse

Phosphat (Serum) (mg/dl)	3,4 ± 0,7	3,0 ± 0,5	3,3 ± 0,5	3,4 ± 0,8	3,8 ± 0,7	< 0,001
FePi (%)	0,35 ± 0,12	0,17 ± 0,08	0,20 ± 0,08	0,27 ± 0,10	0,38 ± 0,13	< 0,001
Calcium (Plasma) (mmol/l)	2,37 ± 0,12	2,37 ± 0,10	2,38 ± 0,11	2,38 ± 0,13	2,35 ± 0,16	0,208
Cholesterin (mg/dl)	190 ± 44	195 ± 39	192 ± 43	184 ± 45	188 ± 47	0,088
HDL (mg/dl)	52 ± 17	53 ± 16	53 ± 17	51 ± 16	50 ± 17	0,109
LDL (mg/dl)	113 ± 37	118 ± 35	114 ± 37	109 ± 37	112 ± 39	0,103
Glukose (mg/dl)	119 ± 33	116 ± 32	119 ± 30	123 ± 38	114 ± 31	0,974
Parathormon (pg/ml)	69 ± 53	45 ± 19	49 ± 24	76 ± 46	123 ± 82	< 0,001
Hämoglobin (g/dl)	13 ± 2	14 ± 1	14 ± 1	13 ± 2	12 ± 2	< 0,001
Ferritin (ng/ml)	148 (86; 268)	189 (104; 326)	148 (82; 256)	135 (87; 237)	142 (77; 309)	0,749
CRP (mg/l)	1,6 (0,7; 4,5)	2,4 (1,2; 4,2)	2,5 (1,1; 4,9)	2,9 (1,2; 6,8)	3,2 (1,1; 6,1)	< 0,001
Triglyceride (mg/dl)	128 (97; 158)	128 (89; 190)	135 (93; 193)	134 (106; 185)	146 (104; 200)	0,305
Albuminurie (g/mg Kreatinin)	0,03 (0,02; 0,29)	0,22 (0,01; 0,10)	0,02 (0,01; 0,10)	0,04 (0,01; 0,15)	0,18 (0,04; 0,69)	< 0,001
Hepcidin (µg/ml)	42,8 (24,6; 68,4)	39,6 (24,7; 60,2)	36,7 (23,7; 62,2)	42,0 (22,7; 70,0)	61,6 (28,0; 110,3)	< 0,001

Tabelle 7: Baselinecharakteristika stratifiziert nach KDIGO – Stadien

CKD Kategorien:

G 2 ≤ 60 ml/min/1,73 m²;

G 3a 59 - 45 ml/min/1,73 m²;

G 3b 44 - 30 ml/min/1,73 m²;

G 4 29 -15 ml/min/1,73 m²

Dargestellt sind die Daten als Mittelwerte ± Standardabweichung; Anzahl (Prozent) oder Median (Interquartilrange) mittels Test mit linearem Trend ermittelt. Das Signifikanzniveau (p-Werte) wurden bei kategorischen Variablen mittels des Chi-Quadrat-Test, ansonsten mittels Test mit linearem Trend ermittelt.

5.2 Hepcidin

Zwischen 2008 und 2018 konnten bei 558 Patienten der CARE FOR HOME Studie Hepcidin Plasmakonzentrationen mittels Elisa bestimmt und drei gleich großen Tertilen zugeordnet werden.

5.2.1 Hepcidin und Eisenparameter

Mithilfe der Darstellung im Streudiagramm lässt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer steigenden Hepcidin Plasmakonzentration zu einer steigenden Ferritin Plasmakonzentration nachweisen ($p < 0,001$). Sowohl die orale Eisenaufnahme als auch die Hämoglobin Konzentration weisen keine signifikante Korrelation zu einer steigenden Hepcidin Konzentration auf ($p > 0,005$).

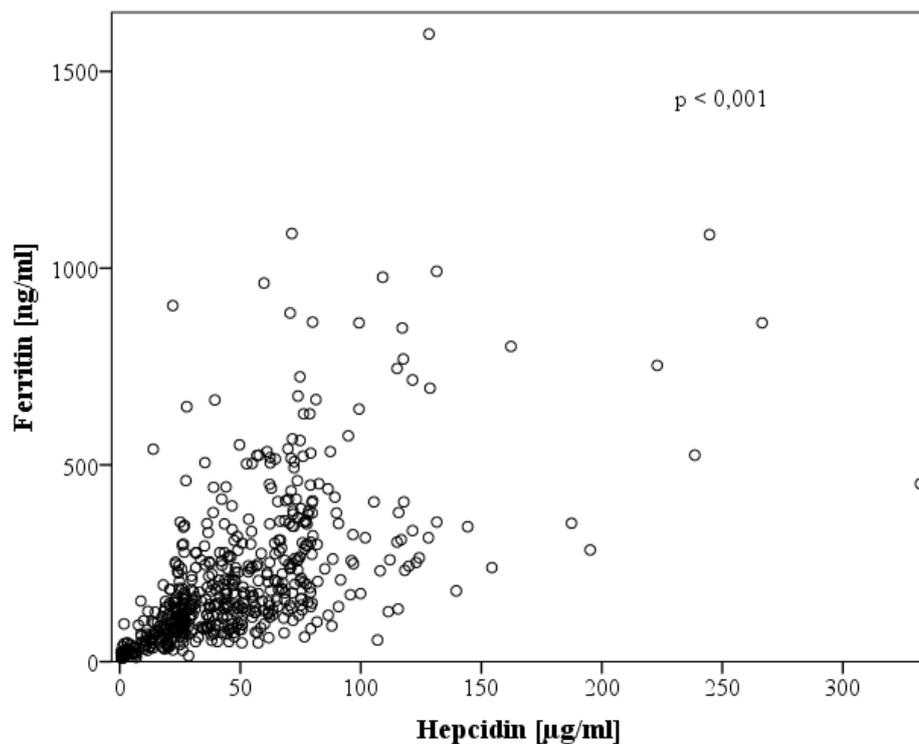


Abbildung 1: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zu Ferritin Plasmakonzentration

Ergebnisse

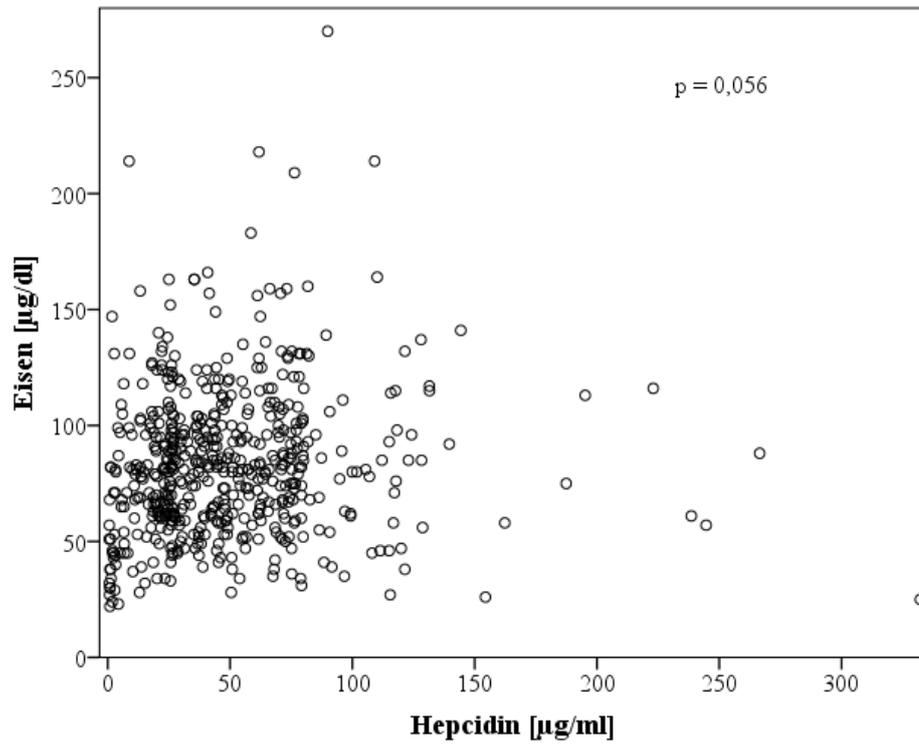


Abbildung 2: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur Eisen Plasmakonzentration

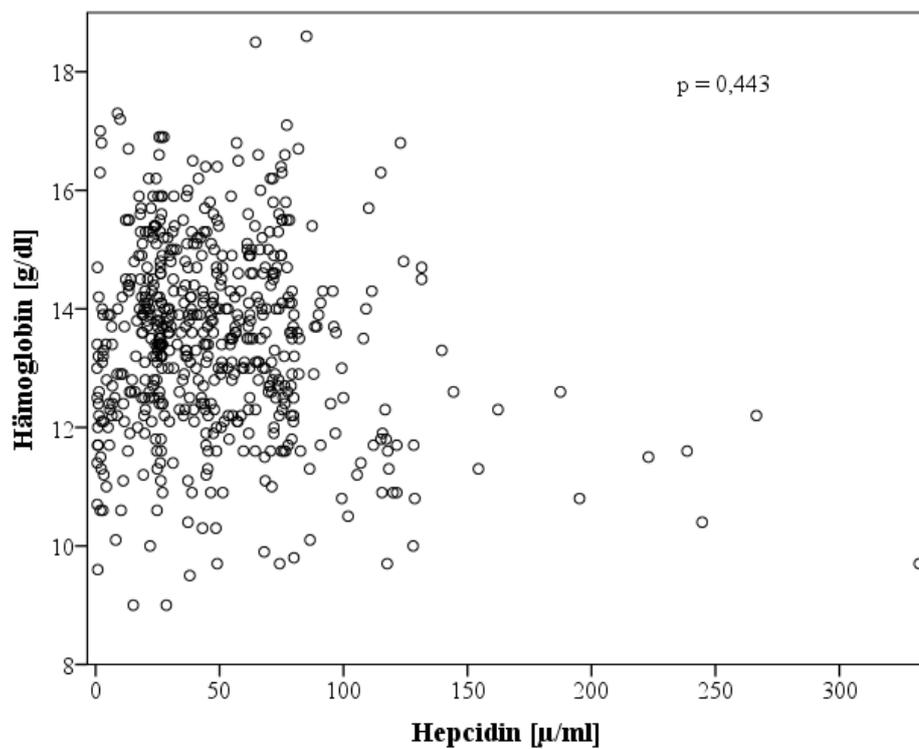


Abbildung 3: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zu Hämoglobin Plasmakonzentration

5.2.2 Hepcidin und Parameter der Nierenfunktion

In den folgenden Streudiagrammen sind drei verschiedene Parameter zur Einschätzung der Nierenfunktion dargestellt. Entsprechend unserer Erwartungen weisen sowohl die Cystatin - C als auch die Kreatinin Serumkonzentration einen signifikanten Zusammenhang zu einer steigenden Hepcidin Plasmakonzentration auf ($p < 0,001$). Eine Albuminurie lässt sich hingegen nicht in Korrelation zur Hepcidin Plasmakonzentration bringen ($p > 0,005$). Nur die Parameter Kreatinin und Cystatin - C sind somit signifikant prädiktiv für eine steigende Hepcidin Plasmakonzentration.

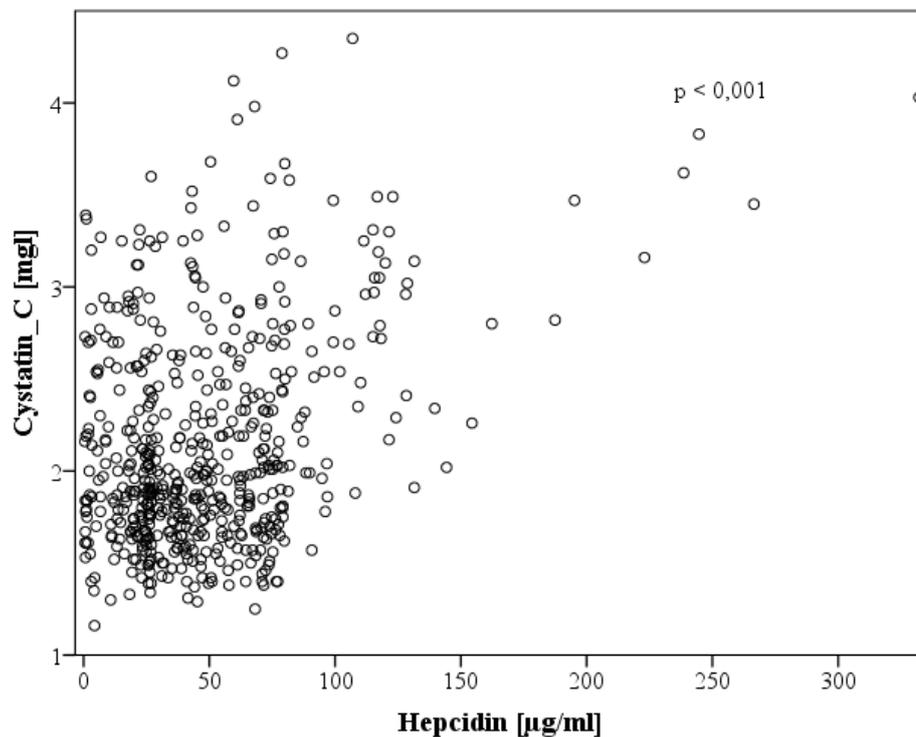


Abbildung 4: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur Cystatin - C Plasmakonzentration

Ergebnisse

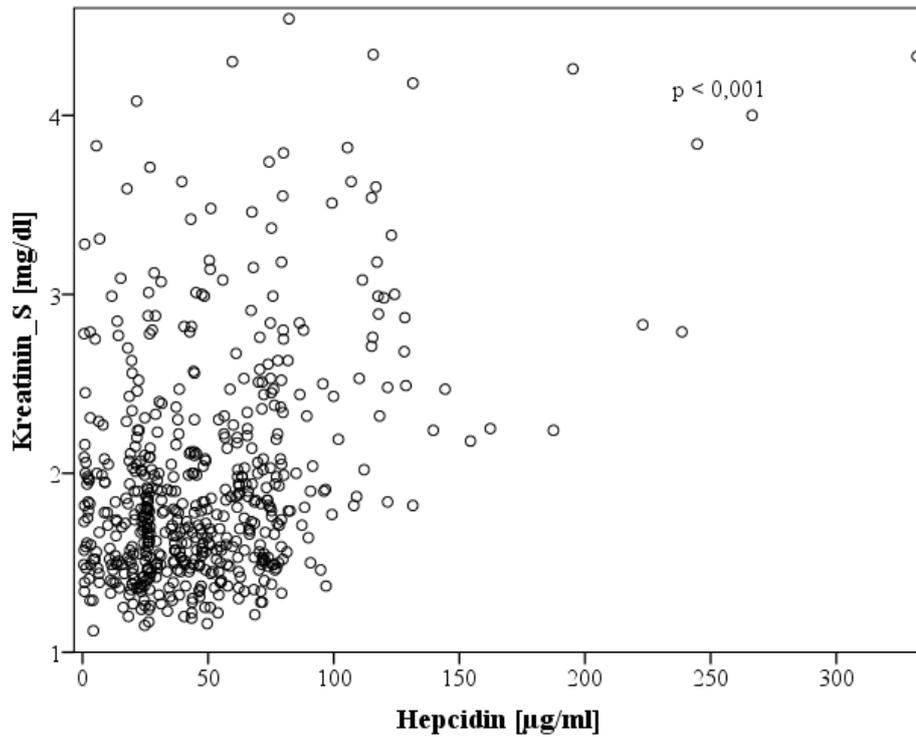


Abbildung 5: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur Kreatinin Plasmakonzentration

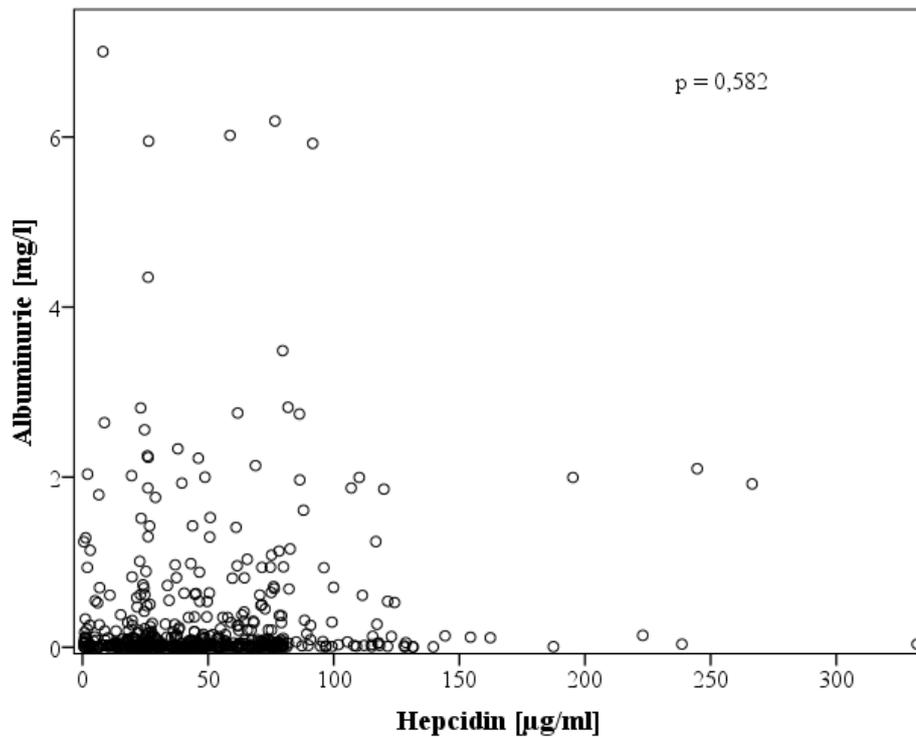


Abbildung 6: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur Albuminurie

5.2.3 Hecpidin und Entzündungsparameter

Zur Darstellung möglicher körperinterner Entzündungsreaktionen vergleichen wir im folgenden Streudiagramm die CRP Plasmakonzentration zu der Hecpidin Plasmakonzentration. Mit einer Signifikanz von $p = 0,005$ erwies sich der Parameter CRP nicht als positiver Prädiktor für eine steigenden Hecpidin Plasmakonzentration.

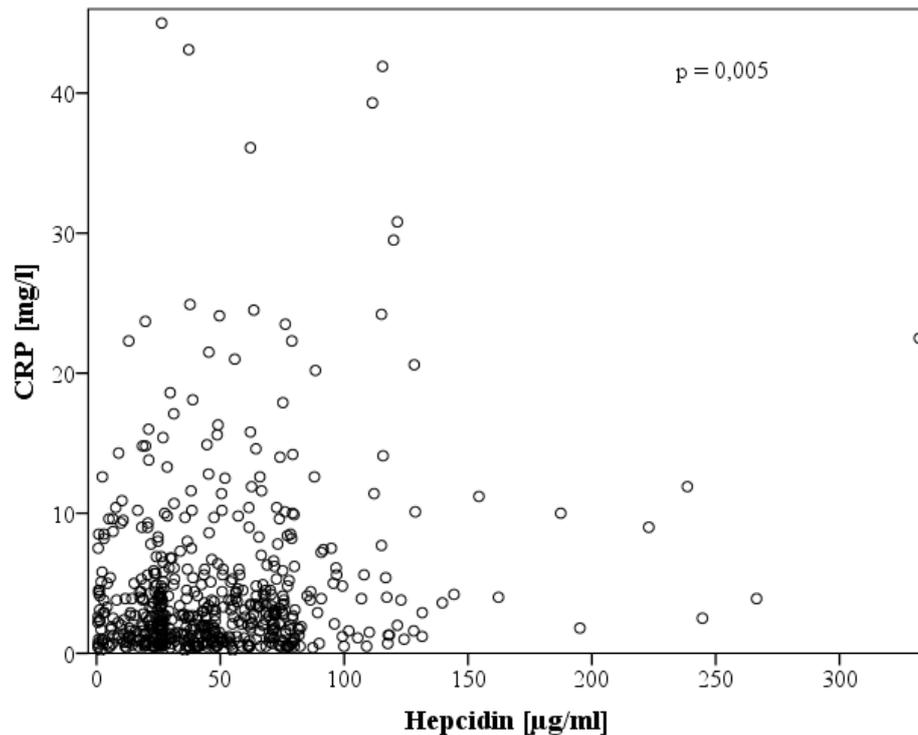


Abbildung 7: Korrelation der Hecpidin Plasmakonzentration zur CRP Plasmakonzentration

5.3 GFR

Zur Vereinfachung der Vergleichbarkeit nutzten wir zur Darstellung der GFR Kategorien bei verschiedenen Parametern Boxplots.

5.3.1 GFR und Parameter des Eisenstoffwechsels

Im Folgenden sind verschiedene Parameter des Eisenstoffwechsels von Probanden der CARE FOR HOME Studie gemäß eGFR den verschiedenen eGFR Kategorien nach der KDIGO Klassifikation zugeteilt.

Ergebnisse

Sowohl die Ferritin Plasmakonzentration ($p = 0,749$) als auch die Eisen Plasmakonzentration ($p = 0,117$) weisen keine signifikante Korrelation zur der eGFR Klassifikation auf.

Wohingegen die Heparin- und die Hämoglobin Plasmakonzentration einen signifikanten Zusammenhang aufzeigen: Im Stadium G 4 der CKD ist eine steigende Heparin Plasmakonzentration und eine sinkende Hämoglobin Plasmakonzentration im Vergleich zum KDIGO Stadium G 2 zu verzeichnen. Somit ist davon auszugehen, dass sich sowohl Hämoglobin als auch Heparin signifikant prädiktiv für ein höheres Stadium der Niereninsuffizienz darstellen.

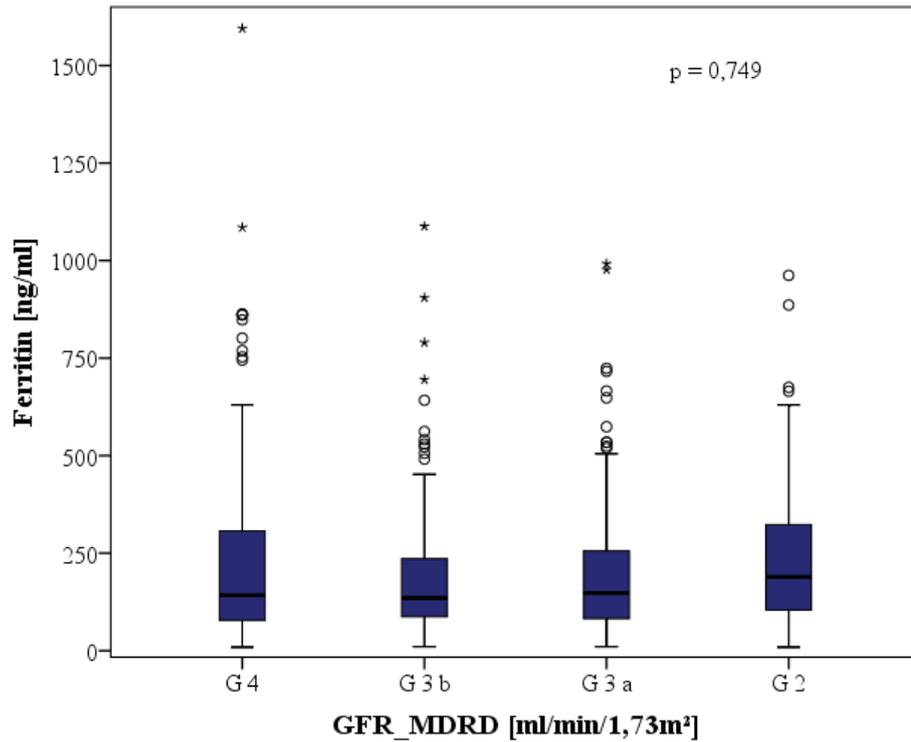


Abbildung 8: Korrelation der GFR zur Ferritin Plasmakonzentration

Ergebnisse

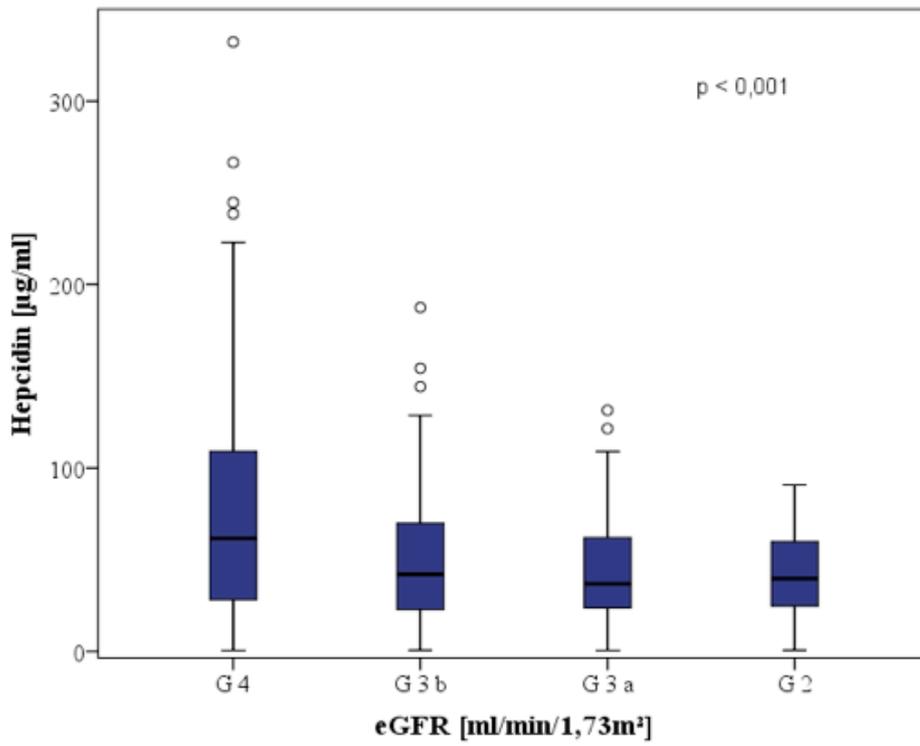


Abbildung 9: Korrelation der GFR zu Hepcidin Plasmakonzentration

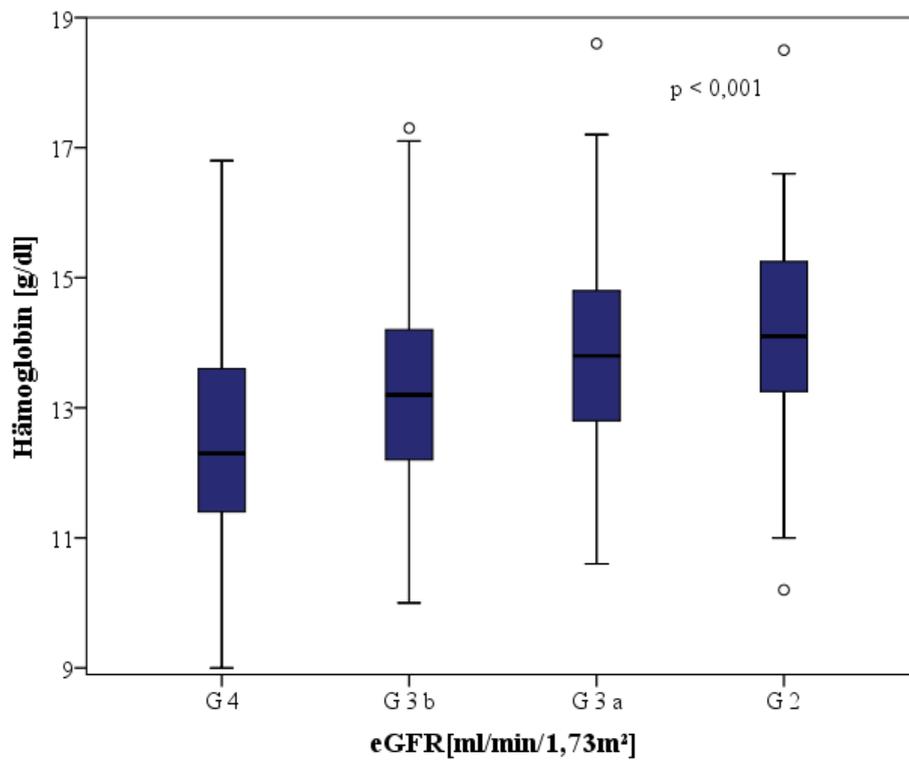


Abbildung 10: Korrelation der GFR zu Hämoglobin Plasmakonzentration

Ergebnisse

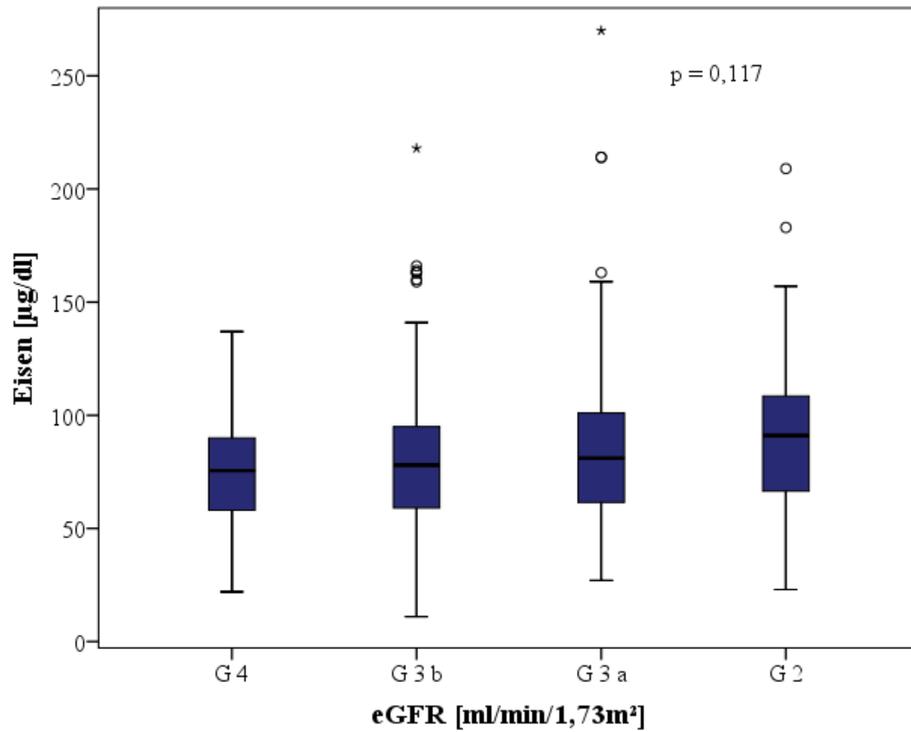


Abbildung 11: Korrelation der GFR zu Eisen Plasmakonzentration

5.3.2 GFR und Entzündungsparameter

Zur Darstellung der Entzündungsreaktion teilten wir die Plasmakonzentration des CRP den einzelnen eGFR Kategorien zu und konnten so erwartungsgemäß eine signifikante Korrelation nachweisen. Entsprechend steigt in fortgeschrittenen Stadien der Niereninsuffizienz die CRP Plasmakonzentration.

Ergebnisse

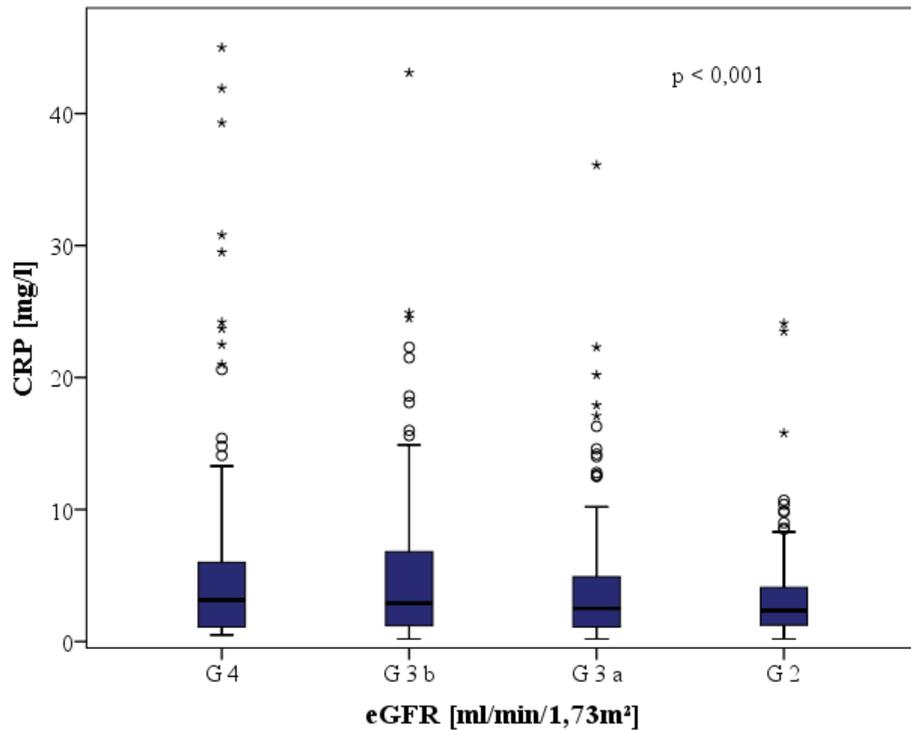


Abbildung 12: Korrelation der GFR zur CRP Plasmakonzentration

5.4 Ereignisfreies Überleben

5.4.1 Hepcidin als Prädiktor des kardialen Überlebens

Mithilfe der Stratifizierung von Hepcidin in drei gleich große Tertile, lässt sich das ereignisfreie Überleben in den verschiedenen Studienendpunkten anhand univariater Kaplan – Meier – Analysen darstellen.

Während des Nachbeobachtungszeitraumes von $5,1 \pm 2,1$ Jahren ist innerhalb aller Studienendpunkte keine signifikante Korrelation zu der Hepcidin Plasmakonzentration erkennbar: Weder kardiovaskuläre Ereignisse mit Todesfällen jedweder Genese (CVE_D) noch kardiovaskulärer Todesfälle (CVE_DC) sind gehäuft aufgetreten. Ebenso wenig war der renale Endpunkt mit Halbierung der eGFR / Erreichen der Dialysepflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D) mit einer steigenden Hepcidin Plasmakonzentration assoziiert.

Hepcidin stellt sich somit in univariaten Kaplan – Meier – Analysen als nicht signifikanter Prädiktor des ereignisfreien Überlebens bei CKD Patienten heraus.

Ergebnisse

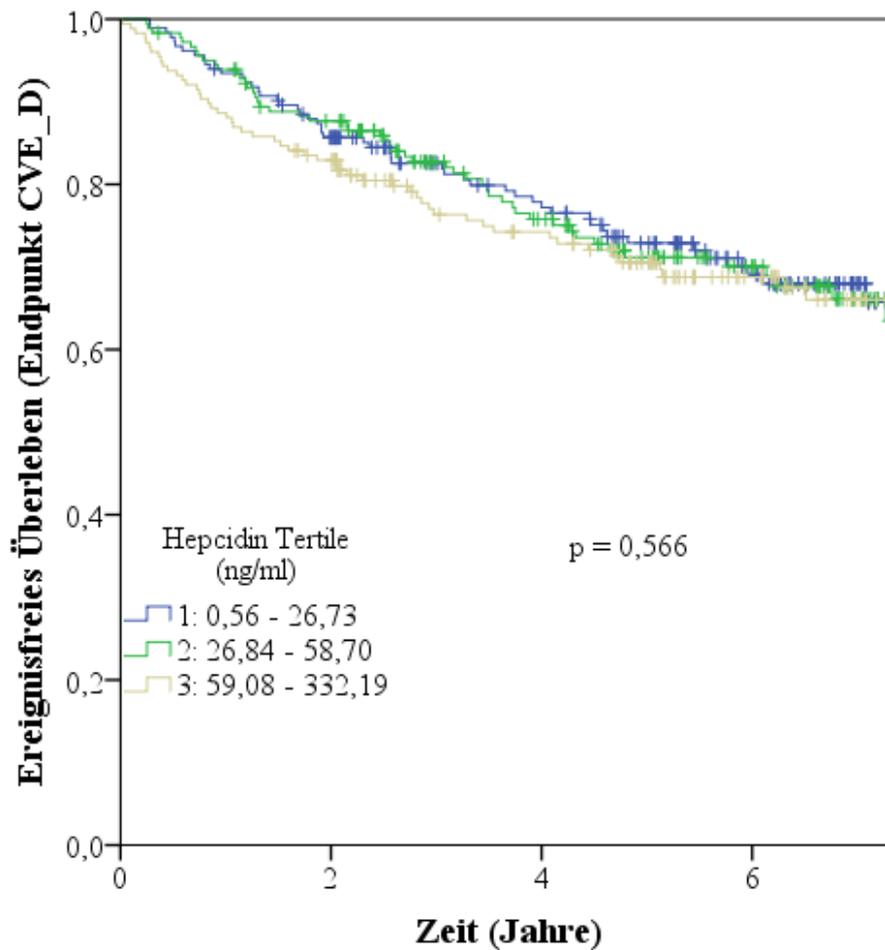


Abbildung 13: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach Hepcidin Tertilen im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse inklusive Tod jedweder Genese (CVE_D)

Zunächst ist das dritte Hepcidin Tertil (höchste Hepcidin Plasmakonzentration) minimal vermehrt mit dem Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen und Todesfällen jedweder Genese assoziiert, über die langfristige Betrachtung von 7 Jahren ist allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen den Tertilen nachweisbar.

Ergebnisse

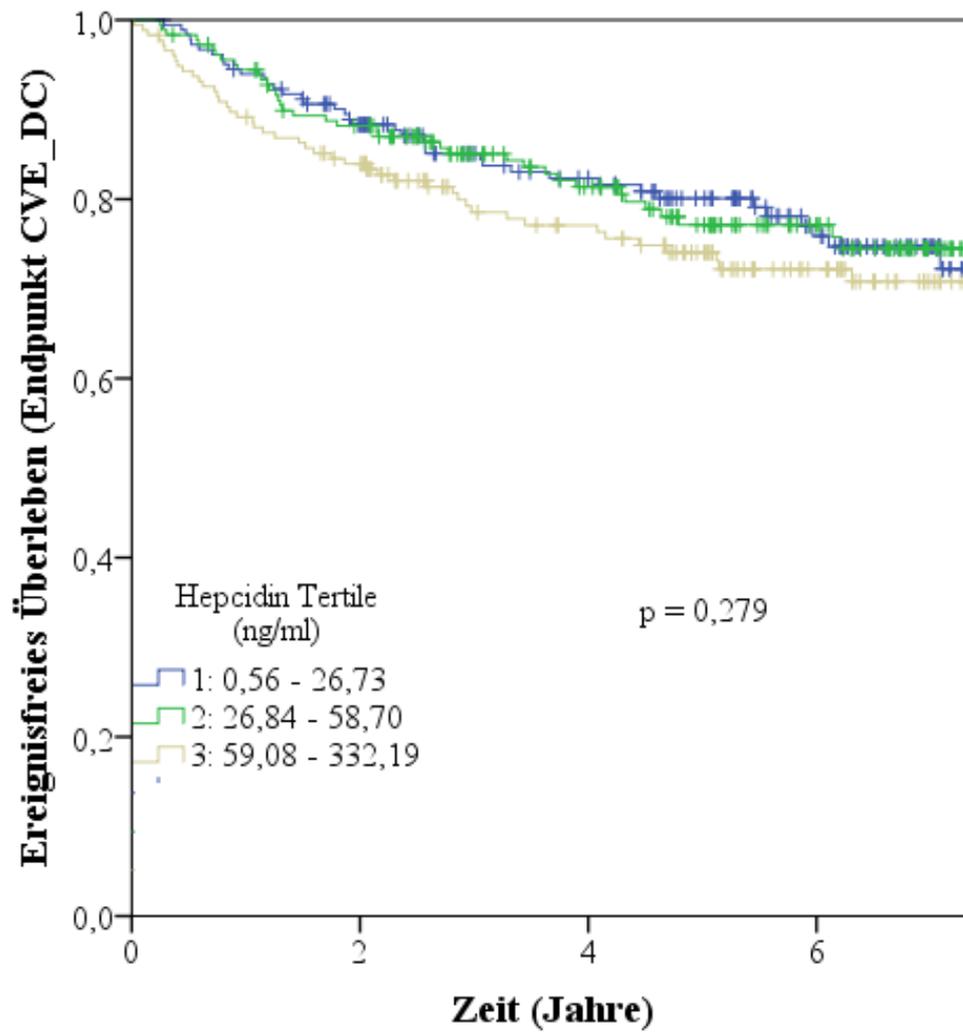


Abbildung 14: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach Hepcidin Tertilen im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Todesereignisse (CVE_DC)

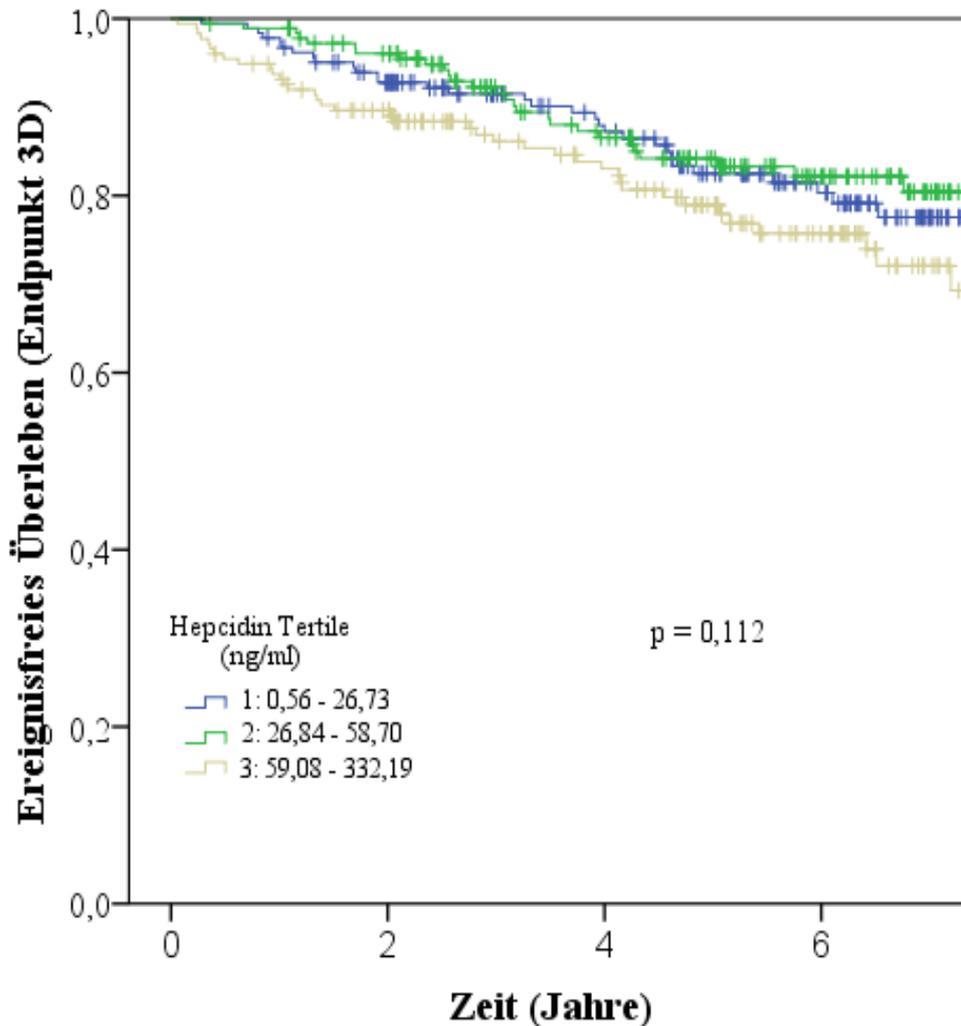


Abbildung 15: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach Hepcidin Tertilen im renalen Endpunkt Halbierung der eGFR / Erreichen der Dialysepflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D)

5.4.2 eGFR als Prädiktor des kardialen Überlebens

Im Nachbeobachtungszeitraum von $5,1 \pm 2,1$ Jahren lässt sich bei Stratifizierung nach eGFR Klassifikation eine signifikante Korrelation zwischen dem Stadium der Nierenfunktion und allen Studienendpunkten nachweisen: In höheren Stadien der CKD zeigt sich ein vermehrtes Auftreten kardiovaskuläre Ereignisse mit Todesfällen jedweder Genese (CVE_D) sowie kardiovaskulärer Todesfälle (CVE_DC). Zusätzlich war der renale Endpunkt mit Halbierung der eGFR / Erreichen der Dialysepflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D) mit einem höheren Stadium der CKD assoziiert. Diese Tendenz ist bereits ab dem ersten Beobachtungsjahr zu erkennen.

Ergebnisse

Die Einteilung der eGFR Stadien stellt sich in univariaten Kaplan – Meier – Analysen somit als signifikanter Prädiktor für das gehäufte Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse bzw. Tod jedweder Genese heraus.

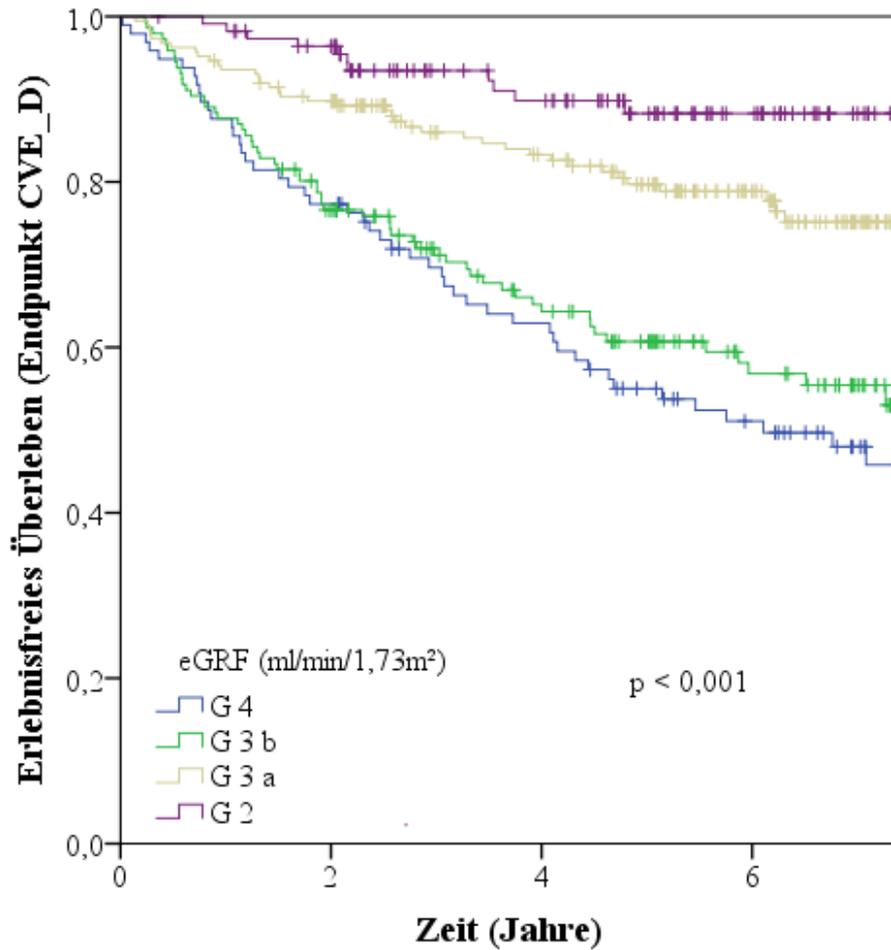


Abbildung 16: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach eGFR im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse inklusive Tod jedweder Genese (CVE_D)

Ergebnisse

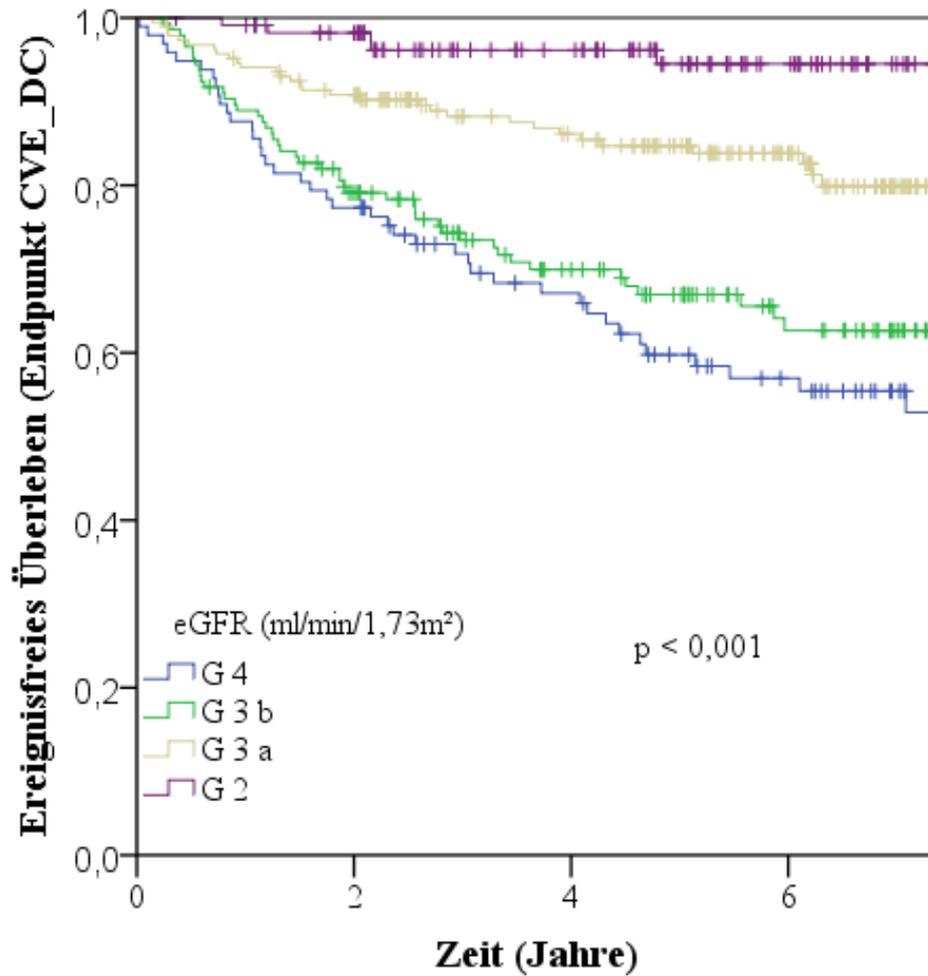


Abbildung 17: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach eGFR im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Todesereignisse (CVE_DC)

Ergebnisse

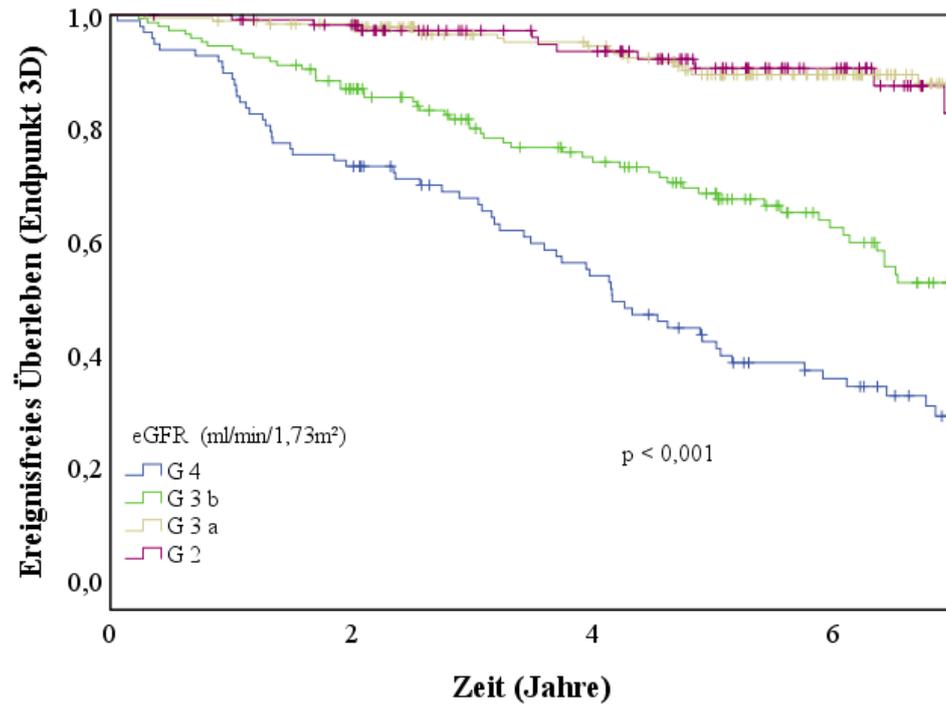


Abbildung 18: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach eGFR im Endpunkt Halbierung der eGFR / Eintreten der Dialysepflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D)

5.5 Multivariate Cox-Regressionsanalysen

Zur spezifischen Beurteilung der prädiktiven Wertigkeit des Auftretens kardiovaskulärer Ereignisse im Rahmen einer steigenden Hepcidin Plasmakonzentration erfolgt ergänzend zu den Kaplan – Meier – Analysen eine multivariate Cox – Regressionsanalyse. Innerhalb unserer verschiedenen Modelle (1 – 6) wurde jeweils nach potentiellen Störvariablen spezifisch korrigiert (*vgl. Tabellenbeschriftung*).

Weder im Studienendpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Todesereignisse (CVE_DC)(*vgl. Tabelle 8*) noch im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse inklusive Tod jedweder Genese (CVE_D) (*vgl. Tabelle 9*) lässt sich ein signifikanter Zusammenhang zu der Hepcidin Plasmakonzentration darstellen. Wohingegen in der Cox – Regressionsanalyse bezüglich des renalen Studienendpunktes Halbierung der eGFR / Erreichen der Dialysepflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D) (*vgl. Tabelle 10*) eine signifikante Korrelation nachgewiesen werden konnte. Post hoc erfolgte die Adjustierung der möglichen Störvariablen Ferritin, intaktem FGF23 und c-terminalem FGF23. Dabei sollte untersucht werden, ob Hepcidin auch nach Korrektur dieser Einflussfaktoren als nicht prädiktiver Marker für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse bestehen bleibt. Allerdings erwies sich Hepcidin auch nach Adjustierung weiterhin nicht als signifikanter Prädiktor für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse.

	Modell 1		Modell 2		Modell 3		Modell 4		Modell 5		Modell 6	
	HR (95% KI)	p										
Kategorisiert												
Hep Tertil 2*	0,975 (0,623-1,524)	0,910	0,982 (0,628-1,537)	0,938	0,833 (0,559-1,396)	0,595	0,887 (0,542-1,452)	0,634	0,887 (0,541-1,454)	0,634	0,922 (0,563-1,511)	0,748
Hep Tertil 3*	1,232 (0,810-1,904)	0,319	0,910 (0,586-1,414)	0,675	1,043 (0,663-1,641)	0,855	1,052 (0,577-1,917)	0,868	1,052 (0,577-1,917)	0,869	1,071 (0,589-1,946)	0,823
Kontinuierlich												
Log Hep	0,993 (0,665-1,484)	0,974	0,840 (0,586-1,203)	0,341	0,908 (0,631-1,307)	0,603	0,750 (0,417-1,348)	0,336	0,749 (0,416-1,349)	0,336	0,868 (0,475-1,586)	0,646

Hep = Hepcidin (µg/ml); * = Referenz zu Tertil 1

Modell 1: univariate Analyse; Modell 2: korrigiert nach Geschlecht, Alter, eGFR, log Albuminurie; Modell 3: zusätzlich korrigiert nach Diabetes mellitus, Body Mass Index, CVE, Raucher, Cholesterin, systolischer Blutdruck; Modell 4: zusätzlich korrigiert nach log Ferritin; Modell 5: zusätzlich korrigiert nach log intaktem FGF-23; Modell 6: zusätzlich korrigiert nach c-terminalem FGF-23

Tabelle 8: Cox-Regressionsanalyse nach Studienendpunkt: atherosklerotische kardiovaskuläre Todesereignisse (CVE_DC)

Modell 1		Modell 2		Modell 3		Modell 4		Modell 5		Modell 6	
HR (95% KI)	P	HR (95% KI)	P	HR (95% KI)	P	HR (95% KI)	P	HR (95% KI)	P	HR (95% KI)	P
Kategorisiert											
Hep	0,997	1,008	0,969	0,921	0,685	0,912	0,674	0,951	0,818	0,943	0,787
Tertil 2*	(0,676-1,470)	(0,683-1,487)	(0,619-1,370)	(0,597-1,397)	(0,622-1,455)	(0,582-1,670)	(0,592-1,689)	(0,617-1,442)			
Hep	1,121	0,874	0,502	1,006	0,977	0,986	0,986	1,000	0,999	0,988	0,963
Tertil 3*	(0,765-1,643)	(0,589-1,296)	(0,672-1,506)					(0,585-1,669)			
Kontinuierlich											
Log Hep	0,940	0,729	0,307	0,894	0,501	0,726	0,226	0,829	0,489	0,849	0,543
	(0,662-1,335)	(0,614-1,166)	(0,646-1,239)	(0,432-1,219)	(0,488-1,410)						

Hep = Hepcidin (µg/ml); * = Referenz zu Tertil 1

Modell 1: univariate Analyse; **Modell 2:** korrigiert nach Geschlecht, Alter, eGFR, log Albuminurie; **Modell 3:** zusätzlich korrigiert nach

Diabetes mellitus, Body Mass Index, CVE, Raucher, Cholesterin, systolischer Blutdruck; **Modell 4:** zusätzlich korrigiert nach log Ferritin;

Modell 5: zusätzlich korrigiert nach log intaktem FGF-23; **Modell 6:** zusätzlich korrigiert nach c-terminalem FGF-23

Tabelle 9: Cox-Regressionsanalyse nach Studienendpunkt: atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse inklusive Tod jedweder Genese (CVE_D)

Modell 1		Modell 2		Modell 3		Modell 4		Modell 5		Modell 6	
HR (95% KI)	p	HR (95% KI)	p	HR (95% KI)	p						
Kategorisiert											
0,121 (0,073-0,200)**		0,207 (0,123-0,349)**		0,185 (0,109-0,316)**		0,190 (0,111-0,323)**		0,283 (0,158-0,508)**		0,318 (0,175-0,576)**	
eGFR (2)*											
0,102 (0,051-0,206)**		0,189 (0,092-0,388)**		0,185 (0,089-0,385)**		0,185 (0,089-0,385)**		0,277 (0,128-0,598)0,001		0,310 (0,142-0,678)0,003	
eGFR (3)*											
Kontinuierlich											
0,938 (0,926-0,949)	**	0,955 (0,943-0,967)	**	0,953 (0,941-0,966)	**	0,954 (0,941-0,966)	**	0,965 (0,950-0,980)	**	0,968 (0,953-0,983)	**
eGFR											

eGFR = Estimated glomerular filtration rate (nach MDRD) (ml/min/1,73 m²);

* = Referenz zu Tertil 1; ** = signifikante Korrelation (p < 0,001)

Modell 1: univariate Analyse; **Modell 2:** korrigiert nach Geschlecht, Alter, eGFR, log Albuminurie; **Modell 3:** zusätzlich korrigiert nach Diabetes mellitus, Body Mass ICVE, Raucher, Cholesterin, systolischer Blutdruck; **Modell 4:** zusätzlich korrigiert nach log Ferritin; **Modell 5:** zusätzlich korrigiert nach log intaktem FGF-23; **Modell 6:** zusätzlich korrigiert nach c-terminalem FGF-23

Tabelle 10: Cox-Regressionsanalyse nach renalem Studienendpunkt: Halbierung der eGFR / Erreichen der Dialysepflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D)

6 Diskussion

Vor dem Hintergrund des demographischen Wandels kann von einer Verdreifachung der Bevölkerungspopulation der Altersklasse > 60 Jahre in den kommenden Dekaden ausgegangen werden [49], welche konsekutiv eine massiv steigende Prävalenz der CKD mit sich bringt [49]. Im Vergleich zu Nierengesunden weisen CKD Patienten eine 5,9-fach erhöhte Gesamtmortalität auf und werden daher als Hochrisikopatienten für kardiovaskuläre Ereignisse eingestuft [1]. Die Wahrscheinlichkeit, aufgrund eines solches Ereignisses zu versterben, ist oft höher, als die Wahrscheinlichkeit durch Progredienz der CKD die Dialysepflichtigkeit zu erreichen [15]. Verglichen mit Nierengesunden sterben CKD Patienten 20 – 40-fach häufiger aufgrund kardiovaskulärer Ereignisse [13].

Eine Intensivierung und Überarbeitung der medizinischen Therapiemöglichkeiten für CKD Patienten ist im Hinblick auf den demographischen Wandel unabdingbar. Ein Fokus sollte auf die kardiovaskuläre Primär- und Sekundärprävention und hierbei besonders auf nicht-klassische Risikofaktoren gelegt werden, da nur 50% der kardiovaskulären Ereignisse auf die besser untersuchten, klassischen Risikofaktoren zurückzuführen sind [7]. Beispielhaft für nicht-klassische Risikofaktoren sind chronische Mikroinflammationsprozesse [53], welche bei der CKD beobachtet wurden [61]. Im Rahmen dieser Entzündungsreaktion wird unter anderem Hepcidin als Akute-Phase-Protein hochreguliert [54]. Konsekutiv ist bei fortschreitender CKD mit einem Ansteigen der Hepcidin Plasmakonzentration zu rechnen [59]. Hepcidin könnte durch eine zentrale Rolle im Eisenstoffwechsel einen Eisenmangel und konsekutiv eine Eisenmangelanämie bei CKD Patienten bedingen [43].

In einer US-amerikanischen Studie wurde bei 12077 Studienteilnehmern beobachtet, dass eine Anämie bei CKD Patienten doppelt so häufig diagnostiziert wird wie bei Nierengesunden [8]. Hierbei konnte eine Anämie mit funktionellem Eisenmangel, welche durch ausreichend Speichereisen mit inadäquatem Eisentransport für die Erythropoese charakterisiert ist, bei 12 – 42,9 % der nicht-dialysepflichtigen CKD Patienten nachgewiesen werden [6][28][32][34]. Bei CKD Patienten ist eine Anämie mit Progredienz der Erkrankungen [8][54][63] sowie einem höheren kardiovaskulären Risiko assoziiert [7]. Konsekutiv könnte die für die Anämie ursächliche erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration ein Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse bei CKD Patienten sein.

Vor diesem Hintergrund wurde im Rahmen der vorliegenden Promotionsarbeit durch die CARE FOR HOME Studie nach unserem Wissensstand erstmals in einer großen prospektiven Kohortenstudie untersucht, dass

- das Ausmaß der CKD mit einer fortgeschrittenen chronischen Inflammation und einer höheren Hepcidin Plasmakonzentration assoziiert ist;
- eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration mit einer manifesten Eisenmangelanämie assoziiert ist;
- Hepcidin ein Prädiktor für kardiovaskuläre atherosklerotische Ereignisse während der Nachbeobachtungszeit ist.

6.1 Einflussfaktoren der Hepcidin Plasmakonzentration

Hepcidin wird die Aufrechterhaltung des Eisengleichgewichtes im Organismus zugeschrieben, welches weder zu Gunsten einer toxischen Eisenüberladung noch zu Gunsten eines Eisenmangels und konsekutiv einer Eisenmangelanämie verschoben sein sollte [59].

Über die Hemmung des Eisentransporters Ferroportin, welcher auf den Oberflächen von Enterozyten, Hepatozyten und Makrophagen zu finden ist, kann Hepcidin funktionell den Eisenexport aus den Zellen in den Extrazellulärraum blockieren [25]. Um bei ausreichend gefüllten Eisenspeichern einer möglichen Eisenüberladung frühzeitig entgegenzuwirken, wird vermehrt Hepcidin exprimiert und folglich die weitere enterale Eisenresorption gehemmt. Außerdem bedingen Hypoxämie und Entzündungssignale, welche häufig bei der CKD auftreten, eine zusätzliche Hochregulation des Hormons [61].

Umgekehrt wird bei eisenarmer Ernährung oder einem Eisenmangel anderer Ursache Hepcidin supprimiert, um eine vermehrte enterale Eisenresorption für die konsekutiv gesteigerte Erythropoese zu gewährleisten [43]. Die Expression von Hepcidin wird dabei über das Hormon Erythroferron gehemmt [43][9].

Resultierend ist der Hauptregulator einer Expression oder Suppression von Hepcidin der Eisenbedarf im Organismus [43].

6.1.1 Wirkmechanismus von Hepcidin bei der CKD

Hepcidin steht im Fokus der Ursachenforschung von Eisenmangelanämien bei CKD Patienten, da es im Rahmen der chronischen Mikroinflammation bei CKD Patienten über den IL-6-Pathway hochreguliert wird [42].

Infolge dieser bei CKD Patienten auftretenden Mikroinflammationsprozesse werden vermehrt Makrophagen aktiviert, welche freies Eisen phagozytieren. Das erhöhte Plasmahepcidin bindet an Ferroportin, welches sich in der Zellmembran von Makrophagen befindet [9]. Über eine Initialisierung und Degradierung des Ferroportins wird ein Eisenrücktransport aus den Makrophagen unterbunden. Konsekutiv wird das Eisen nicht erneut in die Blutzirkulation abgegeben, wodurch die Plasmaeisenkonzentration sinkt [9].

Die inflammationsbedingte erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration kann durch ein Ungleichgewicht in der Eisenhomöostase eine Komorbidität mit einer Anämie bedingen [61], welche das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse steigert [7].

Im Rahmen der Untersuchungen der CARE FOR HOME Studie konnte bestätigt werden, dass eine CKD im fortgeschrittenen Stadium mit einer erhöhten Hepcidin Plasmakonzentration einhergeht.

6.1.2 Korrelation von Hepcidin und manifester Anämie

Die Anämie zählt zu den nicht-klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren [7][14] und weist eine gehäufte Komorbidität bei fortgeschrittener CKD auf [14], welche durch eine chronische Mikroinflammation und einem damit einhergehenden Eisenmangel begünstigt werden könnte [28].

Bei CKD Patienten konnte eine signifikante Korrelation zwischen chronischer Inflammation, (gemessen an der IL-6 Plasmakonzentration) und dem Eisenstatus (gemessen am sTfR) nachgewiesen werden [28]. Im Rahmen von Studienuntersuchungen wurden bei 69 CKD Patienten der KDIGO Stadien G 2 – G 3 Laborparameter zum Eisen- und Inflammationsstatus bestimmt. Bei 17 % der Patienten konnte ein absoluter (Ferritin < 100 ug/L + TSAT < 20%) und bei 12 % der Patienten ein funktioneller Eisenmangel (Ferritin 100 - 300 ug/L + TSAT < 20%) festgestellt werden. Die Kohorte des funktionellen Eisenmangels zeigte signifikant höhere Plasmakonzentrationen von Hepcidin, Ferritin, TSAT, CRP und GDF-15, sowie eine signifikant niedrigere eGFR, verglichen mit den Kohorten des absoluten Eisenmangels oder normwertigen Eisenstatus [28] (vgl. *Tabelle 11*).

Da der Eisenstoffwechsel ein wichtiger Parameter für die Hämoglobinproduktion ist und Hepcidin zentral auf die Eisenhomöostase eingreift [43], untersuchte die CARE FOR HOME Studie, ob die Ursache einer manifesten Anämie als Komorbidität bei der CKD in einer steigenden Hepcidin Plasmakonzentration zu finden ist. Rezente Studien zeigen, dass eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration sowohl mit einem höheren Risiko für das Auftreten einer Anämie, als auch mit einer Progredienz der CKD assoziiert ist [59][37][31][2][46][41].

Sowohl CARE FOR HOME, als auch eine weitere Studie konnten bereits einen signifikanten Zusammenhang von Plasmaeisen und Hämoglobin zu einem höheren Stadium der CKD nachweisen [59]. Ob die Hepcidin Plasmakonzentration ursächlich für diese Korrelation ist, wurde innerhalb der genannten Studie genauer untersucht. Vermutlich korreliert eine verminderten eGFR mit einer erhöhten Hepcidin Plasmakonzentration, weshalb Hepcidin folglich über einen Eisenmangel eine Anämie bedingen könnte [59]. Die Hepcidin Plasmakonzentrationen von 103 CKD Patienten (KDIGO Stadien G 3 – G 5) wurden mit denen aus einer Kohorte von 100 nierengesunden Patienten verglichen. Durchschnittlich zeigte die CKD Kohorte eine um das 20-fach erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration ($60,4 \pm 6,1$ ug/l vs. $3,0 \pm 0,5$ ug/l). Zwar sind eGFR und Hepcidin signifikant miteinander assoziiert, jedoch wurde schlussendlich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Hepcidin und Hämoglobin

als Marker für eine Anämie nachgewiesen [59]. Fraglich ist allerdings, ob die nicht erfasste orale Eisensubstitution einiger Patienten während der Datenerhebung einen störenden Einfluss auf das Ergebnis gehabt haben könnten.

Entsprechend wurde im Rahmen der CARE FOR HOME Studie sowohl die intravenöse als auch die orale Eisenzufuhr der Patienten in die Ergebnisse mit einbezogen. Nichtsdestotrotz bestätigte sich innerhalb der CARE FOR HOME Studie die Hypothese nicht, dass eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration bei CKD Patienten mit einer manifesten Eisenmangelanämie assoziiert ist.

Kontroverse Ergebnisse zeigte eine Studie, welche bei einer Kohorte von 505 CKD Patienten der Stadien G 1 – G 5 ebenfalls die Korrelation zwischen Hepcidin Plasmakonzentration und eGFR sowie Hämoglobin untersuchte [37]. Es wurde sowohl nach Ferritin als auch nach EPO- und Eisen Substitution stratifizierte. Während eine signifikante Korrelation zwischen Hepcidin und Hämoglobin als Marker für eine Anämie nachgewiesen wurde, zeigte sich keine signifikante Assoziation zwischen Hepcidin und eGFR [37].

Einen Zusammenhang zwischen erhöhter Hepcidin Plasmakonzentration und einer Eisenmangelanämie könnte anhand der Inflammationskaskade der CKD zu finden sein. Die chronische Freisetzung von humoralen und zellulären Mediatoren kann zu einem Defekt und allenfalls zum Zerfall verschiedenster Gewebszellen führen [16]. Zellulär freiwerdendes Eisen kann in das Blutplasma abgesondert werden und ein potentiell toxisches Überangebot verursachen [61]. Um eine weitere enterale Eisenresorption zu verhindern, wird vermehrt Hepcidin exprimiert [61]. Zusätzlich unterstützt Hepcidin die Elimination des freien Eisens: Makrophagen phagozytieren die toxische Substanz und werden durch die Initialisierung und Degradierung des Ferroportinrezeptors an einer Eisensfreisetzung gehindert [61][9]. Dieser Mechanismus entspricht der sogenannten Eisenfalle [61]. Konsekutiv kommt es zu einer Eisenumverteilung im Organismus mit vermindertem Serumeisen [16][9], welches in einer klinisch relevanten Anämie münden könnte.

Das im Organismus zwar ausreichend vorhandene Eisen wird nur inadäquat für die Erythropoese zur Verfügung gestellt [43]. Zwar konnte die konsekutiv sinkende Eisen- und Hämoglobinkonzentration in höheren Stadien der CKD durch die CARE FOR HOME Studie bestätigt werden, allerdings bleibt die Frage nach der Ursache ungeklärt, da Hepcidin nicht als signifikanter Prädiktor agierte.

Tabelle 11 bietet eine Übersicht der diskutierten Studien zu der Fragestellung einer Anämie bei der CKD.

Autor	Anzahl CKD Patienten (Stadium)	Untersuchte Korrelation von	Ergebnis
Lukaszyc et al. [28]	n = 69 (G 2 – G 3)	funktionellem Eisenmangel + Inflammation	Sig. Korrelation von funktionellem Eisenmangel und erhöhtem Hep. + Ferritin + TSAT + CRP + GDF-15 und niedrigerer eGFR
Troutt, J.; et al. [59]	n = 203 (G 3 – G 5)	Eisenstatus + eGFR; Eisenstatus + Krea.; Eisenstatus + Hb;	Sig. inverse Korrelation von Hep. und eGFR; Sig. Korrelation von Hep. und Krea.; Keine sig. von Korrelation Hep. und Hb
Uehata, T.; Nagasawa, Y., et al. [37]	n = 505 (G 1 – G 5)	Eisenstatus + eGFR; Eisenstatus + Hb	Keine sig. Korrelation von Hep. und eGFR; Sig. neg. Korrelation von Hep. und Hb

Tabelle 11: Übersichtstabelle Studienlage Anämie bei CKD

n = Anzahl teilnehmender Patienten; sig. = signifikant; Hep. = Hepcidin; Hb = Hämoglobin; neg. = negativ

6.1.3 Hepcidin als Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse

Rezente Studien zeigen, dass das Stadium der CKD mit einer steigenden Hepcidin Plasmakonzentration assoziiert ist [61][59], was im Rahmen der CARE FOR HOME Studie bestätigt wurde. Darüber hinaus wurde beschrieben, dass die Verschlechterung der Nierenfunktion mit dem vermehrten Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen einhergeht [15]. Somit ist fraglich, ob eine Kausalität zwischen der erhöhten Hepcidin Plasmakonzentration und der steigenden Prävalenz von kardiovaskulären Ereignissen bei einer CKD besteht.

Ursächlich für eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration bei CKD Patienten könnte eine chronische Mikroinflammation sein [24][57][61]. Im Einklang mit einer weiteren Studie konnte CARE FOR HOME eine signifikante Korrelation zwischen CRP, als Marker der chronischen Mikroinflammation, und Progredienz der CKD nachweisen [61]. Sowohl Hepcidin selbst, als auch die inflammationsbedingt vermehrte Aktivierung von Makrophagen, könnten ursächlich für die Prävalenz von kardiovaskulären Ereignissen bei CKD Patienten sein [28][57][61]. Über die unter 6.1.2 beschriebenen Eisenfalle können Makrophagen einen oxidativen Stress auslösen, welcher möglicherweise das Auftreten atherosklerotischer Ereignisse begünstigt [61][38].

Im Tiermodell wurde im Rahmen der Inflammationskaskade nicht nur die Eisenexkretion sondern auch der Cholesterolausfluss über die Hepcidin bedingte Initialisierung des Ferroportinrezeptors reduziert [61][9]. Eine Akkumulation von Cholesterol in Form von Lipidtropfen fördert bei Mäusen die Bildung von Schaumzellen [52]. Die infolge von Apoptose freiwerdenden Lipidtropfen können

sich an die Intima der Gefäßwand anlagern und die Entstehung von atherosklerotischen Plaques begünstigen [52]. Diese Transformation stellt den Anfangsprozess der Atherogenese dar. Die Assoziation zwischen einer Hepcidin Hochregulation und einer vermehrten Atherosklerosebildung wurde bisher nur im Tiermodell untersucht [52]. Dennoch ist es aufgrund der ursächlichen Entzündungskaskade naheliegend, dass Hepcidin ein ebenso wichtiger Einflussfaktor für kardiovaskuläre Ereignisse im menschlichen Organismus ist.

Während in einer Studie an nierengesunden Menschen kein signifikanter Zusammenhang zwischen Hepcidin und dem Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen gefunden werden konnte [44], ist bei spezifischer Betrachtung von CKD Patienten diese Assoziation bewiesen [64].

Yayar et al. dokumentierten nach Einschluss von 82 hämodialysepflichtigen Patienten über einen Zeitraum von 4 Jahren die Morbidität und Mortalität aufgrund von kardiovaskulären Ereignissen. Bei Verstorbenen wurde im Vergleich zu überlebenden Patienten eine erhöhte Carotis-Intima-Media-Thickness (CIMT) ($0,85 \pm 0,2$ vs. $0,9 \pm 0,2$) sowie eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration ($29,1 \pm 13$ vs. $40,3 \pm 25,4$) dokumentiert [64]. Bei Verstorbenen aufgrund von kardiovaskulären Ereignissen konnte eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration beobachtet werden [64]. Bei allen Studienteilnehmern wurde eine positive Korrelation ($p < 0,05$) zwischen der CIMT als Atherosklerosekriterium und Hepcidin nachgewiesen [64].

Eine weitere Studie untersuchte den Zusammenhang einer erhöhten Hepcidin Plasmakonzentration und dem Auftreten von fetalen und nicht-fetalen kardiovaskulären Ereignissen an hämodialysepflichtigen Patienten [61]. Es konnten 405 hämodialysepflichtige Patienten in die Studie eingeschlossen und über einen Zeitraum von durchschnittlich 3 Jahren nachbeobachtet werden. Ein kardiovaskuläres Ereignis überlebten 131 Patienten, während 158 Patienten aufgrund ungeklärter Ursache oder kardiovaskulärer Ereignisse verstarben [61] (vgl. *Tabelle 12*). Nach Adjustierung der inflammatorischen Störfaktoren konnte eine signifikante Korrelation zwischen Hepcidin und fetalen sowie nicht-fetalen kardiovaskulären Ereignissen bei hämodialysepflichtigen Patienten festgestellt werden [61].

Im Rahmen der CARE FOR HOME Studie haben wir den Zusammenhang von kardiovaskulären Ereignissen zu erhöhten Hepcidin Plasmakonzentrationen 5,1 \pm 2,1 Jahre nachbeobachtet und konnten dabei keine signifikante Korrelation feststellen.

Aufgrund der verschiedenen Beobachtungen an nierengesunden Menschen, CKD Patienten und Mäusen wird deutlich, dass der chronischen Mikroinflammation eine wichtige Rolle im Hinblick des Auftretens von kardiovaskulären Ereignissen zukommt. Bis dato fragwürdig bleibt jedoch, inwieweit Hepcidin auf diese Interaktion Einfluss nimmt. Dennoch könnte die Inflammationskaskade ein Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen und Therapiestrategien im Hinblick auf kardiovaskuläre

Ereignisse bei CKD Patienten sein. Zur Übersicht sind in Tabelle 12 verschiedene Studien bezüglich der Korrelation von Hepcidin und kardiovaskulären Ereignissen gegenübergestellt.

Studie	Anzahl Teilnehmer	FU	Untersuchte Korrelation von	Ergebnis
Van der Weerd et al. [61]	n = 405 HD Pat.	3,0 Jahre	Eisenstatus + CVE_D; Eisenstatus + CVE_ND	Sig. Korrelation von Hep. und CVE_D; Sig. Korrelation von Hep. und CVE_ND
Yayar et al. [64]	n = 82 HD Pat.	4,0 Jahre	Eisenstatus + AS (gemessen an CIMT)	Positive Korrelation von Hep. und AS
Kali et al. [11]	n = 80 HD Pat.	Nein	Eisenstatus + AS (gemessen an CIMT)	Positive Korrelation von Hep. und AS
Pechlaner [44]	n = 675 (Allgemeinbevölkerung)	Nein	Eisenstatus + AS Eisenstatus + CVE	Keine sig. Korrelation von Hep. und AS; Keine sig. Korrelation von Hep. und CVE

Tabelle 12: Übersichtstabelle Studienlage Hepcidin und CVE bei CKD

FU = Follow-up; n = Anzahl teilnehmender Patienten; HD = Hämodialyse; Pat. = Patienten; CVE_D = fetale kardiovaskuläre Ereignisse; CVE_ND = nicht-fetale kardiovaskuläre Ereignisse; Sig. = Signifikant; Hep. = Hepcidin; AS = Atherosklerose; CIMT = Carotis-Intima-Media-Thickness

6.2 Therapeutische Optionen

CKD Patienten haben eine massiv gesteigerte Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse [15]. Die Komorbidität mit einer Anämie führt zu einer Progression der CKD [17][60]. Wird bei einer Ferritin Plasmakonzentration < 500 ng/ml oder TSAT ≤ 30% ein Hämoglobin Grenzwert zwischen 10 – 11,5 g/dl erreicht, empfehlen die KDIGO Leitlinien primär eine Eisensubstitution, während bei Hämoglobinwerten von < 10 g/dl zusätzlich auf Erythropoese-stimulierende Agenzien zurückgegriffen werden sollte [17][60][17].

Ein Therapieansatz des laborchemisch detektierten Eisenmangels liegt primär in einer oralen Eisensubstitution [43][9][66]. Häufig besteht im Rahmen einer ineffektiven oralen Therapie die Notwendigkeit einer i.v. Eisensubstitution welche kontrovers diskutiert wird. Eine Kohortenstudie postuliert bei hämodialysepflichtigen Patienten ein erhöhtes Risiko für eine chronische Inflammation, kardiovaskuläre Ereignisse und Infektionen durch eine i.v. Eisensubstitution [51][62]. Kontroverse Ergebnisse zeigte eine Studie bezüglich proaktiv substituierten, hochdosierten Eisenpräparaten in der

Therapie von Anämien bei CKD Patienten: Verglichen mit restriktiv substituierten, niedrigdosierten Eisenpräparaten konnte neben einer reduzierten Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen das Mortalitätsrisiko minimiert werden [30]. Zusätzlich tragen i.v. Eisenpräparate effektiv zu einer Aufrechterhaltung der Hämoglobin Plasmakonzentration bei und ermöglichen sogar bei einer Therapiekombination mit Erythropoese-stimulierenden Agenzien dessen Dosisreduktion. Konsekutiv überwiegt trotz einiger Risiken der Nutzen einer i.v. Eisen Therapie [30][5]. Grundsätzlich ist bei einer Eisensubstitution bei CKD Patienten zu beachten, dass Heparin eine Eisenumverteilung im Organismus induziert, wodurch der im Makrophagen eingeschlossene Eisenanteil für die Erythropoese nicht verfügbar ist [43][9][66]. Konsekutiv besteht trotz einer eigentlich ausreichenden Gesamteisenkonzentration ein funktioneller Eisenmangel [43][9][66], welcher über zusätzlich substituiertes Eisen die Gefahr einer toxischen Eisenüberladung birgt [61][60].

Neben der oralen und der i.v. Eisensubstitution besteht ein Therapieansatz der Anämie in der Gabe von Erythropoese-stimulierenden Agenzien (ESA). Die Erythropoese wird primär über Erythropoetin stimuliert, was eine Erhöhung des Plasmahämoglobins bedingt und konsekutiv eine Anämie korrigiert [60][48]. Als sekundären Effekt der ESA Therapie wird durch eine Suppression der Heparin Synthese vermehrt Eisen bereit gestellt und so zusätzlich die Effizienz der Erythropoese gesteigert [60]. Laut KDIGO Leitlinien sollte der Beginn einer ESA Therapie sowie die entsprechende Dosisanpassung abhängig von der Hämoglobin Plasmakonzentration bei Grenzwerten von < 10 g/dl erfolgen [17][60]. Neben einer individuellen Dosisanpassung müssen verschiedene Halbwertszeiten der ESA Präparate sowie das mögliche Auftreten von Therapieresistenzen beachtet werden [48]. ESA Präparate mit längerer Halbwertszeit unterdrücken die Heparin Synthese langfristiger und fördern die Eisenverfügbarkeit für die Erythropoese stärker als kurzwirksame Präparate [60].

Problematisch innerhalb der ESA Therapie sind mögliche Therapieresistenzen [48], welche die Morbidität bei CKD Patienten erhöhen [3][21][4] und multifaktoriell bspw. durch chronische Inflammation oder Eisenmangelanämie ausgelöst werden [60][48]. ESA's führen über die Stimulation der Erythropoese zu einem gesteigerten Eisenumsatz [48], welcher durch die Hochregulation von Heparin im Rahmen einer CKD begünstigt wird [28][60]. Vor diesem Hintergrund könnte Heparin ein Prädiktor für das Auftreten von Resistenzen in der ESA Therapie und folglich für eine erhöhte Morbidität bei CKD Patienten sein [60][47]. Um einer Resistenzentwicklung durch die Entwicklung eines Eisenmangels vorzubeugen und zusätzlich die ESA Dosis zu minimieren, wird eine Kombination aus ESA Therapie und Eisenpräparaten empfohlen [30][3][5][23].

Laut einer rezenten Studie bieten bei hämodialysepflichtigen Patienten explizit hochdosierte Eisenpräparate einen Morbiditäts- und Mortalitätsvorteil [30]. In die Studie wurden 2141 hämodialysepflichtige Patienten eingeschlossen, welche randomisiert der Gruppe einer proaktiv substituierten, hochdosierten Eisentherapie oder der Gruppe einer restriktiv substituierten, niedrigdosierten Eisentherapie zugeordnet worden sind. Zusätzlich wurde der Kohorte mit

Diskussion

hochdosierten Eisenpräparaten niedrigdosierte ESA's substituiert, während die Gruppe mit niedrigdosierten Eisenpräparaten höherdosierte ESA's erhielt [30]. In der Kohorte aus ESA's und hochdosierten Eisenpräparaten konnte im medianen Nachbeobachtungszeitraum von 2,1 Jahren eine verminderte Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen sowie ein niedrigeres Mortalitätsrisiko nachgewiesen werden. In selbiger Kohorte wurden zusätzlich ein schnellerer Plasmahämoglobinanstieg sowie weniger transfundierte Blutprodukte dokumentiert [30]. Einen zusätzlichen Benefit der hochdosierte Eisentherapie ist im Hinblick auf eine Reduktion der ESA Dosis sowie der damit einhergehenden Reduktion von Nebenwirkungen zu finden [30].

Letztendlich wird der klinische Erfolg einer ESA Therapie kritisch diskutiert. Eine randomisiert kontrollierte Studie an 88 nicht-dialysepflichtigen CKD Patienten zeigte, dass eine frühzeitige ESA Therapie mit adäquater Dosis die Progression einer CKD verlangsamt und das renale Outcome im Hinblick auf Nierenersatzverfahren verbessert [26][19]. Allerdings wurden durch Studien wie CHOIR (*Correction of Hemoglobin and Outcomes in renal Insufficiency*), CREATE (*Cardiovascular Risk Reduction by Early Anemia Treatment with Epoetin-beta*) und TREAT (*Trial to Reduce Cardiovascular Events with Aranesp Therapy*) relevante Nebenwirkungen in der ESA Therapie bei CKD Patienten beobachtet [22][29][56]. Kontrovers zu der Studie um Gouva et al. zeigte sich kein verbessertes renales oder kardiales Outcome durch die Behandlung einer Anämie bei CKD Patienten mit ESA's [22][29][56]. Vielmehr konnte neben einer erhöhten Inzidenz von Schlaganfällen und thromboembolischen Ereignissen sowie einem möglicherweise erhöhten Risiko für Krebserkrankungen [56] in der CHOIR Studie sogar ein signifikant erhöhtes Mortalitätsrisiko unter einer ESA Therapie nachgewiesen werden [22].

Laut KDIGO Leitlinien wird neben einer Eisensubstitution die ESA Therapie bei nicht-dialysepflichtigen CKD Patienten ab einem Hämoglobinwert von < 10 g/dl empfohlen, während CHOIR, CREATE und TREAT im Hinblick auf die beschriebenen Nebenwirkungen, eine ESA Therapie lediglich als Rescue-Therapie bei einem Hämoglobinwert < 9 g/dl empfehlen [56][17]. Zunächst soll bei einem Hämoglobin > 9 g/dl eine orale und eskalativ eine i.v. Eisentherapie bei CKD Patienten erfolgen. Sollte die Anämie trotz einer Hämoglobin Plasmakonzentration von > 9 g/dl symptomatisch oder klinisch relevant werden, kann nichtsdestotrotz eine Kombination aus Eisensubstitution und ESA's in Erwägung gezogen werden [56].

Zusammenfassend birgt eine Therapie mit ESA Präparaten ein erhöhtes Nebenwirkungsprofil und limitiert damit derzeit den klinischen Behandlungserfolg von Anämien bei CKD Patienten.

Einen innovativen Therapieansatz für die Anämie bei chronischer Erkrankung könnte das Erythroid-Derivat Erythroferron darstellen [43]. Das Glykoprotein-Hormon EPO fördert die Produktion von Erythroferron durch die Aktivierung des JAK/STAT-Pathway [43]. Die hepatische Hcpidin Expression wird durch Erythroferron gehemmt, wodurch die unter 6.1.2 beschriebene Eisenumverteilung im Organismus zum Erliegen kommt. Folglich ist keine zusätzliche

Eisensubstitution notwendig, da das im Organismus vorhandene Eisen effizient für die Erythropoese genutzt werden kann [43]. Inwieweit sich diese Therapieform der Anämie explizit auf das Krankheitsbild der Eisenmangelanämie bei CKD Patienten adaptieren lässt, ist bisher nicht genauer untersucht worden und somit ein Ansatzpunkt für Nachforschungen.

Ein weiterer direkter Ansatzpunkt der Therapie des Eisenmangels bei CKD Patienten ist das Hormon Heparidin selbst. Zwar konnte durch diese Promotionsarbeit nicht belegt werden, dass die mit der CKD einhergehende erhöhte Heparidin Plasmakonzentration ursächlich für eine Anämie ist, jedoch ist das Hormon durch die zentrale Rolle im Eisenstoffwechsel ein wichtiger Einflussfaktor der Erythropoese [43]. Da Heparidin als Akute-Phase-Protein durch die chronische Inflammation hochreguliert wird, sinkt das Serumeisen aufgrund der unter 6.1.2 beschriebenen Eisenumverteilung im Organismus [9][16]. Weitere klinische Ansätze für die Therapie der Eisenmangelanämie sind bspw. die Suppression der Heparidin Produktion, die Neutralisierung von Heparidin, die Blockade der Bindungsstelle an Ferroportin und die Förderung der Ferroportin Produktion [42] (vgl. Tabelle 13). Das bekannteste Beispiel ist der Hydroxylase-Inhibitor Roxadustat, welcher verschiedene Ansatzpunkte aufweist: Einerseits wird die Heparidin Plasmakonzentration reduziert, andererseits wird sowohl der EPO als auch der Hämoglobin Plasmaspiegel erhöht, wodurch eine Anämie ausgeglichen werden kann [45][65]. Diese therapeutischen Strategien finden in deutschen Kliniken noch keine Anwendung, weshalb sie im Folgenden aufgezählt, jedoch nicht genauer diskutiert werden.

Therapie Ansätze	Wirkungsweise	Vertreter
Heparidin Agonisten (bei Eisenüberladung)	Imitation von Heparidin	Miniheparidin
	Produktionsstimulation	Hemmung der Tmprss6 Gen Codierung
		BMP Pathway Agonisten
Heparidin Antagonisten (bei Eisenmangelanämie)	Suppression der Heparidinproduktion	BMP Pathway Inhibitoren
		Antiinflammatorische Agenzien
		Erythropoesestimulierende Agenzien
		Genetische Heparidinhemmung
	Neutralisierung von Heparidin	Anti-Heparidin-Antikörper
		Anticaline
		Spiegelmer
	Heparidin-Ferroportin-Interaktion	Anti-Ferroportin-Antikörper
		Thiol Modifikator

Tabelle 13: Therapeutische Ansätze der klinischen Heparidin Regulation [42]

6.3 Schlussfolgerung und Ausblick

In der vorliegenden Promotionsarbeit wurde im Rahmen der CARE FOR HOME Studie einerseits untersucht, inwieweit Plasma Hepcidin in Querschnittsanalysen mit dem Ausmaß der Nierenfunktionsschädigung bei CKD Patienten der KDIGO Stadien G 2 – G 4 sowie mit dem Ausmaß einer manifesten (Eisenmangel-) Anämie assoziiert ist und andererseits inwieweit Plasma Hepcidin Prädiktor kardiovaskulärer Ereignisse ist.

Sowohl vorherige epidemiologische Studien [59][37], als auch CARE FOR HOME zeigten eine signifikante Korrelation zwischen einer erhöhten Hepcidin Plasmakonzentration und dem Stadium der chronischen Nierenerkrankung.

Ebenfalls im Einklang mit einer anderen Studie konnten wir im Rahmen von CARE FOR HOME in Querschnittsanalysen jedoch nicht nachweisen, dass eine erhöhte Hepcidin Plasmakonzentration mit einer manifesten Anämie assoziiert ist [59].

Entsprechend weiterer epidemiologischer Studien zeigte sich schließlich in unseren Longitudinalanalysen kein signifikanter Zusammenhang zwischen Plasma Hepcidin sowie dem Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen im Nachbeobachtungszeitraum [61][44]. Auf der Basis unserer Ergebnisse kann Hepcidin nicht als nicht-traditioneller kardiovaskulärer Risikofaktor betrachtet werden, welcher zu einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität bei fortgeschrittener CKD beiträgt.

Auch wenn durch diese Promotionsarbeit kein epidemiologischer Zusammenhang zwischen erhöhtem Plasma Hepcidin und manifester Eisenmangelanämie bei CKD Patienten nachgewiesen wird, bleibt Hepcidin aufgrund seiner Bedeutung als ein zentrales Hormon des Eisenstoffwechsels eine potentielle Therapieoption der Anämie bei CKD Patienten. Sowohl Hepcidin selbst als auch Erythroferron als Regulator von Hepcidin, werden derzeit als Therapeutika von Anämien bei CKD Patienten untersucht.

Diese epidemiologischen Ergebnisse stehen schließlich partiell in Widerspruch zu tierexperimentellen Studien, die etwa mit spezifischem Fokus auf die chronische Mikroinflammation bei erhöhtem Plasma Hepcidin durch vermehrte Schaumzellbildung ein vermehrtes Auftreten atherosklerotischer Plaques nachgewiesen haben [52].

Zusammenfassend konnten wir im Rahmen der CARE FOR HOME Studie feststellen, dass Patienten mit höhergradiger CKD zwar ein signifikant höheres Plasma Hepcidin aufweisen, dass aber Plasma Hepcidin seinerseits weder in Querschnittsanalysen mit einer manifesten Anämie noch in Longitudinalanalysen mit prävalenten kardiovaskulären Ereignissen assoziiert ist.

7 Literaturverzeichnis

1. Alan S. Go, M.D., Glenn M. Chertow, M.D., M.P.H. DF (2004) Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization — NEJM. *N Engl J Med* 351:1296-1305
2. Atkinson MA, Kim JY, Roy CN, Warady BA, White CT, Furth SL (2015) Hepcidin and risk of anemia in CKD: a cross-sectional and longitudinal analysis in the CKiD cohort. *Pediatr Nephrol* 30:635–643
3. Bamgbola OF (2011) Pattern of resistance to erythropoietin-stimulating agents in chronic kidney disease. *Kidney Int* 80:464–474
4. Bellinghieri G, Saitta S, Condemni CG, Savica V, Trifirò G, Gangemi S, Santoro D, Buemi M (2014) Erythropoiesis-Stimulating Agents: Dose and Mortality Risk. *J Ren Nutr* 25:164–168
5. Besarab A, Coyne DW (2010) Iron supplementation to treat anemia in patients with chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 6:699–710
6. Carlini R, Obrador G, Campistrús N, Andrade L, Chifflet L, Bregman R, Locatelli A, Correa-Rotter R, Poblete H (2014) The first report of the latin American society of nephrology and hypertension (SLANH) anemia committee in chronic hemodialysis patients. *Nefrologia* 34:96–104
7. Chen J, Mohler ER, Xie D, Shlipak M, Townsend RR, Appel LJ, Ojo A, Schreiber M, Nessel L, Zhang X, Raj D, Strauss L, Lora CM, Rahman M, Hamm LL, He J, CRIC Study Investigators (2015) Traditional and non-traditional risk factors for incident peripheral arterial disease among patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 1–7
8. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Levey AS (2007) Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *J Am Med Assoc* 298:2038–2047
9. Demarmels Biasiutti F (2009) Die Regulation des Eisenstoffwechsels. 9:630–632
10. Drakesmith H, Schimanski LM, Ormerod E, Merryweather-Clarke AT, Viprakasit V, Edwards JP, Sweetland E, Bastin JM, Cowley D, Chinthammitr Y, Robson KJH, Townsend ARM (2005) Resistance to hepcidin is conferred by hemochromatosis-associated mutations of ferroportin. *Blood* 106:1092–1097
11. Eser B, Yayar O, Haspulat A, Kali A, Canbakan B, Merhametsiz O, Buyukbakkal M, Gök Oğuz E, Ercan Z, Erdogan B, Ayli MD (2015) Is hepcidin-25 a predictor of atherosclerosis in hemodialysis patients? *Hemodial Int* 20:191–197
12. Esh H, Agabiti E, France MA, Uk AD, Germany FM, Kerins M, Germany RK, France SL, Uk GYHL, Uk RM, Poland KN, Germany RES, Tsioufis C, France VA, France ID (2018) 2018 ESC / ESH HİPERTANSİYON Guidelines.
13. Foley R (2002) Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease.

- Atherosclerosis 151:232
14. Fraenkel PG (2015) Understanding anemia of chronic disease. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr* 2015:14–8
 15. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJL, Mann JF, Matsushita K, Wen CP (2013) Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet (London, England)* 382:339–52
 16. Ganz T, Nemeth E (2015) Iron homeostasis in host defence and inflammation. *Nat Rev Immunol* 15:500–10
 17. Garabed Eknoyan, MD Norbert Lameire, MD, PhD, Kai-Uwe Eckardt M (2012) Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Anemia Work Group. *Kidney Int Suppl* 2:282
 18. Girndt M, Trocchi P, Scheidt-Nave C, Markau S, Stang A (2016) The Prevalence of Renal Failure. *Dtsch Aerzteblatt Online*
 19. Gouva C, Nikolopoulos P, Ioannidis JPA, Siamopoulos KC (2004) Treating anemia early in renal failure patients slows the decline of renal function: A randomized controlled trial. *Kidney Int* 66:753–760
 20. Haller H, Manns MP, Welte T (2016) Transplantation. *Internist (Berl)* 57:5–6
 21. Icardi A, Paoletti E, De Nicola L, Mazzaferro S, Russo R, Cozzolino M (2013) Renal anaemia and EPO hyporesponsiveness associated with vitamin D deficiency: The potential role of inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 28:1672–1679
 22. Inrig JK, Barnhart HX, Reddan D, Patel UD, Sapp S, Califf RM, Singh AK, Szczech LA (2012) Effect of hemoglobin target on progression of kidney disease: A secondary analysis of the CHOIR (Correction of Hemoglobin and Outcomes in Renal Insufficiency) trial. *Am J Kidney Dis* 60:390–401
 23. Jp H, Cheng X, Xf X, Gj Y, Luo F, Gs Z, Yang N, Shen P, Xy Y (2016) Reactivity of patients with maintenance hemodialysis to erythropoietin in the treatment of renal anemia . 30:
 24. Kuragano T, Shimonaka Y, Kida A, Furuta M, Nanami M, Otaki Y, Hasuike Y, Nonoguchi H, Nakanishi T (2010) Determinants of hepcidin in patients on maintenance hemodialysis: Role of inflammation. *Am J Nephrol* 31:534–540
 25. Kuragano T, Itoh K, Shimonaka Y, Kida A, Furuta M, Kitamura R, Yahiro M, Nanami M, Otaki Y, Hasuike Y, Nonoguchi H, Nakanishi T (2011) Hepcidin as well as TNF-a are significant predictors of arterial stiffness in patients on maintenance hemodialysis. *Nephrol Dial Transpl* 26:2663–2667
 26. Kuriyam S, Tomonari H, Yoshida H, Hashimoto T, Kawaguchi Y, Sakai O (1997) Reversal of anemia by erythropoietin therapy retards the progression of chronic renal failure, especially in nondiabetic patients. *Nephron* 77:176–185

27. Longenecker JC, Coresh J, Powe NR, Levey AS, Fink NE, Martin A, Klag MJ (2002) Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study. *J Am Soc Nephrol* 13:1918–27
28. Łukaszyk E, Łukaszyk M, Koc-Zórawska E, Tobolczyk J, Bodzenta-Łukaszyk A, Małyżko J (2015) Iron status and inflammation in early stages of chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 40:366–373
29. Macdougall IC (2003) CREATE: new strategies for early anaemia management in renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant* 18 Suppl 2:
30. Macdougall IC, White C, Anker SD, Bhandari S, Farrington K, Kalra PA, McMurray JJV, Murray H, Tomson CRV, Wheeler DC, Winearls CG, Ford I (2019) Intravenous iron in patients undergoing maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 380:447–458
31. Małyżko J, Małyżko JS, Hryszko T, Pawlak K, Mysliwiec M (2005) Is hepcidin a link between anemia, inflammation and liver function in hemodialyzed patients? *Am J Nephrol* 25:586–590
32. Małyżko J, Koc-Zórawska E, Levin-Iaina N, Małyżko J, Koźmiński P, Kobus G, Myśliwiec M (2012) New parameters in iron metabolism and functional iron deficiency in patients on maintenance hemodialysis. *Pol Arch Med Wewn* 122:537–542
33. Medical Netcare GmbH (2017) Beschluss.
34. Mercadal L, Froissart M, Haymann JP, Stengel B, Boffa J-J, Flamant M, Thervet E, Vrtovsniak F, Gauci C, Metzger M (2014) A 3-Marker Index Improves the Identification of Iron Disorders in CKD Anaemia. *PLoS One* 9:e84144
35. Milik A, Hryniewicz E (2012) KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Off J Int Soc Nephrol KDIGO* 3:
36. Mills KT, Xu Y, Zhang W, Bundy JD, Chen C-S, Kelly TN, Chen J, He J (2015) A systematic analysis of worldwide population-based data on the global burden of chronic kidney disease in 2010. *Kidney Int* 88:950–957
37. Nagasawa Y, Tomosugi N, Yamamoto R, Suzuki A, Uehata T, Rakugi H, Kato K, Tsubakihara Y, Sakaguchi Y, Shoji T, Okada N, Isaka Y, Kaneko T (2011) Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant* 27:1076–1083
38. Nakanishi T, Hasuike Y, Otaki Y, Kida A, Nonoguchi H, Kuragano T (2011) Hepcidin: another culprit for complications in patients with chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant* 26:3092–3100
39. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T (2004) IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 113:1271–1276
40. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Ganz T, Kaplan J (2014) Hepcidin Regulates Cellular Iron

- Efflux by Binding to Ferroportin and Inducing Its Internalization. *Science* 306:2090–2093
41. Nissenson AR, Westerman M, Zaritsky J, Wang H-J, Ganz T, Young B, Rivera S, Olbina G, Nemeth E, Salusky IB (2009) Heparin--A Potential Novel Biomarker for Iron Status in Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 4:1051–1056
 42. P. R, E. N (2014) The pathophysiology and pharmacology of hepcidin. *Trends Pharmacol Sci* 35:155–161
 43. Pasricha S-R, McHugh K, Drakesmith H (2016) Regulation of Heparin by Erythropoiesis: The Story So Far. *Annu Rev Nutr* 36:417–434
 44. Pechlaner R, Kiechl S, Mayr M, Santer P, Weger S, Haschka D, Bansal SS, Willeit J, Weiss G (2016) Correlates of serum hepcidin levels and its association with cardiovascular disease in an elderly general population. *Clin Chem Lab Med* 54:151–161
 45. Provenzano R, Yu K-HP, Novak JE, Durham JH, Saikali KG, Szczech LA, Leong R, Aiello JR, Cangiano JL, Diamond SA, Hemmerich S, Lee T, Sun CH, Neff TB, Roberts BK, Besarab A (2016) Oral Hypoxia-Inducible Factor Prolyl Hydroxylase Inhibitor Roxadustat (FG-4592) for the Treatment of Anemia in Patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 11:982–991
 46. Rastogi A, Zaritsky J, Westerman M, Gales B, Wang HJ, Salusky IB, Young B, Ganz T, Nemeth E (2010) Reduction of Serum Heparin by Hemodialysis in Pediatric and Adult Patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:1010–1014
 47. Reis F, Pereira BJB, Costa E, Teixeira F, Quintanilha A, Rocha S, Belo L, do Sameiro Faria M, Castro E, Rocha-Pereira P, Loureiro A, Miranda V, Santos-Silva A (2008) Role of Prohepcidin, Inflammatory Markers and Iron Status in Resistance to rhEPO Therapy in Hemodialysis Patients. *Am J Nephrol* 28:677–683
 48. Ribeiro S, Garrido P, Fernandes J, Rocha-Pereira P, Costa E, Belo L, Reis F, Santos-Silva A (2016) Liver iron is a major regulator of hepcidin gene expression via BMP/SMAD pathway in a rat model of chronic renal failure under treatment with high rHuEPO doses. *BioFactors* 42:296–306
 49. Rosner M, Abdel-Rahman E, Williams ME, ASN Advisory Group on Geriatric Nephrology for the AAG on G (2010) Geriatric nephrology: responding to a growing challenge. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:936–42
 50. Ross SL, Tran L, Winters A, Lee KJ, Plewa C, Foltz I, King C, Miranda LP, Allen J, Beckman H, Cooke KS, Moody G, Sasu BJ, Nemeth E, Ganz T, Molineux G, Arvedson TL (2012) Molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin internalization requires ferroportin lysines, not tyrosines or JAK-STAT. *Cell Metab* 15:905–917
 51. S. R, L. B, F. R, A. S-S (2016) Iron therapy in chronic kidney disease: Recent changes, benefits and risks. *Blood Rev* 30:65–72
 52. Saeed O, Otsuka F, Polavarapu R, Karmali V, Weiss D, Davis T, Rostad B, Pachura K,

- Adams L, Elliott J, Taylor WR, Narula J, Kolodgie F, Virmani R, Hong CC, Finn A V. (2012) Pharmacological Suppression of Heparin Increases Macrophage Cholesterol Efflux and Reduces Foam Cell Formation and Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32:299–307
53. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culeton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, Parfrey P, Pfeffer M, Raij L, Spinosa DJ, Wilson PW, American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention (2003) Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 108:2154–69
54. Shaheen FAM, Souqiyeh MZ, Al-attar BA, Karkar A, Mohammad A, Al H, Badawi LS, Ballut OM, Hassan A, Naguib M, Al-homrany MA, Barhamein MY (2011) Prevalence of Anemia in Predialysis Chronic Kidney Disease Patients. *22:456–463*
55. Silvestri L, Pagani A, Nai A, Domenico I De, Kaplan J, Camaschella C (2009) Heparin Activation By Cleaving Membrane. *Cell* 8:502–511
56. Singh AK (2010) Does TREAT give the boot to ESAs in the treatment of CKD anemia? *J Am Soc Nephrol* 21:2–6
57. Swaminathan S, Shah S V. (2011) Novel inflammatory mechanisms of accelerated atherosclerosis in kidney disease. *Kidney Int* 80:453–463
58. Swinkels DW, Girelli D, Laarakkers C, Kroot J, Campostrini N, Kemna EHJM, Tjalsma H (2008) Advances in quantitative heparin measurements by time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One* 3:
59. Troutt JS, Butterfield AM, Konrad RJ (2013) Heparin-25 concentrations are markedly increased in patients with chronic kidney disease and are inversely correlated with estimated glomerular filtration rates. *J Clin Lab Anal* 27:504–510
60. Ueda N, Takasawa K (2017) Role of Heparin-25 in Chronic Kidney Disease: Anemia and Beyond. *Curr Med Chem* 24:
61. van der Weerd NC, Grooteman MPC, Bots ML, van den Dorpel MA, den Hoedt CH, Mazairac AHA, Nubé MJ, Penne EL, Wetzels JFM, Wiegerinck ET, Swinkels DW, Blankestijn PJ, ter Wee PM (2013) Heparin-25 is related to cardiovascular events in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 28:3062–3071
62. Vaziri ND (2016) Safety Issues in Iron Treatment in CKD. *Semin Nephrol* 36:112–118
63. Wong H, Mylrea K, Feber J, Drukker A, Filler G (2006) Prevalence of complications in children with chronic kidney disease according to KDOQI. *Kidney Int* 70:585–590
64. Yayar Ö (2018) Relation between high serum heparin-25 level and subclinical

- atherosclerosis and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Anatol J Cardiol* 19:117–122
65. Yu K-HP, Chernyavskaya E, Chan DTM, Gurevich K, Motylev I, Hemmerich S, Neff TB, Poole L, Shutov E, Zhong M, Franco M, Kumbar LM, Saikali KG, Besarab A, Leong R (2015) Roxadustat (FG-4592): Correction of Anemia in Incident Dialysis Patients. *J Am Soc Nephrol* 27:1225–1233
66. Zimmermann MB, Troesch B, Biebinger R, Egli I, Zeder C, Hurrell RF (2009) Plasma hepcidin is a modest predictor of dietary iron bioavailability in humans, whereas oral iron loading, measured by stable-isotope appearance curves, increases plasma hepcidin. *Am J Clin Nutr* 90:1280–1287
67. Zoccali C, Tripepi G, Mallamaci F (2005) Predictors of cardiovascular death in ESRD. *Semin Nephrol* 25:

8 Danksagung

Im Folgenden möchte ich meinen Dank an alle nachstehenden Personen richten, ohne deren Mithilfe die Entstehung dieser Dissertation unmöglich gewesen wäre:

Primär danke ich Herrn Prof. Dr. med. Danilo Fliser, Direktor der Klinik für Inneren Medizin IV des Universitätsklinikums des Saarlandes, sowie dem gesamten Team der nephrologischen Ambulanz für die Möglichkeit der Dissertation bedanken. Ohne Ihre / eure Hilfe wäre meine Arbeit, sowie die CARE FOR HOME Studie nicht realisierbar gewesen.

Weiterhin gilt ein ganz besonderer Dank meinem Doktorvater Herr Prof. Dr. med. Gunnar H. Heine für die einzigartige und unverbesserliche Zusammenarbeit, für seine bewundernswerte fachliche Begeisterung und enge Betreuung über den langen Zeitraum der Entstehung dieser Dissertation.

Außerdem bedanke ich mich bei Frau Dr. med. Insa E. Emrich für die mühevollen Geduld und liebevollen Erläuterungen von fachlichen Details während der Verfassung verschiedenster Abstracts sowie der Dissertation im Allgemeinen.

Die zahlreichen Gespräche und Hilfestellungen auf fachlicher sowie persönlicher Ebene waren eine enorme Bereicherung für mich, wofür ich euch beiden sehr dankbar bin. Ihr habt mir nicht nur das wissenschaftliche Arbeiten näher gebracht, sondern meine persönlichen Kompetenzen durch diese Dissertation auf unterschiedlichste Weise gefestigt und ausgebaut. Diese herausragende Betreuung innerhalb der letzten Jahre wird mir in Erinnerung bleiben.

Ebenfalls bedanke ich mich bei den Mitgliedern der Arbeitsgruppe 1 für die vielen freundschaftliche Tipps und Ticks im Rahmen der klinischen Datenerhebung, Frau Martina Wagner und dem gesamten Laborteam der Inneren Medizin IV, sowie dem Zentrallabor des Universitätsklinikum des Saarlandes für die permanente enge Zusammenarbeit.

Ferner möchte ich mich bei allen Korrekturlesern und im Hintergrund Mitwirkenden für die kritische Betrachtung dieser Niederschrift sowie die wertvollen Anmerkungen bedanken. Dabei bedanke ich mich besonders bei meinen engsten Freundinnen Anika und Julia. Mit euch habe ich über die Dissertation hinaus in den letzten 5 Jahren dieses Studiums einige Hürden gemeistert und viele einzigartige Momente erleben dürfen.

Danksagung

Mein außerordentlicher Dank gilt meiner Familie: meiner Schwester, Theresa sowie meinen Brüdern Christoph und Henrik, ihr habt stets an mich geglaubt und mich mit eurer positiven Einstellung beflügelt. Ich danke euch, Mama und Papa, für euren engen familiären Zusammenhalt und moralischen Beistand aus meiner fernen Heimat. Ihr allesamt habt mir nicht nur während der Zeit der Dissertation, sondern über mein gesamtes Studium der Humanmedizin stets Mut und Kraft geschenkt. Ich bin unendlich dankbar euch an meiner Seite zu wissen und immer auf euch zählen zu können.

9 Publikationen

Jeweils in Zusammenarbeit mit: Insa Emrich, Sarah Seiler-Mußler, Kathrin Untersteller, Danilo Fliser, Gunnar Heine, Fabio Lizzi, Markus Thiel, Manfred Ahlgrimm, Barbara Schneider

9. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie 2017

14. – 17.09.2017 Mannheim

Posterpreis

Posterpräsentation: Fallpräsentation einer Hypophosphatämie nach intravenöser Applikation von Eisen-Carboxymaltose

124. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin

14. – 17.04.2018 Mannheim

Posterpräsentation: Die prognostische Bedeutung von Heparin bei der chronischen Nierenerkrankung

Ergebnisse der Promotionsarbeit wurden weiterhin publiziert in:

American Journal of Nephrology

Online am 26.02.2019

Titel: Strength of Fibroblast Growth Factor 23 as a Cardiovascular Risk Predictor in Chronic Kidney Disease Weakened by ProBNP Adjustment

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zu Ferritin Plasmakonzentration	29
Abbildung 2: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur Eisen Plasmakonzentration	30
Abbildung 3: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zu Hämoglobin Plasmakonzentration	30
Abbildung 4: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur Cystatin - C Plasmakonzentration	31
Abbildung 5: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur Kreatinin Plasmakonzentration ...	32
Abbildung 6: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur Albuminurie	32
Abbildung 7: Korrelation der Hepcidin Plasmakonzentration zur CRP Plasmakonzentration.....	33
Abbildung 8: Korrelation der GFR zur Ferritin Plasmakonzentration.....	34
Abbildung 9: Korrelation der GFR zu Hepcidin Plasmakonzentration	35
Abbildung 10: Korrelation der GFR zu Hämoglobin Plasmakonzentration.....	35
Abbildung 11: Korrelation der GFR zu Eisen Plasmakonzentration	36
Abbildung 12: Korrelation der GFR zur CRP Plasmakonzentration	37
Abbildung 13: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach Hepcidin Tertilen im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse inklusive Tod jedweder Genese (CVE_D).....	38
Abbildung 14: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach Hepcidin Tertilen im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Todesereignisse (CVE_DC).....	39
Abbildung 15: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach Hepcidin Tertilen im renalen Endpunkt Halbierung der eGFR / Erreichen der Dialyse- pflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D).....	40
Abbildung 16: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach eGFR im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse inklusive Tod jedweder Genese (CVE_D).....	41
Abbildung 17: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach eGFR im Endpunkt atherosklerotischer kardiovaskulärer Todesereignisse (CVE_DC).....	42
Abbildung 18: Ereignisfreies Überleben in der Kaplan – Meier – Analyse; stratifiziert nach eGFR im Endpunkt Halbierung der eGFR / Eintreten der Dialysepflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D).....	43

11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadieneinteilung der eGFR bei CKD nach KDIGO	11
Tabelle 2: Stadieneinteilung der Albuminurie bei CKD nach KDIGO	11
Tabelle 3: Urinproben und daraus bestimmte Parameter	18
Tabelle 4: Blutproben und daraus bestimmte Parameter	18
Tabelle 5: Verwendete technische Geräte.....	22
Tabelle 6: Baselinecharakteristika stratifiziert nach Hepcidin Tertilen	26
Tabelle 7: Baselinecharakteristika stratifiziert nach KDIGO – Stadien.....	28
Tabelle 8: Cox-Regressionsanalyse nach Studienendpunkt: atherosklerotische kardiovaskuläre Todesereignisse (CVE_DC).....	45
Tabelle 9: Cox-Regressionsanalyse nach Studienendpunkt: atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse inklusive Tod jedweder Genese (CVE_D).....	46
Tabelle 10: Cox-Regressionsanalyse nach renalem Studienendpunkt: Halbierung der eGFR / Erreichen der Dialysepflichtigkeit / Tod jedweder Genese (3D).....	47
Tabelle 11: Übersichtstabelle Studienlage Anämie bei CKD.....	52
Tabelle 12: Übersichtstabelle Studienlage Hepcidin und CVE bei CKD.....	54
Tabelle 13: Therapeutische Ansätze der klinischen Hepcidin Regulation	57

12 Anhang

12.1 Fragebogen zur Erfassung des kardiovaskulären Risikos

Untersuchungsdatum _____

Proband _____ Geburtsdatum _____ Geschlecht _____

- 1) Hatten Sie jemals Schmerzen oder Beschwerden in Ihrem Brustkorb?
 - Ja
 - Nein (*falls Nein, bitte Frage 2-9 überspringen, weiter mit 10*)
- 2) Bekommen Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Bergangehen oder raschen gehen?
 - Ja
 - Nein (*falls Nein, weiter mit Frage 9*)
 - Ich gehe nicht bergan und gehe nicht rasch
- 3) Bekommen Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen in normalem Tempo in der Ebene?
 - Ja
 - Nein
- 4) Was machen Sie, wenn Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen bekommen?
 - Ich halte an oder laufe langsamer
 - Ich laufe weiter (*weiter mit Frage 9*)

Bei Benutzung von Nitrospray: „Ich halte an oder laufe langsamer“ ankreuzen.
- 5) Wenn Sie anhalten, was passiert mit diesen Schmerzen oder Beschwerden?
 - Es kommt zu einer Erleichterung
 - Es kommt zu keiner Erleichterung (*weiter mit Frage 9*)
- 6) Wie rasch?
 - Innerhalb von 10 Minuten
 - Nicht innerhalb von 10 Minuten (*weiter mit Frage 9*)
- 7) Zeigen Sie mir bitte, wo diese Schmerzen oder Beschwerden lokalisiert sind.
 - Sternum (oberes oder mittleres Drittel)
 - Sternum (unteres Drittel)
 - Linksseitige vordere Brustwand
 - Linker Arm

(alle Angaben notieren)
- 8) Haben Sie diese Schmerzen oder Beschwerden sonst wo?
 - Ja (Notieren wo _____)
 - Nein

Anhang

- 9) Hatten Sie jemals einen schweren Schmerz über der Vorderseite Ihres Brustkorbes, der über 30 Minuten oder länger anhielt?
- Ja
 - Nein
- 10) Bekommen Sie Schmerzen beim Gehen in einem oder beiden Beinen?
- Ja
 - Nein (*falls nein, weiter mit Frage 19*)
- 11) Begann dieser Schmerz jemals beim Stehen in Ruhe oder beim Sitzen?
- Ja (*falls ja, weiter mit Frage 19*)
 - Nein
- 12) Wo im Bein empfinden Sie diesen Schmerz?
- Der Schmerz bezieht den oder die Unterschenkel ein.
 - Der Schmerz bezieht den oder die Unterschenkel nicht ein (*weiter Frage 19*)
- 13) Bekommen Sie diese Schmerzen beim Bergangehen oder raschen Gehen?
- Ja
 - Nein (*falls nein, weiter mit Frage 19*)
 - Ich gehe nicht bergan und gehe nicht rasch
- 14) Bekommen Sie diese Schmerzen beim Gehen in normalem Tempo in der Ebene?
- Ja
 - Nein
- 15) Ist der Schmerz jemals während des Gehens verschwunden?
- Ja (*falls ja, weiter mit Frage 19*)
 - Nein
- 16) Was machen Sie, wenn Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen bekommen?
- Ich halte an oder laufe langsamer
 - Ich laufe weiter (*weiter mit Frage 19*)
- 17) Wenn Sie anhalten, was passiert mit diesem Schmerz oder diesen Beschwerden?
- Es kommt zu einer Erleichterung
 - Es kommt zu keiner Erleichterung (*weiter mit Frage 19*)
- 18) Wie rasch?
- Innerhalb von 10 Minuten
 - Nicht innerhalb von 10 Minuten
- 19) Hatten Sie jemals einen Herzinfarkt, eine Bypass-Operation oder eine Aufdehnung von Herzkranzgefäßen mittels Herzkathter?
- Ja Details _____
 - Nein

Anhang

20) Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die länger als 24 Stunden angehalten haben?

- Ja Details _____
- Nein

21) Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die kürzer als 24 Stunden angehalten haben, oder plötzlichen Sehverlust weniger als 24 Stunden?

- Ja Details _____
- Nein

22) Sind Ihre Halsschlagadern aufgedehnt oder mittels Katheter aufgedehnt?

- Ja Details _____
- Nein

23) Sind Ihre Becken- oder Beinschlagadern mittels Bypass operiert oder aufgedehnt (dies umfasst keine Krampfader-OP)?

- Ja Details _____
- Nein

24) Ist bei Ihnen eine bösartige Tumorerkrankung oder eine chronische Entzündungserkrankung, etwa eine chronische Darmentzündung oder eine chronische Leberentzündung bekannt?

- Ja Details _____
- Nein

25) Hatten Sie in den letzten fünf Tagen einen akuten Infekt?

- Ja, ohne Fieber < 38,5 °C Details _____
- Ja, mit Fieber > 38,5 °C Details _____
- Nein

26) Haben Sie jemals geraucht?

- Ja
- Nein (*weiter mit Frage 31*)

27) Rauchen Sie aktuell?

- Ja (*weiter mit Frage 29*)
- Nein

28) Wann haben Sie die letzte Zigarette geraucht?

29) Wie viele Jahre haben Sie insgesamt geraucht?

30) Wie viele Päckchen haben Sie durchschnittlich am Tag über all diese Jahre geraucht?

Anhang

- 31) Hat Ihr Vater oder Ihre Mutter einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?
- Ja
 - Nein
- 32) Hat eines oder mehrere Ihrer Geschwister einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?
- Ja
 - Nein
- 33) Ist bei Ihnen ein Diabetes mellitus bekannt?
- Ja
 - Nein (*weiter mit Frage 35*)
- 34) Wie wird der Diabetes mellitus behandelt?
- Insulin
 - blutzuckersenkende Tabletten
 - Diät
- 35) An wie vielen Tagen der Woche bestätigen Sie sich mindestens 30 Minuten sportlich in einem Ausmaß, dass Sie ins Schwitzen kommen? (*falls „0“, weiter mit Frage 37*)
- _____
- 36) Welche Sportarten betreiben Sie hierbei mindestens einmal die Woche?
- _____
- 37) Wie viele Stunden täglich schauen Sie unter der Woche (werktags, Montag bis Freitag) fern?
- _____
- 38) Wie viele Stunden schauen Sie am Wochenende (Samstag bis Sonntag) fern?
- _____
- 39) Waren Sie zum Zeitpunkt der Blutentnahme über mindestens acht Stunden nüchtern (nüchtern schließt Nahrung und Kaffee aus)?
- Ja
 - Nein
- 40) Waren Sie zum Zeitpunkt der Ultraschalluntersuchung über mindestens acht Stunden nüchtern?
- Ja
 - Nein
- 41) Seit wann ist bei Ihnen eine Nierenerkrankung bekannt?
- _____

Anhang

42) Wenn Sie das letzte Jahr betrachten, wie viele Gläser Alkohol haben Sie durchschnittlich pro Woche, also Montag bis Sonntag, getrunken? Wie betrachten 0,35 l Bier, 0,120 l Wein oder 45 ml Spirituosen als ein Glas Alkohol.

Gesamt _____ Gläser

Bier _____ Gläser

Rotwein _____ Gläser

Weißwein _____ Gläser

Spirituosen _____ Gläser

43) Nehmen Sie regelmäßig (seit mindestens 14 Tagen täglich) oder gelegentlich (mindestens einmal in den letzten 14 Tagen) Medikamente oder Hormonpräparate wie die Pille ein?

- Ja
- Nein

44) Wie heißen diese Medikamente / Hormonpräparate?

45) Dürfen wir in einem, drei und fünf Jahren mit Ihnen, Ihren Angehörigen und / oder Ihrem Hausarzt telefonischen Kontakt aufnehmen, um uns nach Ihrem Gesundheitszustand zu erkundigen?

Mit Patient

- Ja Telefonnummer _____
- Nein

Mit Angehörigen

- Ja Telefonnummer und Name _____
- Nein

Mit Hausarzt

- Ja Telefonnummer und Name _____
- Nein

12.2 Einwilligungserklärung

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

im Rahmen Ihres ambulanten Besuches in unserer Abteilung laden wir Sie ein, an einer Untersuchung über den Zusammenhang zwischen Entzündungsparametern im Blut, Gefäßverkalkung (Atherosklerose) und chronischer Nierenerkrankung teilzunehmen. Hierzu benötigen wir Ihre Erlaubnis, eine Urinprobe und eine Blutprobe (54ml) für Laboruntersuchungen zu verwenden. Zusätzlich möchten wir Sie bitten, einen standardisierten Fragebogen zu Risikofaktoren und klinischen Zeichen einer Herz-Kreislaufkrankung durchzuführen. Der Zeitaufwand für diesen Fragebogen beträgt etwa 10 Minuten. Schließlich möchten wir gerne bei Ihnen eine ausführliche Ultraschalluntersuchung von Nieren- und Milzdurchblutung, Herzfunktion und Gefäßwänden durchführen, die etwa 60 Minuten dauern wird. Diese Ultraschalluntersuchung ist mit keinerlei Strahlenbelastung verbunden.

Innerhalb der ersten 5 Jahre nach dieser Untersuchung möchten wir nochmals mit Ihnen und / oder Ihrem betreuenden Arzt jährlich Kontakt aufnehmen, um uns über Ihren Gesundheitszustand zu erkundigen. Darüber hinaus möchten wir Ihnen zu diesen Zeitpunkten noch einmal eine Blutprobe (18ml) entnehmen und Sie um eine Urinprobe bitten.

Selbstverständlich ist die Teilnahme an dieser Untersuchung für Sie freiwillig. Wenn Sie mit der Teilnahme an unserer Untersuchung nicht einverstanden sind, entstehen Ihnen selbstverständlich keinerlei Nachteile in der medizinischen Behandlung.

Für Rückfragen stehen wir Ihnen jederzeit persönlich zur Verfügung.

Mit der Untersuchung bin ich

- einverstanden
- nicht einverstanden

Homburg, den _____

(Unterschrift)

12.3 Datenschutzerklärung

Mir ist bekannt, dass bei dieser klinischen Studie personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde über mich erhoben, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Die Verwendung der Angaben über meine Gesundheit erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor der Teilnahme an der klinische Studie folgende, freiwillig abgegebene Einwilligungserklärung voraus, d.h. ohne die nachfolgende Einwilligung kann ich nicht an der klinischen Studie teilnehmen.

1. Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhobene Daten, insbesondere Angaben über meine Gesundheit, in Papierform und auf elektronischen Datenträgern bei den Prüfarzten der beteiligten Klinik – Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten des Universitätsklinikums des Saarlandes – aufgezeichnet werden. Weiterhin erkläre ich mich einverstanden, dass im Rahmen von externen Überprüfungen wie etwa durch die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes Einsicht in meine Daten gewährt werden kann.

2. Ich bin über folgende gesetzliche Regelung informiert: Falls ich eine Einwilligung, an der Studie teilzunehmen, widerrufe, müssen alle Stellen die meine personenbezogenen Daten – insbesondere Gesundheitsdaten – gespeichert haben, unverzüglich prüfen, inwieweit die gespeicherten Daten noch erforderlich sind. Nicht mehr benötigte Daten sind unverzüglich zu löschen.

Name: _____

Datum: _____

Unterschrift: _____