

Aus der Klinik für Gastroenterologie und Gastrointestinale Onkologie
(Prof. Dr. med. V. Ellenrieder)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Anämien bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen
und die mögliche Bedeutung von Erythropoetin (EPO)
- Eine retrospektive Analyse des Göttinger mit Anti-TNF-
alpha-Antikörpern behandelten Patientenkollektivs -**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
für Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Cosima Frederike Ulrike Feldhaus (geb. Römer)

aus

Salzkotten

Göttingen 2019

Dekan:	Prof. Dr. med. W. Brück
Referent/in	Prof. Dr. med. D. Raddatz
Ko-Referent/in:	Prof. Dr. med. T. Legler
Drittreferent/in:	Prof. Dr. med. dent. R. Mausberg

Datum der mündlichen Prüfung: 01.03.2021

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Anämien bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und die mögliche Bedeutung von Erythropoetin (EPO) - Eine retrospektive Analyse des Göttinger mit Anti-TNF-alpha-Antikörpern behandelten Patientenkollektivs-" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den
.....
(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung	1
1.1 Die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.....	2
1.1.1 Enterocolitis regionalis (M. Crohn).....	2
1.1.1.1 Epidemiologie.....	3
1.1.1.2 Ätiologie und Pathogenese	3
1.1.1.3 Diagnostik.....	4
1.1.2 Colitis ulcerosa.....	5
1.1.2.1 Epidemiologie.....	8
1.1.2.2 Ätiologie und Pathogenese	8
1.1.2.3 Diagnostik.....	8
1.1.3 CED und Tumornekrosefaktor (TNF).....	9
1.1.3.1 Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α).....	9
1.1.4 Therapie der CED.....	10
1.1.4.1 TNF- α -Blocker	11
1.1.5 CED und Anämie.....	12
1.1.5.1 Erythropoetin.....	14
1.1.5.2 CED-assoziierte Anämie und EPO.....	16
1.1.5.3 CED-assoziierte Anämie, EPO und Einzelnukleotid-Polymorphismen.....	16
1.1.6 Immunologie und EPO bei CED.....	17
1.2 Fragestellung	18
2 Patienten und Methoden	19
2.1 Anämie	21
2.2 Marker der Entzündungsaktivität bei CED	22
2.3 Marker einer EPO-Resistenz.....	23
2.4 Bestimmung von EPO-GEN-Polymorphismen.....	23
2.5 Statistische Auswertung.....	24
3 Ergebnisse.....	27
3.1 Anämie im Gesamtkollektiv	28
3.2 Anämie und Entzündungsaktivität.....	34
3.2.1 Hämoglobin und CRP	35
3.3 EPO-Resistenz.....	36
3.3.1 EPO-Resistenz und Alter.....	36
3.3.2 EPO-Resistenz, Anämie und CED	38
3.3.3 EPO-Resistenz und Entzündungsaktivität.....	40
3.4 Anämie bei verschiedenen EPO-SNP	41

4	Diskussion.....	50
4.1	Methodische Vorbemerkungen.....	50
4.2	CED und Anämie.....	50
4.3	CED und EPO-Resistenz.....	52
4.4	SNP, CRP und EPO-Resistenz bei anderen Erkrankungen	55
4.4.1	CED und EPO-SNP	56
5	Zusammenfassung.....	58
6	Literaturverzeichnis	60

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Schema der Heparin-Funktion (nach van der Putten et al. 2008)	14
Abbildung 2 Anzahl der Laborkontrollen und Untersuchungsperioden	20
Abbildung 3 Anzahl der Laborkontrollen und Untersuchungsperioden bei SNP-Patienten.....	21
Abbildung 4 Histogramm Erythropoetin	24
Abbildung 5 Hämoglobin und Geschlecht.....	28
Abbildung 6 Hämoglobin bei Colitis ulcerosa und M. Crohn.....	29
Abbildung 7 Erythropoetin und Geschlecht bei Patienten mit Colitis ulcerosa und M.Crohn.....	30
Abbildung 8 Erythropoetin bei Colitis ulcerosa und M. Crohn.....	31
Abbildung 9 Hämoglobin, Erythropoetin und Geschlecht.....	32
Abbildung 10 Erythropoetin in Abhängigkeit von Anämie und Entität bei Patienten mit Colitis ulcerosa und M. Crohn.....	33
Abbildung 11 EPO/Hb-Quotient und Geschlecht in Schub und Remission	34
Abbildung 12 Erythropoetin und Geschlecht in Schub und Remission.....	35
Abbildung 13 Hämoglobin und CRP im gesamten Untersuchungszeitraum, getrennt nach Geschlechtern.....	36
Abbildung 14 EPO/Hb-Quotient in Abhängigkeit vom Alter	37
Abbildung 15 Anämie und EPO/Hb-Quotient bei beiden CED.....	38
Abbildung 16 Anämie, EPO/Hb-Quotient und Geschlecht bei beiden CED.....	39
Abbildung 17 EPO/Hb-Quotient, Hämoglobin und Geschlecht.....	40
Abbildung 18 EPO/Hb-Quotient und Entzündungsaktivität	41
Abbildung 19 EPO-SNP im Patientenkollektiv.....	42
Abbildung 20 Hämoglobin und EPO-SNP im Gesamtkollektiv	44
Abbildung 21 Hämoglobin bei verschiedenen EPO-SNP und Geschlecht.....	45
Abbildung 22 Erythropoetin und CRP bei verschiedenen EPO-SNP.....	48

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Montreal-Klassifikation des M. Crohn.....	5
Tabelle 2 Montreal-Klassifikation der Colitis ulcerosa	6
Tabelle 3 Extraintestinale Manifestationen (ohne Anämie) bei Colitis ulcerosa und M. Crohn.....	7
Tabelle 4 Normalwerte-Hämoglobin (nach Haferlach et al. 2012)	21
Tabelle 5 Blutparameter in Schub und Remission (nach Haferlach et al. 2012)	22
Tabelle 6 Drei Ausreißer mit hohen Serumwerten von Erythropoetin.....	31
Tabelle 7 ANOVA zu EPO/Hb-Quotient in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht.....	37
Tabelle 8 Verteilung der Genotypfrequenzen nach Hardy-Weinberg.....	42
Tabelle 9 EPO-SNP und Alter der 45 Patienten	43
Tabelle 10 EPO-SNP und Geschlecht.....	43
Tabelle 11 EPO-SNP und CED	43
Tabelle 12 ANOVA zu Hämoglobin in Abhängigkeit von SNP und Geschlecht	46
Tabelle 13 Blutparameter und EPO-SNP.....	47
Tabelle 14 ANOVA mit Mehrfachvergleichen Erythropoetin und CRP in Abhängigkeit von EPO-SNP.....	49

Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	Varianzanalyse
CARD15	<i>caspase recruitment domain gene</i>
CED	chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CRP	C-reaktives Protein
d. h.	das heißt
EPO	Erythropoetin
ERI	<i>erythropoetin resistance index</i>
GI	Gastrointestinaltrakt
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht)
IL	Interleukin
i.v.	intravenös
MW	Messwert
n. s.	nicht signifikant
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
SD	Standardabweichung
SNP	<i>single nucleotide polymorphisms</i>
TNF	Tumornekrosefaktor

1 Einleitung

Morbus Crohn (M. Crohn) und Colitis ulcerosa sind chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED) mit bislang nicht abschließend geklärter Ätiologie. Zu ihrer Pathogenese gibt es verschiedene Modelle. So wird vermutet, dass sie die Folge mehrerer Kausalfaktoren sind, zu denen genetische, immunologische bzw. immunpathologische, mikrobielle und Umweltfaktoren zählen; auch für eine psychosomatische Genese finden sich Hinweise. Im Resultat entsteht eine inadäquate Immunantwort auf mikrobielle Antigene kommensaler Mikrobiota.

Beide Krankheiten sind durch chronisch rezidivierende, in Schüben verlaufende Entzündungen der Darmmukosa charakterisiert, ihre differentialdiagnostische Unterscheidung wird aufgrund anamnestischer, labordiagnostischer, radiologischer, endoskopischer und histologischer Untersuchungen getroffen (Monsén 1990).

Die Erstmanifestation von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen liegt meist zwischen der zweiten und vierten Lebensdekade.

Aktuell ist in den westlichen Industriestaaten etwa einer von 1.000 Menschen an einer entzündlichen Darmerkrankung erkrankt; in Deutschland allein sollen es mehr als 300.000 sein (Baumgart 2009).

In den letzten 50 Jahren ist ein deutlicher Anstieg von Inzidenz und Prävalenz der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zu beobachten, d. h. nach aktuellen Angaben hat sich die Inzidenz für Colitis ulcerosa in diesem Zeitraum von acht auf 14 pro 100.000 Einwohner, die Prävalenz von 120 auf 200, die Inzidenz für M. Crohn von sechs auf 15, die Prävalenz von 50 auf 200 erhöht (Cosnes et al. 2011).

1.1 Die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

Wegen der Ähnlichkeit des Beschwerdebildes soll zunächst das Reizdarmsyndrom (Colon irritabile) erwähnt und differenziert werden.

Seine Ätiologie ist wahrscheinlich multifaktoriell und sowohl von biologischen, psychologischen und sozialen Faktoren bestimmt. Auch das Colon irritabile ist die Folge einer gestörten Funktion von Dünndarm oder Dickdarm und ist mit Bauchkrämpfen, Durchfällen oder auch Obstipation verbunden. Es gibt aber viele Hinweise, dass die ursächlichen Pathomechanismen nicht auf der Ebene von Darmmukosa und/oder Immunsystem zu suchen sind, vor allem weil Darmblutungen, Temperaturanstieg oder Leukozytose fehlen.

Vielmehr wird die Ursache der viszeralen Hyperalgesie oder Hypersensitivität letztlich in einer fehlgeleiteten Prozessierung afferenter viszeraler Reize (Hypervigilanz) im peripheren, spinalen und/oder zentralen Nervensystem gesucht. So könnte sich auch der deutliche Einfluss von Stress und negativen Emotionen auf die Häufigkeit und Heftigkeit der Symptome über die sog. Hirn-Darm-Achse vermitteln (Elsenbruch 2011; Neumaier 2010).

1.1.1 Enterocolitis regionalis (M. Crohn)

M. Crohn ist eine diskontinuierlich segmental auftretende, transmurale Entzündung der Mukosa des gesamten Gastrointestinaltraktes. Sie kann von der Mundhöhle bis zum After jeden Abschnitt des Gastrointestinaltrakts betreffen, am häufigsten aber das terminale Ileum und den Übergang zu Zökum und Colon ascendens. Bei etwa einem Drittel der Patienten kommt es auch zu einem perianalen Befall mit Ausbildung perianaler und/oder rektovaginaler Fisteln.

Beim M. Crohn sind rezidivierende, teils kolikartige abdominelle Schmerzen kennzeichnend, besonders im rechten Unterbauch. Dort können dann druckschmerzhaft Resistenzen tastbar sein, abhängig von der Lokalisation des Entzündungsprozesses auch in anderen Bereichen. Die Schmerzen sind in der Regel mit chronischen, meist nicht blutigen Diarrhöen verbunden. Infolge der gestörten Resorption gelöster Nahrungsbestandteile durch die entzündete Darmmukosa erleiden bis zu 60 % der Patienten einen Gewichtsverlust. Patienten mit M. Crohn haben eine höhere Mortalität als die Durchschnittsbevölkerung; bei 80 %

wird im Laufe ihres Lebens eine Darmoperation notwendig, 10 % benötigen schließlich ein permanentes Stoma (Cosnes et al. 2011).

1.1.1.1 Epidemiologie

Bei präziseren Bestimmungen von Inzidenz und Prävalenz des M. Crohn finden sich typische ethnische, rassische und regionale Unterschiede.

Die höchsten Prävalenzraten werden aus Skandinavien, Großbritannien und den USA berichtet (Hadrich et al. 2007). Verglichen mit den westlichen Industrienationen ist die Prävalenz und Inzidenz von M. Crohn in Asien niedriger, allerdings ebenfalls mit steigender Tendenz.

Global und innerhalb einzelner Länder gibt es ein typisches Nord-Süd-Gefälle der Prävalenzen von M. Crohn (Sonnenberg 1986). Unterscheidet man verschiedene Ethnien, findet sich die höchste Prävalenz in der jüdischen Bevölkerung (Zvidi et al. 2009).

1.1.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Die Ätiologie des M. Crohn gilt als noch ungeklärt. Meist wird eine multikausale Pathogenese aus genetischen, immunpathologischen und Umweltfaktoren vermutet.

Als genetische Grundlage (einer autoimmunologischen Disposition) wurde eine Kopplung mit den Chromosomen 12 und 16 identifiziert. Auf Chromosom 16 befindet sich das NOD2-Gen, das Caspase-Recruitment-Domain-Gen (CARD15). Heute weiß man, dass CARD15-Mutationen mit einer Erhöhung des Risikos verbunden sind an M. Crohn zu erkranken (Billmann-Born et al. 2011; Mascheretti und Schreiber 2005). Einen weiteren Hinweis auf eine genetische Grundlage liefern Familienstudien, die ein erhöhtes Risiko bei Familienmitgliedern ersten Grades von Patienten mit CED zeigen; bei Zwillingsstudien finden sich aber auch widersprüchliche Ergebnisse (Halfvarson et al. 2003; Oostenbrug et al. 2003). In Familienstudien zeigen sich auch Hinweise auf eine Überlappung bestimmter krankheitsassoziierter Gene für M. Crohn sowie Colitis ulcerosa (Borg et al. 2010).

Die Epithelzellen der Darmmukosa sind ständig mit einer komplexen Darmflora konfrontiert. NOD2 reguliert die Konzentration von DMBT1, einem Cystein-reichen Protein der Mukosa. Dieses Protein scheint eine prominente Rolle in der ersten

Verteidigungslinie der mukosalen Barriere gegen Antigene der Bakterienmembran zu bilden. Ist die intestinale Expression von DMBT1 infolge von Mutationen des NOD2/CARD15-Gens dysreguliert, kann dies zu Funktionsstörungen der mukosalen Barriere, zu einer Zytoinvasion von Bakterien bzw. einer Störung der Immuntoleranz gegenüber Darmbakterien führen. Die gestörte Permeabilität der Darmschleimhaut scheint ätiologisch bedeutsam zu sein, denn Crohn-Patienten reagieren auf nicht-stereoidale Antirheumatika (NSAR) mit einer deutlicheren Lösung der tight junctions und einer erhöhten mukosalen Permeabilität. So soll die Mukosa empfindlich gegenüber Bakterien und Toxinen werden, mit der Folge einer chronischen Entzündungsreaktion. Bei ihnen ist die natürliche Toleranz gegenüber der normalen Darmflora durchbrochen und es finden sich Antikörper gegen bakterielle Allergene. Für die chronisch entzündliche Erkrankung scheint schließlich weniger ein konkretes Bakterium mit einem besonderen Antigenprofil als der Verlust der Immuntoleranz verantwortlich (Landers et al. 2002; Rosenstiel et al. 2007; Yu et al. 2011).

1.1.1.3 Diagnostik

Laborchemisch fällt die Erhöhung von Entzündungsparametern (BSG, CRP, bei Abszessen auch Leukozytose) auf, oft zeigt sich eine Eisenmangelanämie.

Die wichtigste diagnostische Maßnahme ist die Durchführung einer Endoskopie.

Mit der Ösophagogastroduodenoskopie (ÖGD) ist die Beurteilung des oberen Gastrointestinaltraktes möglich. Für die Enteroskopie, d. h. die Untersuchung des Dünndarms, ist ein überlanges Endoskop erforderlich; die Beurteilung des terminalen Ileums wird retrograd über eine Koloskopie vorgenommen.

Ein wesentliches Charakteristikum ist der segmentale Befall mit diskontinuierlich verbreiteten aphtösen Ulzera und die granuläre Entzündung inmitten normal erscheinender Schleimhautinseln, vor allem im terminalen Ileum.

Die transmurale Entzündung zeigt sich auch in der ödematösen, fibrosierenden Verdickung der Darmwand. Außerdem imponiert das sog. Pflastersteinphänomen, das Muster von entzündeter Schleimhaut mit tiefen Ulzerationen und intakter Mukosa.

Bei der Diagnostik des M. Crohn ist heute die Doppelkontrastdarstellung des Dünndarms nach Sellink Standard (Antes 2007; Persigehl und Feuerbach 2007).

Beim Enteroklysma nach Sellink wird über eine ins Duodenum gelegte Sonde Kontrastmittel in den Dünndarm injiziert. Dadurch können Strikturen, Stenosen und Fisteln beurteilt werden. Heute wird zunehmend die Magnetresonanztomographie verwendet, da so endoskopisch nicht erreichbare Darmabschnitte beurteilt werden können und die Strahlenbelastung entfällt. Im Gegensatz zum Enteroklysma kann auch eine Aussage zur Darmwanddicke getroffen werden.

Zur Einteilung des M. Crohn ist die Montreal-Klassifikation am gebräuchlichsten (Satsangi et al. 2006). Sie gewährleistet ein Gesamtbild der Erkrankung unter Einschluss des Befallsmusters in den verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes (GI-Trakt), berücksichtigt die Art zusätzlicher Komplikationen (Strikturen, Abszesse, Fisteln) und das Alter des Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose (Tab.1).

Tabelle 1 Montreal-Klassifikation des M. Crohn

A1	< 16 Jahre bei Diagnose
A2	> 17–40 Jahre bei Diagnose
A3	> 40 Jahre bei Diagnose
L1	terminales Ileum
L2	Kolon
L3	Ileokolon
L4	oberer GI-Trakt
L4+	unterer GI-Trakt und distale Erkrankung
B1	nicht strikturierend, nicht penetrierend
B2	strikturierend
B3	intern penetrierend
B3p	perianal penetrierend

1.1.2 Colitis ulcerosa

Die Colitis ulcerosa ist die zweite chronisch entzündliche Darmerkrankung. Bei ihr ist nur die Mukosa mit Bildung von Ulzerationen betroffen. In der Regel bleiben diese Verände-

rungen auf das Rektum bzw. Rektosigmoid begrenzt, von dem sie sich kontinuierlich oralwärts ausbreiten können. Charakteristisch für das klinische Bild sind blutig-schleimige Durchfälle mit schmerzhafter Defäkation. Zumeist verläuft die Erkrankung in Phasen, bei denen sich aktive Krankheitsphasen mit Phasen der Remission abwechseln; auch chronisch aktive Verlaufsformen sind möglich.

Auch hier ist die Montreal-Klassifikation am gebräuchlichsten. Sie teilt die Colitis ulcerosa abhängig von ihrer anatomischen Ausbreitung in Proktitis, linksseitige Colitis oder Pancolitis auf. Selten breitet sich die Entzündung in den hinteren Teil des terminalen Ileums aus und wird noch als Backwashileitis in die Kategorie E3 (Pancolitis) einbezogen (Tab.2).

Tabelle 2 Montreal-Klassifikation der Colitis ulcerosa

E1	Proktitis
E2	Linksseitencolitis
E3	Pancolitis

Gemäß des Befallsmusters erfolgt eine Unterteilung der Erkrankung in drei große Gruppen: bei ungefähr 50 % der Patienten zeigt sich ein alleiniger Befall des Rektosigmoids, ca. 25 % leiden an einem zusätzlichen Befall des linksseitigen Kolons, die restlichen 25 % leiden an einer Pankolitis.

Wegen der starken Flüssigkeitssekretion ins Darmlumen haben die Patienten häufige, auch nächtliche Stuhlentleerungen. Bei extremen Durchfällen können sie auch einen Gewichtsverlust erleiden, bei M. Crohn besonders aber wegen der gestörten Resorption von Nährstoffen. In ausgeprägten Fällen kommt es wegen der Überforderung der Nieren auch zu einer Verschiebung im Flüssigkeits- bzw. Säure-Basen-Haushalt.

Es gibt auch extraintestinale Manifestationen der Colitis ulcerosa, jedoch seltener als bei Patienten mit M. Crohn. Bei Patienten mit Colitis ulcerosa bleiben die Darmläsionen an der Oberfläche der Mukosa und breiten sich in proximaler Richtung aus. Im Laufe ihres Lebens wird bei 10-30 % der Patienten eine Kolektomie notwendig; ihre Mortalität ist nicht größer als die der Durchschnittsbevölkerung (Cosnes et al. 2011).

Ohne Berücksichtigung von Anämie fanden Vavricka et al. (2011) in einer aktuellen Untersuchung von 950 Patienten mit CED folgende Verteilung extraintestinaler Manifestationen (Tab.3).

Tabelle 3 Extraintestinale Manifestationen (ohne Anämie) bei Colitis ulcerosa und M. Crohn

	Colitis ulcerosa (%)	M. Crohn (%)
Arthritis	21	33
Aphtöse Stomatitis	4	10
Uveitis	4	6
Erythema nodosum	3	6
Ankylosierende Spondylitis	2	6
Psoriasis	1	2
Pyoderma gangraenosum	2	2
Primär sklerosierende Cholangitis	4	1

Man kann an der Tabelle von Vavricka et al. (2011) deutlich erkennen, dass Patienten mit M. Crohn häufiger extraintestinale Manifestationen haben als die mit Colitis ulcerosa.

Patienten mit einem Erythema nodosum bemerken schmerzende, überwärmte, gerötete, leicht erhabene Hautläsionen. Das Pyoderma gangraenosum beginnt mit einer eitrigen Pustel, die sich als erstes in einen sterilen Abszess und später in ein Schmerzen verursachendes Ulkus umwandelt. Die Arthropathien werden meist im Knie- und Sprunggelenk bemerkt, obwohl häufig bei körperlichen Untersuchungen und mit bildgebenden Verfahren keine pathologischen Befunde objektiviert werden können. Bei der primär sklerosierenden Cholangitis (PSC) verstärken sich oder treten zur Symptomatik der Grunderkrankungen noch Gewichtsverlust, Ikterus, Juckreiz und Oberbauchbeschwerden hinzu (Moayyeri et al. 2005).

1.1.2.1 Epidemiologie

Der Altersgipfel für die Inzidenz der Erkrankung liegt zwischen dem 15. und 25. Lebensjahr, häufig ein weiterer um das 60. Lebensjahr.

1.1.2.2 Ätiologie und Pathogenese

Es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass bei der Pathogenese von Colitis ulcerosa wie auch von M. Crohn eine überschießende Aktivierung des mukosalen Immunsystems auf luminal Antigenen der Schlüsselfaktor ist. Dabei spielen Veränderungen der Zellmigration und die Produktion verschiedener Zytokine eine dominante Rolle (Neurath und Schurmann 2000).

Auch für die Colitis ulcerosa werden extraintestinale Manifestationen (Hautkrankheiten, rheumatische Beschwerden) in unterschiedlicher Häufigkeit (siehe Tab.3) beschrieben (Neurath und Schurmann 2000). Es gibt deshalb neuerdings auch Vermutungen, ob nicht all diese Krankheiten nur verschiedene Manifestationen ein und desselben immunpathologischen Geschehens sind (Rudwaleit und Baeten 2006).

1.1.2.3 Diagnostik

Die Koloskopie bildet nach wie vor den Goldstandard bei der Diagnose einer Colitis ulcerosa; sie erlaubt auch eine Einschätzung der Aktivität des Entzündungsgeschehens sowie des Karzinomrisikos (Götz und Kiesslich 2009).

Keine Routinetechnik bzw. noch im experimentellen Stadium sind Chromoendoskopie und konfokale Endomikroskopie: Dabei werden mit Antikörpern konjugierte Fluoreszenzfarbstoffe während der Endoskopie auf die Mukosaoberfläche aufgesprüht. Dies soll eine bessere Erkennung von Details erlauben, auch von ansonsten optisch nicht auffälligen Mukosaveränderungen, die durch eine anschließende Biopsie und Histologie objektiviert werden können (Bojarski 2009; Götz und Kiesslich 2009).

1.1.3 CED und Tumornekrosefaktor (TNF)

Der Tumornekrosefaktor ist ein multifunktionales, proinflammatorisches Zytokin mit einer zentralen Bedeutung bei der Entwicklung und Homöostase des Immunsystems und ein Regulator von Zellaktivierung, Zelldifferenzierung und Zelltod (Kollias 2005). Das Zytokin erhielt diese Bezeichnung, da TNF eine hämorrhagische Nekrose in Tumoren erzeugen kann (Balkwill 2009).

Aktuell werden zwei Subtypen des TNF unterschieden: TNF- α (Kachektin) und TNF- β (Lymphotoxin). TNF- α wird hauptsächlich von Monozyten und Makrophagen sezerniert, TNF- β von Lymphozyten.

Beide Zytokine wirken zytotoxisch auf Tumorzelllinien und wirken proinflammatorisch durch die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten, antiviral durch die Interaktion mit Interferon- γ (Levi-Schaffer et al. 1998).

Es gibt Hinweise, dass die TNF-Sekretion aus Makrophagen bei Patienten mit CED gestört ist (Campos et al. 2011).

1.1.3.1 Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α)

Das Polypeptid Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) spielt eine Schlüsselrolle bei der Orchestrierung der gesamten Zytokin-Kaskade bei vielen Entzündungskrankheiten (Parameswaran und Patial 2010). TNF- α ist ein nicht glykolysiertes Protein mit einer atomaren Masseneinheit von 17 kDa; es hat einen zytotoxischen Effekt auf Tumor- und virus-infizierte Zellen. TNF- α zählt zu den Mediatoren, die in der Frühphase einer Allergie vom Soforttyp freigesetzt werden.

TNF- α ist auch in endoskopisch normal erscheinender Darmschleimhaut von CED-Patienten vermehrt exprimiert und kann die Integrität der intestinalen epithelialen Barriere zerstören. Im Biopsat von Patienten mit M. Crohn lässt sich dies sogar auch während einer Remission feststellen (Hindryckx et al. 2010; Raddatz et al. 2005).

Es wird auch mit Formen von Anämie in Verbindung gebracht, die zusammen mit Karzinomen oder auch einem allgemeinen Entzündungsgeschehen vorkommen. Wenn solche Anämien entstehen, reduzieren sie die Lebensqualität von Patienten und deren Prognose (Buck et al. 2008).

Es ist anzunehmen, dass TNF- α erst im Zusammenspiel mit vielen weiteren Faktoren wirksam wird.

1.1.4 Therapie der CED

Vor jeder medikamentösen Therapie sollten die diätetischen Gewohnheiten und der Lebensstil der Patienten überprüft werden. Morbus-Crohn-Patienten sollten insbesondere das Rauchen einstellen, das Exazerbationen und Komplikationen begünstigt (Carbonnel et al. 2009).

Durch die medikamentöse Therapie soll bei beiden CED eine rasche Remission und Prävention von Erkrankungs- und Therapiekomplikationen erreicht werden, möglichst ohne Verwendung von Steroiden.

Heute wird die Entscheidung für Medikamente und der Zeitpunkt ihres Einsatzes meist entlang eines Stufenschemas diskutiert, d. h. ob hochpotente Wirkstoffe wie Anti-TNF-Biologika erst nach dem (erfolglosen) Einsatz anderer Medikamente verwendet werden sollten oder gleich zu Beginn einer CED (bottom-up).

Bei leichten Verläufen wird eine Induktionstherapie mit dem Kortisonderivat Budesonid empfohlen, bei aggressiveren Verläufen kann auch intravenöses Methylprednisolon bis 60 mg/d, bei einem steroidrefraktären Verlauf auch Ciclosporin eingesetzt werden.

Zu den etablierten antientzündlichen bzw. immunsuppressiven Medikamenten zählen 5-Aminosalicylsäure-Präparate (Mesalazin), Purinanaloga wie 6-Mercaptopurin, Immunsuppressiva wie Azathioprin, bei Versagen oder Unverträglichkeit auch Methotrexat.

Eine andere Strategie (top-down) bedeutet der frühe Einsatz von TNF- α -Blockern, mit dem besser (Spät)komplikationen der CED vermieden werden sollen, die aber gegen die hohe Rate von Nebenwirkungen und die hohen Kosten abgewogen werden muss; viele Patienten wären übertherapiert.

Wie alle immunmodulatorisch wirkenden Medikamente können sie, wenn auch in geringerer Quote als Steroide, eine Leukopenie, die Exazerbation einer Tuberkulose, einer Hepatitis oder sogar opportunistische Infektionen oder Autoimmunerkrankungen bewirken; auch die Auslösung von Schüben bei multipler Sklerose und anderen Erkrankungen des zentralen Nervensystems sind beschrieben. Neben der Verschlechterung einer kongestiven Herz-

insuffizienz wird auch eine höhere Rate von Malignomen mit TNF- α -Blockern in Verbindung gebracht (Stallmach et al. 2010; Weisman 2002).

1.1.4.1 TNF- α -Blocker

Der in der vorliegenden Studie verwendete TNF- α -Blocker Infliximab (Remicade[®], Centocor, Horsham Pennsylvania, USA) ist ein biotechnologisch hergestellter monoklonaler IgG-Antikörper gegen Tumornekrosefaktor- α (IgG1-Antikörper cA2).

Er ist ein chimäres Protein mit 25-prozentigem Mausanteil, d. h. die variablen Regionen werden über eine murine Myelomzelllinie gebildet, die konstanten Regionen haben humanen Ursprung. Als biotechnologisch hergestelltes Eiweiß, das körpereigenen Substanzen sehr ähnlich ist und deshalb (immunologische) Regulationsmechanismen des Organismus modulieren kann, zählt es zu den sog. Biologics.

Infliximab wurde ursprünglich zur Therapie der rheumatoiden Arthritis entwickelt, in Ersatz von oder meist als Ergänzung zu einer Monotherapie mit Methotrexat bei Non-Respondern auf Methotrexat. Der TNF- α -Antikörper wird mit Erfolg auch bei anderen Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises wie der Spondylitis ankylosans und der Psoriasisarthritis eingesetzt (Braun und Sieper 2004), denn in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit chronischer Polyarthritis ist TNF- α stark erhöht und trägt zur entzündlichen Degeneration des Gelenkknorpels bei (Gottlieb und Antoni 2004).

Neben Infliximab sind einige weitere TNF- α -Blocker etabliert; so der humane IgG 1-Antikörper Adalimumab (Humira[®], Abbott Laboratories, BRD). Auch für eine Therapie von CED wurde das dimere Fusionsprotein Etanercept (Enbrel[®], Wyeth, BRD) mit zwei TNF- α -Rezeptoren entwickelt, die an ein Fc-Antikörperfragment gekoppelt sind, oder der lösliche humane TNF- α -Rezeptor Onercept (Serono[®], Merck, BRD). Etanercept blieb allerdings bei CED wirkungslos und Onercept erhielt keine Zulassung.

Eine Therapie mit TNF- α -Blockern ist kostenintensiv, mit ihr lässt sich aber eine rasche Verbesserung der Symptomatik einer rheumatoiden Arthritis erzielen. In großen Vergleichsstudien wurde eine signifikante Verbesserung entlang der Parameter Mobilität, Breite des Gelenkspaltes, Erosionen an den Gelenkflächen und Serumkonzentration von Akute-Phase-Proteinen nachgewiesen (Solomon 2007). Auch gute Resultate bei der Therapie von

M. Crohn und Colitis ulcerosa mit einer Reduktion von Durchfällen und einer verbesserten Abheilung der entzündeten Mukosa sind ebenfalls längst bekannt (Reinisch et al. 2011).

Wie bei allen immunsuppressiv bzw. immunmodulierend wirkenden Medikamenten muss auch bei der Verwendung von Infliximab die angezielte therapeutische Wirkung gegen eine Reihe von potenziellen Nebenwirkungen abgewogen werden.

Dazu zählt insbesondere die Möglichkeit einer Exazerbation von viralen oder bakteriellen Infektionen (Nakase und Chiba 2010).

So kann durch Infliximab eine latente Tuberkulose reaktiviert werden, weshalb vor einer Therapie mit TNF- α -Blockern bei den Patienten das Vorliegen einer Tuberkulose auszuschließen ist (Silva et al. 2012). Auch eine chronische Hepatitis B und C kann unter Therapie mit TNF- α -Blockern exazerbieren. Ein erhöhtes Risiko von Infektionen mit anderen (opportunistischen) Keimen zusammen mit einer klinisch signifikanten Leukopenie unter Therapie mit Infliximab ist ebenfalls nachgewiesen (Weisman 2002).

Inwieweit das Karzinomrisiko unter Therapie mit TNF- α -Blockern steigt, gilt noch als umstritten (Horneff et al. 2011).

1.1.5 CED und Anämie

Von einer Anämie spricht man, wenn bei Männern ein Gehalt von 14,0 g Hämoglobin (Hb), bei Frauen ein Gehalt von 12,0 g pro 100 ml Vollblut unterschritten wird (Stein et al. 2009). Anämie ist die häufigste extraintestinale Komplikation bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Sie schränkt den Allgemeinzustand und die Lebensqualität der Patienten erheblich ein und macht häufig eine klinische Behandlung erforderlich (Giannini und Martes 2006). Die häufigsten Anämieformen bei CED sind die Eisenmangelanämie und die Anämie chronischer Erkrankungen (anemia of chronic disease). Nach einer aktuellen Untersuchung an 429 Patienten aus dem skandinavischen Raum hat jeder fünfte Patient mit CED eine Anämie, davon jeder dritte eine Eisenmangelanämie, mit einer signifikant größeren Prävalenz unter Patienten mit M. Crohn als solchen mit Colitis ulcerosa (Bager et al. 2011). Ursache ist hauptsächlich die gestörte Eisenresorption im Duodenum (Lomer et al. 2004).

Die Anämie chronischer Erkrankungen ist immunvermittelt, wobei Zytokine und Zellen des retikuloendothelialen Systems eine Dysregulation der Eisenhomöostase herbeiführen.

Auf der pathophysiologischen Endstrecke der Anämie chronischer Erkrankungen kommt es zu erhöhter Eisenresorption und späterer Eisenretention in den Zellen des retikuloendothelialen Systems. Diese Umverteilung des Eisens in intrazelluläre Eisenspeicher verursacht eine effektive Hypoferrämie, d. h. einen funktionellen Eisenmangel mit nachfolgender Einschränkung der Proliferation von erythroiden Vorläuferzellen, der gesamten Erythropoese und der Lebensspanne von Erythrozyten (Burpee et al. 2011; Weiss und Goodnough 2005).

Die Hypoferrämie ist ihrerseits das Resultat einer veränderten, Zytokin-vermittelten Expression von Eisentransportern. So verursachen die proinflammatorischen Zytokine beta-Interferon, Lipopolysaccharid und der in der vorliegenden Arbeit besonders interessierende Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) einerseits eine transkriptionelle Hochregulierung des Importers divalent metal transporter 1 (DMT1), der eine höhere Aufnahme von Eisen in Makrophagen bewirkt. Andererseits wird die Expression des transmembranösen Exporters Ferroportin gehemmt; die Hypoferrämie entsteht dann durch die Verlagerung von Eisen aus dem Plasma in das retikuloendotheliale System (Ludwiczek et al. 2003; Weiss und Goodnough 2005).

Das Eisen regulierende Hormon Heparin, ein Peptid aus 25 Aminosäuren, das in Hepatozyten synthetisiert wird, bindet seinerseits an den basolateralen Eisenkanal Ferroportin und bewirkt dessen Internalisation und Degradation. In der Folge sinkt die Eisenresorption aus dem Dünndarm wie auch der Efflux von Eisen aus hepatischen Makrophagen in das Plasma (Abb.1).

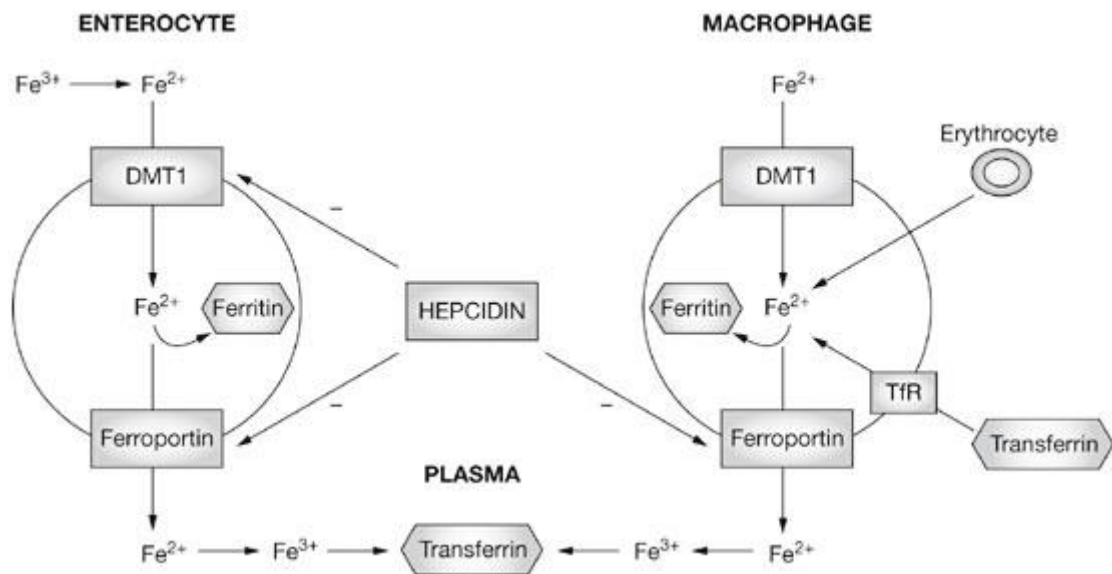


Abbildung 1 Schema der Hepcidin-Funktion nach van der Putten et al. (2008).
Mit freundlicher Genehmigung der Verfasser.

Stimuliert durch Entzündungsprozesse bewirkt Hepcidin eine weitere Ansammlung von Eisen in Makrophagen und eine Hypoferrämie mit nachfolgender Anämie. So wird auch vermutet, dass Veränderungen in der Syntheserate von Hepcidin für Non-Responder auf hämatopoetische Therapieversuche verantwortlich sind (Ganz 2007).

1.1.5.1 Erythropoetin

Erythropoetin (EPO) ist ein Glykoprotein-Hormon. Es besteht aus 165 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht zwischen 34 und 39 kDa und vier Zuckerketten. Das zugehörige Gen besitzt fünf Exons und ist auf dem Chromosom 7 lokalisiert (Heinrich et al. 2006).

Das Zytokin ist ein Wachstumsfaktor für erythroide Progenitorzellen im Knochenmark - BFU-E (burst-forming-unit) und CFU-E (colony-forming-unit) - bzw. inhibiert deren Apoptose. Über die Serumkonzentration von Erythropoetin ist die Rate der Erythrozytenproduktion bestimmt. Die Syntheserate von EPO ist selbst invers mit der Sauerstoffverfügbarkeit im Gewebe korreliert, so dass über diesen Rückkopplungsmechanismus unter physiologischen Bedingungen eine angemessene Erythropoese gewährleistet wird (Eckardt und Kurtz 2005). Unter physiologischen Bedingungen liegt die Plasmakonzentration von

EPO mit tageszeitlichen Schwankungen bei gesunden Frauen und Männern bei 10-25 mU/ml und kann bei Hypoxämie exponentiell ansteigen (Erslev et al. 1980).

Mittlerweile sind viele Syntheseschritte von EPO identifiziert, einschließlich der Bindungsstellen für Hypoxie-induzierbare Proteine (HIF-1alpha und HIF-2alpha) an regulatorische Elemente des Erythropoetin-Gens (Eckardt und Kurtz 2005; Warnecke et al. 2004).

Erythropoetin wird hauptsächlich in den Fibroblasten des peritubulären Interstitiums der Nierenrinde gebildet, ein kleinerer Anteil auch in Hepatozyten, der Gebärmutter und im Gehirn. Eine Hypoxie durch Aufenthalt in der Höhe, durch ischämische Erkrankungen oder durch ein Tumorwachstum ist der zentrale Stimulus für die Bildung von Erythropoetin (Silbernagl und Lang 2009).

Für die Therapie einer Anämie, anfänglich nur bei der chronischen Niereninsuffizienz, zunehmend auch bei der Anämie chronischer Erkrankungen in Verbindung mit Karzinomen oder der rheumatoiden Arthritis, steht seit 1985 gentechnologisch hergestelltes, rekombinantes humanes Erythropoetin (rHuEPO) mit einem hohen Sicherheitsprofil und Behandlungskomfort zur Verfügung, denn rHuEPO lässt sich subkutan applizieren. Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz lässt sich durch eine Therapie mit rHuEPO der Transfusionsbedarf senken und eine signifikante Verbesserung der Lebensqualität und der Überlebensrate herbeiführen (Aadland et al. 1987; Jacobs et al. 1985).

Dabei kann es mit der Anhebung des Hämatokrits und der damit verbundenen Zunahme der Blutviskosität zu einer Erhöhung von Blutdruck und Infarktrisiko kommen. Gleichzeitig verursacht die steigende Hb-Synthese einen erhöhten Eisenbedarf, der eine adäquate Eisensupplementierung erfordert. Bei Dialyse-Patienten wird schließlich mit wachsender Behandlungsdauer auch die Entwicklung einer EPO-Resistenz beobachtet, bei der mit einer konstanten Dosierung der Zielwert von Hb nicht erreicht wird oder kontinuierlich wachsende Dosierungen für die Erreichung des Zielwerts benötigt werden. Es gibt vermehrt Hinweise, dass dies durch proinflammatorische Zytokine wie TNF- α verursacht wird, die einen hemmenden Effekt auf EPO-Rezeptoren auf erythroiden Progenitorzellen entwickeln (van der Putten et al. 2008).

1.1.5.2 CED-assoziierte Anämie und EPO

Patienten mit CED-assoziiierter Anämie sprechen zu einem gewissen Anteil nicht auf Therapien mit Eisenpräparaten an. Bei ihnen bietet sich eine Therapie mit rHuEPO an (Sandborn 1997). So lässt sich zusammen mit einer intravenösen Zufuhr von Eisen als Therapie der ersten Wahl ein fast normaler Hämoglobinwert von 11-12 g/dl erreichen (Moreno Lopez et al. 2009). Es zeigt sich aber, dass bei Patienten während eines entzündlichen Schubs höhere Dosen von rHuEPO erforderlich sind um eine ausreichende Blutbildung zu induzieren. In solchen Fällen spricht man von einer EPO-Resistenz, deren Ursache wahrscheinlich im Zusammenwirken der vorgenannten Zytokine zu suchen ist. (Eckardt 2002).

1.1.5.3 CED-assoziierte Anämie, EPO und Einzelnukleotid-Polymorphismen

Einzel-Nukleotid-Polymorphismen (single nucleotide polymorphisms, SNP) sind die häufigste Art genetischer Variationen im Erbgut menschlicher Individuen. Sie bezeichnen den Austausch einzelner Nukleotidbausteine, also Allelvariationen einzelner Basenpaare der genomischen DNA. Sie lassen sich in einer Häufigkeit von >1 % auffinden und mit den Fortschritten der (automatisierten) molekulargenetischen Analyseverfahren ist damit zu rechnen, dass in den nächsten Jahren noch Hunderttausende von menschlichen SNP entdeckt werden (Brookes 1999).

Liegen SNP in der codierenden Sequenz eines Gens, können sie als sog. non- oder missense-Mutation die Aminosäure-Folge des Genprodukts verändern; sie können aber auch schon allein die Expressionshöhe eines Proteins und damit dessen physiologische Wirkung beeinflussen.

Bewirken solche SNP keine Veränderung der Aminosäuren-Folge des Genprodukts, werden sie als stille Mutation bezeichnet, können aber auch noch in Introns Auswirkungen auf das Splicing von Genen oder die Bildung von Transkriptionsfaktoren haben (Castle 2011).

Dann können Polymorphismen im EPO-Gen selbst, also EPO-SNP die Wirksamkeit von Erythropoetin beeinflussen, aber auch Polymorphismen in anderen Genloci.

So ist seit einiger Zeit ein Zusammenhang zwischen einer Anämie bei dialysepflichtigen Patienten mit Niereninsuffizienz mit Polymorphismen in Genen von

proinflammatorischen Zytokinen wie Interleukin-6 (-174G/C) und Interleukin-10 (-1082G/A) bekannt, die einen inhibitorischen Einfluss auf die Effizienz der über Erythropoetin vermittelten Hämatopoese haben (Girndt et al. 2006; Girndt et al. 2007). Amanzada et al (2014) konnten ebenfalls einen Zusammenhang zwischen dem SNPrs1617640-Polymorphismus im Promotor von EPO auf dem langen Arm des humanen Chromosoms 7 und dem Auftreten sowie der Schwere einer Niereninsuffizienz einschließlich einer Behinderung der Hämatopoese feststellen.

Es liegt also nahe zu untersuchen, ob es im vorliegenden Patientenkollektiv ähnliche Assoziationen bei anämischen Patienten mit CED und einer EPO-Resistenz gibt.

1.1.6 Immunologie und EPO bei CED

Seit einiger Zeit finden sich Hinweise, dass EPO ein multifunktionelles Zytokin ist, das neben seiner hämatopoetischen auch eine immunmodulierende Wirkung hat. Dies erklärt sich darüber, dass EPO an zwei verschiedene Rezeptoren bindet, die von erythroiden, parenchymalen und auch Immunzellen exprimiert werden. Abhängig von der Art des Keimes hat dies förderliche oder negative Konsequenzen bei verschiedenen Infektionskrankheiten; auf autoimmunologischen Erkrankungen wie Encephalomyelitis disseminata oder auch CED hat EPO einen günstigen Einfluss (Nairz et al. 2011).

Die immunmodulierende Wirkung von EPO besteht in einer Hemmung der Induktion proinflammatorischer Gene, zu denen auch TNF- α und die Stickoxid- bzw. NO-Synthase zählen, was über die Blockade der Aktivierung des nukleären Transkriptionsfaktors kappa B (NF- κ B) geschieht. Damit wird auch die Zell-Apoptose und eine Hypoxämie im Gewebe reduziert, ohne Veränderungen der Entzündungsreaktion (Aoshiba et al. 2009; Nairz et al. 2012). Es gibt aber wahrscheinlich einen wechselseitigen Antagonismus zwischen EPO und TNF- α , da TNF- α umgekehrt die Differenzierung Erythropoetin-abhängiger erythroider Vorläuferzellen hemmt (Buck et al. 2008).

Überhaupt scheint EPO ein Protein aus der Akute-Phase-Reaktion zu sein, der ersten Verteidigungslinie des Organismus gegen schädigende Einflüsse wie Infektionen, Traumata oder Verbrennung. Eine solche Schädigung und die folgende Akute-Phase-Reaktion auf zellulärer Ebene am Ort des Geschehens lässt sich im Tierexperiment durch die lokale In-

jektion der toxischen Substanz Terpentin zuverlässig auslösen. Danach sezernieren in der Nähe befindliche immunkompetente Zellen (Gewebemakrophagen) Zytokine, welche die eigentliche Akute-Phase-Reaktion in Gang setzen (Alberti 2010). Auch eine Steigerung der EPO-Genexpression in der Leber lässt sich im Versuch an Ratten durch die intramuskuläre Injektion von Terpentinöl um den Faktor 20 nach zwei bis sechs Stunden provozieren. Deshalb kann EPO zu den sog. positiven Akute-Phase-Proteine gezählt werden (Ramadori et al. 2010a; Ramadori et al. 2010b).

1.2 Fragestellung

Der TNF- α -Blocker Infliximab gilt als bewährte Therapieoption bei CED. In der Universitätsmedizin Göttingen werden seit 1999 regelmäßig CED Patienten mit dem Anti-TNF- α -Antikörper Infliximab (Remicade) im Rahmen eines poliklinischen Behandlungskonzepts behandelt, wobei regelmäßig klinische Daten und Labordaten inklusive eines Blutbildes erhoben worden sind.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, in einem retrospektiven deskriptiven Ansatz in diesem bzgl. der Ausprägung einer Anämie heterogenen Patientenkollektiv die Häufigkeit und den Grad der Ausprägung einer Anämie zu analysieren. Hierbei soll besonderes Augenmerk auf die EPO-Konzentrationen und die EPO-SNPs gelegt werden, um den möglichen Einfluss eines EPO-Mangels, einer EPO-Resistenz bzw. von EPO-SNPs auf die Ausprägung einer Anämie zu untersuchen.

Damit sollen weitere Anhaltspunkte für eine bessere Therapie von CED i.S. einer Hypothesengenerierung für zukünftige prospektive Untersuchungen gewonnen werden.

2 Patienten und Methoden

Aus Patientenakten im Archiv der Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie im Zentrum Innere Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen wurden klinische und laborchemische Daten von 73 Patienten gesammelt, die wegen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung an dieser Klinik in Behandlung waren.

Die Diagnosestellung erfolgte aufgrund einer Erhöhung der Entzündungsparameter Leukozytenzahl und C-reaktives Protein (CRP) sowie nach Durchführung einer Ileokoloskopie (Colitis ulcerosa) oder Ösophagogastroduodenoskopie (M. Crohn), jeweils mit segmentalen Biopsien aus allen untersuchten Darmabschnitten.

Ein Großteil der Patienten wurde bei niedergelassenen Ärzten behandelt und kam nur zur Infusion von Infliximab in die Klinik. Deshalb war bei ihnen die Versorgung mit anderen Medikamenten (Azathioprin, Methylprednisolon) nur unzureichend dokumentiert.

Die Laborkontrollen in der Klinik erfolgten immer zu dem Zeitpunkt, an dem ein Patient zur Remicade-Infusion erschien, in der Regel in Abständen von sechs bis zehn Wochen.

Bei der Datenerhebung in der Klinik erfolgte immer auch eine Bestimmung des Erythropoetinspiegels, unabhängig davon, seit wann ein Patient mit Infliximab oder anderen Medikamenten behandelt wurde. In der vorliegenden Arbeit bleibt also jede Therapie in der Vorgeschichte unberücksichtigt. Auch eine Transfusion von Erythrozytenkonzentraten oder eine Eiseneinnahme der Patienten war nicht dokumentiert und kann deshalb in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt werden.

Die klinischen und laborchemischen Parameter wurden, beginnend mit dem 15.05.2011, zuletzt am 21.02.2012, über einen Zeitraum von durchschnittlich 38 (17-257) Tagen erhoben und in das Datenmaterial der vorliegenden Arbeit aufgenommen.

Dieser Zeitraum wird in der vorliegenden Arbeit als Beobachtungszeitraum bezeichnet. Die Aussagen der vorliegenden Arbeit beziehen sich also ausschließlich auf diesen Zeitraum ab dem Startpunkt 15.05.2011.

Abhängig vom Erscheinen der Patienten zu weiteren Remicade-Infusionen erfolgten die restlichen Bestimmungen der Laborparameter uneinheitlich; d. h. von den einzelnen Patienten standen für die vorliegende Arbeit unterschiedlich viele Messungen zur

Verfügung. Zur besseren Systematisierung wurde der gesamte Zeitraum der Datenerhebung von maximal 257 Tagen in sechs Untersuchungsperioden von jeweils ungefähr 43 Tagen aufgeteilt (Abb.2).

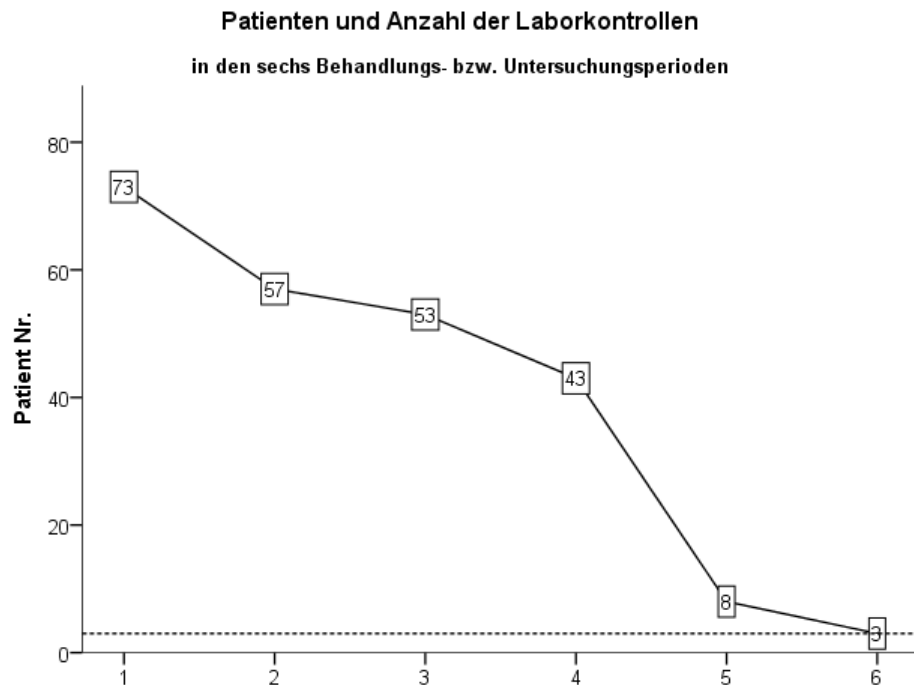


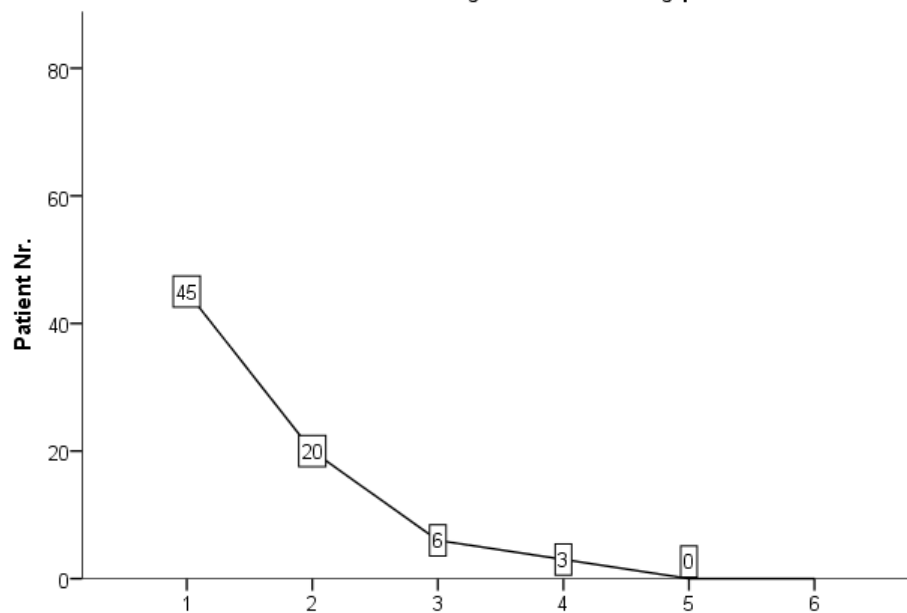
Abbildung 2 Anzahl der Laborkontrollen und Untersuchungsperioden

In der ersten Untersuchungsperiode wurden von 100 % (N = 73) der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten Laborkontrollen vorgenommen, in der letzten von drei, d. h. nur von 4,1 % der Patienten standen sämtliche Laborwerte für valide Vergleichsrechnungen über den gesamten Beobachtungszeitraum zur Verfügung.

Alle Patienten wurden über die Verwendung der Daten aufgeklärt.

Von diesen 73 Patienten willigten 51 in eine Verwendung ihrer EPO-Genetik-Daten schriftlich ein; nur von 45 dieser Patienten waren die EPO-SNP-Daten ausreichend dokumentiert. Deshalb wurden schließlich allein diese 45 Patienten in die Analysen in Kap. 5.4. über den Zusammenhang von Anämien und EPO-SNP einbezogen (Abb.3).

**Patienten mit Einwilligung in SNP-Analysen und Anzahl der Laborkontrollen
in den verschiedenen Behandlungs- und Untersuchungsperioden**



**Abbildung 3 Anzahl der Laborkontrollen und Untersuchungsperioden
bei SNP-Patienten**

Aus der ersten Untersuchungsperiode standen von 100 % (N = 45) der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten Laborkontrollen für Vergleichsrechnungen über den gesamten Beobachtungszeitraum zur Verfügung, in den Perioden fünf und sechs von keinem mehr.

2.1 Anämie

Als Anämie wurde die Unterschreitung folgender Normalwerte für Hämoglobin definiert (Tab.4).

Tabelle 4 Normalwerte-Hämoglobin (nach Haferlach et al. 2012)

	Frauen	Männer
Hämoglobin	12-16 g/dl	14-18 g/dl

2.2 Marker der Entzündungsaktivität bei CED

Als Marker der Entzündungsaktivität wurden die Leukozytenzahl im Serum, das CRP und unregelmäßig auch Ferritin bestimmt.

Die Leukozytenzahl im Blut wurde im Gesamtkollektiv bei 52,4 % sämtlicher Messungen bestimmt, die Serumkonzentration von CRP bei 53,4 % (N = 39) und die von Ferritin bei nur 5,5 % (N = 4).

Wegen ihrer geringen Spezifität ist die Konzentration von Leukozyten für reliable Aussagen zum Krankheitsverlauf nur bedingt geeignet.

Im Folgenden wird deshalb nur der CRP-Wert zur Charakterisierung einer Entzündungsaktivität bzw. Unterscheidung von Schub und Remission herangezogen.

Bezogen auf den Normalwert von 5 mg/l wurden zwei Gruppen zur Unterscheidung von Schub (≥ 5 mg/l) und Remission (< 5 mg/l) gebildet.

Die Entzündungsparameter im Serum haben eine unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeit. Davon reagiert CRP am schnellsten. Es wird in der Leber gebildet und zählt zu den Akute-Phase-Proteinen. Bei Entzündungsprozessen sezernieren Makrophagen und Granulozyten Zytokine, welche die Bildung des C-reaktiven Proteins in der Leber provozieren.

Die in Tabelle 5 dargestellten Konzentrationen wurden als Unterscheidung von erhöhter Entzündungsaktivität (Schub) und normaler bzw. erniedrigter Entzündungsaktivität (Remission) definiert (Tab.5).

Tabelle 5 Blutparameter in Schub und Remission (nach Haferlach et al. 2012)

	Normalwert / Remission	Schub
CRP	< 5 mg/l	≥ 5 mg/l

Orientiert an den Normalwerten beim Gesunden wurde eine Serumkonzentration von ≥ 5 mg/l CRP als Schub definiert.

2.3 Marker einer EPO-Resistenz

Wenn gastrointestinale Blutungen oder eine Malabsorption von Eisen als Ursache einer Anämie ausgeschlossen werden können und das blutbildende System auf eine identische Zufuhr von Erythropoetin mit einer zunehmend geringeren Bildung von Hämoglobin antwortet, spricht man von der Entwicklung einer EPO-Resistenz (Moreno Lopez et al. 2009). Zur Kennzeichnung eines solchen Prozesses ist der Erythropoetin Resistance Index (ERI) etabliert, berechnet als Quotient aus EPO-Dosis (IU/kg/Woche/g/dl) und Hb-Wert in g/dl (Lopez-Gomez et al. 2004).

In Analogie wurde in der vorliegenden Arbeit ein Quotient aus den bei den Patienten gemessenen Werten von Erythropoetin und Hämoglobin gebildet, der EPO/Hb-Quotient. Inwieweit ein Blutverlust über den Darm eine Rolle bei den festgestellten Veränderungen des EPO/Hb-Quotienten und ihrem Zusammenhang mit anderen serologischen Parametern spielt, konnte in der vorliegenden Arbeit allerdings in Ermangelung von Hb-Messungen im Stuhl der untersuchten Patienten nicht bewertet werden.

2.4 Bestimmung von EPO-GEN-Polymorphismen

Der Serumspiegel des Glykoproteins Erythropoetin wurde im Labor der Klinik für Gastroenterologie und Endokrinologie mit einem EPO ELISA Kit (ELISA, R&D Systems, Artikel-Nr: DEPOO) nach Anleitung des Herstellers bestimmt.

Zur Genotypisierung wurden jedem Patienten 5 ml Blut entnommen und die gewonnene Blutprobe bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren. Später wurde die DNA aus dem Blut mit QIAmp® Mini Kit (QIAGEN, Deutschland, Hilden) isoliert und eine Real-Time-PCR durchgeführt.

Mit der Polymerasekettenreaktion (*polymerase chain reaction*/PCR) lässt sich jeder durch Extraktion gewonnene DNA-Abschnitt selektiv vervielfältigen. Die allelische Diskriminierung erfolgte dann wie von Amanzada et al. (2014) beschrieben mittels Real-Time-PCR mit der TaqMan-Methode. Die Bestimmung der EPO-SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) erfolgte nach Assay ID C_8786860_10 (Applied Biosystems, Deutschland, Darmstadt).

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit dem Programm SPSS for Windows® 24.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). In deskriptiven Analysen wurden der Mittelwert der Messwerte (MW) mit Standardabweichung (SD), der Median sowie Maximum und Minimum berechnet. Zur graphischen Darstellung von Messwerten wurden Balkendiagramme, gruppierte Bereichsbalken mit Mittelwerten und Streuungsmaßen oder Differenzflächen, bei metrischen Variablen auch Fehlerbalken zur Darstellung der einfachen Standardabweichung verwendet. In Boxplots wurden Median und Interquartilbereich sowie durch einen Kreis (°) gekennzeichnete Extremwerte (1.5 - 3 Interquartilweiten außerhalb der Box) oder durch einen Stern (*) gekennzeichnete Ausreißer (> 3 Interquartilweiten außerhalb der Box) einzelner Variablen angezeigt.

An der Serumkonzentration von Erythropoetin wurde mit einem Kolmogorow-Smirnow-Test die Normalverteilung der gemessenen Serumwerte im untersuchten Kollektiv überprüft und bestätigt (Abb.4).

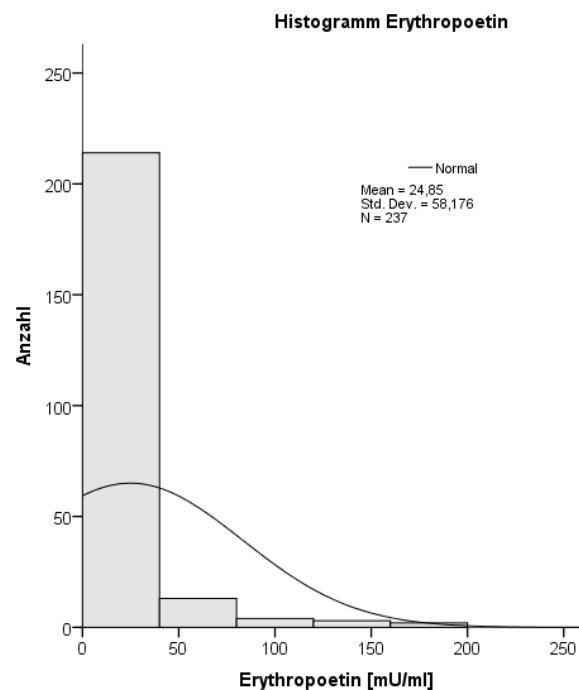


Abbildung 4 Histogramm Erythropoetin

Zum Nachweis statistischer Differenzen in Zusammenhang mit Erythropoetin und anderer metrischer Variablen wurde deshalb ein t-Test bei unabhängigen Stichproben oder eine parametrische Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Die Prozedur einfaktorielle ANOVA führt eine einfaktorielle Varianzanalyse für eine quantitative abhängige Variable mit einer einzelnen (unabhängigen) Faktorvariablen durch. Mit der Varianzanalyse wird die Hypothese überprüft, dass zwischen den Erwartungswerten der verglichenen Parameter kein Unterschied besteht. Dieses Verfahren ist eine Erweiterung des t-Tests bei zwei Stichproben. Äquivalent zu multiplen individuellen t-Tests zwischen allen Gruppenpaaren wurde dabei stets der paarweise multiple Vergleichstest auf geringste signifikante Differenzen (LSD) durchgeführt.

Zur graphischen Verdeutlichung von Zusammenhängen zwischen metrischen Variablen wurden auch Regressionskurven nach quadratischer Regression in Streudiagrammen mit Angabe der in einer Varianzanalyse errechneten Korrelationskoeffizienten r und des Signifikanzniveaus p gebildet.

Im Falle der EPO-SNP wurde die Beziehung zwischen der beobachteten Häufigkeit eines allelen Gens und der Häufigkeit der Genotypen innerhalb einer idealen Population nach der Hardy-Weinberg-Regel mit einem modifizierten Chi-Quadrat-Test überprüft.

Mit dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Hardy-Weinberg-Equilibrium, HWE) ist der Zustand einer idealen Population beschrieben, in der die Häufigkeit der Allele und die Häufigkeiten der Genotypen konstant bleiben.

Zum Ausschluss von Genotypisierungsfehlern oder einer Stichproben-Stratifizierung wurde deshalb die in der vorliegenden Arbeit vorgenommene SNP-Genotypisierung auf signifikante Abweichungen von HWE untersucht. Signifikante Abweichungen vom HWE ($p < 0.01$) würden zum Ausschluss von der weiteren Analyse führen (Engels 2009).

Die Verteilung von ordinalen Parametern (CED, Geschlecht) auf die drei verschiedenen EPO-Polymorphismen wurde mit einem Chi-Quadrat-Test, die Verteilung von metrischen Parametern (Hämoglobin, Erythropoetin, EPO/Hb-Quotient) auf die drei verschiedenen EPO-Polymorphismen wurde mit einer Varianzanalyse auf signifikante Differenzen überprüft.

Werte ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.05$ wurden als statistisch signifikant, Werte ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.01$ als hochsignifikant eingestuft (Hüsler und Zimmermann 2010).

3 Ergebnisse

Untersucht wurden die biometrischen, laborchemischen und klinischen Daten von 73 Patienten, die wegen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung mit dem TNF- α -Blocker Infliximab behandelt wurden. 53,4 % (N = 39) der Patienten waren männlich, 46,6 % (N = 34) weiblich.

Die Patienten erhielten die Erstdiagnose ihrer CED zwischen dem 23.05.70 und dem 03.07.2011. Sie waren zu diesem Zeitpunkt durchschnittlich $28,8 \pm 12,2$ (12,3-72,4) Jahre alt. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung der vorliegenden Arbeit waren sie durchschnittlich $40,9 \pm 12,8$ Jahre alt.

Die Patienten waren $173,2 \pm 9,9$ cm groß und hatten ein Durchschnittsgewicht von $74,3 \pm 15,3$ kg.

61,6 % (N = 45) der Patienten mit einer CED waren an M. Crohn erkrankt, 38,4 % (N = 28) an Colitis ulcerosa.

51,1 % der Patienten mit M. Crohn waren Männer, 48,9 % Frauen. 57,1 % der Patienten mit Colitis ulcerosa waren Männer, 42,9 % Frauen.

Die Laborwerte der mit Infliximab behandelten Patienten wurden in der Klinik in einem Beobachtungszeitraum von durchschnittlich 38 (17-257) Tagen dokumentiert und analysiert.

3.1 Anämie im Gesamtkollektiv

Bei 229 Einzelmessungen von Hämoglobin fand sich im Gesamtkollektiv im Median ein Wert von 13,7 g/dl. Bei 23 % der Patienten trat während des Beobachtungszeitraumes mindestens einmal eine Anämie auf.

Im Median hatten Männer bei 119 Einzelmessungen einen Hämoglobinwert von 14,7 g/dl, Frauen bei 110 Einzelmessungen einen Hämoglobinwert von 12,7 g/dl (Abb.5).

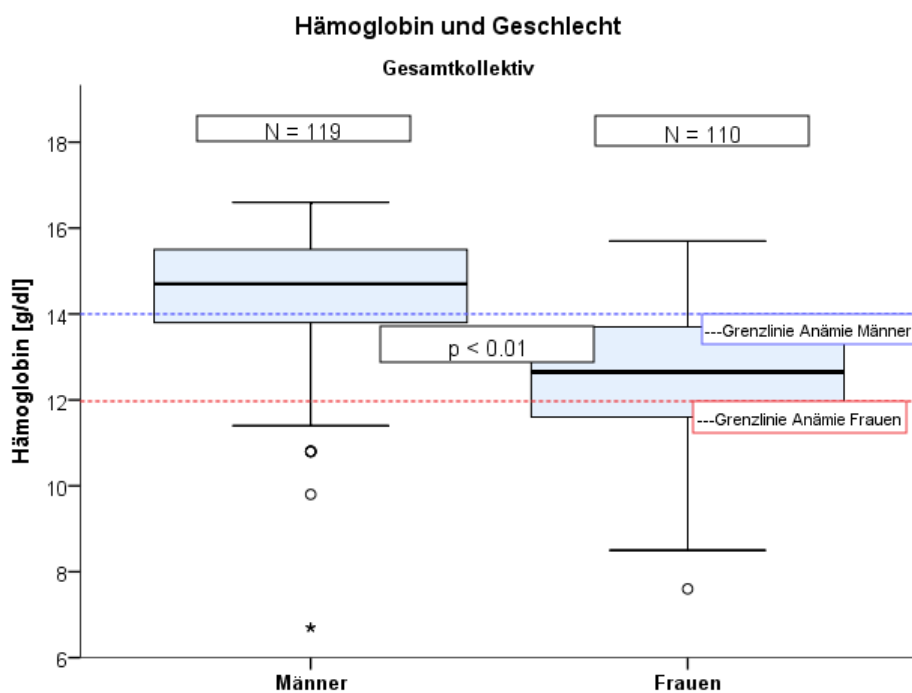


Abbildung 5 Hämoglobin und Geschlecht (N = 229. m = 119, w = 110). Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

Von den anämischen Patienten waren 60,9 % an Colitis ulcerosa erkrankt, 39,1 % an M.Crohn.

Differenziert nach beiden CED hatten Männer mit Colitis ulcerosa bei 47 Einzelmessungen im Median einen Hämoglobinwert von 14,2 g/dl und Männer mit M. Crohn bei 72 Einzelmessungen einen Hämoglobinwert von 14,9 g/dl.

Differenziert nach beiden CED hatten Frauen mit Colitis ulcerosa bei 41 Einzelmessungen im Median einen Hämoglobinwert von 12,2 g/dl und Frauen mit M. Crohn bei 69 Einzelmessungen einen Hämoglobinwert von 13,0 g/dl (Abb.6).

Von den anämischen Männern waren 61,5 % an Colitis ulcerosa erkrankt, 38,5 % an M.Crohn. Von den anämischen Frauen waren 60,0 % an Colitis ulcerosa erkrankt, 40,0 % an M.Crohn.

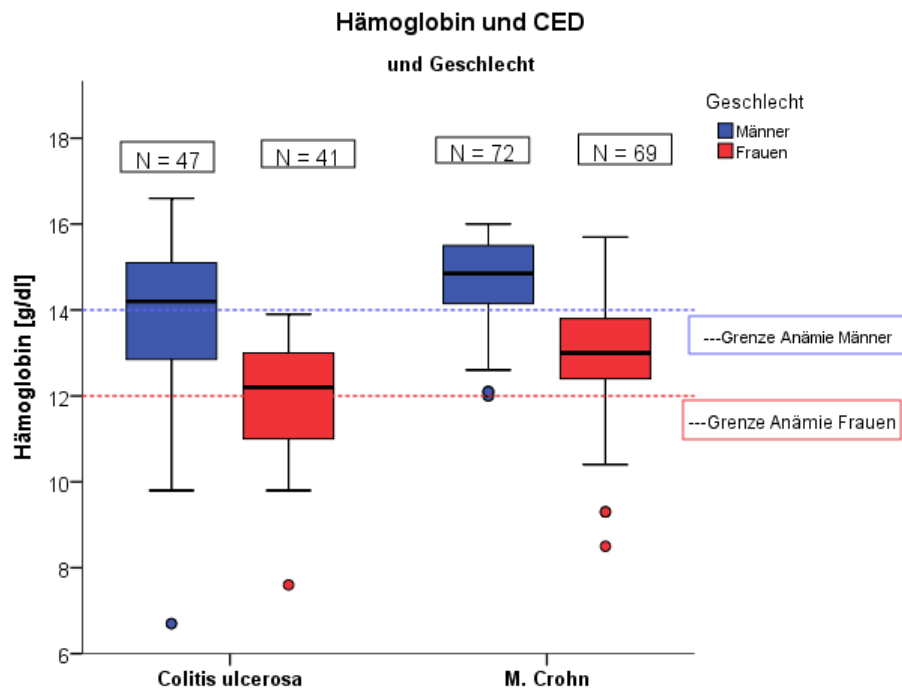


Abbildung 6 Hämoglobin bei Colitis ulcerosa (m = 47, w = 41) und M. Crohn (m = 72, w = 69). Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

In der Varianzanalyse war der Unterschied der Hämoglobinkonzentration zwischen den beiden Darmerkrankungen nicht signifikant (n.s.), zwischen beiden Geschlechtern hochsignifikant ($p < 0.01$).

Bei 237 Einzelmessungen von Erythropoetin im Gesamtkollektiv fand sich unter Männern (N = 124) im Median ein Wert von 12,0 mU/ml, unter Frauen (N = 113) ein Wert von 17,0 mU/ml (Abb.7).

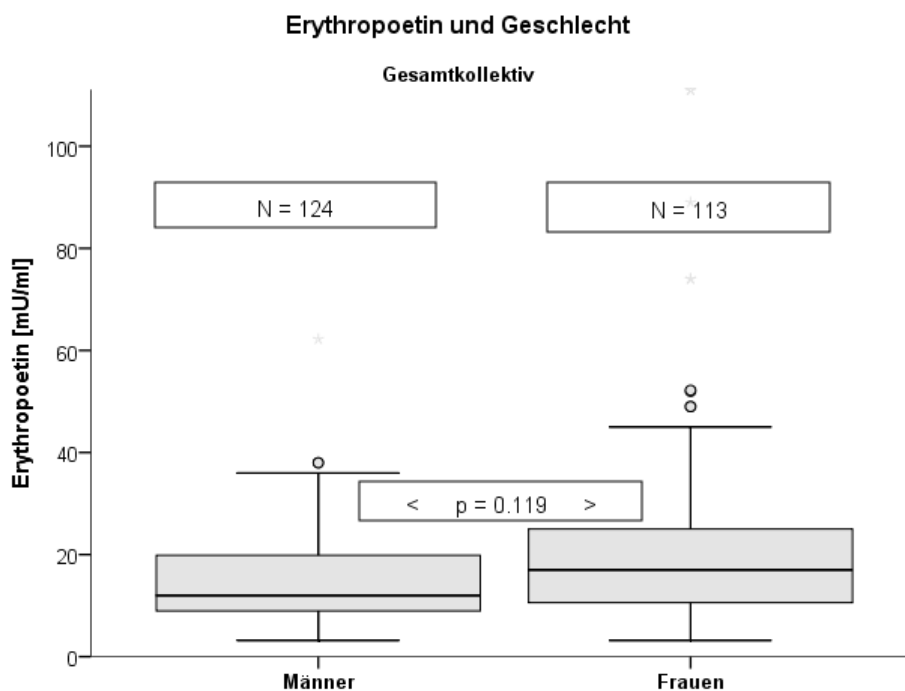


Abbildung 7 Erythropoetin und Geschlecht bei Patienten mit CED mit unterschiedlicher Anzahl (N) von Messungen pro Patient (m = 124, w = 113).

In der Varianzanalyse war der Unterschied der Erythropoetinkonzentration zwischen den beiden Geschlechtern nicht signifikant ($p = 0.119$).

Differenziert nach beiden CED hatten Männer mit Colitis ulcerosa bei 49 Einzelmessungen im Median einen Erythropoetinwert von 12,0 mU/dl und Männer mit M. Crohn bei 75 Einzelmessungen einen Erythropoetinwert von 11,5 mU/dl.

Differenziert nach beiden CED hatten Frauen mit Colitis ulcerosa bei 41 Einzelmessungen im Median einen Erythropoetinwert von 17,0 mU/dl und Frauen mit M. Crohn bei 72 Einzelmessungen einen Erythropoetinwert von 15,0 mU/dl (Abb.8).

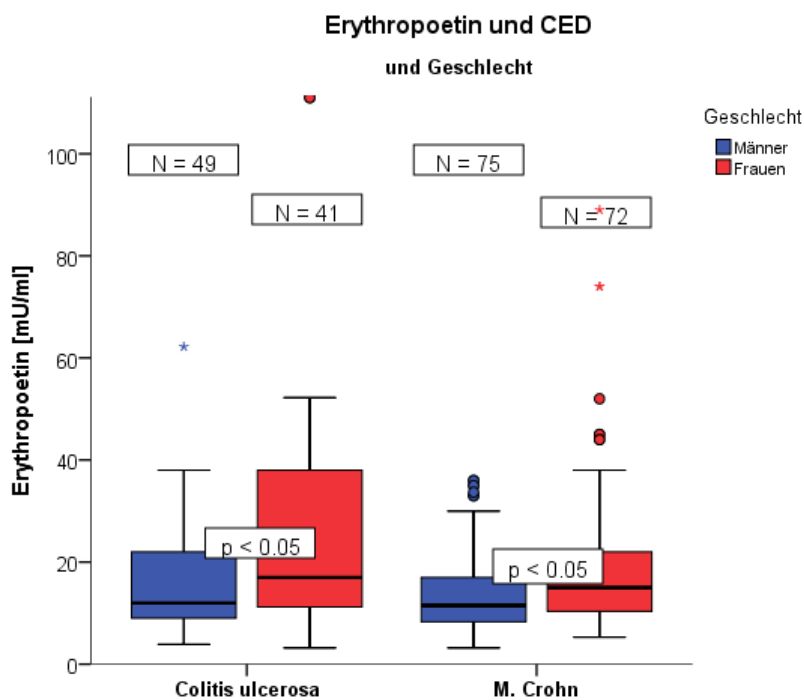


Abbildung 8 Erythropoetin bei Colitis ulcerosa (m = 49, w = 41) und M. Crohn (m = 75, w = 72). Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

In der Varianzanalyse war der Unterschied der Erythropoetinkonzentration bei beiden CED zwischen beiden Geschlechtern signifikant ($p < 0.05$).

Bei der Bestimmung des Serumspiegels von Erythropoetin fielen drei Ausreißer mit extrem hohen Werten auf: Deren wichtigste klinische und laborchemische Daten werden in Tabelle 6 wiedergegeben.

Tabelle 6 Drei Ausreißer mit hohen Serumwerten von Erythropoetin

Pat.	EPO [mU/ml]	Geschlecht	Alter	Diagnose	EPO-SNP	EPO/Hb	Hb [g/dl]	CRP [mg/l]
1	827	w	24,1	Colitis ulcerosa	TT	165,4	5,0	k.A.
2	177	m	26,4	Colitis ulcerosa	GT	26,4	7,0	k.A.
3	152	m	28,4	Colitis ulcerosa	GT	12,2	11,0	92,2

Alle drei Patienten waren an Colitis ulcerosa erkrankt und waren anämisch. Nur von einem Patienten war ein sehr hoher CRP-Wert [92,2 mg/l] archiviert.

Bei Überprüfung der Korrelation nach Pearson zeigte sich, dass sich der Hämoglobinspiegel bei beiden Geschlechtern hochsignifikant invers (Regressionskoeffizient $r = -0,774$ bzw. $-0,574$; $p < 0.01$) zu der Serumkonzentration von Erythropoetin verhielt (Abb.9).

Mit den quadratischen Regressionskurven in Abbildung 9 wird der Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von Hämoglobin und Erythropoetin deutlich sichtbar; dass nämlich Erythropoetin bei beiden Geschlechtern, betont bei Männern, etwa ab Unterschreitung des Hb-Normalwerts nicht linear sondern exponentiell hochreguliert wird.

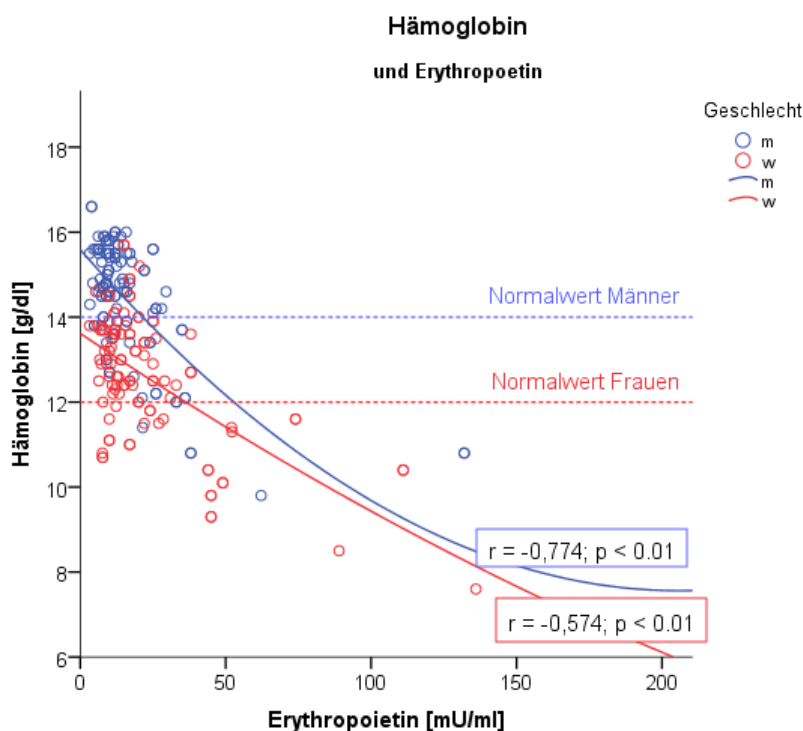


Abbildung 9 Hämoglobin, Erythropoetin und Geschlecht (m = 36, w = 32). Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

In der Darstellung mit Boxplots und Angabe von Median und Interquartilbereich zeigte sich, dass der Erythropoetinspiegel bei Patienten mit beiden Diagnosen unter den Patienten mit Anämie stets höher war. In der Gesamtheit der Patienten lag der Median bei 26,0 mU/ml gegenüber 12,0 mU/ml unter nicht-anämischen Patienten. Bei Patienten mit

Colitis ulcerosa war der Median von Erythropoetin mit 26,0 mU/ml nicht signifikant (n.s.) höher als 12,5 mU/ml bei nicht-anämischen, bei Patienten mit M. Crohn bei 33,0 mU/ml gegenüber 12,0 mU/ml bei nicht-anämischen mit einer tendenziellen Signifikanz ($p = 0.06$) (Abb.10).

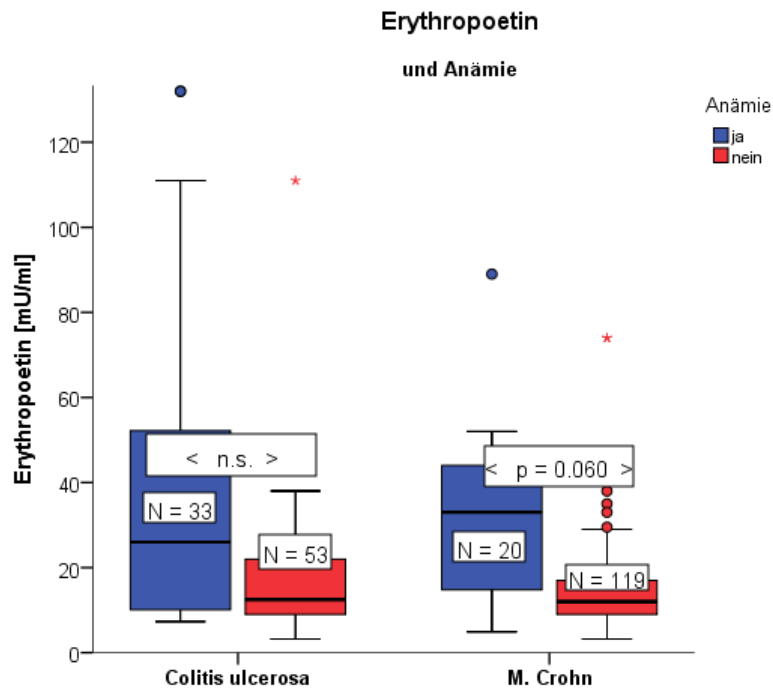


Abbildung 10 Erythropoetin in Abhängigkeit von Anämie und Entität bei Patienten mit Colitis ulcerosa (N = 28) und M. Crohn (N = 45). Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

Im Folgenden wurde untersucht, ob es weitere Einflussfaktoren auf die Hämoglobinkonzentration gab.

3.2 Anämie und Entzündungsaktivität

Nach der Definition in Kap.4.2. waren 13,9 % der Patienten zum Zeitpunkt der jeweiligen Blutentnahme im Schub und 86,1 % in Remission.

Getrennt nach Geschlechtern fanden sich folgende Werte für den EPO/Hb-Quotienten und Erythropoetin (Abb.11).

Bei insgesamt 224 Bestimmungen lag der Median des EPO/Hb-Quotienten bei Männern im Schub bei 0,78, während einer Remission bei 0,82. Bei Frauen lag er im Schub bei 1,27 während einer Remission bei 1,19. Er war bei Frauen in Schub wie Remission stets, aber nicht signifikant höher als bei Männern.

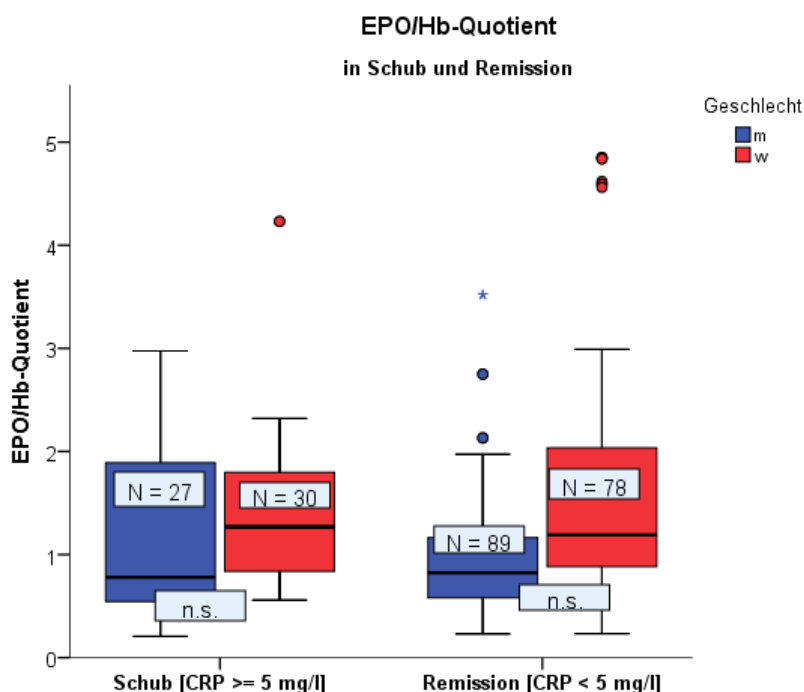


Abbildung 11 EPO/Hb-Quotient und Geschlecht in Schub und Remission getrennt nach Geschlecht über den gesamten Beobachtungszeitraum (N = 224). Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

Bei insgesamt 237 Bestimmungen lag der Median von Erythropoetin bei Männern im Schub bei 11,2 mU/ml, während einer Remission bei 12,0 mU/ml; bei Frauen lag er im Schub bei 15,5 mU/ml, während einer Remission bei 17,0 mU/ml.

Er war bei Frauen in Schub wie Remission stets, aber nicht signifikant höher als bei Männern (Abb.12).

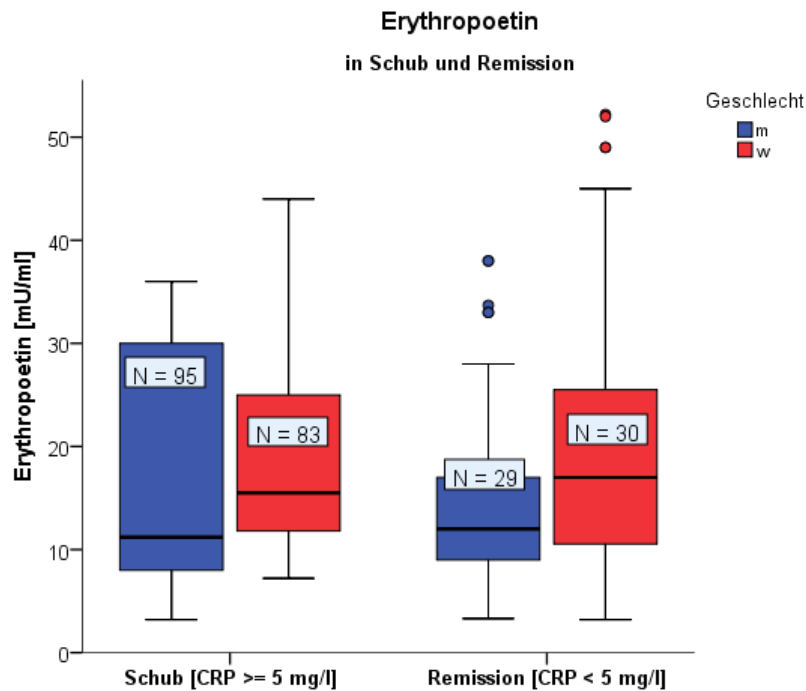


Abbildung 12 Erythropoetin und Geschlecht in Schub und Remission über den gesamten Beobachtungszeitraum (N = 237). Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

3.2.1 Hämoglobin und CRP

Im Gesamtkollektiv war die Korrelation zwischen Hämoglobin und CRP signifikant negativ (Regressionskoeffizient $r = -0,177$, $p < 0,05$). Differenziert nach beiden Geschlechtern sank der Hämoglobinspiegel bei Männern mit wachsender Entzündungsaktivität exponentiell, bei Frauen signifikant (Abb.13).

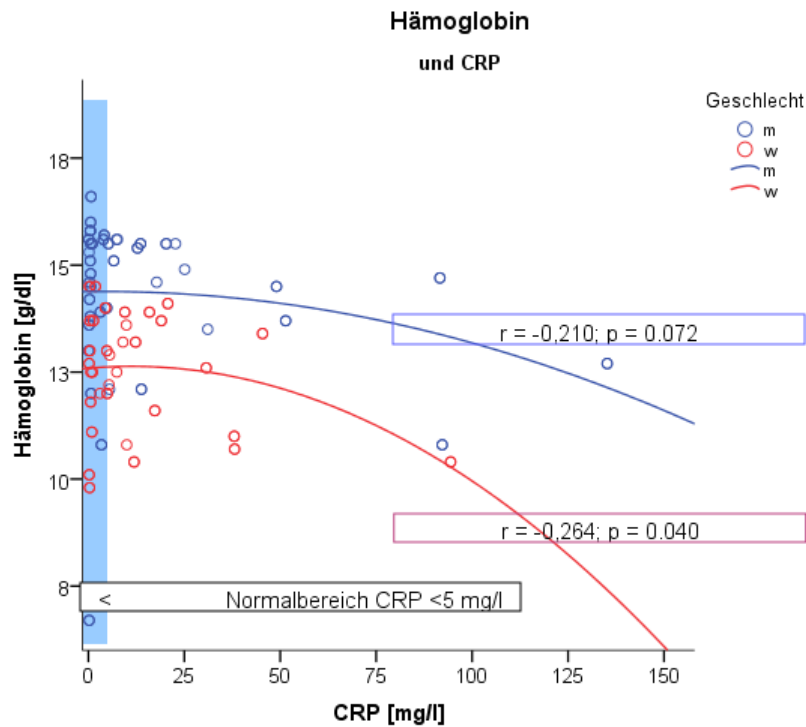


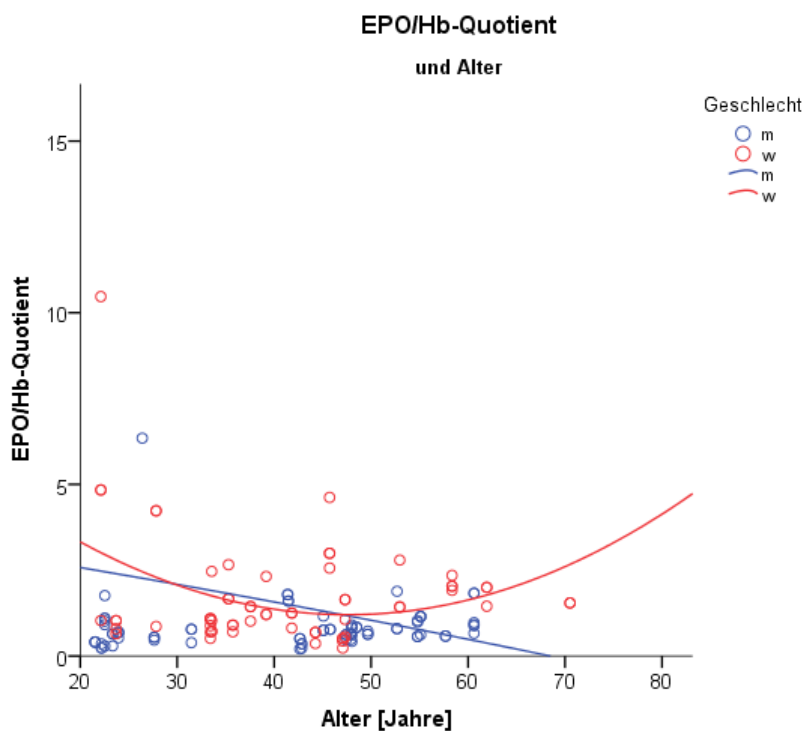
Abbildung 13 Hämoglobin und CRP im gesamten Untersuchungszeitraum, getrennt nach Geschlechtern (m = 36, w = 32). Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

3.3 EPO-Resistenz

In der vorliegenden Arbeit wurde der EPO/Hb-Quotient in Analogie zum ERI als Marker einer EPO-Resistenz überprüft.

3.3.1 EPO-Resistenz und Alter

Der EPO/Hb-Quotient zeigte andeutungsweise bei Frauen einen inversen Zusammenhang mit dem Alter der Patienten (Abb.14).



**Abbildung 14 EPO/Hb-Quotient in Abhängigkeit vom Alter
(N = 73, w = 33, m = 40).**

In der Varianzanalyse waren allerdings bei beiden Geschlechtern keine signifikanten Abhängigkeiten zwischen Alter und dem EPO/Hb-Quotienten nachweisbar (Tab.7).

Tabelle 7 ANOVA zu EPO/Hb-Quotient in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht

Einfaktorielle ANOVA								
			Quadrat- summe	df	Mittel der Quadrate	F	p	
EPO/Hb- Quotient	Zwischen den Gruppen	(Kombiniert)	1,622	1	1,622	0,157	0,693	
		Linearer Term	Ungewichtet	1,622	1	1,622	0,157	0,693
			Gewichtet	1,622	1	1,622	0,157	0,693
Alter [Jahre]	Zwischen den Gruppen	(Kombiniert)	126,357	1	126,357	0,825	0,365	
		Linearer Term	Ungewichtet	126,357	1	126,357	0,825	0,365
			Gewichtet	126,357	1	126,357	0,825	0,365

3.3.2 EPO-Resistenz, Anämie und CED

Im Falle einer Anämie war der EPO/Hb-Quotient im Median unter Patienten mit Colitis ulcerosa mit 2,08 gegenüber 2,75 unter Patienten mit M. Crohn nicht signifikant erniedrigt. Ohne Unterscheidung der Geschlechter war der Wert des EPO/Hb-Quotienten bei beiden CED im Median bei den Patienten mit Anämie signifikant gegenüber den Patienten ohne Anämie erhöht.

Im Subkollektiv der Patienten mit Colitis ulcerosa und Anämie war der EPO/Hb-Quotient im Median mit 2,1 signifikant ($p < 0.05$) gegenüber 0,9 bei Patienten ohne Anämie erhöht.

Im Subkollektiv der Patienten mit M. Crohn und Anämie war der EPO/Hb-Quotient im Median mit 2,7 hochsignifikant ($p < 0.01$) gegenüber 0,9 bei Patienten mit M.Crohn und ohne Anämie erhöht (Abb.15).

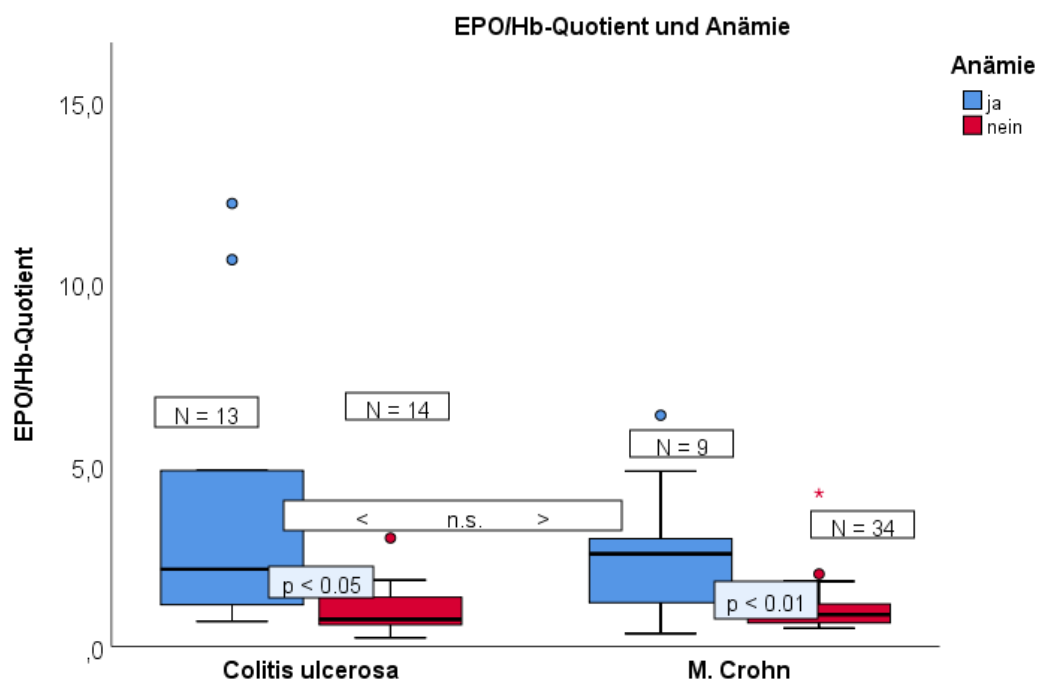


Abbildung 15 Anämie und EPO/Hb-Quotient bei beiden CED:

Colitis ulcerosa (Anämie ja: N = 13, nein: N = 14),

M. Crohn (Anämie ja: N = 9, nein: N = 34).

Unterscheidet man den Median des EPO/Hb-Quotienten bei beiden Geschlechtern, zeigt sich, dass Frauen mit Anämie im Median stets einen hochsignifikant höheren EPO/Hb-Quotienten hatten als Männer mit Anämie und dass dieser Zusammenhang bei Patienten mit Colitis ulcerosa deutlicher war als bei Patienten mit M.Crohn (Abb.16).

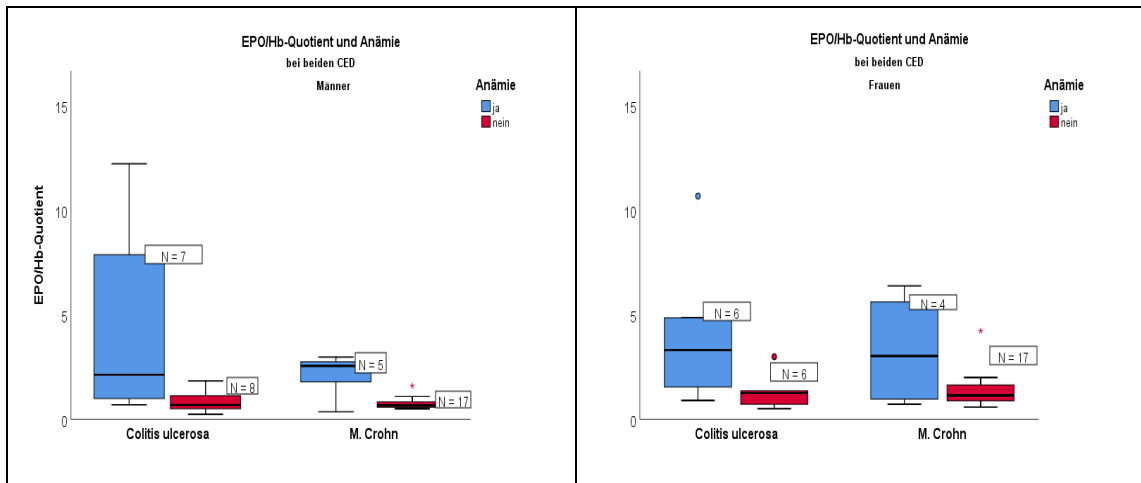


Abbildung 16 Anämie, EPO/Hb-Quotient und Geschlecht bei beiden CED. Männer: Colitis ulcerosa (Anämie ja: N = 7, nein: N = 8). M. Crohn (Anämie ja: N = 5, nein: N = 17), Frauen: Colitis ulcerosa (Anämie ja: N = 6, nein: N = 6). M. Crohn (Anämie ja: N = 4, nein: N = 17).

An der Anpassungslinie im Streudiagramm wird deutlich, dass bei Frauen mit Colitis ulcerosa die Hochregulierung des EPO/Hb-Quotienten ab der Unterschreitung eines Schwellenwerts von etwa 13 g/dl Hämoglobin, bei Männern ab der Unterschreitung eines Schwellenwerts von etwa 15 g/dl Hämoglobin beginnt.

Bei Frauen mit M. Crohn beginnt die Hochregulierung des EPO/Hb-Quotienten ab der Unterschreitung eines Schwellenwerts von etwa 14 g/dl Hämoglobin, bei Männern ab der Unterschreitung eines Schwellenwerts von etwa 15 g/dl Hämoglobin (Abb.17).

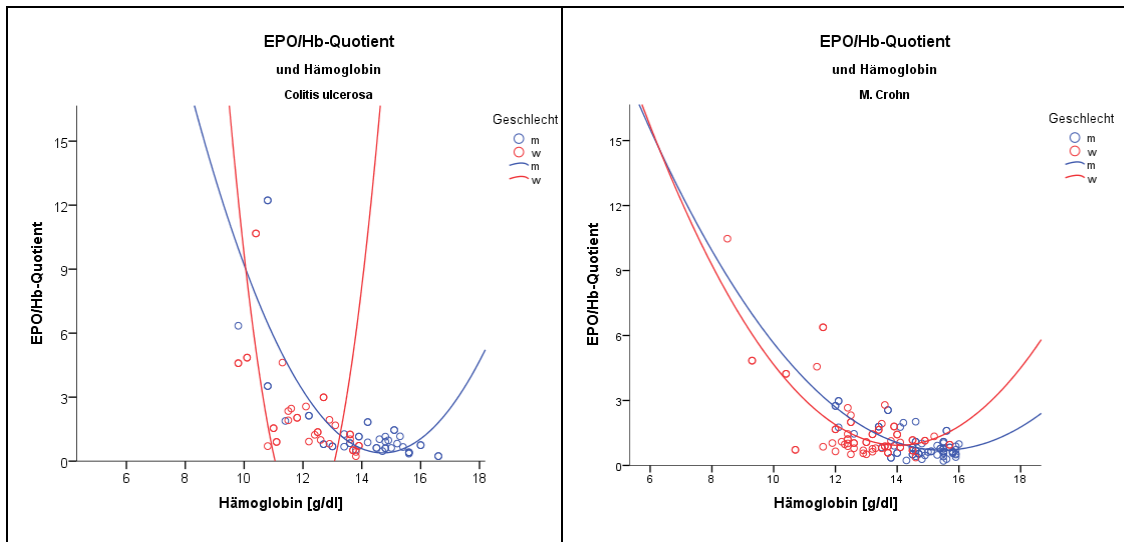
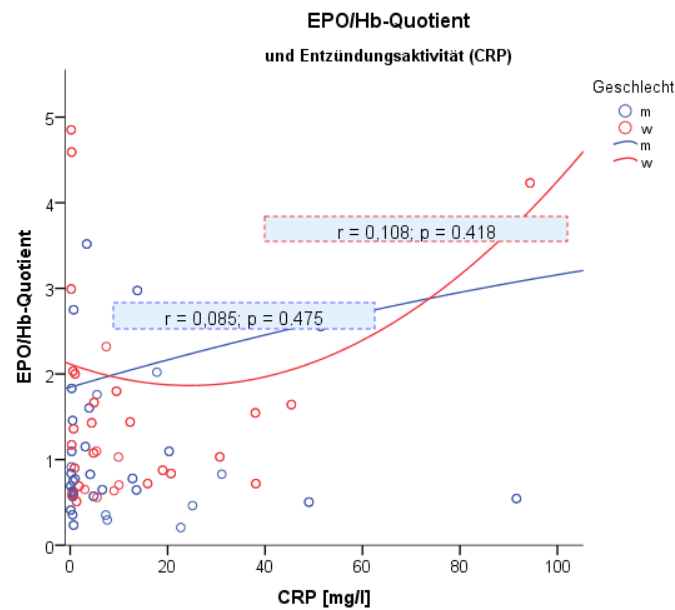


Abbildung 17 EPO/Hb-Quotient, Hämoglobin und Geschlecht im gesamten Untersuchungszeitraum. Colitis ulcerosa (m = 15, w = 11). M. Crohn (m = 21, w = 21)
Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

3.3.3 EPO-Resistenz und Entzündungsaktivität

Bei beiden Geschlechtern fand sich keine signifikante Korrelation des EPO/Hb-Quotienten mit dem Umfang der Entzündungsaktivität ($p = 0,418$) bei Frauen bzw. ($p = 0,475$) bei Männern (Abb.18).



**Abbildung 18 EPO/Hb-Quotient und Entzündungsaktivität
(N = 58. m = 32, w = 26).**

Es ist also anzunehmen, dass die Entzündungsaktivität keinen Einfluss auf die Regulation der Hämoglobinkonzentration über Erythropoetin hat.

3.4 Anämie bei verschiedenen EPO-SNP

51 Patienten willigten in eine Verwendung ihrer EPO-Genetik-Daten ein; nur von 45 waren diese Daten ausreichend dokumentiert. Deshalb wurden allein diese 45 Patienten, davon 27 Männer und 18 Frauen, in die folgenden Analysen einbezogen.

EPO-SNPs verteilten sich in diesem Patientenkollektiv wie folgt (Abb.19).

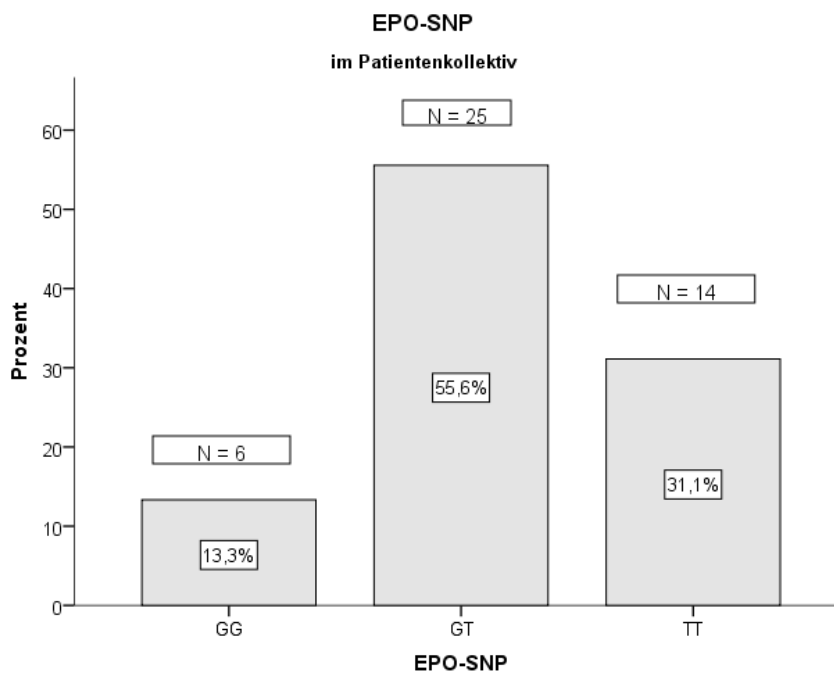


Abbildung 19 EPO-SNP im Patientenkollektiv.
GG (N = 6), GT (N = 25), TT (N = 14).

Bei 13,3 % (N = 6) der Patienten fand sich GG, bei 31,1 % (N = 14) TT, bei 55,6 % (N = 25) GT.

Bei der Überprüfung nach Hardy-Weinberg ergab sich keine signifikante Abweichung des Verhältnisses von tatsächlich beobachteten und zu erwarteten Genotypfrequenzen ($p = 0.3228$).

Tabelle 8 Verteilung der Genotypfrequenzen nach Hardy-Weinberg

Verteilung der Genotypfrequenzen nach Hardy-Weinberg									
				beobachtet		erwartet			
	N	Allel X	Allel Y	N	%	N	%	Chi-Quadrat	<i>p</i>
GG	6	12	0	6	13,33	7,61	16,90	0,339	
GT	25	25	25	25	55,56	21,79	48,42	0,473	
TT	14	0	28	14	31,11	15,61	34,68	0,165	
Total	45	37	53	45	100,00	45,00	100,00	0,977	0.3228
	90	0,41	0,59	90				<i>(p) Chi² w 1 df</i>	

Dabei fand sich folgende Altersverteilung der beobachteten Genotypfrequenzen im Patientenkollektiv (Tab.9).

Tabelle 9 EPO-SNP und Alter der 45 Patienten

EPO-SNP	MW \pm SD
GG	36,3 \pm 12,1
GT	41,4 \pm 12,4
TT	42,0 \pm 11,5

Patienten mit dem Polymorphismus GG waren durchschnittlich 36,3 Jahre alt, mit GT 41,4 und solche mit TT 42,0 Jahre alt.

Die verschiedenen EPO-SNP waren auf die Geschlechter wie folgt verteilt (Tab. 10).

Tabelle 10 EPO-SNP und Geschlecht

	GG	p	GT	p	TT	p
Männer	5 (18,5 %)	< 0.05	13 (48,1 %)	< 0.05	9 (33,3 %)	n.s.
Frauen	1 (5,6 %)		12 (66,7 %)		5 (37,8 %)	

Männer hatten zu 18,5 % den Polymorphismus GG, zu 48,1 % GT und zu 33,3 % TT. Frauen hatten zu 5,6 % den Polymorphismus GG, zu 66,7 % GT und zu 37,8 % TT. Die Überprüfung mit dem Chi-Quadrat-Test bestätigte einen signifikant höheren Anteil des Polymorphismus GG unter Männern, einen signifikant höheren Anteil des Polymorphismus GT unter Frauen (Tab.11).

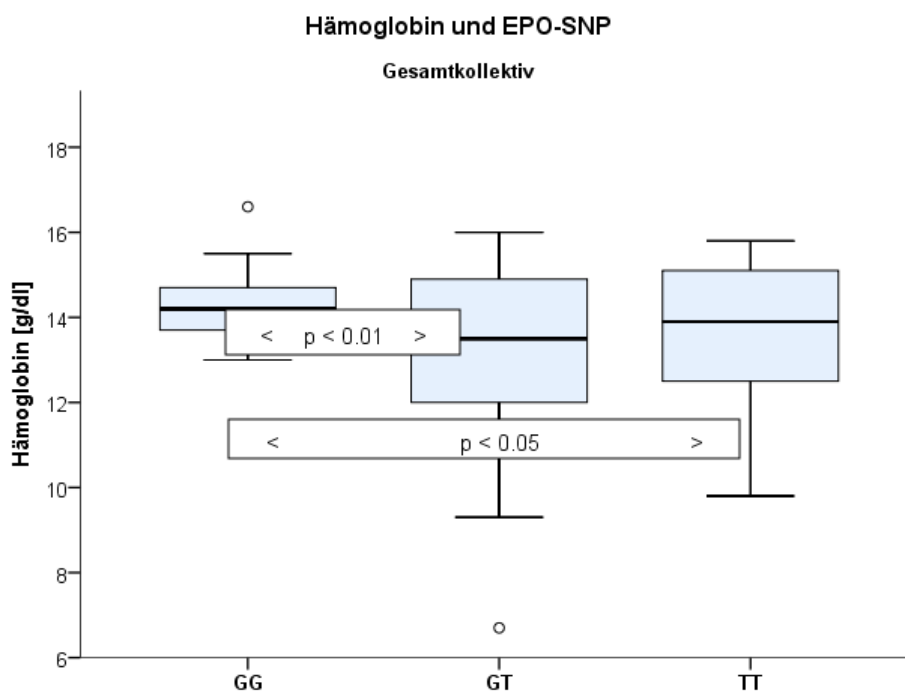
Tabelle 11 EPO-SNP und CED

CED	GG	GT	TT
Colitis ulcerosa	3 (16,7 %)	11 (61,1 %)	4 (22,2 %)
M. Crohn	3 (11,1 %)	14 (51,9 %)	10 (37,0 %)

Patienten mit Colitis ulcerosa hatten zu 16,7 % den Polymorphismus GG, zu 61,1 % GT und zu 22,2 % TT.

Patienten mit M. Crohn hatten zu 11,1 % den Polymorphismus GG, zu 51,9 % GT und zu 37,0 % TT (Tab.10).

Im Gesamtkollektiv fand sich folgende Verteilung der Hämoglobinwerte auf die verschiedenen EPO-SNP (Abb.20).



**Abbildung 20 Hämoglobin und EPO-SNP im Gesamtkollektiv.
GG (N = 6), GT (N = 25), TT (N = 14).**

Im Gesamtkollektiv war bei größter Streuung der durchschnittliche Hämoglobinwert von 13,2 g/dl bei Genotyp GT hochsignifikant ($p < 0.01$) niedriger als der durchschnittliche Hämoglobinwert von 14,6 g/dl bei Genotyp GG und noch signifikant ($p < 0.01$) niedriger als der durchschnittliche Hämoglobinwert von 13,8 g/dl bei Genotyp TT.

Differenziert nach Geschlechtern ergab sich folgende Verteilung der Hämoglobinwerte auf die verschiedenen EPO-SNP (Abb.21).

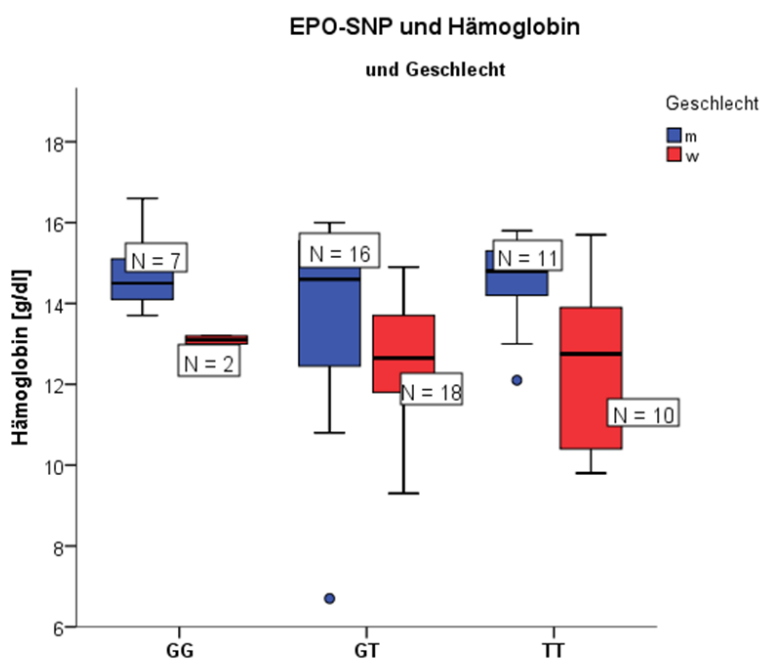


Abbildung 21 Hämoglobin bei verschiedenen EPO-SNP und Geschlecht. Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

In gruppierten Boxplots mit Darstellung von Mittelwerten und sämtlichen Streuungsmaßen wird deutlich, dass bei Männern der durchschnittliche Hämoglobinwert in Verbindung mit dem Polymorphismus GG mit 14,9 g/dl höher war als 14,2 g/dl in Verbindung mit dem Polymorphismus GT und 14,7 g/dl in Verbindung mit dem Polymorphismus TT.

Bei Frauen war der durchschnittliche Hämoglobinwert in Verbindung mit dem Polymorphismus GG mit 13,9 g/dl höher als 12,3 g/dl in Verbindung mit dem Polymorphismus GT und 12,7 g/dl in Verbindung mit dem Polymorphismus TT.

Der Hämoglobinwert war bei Frauen in Verbindung mit allen EPO-SNP stets hochsignifikant niedriger ($p < 0.01$) als bei Männern (Abb.21).

In der Varianzanalyse waren allerdings bei Unterscheidung der Geschlechter die signifikanten Differenzen der Hämoglobinwerte zwischen den drei Polymorphismen nicht mehr wie im Gesamtkollektiv nachweisbar (Tab.12).

Tabelle 12 ANOVA zu Hämoglobin in Abhängigkeit von SNP und Geschlecht

Einfaktorielle ANOVA ^a							
Hämoglobin [g/dl]							
		Quadrat- summe	df	Mittel der Quadrate	F	p	
Zwischen den Gruppen	(Kombiniert)	8,544	2	4,272	1,542	0,220	
	Linearer Term	Gewichtet	0,086	1	0,086	0,031	0,861
		Abweichung	8,459	1	8,459	3,054	0,084
a. Geschlecht = m							
Einfaktorielle ANOVA ^a							
Hämoglobin [g/dl]							
		Quadrat- summe	df	Mittel der Quadrate	F	p	
Zwischen den Gruppen	(Kombiniert)	2,102	2	1,051	0,631	0,536	
	Linearer Term	Gewichtet	0,627	1	0,627	0,376	0,542
		Abweichung	1,475	1	1,475	0,885	0,351
a. Geschlecht = w							

An der Grenzlinie bei 12 g/dl sieht man außerdem, dass sich bei den beiden Frauen mit dem Polymorphismus GG ein Hämoglobinwert unterhalb der Anämiegrenze fand.

Gleichzeitig waren die Durchschnittswerte von Erythropoetin und der EPO/Hb-Quotient beim Genotypus GT deutlich höher als bei den Genotypen GG und TT, allerdings nur mit einem Trend ($p = 0.074$ bzw. 0.099) zur statistischen Signifikanz (Tab.13).

Tabelle 13 Blutparameter und EPO-SNP

	GG	GT	p	TT
Erythropoetin [mU/ml]	12,6 ± 6,5	21,7 ± 28,9	p = 0.074	15,0 ± 9,5
EPO/Hb-Quotient	0,9 ± 0,5	2,1 ± 4,3	p = 0.099	1,1 ± 0,9

Im Weiteren wurde überprüft, ob in Fällen einer Anämie bei den verschiedenen Genotypen weitere Faktoren für die insuffiziente Hämatogenese bzw. Gegenregulation durch Erythropoetin verantwortlich sind.

Deshalb wurde untersucht, ob sich bei den verschiedenen Genotypen eine unterschiedliche Bildung von Erythropoetin in Abhängigkeit von der Entzündungsaktivität fand (Abb.22).

In Abbildung 22 wird deutlich, dass der Serum-Wert von Erythropoetin bei Patienten mit dem Polymorphismus TT nach einem anfänglichen Absinken ab einem CRP-Wert von etwa 40 mg/l exponentiell, bei Patienten mit dem Polymorphismus GT nach einem anfänglichen Absinken ab einem CRP-Wert von etwa noch 90 mg/l leicht anstieg, umgekehrt bei Patienten mit den Polymorphismus GG.

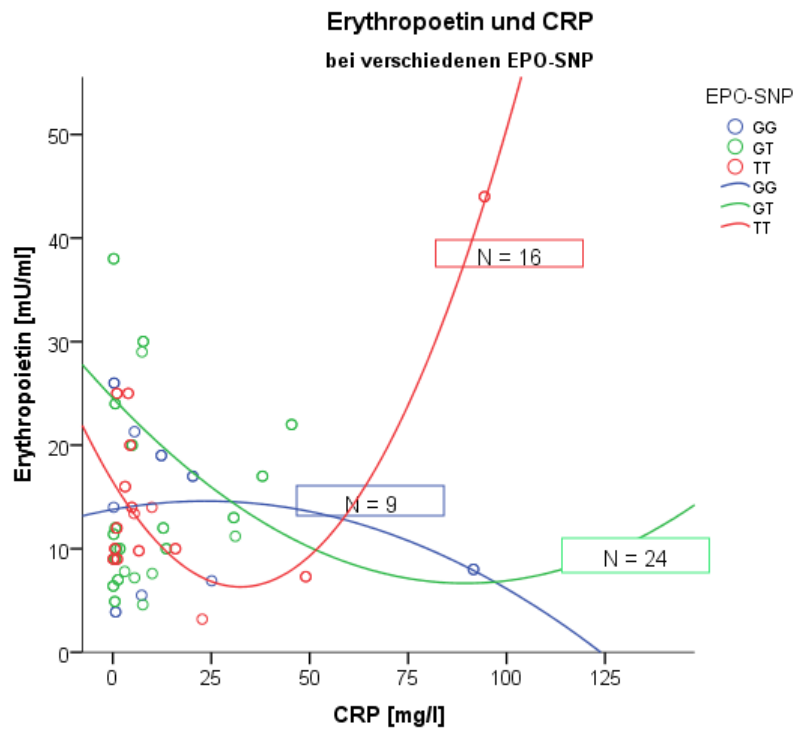


Abbildung 22 Erythropoetin und CRP bei verschiedenen EPO-SNP. Bei den einzelnen Patienten gab es eine unterschiedliche Anzahl (N) von Messungen.

In der Varianzanalyse mit Mehrfachvergleichen fand sich aber keine signifikante Beziehung zwischen den genannten Parametern (Tab.14).

**Tabelle 14 ANOVA mit Mehrfachvergleichen Erythropoetin und CRP
in Abhängigkeit von EPO-SNP**

Mehrfachvergleiche							
LSD							
Abhängige Variable	(I) EPO-SNP	(J) EPO-SNP	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz	95 %-Konfidenzintervall	
						Untergrenze	Obergrenze
Erythropoetin [mU/ml]	GG	GT	-9,118	5,076	0.074	-19,15	0,91
		TT	-2,394	5,444	0.661	-13,15	8,36
	GT	GG	9,118	5,076	0.074	-0,91	19,15
		TT	6,724	3,985	0.094	-1,15	14,60
	TT	GG	2,394	5,444	0.661	-8,36	13,15
		GT	-6,724	3,985	0.094	-14,60	1,15
CRP [mg/l]	GG	GT	4,219	8,047	0.601	-11,77	20,21
		TT	3,982	8,682	0.648	-13,27	21,23
	GT	GG	-4,219	8,047	0.601	-20,21	11,77
		TT	-0,237	6,557	0.971	-13,26	12,79
	TT	GG	-3,982	8,682	0.648	-21,23	13,27
		GT	0,237	6,557	0.971	-12,79	13,26

4 Diskussion

4.1 Methodische Vorbemerkungen

Das retrospektive Studiendesign der vorliegenden Arbeit und ihr Datenumfang sind mit Einschränkungen verbunden. Mit der relativ geringen Anzahl von 73 Patienten sind mit mehreren Parametern statistische Berechnungen nur eingeschränkt möglich, da oft nur Einzelfälle größeren Subkollektiven gegenübergestellt werden können. Außerdem waren von vielen Patienten sensible Serumwerte wie die von CRP (N = 39, 53,4 %) und Ferritin (N = 4, 5,5 %) nicht regelmäßig bestimmt worden, die deshalb in der vorliegenden Arbeit unberücksichtigt blieben.

4.2 CED und Anämie

Die Häufung von Anämien bei CED ist bekannt und durch den Blutverlust über die chronisch entzündete Darmmukosa zunächst nur augenscheinlich hinreichend erklärt. Die Pathogenese ist tatsächlich aber vielschichtig (s. u.).

Im untersuchten Patientenkollektiv wiesen 23,0 % der untersuchten Patienten, verteilt über den gesamten Beobachtungszeitraum, mindestens einmal anämische Resultate auf; davon waren 60,9 % an Colitis ulcerosa erkrankt, 39,1 % an M.Crohn.

In der Literatur finden sich sehr heterogene Angaben zur Prävalenz einer Anämie unter Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Der Anteil von 23,0 % im untersuchten Kollektiv ist relativ gering, denn aktuell werden in größeren epidemiologischen Studien Werte von 8,8 % bis maximal 73,7 % angegeben (Bergamaschi et al. 2010; Dumitrescu et al. 2012; Voegtlin et al. 2010; Wilson et al. 2004). Die große Streuung und damit eingeschränkte Vergleichbarkeit solcher Ergebnisse erklärt sich wohl hauptsächlich darüber, dass in solchen Studien Besonderheiten des Krankheitsverlaufs (Schub oder Remission) und der Therapie (Eisensubstitution, Blutersatz, EPO) nicht hinreichend berücksichtigt sind.

In der Vergangenheit wurden chronisch entzündliche Darmerkrankungen hauptsächlich mit Kortison und/oder Immunsuppressiva behandelt. Dabei geriet die Behandlung eines oft vorhandenen Eisenmangels in den Hintergrund.

In ihrer aktuellen Literaturstudie und Metaanalyse über Publikationen zu CED in Europa zwischen 2007 und 2012 finden Filmann et al. (2014) eine Prävalenz einer Anämie von 21 % bei Colitis ulcerosa und 27 % bei M.Crohn. Dabei hatten 57 % aller Patienten mit Anämie einen Eisenmangel. Über weitere mögliche Ursachen einer Anämie bei CED machen sie allerdings keine Angaben.

Ein festgestellter Eisenmangel bei CED erklärt sich wohl hauptsächlich über den Blutverlust, denn das obere Duodenum, welches für die Eisenresorption verantwortlich ist, ist von dem Entzündungsprozess in den seltensten Fällen betroffen, selbst bei M. Crohn.

Es gibt aber auch Hinweise darauf, dass Eisen-Resorptionsstörungen bei der Verursachung einer Anämie unter CED-Patienten eine Rolle spielen (Gisbert und Gomollon 2008; Moreno Lopez et al. 2009).

Die orale Zufuhr von Eisen ist mit einer geringen Bioverfügbarkeit und einer geringen Tolerabilität für die Patienten verbunden (Schröder et al. 2005). Durch die intravenöse Gabe von Eisen lassen sich aber die Eisenlager im Organismus rasch füllen, was zu einer deutlichen Anhebung der Lebensqualität unter Patienten mit CED führt (Munoz et al. 2009; Reinisch et al. 2013; Stein et al. 2010). Einer konsequenten intravenösen Eisensupplementation stand womöglich auch die schlechte Verträglichkeit der bis dato verfügbaren Eisenpräparate entgegen (Aksan et al. 2017).

Hinsichtlich eines ursächlichen Blutverlustes sollte deshalb bei der Therapie einer Anämie nach Angaben des European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases heute die intravenöse Substitution von Eisen im Vordergrund stehen (Dignass et al. 2015). Dabei sind gut verträgliche Präparate wie z. B. Eisencarboxymaltose zu bevorzugen (Koduru und Abraham 2016).

Die Praxis der Eisensupplementation in Deutschland ist es jedoch, sich vor allem auf eine orale Substitution zu verlassen. Blumenstein et al. (2014) konnten in einer retrospektiven Analyse der Daten von 55 gastroenterologischen Instituten zeigen, dass nur 43,5 % der CED-Patienten wegen Anämie behandelt wurden, davon 56 % ausschließlich mit einer

oralen Eisensubstitution, was auf ein insuffizientes Monitoring bzw. eine insuffiziente Substitution hinweist.

Eine Zufuhr von Eisen war im Datenmaterial der vorliegenden Arbeit nur unvollständig dokumentiert und kann deshalb nicht bewertet werden.

4.3 CED und EPO-Resistenz

Daneben gibt es im Organismus Mechanismen, die einen Blutverlust in einem gewissen Umfang durch eine höhere Syntheserate von Hämoglobin und Erythrozyten ausgleichen können. Eine Analyse von Anämien bei CED erfordert also beides, die Erklärung des Blutverlustes und einer (möglichen) Einschränkung der Neogenese von Erythrozyten. Dazu gehören auch Eisenverteilungsstörungen im Rahmen von chronischen Entzündungen (Casarrubea et al. 2013).

Mit der vorliegenden Untersuchung wurde ohne Beurteilung eines ursächlichen Blutverlustes bei Anämie nach Faktoren gesucht, welche die körpereigenen Kompensationsmechanismen einer Anämie und/oder die Wirkung von Medikamenten negativ beeinflussen.

Der wichtigste Kompensationsmechanismus im menschlichen Organismus ist die über eine Hypoxie vermittelte Anregung der Synthese des Zytokins Erythropoetin. Im untersuchten Patientenkollektiv verhielt sich der Hämoglobinspiegel bei beiden Geschlechtern hochsignifikant invers zu der Serumkonzentration von Erythropoetin, auch im Subkollektiv der Patienten mit Anämie zeigte sich diese hochsignifikant inverse Beziehung. Diese Beobachtung bestätigt die bisher einzige Untersuchung zur Erythropoetinkonzentration bei Patienten mit CED, bei denen es sich allerdings um Kinder und Jugendliche handelte (Tsitsika et al. 2005).

Es könnte also sein, dass bei Patienten mit CED die angemessene Bildung von Erythropoetin entweder behindert ist oder auch ein eigentlich ausreichender Erythropoetinspiegel, bedingt durch weitere Faktoren wie z. B. einen Eisenmangel, keine analoge Steigerung der Syntheserate von Erythrozyten und Hämoglobin bewirken kann. Die Beobachtung einer inversen linearen Beziehung zwischen dem Logarithmus der Erythropoetinkonzentration und dem Hb-Wert bei Patienten mit myelodysplastischem Syndrom, einem guten Modell einer Knochenmarkdefizienz, würde dieses Konzept zusätzlich unterstützen (Suzuki et al. 2015).

Schon durch die physiologische Erythropoese werden täglich rund ein Prozent der Erythrozyten erneuert; sie ist aber auf diese Rate begrenzt und entspricht damit der Menge des Erythrozytenverlustes über die natürliche Blutmauserung. Übersteigt der Blutverlust diese Quote, kann der Organismus vermittelt über die durch Hypoxie angeregte Bildung von Erythropoetin diesen Verlust kompensieren, aber schließlich durch die Menge des Blutverlustes bei CED überfordert sein.

Im vorliegenden Kollektiv war bei beiden CED der EPO/Hb-Quotient bei den Patienten mit Anämie signifikant gegenüber den Patienten ohne Anämie erhöht; im Subkollektiv der Patienten mit Colitis ulcerosa im Median mit 2,08 hochsignifikant ($p < 0.01$) niedriger als 2,75 bei Patienten mit M.Crohn. Dies lässt sich durch einen überproportionalen Anstieg der Epo-Konzentration bei fallendem Hb erklären.

Patienten mit CED-assoziiertes Anämie sprechen zu einem gewissen Anteil nicht auf Therapien mit Eisenpräparaten an. Bei ihnen bietet sich eine Therapie mit rHuEPO an (Sandborn 1997). So lässt sich zusammen mit einer intravenösen Zufuhr von Eisen als Therapie der ersten Wahl ein fast normaler Hämatokrit von 11-12 g/dl erreichen (Moreno Lopez et al. 2009).

In der vorliegenden Untersuchung hatten Patienten mit CED und einer Anämie im Median mit 26,0 mU/ml gegenüber 12,0 mU/ml einen höheren Serumspiegel von Erythropoetin als Patienten mit CED ohne Anämie. Bei Patienten mit Colitis ulcerosa lag der Median von Erythropoetin bei 26,0 mU/ml gegenüber 12,5 mU/ml bei nicht-anämischen, bei Patienten mit M. Crohn bei 33,0 mU/ml gegenüber 12,0 mU/ml bei nicht-anämischen, bei Patienten mit M. Crohn mit einer tendenziellen Signifikanz ($p = 0.06$).

Es ist also zu fragen, warum die Kompensation des Blutverlustes bei CED durch die offenbar vorhandene gegenregulative Mehrbildung von Erythropoetin nicht gelingt. Mit dem Datenmaterial der vorliegenden Studie konnte diese Frage schon deshalb nicht ausreichend beantwortet werden, da ein Eisenmangel oder eine Substitution von Eisen bei den Patienten nicht durchgängig dokumentiert war.

Es bleibt aber für das hier untersuchte Kollektiv festzuhalten, dass die negative Korrelation von Epo- und Hb-Konzentration offenbar auch quantitativ unabhängig davon ist, ob ein akuter Schub oder eine Remission besteht. Ein Einfluss etwaiger inflammatorischer Mediatoren auf die EPO-Regulation oder -Wirkung scheint somit wenig wahrscheinlich. Auch

scheint ein relativer Mangel an EPO für die Entstehung einer Anämie bei CED ebenso wenig eine Rolle zu spielen wie eine fehlende Wirkung.

Damit unterscheidet sich die Situation bei CED offenbar von der bei chronischer Niereninsuffizienz, bei der offenbar proinflammatorische Zytokine wie Interleukin-1 (IL-1), Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-alpha), Gamma-Interferon (IFN-gamma) oder Resistin an der Entstehung einer Epo-Resistenz beteiligt sind (Chang et al. 2011; MacDougall und Cooper 2002; Zhang et al. 2015).

Es ist also sehr wahrscheinlich, dass der Faktor Eisenmangel oder ein Mangel an Vitamin B12 oder Folsäure bei der Entstehung einer Anämie im untersuchten Kollektiv die wesentliche Rolle spielt.

Des Weiteren ist zu überlegen, welchen Einfluss die im untersuchten Kollektiv festgestellte signifikante Abhängigkeit des EPO/Hb-Quotienten vom Alter der Patienten hat. Dies könnte für eine altersabhängige Ermüdung der Anpassungsreaktion bei Anämie durch Mehrbildung von Erythropoetin sprechen.

Musso et al. (2004) fanden in ihrer Vergleichsstudie mit 74 gesunden Probanden [22 Erwachsene (18-64 Jahre), 30 alte (65-75 Jahre) und 22 sehr alte (>75 Jahre)] heraus, dass der Erythropoetinspiegel in allen Altersstufen unverändert blieb, dabei aber einen hochsignifikanten Zusammenhang mit der Kreatinin-Clearance hatte. Wenn also bei anämischen älteren Patienten eine mangelhafte Bildung von Erythropoetin vermutet wird, ist immer auch an eine beginnende Nephropathie zu denken.

Di Iorio et al. (2004) fanden in ihrer Studie an 3.224, mit Hämodialyse behandelten Patienten, eine solche Ermüdung. Sie differenzierten ihr Patientenkollektiv aber nicht nach Geschlecht, so dass ihr Ergebnis durch den Blutverlust durch die Menses bei weiblichen Patienten verfälscht sein könnte.

In ihrer Querschnittsstudie mit 280 anämischen Patienten bestimmten Vogeser und Schiel (2002) den Zusammenhang zwischen Erythropoetin und Hämoglobin. Sie empfehlen auf Grund ihrer Analyse das 20. Perzentil der Serumkonzentration von Erythropoetin, nämlich 22,3 IU/L als Referenzwert, unterhalb dessen man erst von einem Defizit an Erythropoetin als Ursache einer Anämie sprechen könne.

Bei der isolierten aplastischen Anämie (Pure Red Cell Aplasia), bei der ausschließlich die Anzahl der roten Blutkörperchen im Blut verringert ist, lässt sich mit dem wegen anaphylaktischer Reaktionen zurückgerufenen Epo-Rezeptoragonisten Hematid[®] (Affymax, USA) eine EPO-Resistenz überwinden. Ähnliches wird von dem ersten kontinuierlichen Aktivator für die Bildung roter Blutkörperchen Mircera[®] (Roche, Schweiz) berichtet. Es wäre zu prüfen, ob dieses Medikament auch bei Anämien in Zusammenhang mit CED einzusetzen wäre, sollte sich herausstellen, dass es auch bei CED-Patienten zur Entwicklung einer EPO-Resistenz kommen kann. So ließen sich auch die drei Ausreißer aus Tabelle 6 der vorliegenden Arbeit mit extrem hohen Erythropoetinwerten ohne analoge Steigerung von Serum-Hämoglobin interpretieren. Bislang gibt es in der Literatur allerdings wenig Hinweise auf einen solchen Zusammenhang (Moreno Lopez et al. 2009; Schreiber et al. 1996).

Eine Überprüfung in größeren Patientenkollektiven erfordert auch die Beobachtung aus der vorliegenden Arbeit, dass bei allen Patienten mit Anämie, besonders bei Frauen ein signifikant höherer EPO/Hb-Quotient festzustellen war als im Subkollektiv ohne Anämie. Dabei wäre in weiteren Studien zu berücksichtigen, ob oder inwieweit niedrige Hämoglobin-Werte wie aus Abbildung 6 der vorliegenden Arbeit oder eine gegenregulative Mehrbildung von Erythropoetin aus dem Blutverlust während der Menses weiblicher Patienten resultieren.

In ihrer Studie am Datenmaterial von 5.782 hospitalisierten erwachsenen Patienten mit CED finden Dotson et al. (2015) auch Hinweise, dass das unterschiedliche Ausmaß von Symptomen verschiedener CED einschließlich Anämie im Allgemeinen konsistent ist mit bekannten Geschlechtsunterschieden, unabhängig von den CED.

4.4 SNP, CRP und EPO-Resistenz bei anderen Erkrankungen

Ein Zusammenhang von EPO-SNP, erhöhter Entzündungsaktivität und Anämie bzw. EPO-Resistenz ist auch bei anderen Erkrankungen bekannt. Dies gilt vor allem für verschiedene Bluterkrankungen wie Polycythaemia vera oder myeloischer Leukämie, aber auch für dialysepflichtige Nierenerkrankungen, die chronisch-obstruktive Lungenerkrankung (COPD) und Diabetes (Mittelman et al. 1996; Sharples et al. 2006).

Amanzada et al. (2014) stellten bei antiviral behandelten Hepatitis-C-Patienten in Verbindung mit dem Erythropoetin rs1617640 G Allel eine Anämie bei abgeschwächtem Anstieg von Erythropoetin fest. In Fällen einer therapieresistenten Anämie empfehlen sie eine zusätzliche Gabe von Epoetin-alpha oder einen Abbruch der Therapie.

SNP in der Promotor-Sequenz verschiedener proinflammatorischer Zytokine beeinflussen die Zytokin-Reaktion auf verschiedene Stimuli und haben so einen Effekt auf den klinischen Verlauf verschiedener Erkrankungen.

In einer Kohorte aus 93 Patienten mit COPD konnten Markoulaki et al. (2011) einen hochsignifikant inversen Zusammenhang zwischen Hämoglobin- und Erythropoetinspiegel in Abhängigkeit von der Serumkonzentration der Entzündungsmarker CRP, TNF-alpha, Fibrinogen und IL-6 feststellen.

In ihrer Vergleichsstudie an jeweils 58 dialysepflichtigen Diabetikern und Nicht-Diabetikern über 48 Wochen stellten Abe et al. (2011) Besonderheiten des Zusammenhangs zwischen Insulinresistenz und Ansprechbarkeit auf EPO fest.

Bei Diabetikern fand sich gegenüber Nicht-Diabetikern sowohl eine geringere Ansprechbarkeit auf EPO wie auch eine Insulinresistenz bei signifikant erhöhtem Serumspiegel der Entzündungsmarker Plasma –Leptin, IL-6 und CRP.

Im Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit konnte allerdings kein Zusammenhang zwischen Entzündungsaktivität und EPO-Resistenz festgestellt werden (Abb.18). Diese gegensätzlich erscheinenden Befunde sprechen dafür, dass Entzündungen erst durch verschiedenste Mediatoren eine EPO-Resistenz bedingen können.

4.4.1 CED und EPO-SNP

Bei Überprüfung des Hardy-Weinberg Gleichgewichts stellte sich heraus, dass die Populationsstichprobe im untersuchten Patientenkollektiv für die untersuchten Merkmale nicht signifikant ($p = 0.3228$) von einem populationsgenetischen Gleichgewicht abweicht und deshalb für biostatistische Berechnungen eingesetzt werden kann.

Im Gesamtkollektiv war bei größter Streuung der durchschnittliche Hämoglobinwert von 13,2 g/dl bei Genotyp GT hochsignifikant ($p < 0.01$) niedriger als der durchschnittliche

Hämoglobinwert von 14,6 g/dl bei Genotyp GG und noch signifikant ($p < 0.01$) niedriger als der durchschnittliche Hämoglobinwert von 13,8 g/dl bei Genotyp TT. Bei Unterscheidung der Geschlechter war dieser Zusammenhang allerdings nicht mehr nachweisbar.

Es bleibt also offen, ob noch weitere Faktoren neben dem Geschlecht der Patienten einen Einfluss auf den Hämoglobinwert bzw. eine Anämie in Verbindung mit CED und EPO-SNP haben.

Es wäre deshalb interessant, diesen Zusammenhang mit EPO-SNP noch in einem größeren Patientenkollektiv zu untersuchen.

Zu dem gleichen Untersuchungsgegenstand finden sich in der Literatur bislang keine Studien.

5 Zusammenfassung

Die Aktivierung der EPO-Synthese ist eine physiologische Antwort des Körpers auf eine Anämie, wobei genetische Variationen des EPO-Gens hierbei eine Rolle spielen können. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein definiertes Kollektiv von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen im Hinblick auf das Vorliegen einer Anämie zu charakterisieren und dabei die mögliche Rolle von Erythropoetin und EPO-SNPs zu untersuchen.

Dafür wurden unabhängig von einer etwaigen Vormedikation die biometrischen, laborchemischen und klinischen Daten von 73 konsekutiven Patienten untersucht, die in der Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie im Zentrum Innere Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen in der Zeit zwischen dem 15.05.2011 und dem 21.02.2012 wegen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung mit dem TNF- α -Blocker Infliximab behandelt wurden.

Alle Patienten wurden über die Verwendung der Daten aufgeklärt, 51 Patienten willigten schriftlich in eine Verwendung ihrer EPO-Genetik-Daten ein.

Es zeigte sich ein signifikanter Anteil der Patienten anämisch. Bei 23 % der Patienten trat während des Beobachtungszeitraumes mindestens einmal eine Anämie auf.

Erythropoetin war im Falle einer Anämie stets signifikant erhöht und korrelierte dabei negativ mit dem Hämoglobinspiegel, wobei sich hier ein logarithmischer Zusammenhang zeigte.

Die Konzentrationen von Hämoglobin und Erythropoetin sowie der EPO/Hb-Quotient waren bei den Patienten in Abhängigkeit von Schub und Remission nicht unterschiedlich verteilt.

Im Gesamtkollektiv war die Korrelation zwischen Hämoglobin und CRP signifikant negativ.

Zwischen dem EPO/Hb-Quotienten und CRP fand sich dagegen eine nicht signifikante positive Korrelation. Diese wird allerdings im Wesentlichen durch den im Entzündungsfall

erniedrigten Hämoglobin-Wert erklärt. Erfolgt eine Betrachtung des Zusammenhangs von EPO und Hämoglobin auf der Basis eines logarithmisch transformierten EPO-Wertes, zeigt sich hier kein Unterschied zwischen Patienten im Schub und in Remission. Dieser Befund spricht gegen eine entzündungsbedingte EPO-Resistenz.

Der EPO/Hb-Quotient sank im Durchschnitt bei beiden Geschlechtern mit dem Alter. In der Varianzanalyse (nach logarithmischer Umrechnung der Daten) waren allerdings bei beiden Geschlechtern keine signifikanten Abhängigkeiten zwischen Alter und dem EPO/Hb-Quotienten nachweisbar.

Bei der Untersuchung der EPO-SNPs zeigte sich zwar ein signifikant niedriger Hämoglobin-Wert in der Patientengruppe mit dem Genotyp GT. Dies ist allerdings in erster Linie auf den gegenüber den anderen Genotypen höheren Anteil an Frauen zurückzuführen. Zudem zeigte sich in der GT-Gruppe eine signifikant höhere EPO-Konzentration, was für eine intakte physiologische Hochregulation der EPO-Synthese und gegen eine Rolle des GT-Polymorphismus bei der Entstehung einer Anämie bei CED spricht. Für eine Einschätzung der Bedeutung der anderen SNPs ist die beobachtete Fallzahl zu klein.

Der EPO/Hb-Quotient war dabei im Subkollektiv der Patienten mit Colitis ulcerosa signifikant ($p < 0.01$) höher als im Subkollektiv der Patienten mit M. Crohn. Dies lässt Raum für die Spekulation, dass sich hier beide symptomkomplexen Entitäten in der Pathogenese der assoziierten Anämien unterscheiden, beispielsweise durch den Einfluss unterschiedlicher Zytokine wie Interleukin-6 und Interleukin-10 auf die EPO-Expression oder -Wirkung. Auch hier könnte es sein, dass bei Colitis ulcerosa die Anämie stärker ausgeprägt war als bei M. Crohn.

Ein Zusammenhang zwischen der EPO-Bildung und den untersuchten Varianten des EPO-Gen-Promotors ließ sich nicht feststellen.

6 Literaturverzeichnis

Aadland E, Schrumpf E, Fausa O, Elgjo K, Heilo A, Aakhus T, Gjone E (1987): Primary sclerosing cholangitis: a long-term follow-up study. *Scand J Gastroenterol* 22, 655-664

Abe M, Okada K, Maruyama T, Maruyama N, Matsumoto K, Soma M (2011): Relationship between erythropoietin responsiveness, insulin resistance, and malnutrition-inflammation-atherosclerosis (MIA) syndrome in hemodialysis patients with diabetes. *Int J Artif Organs* 34, 16-25

Aksan A, Isik H, Radeke HH, Dignass A, Stein J (2017): Systematic review with network meta-analysis: comparative efficacy and tolerability of different intravenous iron formulations for the treatment of iron deficiency anaemia in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 45, 1303-1318

Alberti C (2010): Crohn's disease: a still tourbillon of etiopathogenetic theories and therapeutic strategies. Some implications in the field of urology. *G Chir* 31, 124-133

Amanzada A, Goralczyk AD, Reinhardt L, Moriconi F, Cameron S, Mihm S (2014): Erythropoietin rs1617640 G allele associates with an attenuated rise of serum erythropoietin and a marked decline of hemoglobin in hepatitis C patients undergoing antiviral therapy. *BMC Infect Dis* 14, 503-512

Antes G: Morbus Crohn. In: Feuerbach S (Hrsg.): *Gastrointestinales System (Handbuch diagnostische Radiologie)*. 1. Auflage; Springer, Berlin 2007, 219-225

Aoshiba K, Onizawa S, Tsuji T, Nagai A (2009): Therapeutic effects of erythropoietin in murine models of endotoxin shock. *Crit Care Med* 37, 889-898

Bager P, Befrits R, Wikman O, Lindgren S, Moum B, Hjortswang H, Dahlerup JF (2011): The prevalence of anemia and iron deficiency in IBD outpatients in Scandinavia. *Scand J Gastroenterol* 46, 304-309

Balkwill F (2009): Tumour necrosis factor and cancer. *Nat Rev Cancer* 9, 361-371

Baumgart DC (2009): The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dtsch Arztebl Int* 106, 123-133

Bergamaschi G, Di Sabatino A, Albertini R, Ardizzone S, Biancheri P, Bonetti E, Cassinotti A, Cazzola P, Markopoulos K, Massari A, et al. (2010): Prevalence and pathogenesis of anemia in inflammatory bowel disease. Influence of anti-tumor necrosis factor-alpha treatment. *Haematologica* 95, 199-205

Billmann-Born S, Lipinski S, Bock J, Till A, Rosenstiel P, Schreiber S (2011): The complex interplay of NOD-like receptors and the autophagy machinery in the pathophysiology of Crohn disease. *Eur J Cell Biol* 90, 593-602

Blumenstein I, Dignass A, Vollmer S, Klemm W, Weber-Mangal S, Stein J (2014): Current practice in the diagnosis and management of IBD-associated anaemia and iron deficiency in Germany: the German AnaemIBD Study. *J Crohns Colitis* 8, 1308-1314

Bojarski C (2009): Malignant transformation in inflammatory bowel disease: prevention, surveillance and treatment - new techniques in endoscopy. *Dig Dis* 27, 571-575

Borg S, Persson U, Jess T, Thomsen OO, Ljung T, Riis L, Munkholm P (2010): A maximum likelihood estimator of a Markov model for disease activity in Crohn's disease and ulcerative colitis for annually aggregated partial observations. *Med Decis Making* 30, 132-142

Braun J, Sieper J (2004): Biological therapies in the spondyloarthritides--the current state. *Rheumatology (Oxford)* 43, 1072-1084

Brookes AJ (1999): The essence of SNPs. *Gene* 234, 177-186

Buck I, Morceau F, Cristofanon S, Heintz C, Chateauvieux S, Reuter S, Dicato M, Diederich M (2008): Tumor necrosis factor alpha inhibits erythroid differentiation in human erythropoietin-dependent cells involving p38 MAPK pathway, GATA-1 and FOG-1 downregulation and GATA-2 upregulation. *Biochem Pharmacol* 76, 1229-1239

Burpee T, Mitchell P, Fishman D, Islam S, Nemeth E, Westerman M, Wessling-Resnick M, Grand RJ (2011): Intestinal ferroportin expression in pediatric Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 17, 524-531

Campos N, Magro F, Castro AR, Cabral J, Rodrigues P, Silva R, Appelberg R, Rodrigues S, Lopes S, Macedo G, et al. (2011): Macrophages from IBD patients exhibit defective tumour necrosis factor-alpha secretion but otherwise normal or augmented pro-inflammatory responses to infection. *Immunobiology* 216, 961-970

Carbonnel F, Jantchou P, Monnet E, Cosnes J (2009): Environmental risk factors in Crohn's disease and ulcerative colitis: an update. *Gastroenterol Clin Biol* 33, 145-157

Casarrubea D, Viatte L, Hallas T, Vasanthakumar A, Eisenstein RS, Schumann K, Hentze MW, Galy B (2013): Abnormal body iron distribution and erythropoiesis in a novel mouse model with inducible gain of iron regulatory protein (IRP)-1 function. *J Mol Med (Berl)* 91, 871-881

Castle JC (2011): SNPs occur in regions with less genomic sequence conservation. *PLoS One* 6, 20-26

Chang JH, Jung JY, Lee HH, Chung W, Joo KW, Kim S (2011): Serum resistin as a novel marker of erythropoietin resistance in nondiabetic patients on hemodialysis. *Tohoku J Exp Med* 224, 281-285

Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A (2011): Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 140, 1785-1794

Di Iorio BR, Stellato D, De Santo NG, Cirillo M (2004): Association of gender and age with erythropoietin resistance in hemodialysis patients: role of menstrual status. *Blood Purif* 22, 423-427

Dignass AU, Gasche C, Bettenworth D, Birgegard G, Danese S, Gisbert JP, Gomollon F, Iqbal T, Katsanos K, Koutroubakis I, et al. (2015): European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis* 9, 211-222

Dotson JL, Bricker JB, Kappelman MD, Chisolm D, Crandall WV (2015): Assessment of Sex Differences for Treatment, Procedures, Complications, and Associated Conditions Among Adolescents Hospitalized with Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis* 21, 2619-2624

Dumitrescu G, Dranga M, Pintilie IA, Nedelciuc O, Mihai C, Prelipcean CC (2012): The prevalence of anaemia in patients with inflammatory bowel diseases in North-Eastern Romania. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 116, 968-974

Eckardt KU (2002): Anaemia of critical illness - implications for understanding and treating rHuEPO resistance. *Nephrol Dial Transplant* 17, 48-55

Eckardt KU, Kurtz A (2005): Regulation of erythropoietin production. *Eur J Clin Invest* 35, 13-19

Elsenbruch S (2011): Abdominal pain in Irritable Bowel Syndrome: a review of putative psychological, neural and neuro-immune mechanisms. *Brain Behav Immun* 25, 386-394

Engels WR (2009): Exact tests for Hardy-Weinberg proportions. *Genetics* 183, 1431-1441

Erslev AJ, Caro J, Miller O, Silver R (1980): Plasma erythropoietin in health and disease. *Ann Clin Lab Sci* 10, 250-257

Filmann N, Rey J, Schneeweiss S, Ardizzone S, Bager P, Bergamaschi G, Koutroubakis I, Lindgren S, Morena Fde L, Moum B, et al. (2014): Prevalence of anemia in inflammatory bowel diseases in european countries: a systematic review and individual patient data meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis* 20, 936-945

Ganz T (2007): Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol* 18, 394-400

Giannini S, Martes C (2006): Anemia in inflammatory bowel disease. *Minerva Gastroenterol Dietol* 52, 275-291

Girndt M, Heine GH, Köhler H (2006): Gene polymorphism association studies in dialysis: anemia and host immunity. *Semin Dial* 19, 227-231

Girndt M, Stenvinkel P, Ulrich C, Axelsson J, Nordfors L, Barany P, Carrero JJ, Heine GH, Kaul H, Köhler H (2007): Influence of cytokine gene polymorphisms on erythropoietin dose requirements in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 22, 3586-3592

Gisbert JP, Gomollon F (2008): Common misconceptions in the diagnosis and management of anemia in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 103, 1299-1307

Gottlieb AB, Antoni CE (2004): Treating psoriatic arthritis: how effective are TNF antagonists? *Arthritis Res Ther* 6, 31-35

Götz M, Kiesslich R (2009): Advanced imaging of the gastrointestinal tract: research vs. clinical tools? *Curr Opin Gastroenterol* 25, 412-421

Hadrich I, Vandewalle P, Cheikhrouhou F, Makni F, Krichen MS, Sendid B, Standaert-Vitse A, Ayadi A, Poulain D (2007): Ethnic and socio-cultural specificities in Tunisia have no impact on the prevalence of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in Crohn's disease patients, their relatives or associated clinical factors. *Scand J Gastroenterol* 42, 717-725

Haferlach T, Bacher U, Thelml H, Diem H: Taschenatlas Hämatologie: Mikroskopische und klinische Diagnostik für die Praxis. 6. Auflage; Thieme, Stuttgart 2012

Halfvarson J, Bodin L, Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G (2003): Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology* 124, 1767-1773

Heinrich P, Müller M, Graeve L (Hrsg.): Löffler-Petrides Biochemie und Pathobiochemie. 9. völlig neu bearb. Auflage; Springer, Heidelberg 2014

Hindryckx P, De Vos M, Jacques P, Ferdinande L, Peeters H, Olievier K, Bogaert S, Brinkman B, Vandenabeele P, Elewaut D, et al. (2010): Hydroxylase inhibition abrogates TNF-alpha-induced intestinal epithelial damage by hypoxia-inducible factor-1-dependent repression of FADD. *J Immunol* 185, 6306-6316

Horneff G, Foeldvari I, Minden K, Moebius D, Hospach T (2011): Report on malignancies in the German juvenile idiopathic arthritis registry. *Rheumatology (Oxford)* 50, 230-236

Hüsler J, Zimmermann H: Statistische Prinzipien für medizinische Projekte. 5. überarbeitete und erweiterte Auflage; Verlag Hans Huber, Hogrefe AG, Bern 2010

Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, Neill SD, Kaufman RJ, Mufson A, Seehra J, Jones SS, Hewick R, Fritsch EF, et al. (1985): Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature* 313, 806-810

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

Kollias G (2005): TNF pathophysiology in murine models of chronic inflammation and autoimmunity. *Semin Arthritis Rheum* 34, 3-6

Landers CJ, Cohavy O, Misra R, Yang H, Lin YC, Braun J, Targan SR (2002): Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* 123, 689-699

Levi-Schaffer F, Temkin V, Malamud V, Feld S, Zilberman Y (1998): Mast cells enhance eosinophil survival in vitro: role of TNF-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Immunol* 160, 5554-5562

Lomer MC, Kodjabashia K, Hutchinson C, Greenfield SM, Thompson RP, Powell JJ (2004): Intake of dietary iron is low in patients with Crohn's disease: a case-control study. *Br J Nutr* 91, 141-148

Lopez-Gomez JM, Perez-Flores I, Jofre R, Carretero D, Rodriguez-Benitez P, Villaverde M, Perez-Garcia R, Nassar GM, Niembro E, Ayus JC (2004): Presence of a failed kidney transplant in patients who are on hemodialysis is associated with chronic inflammatory state and erythropoietin resistance. *J Am Soc Nephrol* 15, 2494-2501

Ludwiczek S, Aigner E, Theurl I, Weiss G (2003): Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells. *Blood* 101, 4148-4154

MacDougall IC, Cooper A (2002): The inflammatory response and epoetin sensitivity. *Nephrol Dial Transplant* 17, 48-52

Markoulaki D, Kostikas K, Papatheodorou G, Koutsokera A, Alchanatis M, Bakakos P, Gourgoulialis KI, Roussos C, Koulouris NG, Loukides S (2011): Hemoglobin, erythropoietin and systemic inflammation in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Intern Med* 22, 103-107

Mascheretti S, Schreiber S (2005): Genetic testing in Crohn disease: utility in individualizing patient management. *Am J Pharmacogenomics* 5, 213-222

Mittelman M, Gardyn J, Carmel M, Malovani H, Barak Y, Nir U (1996): Analysis of the erythropoietin receptor gene in patients with myeloproliferative and myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 20, 459-466

Moayeri A, Daryani NE, Bahrami H, Haghpanah B, Nayyer-Habibi A, Sadatsafavi M (2005): Clinical course of ulcerative colitis in patients with and without primary sclerosing cholangitis. *J Gastroenterol Hepatol* 20, 366-370

Monsén U (1990): Inflammatory bowel disease. An epidemiological and genetic study. *Acta Chir Scand Suppl* 559, 1-42

Moreno Lopez R, Sicilia Aladren B, Gomollon Garcia F (2009): Use of agents stimulating erythropoiesis in digestive diseases. *World J Gastroenterol* 15, 4675-4685

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

Musso C, Musso C, Joseph H, De Miguel R, Rendo P, Gonzalez E, Algranati L, dos Ramos Farias E (2004): Plasma erythropoietin levels in the oldest old. *Int Urol Nephrol* 36, 259-262

Nairz M, Schroll A, Moschen AR, Sonnweber T, Theurl M, Theurl I, Taub N, Jamnig C, Neurauter D, Huber LA, et al. (2011): Erythropoietin contrastingly affects bacterial infection and experimental colitis by inhibiting nuclear factor-kappaB-inducible immune pathways. *Immunity* 34, 61-74

Nairz M, Sonnweber T, Schroll A, Theurl I, Weiss G (2012): The pleiotropic effects of erythropoietin in infection and inflammation. *Microbes Infect* 14, 236-246

Nakase H, Chiba T (2010): TNF-alpha is an important pathogenic factor contributing to reactivation of cytomegalovirus in inflamed mucosa of colon in patients with ulcerative colitis: lesson from clinical experience. *Inflamm Bowel Dis* 16, 550-551

Neumaier J (2010): Reizdarmsyndrom. Ausführliche Diagnostik lohnt sich. *MMW Fortschr Med* 152, 1-43

Neurath MF, Schurmann G (2000): Zur Immunpathogenese der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. *Chirurg* 71, 30-40

Oostenbrug LE, van Dullemen HM, te Meerman GJ, Jansen PL (2003): IBD and genetics: new developments. *Scand J Gastroenterol Suppl* 239, 63-68

Parameswaran N, Patial S (2010): Tumor necrosis factor-alpha signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 20, 87-103

Persigehl M, Feuerbach S: Erkrankungen des Dickdarms. In: Feuerbach S (Hrsg.): Handbuch diagnostische Radiologie: Gastrointestinales System. 1. Auflage; Springer, Berlin 2007

Raddatz D, Bockemühl M, Ramadori G (2005): Quantitative measurement of cytokine mRNA in inflammatory bowel disease: relation to clinical and endoscopic activity and outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 17, 547-557

Ramadori P, Ahmad G, Ramadori G (2010a): Cellular and molecular mechanisms regulating the hepatic erythropoietin expression during acute-phase response: a role for IL-6. *Lab Invest* 90, 1306-1324

Ramadori P, Sheikh N, Ahmad G, Dudas J, Ramadori G (2010b): Hepatic changes of erythropoietin gene expression in a rat model of acute-phase response. *Liver Int* 30, 55-64

Reinisch W, Sandborn WJ, Hommes DW, D'Haens G, Hanauer S, Schreiber S, Panaccione R, Fedorak RN, Tighe MB, et al. (2011): Adalimumab for induction of clinical remission in moderately to severely active ulcerative colitis: results of a randomised controlled trial. *Gut* 60, 780-787

Reinisch W, Staun M, Bhandari S, Munoz M (2013): State of the iron: how to diagnose and efficiently treat iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 7, 429-440

Rosenstiel P, Sina C, End C, Renner M, Lyer S, Till A, Hellmig S, Nikolaus S, Folsch UR, Helmke B, et al. (2007): Regulation of DMBT1 via NOD2 and TLR4 in intestinal epithelial cells modulates bacterial recognition and invasion. *J Immunol* 178, 8203-8211

Rudwaleit M, Baeten D (2006): Ankylosing spondylitis and bowel disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 20, 451-471

Sandborn W (1997): Erythropoietin for inflammatory bowel disease anemia. *Gastroenterology* 112, 660-661

Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF (2006): The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut* 55, 749-753

Schreiber S, Howaldt S, Schnoor M, Nikolaus S, Bauditz J, Gasche C, Lochs H, Raedler A (1996): Recombinant erythropoietin for the treatment of anemia in inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 334, 619-623

Schröder O, Mickisch O, Seidler U, de Weerth A, Dignass AU, Herfarth H, Reinshagen M, Schreiber S, Junge U, Schrott M (2005): Intravenous iron sucrose versus oral iron supplementation for the treatment of iron deficiency anemia in patients with inflammatory bowel disease--a randomized, controlled, open-label, multicenter study. *Am J Gastroenterol* 100, 2503-2509

Sharples EJ, Varaganam M, Sinnott PJ, McCloskey DJ, Raftery MJ, Yaqoob MM (2006): The effect of proinflammatory cytokine gene and angiotensin-converting enzyme polymorphisms on erythropoietin requirements in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 26, 64-68

Silbernagl S, Lang F: Taschenatlas Pathophysiologie. 3. Auflage; Thieme, Stuttgart 2009

Silva L, Geluk A, Arnone M, Romiti R, Franken K, Duarte A, Takahashi M, Benard G (2012): Infliximab partially impairs the anti-Mycobacterium tuberculosis immune responses of severe psoriasis patients with positive tuberculin skin-test. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 26, 319-324

Solomon DH (2007): The comparative safety and effectiveness of TNF-alpha antagonists. *J Manag Care Pharm* 13, 7-18

Sonnenberg A (1986): Geographic variation in the incidence of and mortality from inflammatory bowel disease. *Dis Colon Rectum* 29, 854-861

Stallmach A, Hagel S, Bruns T (2010): Adverse effects of biologics used for treating IBD. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 24, 167-182

Stein J, Hartmann F, Dignass AU (2010): Diagnosis and management of iron deficiency anemia in patients with IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 7, 599-610

Stein JM, Hartmann F, Cordes HJ, Dignass AU (2009): Pathophysiologisch-orientierte Diagnostik und Therapie der Eisenmangelanämie bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. *Z Gastroenterol* 47, 228-236

Suzuki T, Oh I, Ohmine K, Meguro A, Mori M, Fujiwara S, Yamamoto C, Nagai T, Ozawa K (2015): Distribution of serum erythropoietin levels in Japanese patients with myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol* 101, 32-36

Tsitsika A, Stamoulakatou A, Kafritsa Y, Paleologos G, Panayotou I, Premetis E, Roma E, Papassotiriou I (2005): Erythropoietin levels in children and adolescents with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 27, 93-96

Van der Putten K, Braam B, Jie KE, Gaillard CA (2008): Mechanisms of Disease: erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure. *Nat Clin Pract Nephrol* 4, 47-57

Vavricka SR, Brun L, Ballabeni P, Pittet V, Prinz Vavricka BM, Zeitz J, Rogler G, Schoepfer AM (2011): Frequency and risk factors for extraintestinal manifestations in the Swiss inflammatory bowel disease cohort. *Am J Gastroenterol* 106, 110-119

Voegtlin M, Vavricka SR, Schoepfer AM, Straumann A, Voegtlin J, Rogler G, Ballabeni P, Pittet V, Buser A, Fried M, et al. (2010): Prevalence of anaemia in inflammatory bowel disease in Switzerland: a cross-sectional study in patients from private practices and university hospitals. *J Crohns Colitis* 4, 642-648

Vogeser M, Schiel X (2002): Serum erythropoietin concentrations in patients with anemia-preliminary hemoglobin-related reference ranges. *Clin Lab* 48, 595-598

Warnecke C, Zaborowska Z, Kurreck J, Erdmann VA, Frei U, Wiesener M, Eckardt KU (2004): Differentiating the functional role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha and HIF-2alpha (EPAS-1) by the use of RNA interference: erythropoietin is a HIF-2alpha target gene in Hep3B and Kelly cells. *FASEB J* 18, 1462-1464

Weisman MH (2002): What are the risks of biologic therapy in rheumatoid arthritis? An update on safety. *J Rheumatol Suppl* 65, 33-38

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

Wilson A, Reyes E, Ofman J (2004): Prevalence and outcomes of anemia in inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Med* 116, 44-49

Yu JE, De Ravin SS, Uzel G, Landers C, Targan S, Malech HL, Holland SM, Cao W, Harpaz N, Mayer L, Cunningham-Rundles C: (2011): High levels of Crohn's disease-associated anti-microbial antibodies are present and independent of colitis in chronic granulomatous disease. *Clin Immunol* 138, 14-22

Zhang H, Li X, Kan Y, Yang F, Hou Y, Du Y (2015): Analysis of the correlation between serum resistin and the variability of erythropoietin responsiveness in patients with chronic kidney disease. *Exp Ther Med* 10, 1925-1930

Zvidi I, Hazazi R, Birkenfeld S, Niv Y (2009): The prevalence of Crohn's disease in Israel: a 20-year survey. *Dig Dis Sci* 54, 848-852

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dirk Raddatz für die Übernahme meiner Arbeit und die gewährte wohlwollende Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. med. Tobias J. Legler danke ich für wertvolle Empfehlungen und die kritische Durchsicht der Arbeit.