

Aus dem Zentrum für Innere Medizin der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II der Universität zu Köln  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. Th. Benzing

Durchgeführt im:  
Zentrum für spezialisierte geriatrische Diagnostik  
am MVZ Medicum Köln Ost  
Prof. Dr. med. habil. Gabriele Röhrig-Herzog, MPH

**Assoziation von Anämie und Vitamin D-Mangel in Abhängigkeit und  
unabhängig von der Nierenfunktion bei Personen  $\geq 60$  Jahren in Deutschland**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Dorothee Magdalena Schuchart  
aus Braunschweig

promoviert am 04. November 2024

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln  
2024

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachterin: Professorin Dr. med. habil. G. Röhrig-Herzog
2. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. M. Fabri

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Der dieser Arbeit zugrundeliegende Datensatz wurde von mir allein erhoben und dessen statistische Auswertung mittels IBM SPSS Statistics 28.0.0.0 wurde ebenso von mir allein, ohne Mithilfe Dritter, durchgeführt. Ich erhielt lediglich eine statistische Beratung über die Universität zu Köln von Frau Dipl.-Math. Ingrid Becker.

## Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 30.06.2024

Unterschrift: .....[D.M. Schuchart](#) .....

## Danksagung

Primärer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Gabriele Röhrig-Herzog für die Bereitstellung des interessanten Themas und die hervorragende Betreuung über die gesamte Zeit der Arbeit.

Auch herzlichen Dank an Frau Dipl.-Math. Ingrid Becker für die statistische Beratung über die Universität zu Köln.

Für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich bei meinem Vater Dr. Gert Schuchart, meiner Cousine Lisa-Marie Labus sowie meiner Freundin Corinna Wilke bedanken.

Im Weiteren danke ich Lisa-Marie Labus für die stete Hilfsbereitschaft und die vielen wertvollen Anregungen, welche wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonderer Dank auch an Corinna Wilke für ihr unermüdliches, geduldiges Zuhören, ihre Rücksichtnahme sowie die uneingeschränkte Unterstützung und Aufmunterung in der schwierigen Endphase dieser Dissertation.

Mein Dank gilt nicht zuletzt meinen Eltern, die mich während meines gesamten Werdeganges unterstützten und mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Meinem Vater, welcher mit einer Engelsgeduld mir bei den Hausaufgaben half und so den  
Grundstein für meinen Werdegang legte.

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>7</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>10</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>11</b>
2.1 Anämie	13
2.1.1. Grundlagen	13
2.1.2. Definition der Anämie	25
2.1.3. Einteilung der Anämie	25
2.1.4. Anämiediagnostik	26
2.1.5. Anämie im Alter	33
2.2 Vitamin D	34
2.2.1. Synthese	35
2.2.2. Funktion	36
2.2.3. Vitamin D-Bestimmung und Referenzwerte	37
2.2.4. Vitamin D-Mangel	39
2.3 Einfluss von Vitamin D im Eisenstoffwechsel	40
2.4 Fragestellungen und Ziel der Arbeit	41
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>42</b>
3.1 Datenerhebung	42
3.1.1. Referenzbereiche	43
3.1.2. Labormethoden	44
3.2 Statistische Auswertung	47
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>49</b>
4.1 Deskriptive Statistik	49
4.1.1. Hämoglobin und Anämie	50
4.1.2. Nierenfunktion	56
4.1.3. 25-Hydroxyvitamin D	59
4.1.4. 1,25-Dihydroxyvitamin D	60
4.1.5. Ergebnisübersicht der deskriptiven Statistik	62

<b>4.2</b>	<b>Studienfrage – Vitamin D und Hämoglobin</b>	<b>63</b>
4.2.1.	Assoziation Calcidiol und Hämoglobin	63
4.2.2.	Assoziation Calcitriol und Hämoglobin	73
4.2.3.	Assoziation Calcidiol mit der Erythrozytenverteilungsbreite	75
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>76</b>
5.1	Schlussfolgerung/Ausblick	81
<b>6.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>82</b>
<b>7.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>91</b>
7.1	Tabellenverzeichnis	91
7.2	Abbildungsverzeichnis	93
<b>8.</b>	<b>VORVERÖFFENTLICHUNGEN</b>	<b>94</b>
8.1	Vortrag	94
8.2	Publikation	94

## Abkürzungsverzeichnis

1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	1,25-Dihydroergocalciferol, 1,25-Dihydroxyvitamin D <sub>2</sub>
1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1,25-Dihydroxycholecalciferol, 1,25-Dihydroxyvitamin D <sub>3</sub>
1,25D	1,25-Dihydroxyvitamin D, Calcitriol
25(OH)D <sub>2</sub>	25-Hydroxyergocalciferol, 25-Hydroxyvitamin D <sub>2</sub>
25(OH)D <sub>3</sub>	25-Hydroxycholecalciferol, 25-Hydroxyvitamin D <sub>3</sub>
25D	25-Hydroxyvitamin D, Calcidiol
5-MTHF	5-Methyltetrahydrofolat
ACD	<i>anaemia of chronic disease</i> ; Anämie bei chronischer Erkrankung
ACI	<i>anaemia of chronic infection</i> ; Anämie bei chronischer Entzündung
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma-2</i>
Bcl-xL	<i>B-cell lymphoma-extra large</i>
BFU-E	<i>burst forming unit-erythrocyte</i>
CED	chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
CFU-E	<i>colony forming unit-erythrocyte</i>
CFU-GEMM	<i>colony forming unit-granulocyte, erythrocyte, monocyte, megakaryocyte</i>
CKD	<i>chronic kidney disease</i> ; chronische Nierenerkrankung
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CoA	Coenzym A
CRP	C-reaktives Protein
CYP450	Cytochrome P450
DBP	Vitamin D-bindendes Protein, syn. Transcalciferin
DFH	Dihydrofolsäure
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DMT1	<i>divalent metal transporter 1</i>
DNA	<i>desoxyribonucleic acid</i> ; Desoxyribonukleinsäure
ECLIA	Elektrochemilumineszenz-Immunoassay
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EPO	Erythropoetin
EpoR	Erythropoetin-Rezeptor
Fe <sup>2+</sup>	zweiwertiges Eisen
Fe <sup>3+</sup>	dreiwertiges Eisen



GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid
HAMP-Gen	<i>hepcidin antimicrobial peptide-gene</i>
HbA	adultes Hämoglobin
HbE	embryonales Hämoglobin
HbF	fetales Hämoglobin
HCP1	<i>heme-carrier protein 1</i>
HFE-Gen	<i>human homeostatic iron regulator-gene</i>
HIF-1 $\alpha$	<i>hypoxia-inducible factor-1 alpha</i>
HTC	Holo transcobalamin
HWZ	Halbwertszeit
IDA	<i>iron deficiency anemia</i> ; Eisenmangelanämie
IL-10	Interleukin-10
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 beta
IL-6	Interleukin-6
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
IRE	<i>iron response elements</i>
IREG1	<i>iron-regulated transporter 1</i> ; syn. Ferroportin-1
IRP	<i>iron regulatory protein</i>
JAK	Januskinase
KDOQI	<i>Kidney Disease Outcome Quality Initiative</i>
KG	Körpergewicht
KI	Konfidenzintervall
LC-MS	Liquid chromatographie-Massenspektrometrie
M	Mittelwert
MCH	<i>mean corpuscular haemoglobin</i> ; mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	<i>mean corpuscular haemoglobin concentration</i> ; mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	<i>mean corpuscular volume</i> ; mittleres korpuskuläres Volumen
M <sub>Diff.</sub>	Mittelwertdifferenz
Mdn	Median
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MMA	Methylmalonsäure
MPN	Myeloproliferative Neoplasie
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i> , Boten-Ribonukleinsäure

MVZ	Medizinisches Versorgungszentrum
NAD(P)	Nicotinamidadenindinukleotid(phosphat), oxidierte Form
NAD(P)H	Nicotinamidadenindinukleotid(phosphat), reduzierte Form
NRAMP1	<i>natural resistance-associated macrophage protein 1</i>
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
PMF	primäre Myelofibrose
PNH	paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
PTH	Parathormon
RDW-CV	<i>red cell distribution width-coefficient of variation</i> ; Erythrozytenverteilungsbreite-Variationskoeffizient
RDW-SD	<i>red cell distribution width- standard deviation</i> ; Erythrozytenverteilungsbreite- Standardabweichung
Ret-Hb	Retikulozyten-Hämoglobin
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	<i>ribonucleic acid</i> ; Ribonukleinsäure
RPI	Retikulozytenproduktionsindex
SAM	S-Adenosylmethionin
SD	<i>standard deviation</i> ; Standardabweichung
SE	<i>standard error</i> , Standardfehler
sHPT	sekundärer Hyperparathyreoidismus
SLS	Sodiumlaurylsulfat
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
(s)TfR	(löslicher) Transferrinrezeptor
TC	Transcobalamin
TfS	Transferrinsättigung
THF	Tetrahydrofolsäure
TNF-α	Tumornekrose-Faktor-alpha
UAE	<i>unexplained anemia of the elderly</i> ; Anämie ungeklärter Ursache im Alter
VDM	Vitamin D-Mangel
VDR	Vitamin D-Rezeptor
VDRE	<i>vitamin D-response element</i>
WHO	<i>World Health Organization</i> ; Weltgesundheitsorganisation

## 1. Zusammenfassung

Anhand einer retrospektiven Datenanalyse von 4008 Routinelaboren von Patienten im Alter von  $\geq 60$  Jahren wurde nach einem signifikanten Zusammenhang zwischen Anämie und dem Vitamin D-Spiegel mittels parametrischer und nicht-parametrischer Verfahren in Abhängigkeit und unabhängig von der Nierenfunktion gesucht.

Hintergrund zur Studienfrage war die hohe Rate an Anämien bei älteren Menschen sowie die hohe Prävalenz des Vitamin D-Mangels (VDM) in dieser Klientel. Vorausgegangene internationale Studien konnten hier bereits Zusammenhänge aufzeigen. Hypothese hierzu ist ein durch VDM induzierter funktioneller Eisenmangel, welcher über die Heparin-Ferroportin-Achse wirke. Es fehlen bislang jedoch repräsentative Daten für Deutschland und für ältere Menschen beider Geschlechter zur Prüfung der Hypothese.

Zur Analyse standen für das 25-Hydroxycholecalciferol (25D) 4008 und für das 1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25D) 410 Labore zur Verfügung. 31 % der Personen in der Stichprobe waren Männer, 69 % Frauen. Das durchschnittliche Alter betrug 75 Jahre ( $SD = 8,61$ ) und reichte von 60 bis 99 Jahren. Die mittlere glomeruläre Filtrationsrate (GFR) betrug  $62 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  ( $SD = 22,74$ ). Fast 20 % der Personen in der Stichprobe waren laut Definition der Weltgesundheitsorganisation anämisch. Hierbei zeigte sich bei den Männern (27 %) in Relation zu den Frauen (16 %) eine signifikant höhere Prävalenz;  $p < 0,001$ . Außerdem waren Männer mit Anämie signifikant jünger als anämische Frauen und bei beiden Geschlechtern konnte festgestellt werden, dass Menschen mit Anämie signifikant älter waren als Personen ohne Anämie;  $p < 0,001$ . Es ließ sich im Weiteren bei beiden Geschlechtern eine deutliche Zunahme der Anämieprävalenz über die Altersdekaden finden. Hierbei war der überwiegende Anteil (57 %) der gefundenen Anämien normozytär und normochrom.

Rund 35 % wiesen einen 25D-Mangel mit Werten von  $< 50 \text{ nmol/l}$  auf, wobei auch hier signifikant mehr Männer (38 %) als Frauen (34 %) betroffen waren;  $p = 0,014$ . Ebenso zeigten sich im Durchschnitt für das 1,25D um  $10 \text{ pg/ml}$  niedrigere Werte bei den Männern in Relation zu den Frauen;  $p < 0,001$ .

Zur Assoziation von Anämie und 25D-Mangel konnte im Chi-Quadrat-Test für 25D-Spiegel unter  $30 \text{ nmol/l}$  bei Frauen, nicht aber bei Männern, ein signifikanter Zusammenhang aufgezeigt werden;  $p < 0,001$  vs.  $p = 0,104$ . Bei den Frauen zeigte sich, dass ein 25D-Spiegel von  $< 30 \text{ nmol/l}$  rund 11 % häufiger mit einer Anämie assoziiert war als ein Spiegel  $\geq 30 \text{ nmol/l}$ . Für Männer konnte erst durch Ausschluss des Kidney Disease Outcome Quality Initiative-Stadiums 5 (KDOQI) eine signifikante Assoziation belegt werden, welche bei zusätzlichem Ausschluss des Stadiums 4 noch an Stärke zunahm, sodass auch hier eine 10%ig höhere Assoziation für Anämie bei VDM  $< 30 \text{ nmol/l}$  nachzuweisen war;  $p = 0,004$ . Im Weiteren konnte ebenfalls mittels linearer Regression ein signifikanter Zusammenhang zwischen 25D und

Hämoglobin für 25D-Werte < 30 nmol/l bei Männern und Frauen gefunden werden:  $F(1; 165) = 6,461$ ;  $R^2 = 0,038$ ;  $p = 0,012$  [Männer];  $F(1; 357) = 45,386$ ;  $R^2 = 0,113$ ;  $p < 0,001$  [Frauen]. Für die Männer bestand jedoch die höchste Assoziation in den KDOQI-Stadien 3 bis 5:  $F(1; 94) = 11,843$ ;  $R^2 = 0,112$ ;  $p < 0,001$ . Für die Frauen zeigte sich hingegen die höchste Assoziation in den KDOQI-Stadien der „besten“ Nierenfunktion, 1 und 2:  $F(1; 178) = 25,287$ ;  $R^2 = 0,124$ ;  $p < 0,001$ . Die Varianz des Zusammenhangs unter den KDOQI-Stadien war bei den Frauen jedoch geringer ausgeprägt als bei den Männern, sodass für die Männer, aber nicht wesentlich für die Frauen, ein Einfluss der Nierenfunktion auf die Assoziation initial abzuleiten war. In einer multiplen Regression mit dem Alter und der GFR zeigten sich hingegen bei den Männern leicht höhere Effekte des 25Ds pro Anstieg um eine Einheit nmol/l auf das Hämoglobin in Relation zu den Frauen (0,091 g/dl vs. 0,071 g/dl;  $p < 0,001$ ). Dies ließ in der Gesamtschau auf einen divergenten Einfluss der Nierenfunktion unter den Geschlechtern in der Stichprobe auf die Assoziation des 25Ds mit dem Hämoglobin bei 25D-Spiegeln < 30 nmol/l schließen. Insgesamt konnte somit in der Stichprobe bei beiden Geschlechtern ein hoch signifikanter Einfluss des 25Ds auf das Hämoglobin auch unabhängig von der Nierenfunktion im Sinne einer positiven Korrelation gefunden werden.

Für das 1,25D zeigte sich initial bei den Männern und Frauen ebenfalls eine signifikante positive Korrelation mit dem Hämoglobin:  $r = 0,376$ ;  $p < 0,001$  [Männer];  $r = 0,342$ ;  $p < 0,001$  [Frauen]. Mittels partieller Korrelation mit der GFR reduzierte sich der gefundene Effekt bei den Frauen jedoch deutlich während bei den Männern kein signifikanter Zusammenhang mehr belegt werden konnte:  $r = 0,171$ ;  $p < 0,001$  [Frauen];  $r = 0,157$ ;  $p = 0,060$  [Männer]. Zusammenfassend konnte für beide Geschlechter für das 1,25D unabhängig von der Nierenfunktion kein statistisch aussagekräftiger Einfluss auf das Hämoglobin belegt werden.

Zur Herleitung einer möglichen Ursache der gefundenen Assoziation des 25Ds mit dem Hämoglobin konnte eine signifikante negative Korrelation des 25Ds mit der Erythrozytenverteilungsbreite ab 25D-Spiegel von < 75 nmol/l nachgewiesen werden ( $p < 0,001$ ), deren Stärke mit abnehmendem mittlerem korpuskulärem Volumen der Erythrozyten stetig zunahm. Statistisch zeigten sich somit in der Stichprobe Hinweise auf einen Zusammenhang von VDM und Eisenmangel gemäß initialer Hypothese. Die Studienzahlen waren hier jedoch begrenzt. Weitere Studien sind erforderlich, um zu analysieren, ob die Substitution von 25D den Hämoglobinspiegel erhöhen kann. Ebenfalls bedarf es weiterer Daten zur weiterführenden ätiologischen Klärung des gefundenen Zusammenhangs.

## 2. Einleitung

Die weltweite Prävalenz der Anämie lag in den Jahren 1993 bis 2005 laut Welt Gesundheitsorganisation (*World Health Organization*; WHO) bei 24,8 %. Neben schwangeren Frauen und

Vorschulkindern sind vor allem auch ältere Menschen ab dem 60. Lebensjahr mit 23,9 % betroffen.<sup>1</sup> Ab dem 50. Lebensjahr steigt hier die Prävalenz der Anämie stetig an<sup>2</sup>. Studien aus Industriestaaten beziffern im Mittel eine Prävalenz von 17 % ab dem 65. Lebensjahr, 30,7 % bzw. 37 % für Patienten von > 80 und > 90 Jahren sowie 47 % für Patienten aus Pflegeheimen<sup>3,4</sup>. Bei Patienten > 70 Jahren in stationärer Behandlung konnte in Deutschland bei 54,2 % eine Anämie gefunden werden und in Italien bei Patienten  $\geq$  65 Jahre betrug die Prävalenz in diesem Klientel sogar 61 %<sup>5,6</sup>. Die Zahlen verdeutlichen die Relevanz der Thematik. Zudem steht die Anämie in einem direkten Zusammenhang mit der Hospitalisierungsrate und Mortalität<sup>7</sup>.

Als Ursache der hochprävalenten Anämie im höheren Lebensalter wird eine multifaktorielle Genese gesehen<sup>4,8</sup>. Während im jüngeren Lebensalter der Eisenmangel bei Kindern und Schwangeren im Vordergrund steht, kommen im höheren Alter zudem Faktoren wie Niereninsuffizienz, chronische Erkrankungen und Entzündungen sowie (latente) hämato-onkologische Krankheitsbilder entscheidend zum Tragen<sup>4,9-11</sup>.

Auch die ethnische Zugehörigkeit und das Geschlecht haben Einfluss auf die Prävalenz der Anämie und die Mortalitätsrate. So zeigt sich, dass afroamerikanische Menschen dreimal häufiger eine Anämie entwickeln als Kaukasier<sup>12</sup>. Jedoch kommt es bei Afroamerikanern erst bei höhergradiger Anämie auch zu einer Steigerung der Sterblichkeitsrate. Bei Kaukasiern hingegen ist eine Zunahme der Mortalitätsrate schon bei milder Anämie signifikant erfassbar. Multiple Faktoren, wie die unterschiedliche Häufigkeitsverteilung von interagierenden Grunderkrankungen werden hierfür u.a. verantwortlich gemacht, wobei die Zusammenhänge noch nicht gänzlich geklärt werden konnten<sup>13</sup>.

Bei den Geschlechtern lässt sich im Altersverlauf eine Umkehr der Häufigkeiten ablesen. Ist die Prävalenz bei erwachsenen, nicht schwangeren Frauen noch deutlich höher als bei gleichaltrigen Männern (30,2 % vs. 12,7 %), entwickeln Männer im höheren Alter ( $\geq$  90 Jahren) häufiger eine Anämie als Frauen (41 % vs. 21 %), wobei der Scheitelpunkt unter den Geschlechtern mit einer Prävalenz von 8,6 % zwischen 71-74 Jahren eruiert wurde<sup>1,14</sup>. Als eine der Ursachen hierfür wird bei Männern das im Alter abfallende Testosteron gesehen, welches positiv mit dem Hämoglobin korreliert und über die Hemmung von Hepsidin die Eisenresorption und die Mobilisation aus den Speichern fördert<sup>15-18</sup>.

Während im jüngeren Alter die Ursache einer Anämie meist geklärt werden kann, bleibt diese im hohen Alter zu 17-40,9 %, je nach Kohorte, unklar<sup>10,19</sup>. Aufgrund der Vielschichtigkeit der Regelmechanismen der Erythropoese sind die Ursachen von Anämien noch nicht im Detail geklärt. Im Rahmen dessen rückte in den letzten Jahren das Vitamin D als weiterer Faktor zunehmend in den Fokus der Forschung. Eine Hypothese hierzu ist, dass Vitamin D über die Hepsidin-Ferroportin-Achse aktiv in den Eisenstoffwechsel einwirkt sowie Einfluss auf die Wirkung von Erythropoetin nimmt<sup>20,21</sup>. Da bei Niereninsuffizienz Vitamin D vermindert

synthetisiert wird, besteht eine besondere Relevanz für Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz, welche durch neue Therapieansätze zur renalen Anämie profitieren könnten <sup>22,23</sup>.

Vorangegangene internationale Studien deuten bei Vitamin D-Mangel (VDM) auf ein erhöhtes Risiko für Anämien bei Erwachsenen mit und ohne chronischer Nierenerkrankung (*chronic kidney disease*; CKD) hin <sup>24,25</sup>. Auch bei Kindern konnte ein ähnlicher Zusammenhang gefunden werden. Hier zeigten sich ebenfalls deutliche Unterschiede unter den Ethnien. So war der Effekt bei afroamerikanischen Kindern nur vermindert oder gar nicht nachweisbar <sup>26,27</sup>. Eine Studie mit ausschließlich älteren Männern als Probanden zeigte hingegen nur partiell einen Zusammenhang auf <sup>28</sup>. Es fehlen jedoch repräsentative Daten für ältere Patienten beider Geschlechter und für Deutschland. Gerade diese Kohorte hat eine hohe Rate unklarer Anämien in Kombination mit einem erhöhten Risiko und einer erhöhten Prävalenz von VDM und CKD <sup>18,29,30</sup>. Zusätzlich besteht in Deutschland durch die in Nordeuropa vorliegende geringe Sonneneinstrahlung über 6 Monate des Jahres ein besonders hohes Risiko für einen VDM. In Studien konnte bei einem Drittel der Bevölkerung in Deutschland ein VDM bzw. bei zwei Dritteln eine suboptimale Vitamin D-Versorgung gefunden werden, wobei im höheren Alter die Tendenz anstieg <sup>31</sup>.

Ausgehend von diesen Beobachtungen wurde das Konzept für die vorliegende Studie entwickelt, in der es darum geht, mit Hilfe von Sekundärdaten eines bundesweit agierenden Laborunternehmens einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Vitamin D-Spiegel und dem Hämoglobinwert bei Personen  $\geq 60$  Jahren zu untersuchen.

## **2.1 Anämie**

### **2.1.1. Grundlagen**

#### **Erythropoese:**

Ontogenese der Blutbildung: Die Hämatopoese nimmt ihren Anfang bereits in der Embryonalphase. Ab dem 16. bis zum 20. Tag nach Konzeption findet im Mesoderm des Dottersacks die erste Blutbildung statt. Ausgehend vom Hämangioblast, differenzieren sich unter Einfluss von Wachstumsfaktoren Angioblasten und Hämozytoblasten. Aus den Hämozytoblasten entstehen in der 4. bis 5. Woche große, kernhaltige Zellen mit embryonalem Hämoglobin (HbE). Ab der 5. bis 6. Woche wandern die hämatopoetischen Stammzellen sukzessiv in die Leber ein, sodass nach der 8. Woche die Blutbildung im Dottersack vollständig zum Erliegen kommt. Die Erythrozyten verfügen jetzt über fetales Hämoglobin (HbF) und verlieren zunehmend ihren Kern. Um die 12. Woche hat die Blutbildung in der Leber bereits ihr Maximum erreicht und wird passager durch die Milz unterstützt bis die Blutbildung im Knochenmark, welche ab dem 4.

Fetalmonat einsetzt, die Leber vollständig ablösen kann. Ab der 28. Woche dominiert die medulläre Hämatopoese, in welcher nun adultes Hämoglobin (HbA) gebildet wird. Die Leber stellt die Blutbildung ein bis zwei Wochen nach der Geburt ein, kann aber, wie auch die Milz, bei Erwachsenen z. B. im Rahmen verdrängender Prozesse im Knochenmark, wieder zur Blutbildung reaktiviert werden.<sup>32-34</sup>

Zelldifferenzierung der Erythropoese: Aus der pluripotenten hämatopoetischen Stammzelle entwickelt sich im Knochenmark die oligopotente CFU-GEMM (*colony forming unit-granulocyte, erythrocyte, monocyte, megakaryocyte*) als Vorläuferzeller der myeloischen Reihe. Diese differenziert weiter zu den beiden Progenitorzellen der Erythrozyten. Zuerst bildet sich die BFU-E (*burst forming unit-erythrocyte*) und danach die CFU-E (*colony forming unit-erythrocyte*). Den beiden Vorläuferzellen folgt die erste Zelle der eigentlichen Erythropoese, der Proerythroblast. Dieser exprimiert bereits den Transferrin-Rezeptor CD71. Im Fortlauf verkleinern sich die Zellen, das Kernchromatin kondensiert und das Zytoplasma wechselt durch den Verlust von Ribonukleinsäure (*ribonucleic acid*; RNA) und die Synthese von Hämoglobin von basophil über polychromatisch zu orthochromatisch. Mit Übergang zum orthochromatischen Erythroblasten verlieren die Zellen ihre Teilungsfähigkeit, enthalten aber noch einen maximal kondensierten Kern, welcher im letzten Schritt zum Retikulozyten ausgestoßen wird. Der Retikulozyt besitzt kein CD71 mehr, jedoch verfügt die Zelle seit dem Stadium des polychromatischen Erythroblasten über den CD235a-Marker als Träger von Blutgruppenmerkmalen. Ein bis zwei Tage verweilen die Retikulozyten noch im Knochenmark, bevor sie ins Blut übergehen. Nach Verlust der letzten RNA schließen sie dort nach weiteren zwei bis drei Tagen die Reifung zum Erythrozyten ab. Bei Anämie tritt der sog. Retikulozytenshift vom Knochenmark ins Blut früher ein. Insgesamt dauert die Erythropoese ab Proerythroblast acht Tage, wobei die des Retikulozyten vier beträgt. Die reifen Erythrozyten verweilen daraufhin physiologisch 120 Tage im Blut, bevor sie von der Milz abgebaut werden.<sup>33,34</sup>

Steuerung der Erythropoese: Das zentrale Hormon zur Steuerung der Erythropoese ist Erythropoetin (EPO). Dieses Zytokin wird in der Embryonalperiode in der Leber und im Erwachsenenalter zu 85-90 % nur noch in den peritubulären Fibroblasten der Niere synthetisiert. Ein Absinken des Sauerstoffpartialdrucks ( $pO_2$ ) ist der Schlüsselreiz zur Bildung von EPO. Über den Transkriptionsfaktor HIF-1 $\alpha$  (*hypoxia-inducible factor-1 alpha*) wird die renale Expression von EPO eingeleitet, welches daraufhin ungebunden über die Blutbahn ins Knochenmark gelangt. Nach Bindung am Erythropoetinrezeptoren (EpoR) der Zielzelle wird über den JAK-STAT-Signalweg (*Januskinase-Signal transducers and activators of transcription*-Signalweg) die Transkription verschiedenster Gene im Zellkern eingeleitet. Ein

Protein, welches daraufhin vermehrt exprimiert wird, ist das Bcl-xL (*B-cell lymphoma-extra large*). Dieses wirkt auf die Zellen antiapoptotisch, indem es die Aktivierung von Caspase 3 supprimiert. Neben dem Proerythroblasten weist die CFU-E die höchste Dichte an EpoR auf, welche unter Einfluss von EPO große Kolonien ausbildet. EPO wirkt somit antiapoptotisch als auch proliferativ auf die Zellen der Hämatopoese ein.<sup>33–36</sup>

### **Erythrozytenstoffwechsel:**

Mit Durchlaufen der verschiedenen Entwicklungsstufen müssen die Erythrozyten ihre Zellorganellen, wie die Mitochondrien, das endoplasmatische Retikulum, die Ribosomen sowie ihren Kern, einbüßen. Damit haben sie neben der Fähigkeit zur Zellteilung, Lipid- und Proteinsynthese auch die Möglichkeit verloren, aus aeroben Prozessen Energie zu gewinnen.<sup>33,36</sup>

Energiestoffwechsel der Erythrozyten: Die einzige Methode Adenosintriphosphat (ATP) zu generieren ist für Erythrozyten die anaerobe Glykolyse. Hierbei gibt es in den Erythrozyten eine Besonderheit im Ablauf. Bei niedrigem  $pO_2$  wird ein Zwischenprodukt, das 2,3-Bisphosphoglycerat, gebildet. Dieses bindet an die  $\beta$ -Kette des desoxygenierten Hämoglobins und reduziert mittels allosterischen Effekts deren Affinität zu Sauerstoff ( $O_2$ ), sodass dieser leichter abgegeben werden kann. Bei ausreichendem  $pO_2$  entfällt dieser Schritt und es wird über 1,3-Bisphosphoglycerat die Phosphorylierung von Adenosindiphosphat (ADP) zu ATP vollzogen. Die Energie benötigt der Erythrozyt für seine Natrium-Kalium- und Calcium-ATPase, welche zum Erhalt des Membranpotentials und der Form der Erythrozyten erforderlich sind. Des Weiteren wird ATP in der Glutathionsynthese benötigt.<sup>33,36</sup>

Glutathion: Glutathion (GSH) wird in allen Zellen des Körpers gebildet und schützt diese vor oxidativem Stress. Aufgrund des hohen  $pO_2$ s hat diese Funktion in den Erythrozyten eine besondere Relevanz. Die Bildung wird enzymkatalysiert in zwei Schritten unter Wasserabspaltung und Verbrauch von zwei ATP im Zytosol des Erythrozyten durchgeführt. Das Glutathion fungiert in reduzierter Form über seine Sulfhydrylgruppe als Reduktionsmittel für die Sulfhydrylgruppen anderer Proteine und wird hierbei selbst zu Glutathiondisulfid (GSSG) oxidiert. Zur Elimination von Wasserstoffperoxid wird als Katalysator zudem die Glutathion-Peroxidase oder die Katalase benötigt. Bei der ständig spontan ablaufenden Oxidation des zweiwertigen Eisens ( $Fe^{2+}$ ) vom Hämoglobin entsteht neben Methämoglobin das Superoxidradikal, welches zu Wasserstoffperoxid oder mit einem weiteren Superoxidradikal zum Hydroxylradikal reagieren kann. Letzteres ist äußerst reaktiv und schädigt Lipide der Zellmembran und kann somit zur Lyse führen. Eine schnelle Beseitigung des Wasserstoffperoxids ist somit für die Erythrozyten überlebenswichtig. Das Methämoglobin wird enzymunabhängig ebenfalls durch GSH wieder zum funktionsfähigen Hämoglobin reduziert.



Unterstützung bekommt GSH von der Methämoglobin-Reduktase, welche in einer separaten Reaktion unter Verbrauch von Nicotinamidadenindinukleotid und Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NAD(P)H) ebenfalls die Reduktion des dreiwertigen Eisens ( $\text{Fe}^{3+}$ ) vollzieht. Abschließend wird durch die Glutathion-Reduktase NADPH-abhängig das GSSG selbst reduziert und steht somit funktionell der Zelle wieder als GSH zur Verfügung. Im Erythrozyten muss für die oben genannten Prozesse somit NAD(P)H bereitgestellt werden. Das benötigte NADH kommt hierfür aus der Glykolyse und das NADPH wird durch den Pentosephosphatweg bereitgestellt. 10 % der Glukose im Erythrozyten werden nicht in der Glykolyse verstoffwechselt, sondern gehen in den Pentosephosphatweg ein. Dieser dient im Erythrozyten allein der Bereitstellung des  $\text{NADPH}/\text{H}^+$ .<sup>33,36</sup>

Erythrozytenalterung/-abbau: Mit zunehmendem Alter der Erythrozyten vermindert sich die Enzymaktivität sowohl in der Glykolyse als auch in den anderen genannten Prozessen. Es kann somit nicht mehr genug ATP für die Natrium-Kalium- und Calcium-ATPasen geliefert werden. Dies führt dazu, dass das Membranpotential und die Membranstabilität nicht mehr aufrechterhalten werden können. Ebenfalls fallen intrazellulär gehäuft Superoxid- und Hydroxylradikale an. Das Phosphatidylserin, welches sonst an der inneren Zellmembran sitzt, wird an die Membranoberfläche gekehrt und dort von den Phagozyten in der Milz erkannt. Diese bauen den Erythrozyten daraufhin ab, falls er nicht vorher schon durch Radikaleinwirkung im Blut zytolysiert worden ist.<sup>33,37</sup>

Ein hereditärer Mangel an Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, Methämoglobin-Reduktase oder Pyruvatkinase kann durch Mutationen entstehen und in Folge zu hämolytischen Anämien führen.<sup>34,36</sup>

### **Hämoglobin:**

Die Aufgabe der Erythrozyten ist der Sauerstofftransport von der Lunge ins Gewebe sowie der Abtransport des Kohlendioxids ( $\text{CO}_2$ ). Außerdem sind die Erythrozyten entscheidend an der Pufferung des Blutes beteiligt (s.u.).<sup>33</sup> Der rote Blutfarbstoff, das Hämoglobin, hat für diese Funktionen der roten Blutkörperchen zentrale Bedeutung. Von den drei beim Menschen vorkommenden Typen des Hämoglobins haben das HbE und das HbF eine deutlich höhere Affinität zu  $\text{O}_2$  als das HbA. Dies gewährleistet eine ausreichende Sauerstoffversorgung des Fötus über die Nabelschnur.<sup>34</sup>

Das Hämoglobinmolekül ist ein Tetramer aus je zwei identischen Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von 64 kDa. Bei den Untereinheiten handelt es sich um Polypeptidketten unterschiedlicher Aminosäuresequenz, über welche sich die drei Typen des Hämoglobins unterscheiden. HbA präsentiert sich im Blut erwachsener Personen in zwei Formen: Hämoglobin A<sub>1</sub> (HbA<sub>1</sub>) aus zwei alpha- und zwei beta-Ketten ( $\alpha_2\beta_2$ ) und Hämoglobin A<sub>2</sub> (HbA<sub>2</sub>) aus

zwei alpha- und zwei delta-Ketten ( $\alpha_2\delta_2$ ). Das HbA<sub>1</sub> macht hierbei 98 % des Hämoglobins aus. Bei Knochenmarksdepression, z. B. nach aggressiver Chemotherapie, können kompensatorisch erhöhte Werte von HbF gefunden werden. Davon abzugrenzen sind hereditäre Hämoglobinopathien, wie die Thalassämie oder die HbS-, HbE- oder HbC-Erkrankung durch Mutationen im Gen für die  $\beta$ -Globinkette.<sup>34</sup>

Die Untereinheiten bestehen hierbei jeweils aus einem Porphyrinteil, dem Häm, und einem Proteinteil, der Polypeptidkette als Globin. Das Häm wird aus vier Pyrrolringen gebildet, welche im Zentrum ein Eisen-Ion komplexieren. Dieses bindet jeweils ein Sauerstoffmolekül, sodass 1 Mol Hämoglobin über seine vier Untereinheiten 4 Mol O<sub>2</sub> transportieren kann.<sup>34,36</sup>

Die Synthese des Hämoglobins muss bereits in den roten Vorläuferzellen der Erythrozyten stattfinden, welche noch über ihre Zellorganellen und den Zellkern verfügen. Reife Erythrozyten haben daher die Fähigkeit zur Hämoglobinsynthese verloren. Die Polypeptidkette des Globinteils wird noch relativ einfach nach Transkription der messenger-RNA (mRNA) im Zellkern an den Ribosomen im Zytosol mittels Translation synthetisiert. Die Herstellung des Häms ist hingegen weitaus komplexer und benötigt eine Reihe von Enzymen. Succinyl-Coenzym A (-CoA) aus dem Citratzyklus der Mitochondrien wird mit Glycin von der  $\delta$ -Aminolävulinsäure-Synthase unter Beteiligung von Vitamin B<sub>6</sub> als Coenzym kondensiert und zu  $\delta$ -Aminolävulinsäure carboxyliert. Diese geht ins Zytosol über und wird mittels  $\delta$ -Aminolävulinsäure-Dehydratase zu Porphobilinogen aus zwei Molekülen kondensiert. In weiteren Reaktionsschritten entsteht im Zytosol aus vier Porphobilinogenmolekülen Uroporphyrinogen III und schlussendlich Koproporphyrinogen III. Letzteres wird wieder ins Mitochondrium geschleust. Hier entsteht zuerst Protoporphyrinogen IX, welches zu Protoporphyrin IX oxidiert wird und mittels Ferrochelatase das zentrale Eisen-Ion abschließend erhält. Zur Steuerung wird bei Sauerstoffmangel mehr Succinyl-CoA im Citratzyklus abgezweigt. Andersherum wirkt das Häm selbst negativ rückkoppelnd und begrenzt somit seine eigene Synthese. Nach Einbau des Eisens wird das Häm wieder aus dem Mitochondrium ins Zytosol entlassen und dort mit dem Globin verknüpft. Bei Mangel oder Defekten von Enzymen der Hämsynthese kommt es zur Anhäufung von Häm-Vorstufen, welche sich in Geweben ablagern. Je nachdem, welches Enzym betroffen ist, definiert die Form der Porphyrie, welche sich klinisch teils unterschiedlich manifestieren. Ebenso fällt bei Eisenmangel erhöht Zinkprotoporphyrin an, weil Zink statt Eisen eingebaut wird.<sup>33,36,38</sup>

Nach 120 Tagen werden die Erythrozyten und somit auch das Hämoglobin in der Milz über Makrophagen abgebaut. Globin und Häm werden voneinander getrennt. Die Aminosäuren der Polypeptidketten des Globins werden für die Neusynthese wieder zur Verfügung gestellt. Das Häm wird durch Hämoxigenase der Makrophagen unter Sauerstoffverbrauch zu Biliverdin gespalten, wobei das Eisen frei wird. Biliverdin wird weiter mittels Biliverdin-Reduktase zu Bilirubin reduziert. Beides wird aus den Makrophagen geschleust. Das Eisen wird an

Transferrin gebunden und über das Blut ins Knochenmark transportiert, um dort erneut in der Hämsynthese wiederverwertet zu werden. Das wasserunlösliche Bilirubin wird an Albumin gebunden und als sog. indirektes Bilirubin zur Leber transportiert. Glukuronyltransferase konjugiert das indirekte Bilirubin in der Leber mit zwei polaren Molekülen Uridindiphosphat-Glukuronsäure zu Bilirubindiglukuronid. Dadurch wird das nun konjugierte, sog. direkte Bilirubin, wasserlöslich und kann mittels aktiven Transports aus den Hepatozyten in die Gallenkanälchen abgegeben werden. Über die Galle gelangt das Bilirubindiglukuronid in den Darm und wird dort durch Darmbakterien über deren  $\beta$ -Glukuronidase zu Bilirubin und Glukuronsäure gespalten. Bilirubin wird weiter durch Bakterien zu Urobilinogen und Stercobilinogen reduziert und mit dem Stuhl ausgeschieden. Durch Sauerstoffeinwirkung im Darm wird ein Teil zuvor noch zu Urobilin und Stercobilin oxidiert. Ca. 15 % des Bilirubins, Stercobilinogens und Urobilinogens werden jedoch vom Darm rückresorbiert und treten in den enterohepatischen Kreislauf ein. Über das Blut gelangt ca. ein Prozent zu den Nieren und wird als Urobilinogen über den Urin ausgeschieden.<sup>33,37,39</sup>

Findet die Hämolyse der Erythrozyten schon im Blut statt, wird das freiwerdende Hämoglobin an Haptoglobin gebunden und zur Leber transportiert, wo es ebenfalls abgebaut wird. Bei starker Hämolyse ist Haptoglobin schnell gesättigt. Das freie Hämoglobin dissoziiert im Blut vom Globin und wird zu dreiwertigem Häm, dem sog. Hämatin, oxidiert. Dieses wird von Hämopexin oder Albumin, dann als Methämalbumin, gebunden und zum Abbau der Leber zugeführt.<sup>37,40</sup>

### **Transport der Atemgase und das Blutpuffersystem:**

Sauerstofftransport: Wie oben bereits geschildert, bindet das Hämoglobin an jedem seiner vier zentralen Eisen-Ionen ein Sauerstoffmolekül. Entscheidend für die Bindungsaffinität sind der jeweilig herrschende Kohlendioxidpartialdruck ( $p\text{CO}_2$ ), der pH-Wert, die Temperatur und die Konzentration des schon bekannten Bisphosphoglycerats im Erythrozyten. Die Oxygenierung des Hämoglobins führt außerdem zu einer Konformitätsänderung im Molekül, was durch eine Affinitätssteigerung zur Aufnahme weiterer Sauerstoffmoleküle führt. Dieser allosterische Effekt wird als kooperative Wechselwirkung beschrieben.<sup>33,36</sup>

Zu einer Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve und somit zu einer erleichterten Sauerstoffabgabe führen eine hohe Temperatur, ein niedriger pH-Wert, ein hoher  $p\text{CO}_2$  und eine hohe Konzentration von 2,3-Bisphosphoglycerat, zu welcher es aufgrund des niedrigen  $p\text{O}_2$ s gekommen ist. Dies alles liegt in den Endstromgebieten der Venen in Muskulatur und Organen vor. Die Erythrozyten geben somit bereitwillig den Sauerstoff frei.<sup>33,36</sup>

Umgekehrt führen ein hoher pH-Wert, ein niedriger  $p\text{CO}_2$ , eine niedrige Temperatur und geringe Konzentration von 2,3-Bisphosphoglycerat zur Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve und somit zu einer erleichterten Sauerstoffaufnahme. All diese Bedingungen

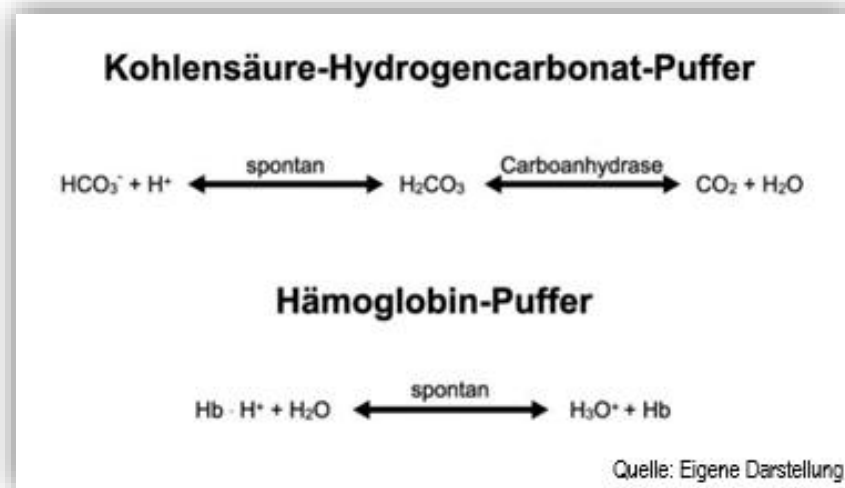
sind in der Lunge für die Erythrozyten vorzufinden. Der Einfluss von pH-Wert und CO<sub>2</sub> auf die Sauerstoffbindungskurve ist auch unter dem Bohr-Effekt bekannt.<sup>33,36</sup>

Kohlenmonoxid (CO) hat eine 300mal höhere Affinität zu Hämoglobin als O<sub>2</sub>, somit verdrängt es O<sub>2</sub> aus seiner Bindung und verhindert durch eine gleichzeitige Linksverschiebung der Bindungskurve die Sauerstoffabgaben im Gewebe.<sup>33,36</sup>

Kohlendioxidabgabe: Die Erythrozyten nehmen selbst nur einen kleinen Teil (10 %) des CO<sub>2</sub>s über das Hämoglobin auf. Hier bindet das CO<sub>2</sub> aber nicht an das Eisen, sondern an die NH<sub>2</sub>-Gruppen der Globinketten und es entsteht Carbaminohämoglobin. Weitere 10 % liegen in physikalischer Lösung frei im Blut vor. Der größte Teil (80 %) aber wird durch die Carboanhydrase der Erythrozyten zu Kohlensäure hydriert. Diese dissoziiert zu Hydrogencarbonat und Protonen. Hydrogencarbonat wird gegen Chlorid-Ionen aus den Erythrozyten geschleust. In der Lunge wird dieser Prozess auch unter Anwendung der Carboanhydrase umgekehrt und das CO<sub>2</sub> abgegeben.<sup>33,36</sup>

Puffersystem des Blutes: Hämoglobin selbst fungiert hier als wichtiger Protonendonator und Protonenakzeptor. Außerdem bilden die Erythrozyten mit ihrem hohen Gehalt an Carboanhydrase das Schlüsselenzym im Kohlensäure-Bikarbonat-Puffer-System. Bei der Bindung von CO<sub>2</sub> an die Globinketten des Hämoglobins und der Dissoziation von Kohlensäure zu Hydrogencarbonat werden jeweils Protonen frei. Desoxygeniertes Hämoglobin wirkt als schwache Base und nimmt daher Protonen bereitwillig auf, somit bleibt der pH-Wert stabil. Auch Protonen aus dem Blut können hierzu in den Erythrozyten diffundieren. Das System unterstützt somit auch übergreifend die Pufferung des Blutes. Umgekehrt werden Protonen bei Sauerstoffaufnahme in der Lunge vom Hämoglobin abgegeben, da Oxyhämoglobin weniger basisch wirkt als Desoxyhämoglobin. Die Protonen werden bei der Abgabe des CO<sub>2</sub>s benötigt, um die Kohlensäure zu bilden, welche über die Carboanhydrase wieder zu CO<sub>2</sub> und Wasser dehydratisiert wird. Die durch die Carboanhydrase katalysierte Reaktion findet auch ständig spontan im Blut statt, jedoch deutlich langsamer. Für einen schnellen Gasaustausch in Lunge und Gewebe ist daher die enzymkatalysierte Reaktion in den Erythrozyten obligat. Zellatmung und Pufferung des Blutes greifen also ineinander über und die Prozesse sind hierbei systematisch den Bedingungen der jeweiligen Gewebe angepasst.<sup>33,36</sup>

Der Kohlensäure-Hydrogencarbonat-Puffer nimmt hierbei 53 % der Gesamtpufferkapazität des Blutes ein. Der Hämoglobin-Puffer 35 %. Die weiteren Puffer, der Protein- und Phosphat-Puffer, nehmen jeweils nur noch die restlichen 7 % und 5 % der Gesamtpufferkapazität ein.<sup>41</sup> In *Abbildung 1* folgt eine Grafik des Kohlensäure-Hydrogencarbonat- und Hämoglobin-Puffers zur genaueren Übersicht der oben geschilderten Prozesse:



*Abbildung 1: Puffersystem Blut*

### **Eisenstoffwechsel:**

Eisen hat eine zentrale Bedeutung für den Sauerstofftransport der Erythrozyten. Männer verfügen über ca. 50 mg/kgKG Eisen im Körper, Frauen über ca. 35 mg/kgKG. Über 70 % des Eisens im Körper sind als Hämeisen angelegt. Ca. 18 % stehen dem Körper als Depoteisen in Form von Ferritin und Hämosiderin zur Verfügung. Weitere ca. 12 % sind Funktionseisen, wie das Myoglobin, Oxyreduktasen oder Cytochrome der Atmungskette. Der Rest von 0,1 % liegt an Transferrin gebunden im Serum vor. Der tägliche Eisenumsatz liegt bei ca. 25 mg, wobei 20 mg auf die Erythropoese und den Abbau der roten Blutzellen entfallen. Das meiste Eisen wird davon wiederverwendet, jedoch gehen durch Abschilferung von Darmzellen ca. 1 mg, bei Frauen im gebärfähigen Alter durch die monatliche Regelblutung vermehrt insgesamt 2 mg und in der Schwangerschaft sogar 3 mg täglich an Eisen verloren. Diese Verluste müssen über die Nahrungsaufnahme kompensiert werden.<sup>33,36,38</sup>

Eisenresorption: Die Resorption von Eisen findet überwiegend im Duodenum statt und ist an den Bedarf des Körpers gekoppelt. Sie kann von regulär 3-15 % auf bis zu 40 % bei Eisenmangel und in der Schwangerschaft gesteigert werden. Durch die Nahrung aufgenommenes zweiwertiges Hämeisen wird hierfür über einen Hämtransporter (*heme-carrier protein 1*; HCP1) an der apikalen Enterozytenmembran ins Zelllumen aufgenommen. Im Zytosol erfolgt mittels Hämoxigenase die Abspaltung der Häm-Gruppe und die Oxidation zu  $\text{Fe}^{3+}$ . Da Eisen überwiegend nur in zweiwertiger Form absorbiert werden kann, muss freies Eisen aus der Nahrung zuerst zu  $\text{Fe}^{2+}$  reduziert werden. Dies geschieht durch Vitamin C (Ascorbat) und eine Ferrireduktase, dem duodenalen Cytochrom b der Enterozytenmembran. Danach kann das  $\text{Fe}^{2+}$  im Austausch gegen ein Wasserstoff-Ion über den Metalltransporter DMT1 (*divalent*

*metal transporter 1*) sekundär-aktiv ins Lumen der Enterozyten aufgenommen werden. Darüber hinaus ist noch ein weiterer Mechanismus bekannt, bei welchem auch anorganisches, dreiwertiges Eisen in die Darmzellen aufgenommen werden kann. Die Resorption erfolgt hier über Integrine mit Hilfe von Paraferriin und Mobilferriin. Mobilferriin hat im Enterozyten noch eine weitere Funktion. Es bindet  $\text{Fe}^{3+}$  nach Resorption und schützt somit die Zelle vor schädlicher Einwirkung des freien Eisens bis zum Weitertransport in den Speicher oder ins Blut.<sup>33,39,42,43</sup>

Eisentransport: Bei Eisenbedarf wird das  $\text{Fe}^{2+}$  mittels Membrantransportprotein Ferroportin-1, (syn. *iron-regulated transporter 1*; IREG1), ins Blut abgegeben. Zum Transport im Blut ist zur Bindung an Transferrin jedoch wieder die dreiwertige Form erforderlich. Hierfür befindet sich an der basalen Membran der Enterozyten eine Ferroxidase, das Hephaestin. Kommt es hier nicht zur Oxidation, wird  $\text{Fe}^{2+}$  durch das kupferhaltige Coeruloplasmin im Blut zu  $\text{Fe}^{3+}$  oxidiert. Danach können je zwei  $\text{Fe}^{3+}$  von einem Apotransferrin aufgenommen und als Transferrin zu den Zielzellen transportiert werden. Transferrin wird in der Leber gebildet und ist ein glykolysiertes Plasmaprotein, welches in der  $\beta$ -Fraktion der Elektrophorese den größten Anteil ausmacht. Angekommen an den Zielzellen bindet Transferrin an seinen Transferrin-Rezeptor (TfR). Bei den Erythroblasten und den meisten anderen Zellen ist dies der Typ 1 des TfRs, in der Leber liegt hingegen Typ 2 vor. Benötigen Zellen mehr Eisen wird die Rezeptordichte auf ihrer Membran hochreguliert. Nach Bindung von Transferrin am TfR wird der gesamte Komplex als rezeptor-vermittelte Endozytose in die Zelle aufgenommen. Im sauren Milieu der Endosomen dissoziiert Eisen vom Komplex. Das nun wieder als Apotransferrin bezeichnete Transferrin und der Rezeptor werden zurück an die Zellmembran gebracht und ins Blut entlassen. Im neutralen pH-Bereich des Blutes dissoziieren sie voneinander und Apotransferrin steht erneut zum Eisentransport bereit. Der abgelöste TfR ist als Marker für den aktuellen Eisenbedarf des Körpers als löslicher TfR (sTfR) im Blut messbar. Das  $\text{Fe}^{3+}$  in den Endosomen wird durch eine Ferrireduktase zu  $\text{Fe}^{2+}$  reduziert und mittels DMT1 ins Zytosol geschleust, wo es z. B. der Hämsynthese zur Verfügung steht.<sup>33,39,42,44</sup>

Eisenspeicherung: Die Eisenspeicher in Form des Ferritins befinden sich in der Darmmukosa sowie den Erythroblasten und Makrophagen von Leber, Knochenmark und Milz. Zudem sind 4 mg im Plasma, sodass sich insgesamt eine Reserve von ca. 5600 mg ergibt. Als Hämosiderin gespeichertes Eisen macht ca. 250 mg aus und befindet sich v.a. in Makrophagen und Parenchym von Leber, Milz und Knochenmark. Liegt genug Eisen im Körper vor, verbleibt das an Mobilferriin gebundene Eisen im Enterozyten und wird zum Ferritin gebracht. An der Oberfläche des Ferritins wird es mittels eigener Ferroxidase zu  $\text{Fe}^{3+}$  oxidiert und ins Hohlprotein aufgenommen. Apoferritin besitzt 24 Untereinheiten und kann 4500 Mol  $\text{Fe}^{3+}$  pro Mol Ferritin speichern. Die Freisetzung bei Eisenbedarf erfolgt mittels einer eigenen Ferri-

reduktase.  $\text{Fe}^{2+}$  wird wieder ins Zytosol entlassen und kann ins Blut abgegeben werden. Wird jedoch länger kein Eisen benötigt, werden die Enterozyten ins Darmlumen abgeschilfert und das Eisen wird mit dem Stuhl ausgeschieden. Kommt es zur Eisenüberladung in anderen Eisenspeicherzellen, können diese nicht einfach mittels Desquamation abgestoßen werden. Es bildet sich durch Autophagozytose des Ferritins vermehrt Hämosiderin in den Zellen. Dieses ist in der Berliner-Blau-Färbung im Knochenmark, den Makrophagen oder bei Hämochromatose in der Leber histologisch spezifisch darstellbar. Die Mobilisation des Eisens aus Hämosiderin gestaltet sich deutlich schwieriger als aus dem Ferritin.<sup>33,36,38,39</sup>

Regulation: Liegt genug Eisen im Körper vor, hemmt Hepcidin die Eisenresorption im Darm und die Freisetzung von Eisen aus den Speichern, indem es Ferroportin bindet. Hepcidin wird bei Stimulation über Interleukin-6 (IL-6) und anderen Entzündungsmediatoren, wie Interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), Interferon-gamma (INF- $\gamma$ ) und Tumornekrose-Faktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in der Leber gebildet. Dies erklärt, wieso es sich bei Hepcidin um einen Akut-Phase-Parameter handelt und dieser bei chronischen Erkrankungen oder fortgeschrittenen Tumorerkrankungen vermehrt gebildet wird. Hepcidin bewirkt somit einen funktionellen Eisenmangel bei vollen Eisenspeichern. Bei gesteigerter Erythropoese und somit einem erhöhten Eisenbedarf wird hingegen die Hepcidinsynthese durch Erythroferron der Erythroblasten des Knochenmarks supprimiert. Bei der hereditären Hämochromatose kommt es beim Typ 2B zu einer verminderten Synthese von Hepcidin durch eine Mutation im HAMP-Gen (*hepcidin antimicrobial peptide-gene*), welches für Hepcidin kodiert. In 80 % liegt jedoch eine homozygote C28CY-Mutation im HFE-Gen (*human homeostatic iron regulator-gene*) auf Chromosom 6 vor, wodurch es zu einer Funktionsstörung des TfR-1 kommt sowie sekundär ebenfalls zu einer verminderten Hepcidinsynthese. Des Weiteren können Mutationen in IREG1, TfR-2 sowie in Hämojuvelin, welches in der Hepcidinexpression interagiert, vorliegen. Demzufolge ist eine Eisenüberladung mit Hämosiderinablagerungen in den Zellen, insbesondere der Leber, aber auch in vielen weiteren Organen, wodurch deren Funktion eingeschränkt wird.<sup>34</sup>

Ein weiterer Mechanismus zur Steuerung des Eisenstoffwechsels wird über die sog. *iron regulatory proteins 1 und 2* (IRP1/2) eingeleitet, welche die Translation von IREG1, DMT1, Transferrin, TfR und Ferritin bedarfsgerecht modulieren. Zu den IRP gehört auch die zytoplasmatische Aconitase-1. Bei Eisenmangel bindet Aconitase an die *iron response elements* (IREs) der Ferritin-mRNA und blockt so dessen Translation. Auch kann durch IRPs die Translation gesteigert werden, da sie den Abbau der RNA durch ihre Bindung verhindern. Dieser Mechanismus greift beispielsweise für die mRNA des TfRs. Der Eisenspiegel steuert hierbei die Bindungsaffinität der IRPs zu ihren IREs.<sup>38,42</sup>

Speziell auf den Einfluss des Vitamin Ds im Eisenstoffwechsel wird im *Kapitel 2.3* näher eingegangen.

### **Vitamin B12 und Folsäure:**

Neben Eisen und dem Stimulus zur Proliferation durch EPO werden noch weitere Kofaktoren benötigt, um den enormen Zellturnover des Knochenmarks aufrecht erhalten zu können. Allein an Erythrozyten werden 2,4 Millionen Zellen pro Sekunde neu gebildet. Das Knochenmark gehört somit zu den teilungsaktivsten Organen des Körpers. Ohne Desoxyribonukleinsäure (*desoxyribonucleic acid*; DNA) und RNA ist keine Zellteilung möglich. Essenziell für die Synthese von Nukleinsäuren bzw. deren Bausteinen, der Nukleotide, sind Vitamin B<sub>12</sub> und die Folsäure.<sup>36</sup>

Vitamin B<sub>12</sub> (Cobalamin) kommt im menschlichen Körper in den zwei Formen Methylcobalamin und Adenosylcobalamin vor. Diese nehmen an zwei entscheidenden Reaktionen teil, welche Grundlage für multiple Prozesse im gesamten Stoffwechsel bilden. Vitamin B<sub>12</sub> muss hierfür über die Nahrung aufgenommen werden. Zuerst an Haptocorrin der Speicheldrüsen gebunden und so vor Zersetzung durch die Salzsäure des Magens geschützt, erreicht Cobalamin das Duodenum. Dort wird es an den Intrinsic-Faktor des Magensaftes gebunden. Dieser ermöglicht im terminalen Ileum die Resorption mittels rezeptorvermittelte Endozytose. Im Enterozyten erfolgt die Trennung und Methylierung des Vitamin B<sub>12</sub>. Der Intrinsic-Faktor wird abgebaut und das Cobalamin ins Blut abgegeben. Circa 20% des Vitamin B<sub>12</sub> werden im Blut an das Transportprotein Transcobalamin (TC) gebunden. Dieser Komplex wird als Holotranscobalamin (HTC) bezeichnet. Dieser stellt die biologisch aktive Form des Vitamin B<sub>12</sub> dar. Der Rest von rund 80 % ist inaktiv an Haptocorrin gebunden und steht somit dem Stoffwechsel nicht zur Verfügung. Nach Bindung von HTC an den TC-Rezeptor der Zielzellen erfolgt durch rezeptorvermittelter Endozytose die Aufnahme ins Zellinnere. Zielort sind die Mitochondrien, wo es für folgende Reaktionen benötigt wird.<sup>33,34,38</sup>

Adenosylcobalamin dient in den Mitochondrien der L-Methylmalonyl-CoA-Mutase als Kofaktor bei der Umwandlung von L-Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA. Dies ist der dritte Schritt im Abbau von Propionyl-CoA, welches bei Verstoffwechslung von mehreren Aminosäuren und ungeradzahligen Fettsäuren im Körper anfällt. Das Succinyl-CoA kann danach zur Energiegewinnung in den Citratzyklus eingeschleust oder über Oxalacetat zur Glukoneogenese herangezogen werden. Bei Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel kommt es zur Kumulation von L-Methylmalonyl-CoA, welches zu Methylmalonsäure (MMA) hydrolysiert wird und als Marker des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status im Serum messbar ist.<sup>33,34</sup>

In der zweiten Reaktion sind das Methylcobalamin und die Folsäure beteiligt: Aus der essenziellen Aminosäure Methionin wird durch Reaktion mit einem ATP der wichtigste Methylgruppendonator des Körpers, das S-Adosylmethionin (SAM). Dieses wird u.a. bei der Synthese von Cholin, Kreatin, Melatonin und Adrenalin sowie zur Methylierung der gesamten DNA benötigt. Nach Übertragung der Methylgruppe wird SAM zu S-Adosylhomocystein



reduziert, welches unter Abspaltung von Adenosin zu Homocystein hydrolysiert. Um aus Homocystein wieder Methionin zu erhalten, muss auf dieses nun wieder eine Methylgruppe übertragen werden. Hier kommen nun das Cobalamin und die Folsäure bzw. deren Derivat, die 5-Methyltetrahydrofolsäure (5-MTHF), ins Spiel. Folgende Reaktion ist in zweierlei Hinsicht von Relevanz, denn nicht nur das Methionin wird resynthetisiert, sondern auch die 5-MTHF kann durch Abgabe ihrer Methylgruppe wieder als reduzierte, biologisch aktive Form der Tetrahydrofolsäure (THF) in den Folsäurezyklus eingehen. Katalysiert wird diese Reaktion durch die Methionin-Synthase mit ihrem Cofaktor Cobalamin. Im Rahmen eines Ringtausches gibt die 5-MTHF ihre Methylgruppe auf das Cobalamin ab, welches dadurch zu Methylcobalamin aktiviert wird. Dieses wiederum überträgt die Methylgruppe weiter auf das Homocystein und Methionin wird somit resynthetisiert. Homocystein kann außerdem Vitamin B<sub>6</sub>-abhängig einen anderen Weg eingehen. Hierbei entsteht unter Umwandlung von Serin zu Cystein aus Homocystein Homoserin.<sup>33</sup>

Folsäure, auch als Vitamin B<sub>9</sub> bezeichnet, wird über die Nahrung aufgenommen und über einen aktiven Transport in die Darmzellen resorbiert. Dort erfolgt in den Mitochondrien bereits die NADPH/H<sup>+</sup>-abhängige Reduktion in zwei Schritten über Dihydrofolsäure (DFH) zu der biologisch aktiven Form Tetrahydrofolsäure. Auch die Methylierung zu 5-MTHF findet bei einem großen Teil schon im Enterozyten statt. THF und 5-MTHF werden daraufhin ins Blut entlassen und über einen spezifischen Folsäurerezeptor in die Zielzellen aufgenommen. Die Ausscheidung erfolgt schlussendlich über die Galle, wobei sie im enterohepatischen Kreislauf überwiegend rückresorbiert wird.<sup>33,36,38,39</sup>

In den Zellen kann Folsäure verschiedene Oxidationsstufen annehmen, indem sie C1-Einheiten auf die Stickstoffatome an Position 5 und 10 aufnimmt und enzymkatalysiert auch wieder übertragen kann. Die drei wichtigsten Oxidationsstufen sind die 10-Formyl-THF, die 5,10-Methylen-THF und die 5-Methyl-THF, wobei die ersten beiden reversibel sind und 5-MTHF nur noch über die Vitamin B<sub>12</sub>-abhängige Reaktion mit Homocystein wieder zu THF reduziert werden kann. Das hohe Gruppenübertragungspotential der Folsäure wird für diverse Reaktionen im Aminosäure- und Nukleinsäurestoffwechsel benötigt und ist essenziell an der Purin- und Pyrimidinsynthese beteiligt. Zudem spielt die Folsäure eine Rolle in der Synthese von Phospholipiden, welche Bestandteil jeder Zellmembran sind.<sup>33</sup>

Ein Mangel an Vitamin B<sub>12</sub> oder Folsäure führt zu DNA-Synthese- und Kernreifungsstörungen. Diese führen in der Erythropoese zu einer Anämie mit verminderter Erythrozytenzahl bei erhöhtem mittlerem korpuskulärem Volumen und Hämoglobin (*main corpuscular volume*; MCV und *mean corpuscular haemoglobin*; MCH). Zudem lysieren die Zellen schneller, da ihre Zellmembran durch die defizitäre Phospholipidsynthese fragiler ist.<sup>33,34,36</sup>

### 2.1.2. Definition der Anämie

Die Anämie wird laut Pschyrembel, Auflage 260, 2004 definiert als eine "Verminderung von Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenzahl und/oder Hämatokrit unter die altersentsprechenden und geschlechtsspezifischen Referenzwerte"<sup>45</sup>. Die Hämoglobingrenzwerte laut WHO zur Definition einer Anämie sind in folgender *Tabelle 1* angegeben:

*Tabelle 1: Referenzwerte der Anämie n. WHO-Kriterien*

<b>Geschlecht/Gruppe:</b>	<b>Alter in Jahren:</b>	<b>Hämoglobin in g/dl:</b>
Kleinkinder	0,5 - < 5	11,0
Kinder	5 - < 12	11,5
Jugendliche	12 - < 15	12,0
Frauen, nicht schwanger	≥ 15	12,0
Frauen, schwanger		11,0
Männer	≥ 15	13,0

WHO = *World Health Organization*

46

### 2.1.3. Einteilung der Anämie

Es gibt mehrere Möglichkeiten die Anämie einzuteilen:

- Am geläufigsten ist die Einteilung nach Morphologie und Hämoglobingehalt der Erythrozyten. Entsprechend erfolgt anhand der Erythrozytenindices MCV und MCH die Unterteilung in mikro-, normo- und makrozytäre, hypo-, normo- und hyperchrome Anämien.
- Mittels Retikulozytenproduktionsindex (RPI) lassen sich die Anämien in hypoproliferative und hyperproliferative bzw. hypo- und hyperregeneratorische Anämien unterteilen, was Rückschlüsse auf deren Ätiologie zulässt. Bei einem RPI > 2-3 liegt eine Anämie mit adäquat gesteigerter Erythropoese vor. Der Zellturnover im Knochenmark ist somit kompensatorisch erhöht. Dies ist beispielsweise nach akuten Blutungen, Hämolyse oder nach begonnener Substitution bei einer Mangelanämie zu verzeichnen. Im Gegensatz dazu sind die Ursachen bei einem RPI < 2 und somit einer inadäquaten Erythropoese deutlich vielfältiger. Kernreifstörungen, wie bei der Vitamin B12- oder Folsäuremangelanämie, fehlende Knochenmarkstimulation, wie bei der Anämie bei chronischer Erkrankung (*anaemia of chronic disease*; ACD) oder der renalen Anämie, zählen z. B. hierzu. Aber auch primäre Prozesse im Knochenmark, wie Leukämien, das myelodysplastische Syndrom (MDS) oder die aplastische Anämie, zeigen einen verminderten RPI.
- Die Einteilung nach dem zeitlichen Verlauf unterscheidet akute von chronischen Anämien.

- Weiter kann man Anämien in hereditäre und erworbene Anämien unterscheiden. Zu den hereditären zählen u.a. Hämoglobinopathien oder Membran- und Enzymdefektanämien. Zu den erworbenen Anämien zählt z. B. die Eisenmangelanämie.
- Auch kann die Einteilung nach jeweiliger Ätiopathogenese erfolgen. Hierbei unterscheidet man Anämien bei Bildungsstörungen, Anämien durch einen gesteigerten Erythrozytenabbau oder Erythrozytenverlust sowie Anämien bei Verteilungsstörungen. Zu den Bildungsstörungen zählen u.a. die Vitamin-B<sub>12</sub>- oder Folsäuremangelanämie aufgrund der DNA-Synthesestörung, die Eisenmangelanämie bei Störung der Hämoglobinsynthese, die renale Anämie durch Störungen der EPO-Synthese, die aplastischen Anämie bei Störung der erythropoetischen Stammzelle sowie die Anämie multifaktorieller Genese.
- Die korpuskulären und extrakorpuskulären hämolytischen Anämien zählen zu den Anämien aufgrund eines gesteigerten Erythrozytenabbaus und die Blutungsanämie definiert die Anämie bei erhöhtem Erythrozytenverlust. Zuletzt die Anämien bei Verteilungsstörungen aufgrund z.B. eines Hypersplenismus oder bei Schwangerschaft. Diese zählen dann, wie auch die Sportleranämie, zu den Pseudanämien, da sie lediglich auf einer relativen Verschiebung des Plasmaanteils beruhen.
- Zuletzt sei noch die Einteilung nach Begleitumständen genannt, wo u.a. ebenfalls die Anämie bei Schwangerschaft oder die ACD zu nennen ist.
- Hierbei handelt es sich im Weiteren um sekundäre Anämien wohingegen z.B. die Anämien bei Bildungsstörungen als primäre Anämien bezeichnet werden.<sup>34,38,45</sup>

#### **2.1.4. Anämiediagnostik**

Besteht die klinische Symptomatik einer Anämie mit Blässe, Dyspnoe und/oder allgemeiner Leistungsminderung oder wurde nur durch Zufall im Rahmen einer Routinediagnostik im Blutbild eine Anämie gefunden, stellt dies den Anfang einer jeden Anämiediagnostik dar. Erster Fokus geht bei vermindertem Hämoglobin, Hämatokrit und/oder verminderter Erythrozytenzahl auf die Erythrozytenindices MCV und MCH, welche schon einen Hinweis auf die Ursache geben können. Die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (*mean corpuscular haemoglobin concentration*; MCHC) spielt hierbei in der Praxis meist nur eine untergeordnete Rolle. Neben einer Erniedrigung beim Eisenmangel (s.u.) und einer Erhöhung bei der Sphärozytose werden über das MCHC vielmehr (prä-)analytische Störfaktoren identifiziert. So kommt es bei starker intravasaler oder invitro Hämolyse sowie bei Kälteagglutininen zu einer deutlichen Erhöhung des MCHCs. Auch eine schwere Lipämie führt hierzu. Das MCHC ist somit primär ein Kontrollmarker für die Validität der Messung und Indikator für das Vorliegen von Störfaktoren.

### **Mikrozytäre Anämie:**

Die häufigste Anämie ist die Eisenmangelanämie. Bei verminderten Werten von Hämoglobin, der Erythrozytenzahl (anfangs oft noch normal!) und Hämatokrit sind die Erythrozyten mikrozytär und hypochrom (MCV + MCH ↓). Die Retikulozytenzahl ist nicht erhöht und das Retikulozyten-Hämoglobin (Ret-Hb) ist vermindert. Der RPI ist somit bei vorliegender hyporegeneratorischer Anämie < 2. Im Blutausstrich zeigt sich ein breites Bild an Anomalien der Erythrozytenmorphologie, welche von einer Poikilozytose und Anisozytose über Mikrozyten und Anulozyten reichen kann. Demzufolge ist die Erythrozytenverteilungsbreite (*red cell distribution width*; RDW) erhöht. Nebenbefundlich kann es zu einer Thrombopoetin-vermittelten reaktiven Thrombozytose kommen. Zur Bestätigung der Verdachtsdiagnose erfolgt die Bestimmung der Werte des Eisenstatus; Ferritin, Transferrin und Transferrin-sättigung (TfS), für dessen Berechnung das Serumeisen mitbestimmt werden muss. (Serumeisen [µmol/l] / Transferrin [g/l] x 3,98 = TfS [%]) Das Serumeisen an sich eignet sich nicht zur Beurteilung des Eisenstatus, da es starken zirkadianen Schwankungen unterliegt sowie bei Hämolyse oder nach Nahrungsaufnahme erhöht vorliegen kann. Bei der Eisenmangelanämie sind die Eisenspeicher leer, das Serumeisen ist somit auch erniedrigt und das Transferrin im Gegenzug erhöht. Es ergibt sich die klassische Konstellation des Ferritins unter 15 µg/l und eine erniedrigte TfS von < 16 %.<sup>34,38</sup>

### Stadien des Eisenmangels:<sup>38</sup>

- Stadium I: Prälatenter Eisenmangel = Speichereisenmangel → nur Ferritin erniedrigt
- Stadium II: Latenter Eisenmangel = eisendefizitäre Erythropoese → zusätzlich Serumeisen erniedrigt, Transferrin erhöht, TfS erniedrigt, sTfR erhöht, Ret-Hb vermindert, Zinkprotoporphyrin erhöht
- Stadium III: Manifeste Eisenmangel = Eisenmangelanämie → Blutbildveränderungen

Bei bestätigtem Eisenmangel außerhalb der Schwangerschaft muss neben einer Mangelernährung und Malresorption an eine chronische Blutung gedacht werden. Hier ist die chronische Darmblutung die häufigste Ursache einer Eisenmangelanämie, welche koloskopisch oder über einen immunologischen Stuhltest auf Hämoglobin detektiert werden kann.<sup>34,38</sup>

Bei der Interpretation der Parameter des Eisenstatus ist jedoch einiges zu beachten: Ferritin ist ein Akut-Phase-Parameter und Transferrin ein Anti-Akut-Phase-Parameter. Dies führt dazu, dass während einer Infektion die Parameter normale Eisenverhältnisse vorspiegeln und somit einen manifesten Mangel bis zu einem Ferritin von 200 µg/l (in Einzelfällen bis 220 µg/l) kaschieren können. Der Cut-off, ab wann eine Entzündung den Ferritinwert signifikant beeinflusst, konnte durch systematische Untersuchungen für einen Wert des C-reaktiven

Proteins (CRP) von 10 mg/l definiert werden. Dies bedeutet, dass bei Ferritinwerten im Normalbereich bis 200 µg/l für eine valide Einschätzung des Eisenspeichers das CRP mitbestimmt werden muss. Liegt das CRP unter 10 mg/l kann ein Eisenmangel ausgeschlossen werden. Liegt das CRP jedoch oberhalb von 10 mg/l, ist weiterhin ein Eisenmangel bis zu einem Ferritin von 200 µg/l möglich. Erst oberhalb von 200 µg/l kann initial ein Speichereisenmangel trotz erhöhtem CRP ausgeschlossen werden. Liegen nun initial bei einem Ferritin von > 16 bis 200 µg/l erhöhte Entzündungswerte vor, sollte die Bestimmung des sTfR nachgezogen werden. Dieser unterliegt nicht der Akut-Phase-Reaktion. Ab Stadium II des Eisenmangels wird der TfR auf den Zellen hochreguliert und kontinuierlich ins Blut abgegeben. Er gibt somit Auskunft über den tatsächlichen intrazellulären Eisenbedarf. Erhöhte Werte vom sTfR bestätigen somit einen Eisenmangel, ob funktionell, als Eisenverteilungsstörung oder absolut, bei erschöpften Speichern. Bei normalen Werten müssen weitere Differentialdiagnosen ins Auge gefasst werden, s.u.<sup>34</sup>

Funktioneller Eisenmangel (und ACD): Die ACD oder auch Tumor-/Infektanämie ist in den meisten Fällen initial noch normozytär und die RDW ist unauffällig. Sie wird erst im weiteren Verlauf durch Hinzukommen eines funktionellen Eisenmangels auch mikrozytär und hypochrom.<sup>34</sup> Beim funktionellen Eisenmangel durch akute oder chronische Entzündungen liegt das Serumeisen vermindert vor, weil dieses in die Speicher überführt wird. Demzufolge liegt im Gegensatz zum primären Eisenmangel das Ferritin normal oder erhöht vor. Es besteht somit eine Eisenverteilungsstörung mit Verminderung des Funktionseisens bei vollen Eisenspeichern. Lebererkrankungen führen ebenfalls zu einem deutlich erhöhten Ferritin. Der Funktionseisenmangel unterscheidet sich von der isolierten ACD dadurch, dass Transferrin normal oder erhöht vorliegt. Dadurch ist die TfS wie beim primären Eisenmangel eher erniedrigt. Hingegen wird bei der ACD und Lebererkrankungen Transferrin vermindert gebildet. In Kombination mit dem auch erniedrigten Serumeisen kann dies je nach Grunderkrankung der ACD zur unauffälligen bis sogar moderat erhöhten TfS führen. Die Diagnostik lässt sich somit mit Ferritin und Transferrin nur unscharf gestalten und selbst der sTfR reicht hier in bestimmten Konstellationen nicht mehr aus. Bei der isolierten ACD oder dem latenten Eisenmangel ist der sTfR normwertig. Bei manifestem/absolutem und funktionellem Eisenmangel steigt der sTfR, wie oben schon beschrieben, an. Bei der Kombination ACD mit Eisenverteilungsstörung steigt er jedoch nicht immer regelhaft mit an. Um dennoch bei ACD einen zusätzlichen funktionellen Eisenmangel ausschließen zu können, wird zusätzlich der Ferritinindex berechnet:

Der Ferritinindex lässt über CRP-adaptierten Cut-off eine Abgrenzung zur isolierten ACD zu. Er ist bei jeglichen Eisenmangelzuständen erhöht. Bei absolutem und funktionellem Eisenmangel ist er deutlich erhöht, bei der Kombination von ACD und funktionellem Eisenmangel

liegt er im normalen bis moderat erhöhten Bereich. Lediglich bei der isolierten ACD liegt der Ferritinindex erniedrigt vor [Ferritin-Index =  $c(\text{sTfR}) / \log_{10} c(\text{Ferritin})$ ].<sup>34,38,44</sup>

Der Eisen-Plot nach Thomas ist eine Erweiterung des Ferritinindex. Hier fließt zusätzlich das Ret-Hb mit in die Bewertung ein. In einem Koordinatensystem werden der Ferritin-Index als Abszisse und das Ret-Hb als Ordinate aufgetragen und vier Quadranten gebildet, deren Cut-off CRP-adaptiert festgelegt wird. Der Quadrant, in welchem der Schnittpunkt liegt, gibt entweder kein Eisenmangel/ACD (1. Quadrant), latenter Eisenmangel (2. Quadrant), manifester Eisenmangel (3. Quadrant) oder die Kombination ACD mit funktionellem Eisenmangel (4. Quadrant) als Interpretation vor.<sup>44</sup>

Die Retikulozyten und der RPI rücken vor allem bei normozytären Anämien in den Fokus des Interesses, können aber auch beim Verdacht auf Eisenmangel zur Abgrenzung von der wichtigen Differentialdiagnose, der Thalassämie sowie zur Kontrolle des Therapieerfolges unter Eisensubstitution nützlich sein. Der RPI liegt bei Eisenmangel initial vermindert vor und schießt nach Eisensubstitution innerhalb einer Woche hoch. Auch das Ret-Hb spiegelt die suffiziente Substitution bereits nach wenigen Tagen wider (ab 48 h), wobei Hämoglobin und Hämatokrit deutlich länger benötigen (10-20 Tage), um eine Tendenz erahnen zu lassen. Stellt sich die Anämie jedoch als eisenrefraktär dar, muss bei mikrozytärer hypochromer Anämie an eine Hämoglobinopathie, vor allem an die Thalassämie, gedacht werden. Außerdem sollte eine Eisenresorptionsstörung mittels Eisenresorptionstest ausgeschlossen werden.<sup>34,38,44</sup>

Thalassämie: Bei der Thalassämie kommt es meist nicht zu einer Verminderung der Erythrozytenzahl. Es stellt sich hingegen eine ausgeprägte Mikrozytose bei nur moderater Hypochromie dar. Im Blutausstrich können Targetzellen gefunden werden, das Zellbild ist aber einheitlicher als beim Eisenmangel und die RDW somit meist unauffällig. Ferritin und Serum-eisen können normal oder häufig auch erhöht sein. Das Transferrin ist meist normal oder vermindert und die TfS je nach Hämolyseanteil normal oder erhöht. Alle Standardparameter sind somit wenig spezifisch. Wenn der umsichtige Arzt nun den sTfR bestimmt, welcher bei Thalassämie häufig erhöht vorliegt, kann schnell der Trugschluss auf Eisenmangel erfolgen. Eine Eisensubstitution kann hier jedoch zu schweren Schäden führen, zumal der Fehler ggf. erst deutlich verspätet auffällt. Da die Thalassämie oft mit einer chronischen Hämolyse bei gesteigerter, aber defizitärer Erythropoese einhergeht, ist der RPI im Gegensatz zur Eisenmangelanämie meist erhöht. Der Umstand der gesteigerten Erythropoese begründet auch den erhöhten sTfR. Wird der RPI im Verlauf zur Therapiekontrolle das erste Mal erhoben, kann dies ein Therapieansprechen vortäuschen. Somit ist man gut beraten, bei unklarem Bild auch die Retikulozyten schon initial mit zu bestimmen. Gewissheit kann bei Verdacht auf Thalassämie jedoch nur die Hämoglobinelektrophorese bzw. die Molekulargenetik bringen.

Initial kann jedoch über den Mentzer-Index und den M/H-Quotienten die Verdachtsdiagnose und eine Abgrenzung zum Eisenmangel bereits gefestigt werden.<sup>34,38,44</sup>

Der Mentzer-Index gibt den Quotienten des MCV mit der Erythrozytenzahl an und hat seinen Cut-off bei einem Wert von 13. Werte oberhalb sprechen für einen Eisenmangel, Werte darunter für eine  $\beta$ -Thalassämie.<sup>44</sup>

Der M/H-Quotient macht sich das nur marginal verminderte MCH bei der Thalassämie in Relation zur deutlichen Verminderung bei Eisenmangelanämie zunutze. Es wird der Quotient des prozentualen Anteils mikrozytärer Erythrozyten mit dem Prozentsatz von hypochromen Erythrozyten gebildet. Der Cut-off hängt hier stark vom angewandten Analysesystem ab und liegt um 0,9, wobei niedrige Werte für eine Thalassämie und erhöhte für einen Eisenmangel sprechen.<sup>44</sup>

### **Normozytäre Anämie:**

Liegt eine normozytäre Anämie vor, sollten die Hämolyseparameter und obligat initial auch schon die Retikulozyten inkl. des RPIs erhoben werden. Zudem sollte überprüft werden, ob ein Ikterus besteht oder Hinweise auf eine Blutung oder auf ein statthaftes Trauma vorliegen. Bei erhöhtem RPI gibt es nur zwei Ursachen für eine Anämie; eine Blutung oder die Hämolyse, wobei letztere durch eine erhöhte Laktatdehydrogenase und erhöhtes indirektes Bilirubin sowie erniedrigtes Haptoglobin im Blut und erhöhtes Urobilinogen im Harn Bestätigung findet. Als weitere Hämolyseparameter stehen zudem das Hämopexin und das freie Hämoglobin im Serum zur Verlaufskontrolle bei maximal supprimiertem Haptoglobin zur Verfügung. Auch sollte bei erhöhtem CRP das Hämopexin dem Haptoglobin, welches auch ein Akut-Phase-Parameter ist, vorgezogen werden. Dieses ist jedoch weniger sensibel und wird erst bei höhergradiger Hämolyse erniedrigt messbar. Bei positiven Befunden muss nach der Ursache der Hämolyse gesucht werden. Diese sind oft sehr vielfältig und reichen von Autoantikörpern, Hämoglobinopathien, hereditären Enzym- oder Zellmembrandefekten der Erythrozyten bis zu Malaria, Medikamentennebenwirkungen und mechanischen Ursachen wie künstlichen Herzklappen, sodass sich die Folgediagnostik ggf. differenziert gestaltet und es einer ausführlichen Anamnese bedarf. Auch der Blutausstrich kann hier weiterhelfen. Sichelzellen, Sphärozyten oder Fragmentozyten können wichtige Hinweise auf die Ursache einer Hämolyse liefern. Die paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (PNH) nimmt hier eine besondere Stellung ein, da es die einzige hämolytische Anämie ist, bei welcher es über den Harn zu einem Eisenverlust kommt und sich somit eine mikrozytäre, hypochrome Anämie im Verlauf zeigen kann. Bei unauffälligen Hämolyseparametern muss hingegen nach akuten Blutungsquellen gesucht werden.<sup>34,38</sup>

Renale Anämie (und ACD): Ist hingegen der RPI bei normozytärer Anämie nicht erhöht, sind wieder diverse Ursachen möglich. Abgesehen von der ACD kommt eine renale Anämie in Betracht. Neben den Nierenparametern stehen der Entzündungsstatus sowie die Anamnese zu chronischen Erkrankungen und die Tumorsuche im Fokus zur differentialdiagnostischen Abklärung. Das EPO ist bei der renalen Anämie durch die reduzierte Synthese in den Nieren vermindert, liegt aber auch bei der ACD öfter reduziert vor, da über die vermehrte Bildung von Entzündungsmediatoren die Produktion gedrosselt wird. Auch bei der renalen Anämie kann es zur Kombination mit der ACD kommen, da es durch die permanent erhöhten Nierenretentionsparameter zu multiplen latenten Entzündungsreaktionen im gesamten Körper kommt. Wie bei ACD werden somit vermehrt proinflammatorische Zytokine wie IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  gebildet, welche die Expression von Heparin steigern und so zu einer Eisenverteilungsstörung führen sowie direkt die Erythropoese inhibieren können. Ebenfalls nimmt die Empfindlichkeit des Knochenmarks durch den Zytokineinfluss für EPO ab. Bei renaler Anämie steht die verminderte Synthese von Vitamin D zusätzlich im Raum, welchem entzündungsmodulierende Eigenschaften zugesprochen werden. Als Folge entwickelt sich sekundär zur renalen Anämie oft auch ein funktioneller Eisenmangel. Dies kann ein vermindertes Ansprechen auf eine EPO-Therapie erklären und sollte daher immer bedacht werden. Die Messung des Heparins zur Abgrenzung kann hier in Betracht gezogen werden, ist aber in der Routinediagnostik noch nicht angekommen. Valide Assays sind zudem noch nicht auf dem Markt verfügbar. Dieses könnte aber auch die komplexe Diagnostik zur Differenzierung von ACD und Eisenmangelanämie entzerren. Erste Studien liegen hierzu bereits vor.<sup>23,34,38,44,47,48</sup>

Als weitere Ursachen einer normozytären Anämie kommen u.a. eine toxische Knochenmarkschädigung wie auch die aplastische Anämie oder Frühstadien einer hämato-onkologischen Erkrankung in Betracht. Oftmals fallen diese initial nur durch eine unklare Anämie auf. Gegebenfalls zeigen sich jedoch Auffälligkeiten in anderen Zellreihen, welche somit Indikator sein können, wie erhöhte Basophile oder Eosinophile bei myelodysplastischen, myeloproliferativen Erkrankungen (MDS/MPN). Bei MDS wird jedoch auch oft ein erhöhtes MCV beobachtet. Bei primärer Myelofibrose (PMF) liegt meist eine verbreiterte RDW vor. Im Gegensatz wäre die RDW bei isolierter renaler Anämie und ACD eher normal. Insgesamt könnten hämato-onkologische Erkrankungen sich je nach genauer Ursache jedoch sehr variabel darstellen. Bei hyporegeneratorischen Anämien und Ausschluss renaler und entzündlicher Ursachen kommt man daher oft nicht an einer Knochenmarkpunktion vorbei. Mittels durchflusszytometrischer sowie molekulargenetischer Untersuchungen erfolgt daraufhin die Sicherung der Verdachtsdiagnose.<sup>34</sup>



### **Makrozytäre Anämie:**

Liegt im Blutbild ein erhöhtes MCV vor und/oder besteht eine makrozytäre Anämie, müssen Parameter für den Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäurestoffwechsel erhoben werden. Differentialdiagnostisch sollte ein Alkoholabusus ausgeschlossen werden. Die alleinige Bestimmung des Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegels ist oftmals nur unzureichend. Liegt dieser noch im Referenzbereich, kann jedoch schon ein latenter Mangel vorliegen. Ebenso kann das Vorliegen von Intrinsic-Faktor-Antikörpern in den gängig angewandten Assays die Werte in den Normbereich bzw. weit darüber verfälschen. Daher sollte das Holotranscobalamin zur sicheren Diagnostik mitbestimmt werden. Ist der Wert < 50 pmol/l, ist ein Mangel wahrscheinlich. Ist der Wert > 50 pmol/l, ist ein Mangel als unwahrscheinlich anzusehen. Liegt es im Graubereich, sollte die MMA nachgezogen werden. Des Weiteren kann die Bestimmung des Homocysteins erfolgen. Dieses ist jedoch weniger spezifisch und der MMA in der diagnostischen Aussage somit unterlegen. Erhöhte MMA oder Homocysteinwerte würden für einen Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel sprechen. Bei refraktärer Anämie ist auch stets ein Folsäure- oder ein Vitamin B<sub>6</sub>-Mangel auszuschließen. Letzterer führt ebenfalls zu einem Anstieg von Homocystein. Bei Bestimmung der Folsäure sollte auf eine hämolysefreie Blutabnahme geachtet werden, um keine falsch erhöhten Werte zu erhalten. Ist bei schwierigen Venenverhältnissen dies nicht zu vermeiden, kann der Folsäurewert im Erythrozyten bestimmt werden. Dieser Wert ist weniger nutritiven Schwankungen unterworfen, jedoch ist er weniger sensibel für einen latenten Mangel in Relation zur Serumbestimmung und es gehen größere Messunsicherheiten mit diesem Messverfahren einher. Limitation zur Interpretation besteht bei Niereninsuffizienz, wo es durch die reduzierte renale Elimination zu einem Anstieg von HTC, MMA und Homocystein kommen kann und somit der Diagnostikpfad nicht anwendbar ist. Alternativ kann hier die Bestimmung der MMA aus Urin auf Kreatinin bezogen erfolgen oder mittels probatorischer Substitution durch ein Ansprechen nach zwei Wochen die Verdachtsdiagnose gesichert werden. Neben Mangelernährung, Alkoholismus und Veganismus ist ein Intrinsic-Faktor-Mangel nach Magenresektion oder durch Autoantikörper die Hauptursache für einen Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel. Zur Ursachenklärung sind neben Intrinsic- auch Parietalzell-Autoantikörper zu bestimmen. Für einen Folsäuremangel kommen ebenfalls die ersten drei Ursachen in Betracht.<sup>34,38,44</sup>

Die Genese der makrozytären Anämie bei Alkoholismus ist multifaktoriell bedingt. Mangelernährung und die toxische Wirkung von Alkohol auf das Knochenmark spielen hier eine Rolle. Daneben wird vor allem der Folsäuremetabolismus durch Alkohol gestört, wodurch es zur Beeinträchtigung der Phospholipidsynthese der Zellmembranen der Erythrozyten kommt. Auch nach einer Hämolyse kann es passager zu einer makrozytären Anämie kommen. Dann ist jedoch der RPI erhöht, während er beim Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäuremangel erniedrigt vorliegt. Zuletzt sei noch das oben schon kurz erwähnte MDS zu nennen, welches sich in der Frühphase meist nur in Form einer milden makrozytären Anämie präsentiert.<sup>34</sup>

### 2.1.5. Anämie im Alter

Wie einleitend schon beschrieben, besteht weltweit bei 23,9 % der Menschen ab dem 60. Lebensjahr eine Anämie, wobei die Prävalenz ab dem 50. Lebensjahr stetig ansteigt und je nach Kohorte bspw. für Patienten im Alter von > 70 Jahren in stationärer Behandlung in Deutschland mit bis zu 54,2 % beziffert wird <sup>1,2,5</sup>. Eine italienische Studie fand sogar noch höhere Werte von 62 % bei Männern und 60,1 % bei Frauen im Alter von ≥ 65 Jahren im gleichen Klientel <sup>6</sup>.

Als Ursache der Anämie im Alter wird eine multifaktorielle Genese genannt <sup>3,4,8</sup>. Der überwiegende Anteil der Anämien manifestiert sich bei älteren Menschen normozytär und in milder Ausprägung <sup>3,49</sup>. Vier hauptsächliche Ursachen konnten für die Anämie im hohen Alter definiert werden, welche sich jedoch oft überschneiden: Der Eisen-, Vitamin-B<sub>12</sub>- oder Folsäuremangel, die Niereninsuffizienz, chronische Entzündungen/Erkrankungen (ACI/ACD) und hämatologische Malignome inkl. dem MDS. Zudem kommt ein großer Anteil unklarer Anämien im Alter (*unexplained anemia of the elderly*; UAE) hinzu <sup>2,49-51</sup>.

Ungefähr ein Drittel der Anämien im Alter resultieren aufgrund eines Nährstoffmangels. Ein weiteres Drittel kann chronischen Entzündungen/Erkrankungen inkl. der Niereninsuffizienz zugesprochen werden. Das letzte Drittel entfällt jedoch auf die UAE, wobei auch undiagnostizierte hämatoonkologische Erkrankungen hier mit eingeschlossen sind <sup>50</sup>.

Während die Anämie aufgrund von Nährstoffmangel in den Entwicklungsländern vorwiegend auf Mangelernährung zurückzuführen ist, steht in Industrieländern die Malabsorption sowie okkulte GI-Blutungen für den Eisenmangel im Vordergrund <sup>52</sup>. Hierbei stellt sich die Eisenmangelanämie (*iron deficiency anemia*; IDA) bei Älteren nicht immer klassisch als mikrozytär dar, sondern kann auch normozytär in Erscheinung treten <sup>53</sup>. Die hohe Prävalenz der atrophischen Gastritis, von *Helicobacter pylori*-Infektionen und chronisch entzündlichen Darm-erkrankungen (CED) sowie die Polypharmazie im Alter von u.a. Antazida und Metformin sind Hauptursachen für eine Malabsorption <sup>51,54</sup>. Im Weiteren können auch ein Kupfer- und Selenmangel zu einer Anämie führen <sup>51</sup>.

Das zweite Drittel umfasst die ACI und ACD. Hierzu zählen eine Reihe von Erkrankungen: Tumore, Diabetes mellitus, Herz-Kreislauf-erkrankungen wie Herzinsuffizienz und Arteriosklerose, chronische Lungenerkrankungen oder Autoimmunerkrankungen wie Rheumatoide Arthritis sind exemplarisch aufgrund der hohen Prävalenz unter älteren Menschen hier zu erwähnen. Drei Pathomechanismen konnten bislang identifiziert werden, welche bei ACI/ACD die Anämie bedingen sollen: Der erste Weg beschreibt eine direkte Hemmung der Erythropoese durch erhöhte Zytokinspiegel von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und INF- $\gamma$ , welche bei systemischen Entzündungen gehäuft freigesetzt werden und die Expression und Wirkung von EPO hemmen. Im zweiten Weg kommt es über den Zytokineinfluss -hier ist v.a. das IL-6 zu nennen- zu einer erhöhten Bildung von Hcpidin, welches als Akut-Phase-Protein über Inaktivierung von

Ferroportin zur vermehrten Sequestrierung von Eisen führt und somit einen funktionellen Eisenmangel bedingt. Der dritte Weg beschreibt eine verminderte Überlebenszeit der Erythrozyten durch Einwirkung von Caspasen und Prostaglandinen. Dessen Bildung wird durch freie Radikale getriggert, welche im Zustand von Infektionen gehäuft anfallen. Ebenfalls führen Ablagerungen von Komplementfaktoren und Antikörpern zu einer vermehrten Phagozytose der Erythrozyten. Bei renaler Anämie kommt es durch die erhöhten Retentionsparameter ebenfalls zu einer chronischen Entzündungsreaktion. Außerdem ist die EPO-Produktion pathophysiologisch bedingt reduziert, sodass diese Anämie zu dem Formenkreis der ACD/ACI zählt bzw. sich diese hier überschneiden.<sup>51,55,56</sup>

Die UAE umfasst das letzte Drittel der Anämien im Alter. Hier wird eine multikausale Ätiologie als ursächlich betrachtet. Androgenmangel, Frühstadien klonaler hämatopoetischer Störungen, okkulte Infektionen und/oder eine milde Niereninsuffizienz sowie der Vitamin D-Mangel und eine verminderte Knochenmarkreserve im hohen Alter stehen u.a. zur Diskussion, jeweils anteilig an der Entstehung der UAE beteiligt zu sein.<sup>50,56</sup>

Allen Formen gemein ist, dass die Anämie mit körperlichen und kognitiven Einschränkungen einhergeht. Durch die verminderte Sauerstoffversorgung der Gewebe kommt es u.a. zu Müdigkeit, Tachykardie, Dyspnoe, Schwindel und einem dadurch erhöhten Sturzrisiko. Zudem wird das Fortschreiten von pulmonalen, kardio- und zerebrovaskulären Erkrankungen begünstigt. Auch ohne Grunderkrankungen ist die Anämie mit einem erhöhten Risiko für kognitiven Verfall, Demenz und Depressionen assoziiert. All dies führt zu einer signifikanten Steigerung der Hospitalisierungsrate und Mortalität anämischer Personen.<sup>6,7,56–59</sup>

Bemerkenswert ist, dass die aus der Anämie resultierenden Risiken nicht mit der Schwere der Anämie korrelieren, sondern bereits ab einem niedrig-normalen Hämoglobinwert zu beobachten sind<sup>52</sup>. Daher muss vor allem dem hohen Anteil unklarer Anämien vermehrt Aufmerksamkeit gewidmet werden, um deren Ursachen zu klären und diese schlussendlich auch behandeln zu können<sup>6,50,57,60</sup>.

Vorliegende Studie soll hierzu beitragen den Einfluss des Vitamin Ds auf die Pathogenese der Anämie bei älteren Menschen als möglichen weiteren Faktor näher zu beleuchten.

## **2.2 Vitamin D**

Das Vitamin D bzw. die Calciferole sind steroidähnliche Hormone, welchen eine Beteiligung an multiplen Prozessen im Körper zugeschrieben werden. Die Hauptaufgabe besteht in der Regulation des Calcium- und Phosphathaushaltes<sup>39</sup>.

### 2.2.1. Synthese

Es gibt zwei mögliche Startpunkte der Vitamin D-Synthese, welche in einer gemeinsamen Endstrecke münden: Der erste Weg geht über die enterale Resorption von Ergocalciferol (Vitamin D<sub>2</sub>) und Cholecalciferol (Vitamin D<sub>3</sub>, Calcidiol), welche über die Nahrung aufgenommen werden. Ergocalciferol stammt aus pflanzlichen, Cholecalciferol aus tierischen Quellen, wobei Ergocalciferol weniger Potenz als Cholecalciferol besitzt. Dementsprechend muss bei Substitution mit D<sub>2</sub>-Präparaten die Dosis erhöht werden. Die Resorption der lipophilen Substanzen aus dem Darm erfolgt über Mizellen, welche dann als Chylomikronen über die Lymphe ins Blut abgegeben werden. Im Blut sind die Calciferole an Transcalciferin, auch als Vitamin D-bindendes Protein (DBP) bezeichnet, gebunden und erreichen so die Leber. Der zweite Weg startet dort. Cholesterin wird in der Leber mittels Cholesterin-Dehydrogenase zum Provitamin 7-Dehydrocholesterin umgewandelt und an DBP gebunden in die Haut transportiert. Durch UV-B-Strahlung erfolgt die Spaltung des B-Rings des Steranskeletts zum Prävitamin, welches spontan zu Cholecalciferol isomerisiert. Ein Teil des Prävitamin D verbleibt als Kurzspeicher in der Haut. Cholecalciferol wird hingegen wieder zur Leber transportiert. Synonym läuft der UV-abhängige Weg für das Ergocalciferol ab, deren Provitamin Ergosterol ist. Dieses kann jedoch nicht, wie das 7-Dehydrocholesterin, synthetisiert werden, sondern muss über die Nahrung aufgenommen werden. Ergo- und Cholecalciferol haben eine Halbwertszeit (HWZ) von ca. 24 Stunden. In der Leber beginnt auch die gemeinsame Endstrecke der exogenen und endogenen Calciferole aus Nahrung und UV-Synthese. Zuerst wird NADPH-abhängig Vitamin D<sub>2</sub> und D<sub>3</sub> zu 25-Hydroxyergocalciferol (25(OH)D<sub>2</sub>) bzw. 25-Hydroxycholecalciferol (25(OH)D<sub>3</sub>) hydroxyliert. Dies erfolgt durch die 25-Hydroxylase der Leber, welche zu den Cytochromen P450 (CYP450) gehört. An DBP oder Albumin gebunden werden beide Formen des 25-Hydroxyvitamin Ds (fortlaufend als 25D oder Calcidiol bezeichnet) ins Blut abgegeben. Über 95 % sind hierbei 25(OH)D<sub>3</sub>. 25(OH)D<sub>2</sub> wird zumeist nur unter Substitution gemessen. 25D ist im Serum mit einer HWZ von zwei bis drei Wochen die Hauptspeicherform des Vitamin Ds. Es ist jedoch wenig biologisch aktiv. Daher wird bei Bedarf Calcidiol in den Nieren einer weiteren Hydroxylierung am C1-Atom durch die 1- $\alpha$ -Hydroxylase unterzogen. Hierfür wird der 25D-DBP-Komplex am Megalin-Rezeptor mittels rezeptor-vermittelter Endozytose aus dem Glomerulusfiltrat in die Zellen des proximalen Tubulus reabsorbiert. In den Endosomen erfolgt die Abspaltung vom DBP und D25 wird zu 1,25-Dihydroergocholecalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>) und 1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) hydroxyliert. Beide Formen des 1,25-Dihydroxyvitamin Ds (fortlaufend als 1,25D oder Calcitriol bezeichnet) haben nur noch eine HWZ von drei bis fünf Stunden, jedoch weisen sie nun eine deutlich höhere Affinität zum Vitamin D-Rezeptor (VDR) im Zytosol der Zielzellen auf. Das Parathormon (PTH) sowie niedrige Spiegel an Calcium und Phosphat und Prolactin bei Laktation erhöhen die Aktivität der 1- $\alpha$ -Hydroxylase der Nieren. Hohe Calcium- und Phosphat-Spiegel sowie das Calcitriol selbst

hingegen hemmen reziprok die Aktivität des Enzyms. Im Weiteren aktiviert Phosphat die 24-Hydroxylase, welche Calcitriol abbaut. Die Ausscheidung erfolgt über die Galle, wobei Vitamin D dem enterohepatischen Kreislauf unterliegt und überwiegend rückresorbiert wird.<sup>33,36,38,39,44,61,62</sup>

## 2.2.2. Funktion

### Calcium- und Knochenstoffwechsel:

Hauptaufgabe des Vitamin Ds ist, wie eingangs schon kurz angeschnitten, die Regulation des Calcium- und Phosphathaushaltes. Dies wird vor allem über eine Modulation der Resorption im Darm erreicht. 85 % der Vitamin D-Metabolite sind im Blut an DBP gebunden, 15 % an Albumin. Die Aufnahme der lipophilen Hormone soll an den Zielzellen jedoch frei durch Diffusion erfolgen. Intrazellulär binden die Vitamin D-Metabolite an den VDR. Calcitriol hat hier im Vergleich zum Calcidiol eine 500-1000-fach höhere Affinität zum Rezeptor. Nach Bindung am VDR dimerisiert dieses mit dem Retinoid X-Rezeptor und der Komplex geht in den Zellkern, wo er an die *Vitamin D-response elements* (VDRE) bindet und so die Transkription von Genen unterdrückt oder fördert. Im Darm wird die Expression vom Calcium-bindenden-Protein und der Calcium-ATPase gesteigert, sodass es zur vermehrten Resorption von Calcium kommt. Auch Phosphat wird unter Einfluss von aktivem Vitamin D vermehrt im Darm resorbiert. In den Nieren hemmt Calcitriol mit Hilfe von PTH die Ausscheidung von Calcium und Phosphat und im Knochen aktiviert es die Osteoblasten und bewirkt eine verstärkte Mineralisierung des Knochens. Ein Mangel führt über den Abfall des Calciums zu einer erhöhten Sekretion von PTH. Dieser sekundäre Hyperparathyreoidismus (sHPT) bedingt eine PTH induzierte ossäre Mobilisation von Calcium über Osteoklastenaktivierung. Da durch das erhöhte PTH gleichzeitig die Hydroxylase der Nieren vermehrt aktiviert wird, bleibt der Spiegel von 1,25D lange Zeit noch normal bei schon reduzierten 25D-Spiegeln. Erst nach Erschöpfen von 25D fällt auch 1,25D ab, was am Knochen schlussendlich zu Osteomalazie bei Erwachsenen und Rachitis bei Kindern führt.<sup>33,39,44,62</sup>

### Extraossäre Wirkung:

Vitamin D-Rezeptoren sind in fast jeder Körperzelle zu finden. So hat Vitamin D Einfluss in der Immunregulation und Differenzierung von epidermalen und hämatopoetischen Zellen. Es sollen darüber hinaus positive Effekte für das Herz-Kreislauf-System, den Blutdruck und den Zuckerstoffwechsel abzuleiten sein. Ebenso soll eine Assoziation zwischen niedrigen Vitamin D-Spiegeln und der Häufigkeit von kognitiver Dysfunktion, Demenz und Depression bestehen. Studien zum Beleg eines sicheren Kausalzusammenhangs fehlen hierzu jedoch. In randomisierten Studien mit Testung von Vitamin D vs. Placebo konnte kein Nutzen für Vitamin D zur

Reduktion der Inzidenz von Depressionen gefunden werden. Auch konnte ein Effekt von Vitamin D auf Mortalität oder kardiovaskuläre Ereignisse in Metaanalysen nicht bestätigt werden.<sup>36,38,63–67</sup>

Die Funktion des Vitamin Ds im Eisenstoffwechsel soll Thema dieser Arbeit sein und wird unter *Punkt 2.3* näher erläutert.

### **2.2.3. Vitamin D-Bestimmung und Referenzwerte**

#### **Indikation zur Bestimmung:**

Zur Bestimmung der Versorgungssituation des Körpers mit Vitamin D wird der Spiegel an 25D bestimmt. Indikation hierzu besteht bei reduzierter Sonnenlichtexposition bei z.B. bettlägerigen Personen oder bei einer Fettmalabsorption, welche u.a. bei Zöliakie, Pankreasinsuffizienz oder biliärer Zirrhose vorliegt. Außerdem sollte der 25D-Spiegel bei Dialysepatienten oder nephrotischem Syndrom, bei welchem es zu einem vermehrten renalen Verlust von Vitamin D und DBP kommt, erhoben werden. Bei Auffälligkeiten in der Knochenstruktur im Röntgen oder der laborchemischen Parameter des Knochenstoffwechsels Calcium, Phosphat, PTH und alkalischer Phosphatase ist eine Bestimmung ebenfalls indiziert. Zudem muss die Bestimmung des 25Ds bei Verdacht auf eine supplementäre Vitamin D-Intoxikation erfolgen, bei welcher die 1,25D-Spiegel durch das supprimierte PTH bei Hyperkalziämie normal vorzufinden sind. Weitere Indikationen sind Konstellationen eines erhöhten Vitamin D-Stoffwechsels unter Therapie mit CYP450-induzierenden Medikamenten, wie Barbiturate oder Antiepileptika. Lebererkrankungen hingegen führen selbst im hohen Stadium noch nicht zu einer relevanten Verminderung der 25-Hydroxylaseleistung.<sup>44</sup>

Die Bestimmung des 1,25Ds ist nur zur Abklärung von unklaren Hyper- und Hypokalziämien z. B. im Rahmen eines Hyperparathyreoidismus, einer Tuberkulose oder Sarkoidose sowie bei Verdacht auf seltene Erkrankungen, wie dem Vitamin D-Rezeptor-Mangel oder dem 1- $\alpha$ -Hydroxylase-Mangel, indiziert. Im Weiteren kann die Bestimmung zur Therapiekontrolle unter Substitution von Calcitriol-Präparaten und bei Dialysepatienten erfolgen. Zur Diagnostik eines Vitamin D-Mangels bei Patienten ohne o.g. Vorerkrankungen eignet sich der Parameter nicht, da er substratunabhängig gebildet wird und somit auch noch bei deutlicher Unterversorgung von Vitamin D normale Spiegel des aktiven Metaboliten gehalten werden.<sup>44</sup>

Neben des 25Ds zur initialen Diagnostik eines Vitamin D-Mangels stellt die Bestimmung des intakten PTH im Serum einen wichtigen akzessorischen Parameter zur Einschätzung der Beeinträchtigung der Stoffwechselprozesse dar und unterstützt die Risikobewertung und Therapiekontrolle unter Substitution. Ein erhöhtes Risiko für einen sHPT besteht bei 25D-Werten von unter 50 nmol/l. PTH-Werte von unter 45 ng/l (4,5 pmol/l) zeigen eine adäquate Versorgung mit Vitamin D an.<sup>44</sup>

## Referenzwerte 25-Hydroxyvitamin D:

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V. (DGE) gibt in ihrer aktuell noch gültigen Empfehlung aus 2012 für das 25D einen Serumspiegel von mindestens 50 nmol/l vor<sup>68</sup>. Das Robert-Koch-Institut (RKI) verweist in seiner Empfehlung aus 2019 weiterführend auf die Klassifikation des US-amerikanischen Institut of Medicine (IOM), welches in *Tabelle 2* aufgeführte Werte bezüglich der Knochengesundheit vorgibt:

*Tabelle 2: 25D-Referenzwerte n. IOM*

25D (nmol/l)	25D (ng/ml)	Interpretation
< 30	< 12	Mangelhafte Versorgung mit einem erhöhten Risiko für Krankheiten wie Rachitis, Osteomalazie und Osteoporose.
30 - < 50	12 - < 20	Suboptimale Versorgung mit möglichen Folgen für die Knochengesundheit.
50 - < 75	20 - < 30	Ausreichende Versorgung in Bezug auf die Knochengesundheit.
75 - < 125	30 - < 50	Ausreichende Versorgung in Bezug auf die Knochengesundheit ohne weiteren Zusatznutzen für die Gesundheit.
≥ 125	≥ 50	Mögliche Überversorgung, die für den Körper negative gesundheitliche Folgen haben kann, zum Beispiel Hyperkalzämien, die zu Herzrhythmusstörungen oder Nierensteinen führen können.

25D = Calcidiol; IOM = *Institut of Medicine*

69

## Bestimmungsmethoden:

Kritisch zu sehen ist, dass die Bestimmung des Calcidiols bislang noch nicht standardisiert ist. So kommt es je nach verwendeter Methode zu deutlich abweichenden Werten. Die Messung mit LC-MS hat die höchste Präzision inne und stellt somit die Referenzmethode dar. Auch ist mittels LC-MS-Verfahren eine differenzierte quantitative Bestimmung von 25-Hydroxyergocalciferol und 25-Hydroxycholecalciferol möglich. Unter Anwendung von Immunoassays kommt es hier oft zu einer Kreuzreaktivität, sodass keine Aussage zu den Fraktionen an 25(OH)D<sub>2</sub> oder 25(OH)D<sub>3</sub> getroffen werden kann. Manche Assays hingegen erfassen auch nur eines der beiden Metabolite. Zudem bestehen Kreuzreaktivitäten mit Vitamin D<sub>2</sub>, Vitamin D<sub>3</sub> und anderen Vitamin D-Metaboliten, sodass die zusätzliche Erfassung dieser zu falsch erhöhten Werten des 25Ds führen. Darüber muss man sich bei der Wahl der Methode und Wertung der Ergebnisse im Vorfeld bewusst sein. Ein weiterer Nachteil der Bestimmung mittels Immunoassays ist, dass je nach Testsystem deutliche Interferenzen mit

dem DBP auftreten können. Diese beruhen auf einer unvollständigen Lyse des 25Ds aus der Proteinbindung, sodass falsch erniedrigte Werte gemessen werden.<sup>44,69</sup> (Weiteres hierzu unter *Punkt 3.1.2.*) Im Allgemeinen sollte die Blutentnahme morgens und nüchtern erfolgen. Als Material ist Serum und Plasma geeignet. Die Probe sollte lichtgeschützt transportiert werden und ist bei Raumtemperatur drei Tage stabil <sup>44</sup>.

#### **2.2.4. Vitamin D-Mangel**

##### **Prävalenz in Deutschland:**

Um eine ausreichende Versorgung des Körpers mit Vitamin D gewährleisten zu können, sollten die Serumspiegel vom Calcidiol laut o.g. aktuellen Empfehlungen zwischen 50-75 nmol/l gehalten werden. Die Spiegel schwanken jedoch stark in Abhängigkeit von der Jahreszeit und deren UV-B-Strahlung. Anfang Herbst sind somit die höchsten und im Frühjahr die niedrigsten Werte zu messen <sup>31</sup>. Eine Studie aus dem Jahr 2008, welche im Auftrag des RKI erhoben wurde, zeigte eine deutliche Vitamin D-Unterversorgung unter Erwachsenen in Deutschland auf: "Insgesamt hatten 57 % der Männer und 58 % der Frauen einen Vitamin-25D-Spiegel unter 50 nmol/l. Bei den 65- bis 79-jährigen Frauen betrug der Anteil selbst in der sonnigeren Jahreshälfte 75 %" <sup>30</sup>. Die Daten der Studie hierfür stammten aus dem Jahr 1998 und umfassten Frauen und Männer im Alter von 18-79 Jahren. Eine weitere Studie des RKI aus dem Jahr 2015 baute hierauf auf. Sie analysierte Datensätze aus den Jahren 2008 bis 2011 und kam zu ähnlichen Ergebnissen: "Der mittlere Serum-25D-Spiegel betrug 45,6 nmol/l ohne signifikante Geschlechtsunterschiede ( $p = 0,47$ ). 61,6 % der Teilnehmer hatten Serumspiegel < 50 nmol/l, 30,2 % hatten Spiegel < 30 nmol/l" <sup>31</sup>. Insofern hat sich in rund 10 Jahren trotz erhöhten Interesses am Vitamin D in Wissenschaft als auch Medien nicht viel an der Vitamin D-Versorgungssituation in Deutschland verbessert.

##### **Vitamin D-Mangel im Alter:**

Vor allem die o.g. Daten bei älteren Menschen sind alarmierend. Mehrere Faktoren kommen hier zum Tragen, welche die hohe Prävalenz des Vitamin D-Mangels bei älteren Menschen begründen können. Zum einen nimmt im Alter die Prävalenz von Multimorbidität zu, was einhergehend mit ebenfalls zunehmenden Mobilitätseinschränkungen dazu führt, dass ältere Menschen sich weniger im Freien bewegen. Insbesondere Personen in Pflegeheimen sind hiervon gehäuft betroffen.<sup>70</sup> Hinzu kommen sozioökonomische Faktoren, wie Vereinsamung und Altersarmut, sodass ebenfalls weniger Aktivitäten im Freien vollzogen werden. Auch frieren ältere Personen eher und bekleiden sich deshalb mehr. Die Beschaffenheit der Haut verändert sich zudem im Alter, wodurch die Synthesefähigkeit für Vitamin D abnimmt <sup>71</sup>. Im Weiteren steigt die Prävalenz von schwerer Niereninsuffizienz und Hypertonie, sodass



vermehrt Diuretika verabreicht werden, was zu erhöhten renalen DBP- und 25D-Verlusten führt <sup>29,72</sup>. Ebenfalls nimmt mit steigender Multimorbidität die Verschreibung von CYP450-induzierenden Medikamenten zu, sodass es zu einem gesteigerten Abbau von Vitamin D in der Leber und somit einer vermehrten biliären Vitamin-D-Ausscheidung kommt <sup>44</sup>. Hauptspeicherorte des Vitamin Ds sind die Muskeln und das Fettgewebe. Auch diese Fraktionen nehmen im Alter ab <sup>73</sup>. Dies sind nur einige Beispiele, welche jedoch verdeutlichen, wieso ältere Personen ein solch erhöhtes Risiko für einen Vitamin D-Mangel haben und erklären die hohe Prävalenz des Vitamin D-Mangels im Alter.

### **2.3 Einfluss von Vitamin D im Eisenstoffwechsel**

Zum Verständnis der Rolle des Vitamin Ds im Eisenstoffwechsel muss die Funktion des Vitamins in der Immunregulation vorab beleuchtet werden. Vitamin D-Rezeptoren konnten auf diversen Immunzellen identifiziert werden. So verfügen u.a. Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen sowie T- und B-Zellen über VDR. Bei Aktivierung der T-Zellen regulieren diese unter Einfluss von Zytokinen ihre Rezeptordichte hoch. Zusätzlich konnten Vitamin-D-metabolisierende Enzyme in Immunzellen nachgewiesen werden, sodass diese autonom den lokalen Vitamin D-Stoffwechsel modulieren können. Vitamin D scheint somit eine wichtige Rolle im angeborenen und adaptiven Immunsystem zu spielen. <sup>65</sup>

Bekannt ist, dass die Anämie bei Patienten mit CKD ein großes Problem darstellt <sup>74</sup>. Ebenfalls besteht bei CKD eine erhöhte Prävalenz von Vitamin D-Mangel <sup>22</sup>. Eine Assoziation der drei Faktoren CKD, Anämie und Vitamin D-Mangel konnte in Studien belegt werden. So zeigte sich bei Dialysepatienten, dass der 25D-Spiegel signifikant mit dem Hämoglobinwert und dem EPO-Resistenz-Index korreliert <sup>24</sup>. In einer Fall-Kontroll-Studie konnte das bessere Ansprechen auf EPO und dem damit verbundenen Hämoglobinanstieg auf einen Rückgang der Entzündungswerte unter Vitamin D-Supplementation zurückgeführt werden <sup>75</sup>.

Die EPO-Resistenz korreliert mit der Gesamtmortalität bei Dialysepatienten und nimmt somit eine große Bedeutung im Therapiemanagement ein. Chronisch entzündliche Prozesse sind die Hauptursache für das verminderte Ansprechen auf EPO. Eine Aktivierung der Vitamin D-Rezeptoren soll die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen hemmen, wodurch wiederum die Hepsidininduktion unterdrückt wird. Im Weiteren soll die Freisetzung von Interleukin 10 (IL-10) durch Vitamin D gesteigert werden, welches sich direkt proliferativ auf die Zellen der Erythropoese auswirkt. <sup>21</sup>

In einer Tierstudie an Ratten konnten weitere Effekte durch die Kombination von EPO mit Vitamin D auf das Outcome der CKD abgeleitet werden. Durch Vitamin D-Gaben konnte die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) gesteigert werden, indem die entzündlich bedingte Infiltration der Nieren durch Makrophagen reduziert wurde. Dies ließ sich auf einen Rückgang des pro-

apoptotischen Proteins Bax sowie eine Steigerung des antiapoptotischen Bcl-2 (*B-cell lymphoma 2*) zurückführen. Es kam zudem zu einer verminderten Expression der Makrophagenoberflächenmarker F4/80<sup>+</sup>- und CD68<sup>+</sup>.<sup>76</sup>

In einer weiteren Studie konnte darüber hinaus ebenfalls *in vitro* an Monozyten eine verminderte Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-1 $\beta$  unter Vitamin D-Einfluss sowie eine dosisabhängige vermehrte Expression von NRAMP1-mRNA (*natural resistance-associated macrophage protein 1*) nachgewiesen werden. Diese kodiert für einen weiteren Transporter, den endosomalen Eisen-Mangan-Transporter. Der Transport von Eisen aus den Speichern wird durch Vitamin D in Entzündungskonstellationen somit erleichtert und dem Entstehen eines funktionellen Eisenmangels entgegengesteuert.<sup>77</sup>

Vor allem die gesteigerte Heparidinsynthese im Rahmen einer erhöhten Entzündungsreaktion scheint ein entscheidender Kofaktor im Pathomechanismus der renalen Anämie zu sein. Heparidin kann in allen Stadien der Niereninsuffizienz erhöht nachgewiesen werden und korreliert mit erhöhtem Ferritin und hochreguliertem sTfR als Zeichen eines funktionellen Eisenmangels. Vitamin D scheint hier aber nicht nur indirekt über eine antiinflammatorische Wirkung die Synthese von Heparidin zu hemmen, sondern auch direkt Einfluss auf dessen Expression zu nehmen. In einer Studie konnte *in vitro* in Leberzellen und Monozyten unter Behandlung mit 25D und 1,25D eine Reduktion der Expression von Heparidin-mRNA nachgewiesen werden. Gleichzeitig wurde die Expression von Ferroportin erhöht und Ferritin nahm in den Zellen ab. In einer darauf aufbauenden Pilotstudie an gesunden Probanden konnte durch einmalige orale Gabe von 100.000 IE D<sub>2</sub> eine 34%ige Reduktion des Heparidinspiegels nach 24 Stunden belegt werden.<sup>20,23</sup>

Weitere Bestätigung vom Einfluss des Vitamin Ds im Eisenstoffwechsel lässt sich über eine Assoziation mit der RDW nachweisen. In einer Stichprobe von 15.162 Personen konnte eine inverse Assoziation des 25D-Spiegels mit der RDW aufgezeigt werden, wobei der Cut-off bei einem Spiegel von < 75 nmol/l 25D lag.<sup>78</sup>

## **2.4 Fragestellungen und Ziel der Arbeit**

Die geplante Studie basiert auf der Hypothese, dass eine altersphysiologisch bedingte Einschränkung der Nierenfunktion über einen Vitamin-D-Mangel einen Anstieg von Heparidin begünstigt, welcher über die Heparidin-Ferroportin-Achse zu einem funktionellen Eisenmangel führt und somit eine Anämie bewirkt. Ebenfalls soll der Einfluss von Vitamin D unabhängig von der Nierenfunktion auf das Risiko der Entstehung einer Anämie untersucht werden. Basierend auf der oben genannten Hypothese deuten vorangegangene Studien bei Vitamin D-Mangel auf ein erhöhtes Risiko für Anämien bei Erwachsenen mit und ohne CKD hin<sup>24,25</sup>. Auch konnte bei Kindern ein ähnlicher Zusammenhang gefunden werden<sup>26,27</sup>. Studienergebnisse isoliert

bei älteren Männern zeigten hingegen nur partiell eine Assoziation mit dem 1,25D, nicht aber mit 25D, auf <sup>28</sup>. Repräsentative Daten aus Deutschland für ältere Personen beider Geschlechter stehen hingegen noch aus. Diese Studie soll hierfür einen Anfang erbringen.

Lässt sich über die Bestimmung des Vitamin D Spiegels ein prognostischer Wert für das Risiko oder gar die Ursache einer Anämie ableiten? Kann ggf. präventiv durch Vitamin D Substitution der Manifestation einer Anämie entgegengewirkt werden?

Anhand einer Sekundärdatenanalyse mittels parametrischer und nicht-parametrischer Tests soll ein Zusammenhang für Patienten im Alter  $\geq 60$  Jahre zwischen einem VDM und dem Auftreten einer Anämie in Abhängigkeit und unabhängig von der Nierenfunktion nachgewiesen sowie die Korrelation der RDW mit dem Vitamin D beleuchtet werden.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Datenerhebung**

Im Rahmen einer retrospektiven Datenanalyse wurden 4008 Routinelabore von Patienten im Alter von  $\geq 60$  Jahren entsprechend der Ein- und Ausschlusskriterien (s.u. *Tabelle 3*) pseudo-anonymisiert erhoben und anschließend gemäß Fragestellung statistisch ausgewertet. Hierfür wurden in erster Instanz  $> 20.000$  Laboranforderungen auf Calcidiol des amedes Standortes MVZ Halle/Leipzig aus dem Jahre 2019 herangezogen und nach den obligaten Einschlusskriterien gefiltert. (Erster Wert: 01.01.2019; letzter Wert: 31.12.2019.) Da sich überproportional mehr weibliche Individuen in der Studienpopulation abzeichneten, wurden zum Erreichen einer aussagekräftigen männlichen Stichprobengröße aus den ersten drei Monaten des Jahres 2019 noch weitere Labordaten vom Standort amedes MVZ Göttingen herangezogen. (Erster Wert: 01.01.2019; letzter Wert: 31.03.2019.) Als obligate Einschlusskriterien zählte ein Alter von  $\geq 60$  Jahren sowie mussten im Laborbefund neben des Calcidiols, ein kleines Blutbild (KBB) und das Kreatinin im Serum mit Berechnung der GFR n. CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) vorhanden sein. Erhoben wurden im Weiteren das Geburtsdatum und das Geschlecht sowie optional das CRP, das Calcitriol und die RDW als Variationskoeffizient (*red cell distribution width-coefficient of variation*; RDW-CV). Alle Datensätze wurden pseudoanonymisiert in Microsoft Excel Version 2004 manuell eingepflegt. Um eine hämatoonkologische Grunderkrankung oder akute/chronische entzündliche Prozesse als Ursachen einer Anämie weitgehend rauszufiltern, wurden als Ausschlusskriterien eine pathologische Erhöhung des CRPs, der Leukozyten, der Thrombozyten sowie eine signifikante Verminderung der Leukozyten- und Thrombozytenzahlen definiert und die erhobenen Datensätze um Labore, welche die Ausschlusskriterien überschritten, bereinigt. Zur statistischen Auswertung wurden die Datensätze in IBM SPSS Statistics 28.0.0.0 überführt. Die Studie

wurde im Vorfeld von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Köln (EK-Nr.: 20-1284), Deutschland, genehmigt. In *Tabelle 3* zur Übersicht sind die Ein- und Ausschlusskriterien nochmals aufgeführt:

**Tabelle 3: Ein- und Ausschlusskriterien**

<b>Obligate Einschlusskriterien:</b>	<b>Ausschlusskriterien:</b>
Alter ≥ 60 Jahre	Fehlen obligater Einschlusskriterien
Calcidiol	Leukozyten < 4,0 G/l und > 9,0 G/l
Kleines Blutbild	Erythrozyten > 5,9 T/l (Männer)
Kreatinin im Serum mit GFR n. CKD-EPI	Erythrozyten > 5,3 T/l (Frauen)
<b>Fakultative Einschlusskriterien:</b>	Hämoglobin > 18 g/dl / 11,2 mmol/l (Männer)
Calcitriol	Hämoglobin > 16 g/dl / 9,9 mmol/l (Frauen)
CRP	Thrombozyten < 100 und > 400 G/l
RDW-CV	CRP ≥ 5,0 mg/l

CKD-EPI = *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*; CRP = C-reaktives Protein; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; RDW-CV = *red cell distribution width-coefficient of variation*

### 3.1.1. Referenzbereiche

Untenstehend in *Tabelle 4* sind die Referenzbereiche der verarbeiteten Parameter gelistet. Diese sind entweder methodenspezifisch und wurden durch den Testhersteller des Testkits, welches zur Analyse angewandt wurde, vorgegeben oder es handelt sich um allgemeingültige Referenzbereiche, welche auf dem aktuellen Stand der Wissenschaft oder auf aktuellen Leitlinien basieren.

**Tabelle 4: Referenzbereiche**

<b>Parameter</b>	<b>Referenzbereich</b>
Calcidiol	20 - 30 ng/ml / 50 - 75 nmol/l
Calcitriol	19,9 - 79,3 pg/ml
Leukozyten	4,0 - 9,0 G/l
Erythrozyten	3,9 - 5,3 T/l (Frauen); 4,3 - 5,9 T/l (Männer)
Hämoglobin	12 - 16 g/dl / 7,5 - 9,9 mmol/l (Frauen); 14 - 18 g/dl / 8,7 - 11,2 mmol/l (Männer)
Hämatokrit	0,36 - 0,47 l/l / 36 - 47 % (Frauen); 0,40 - 0,50 l/l / 40 - 50 % (Männer)
MCV	80 - 96 fl
MCH	28 - 32 pg / 1,74 - 1,98 fmol
MCHC	30 - 36 g/dl / 19 - 22 mmol/l
Thrombozyten	150 - 400 G/l

RDW-CV	11,7 - 14,4 % (Frauen); 11,6 - 14,4 % (Männer)
Kreatinin	< 0,9 mg/dl / < 80 µmol/l (Frauen); < 1,2 mg/dl / 106 µmol/l (Männer)
GFR n. CKD-EPI	> 60 ml/min/1,73qm
CRP	< 5,0 mg/l

CKD-EPI = *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*; CRP = C-reaktives Protein; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; MCH = *mean corpuscular haemoglobin*; MCHC = *mean corpuscular haemoglobin concentration*; MCV = *mean corpuscular volume*; RDW-CV = *red cell distribution width-coefficient of variation*

### 3.1.2. Labormethoden

Die erhobenen Laborparameter wurden im Rahmen der Routinediagnostik von niedergelassenen Praxen und vereinzelt auch Krankenhäusern der amedes GmbH zur Analytik in Auftrag gegeben. Die Analytik erfolgte an den Standorten amedes MVZ Halle/Leipzig und amedes MVZ Göttingen. In folgender *Tabelle 5* sind die angewandten Analysemethoden der jeweiligen Parameter gelistet:

**Tabelle 5: Analysemethoden**

Parameter	Gerät	Methode	Material
Calcidiol	Roche, Cobas® 8000 Analyzer auf cobas e 801 Modul mit cobas® "Elecsys Vitamin D total II" Testkit	Photometrie / Elektrochemilumineszenz- Proteinbindungstest in Kompetitionsprinzip	Serum / Plasma
Calcitriol	Shimadzu Nexera X2 UHPLC mit SCIEX Triple Quad 6500+ Massenspektrometer	LC-MS Inhouse-Methode	Serum
Kleines Blutbild	Sysmex, XN-1000 /-2000	(siehe Einzelparameter)	EDTA
Leukozyten	Sysmex, XN-1000 /-2000	Fluoreszenz-Durchflusszytometrie	s.o.
Erythrozyten	Sysmex, XN-1000 /-2000	Hydrodynamisch fokussierte Impedanztechnologie	s.o.
Hämoglobin	Sysmex, XN-1000 /-2000	SLS-Hämoglobin-Methode	s.o.
Hämatokrit	Sysmex, XN-1000 /-2000	Kumulative Impulshöhensummierung	s.o.
MCV	Sysmex, XN-1000 /-2000	Rechnerisch* <sup>1</sup>	/
MCH	Sysmex, XN-1000 /-2000	Rechnerisch* <sup>2</sup>	/
MCHC	Sysmex, XN-1000 /-2000	Rechnerisch* <sup>3</sup>	/
Thrombozyten	Sysmex, XN-1000 /-2000	Hydrodynamisch fokussierte Impedanztechnologie	s.o.
RDW-CV	Sysmex, XN-1000 /-2000	Rechnerisch* <sup>4</sup>	/

Kreatinin	Roche, Cobas® 8000 Analyzer auf cobas c 701 Modul mit cobas® "CREJ2" Testkit	Photometrie / Kinetischer Farbstest auf Jaffé-Methode basierend	Serum / Plasma
GFR	MOLIS Laborsystem	Rechnerisch n. CKD-EPI*5	/
CRP	Roche, Cobas® 8000 Analyzer auf cobac c 701 Modul mit cobas® "CRPL3" Testkit	Turbidimetrie / Partikel-verstärker immunologischer Trübungstest	Serum / Plasma

CRP = C-reaktives Protein; EDTA = Ethylendiamintetraacetat; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; MCH = *mean corpuscular haemoglobin*; MCHC = *mean corpuscular haemoglobin concentration*; MCV = *mean corpuscular volume*; RDW-CV = *red cell distribution width-coefficient of variation*; SLS = Natriumlaurylsulfat;

$$*1)^{79} \text{ MCV [fl]} = \text{Hämatokrit/Erythrozyten}$$

$$*2)^{79} \text{ MCH [pg]} = \text{Hämoglobin/Erythrozyten}$$

$$*3)^{79} \text{ MCHC [g/dl]} = \text{Hämoglobin/Hämatokrit}$$

$$*4)^{80} \text{ RDW - CV [\%]} = (\text{RDW} - \text{SD}) * 100/\text{MCV}$$

Die RDW-SD (RDW- *standard deviation*; RDW-Standardabweichung) wird durch Messung der Breite der Erythrozytenverteilungskurve im Erythrozyten-Histogramm maschinell ermittelt und stellt die Standardabweichung der Erythrozytengröße (MCV) dar; die RDW-CV den Variationskoeffizienten dieser.

$$*5)^{81} \text{ Berechnung der GFR nach CKD-EPI [ml/min/1,73m}^2\text{]}$$

weiblich:

Kreatinin im Serum  $\leq 0,7$  mg/dl (62  $\mu\text{mol/l}$ ):

$$\text{GFR} = 144 * (\text{Kreatinin [mg/dl]}/0,7)^{-0,329} * (0,993)^{\text{Alter}}$$

Kreatinin im Serum  $> 0,7$  mg/dl (62  $\mu\text{mol/l}$ ):

$$\text{GFR} = 144 * (\text{Kreatinin [mg/dl]}/0,7)^{-1,209} * (0,993)^{\text{Alter}}$$

männlich:

Kreatinin im Serum  $\leq 0,9$  mg/dl (80  $\mu\text{mol/l}$ ):

$$\text{GFR} = 141 * (\text{Kreatinin [mg/dl]}/0,9)^{-0,411} * (0,993)^{\text{Alter}}$$

Kreatinin im Serum  $> 0,9$  mg/dl (80  $\mu\text{mol/l}$ ):

$$\text{GFR} = 141 * (\text{Kreatinin [mg/dl]}/0,9)^{-1,209} * (0,993)^{\text{Alter}}$$

Den Wert für die ethnische Zugehörigkeit mit schwarzer Hautfarbe jeweils mit 1,159 multiplizieren.

Die CKD-EPI-Formel berücksichtigt das Kreatinin im Serum, das Geschlecht, die Hautfarbe und das Alter und gibt die errechnete glomeruläre Filtrationsrate pro Minute

und pro normierter Körperoberfläche an. Im Vergleich zur MDRD-Formel (*Modification of Diet in Renal Disease*) ist sie bei beginnenden Nierenfunktionseinschränkungen präziser.

### Bestimmung vom 25-Hydroxyvitamin D:

Immunologisches Verfahren: Die Bestimmung erfolgte mit dem Roche Testkit "Elecsys Vitamin D total II" und wurden auf dem Roche Cobas e 801 Modul des Cobas® 8000 Analyser durchgeführt. Mittels Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) erfolgte die Bestimmung der Gesamtkonzentration von 25D aus Serum und Plasma.<sup>82</sup>

Testprinzip: Die Testung erfolgte nach dem Kompetitionsprinzip. Kompetitive Assays basieren auf einer konkurrenten Bindung eines Analyten nachzuweisender Konzentration (hier 25D) mit einem markierten Antigen (hier Ruthenium-markiertes VDBP) bekannter Konzentration, indem ein gleicher, aber markierter Analyt im Überschuss (hier biotinyliertes 25D) der Probenlösung hinzugegeben wird.<sup>82</sup> In *Abbildung 2* folgt eine Grafik zum Testprinzip:

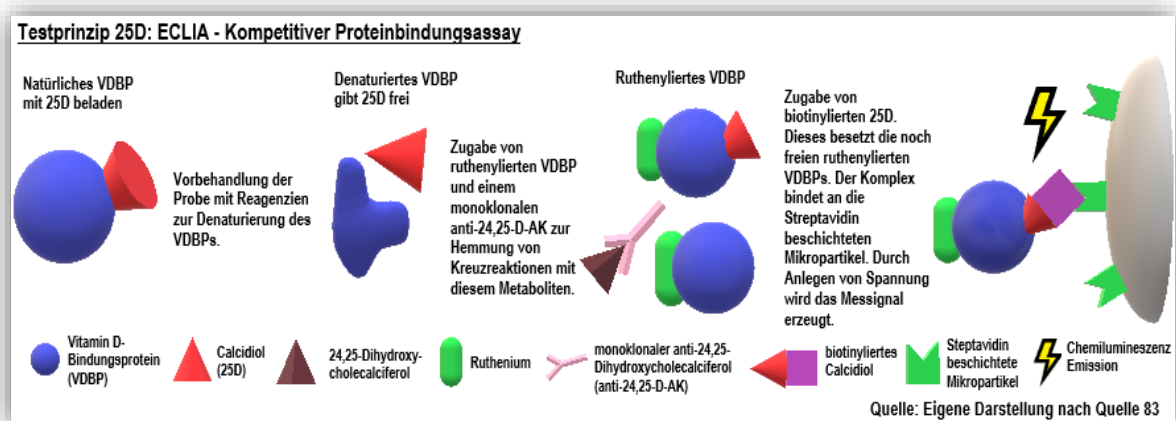


Abbildung 2: Testprinzip 25D-Assay<sup>83</sup>

Messbereiche: Der Messbereich mittels angewandtem Testkit lag bei 7,5 - 250 nmol/l (3 - 100 ng/ml). Die Erfassungsgrenze lag bei 5 nmol/l (2 ng/ml), die Nachweisgrenze bei 7,5 nmol/l (3 ng/ml) und die untere Bestimmungsgrenze bei 12,5 nmol/l (5 ng/ml). Die obere Bestimmungsgrenze lag bei 250 nmol/l (100 ng/ml) und nach erlaubter 1:2 Verdünnung entsprechend bei 500 nmol/l (200 ng/ml).<sup>82</sup>

Interferenzen: In *Tabelle 6* sind die biogenen Substanzen aufgeführt, für welche eine Interferenz im angegebenen Konzentrationsbereich ausgeschlossen werden konnte:

**Tabelle 6: Interferenzen 25D-Assay**

Verbindung	Getestete Konzentration
Bilirubin	≤ 1129 µmol/l oder ≤ 66 mg/dl
Hämoglobin	≤ 0.373 mmol/l oder ≤ 600 mg/dl
Intralipid	≤ 300 mg/dl
Biotin	≤ 123 nmol/l oder ≤ 30 ng/ml

Kriterium: ± 2,0 ng/ml des Ausgangswerts für Proben ≤ 20 ng/ml und innerhalb von ± 10 % des Ausgangswerts für Proben > 20 ng/ml

Tabelle übernommen vom Methodenblatt „Elecsys Vitamin D total II“; Roche Diagnostics; Quelle <sup>82</sup>

Demzufolge sollten Patienten, welche Biotinpräparate mit einer Dosis von > 5 mg/Tag einnehmen, zur Blutentnahme einen Abstand von mindestens acht Stunden zur letzten Einnahme einhalten.<sup>82</sup>

Kreuzreaktivität: Trotz Anwendung eines monoklonalen Fängerantikörpers konnte eine Kreuzreaktivität mit 24,25-Dihydroxyvitamin D nicht völlig vermieden werden. Bei dem 3-epi-25-Hydroxyvitamin D handelt es sich um den verwendeten analytischen Standard des Testkits.<sup>82</sup> Näheres hierzu wird folgend in *Tabelle 7* aufgeführt:

**Tabelle 7: Kreuzreaktivität 25D-Assay**

Kreuzreaktant	Konz. in ng/ml / nmol/l	Kreuzreaktivität in %
25-Hydroxyvitamin D <sub>3</sub>	50 / 125	100
25-Hydroxyvitamin D <sub>2</sub>	50 / 125	93,3
24,25-Dihydroxyvitamin D <sub>3</sub>	100 / 250	13,7
3-epi-25-Hydroxyvitamin D <sub>3</sub>	50 / 125	112,8
3-epi-25-Hydroxyvitamin D <sub>2</sub>	50 / 125	91,4
1,25-Dihydroxyvitamin D <sub>3</sub>	100 / 250	n.n.*
1,25-Dihydroxyvitamin D <sub>2</sub>	100 / 250	n.n.*
Vitamin D <sub>3</sub>	1000 / 2500	0,7
Vitamin D <sub>2</sub>	1000 / 2500	0,3

\*n.n. = nicht nachweisbar

Tabelle übernommen vom Methodenblatt „Elecsys Vitamin D total II“; Roche Diagnostics; Quelle <sup>82</sup>

### 3.2 Statistische Auswertung

Die Datensätze wurden zur Analyse in SPSS Version 28.0.0.0 überführt.

Im ersten, deskriptiven Teil der Auswertung wurde die Geschlechter- und Altersverteilung der Studienpopulation beschrieben und es erfolgte die Ermittlung der Prävalenz von Anämie. Im



Anschluss wurde der Zusammenhang vom Hämoglobin mit dem Alter untersucht. Danach folgten Analysen zur Untersuchung des Vitamin D-Status für das 25D und 1,25D sowie der Nierenfunktion in der Population für jeweils Männer und Frauen sowie im Vergleich untereinander.

Im zweiten Teil erfolgten die Analysen zur Untersuchung der Studienfrage, einer Assoziation vom Vitamin D, 25D und im Weiteren auch dem 1,25D, mit dem Hämoglobinwert in Abhängigkeit und unabhängig von der Nierenfunktion. Hierbei wurden ebenfalls die Geschlechter getrennt voneinander getestet.

Abschließend wurde der Zusammenhang der RDW mit dem 25D untersucht. Je nach Verteilung der zu untersuchenden Subpopulation kamen nicht-parametrische als auch parametrische Verfahren zur Anwendung:

- Zum Vergleich zentraler Tendenzen wurde je nach Verteilungsform der Mann-Whitney-U-/Kruskal-Wallis-Test oder ein t-Test/eine (Welch)-ANOVA durchgeführt.
- Zur Prüfung von Häufigkeitsverteilungen wurde der Pearson-Chi<sup>2</sup>-Test angewandt. Da bei keinem Test die erwarteten Zellhäufigkeiten kleiner als 5 waren, brauchte nicht auf den exakten Test nach Fischer zurückgegriffen werden.
- Mehrfachtestungen wurden unter Bonferroni-Korrektur durchgeführt.
- Die Beurteilung der Verteilung aller (abhängiger) Variablen/Residuen wurde graphisch mittels Histogramm und Q-Q-Diagramm durchgeführt, da aufgrund der zumeist hohen Stichprobengröße die gängigen Normalverteilungstests, Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk-Test, unabhängig von der tatsächlich vorliegenden Verteilung, als signifikant ausfielen und somit überwiegend nicht bewertet werden konnten.
- Bei fehlender Normalverteilung wurde Datentransformation angewandt.
- Mittels Kurvenanpassung wurde nach nicht linearen Zusammenhängen gesucht.
- Zur Prüfung der Varianzhomogenität wurde ein Levene-Test durchgeführt.
- Ausreißer wurden graphisch im Boxplot detektiert.
- Im Vorfeld zur linearen Regression wurde Homoskedastizität und normalverteilte Residuen grafisch bestätigt sowie Autokorrelation der Residuen grafisch und mittels Durban-Whatson-Test ausgeschlossen.
- Bei multipler Regression wurde Multikollinearität mittels VIF-/Toleranz-Testung ausgeschlossen.

Weitere Besonderheiten bei den jeweiligen Testungen wurden aufgrund der Vielzahl an Analysen im Ergebnispart direkt beschrieben.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Deskriptive Statistik

Die Stichprobengröße der Studienpopulation betrug 4008. Darunter waren 1227 Männer (30,6 %) und 2781 (69,4 %) Frauen. Das durchschnittliche Alter der Stichprobe lag bei 75 Jahren ( $M = 74,62$ ;  $SD = 8,61$ ) und reichte von 60 bis 99 Jahre.

Unter den Geschlechtern zeigte sich für das Alter eine nahezu identische Verteilung bezüglich der zentralen Tendenzen:  $M = 74,44$ ;  $SD = 8,34$ ;  $Mdn = 75,00$ ;  $P25/75 = 67,00/81,00$  [Männer];  $M = 74,70$ ;  $SD = 8,73$ ;  $Mdn = 75,00$ ;  $P25/75 = 67,00/81,00$  [Frauen]. Mittels Mann-Whitney-U-Test konnte ein signifikanter Altersunterschied zwischen den Geschlechtern in der Stichprobe ebenfalls ausgeschlossen werden;  $p = 0,563$ .

Da die Variable *Alter* verteilungsfrei in der Stichprobe vorlag, wurde der Mann-Whitney- und kein parametrischer Test, wie beispielsweise ein t-Test, durchgeführt. Die fehlende Normalverteilung lässt sich primär auf das obligate Einschlusskriterium des Alters ab 60 Jahren zurückführen, was zu einer deutlich linkssteilen/rechtsschiefen Verteilung führte.

Die Altersverteilung unter den Geschlechtern ist mittels Säulendiagramm in *Abbildung 3* noch einmal grafisch dargestellt:

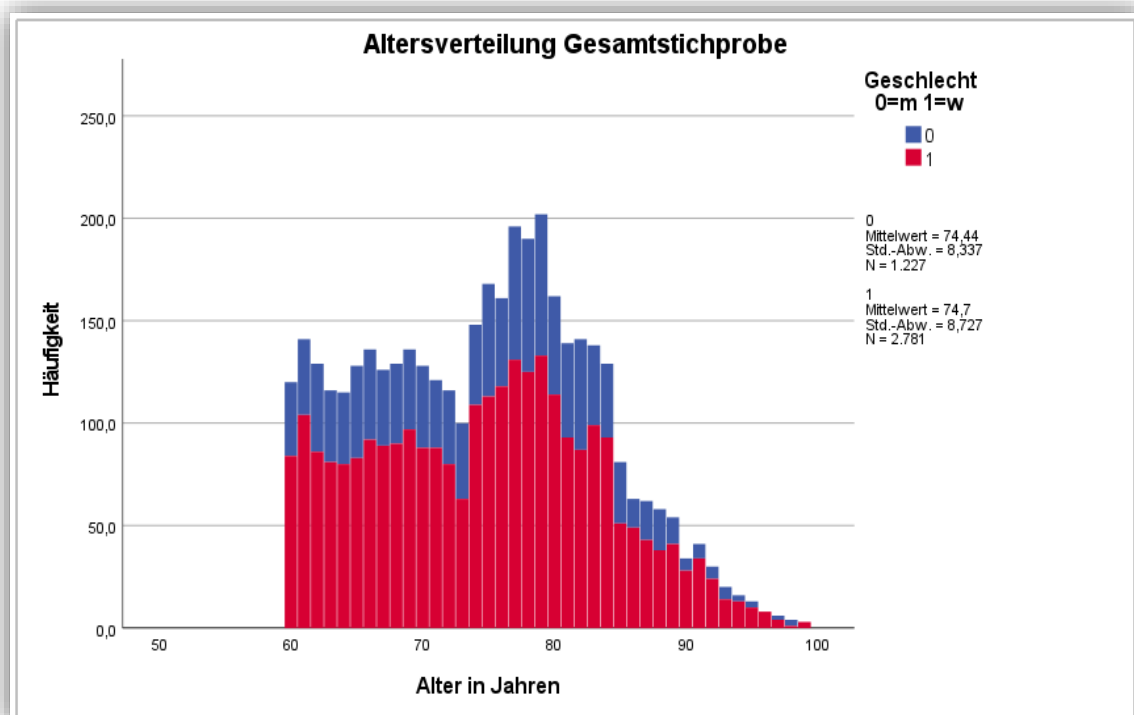


Abbildung 3: Altersverteilung Gesamtstichprobe, Geschlechter

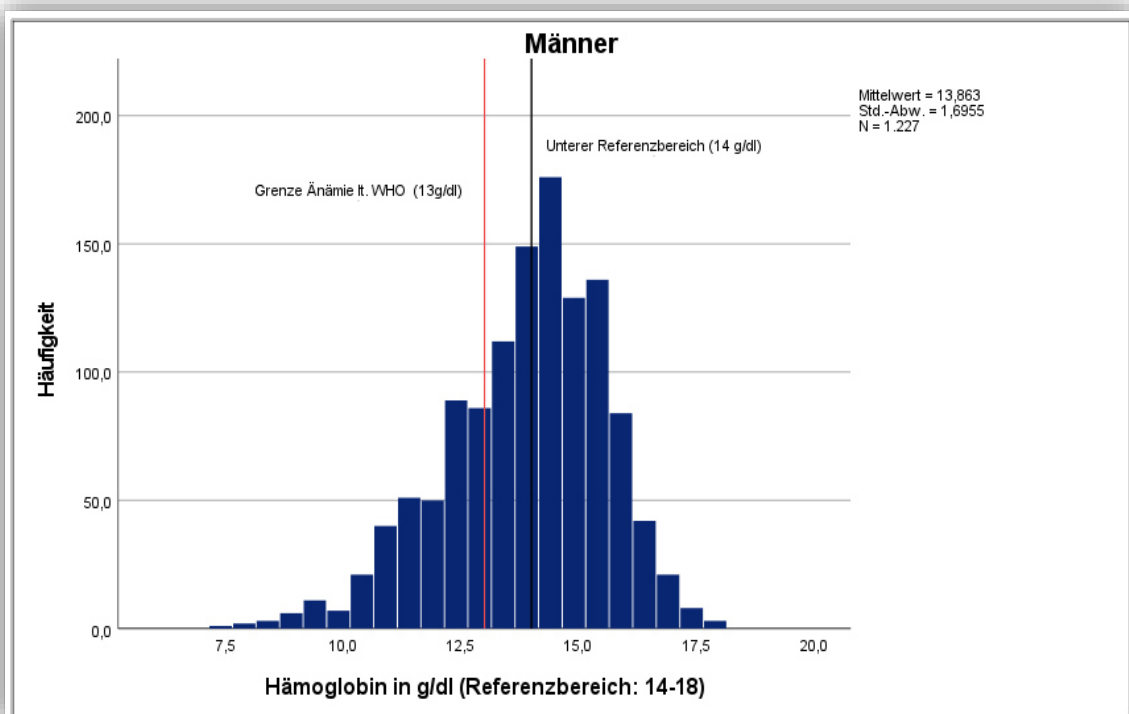
#### 4.1.1. Hämoglobin und Anämie

Durchschnittlich lag der Hämoglobinwert bei den Männern bei 13,9 g/dl ( $M = 13,86$ ;  $SD = 1,70$ ) und bei den Frauen bei 13,2 g/dl ( $M = 13,19$ ;  $SD = 1,27$ ).

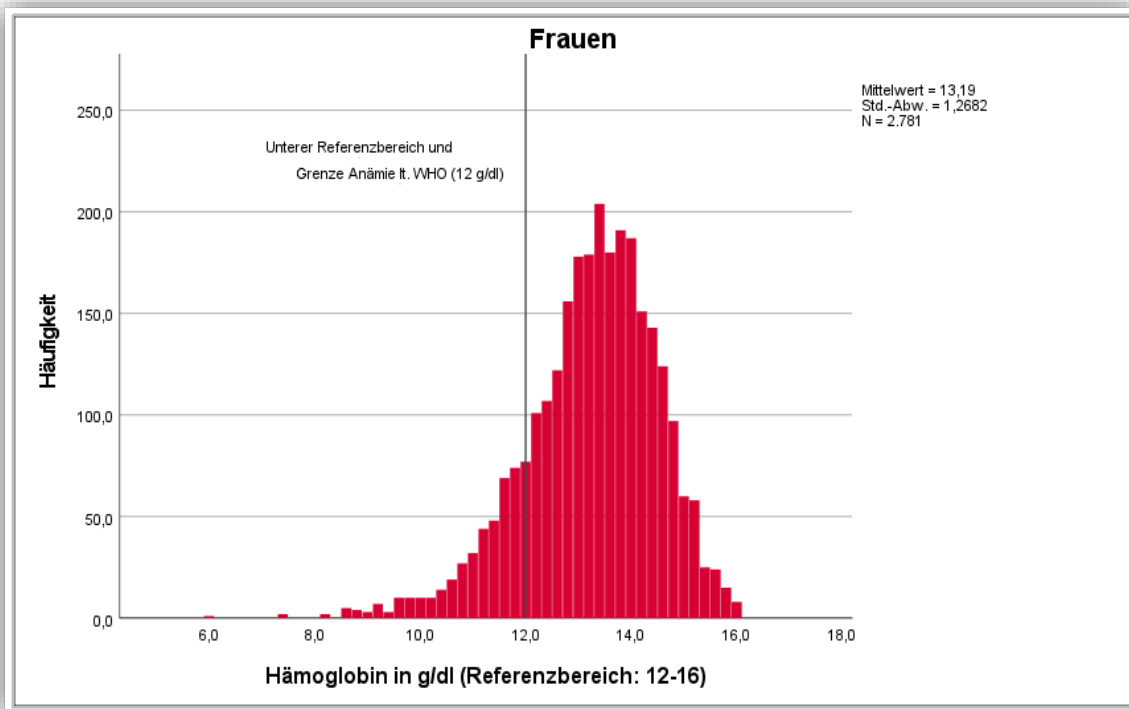
Bei 19,2 % ( $n = 768$  von 4008) lag nach WHO-Kriterien in der Stichprobe eine Anämie vor. Unter den Geschlechtern zeigten sich hier deutliche Unterschiede: Unter den 1227 Männern wiesen 333 einen Hämoglobinwert von unter 13 g/dl auf. Dies entspricht einer Prävalenz von 27,1 % unter der männlichen Stichprobenpopulation. Unter den 2781 Frauen waren es hingegen nur 435, welche einen Hämoglobinwert von unter 12 g/dl hatten. Dies ergibt eine Prävalenz der Anämie von 15,6 % unter der weiblichen Studienpopulation lt. WHO.

Diese Häufung von Anämie unter den Männern in Relation zu den Frauen konnte mittels Pearson-Chi-Quadrat-Test als signifikant bestätigt werden;  $p < 0,001$ .

Eine grafische Darstellung der Hämoglobinkonzentrationen für Männer und Frauen ist folgend in *Abbildung 44* und *Abbildung 55* hinterlegt:



*Abbildung 4: Verteilung Hämoglobin, Männer*



**Abbildung 5: Verteilung Hämoglobin, Frauen**

Im Weiteren waren Männer mit einer Anämie durchschnittlich 77 Jahre alt ( $M = 77,44$ ;  $SD = 8,29$ ). Anämische Frauen hatten hingegen ein durchschnittliches Alter von 80 Jahren ( $M = 80,32$ ;  $SD = 8,52$ ). Bei graphisch ermittelter, sich gleichender Verteilungsform zeigte sich im Mann-Whitney-U-Test ein um drei Jahre signifikant niedrigerer Median des Alters bei den anämischen Männern ( $Mdn = 78,00$ ;  $P25/75 = 71,00/83,00$ ) im Vergleich zu den Frauen mit Anämie ( $Mdn = 81,00$ ;  $P25/75 = 75,00/86,00$ );  $p < 0,001$ .

Im Vergleich zum Durchschnittsalter der Gesamtstichprobe fällt bei beiden Geschlechtern auf, dass das durchschnittliche Alter von anämischen Personen über diesem liegt. Vergleicht man explizit in der Stichprobe das Alter von Personen mit Anämie mit dem Alter von Personen ohne Anämie, so erhält man folgende Werte: Das Alter von Personen mit Anämie betrug im Mittel 79 Jahre ( $M = 79,07$ ;  $SD = 8,54$ ;  $Mdn = 80,00$ ;  $P25/75 = 74,00/85,00$ ) und ohne Anämie rund 74 Jahre ( $M = 73,57$ ;  $SD = 8,29$ ;  $Mdn = 74,00$ ;  $P25/75 = 66,25/79,00$ ). Auch diese Altersdifferenz stellte sich im Mann-Whitney-U-Test als signifikant dar;  $p < 0,001$ .

Dies ließ auf eine Zunahme der Prävalenz von Anämie im Alter schließen. Zur Überprüfung wurde die jeweilige prozentuale Häufigkeit von Anämie pro Altersdekade (und Geschlecht) in der Stichprobe ermittelt und in folgender *Tabelle 8* aufgetragen:

**Tabelle 8: Anämie-Geschlecht-Dekaden**

Alter in Jahren	60 - 69		70 - 79		80 - 89		≥ 90	
Geschlecht	M	W	M	W	M	W	M	W
Anzahl	390	886	482	1048	319	708	36	139
davon Anämie	70	56	120	127	119	192	24	60
% Anämie	17,95	6,3	24,90	12,12	37,30	27,12	66,67	43,17
<b>Summe</b>	<b>1276</b>		<b>1530</b>		<b>1027</b>		<b>175</b>	
<b>davon Anämie</b>	<b>126</b>		<b>247</b>		<b>311</b>		<b>84</b>	
<b>% Anämie</b>	<b>9,88</b>		<b>16,14</b>		<b>30,28</b>		<b>48,00</b>	

Es bestätigte sich, dass der Prozentsatz an anämischen Individuen pro Altersdekade bei beiden Geschlechtern deutlich zunahm. Ebenfalls zeigte sich, wie oben schon für die gesamte Stichprobe beschrieben, auch in den unterschiedlichen Dekaden jeweils eine höhere Prävalenz von Anämie unter den Männern in Relation zu den Frauen. Dies konnte ebenfalls mittels Pearson-Chi-Quadrat-Test statistisch für jede Dekade als signifikant bestätigt werden. In folgender *Tabelle 9* sind die ermittelten Testwerte zu entnehmen:

**Tabelle 9: Chi<sup>2</sup>-Test Anämie-Geschlechter in den Dekaden**

Alter	60 - 69	70 - 79	80 - 89	≥ 90
<b>X<sup>2</sup> (1)</b>	41,144*	39,820*	10,806*	6,327*
<b>p-Wert<sup>*1</sup></b>	< 0,001	< 0,001	0,0010	0,0119

\*Keine der erwarteten Zellhäufigkeiten war kleiner als 5; \*1 Asymptotische Signifikanz (zweiseitig)

Zur näheren Untersuchung der Hypothese eines Zusammenhangs zwischen dem Hämoglobin und dem Alter wurde sich die Verteilung der Variable *Hämoglobin* in den *Dekaden* für beide Geschlechter angesehen. Das *Hämoglobin* lag in allen *Dekaden* annähernd\* normalverteilt vor. Dies konnte grafisch mittels Q-Q-Diagramm und für die Dekade 4 unter den Männern auch mittels Kolmogorov-Smirnov- ( $p = 0,088$ ) und Shapiro-Wilk-Test ( $p = 0,159$ ) nachgewiesen werden. Bei allen anderen Subgruppen war die Stichprobengröße zu hoch, wie eingangs schon kritisch zu den Tests erwähnt, sodass diese fälschlich signifikant wurden, obwohl die grafische Testung in diesen Subgruppen eine Normalverteilung noch deutlicher als für Dekade 4 der Männer durch eben die höhere Stichprobe belegen konnte. Zuletzt erfolge auch die Testung der Residuen auf Normalverteilung für die Männer- und die Frauenstichprobe, wobei sich ebenfalls im Histogramm und im Q-Q-Diagramm eine annähernde Normalverteilung grafisch abbildete. \*(Durch das obligate Ausschlusskriterium von Hämoglobinwerten größer des oberen Referenzbereichs kam es zu einer minimal rechtssteilen Verteilung.)

Im Weiteren konnten vier kritische Ausreißer in den acht Subgruppen - vier Dekaden pro Geschlecht - gefunden werden, jeweils im unteren Wertebereich. Bei den Männern befanden sich zwei der kritischen Werte in Dekade 1 und bei den Frauen je einer der Werte in Dekade 1 und 4. Da es sich um echte Ausreißer handelte, die der Studienfrage dienen und diese in Relation zur jeweiligen Stichprobengröße nur in einer sehr geringen Anzahl vorlagen, war mit keiner signifikanten Verzerrung der Testaussage zu rechnen und sie wurden daher im Datensatz belassen. Zur parametrischen Testung eines Zusammenhangs des Hämoglobins über die Altersdekaden erfolgte eine einfaktorielle ANOVA. Diese stützt sich auf einen Mittelwertvergleich. Varianzhomogenität wurde daher im Vorfeld getestet und konnte für die Stichprobe der Männer im Levene-Test bestätigt werden;  $p = 0,642$ .

Mittels durchgeführter ANOVA konnte über die Dekaden bei den Männern ein signifikanter Mittelwertunterschied des Hämoglobins belegt werden;  $p < 0,001$ . In folgender *Tabelle 10* sind die Mittelwertunterschiede und die weiteren Kenngrößen aufgeführt:

**Tabelle 10: ANOVA Hämoglobin-Dekaden, Männer**

Dekade	<i>n</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	95%-KI
1	390	14,348	1,6403	14,184; 14,511
2	482	13,961	1,5996	13,817; 14,104
3	319	13,300	1,6356	13,120; 13,480
4	36	12,289	1,7728	11,689; 12,889

*M* = Mittelwert; *n* = Stichprobenanzahl KI = Konfidenzintervall; *SD* = Standardabweichung

Im Folgenden wurden zur Prüfung der Signifikanz zwischen allen Dekaden untereinander die Kontraste paarweise getestet. Es zeigte sich hier unter allen Dekaden ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte des Hämoglobins. Gemäß Hypothese nahmen die Mittelwerte des Hämoglobins von Dekade 1 bis 4 ab. Näheres ist der *Tabelle 11* zu entnehmen:

**Tabelle 11: Kontraste ANOVA Hämoglobin-Dekaden, Männer**

Zw. Dekade	<i>M<sub>Diff.</sub></i>	<i>p-Wert*</i>	95%-KI
1 und 2	- 0,387	< 0,001	- 0,606; - 0,170
1 und 3	- 1,047	< 0,001	- 1,288; - 0,806
1 und 4	- 2,059	< 0,001	- 2,615; - 1,503
2 und 3	- 0,660	< 0,001	- 0,891; - 0,430
2 und 4	- 1,672	< 0,001	- 2,223; - 1,120
3 und 4	- 1,011	< 0,001	- 1,573; - 0,450

\*zweiseitig; KI = Konfidenzintervall; *M<sub>Diff.</sub>* = Mittelwertdifferenz

Bei den Frauen lag jedoch Varianzheterogenität vor;  $p < 0,001$ . Es erfolgte daher die Auswertung anhand Welch-ANOVA für unterschiedliche Varianzen. Auch hier konnte ein signifikanter Unterschied der Mediane des Hämoglobins über die Dekaden nachgewiesen werden;  $p < 0,001$ . In folgender *Tabelle 12* sind die Mittelwertunterschiede und weitere Kenngrößen aufgeführt:

**Tabelle 12: ANOVA Hämoglobin-Dekaden, Frauen**

Dekade	<i>n</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	95%-KI
1	886	13,553	1,0696	13,483; 13,624
2	1048	13,292	1,1778	13,220; 13,363
3	708	12,780	1,3603	12,679; 12,880
4	139	12,186	1,5014	11,934; 12,437

KI = Konfidenzintervall; *M* = Mittelwert; *n* = Stichprobenanzahl; *SD* = Standardabweichung

Auch für die Frauen wurden im Anschluss die Kontraste, jedoch für ungleiche Varianzen, berechnet. Es zeigten sich auch hier signifikante Mittelwertunterschiede unter allen Dekaden, siehe folgende *Tabelle 13*:

**Tabelle 13: Kontraste ANOVA Hämoglobin-Dekaden, Frauen**

Zw. Dekade	<i>M<sub>Diff.</sub></i>	<i>p</i> -Wert*	95%-KI
1 und 2	- 0,261	< 0,001	- 0,362; - 0,161
1 und 3	- 0,773	< 0,001	- 0,896; - 0,651
1 und 4	- 1,368	< 0,001	- 1,629; - 1,106
2 und 3	- 0,512	< 0,001	- 0,635; - 0,389
2 und 4	- 1,106	< 0,001	- 1,368; - 0,845
3 und 4	- 0,594	< 0,001	- 0,865; - 0,323

\*zweiseitig; *M<sub>Diff.</sub>* = Mittelwertdifferenz; KI = Konfidenzintervall

Somit konnte statistisch signifikant nachgewiesen werden, dass die mittlere Hämoglobinkonzentration pro Altersdekade bei beiden Geschlechtern abnimmt, was auf einen linearen Zusammenhang vom Hämoglobin mit dem Alter schließen ließ.

Zur abschließenden Testung erfolgte daher die Durchführung einer Pearson-Produkt-Moment-Korrelation für jedes Geschlecht mit dem *Alter* direkt als metrische Variable. Alle Werte sind folgender *Tabelle 14* zu entnehmen:

**Tabelle 14: Korrelation Hämoglobin-Alter**

<b>Männer Hb-Alter</b>	<b>Koeffizient <math>r</math></b>	<b><math>p</math>-Wert*</b>	<b>95%-KI</b>
Pearson-R	- 0,284	< 0,001	- 0,335; - 0,232
<b>Frauen Hb-Alter</b>	<b>Koeffizient <math>r</math></b>	<b><math>p</math>-Wert*</b>	<b>95%-KI</b>
Pearson-R	- 0,300	< 0,001	- 0,333; - 0,266

\*zweiseitig; Hb = Hämoglobin; KI = Konfidenzintervall

Es konnte somit für beide Geschlechter eine signifikante Korrelation des Hämoglobins mit dem Alter nachgewiesen werden.

Um Hinweise zu den Ursachen, der in der Stichprobe gefundenen Anämien, ableiten zu können, wurde das MCV und MCH der 768 Labore näher betrachtet. Folgende *Tabelle 15* zeigt deren jeweilige Zuordnung:

**Tabelle 15: Erythrozytenindices der Anämien**

	<b>MCH &lt; 28 pg</b>	<b>MCH 28 – 32 pg</b>	<b>MCH &gt; 32 pg</b>	<b>Summe</b>
<b>MCV &lt; 80 fl</b>	23	0	0	<b>23</b>
<b>MCV 80 - 96 fl</b>	89	436	28	<b>553</b>
<b>MCV &gt; 96 fl</b>	0	83	109	<b>192</b>
<b>Summe</b>	<b>112</b>	<b>519</b>	<b>137</b>	<b>768</b>

MCH = mean corpuscular haemoglobin; MCV = main corpuscular volume

Unter den 768 Fällen mit Anämie stellten sich 23 Fälle (rund drei Prozent) mit einer mikrozytären hypochromen Anämie dar, z. B. als klassische Konstellation bei Eisenmangel. 109 Fälle (14,2 %) präsentierten sich makrozytär hyperchrom wie z. B. bei der Vitamin B<sub>12</sub>-/Folsäureanämie. Der Großteil der gefundenen Anämien war jedoch normozytär und normochrom bei einer Fallzahl von 436 (56,7 %). 200 Fälle (26,0 %) lassen sich keiner klassischen Konstellation zuordnen. Hierbei waren 89 normozytär hypochrome Anämien, 28 normozytär hyperchrome und 83 Fälle normochrome makrozytäre Anämien. Die hohe Anzahl normozytärer und nicht klassisch zuordenbarer Anämien könnte die Annahme zur multifaktoriellen Genese der Anämie im Alter unterstützen, indem bei diesen Fällen ggf. eine Kombination von Eisen- und Vitaminmangel bzw. mit anderen Faktoren, wie einer renalen Anämie oder ACD, vorgelegen haben könnte.

Zusammenfassung: In der Stichprobe lag bei 19,2 % aller Personen laut WHO eine Anämie vor. Bei den Männern hatten 27,1 %, bei den Frauen nur 15,6 % in der Stichprobe eine Anämie. Hierbei waren Männer mit Anämie signifikant jünger als anämische Frauen und bei beiden



Geschlechtern konnte festgestellt werden, dass Menschen mit Anämie signifikant älter waren als Personen ohne Anämie. Es ließ sich im Weiteren bei beiden Geschlechtern eine Zunahme der Anämieprävalenz über die Altersdekaden feststellen und es zeigte sich sowohl für Männer als auch für Frauen eine signifikante Abnahme des Hämoglobins mit zunehmendem Alter. Der überwiegende Anteil (56,7 %) der gefundenen Anämien war normozytär, normochrom.

#### 4.1.2. Nierenfunktion

In der Stichprobe lag im Mittel eine GFR von 62 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ( $M = 62,19$ ;  $SD = 22,74$ ;  $Mdn = 65,00$ ;  $P25/75 = 47,00/80,00$ ) vor; bei Männern von 59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ( $M = 59,11$ ;  $SD = 24,87$ ) und bei den Frauen von 64 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ( $M = 63,55$ ;  $SD = 21,60$ ). Dieser Unterschied unter den Geschlechtern stellte sich im Mann-Whitney-U-Test bei sich gleichender Verteilung als signifikant dar: Männer ( $Mdn = 63,00$ ;  $P25/75 = 41,00/80,00$ ) hatten gegenüber Frauen ( $Mdn = 66,00$ ;  $P25/75 = 49,00/80,00$ ) einen signifikant niedrigeren Median der GFR;  $p < 0,001$ . Die GFR lag in der Stichprobe verteilungsfrei vor, sodass auf einen nicht-parametrischen Test zurückgegriffen werden musste.

Eine genaue Auswertung der geschlechtlichen Verteilung der GFR nach allgemein gültigen Stadien gemäß Kidney Disease Outcome Quality Initiative (KDOQI) ist in der folgenden *Tabelle 16* abgebildet:

*Tabelle 16: KDOQI-Stadien-Geschlechter-Alter*

KDOQI*	St. 1		St. 2		St. 3		St. 4		St. 5	
	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W
Anzahl	122	356	550	1330	388	878	90	160	77	57
%	9,94	12,80	44,83	47,83	31,62	31,57	7,34	5,75	6,28	2,05
Ø Alter	65,44	65,20	73,29	73,44	78,11	79,00	78,19	81,69	74,06	77,67
Summe	478		1880		1266		250		134	
Ges. %	11,93		46,91		30,59		6,24		3,34	

\*Stadien der GFR [ml/min/1,73m<sup>2</sup>] n. KDOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative): 1 =  $\geq 90$ ; 2 = 60 - 89; 3 = 30 - 59; 4 = 15 - 29; 5 =  $< 15$

Somit hatten ca. 58,8 % der Studienpopulation eine normale bis moderat eingeschränkte Nierenfunktion mit einer GFR von  $\geq 60$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>. 41,2 % hingegen wiesen eine signifikante Einschränkung ihrer Nierenfunktion mit einer GFR von  $< 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> auf, wovon 3,3 % ins Stadium der terminalen Niereninsuffizienz fielen. In den Stadien der schweren Einschränkung der Nierenfunktion 4 und 5 stellte sich prozentual eine höhere Prävalenz unter den Männern dar, im Gegenzug dominieren im Stadium 1 und 2 leicht die Frauen und im Stadium 3 liegt der Scheitelpunkt mit einem ungefähr ausgeglichenen Geschlechterverhältnis.

Die unterschiedliche Häufigkeitsverteilung der Geschlechter über die Stadien stellte sich im Chi-Quadrat-Test als signifikant dar;  $p < 0,001$ . Jedoch konnte im Post-hoc-Test unter Bonferroni-Korrektur nachgewiesen werden, dass die über den Chi-Quadrat-Test als signifikant ermittelte Abhängigkeit nur auf der Differenz im Stadium 5 basiert (grün hervorgehoben). Nur hier wurde das bei Mehrfachtestung auf 0,01 korrigierte  $\alpha$ -Fehlerniveau unterschritten. Nur für Stadium 5 sind somit statistisch signifikant weniger Frauen und gleichzeitig mehr Männer in der Stichprobe vertreten gewesen als in den anderen Stadien, siehe *Tabelle 17*:

**Tabelle 17: Post-hoc  $\chi^2$ -Test KDOQI-Geschlecht**

KDOQI-Stadium*	1	2	3	4	5
<b>Männer</b> Anzahl	122	550	388	90	77
Erwartete Anzahl	146	575	387	76	41
<b>Frauen</b> Anzahl	356	1330	878	160	57
Erwartete Anzahl	331	1304	878	174	93
<b>p-Wert</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0794</b>	<b>0,9747</b>	<b>0,0563</b>	<b>&lt; 0,001</b>

\*Stadien der GFR [ml/min/1,73m<sup>2</sup>] n. KDOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative): 1 =  $\geq 90$ ; 2 = 60 - 89; 3 = 30 - 59; 4 = 15 - 29; 5 =  $< 15$

Unter den Geschlechtern lässt sich aus *Tabelle 16* keine unterschiedliche Altersverteilung innerhalb der Stadien erkennen. Über die Stadien lässt sich für beide Geschlechter von Stadium 1 bis 4 eine stete Zunahme des Durchschnittsalters erkennen. Bis dahin ist eine inverse Korrelation der Nierenfunktion mit dem Alter abzuleiten. Im Stadium 5 hingegen fällt das Durchschnittsalter wieder ab. Dies wurde statistisch folgendermaßen untersucht: In einem Kruskal-Wallis-Test ist simultan zum in *Tabelle 16* aufgezeigten Mittelwert auch anhand der Rangzahlen und des Medians ein Anstieg des Alters je KDOQI-Stadium 1 bis 4 sowie ein Abfall vom Stadium 4 auf 5 zu erkennen. Im Boxplot *Abbildung 6* ist dies auch grafisch dargestellt. Der Abfall im Stadium 5 könnte dafürsprechen, dass Personen im Stadium 5 eine geringere Lebenserwartung haben und daher im Durchschnitt nur ein niedrigeres Alter erreichen. Jedoch wird ggf. die Aussage durch die relativ geringe Stichprobengröße in dem Stadium limitiert. Über die Stadien konnte im Kruskal-Wallis-Test eine signifikante Differenz der zentralen Tendenz des Alters insgesamt und zwischen jedem einzelnen Stadium mittels Post-hoc-Testung nachgewiesen werden;  $p < 0,001$ . Lediglich zwischen Stadium 3 und 4 konnte nach Bonferroni-Korrektur keine Signifikanz mehr belegt werden;  $p = 0,131$ . Die Testwerte zur Post-hoc-Testung sind der *Tabelle 18* zu entnehmen:

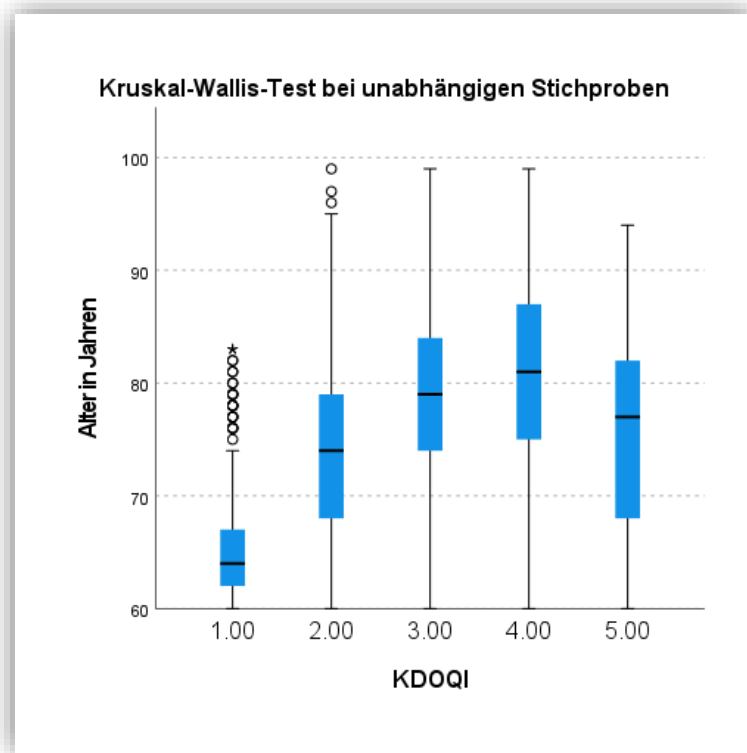


Abbildung 6: Boxplot Alter-KDOQI

Tabelle 18: Post-hoc Kruskal-Wallis-Test Alter-KDOQI

Zw. KDOQI-Stadium*	n	z-Wert	p-Wert* <sup>1</sup>
1 - 2	2358	- 18,630	< 0,001
1 - 5	612	- 12,573	< 0,001
1 - 3	1704	- 29,272	< 0,001
1 - 4	728	- 22,332	< 0,001
2 - 5	2014	- 3,072	0,021
2 - 3	3106	- 16,974	< 0,001
2 - 4	2130	- 11,717	< 0,001
5 - 3	1360	3,770	0,002
5 - 4	384	4,802	< 0,001
3 - 4	1516	- 2,480	0,131

\*Stadien der GFR [ml/min/1,73m<sup>2</sup>] n. KDOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative): 1 = ≥ 90; 2 = 60 - 89; 3 = 30 - 59; 4 = 15 - 29; 5 = < 15; \*<sup>1</sup>asymptotische Signifikanz, zweiseitig; n = Stichprobenanzahl

Der Altersabfall im Stadium 5 nimmt dem Zusammenhang leicht die Linearität. Somit wurden die höchsten Zusammenhangsmaße auch im sigmoidalen Modell gefunden. Es wurden daher nicht-parametrische Korrelationen nach Spearman und Kendall berechnet, welche keine linearen Zusammenhänge voraussetzen. Hier stellte sich eine signifikante Korrelation des Alters mit den KDOQI-Stadien für die Gesamtstichprobe als auch für Männer und Frauen getrennt betrachtet dar;  $p < 0,001$ . In folgender *Tabelle 19* die ermittelten Daten:

**Tabelle 19: Korrelation KDOQI-Alter**

<b>Gesamt KDOQI-Alter</b>	<b>Koeffizient <math>\tau / \rho</math></b>	<b><i>p</i>-Wert*</b>	<b>95%-KI</b>
Kendall-Tau-b	0,370	< 0,001	0,352; 0,387
Spearman-Rho	0,462	< 0,001	0,437; 0,487
<b>Männer KDOQI-Alter</b>	<b>Koeffizient <math>\tau / \rho</math></b>	<b><i>p</i>-Wert*</b>	<b>95%-KI</b>
Kendall-Tau-b	0,285	< 0,001	0,251; 0,319
Spearman-Rho	0,362	< 0,001	0,311; 0,411
<b>Frauen KDOQI-Alter</b>	<b>Koeffizient <math>\tau / \rho</math></b>	<b><i>p</i>-Wert*</b>	<b>95%-KI</b>
Kendall-Tau-b	0,410	< 0,001	0,389; 0,430
Spearman-Rho	0,508	< 0,001	0,479; 0,536

\*zweiseitig; KDOQI = Kidney Disease Outcome Quality Initiative; KI = Konfidenzintervall

**Zusammenfassung:** Rund 60 % der Studienpopulation hatten eine normale bis moderat eingeschränkte Nierenfunktion mit einer GFR von  $\geq 60$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Die durchschnittliche GFR der Stichprobe lag bei 62 ml/min/1,73m<sup>2</sup> ( $SD = 22,74$ ). Der Unterschied zwischen den Männern und den Frauen war zwar signifikant, betrug aber für den Median nur 66 vs. 63 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Unter den Geschlechtern zeigten sich für die Verteilung in den KDOQI-Stadien nur für das Stadium 5 signifikant mehr Männer als Frauen. In der Stichprobe ließ sich eine signifikante Zunahme des Alters mit ansteigenden KDOQI-Stadien für beide Geschlechter belegen, jedoch fiel das Durchschnittsalter im KDOQI-Stadium 5 bei beiden Geschlechtern wieder ab. Dennoch ließ sich eine signifikante Korrelation des Alters mit den KDOQI-Stadien belegen.

#### 4.1.3. 25-Hydroxyvitamin D

Der durchschnittliche 25D-Spiegel in der Stichprobe lag bei 64 nmol/l ( $M = 63,90$ ;  $SD = 31,76$ ;  $Mdn = 61,00$ ;  $P25/75 = 41,03/81,40$ ). Bei den Männern lag er im Schnitt bei 61 nmol/l ( $M = 61,13$ ;  $SD = 30,03$ ), bei den Frauen bei 65 nmol/l ( $M = 65,12$ ;  $SD = 32,42$ ) und somit leicht über dem der männlichen Studienpopulation. Die Verteilung des Parameters lag bei beiden Geschlechtern deutlich rechtsschief mit vielen signifikanten echten Ausreißern im

hohen Referenzwertbereich vor. Es wurde daher ein nicht-parametrischer Test angewandt: Im Mann-Whitney-U-Test war der Median der Männer ( $Mdn = 57,80$ ,  $P_{25/75} = 39,00/76,80$ ) des 25D-Spiegels signifikant niedriger als der der Frauen ( $Mdn = 62,40$ ,  $P_{25/75} = 41,85/83,50$ );  $p < 0,001$ . In folgender *Tabelle 20* sind die 25D-Spiegel von Männern und Frauen nach IOM-Kriterien sowie das durchschnittliche Alter je Gruppe aufgeführt:

**Tabelle 20: 25D-Spiegel-Geschlechter**

25D nmol/l	< 30		30 - < 50		50 - < 75		75 - < 125		≥ 125	
Geschlecht	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W
Anzahl	167	359	299	585	430	895	284	827	47	115
%	13,61	12,90	24,37	21,04	35,05	32,18	23,15	29,74	3,83	4,14
Ø Alter	74,83	77,44	73,70	73,97	74,23	73,46	75,31	75,10	74,51	76,69
Summe	526		884		1325		1111		162	
Ges. %	13,12		22,06		33,06		27,72		4,04	

25D = Calcidiol

Das durchschnittliche Alter ließ keine signifikante Tendenz einer Zunahme des 25D-Mangels im Alter erkennen und verhielt sich unter den Geschlechtern ähnlich. Rund 35,2 % wiesen in der Gesamtstichprobe einen Mangel an 25D von  $< 50$  nmol/l auf. Ein weiteres Drittel hatte eine ausreichende 25D-Versorgung von 50 bis  $> 75$  nmol/l und ein weiteres Drittel wies einen optimalen 25D-Spiegel für die Knochengesundheit mit 75 bis  $< 125$  nmol/l auf. Bei knapp über 4 % ließ sich eine Hypervitaminose mit einem Spiegel von  $\geq 125$  nmol/l nachweisen. Unter den Geschlechtern zeigten sich bei Spiegeln von  $< 75$  nmol/l prozentual mehr Männer und  $\geq 75$  nmol/l mehr Frauen in der Stichprobe. Mittels Chi-Quadrat-Test konnte zudem belegt werden, dass Männer in der Stichprobe signifikant häufiger als Frauen einen medizinisch relevanten 25D-Mangel von  $< 50$  nmol/l aufwiesen;  $p = 0,014$  (asymptotische Signifikanz 2-seitig).

#### 4.1.4. 1,25-Dihydroxyvitamin D

In Bezug auf den 1,25D-Status der Studienpopulation lagen nur 410 Werte vor. Hier zeigte sich ein Mittelwert für das 1,25D von 40 pg/ml ( $M = 39,58$ ;  $SD = 19,58$ ;  $Mdn = 37,05$ ;  $P_{25/75} = 26,05/49,43$ ). Bei den 145 Männern in der Stichprobe war der durchschnittliche 1,25D-Spiegel bei 33 pg/ml ( $M = 32,49$ ;  $SD = 14,34$ ;  $Mdn = 29,10$ ;  $P_{25/75} = 22,15/41,25$ ) und bei den 265 Frauen bei 44 pg/ml ( $M = 43,46$ ;  $SD = 20,96$ ;  $Mdn = 41,30$ ;  $P_{25/75} = 29,60/51,50$ ). Wie bei dem 25D wiesen die Frauen ebenfalls beim 1,25D eine im Durchschnitt bessere Versorgungssituation auf als die Männer in der Stichprobe. Näheres in folgender *Tabelle 21*:

**Tabelle 21: 1,25D-Spiegel-Geschlechter**

1,25D pg/ml	< 19,9		19,9 - 79,3		> 79,3	
Geschlecht	M	W	M	W	M	W
Anzahl	27	18	117	234	1	13
%	18,62	6,79	80,69	88,30	0,69	4,91
Summe	45		351		14	
Ges. %	10,98		85,61		3,42	

1,25D = Calcitriol

Der überwiegende Anteil von fast 90 % zeigte einen in der Norm oder oberhalb der Norm liegenden 1,25D-Spiegel. Nur rund 11 % wiesen einen Mangel auf. Hier zeigte sich prozentual ein höherer Männeranteil. Im Normbereich und in der Kategorie über 79,3 pg/ml hingegen dominierten prozentual die Frauen.

Zur statistischen Bestätigung der oben geschilderten Tendenzen wurde ein t-Test durchgeführt. Es lagen zwei signifikante Ausreißer unter den Frauen im Datensatz mit Werten von 162 und 174 pg/ml vor. Der Datensatz wurde um diese zwei Parameter bereinigt, um keine Verzerrung der zentralen Tendenzen zu provozieren. Die zu klärende Fragestellung wurde dadurch nicht beeinflusst. Da weiterhin eine linkssteile Verteilung vorlag, wurde eine Transformation mittels Ziehens der Quadratwurzel durchgeführt. Es zeigte sich danach eine Normalverteilung im Datensatz, sowohl gesamt als auch isoliert für jedes Geschlecht, was statistisch durch den Shapiro-Wilk- und Kolmogorov-Smirnov-Test ( $p > 0,05$ ) sowie auch graphisch mittels Histogramms und Q-Q-Diagramm belegt werden konnte. Zur Prüfung der Varianzhomogenität unter den Stichproben wurde ein Levene-Test durchgeführt, welcher Varianzheterogenität ausschließen konnte;  $p = 0,706$ . Im Anschluss wurde zum Vergleich der Mittelwerte des 1,25D-Spiegels unter den Geschlechtern ein t-Test durchgeführt: Dieser ergab einen statistisch signifikant niedrigeren Mittelwert des 1,25D-Spiegels bei den Männern ( $M = 5,56$ ;  $SD = 1,25$ ) in Relation zu den Frauen ( $M = 6,38$ ;  $SD = 1,37$ );  $p < 0,001$ .

Jedoch konnten durch die Transformation die Testdaten nicht ohne Rückrechnung auf die Mittelwerte übertragen werden. Laut Rasch & Guiard, 2004; Pagano, 2010; Stone, 2010 und Wilcox, 2012 sei der t-Test gegenüber leichten Verletzungen der Normalität ab Stichprobengrößen über 30 recht robust<sup>84-87</sup>. Dies war hier gegeben. Im Levene-Test konnte mit den untransformierten Daten ebenfalls Varianzhomogenität bestätigt werden;  $p = 0,072$ . Auch in dieser Durchführung konnte ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte des 1,25D-Spiegels zwischen den Männern ( $M = 32,49$ ;  $SD = 14,34$ ) und den Frauen ( $M = 42,51$ ;  $SD = 17,97$ ) attestiert werden, wobei die Männer im Durchschnitt einen um 10,03 pg/ml (95%-KI [- 13,44; - 6,62]) niedrigeren Spiegel als die Frauen aufwiesen;  $p < 0,001$ .

Um einem Veto bei unterschiedlichen Stichprobengrößen als Verletzung der Voraussetzungen für einen t-Test vorzubeugen sei der Vollständigkeit halber erwähnt, dass sowohl bei dem transformierten als auch dem Rohdatensatz im Welch-Test Signifikanz nachgewiesen werden konnte;  $p < 0,001$  [*SqrtD125/Cacitriol*].

**Zusammenfassung:** Ähnlich wie bei dem 25D wiesen auch bei dem 1,25D die Frauen eine bessere Versorgungssituation auf. Die Männer hatten im Durchschnitt einen statistisch signifikant um rund 10 pg/ml niedrigeren 1,25D-Spiegel als die Frauen.

#### 4.1.5. Ergebnisübersicht der deskriptiven Statistik

*Tabelle 22: Ergebnisübersicht deskriptive Statistik*

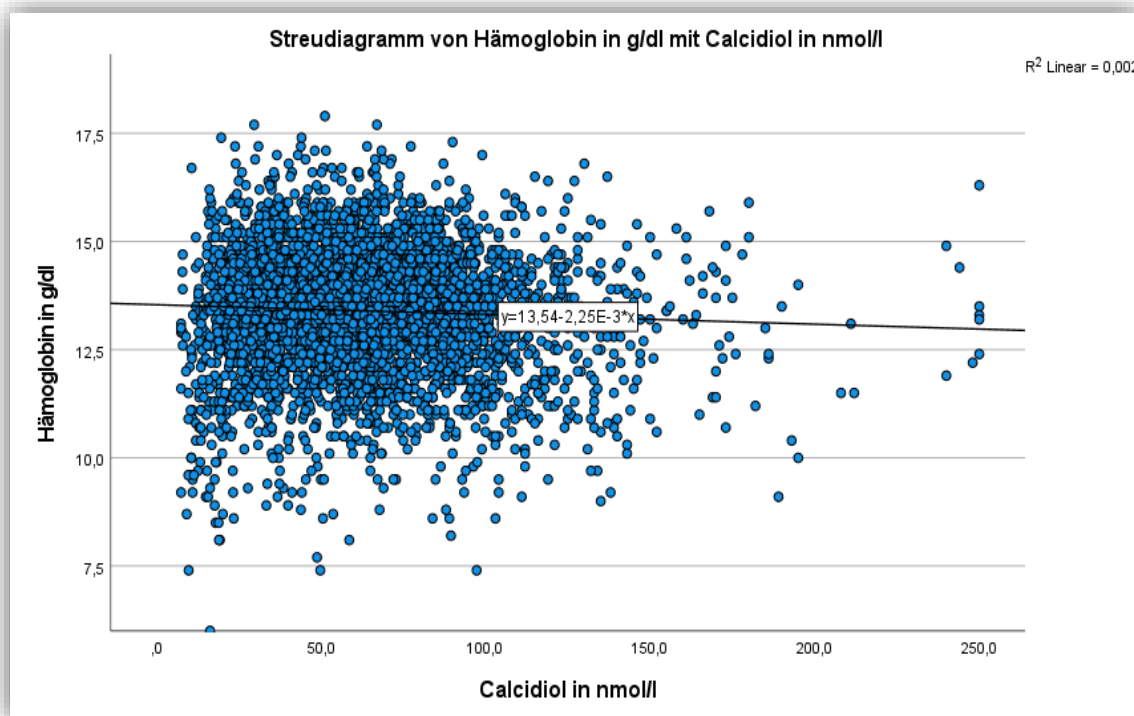
Parameter	%	<i>M +/- SD</i>	<i>Mdn; P25/75</i>	<i>p-Wert</i>
Alter in Jahren (4008)		74,62 +/- 8,61		
Männer (1227)	30,6	74,44 +/- 8,34	75,00; 67,00/81,00	
Frauen (2781)	69,4	74,70 +/- 8,73	75,00; 67,00/81,00	0,563
Hämoglobin in g/dl				
Männer (1227)	30,6	13,86 +/- 1,70		
Frauen (2781)	69,4	13,19 +/- 1,27		
Anämie n. WHO (768/4008)	19,2			
Männer (<13 g/dl) (333/1227)	27,1			
Frauen (<12 g/dl) (435/2781)	15,6			<0,001
GFR in ml/min/1,73m <sup>2</sup> (4008)		62,19 +/- 22,74	65,00; 47,00/80,00	
Männer (1227)	30,6	59,11 +/- 24,87	63,00; 41,00/80,00	
Frauen (2781)	69,4	63,55 +/- 21,60	66,00; 49,00/80,00	<0,001
25D in nmol/l (4008)		63,90 +/- 31,76	61,00; 41,03/81,40	
Männer (1227)	30,6	61,13 +/- 30,03	57,80; 39,00/76,80	
Frauen (2781)	69,4	65,12 +/- 32,42	62,40; 41,85/83,50	<0,001
1,25D in pg/ml (410/4008)	10,23	39,58 +/- 19,58	37,05; 26,05/49,43	
Männer (145)	35,37	32,49 +/- 14,34	29,10; 22,15/41,25	
Frauen (265)	64,63	43,46 +/- 20,96	41,30; 29,60/51,50	<0,001

1,25D = Calcitriol; 25D = Calcidiol; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; *M* = Mittelwert; *Mdn* = Median; *P25/75* = 25-/75-igstes Perzentil; *SD* = Standardabweichung; WHO = World Health Organisation

## 4.2 Studienfrage – Vitamin D und Hämoglobin

### 4.2.1. Assoziation Calcidiol und Hämoglobin

Initial ließ sich auch nach Datentransformation (Logarithmieren, Quadrieren sowie Johnson- und Box-Cox-Transformation) für die Gesamtstichprobe zwischen dem *Calcidiol* und dem *Hämoglobin* kein linearer Zusammenhang darstellen. Es folgte auch für verschiedene Subgruppen (Altersklassen/Dekaden, KDOQI-Stadien, GFR < und  $\geq 60/30/15$  ml/min/173m<sup>3</sup> insgesamt und jeweils für Männer und Frauen getrennt) die Analyse des untransformierten Datensatzes auf einen linearen sowie mittels Kurvenanpassung auch auf einen andersförmigen Zusammenhang zwischen *Hämoglobin* und *Calcidiol* mit jedoch gleichem negativen Ergebnis. Im Streudiagramm *Abbildung 7* ist dies exemplarisch für die Gesamtstichprobe (ohne Transformation) dargestellt:



*Abbildung 7: Streudiagramm Hämoglobin-Calcidiol*

Daraufhin wurden binäre logistische Regressionen für die gesamte Stichprobe und geschlechtergetrennt mit dem 25D und der dichotomen abhängigen Variablen Anämie und im Weiteren auch für die Untergruppen GFR < 60,  $\geq 60$ , < 30,  $\geq 30$  und  $\geq 15$  jeweils für jedes Geschlecht durchgeführt. Im Vorfeld wurde hierfür bei fehlender Linearität, welche mit dem Box-Tidwell-Verfahren überprüft wurde, der metrische Prädiktor *Calcidiol* in fünf Stufen gemäß IOM-Einteilung in ein ordinales Skalenniveau überführt. Somit konnte ebenfalls der Einfluss



von Ausreißern ausgeschlossen werden. Jedoch konnte auch hier mit keiner Untersuchung ein Einfluss des Calcidiols auf das Outcome Anämie belegt werden.

Daher wurde das Skalenniveau weiter zurückgefahren und mittels nicht-parametrischer Verfahren nach signifikanten Häufigkeitsverteilungen gesucht. Hier stellte sich bei der Gesamtstichprobe in einem Chi-Quadrat-Test eine signifikante Assoziation des Auftretens von Anämie bei 25D-Spiegeln von unter 40 nmol/l dar;  $p < 0,001$ . Somit hatten Personen mit einem 25D-Spiegel unter 40 nmol/l um 4,9 % häufiger eine Anämie als Personen mit Spiegeln über 40 nmol/l (22,9 vs. 18,0 %). Betrachtet man Männer und Frauen getrennt, kann jedoch der Zusammenhang nur bei den Frauen nachgewiesen werden (19,9 vs. 14,4 % → 5,5 % häufiger Anämie bei VDM);  $p < 0,001$  [Frauen] vs.  $p = 0,442$  [Männer]. Auch durch Herabsetzen der Schwelle auf unter 30 nmol/l konnte bei den Männern keine signifikante Assoziation nachgewiesen werden;  $p = 0,104$ . Bei den Frauen hingegen stieg der Effekt deutlich an (24,8 % vs. 14,3 %);  $p < 0,001$ . Jedoch konnte bei den Frauen beim Heraufsetzen der Schwelle kein signifikanter Zusammenhang mehr ab einem Spiegel von unter 50 nmol/l gefunden werden;  $p = 0,072$ . Den größten Einfluss scheint somit ein Mangel von 25D ab Spiegeln von unter 30 nmol/l auf das Auftreten einer Anämie bei Frauen zu haben. Hier ist ein Mangel von 25D unter 30 nmol um 10,5 % häufiger mit einer Anämie assoziiert als bei Spiegeln über 30 nmol/l.

Zur Untersuchung des Niereneinflusses auf die zu untersuchenden Parameter wurden sich die zentralen Tendenzen des 25D-Vitamin-Spiegels und des Hämoglobins in den KDOQI-Stadien für Männer und Frauen herangezogen und folgend in der *Tabelle 23* aufgetragen:

**Tabelle 23: Zentrale Tendenzen 25D/Hb in den KDOQI-Stadien**

KDOQI*	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4	St. 5		St. 1	St. 2	St. 3	St. 4	St. 5
<b>25D</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>M</b>		<b>Mdn</b>	<b>Mdn</b>	<b>Mdn</b>	<b>Mdn</b>	<b>Mdn</b>
Männer	60,61	60,32	57,87	62,00	83,18		56,70	57,00	54,60	59,90	81,60
Frauen	62,59	65,05	64,37	67,11	88,45		58,00	63,00	62,50	58,75	90,60
<b>Hb</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>M</b>		<b>Mdn</b>	<b>Mdn</b>	<b>Mdn</b>	<b>Mdn</b>	<b>Mdn</b>
Männer	14,97	14,48	13,49	12,01	11,72		15,10	14,60	13,60	11,85	11,60
Frauen	13,57	13,49	12,99	11,66	11,19		13,60	13,60	13,10	11,70	11,20

\*Stadien der glomerulären Filtrationsrate [ml/min/1,73m<sup>2</sup>] n. KDOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative): 1 = ≥ 90; 2 = 60 - 89; 3 = 30 - 59; 4 = 15 - 29; 5 = < 15; 25D = Calcidiol in nmol/l; Hb = Hämoglobin in g/dl; M = Mittelwert; Mdn = Median

Es zeigte sich für das Calcidiol von Stadium 1 bis 3 für beide Geschlechter kein eindeutiger Trend der zentralen Tendenzen des Calcidiol-Spiegels über die KDOQI-Stadien. Ab Stadium 4 stellt sich jedoch für Männer ein Anstieg von Mittelwert und Median dar, mit einem noch deutlicheren Anstieg auch bei den Frauen zum Stadium 5 hin. Für das Hämoglobin hingegen

ist ein fast kontinuierlicher Abfall vom Mittelwert und Median bei Männern von Stadium 1 und ab Stadium 2 bei den Frauen bis hin zum Stadium 5 zu erkennen.

Zur statistischen Verifizierung, der anhand *Tabelle 23* festgestellten Tendenzen, erfolgte zur Untersuchung des Verdachtes eines linearen Zusammenhangs vom Hämoglobin mit der Nierenfunktion für jedes Geschlecht eine Kendall-Tau- und Spearman-Korrelation mit den KDOQI-Stadien und dem Hämoglobin, welche jeweils eine signifikante Korrelation belegen konnten;  $p < 0,001$ . Die Testwerte sind folgender *Tabelle 24* zu entnehmen:

**Tabelle 24: Korrelation Hämoglobin-KDOQI**

	Hb-KDOQI Männer	Hb-KDOQI Frauen
<b>Kendall-Tau-b</b>	- 0,412	- 0,249
<b>p-Wert*</b>	< 0,001	< 0,001
<b>95%-KI</b>	- 0,442, - 0,380	- 0,272; - 0,226
<b>Spearman-Rho</b>	- 0,522	- 0,319
<b>p-Wert*</b>	< 0,001	< 0,001
<b>95%-KI</b>	- 0,563; - 0,479	- 0,353; - 0,284

\*zweiseitig; Hb = Hämoglobin; KDOQI = Kidney Disease Outcome Quality Initiative; KI = Konfidenzintervall

Im Anschluss wurde für beide Geschlechter eine Regression berechnet, welche jeweils hochsignifikant ausfiel;  $p < 0,001$ . Im Vorfeld wurden Homoskedastizität und normalverteilte Residuen grafisch bestätigt sowie Autokorrelation der Residuen grafisch und mittels Durban-Whatson-Test ausgeschlossen. An echten Ausreißern gab es bei den Frauen zwei und bei den Männern einen, jeweils im unteren Wertebereich des Hämoglobins, welche aber bei der großen Stichprobe nicht ins Gewicht fielen und somit im Modell belassen wurden. Bei den Männern konnten über 30 % und bei den Frauen zumindest rund 16 % der Varianz des Hämoglobins auf die GFR im Modell zurückgeführt werden;  $R^2 = 0,311$  [Männer],  $R^2 = 0,157$  [Frauen]. In folgenden *Tabellen 25* und *26* sind die weiteren Ergebnisse der Analysen hinterlegt:

**Tabelle 25: Regression Hämoglobin-GFR, Männer**

Variable	Unstandardisiert	Standardisiert	Standardfehler
Konstante	11,616*		
GFR	0,038*	0,558*	0,002
R <sup>2</sup>	0,311		
Korr. R <sup>2</sup>	0,310		
F (1; 1225)	552,599*		

\* $p < 0,001$ ; GFR = glomeruläre Filtrationsrate

**Tabelle 26: Regression Hämoglobin-GFR, Frauen**

Variable	Unstandardisiert	Standardisiert	Standardfehler
Konstante	11,711*		
GFR	0,023*	0,396*	0,001
R <sup>2</sup>	0,157		
Korr. R <sup>2</sup>	0,157		
F (1; 2779)	517,440*		

\*p < 0,001; GFR = glomeruläre Filtrationsrate

Da bei den Frauen erst ab Stadium 2 der Abfall des Hämoglobins zu sehen war, entsprach das Modell eher einer kubischen Verteilung, in welcher mittels Modellanpassung ermittelt ein R<sup>2</sup> von 0,206 zu erreichen wäre. Insgesamt zeigte sich sowohl bei den Korrelationen als auch bei der Regression der Einfluss der Nierenfunktion bei den Männern stärker auf das Hämoglobin wirkend als bei den Frauen. So steigt pro eine Einheit GFR das Hämoglobin bei den Männern um 0,038 g/dl und bei den Frauen um 0,023 g/dl an.

Für das Calcidiol konnte über die KDOQI-Stadien anhand *Tabelle 23* hingegen kein linearer Zusammenhang angenommen werden. Hier zeigte sich für beide Geschlechter lediglich zum Stadium 5 hin ein deutlicher Anstieg der 25D-Spiegel, welcher darauf zurück zu führen sein könnte, dass die Vitamin-D-Substitution zur Standardtherapie bei Niereninsuffizienz gehört. Dieser Faktor verzerrt jedoch die zentralen Tendenzen zur Ermittlung der Studienfrage, einer Assoziation vom Calcidiol mit dem Hämoglobin. Daher wurde für die unterschiedlichen Nierenstadien gesondert die Häufigkeitsverteilung mittels Chi-Quadrat-Test für Anämie und 25D-Mangel für beide Geschlechter erneut für die 25D-Cut-offs 30, 40 und 50 nmol/l geprüft. Durch das Ziehen der Cut-offs < 30/40/50 nmol/l werden die unter Vitamin-D-Substitution stehenden, niereninsuffizienten Individuen herausgefiltert, sodass der verzerrende Effekt nicht mehr greifen kann. Die Werte aller Tests inklusive die der Prüfung mit allen KDOQI-Stadien wurden in folgender *Tabelle 27* je Geschlecht aufgetragen. Grün hinterlegt sind die jeweils als signifikant ermittelten Tests, rot, welche die keine Signifikanz erbrachten, fett hervorgehoben sind die jeweiligen Testwerte mit der höchsten Signifikanz in der jeweiligen Rubrik:

**Tabelle 27: Chi<sup>2</sup>-Test Anämie-25D-Rubriken**

<b>Männer</b>		<b>Stadien 1 - 5</b>	<b>Stadien 1 - 4</b>	<b>Stadien 1 - 3</b>	<b>Stadien 1 - 2</b>
<b>U30D25</b>	<b>X<sup>2</sup>(1)*</b>	2,639	<b>7,054</b>	<b>8,244</b>	3,105
	<b>p<sup>*1</sup></b>	0,104	<b>0,008</b>	<b>0,004</b>	0,078
<b>U40D25</b>	<b>X<sup>2</sup>(1)*</b>	0,592	1,974	3,952	<b>6,229</b>

	$p^{*1}$	0,442	0,160	0,047	<b>0,013</b>
<b>U50D25</b>	$X^2(1)^*$	0,523	0,052	0,722	1,221
	$p^{*1}$	0,469	0,819	0,395	0,269
<b>Frauen</b>		<b>Stadien 1 - 5</b>	<b>Stadien 1 - 4</b>	<b>Stadien 1 - 3</b>	<b>Stadien 1 - 2</b>
<b>U30D25</b>	$X^2(1)^*$	<b>26,150</b>	<b>27,705</b>	<b>18,501</b>	5,836
	$p^{*1}$	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	0,016
<b>U40D25</b>	$X^2(1)^*$	11,553	14,076	11,087	<b>11,058</b>
	$p^{*1}$	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>U50D25</b>	$X^2(1)^*$	3,245	5,390	4,089	3,109
	$p^{*1}$	0,072	0,020	0,043	0,078

\*keine der erwarteten Zelhäufigkeiten war kleiner 5; \*<sup>1</sup>asymptotische Signifikanz, zweiseitig; Stadien = Stadien der glomerulären Filtrationsrate n. KDOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative): 1 =  $\geq 90$ ; 2 = 60 - 89; 3 = 30 - 59; 4 = 15 - 29; 5 =  $< 15$ ; U30/40/50D25 = Rubrik Calcidiol  $< 30/40/50$  nmol/l

Es zeigte sich, dass bei beiden Geschlechtern durch Entfernen des Stadiums 5 höhere Signifikanzen hervorgebracht werden konnten als in der Testung mit allen Stadien. Bei den Männern konnte durch zusätzliches Entfernen des Stadiums 4 ein noch leicht höherer Wert erzielt werden. Bei den Frauen war dies nicht der Fall. Bei beiden Geschlechtern waren die höchsten Signifikanzen für die Testungen mit dem Cut-off 25D unter 30 nmol/l zu erzielen. Stufenweise fiel bei den Männern und Frauen die Signifikanz beim Heraufsetzen auf 40 und 50 nmol/l ab. Ausgenommen hiervon waren die ersten beiden KDOQI-Stadien; hier wurden bei beiden Geschlechtern die besten Signifikanzwerte in der Rubrik  $< 40$  nmol/l erzielt.

Der höchste Effekt konnte somit bei den Männern für die KDOQI-Stadien 1 bis 3 festgestellt werden, in welchen ein 25D-Mangel unter 30 nmol/l um 10,2 % häufiger mit einer Anämie assoziiert war als Vitamin D-Spiegel darüber. Bei den Frauen betrug die höchste Assoziation 10,6 % für Spiegel ebenfalls unter 30 nmol/l, jedoch in den KDOQI-Stadien 1 bis 4. Der Unterschied zur Testung aller Stadien war hier somit kaum nennenswert (10,5 %).

Es wurden daraufhin die Punkt-/Streudiagramme der im Chi-Quadrat-Test durchgeführten Tests betrachtet. Zusätzlich wurde für die KDOQI-Stadien 2 und 3 bis 5 untersucht. Deren Bestimmtheitsmaße sind in folgender *Tabelle 28* aufgeführt. Die Untersuchungen für Spiegel  $< 50$  nmol/l wurden eingestellt, da sie in den vorherigen Testungen keinen Wert erbrachten:

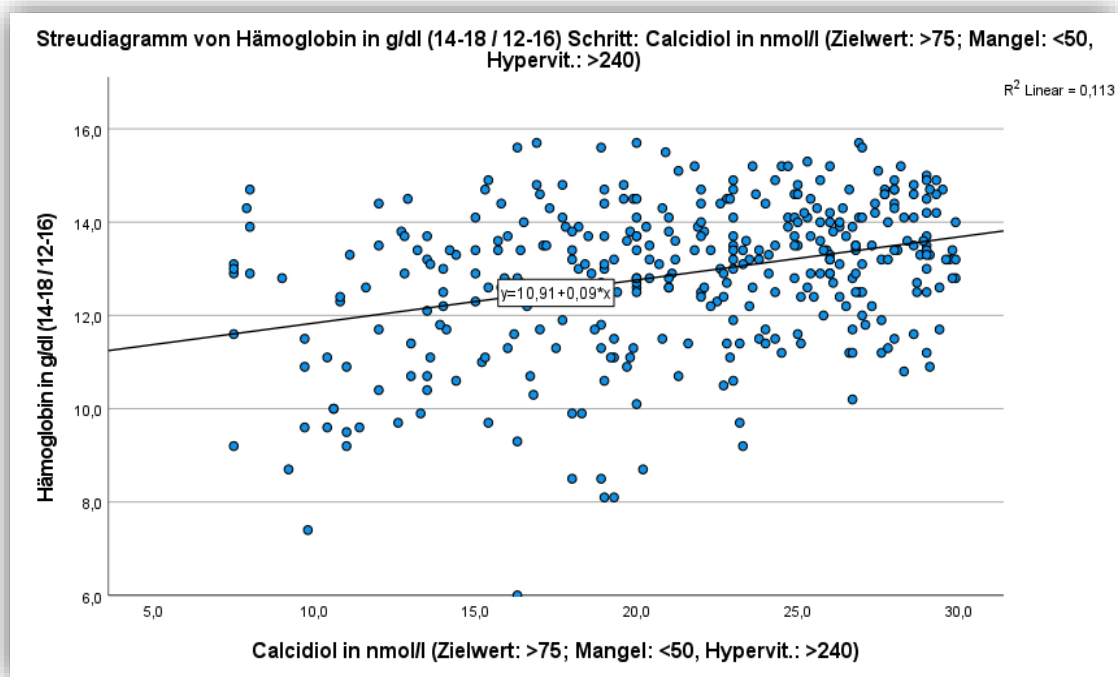
**Tabelle 28:  $R^2$  Hämoglobin-Calcidiol in KDOQI-Stadien**

<b>Männer <math>R^2</math></b>	<b>St. 1 - 5</b>	<b>St. 1 - 4</b>	<b>St. 1 - 3</b>	<b>St. 1 - 2</b>	<b>St. 3 - 5</b>	<b>St. 2 - 5</b>
Hb mit 25D $< 30$	0,038	0,044	0,052	0,023	0,112	0,057
Hb mit 25D $< 40$	0,023	0,034	0,035	0,003	0,040	0,028

Frauen $R^2$	St. 1 - 5	St. 1 - 4	St. 1 - 3	St. 1 - 2	St. 3 - 5	St. 2 - 5
Hb mit 25D < 30	0,113	0,110	0,098	0,124	0,077	0,110
Hb mit 25D < 40	0,065	0,062	0,050	0,021	0,076	0,068

25D = Calcidiol in nmol/l; Hb = Hämoglobin; KDOQI = Kidney Disease Outcome Quality Initiative

In folgender *Abbildung 8* ist das Punkstreudiagramm des Zusammenhangs exemplarisch anhand der Untersuchung der Frauen für die KDOQI-St. 1-5 dargestellt:



**Abbildung 8: Streudiagramm Hb-25D < 30nmol/l, Frauen, KDOQI-St. 1-5**

Bei beiden Geschlechtern konnten die höchsten Bestimmtheitsmaße in den Testen unter der 25D-Schwelle von 30 nmol/l gefunden werden. Bei den Männern ließ sich der stärkste Zusammenhang in den KDOQI-Stadien 3 bis 5 finden, wohingegen die Frauen in den Stadien der „besseren“ Nierenfunktion die höchste Assoziation zeigten. Im Allgemeinen schien der Einfluss der Niere bei den Frauen aber geringer auszufallen.

Anschließend wurde auch noch mittels Kurvenanpassung nach nicht linearen Zusammenhängen in den gesamten Kategorien gesucht, jedoch konnten im kubischen und sigmoidalen Modell nur minimal höhere Effekte gesehen werden, sodass man beim linearen Modell verblieb. Es wurde alleinig mit der Rubrik < 30 nmol/l 25D für beide Geschlechter weiter verfahren und jeweils eine Pearson-Korrelation und anschließend eine lineare Regression für die KDOQI-Stadien 1 bis 5 berechnet. Des Weiteren erfolgten die Berechnungen für die

jeweilige Kategorie mit dem höchsten Bestimmtheitsmaß für jedes Geschlecht. Für die Frauen wurden somit die Stadien 1 bis 2 und für die Männer die Stadien 3 bis 5 analysiert.

Im Vorfeld wurden Homoskedastizität und normalverteilte Residuen grafisch bestätigt sowie Autokorrelation der Residuen grafisch und mittels Durban-Whatson-Test ausgeschlossen. Ausreißer gab es nur einen einzigen bei den Frauen im unteren Wertebereich für die Testung unter den Stadien 1 bis 2. Da dieser nicht ins Gewicht fiel, wurde er im Datensatz belassen.

Über alle KDOQI-Stadien zeigte sich in der Pearson-Korrelation bei den Männern ( $n = 167$ ) ein signifikanter Zusammenhang zwischen Hämoglobin und Calcidiol;  $r = 0,194$  (95%-KI [0,044; 0,336]);  $p = 0,012$  (zweiseitig). Für die Regression zeigten sich folgende Werte:  $F(1; 165) = 6,461$ ;  $R^2 = 0,038$ ;  $p = 0,012$ . Für die Frauen ( $n = 359$ ) hingegen zeigten sich deutlich aussagekräftige Werte in der Korrelation;  $r = 0,336$  (95%-KI [0,241; 0,425]);  $p < 0,001$  als auch in der Regression:  $F(1; 357) = 45,386$ ;  $R^2 = 0,113$ ;  $p < 0,001$ . Die weiteren Testwerte beider Regressionen sind in folgender *Tabelle 29 und 30* aufgeführt:

**Tabelle 29: Regression Hämoglobin-Calcidiol, Männer, KDOQI-St. 1-5**

Variable	Unstandardisiert	Standardisiert	Standardfehler
Konstante	12,129*		
Calcidiol	0,065**	0,194**	0,026
R <sup>2</sup>	0,038		
Korr. R <sup>2</sup>	0,032		
F (1; 165)	6,461**		

\* $p < 0,001$ ; \*\* $p = 0,012$ ; KDOQI = Kidney Disease Outcome Quality Initiative

**Tabelle 30: Regression Hämoglobin-Calcidiol, Frauen, KDOQI-St. 1-5**

Variable	Unstandardisiert	Standardisiert	Standardfehler
Konstante	10,914*		
Calcidiol	0,092*	0,336*	0,014
R <sup>2</sup>	0,113		
Korr. R <sup>2</sup>	0,110		
F (1; 357)	45,386*		

\* $p < 0,001$ ; KDOQI = Kidney Disease Outcome Quality Initiative

Für die Frauen wurde im Weiteren die Rubrik KDOQI-Stadium 1 und 2 ( $n = 180$ ) untersucht. Es zeigte sich in einer Pearson-Korrelation ein signifikanter Zusammenhang zwischen Calcidiol und Hämoglobin bei 25D-Spiegeln unter 30 nmol/l;  $r = 0,353$  (95%-KI [0,218; 0,474]);  $p < 0,001$ . Im Anschluss erfolgte die Berechnung der linearen Regression. Es konnte ein

signifikanter Einfluss des Calcidiols auf das Hämoglobin ab 25D-Spiegeln unter 30 nmol/l belegt werden;  $F(1; 178) = 25,287$ ;  $R^2 = 0,124$ ;  $p < 0,001$ . Die weiteren Testwerte der Regression sind in folgender *Tabelle 31*:

**Tabelle 31: Regression Hämoglobin-Calcidiol, Frauen, KDOQI-St. 1-2**

Variable	Unstandardisiert	Standardisiert	Standardfehler
Konstante	11,650*		
Calcidiol	0,084*	0,353*	0,017
R <sup>2</sup>	0,124		
Korr. R <sup>2</sup>	0,119		
F (1; 178)	25,287*		

\* $p < 0,001$ ; KDOQI = Kidney Disease Outcome Quality Initiative

Für die Männer in den KDOQI-Stadien 3 - 5 konnte ( $n = 96$ ) eine signifikante Korrelation des Hämoglobins mit dem Calcidiol bei Spiegeln unter 30 nmol/l festgestellt werden;  $r = 0,334$  (95%-KI [0,144; 0,501]);  $p < 0,001$ . In der Regression zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Einfluss des Calcidiols auf das Hämoglobin;  $F(1; 94) = 11,843$ ;  $R^2 = 0,112$ ;  $p < 0,001$ . In folgender *Tabelle 32* sind die Werte der Regression aufgeführt:

**Tabelle 32: Regression Hämoglobin-Calcidiol, Männer, KDOQI-St. 3-5**

Variable	Unstandardisiert	Standardisiert	Standardfehler
Konstante	10,663*		
Calcidiol	0,101*	0,334*	0,029
R <sup>2</sup>	0,112		
Korr. R <sup>2</sup>	0,102		
F (1; 94)	11,843*		

\* $p < 0,001$ ; KDOQI = Kidney Disease Outcome Quality Initiative

Wie unter 4.1.1. beschrieben besteht eine schwache Assoziation in der Stichprobe vom Alter mit dem Hämoglobinwert. Zudem korreliert das Hämoglobin deutlich mit der GFR, wobei eine teils starke (Männer) bzw. mittlere (Frauen) Korrelation des Hämoglobins mit der GFR belegt werden konnte. Abschließend wurde eine Rückwärtsregression mit dem *Alter*, dem *Calcidiol* mit Cut-off unter 30 nmol/l und der *GFR* als Prädiktoren für das *Hämoglobin* für beide Geschlechter durchgeführt. Multikollinearität wurde mittels VIF-/Toleranz-Testung ausgeschlossen, da unter 4.1.2 auch eine signifikante Korrelation des Alters mit der GFR belegt werden konnte. Es zeigte sich, dass nur bei den Frauen das *Alter* noch knapp signifikant blieb und dies auch nur mit einem minimalen Einfluss. Bei den Männern hatte das Alter keinen

signifikanten Einfluss, nur das *Calcidiol* und die *GFR* zeigten sich im Modell als signifikant. Ohne Cut-off des 25Ds unter 30 nmol fällt hingegen das *Calcidiol* bei beiden Geschlechtern aus der Signifikanz und nur die *GFR* und das *Alter* verbleiben im Modell. Somit kann man zusammenfassen, dass dem Alter lediglich ein sehr geringer Einfluss auf das Hämoglobin in der Stichprobe zugesprochen werden kann. Die GFR hat hingegen auch bei 25D-Spiegeln unter 30 nmol/l einen signifikanten Einfluss auf den Hämoglobinwert. Das Calcidiol hatte im Modell den höchsten Einfluss je Zunahme pro Einheit auf den Hämoglobinwert, jedoch nur ab einem Mangel von < 30 nmol/l. In folgenden *Tabellen 33 - 36* sind die Ergebnisse der Regressionen im Detail aufgeführt:

**Tabelle 33: Regression-Rückwärts Hämoglobin-GFR/Alter/25D < 30 nmol/l, Männer**

Variable	Modell 1			Modell 2		
	Unstandard.	Standard.	SE	Unstandard.	Standard.	SE
Konstante	10,192*			9,593*		
Calcidiol	0,090*	0,267*	0,023	0,091*	0,270*	0,023
GFR	0,035*	0,475*	0,005	0,036*	0,487*	0,005
Alter	-0,007**	-0,036**	0,014	entf.	entf.	entf.
R <sup>2</sup>	0,270			0,269		
Korr. R <sup>2</sup>	0,256			0,260		
F (df1; df2)	20,065* / <sup>1</sup>			30,110* / <sup>2</sup>		

\*p < 0,001; \*\*p = 0,017; <sup>1</sup>F (3; 163); <sup>2</sup>F (2; 164); 25D = Calcidiol; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; SE = standard error

**Tabelle 34: Regression-Rückwärts Hämoglobin-GFR/Alter/25D < 30 nmol/l, Frauen**

Variable	Modell 1			Modell 2		
	Unstandard.	Standard.	SE	entf.		
Konstante	11,436*					
Calcidiol	0,071*	0,259*	0,013			
GFR	0,025*	0,364*	0,003			
Alter	-0,020**	-0,109**	0,009			
R <sup>2</sup>	0,286					
Korr. R <sup>2</sup>	0,280					
F (3; 355)	47,329*					

\*p < 0,001; \*\*p = 0,032; 25D = Calcidiol; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; SE = standard error



**Tabelle 35: Rückwärts-Regression Hämoglobin-GFR/Alter /25D ohne Cut-off, Männer**

Variable	Modell 1			Modell 2		
	Unstandard.	Standard.	SE	Unstandard.	Standard.	SE
Konstante	13,363*			13,341*		
Calcidiol	0,000**	-0,006**	0,001	entf.	entf.	entf.
GFR	0,036*	0,521*	0,002	0,036*	0,522*	0,002
Alter	-0,021*	-0,104*	0,005	-0,021*	-0,104*	0,005
R <sup>2</sup>	0,320			0,320		
Korr. R <sup>2</sup>	0,319			0,319		
F (df1; df2)	192,272* / 1			288,602* / 2		

\*p < 0,001; \*\*p = 0,811; <sup>1</sup>F (3; 1223); <sup>2</sup>F (2; 1224), 25D = Calcidiol; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; SE = standard error

**Tabelle 36: Rückwärts-Regression Hämoglobin-GFR/Alter/25D ohne Cut-off, Frauen**

Variable	Modell 1			Modell 2		
	Unstandard.	Standard.	SE	Unstandard.	Standard.	SE
Konstante	13,551*			13,512*		
Calcidiol	0,000**	-0,012**	0,001	entf.	entf.	entf.
GFR	0,019*	0,327*	0,001	0,019*	0,328*	0,001
Alter	-0,021*	-0,143*	0,003	-0,021*	-0,142*	0,003
R <sup>2</sup>	0,173			0,173		
Korr. R <sup>2</sup>	0,172			0,172		
F (df1; df2)	193,269* / 1			289,712* / 2		

\*p < 0,001; \*\*p = 0,485; <sup>1</sup>F (3; 2777); <sup>2</sup>F (2; 2778); 25D = Calcidiol; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; SE = standard error

In der multiplen Regression lässt sich nun bei den Männern in Relation zu den Frauen ein leicht höherer Effekt des 25Ds ab Spiegeln unter 30 nmol/l auf das Hämoglobin ablesen. Auch nahm in diesem Modell im Vergleich zur Testung unter allen KDOQI-Stadien die Signifikanz deutlich zu. Dies lässt auf einen entgegengesetzten Einfluss unter den Geschlechtern von der GFR auf die Assoziation des 25Ds bei Spiegeln unter 30 nmol/l auf das Hämoglobin in der Stichprobe schließen, was auch die divergenten Höhen der Bestimmtheitsmaße in den KDOQI-Stadien schon zeigten.

Zusammenfassung: Im Chi-Quadrat-Test konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Anämie und einem 25D-Mangel für ein Cut-off bei 40 nmol/l bei Frauen, nicht aber bei Männern nachgewiesen werden. Auch durch Herabsetzen der Schwelle auf < 30 nmol/l konnte bei den Männern keine Signifikanz gefunden werden. Bei den Frauen wurde

der Effekt hingegen noch etwas stärker und konnte eine Assoziation des 25D-Mangels mit einer Anämie um 10,5 % in Relation zu 25D-Spiegeln über 30 nmol/l belegen. Für die Männer konnte erst durch Ausschluss des KDOQI-Stadiums 5 eine signifikante Assoziation belegt werden, welche bei zusätzlichem Ausschluss des Stadiums 4 noch an Stärke zunahm. Hier konnte ebenfalls eine um 10,2 % höhere Anämierate bei 25D-Mangel im Gegensatz zu Spiegeln über 30 nmol/l gefunden werden.

Während kein linearer Zusammenhang zwischen 25D- und KDOQI-Stadien belegt werden konnte, nahmen die Hämoglobinspiegel kontinuierlich mit steigenden KDOQI-Stadien ab (Männer von KDOQI 1, Frauen von KDOQI 2) und es ließ sich eine signifikante Assoziation des Hämoglobins mit der GFR für beide Geschlechter belegen.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem 25D und dem Hämoglobin konnte für 25D-Werte < 30 nmol/l bei Männern und Frauen gefunden werden;  $F(1; 165) = 6,461$ ;  $R^2 = 0,038$ ;  $p = 0,012$ ; bzw.  $F(1; 357) = 45,386$ ;  $R^2 = 0,113$ ;  $p < 0,001$ . Für die Männer bestand jedoch die mit Abstand höchste Assoziation in den KDOQI-Stadien 3 bis 5;  $F(1; 94) = 11,843$ ;  $R^2 = 0,112$ ;  $p < 0,001$ . Für die Frauen konnte in dieser Subgruppe nur eine schlechtere Übereinstimmung belegt werden. Diese hingegen profitierten gerade durch Ausschluss der KDOQI-Stadien 3 bis 5 und hatten somit die höchste Assoziation in den Stadien 1 bis 2;  $F(1; 178) = 25,287$ ;  $R^2 = 0,124$ ;  $p < 0,001$ . Jedoch war hier der Effekt der Niere geringer ausgeprägt als bei den Männern. Folglich war für die Männer, aber nicht wesentlich für die Frauen, ein Einfluss der Nierenfunktion auf die Assoziation abzuleiten. Kontrolliert mit dem Alter und der GFR zeigten sich hingegen bei den Männern leicht höhere Effekte des 25Ds pro Anstieg um eine Einheit auf das Hämoglobin in Relation zu den Frauen;  $p < 0,001$  (0,091 g/dl vs. 0,071 g/dl). Dies ließ auf einen gegenläufigen Einfluss der Nierenfunktion unter den Geschlechtern in der Stichprobe auf die Assoziation des 25Ds auf das Hämoglobin bei 25D-Spiegel < 30 nmol/l schließen. Insgesamt konnte bei beiden Geschlechtern ein signifikanter Einfluss des 25Ds auf das Hämoglobin auch unabhängig von der Nierenfunktion bestätigt werden.

#### **4.2.2. Assoziation Calcitriol und Hämoglobin**

Aufgrund des renalen Syntheseweges des 1,25Ds sollte eine Korrelation mit der GFR bestehen. Ebenso konnte unter 4.2.1. bei beiden Geschlechtern ein signifikanter Einfluss der GFR auf das Hämoglobin nachgewiesen werden, wobei dieser bei den Männern stärker als bei den Frauen ausgeprägt war. Dies könnte eine Erklärung für den hohen Anteil der normozytär normochromen Anämien darstellen. Folglich sollte untersucht werden, inwieweit das Calcitriol mit der Niere korreliert. Es erfolgte eine Pearson-Korrelation. Zuvor wurden die zwei, aus vorherigen Analysen schon bekannten, Ausreißer bei den Frauen im oberen Wertebereich des Calcitriols entfernt. Es zeigt sich bei beiden Geschlechtern eine

hochsignifikante Korrelation des Calcitriols mit der GFR. Die Werte sind folgend in *Tabelle 37* aufgeführt:

**Tabelle 37: Korrelation 1,25D-GFR**

	<b>1,25D-GFR Männer</b> n = 145	<b>1,25D-GFR Frauen</b> n = 263
<b>Pearson-R</b>	0,496	0,493
<b>p-Wert*</b>	< 0,001	0,001
<b>95%-KI</b>	0,363; 0,610	0,396; 0,579

\*zweiseitig; 1,25D = Calcitriol; GFR = glomeruläre Filtrationsrate; KI = Konfidenzintervall; n = Stichprobenanzahl

Da das Calcitriol mit der Nierenfunktion korreliert und diese wiederum mit dem Hämoglobin, ist von einer Korrelation des Calcitriols mit dem Hämoglobin auszugehen, welche jedoch primär auf einer renalen Anämie basieren sollte. Dies konnte auch in Folge statistisch gefunden und überwiegend bestätigt werden. Es erfolgte initial die Pearson-Korrelation von Calcitriol mit dem Hämoglobin und in zweiter Instanz die Durchführung einer partiellen Korrelation mit der GFR als Kontrollvariable, in welcher der Effekt des Calcitriols deutlich gemindert wurde. Bei den Männern verlor das Modell sogar die Signifikanz. Die Werte sind in folgender *Tabelle 38* aufgeführt:

**Tabelle 38: Korrelation Hämoglobin-1,25D**

	<b>1,25D-Hb Männer</b> n = 145	<b>1,25D-Hb Frauen</b> n = 263
<b>Pearson-R</b>	0,376	0,342
<b>p-Wert*</b>	< 0,001	< 0,001
<b>95%-KI</b>	0,227; 0,508	0,230; 0,444
partielle Korrelation mit GFR als Kontrollvariable	<b>1,25D-Hb Männer</b> n = 145	<b>1,25D-Hb Frauen</b> n = 263
<b>Pearson-R</b>	0,157	0,171
<b>p-Wert*</b>	0,060	0,005

\*zweiseitig; 1,25D = Calcitriol; Hb = Hämoglobin; KI = Konfidenzintervall; n = Stichprobenanzahl

**Zusammenfassung:** Die initial gefundene signifikante Korrelation des 1,25Ds mit dem Hämoglobin (Männer:  $r = 0,376$ ; 95%-KI [0,227; 0,508];  $p < 0,001$ ; Frauen:  $r = 0,342$ ; 95%-KI [0,230; 0,444];  $p < 0,001$ ) konnte in einer partiellen Korrelation mit der GFR nur bedingt bestehen. In vorliegender Stichprobe konnte eine von der Nierenfunktion unabhängige Assoziation des 1,25Ds mit dem Hämoglobin bei den Frauen nur in einem deutlich reduzierten Umfang gefunden werden. Bei den Männern fiel ein signifikanter Effekt mit der GFR kontrolliert sogar gänzlich weg.

### 4.2.3. Assoziation Calcidiol mit der Erythrozytenverteilungsbreite

Um zur Ursache der gefundenen Assoziation des 25Ds mit dem Hämoglobin Hinweise ableiten zu können, wurde eine Pearson-Korrelation mit dem Calcidiol und der RDW-CV durchgeführt. Hier konnte in der Gesamtstichprobe (Männer und Frauen) schon ab Calcidiolspiegeln unter 75 nmol/l eine hoch signifikante Korrelation nachgewiesen werden, welche bei Spiegeln unter 50 nmol noch an Stärke zunahm. In folgender *Tabelle 39* sind die ermittelten Werte der durchgeführten Pearson-Korrelationen für die verschiedenen Calcidiol-Cut-offs aufgeführt:

**Tabelle 39: Korrelation RDW-25D in 25D-Stufen**

<b>25D</b>	<b>n</b>	<b>Pearson-R</b>	<b>p-Wert*</b>	<b>95%-KI</b>
<b>&lt; 30 nmol/l</b>	54	- 0,304	0,013	- 1,000; - 0,083
<b>&lt; 50 nmol/l</b>	159	- 0,326	< 0,001	- 1,000; - 0,204
<b>&lt; 75 nmol/l</b>	303	- 0,186	< 0,001	- 1,000; - 0,093
<b>ohne Cut-off</b>	433	- 0,012	0,404	- 0,100; 0,068

\*einseitig; 25D = Calcidiol; KI = Konfidenzintervall; n = Stichprobenanzahl; RDW = *red cell distribution width*

Dies könnte somit die Hypothese des durch einen Vitamin-D-Mangel induzierten funktionellen Eisenmangels über die Hepcidin-Ferroportin-Achse stützen. Hierfür sollte das MCV bei einem Vitamin-D-Mangel abnehmen. Eine Anisozytose und somit verbreiterte RDW kommt jedoch auch bei Hämolyse, einer Osteomyelofibrose oder einem Vitamin B12-/Folsäuremangel neben dem Eisenmangel vor. Bei den anderen genannten Optionen ist jedoch das MCV erhöht oder normal. Es wurden daher für den Cut-off 25D < 75 nmol/l jeweils für verschiedene MCV-Bereiche Pearson-Korrelationen durchgeführt. Hier konnte belegt werden, dass die Stärke der Korrelation zwischen der RDW und dem Calcidiol mit sinkendem MCV zunimmt. Die Berechnungen werden in ihrer Aussagekraft durch die geringe Stichprobengröße in den Subpopulationen begrenzt. Weitere Analysen sollten mit einem erweiterten Datensatz zur Bestätigung erfolgen. In *Tabelle 40* sind die Berechnungen zur Übersicht aufgeführt:

**Tabelle 40: Korrelation RDW-25D in MCV-Bereichen**

<b>MCV in fl</b>	<b>n</b>	<b>Pearson-R</b>	<b>p-Wert*</b>	<b>95%-KI</b>
<b>&gt; 88</b>	259	- 0,148	0,008	- 1,000; - 0,047
<b>&lt; 88</b>	43	- 0,292	0,029	- 1,000; - 0,041
<b>&lt; 87</b>	26	- 0,375	0,030	- 1,000; - 0,051
<b>&lt; 86</b>	17	- 0,549	0,011	- 1,000; - 0,176
<b>&lt; 85</b>	10	- 0,787	0,003	- 1,000; - 0,415

\*einseitig; 25D = Calcidiol; KI = Konfidenzintervall; MCV = *main corpuscular volume*; n = Stichprobenanzahl; RDW = *red cell distribution width*

## 5. Diskussion

Ziel der vorliegenden retrospektiven Querschnittsstudie war die Analyse eines Zusammenhangs zwischen dem Vitamin D-Spiegel und dem Hämoglobinwert bei Patienten im Alter von  $\geq 60$  Jahren unter Berücksichtigung der Nierenfunktion.

Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Anämie und einem 25D-Mangel für Vitaminspiegel unter  $30 \text{ nmol/l}$  bei Frauen nachgewiesen werden. Ein Mangel  $< 30 \text{ nmol/l}$  war zu rund  $11 \%$  häufiger mit einer Anämie assoziiert als 25D-Spiegel über  $30 \text{ nmol/l}$ . Für Männer konnte erst durch Ausschluss des KDOQI-Stadiums 5 eine signifikante Assoziation belegt werden, welche bei zusätzlichem Ausschluss des Stadiums 4 noch an Stärke zunahm, sodass auch bei Männern  $10 \%$  häufiger eine Anämie bei einem 25D-Spiegel von  $< 30 \text{ nmol/l}$  nachgewiesen werden konnte als bei Spiegeln darüber. Für die Frauen konnte durch Ausschluss des letzten KDOQI-Stadiums hingegen nur eine marginale Verbesserung erzielt werden. Bei weiterem Ausschluss des Stadiums 4 nahm der nachzuweisende Effekt sogar wieder ab. Frauen profitierten somit nicht nennenswert von einer Selektion unter den KDOQI-Stadien.

Im Weiteren konnte mittels linearer Regression ein signifikanter Zusammenhang zwischen 25D und Hämoglobin ebenfalls für 25D-Werten  $< 30 \text{ nmol/l}$  bei Männern und Frauen gefunden werden:  $F(1; 165) = 6,461$ ;  $R^2 = 0,038$ ;  $p = 0,012$  bzw.  $F(1; 357) = 45,386$ ;  $R^2 = 0,113$ ;  $p < 0,001$ . Für die Frauen konnte mittels dieses Modells  $11 \%$  der Varianz des Hämoglobins dem Effekt des 25Ds zugesprochen werden. Die Erhöhung des 25Ds um ein  $\text{nmol/l}$  führte so zu einer Verbesserung des Hämoglobins um  $0,092 \text{ g/dl}$ . Bei den Männern hingegen war der Effekt deutlich geringer und betrug nur  $0,065 \text{ g/dl}$ . Das Modell erklärte nur knapp  $4 \%$  der Varianz des Hämoglobins. Es wurden initial alle KDOQI-Stadien getestet. Unter Selektion zeigte sich hingegen für die Männer eine deutlich höhere Assoziation in den KDOQI-Stadien 3 bis 5:  $F(1; 94) = 11,843$ ;  $R^2 = 0,112$ ;  $p < 0,001$ . Diese reichte nun an die Stärke der Frauen heran und übertraf im Effekt auf das Hämoglobin diese sogar mit nun  $0,10 \text{ g/dl}$  pro eine Einheit 25D. Die Frauen zeigten in dieser Subgruppe hingegen das niedrigste Bestimmtheitsmaß aller Testungen unter den KDOQI-Stadien. Diese profitierten gerade durch Ausschluss der KDOQI-Stadien 3 bis 5 und hatten somit die höchste Assoziation in den KDOQI-Stadien der besten Nierenfunktion, KDOQI-Stadium 1 und 2:  $F(1; 178) = 25,287$ ;  $R^2 = 0,124$ ;  $p < 0,001$ . Der Effekt war hier jedoch geringer ausgeprägt als bei den Männern und bemaß sich nur auf  $0,84 \text{ g/dl}$  Hämoglobinsteigerung pro ein  $\text{nmol/l}$  25D. Die Frauen zeigten in allen, bis auf eben genannte Stadien 3 bis 5, durchweg nahezu identische gute Werte der Assoziation, sodass auch hier wieder für die Männer, aber nicht wesentlich für die Frauen, ein Einfluss der Nierenfunktion auf die Assoziation abzuleiten war.

Es erfolgte daher eine multiple Regression mit dem Alter und der GFR um den isolierten Einfluss des 25Ds um die bekannten einflussnehmenden Faktoren kontrolliert bewerten zu können. Hier zeigten sich bei den Männern leicht höhere Effekte des 25Ds pro Anstieg um eine Einheit auf das Hämoglobin in Relation zu den Frauen, zudem nahm das Modell an Signifikanz in Relation zur Testung unter allen KDOQI-Stadien deutlich zu;  $p < 0,001$ . Dies ließ in der Gesamtschau aller Testungen auf einen divergenten Einfluss der Nierenfunktion unter den Geschlechtern in der Stichprobe auf die Assoziation des 25Ds mit dem Hämoglobin bei Spiegeln unter 30 nmol/l schließen. Das Alter hingegen wurde bei den Männern im Modell der multiplen Regression nicht signifikant ( $p = 0,617$ ) und bei den Frauen war der Einfluss zwar noch signifikant, jedoch nur gering mit einer Abnahme des Hämoglobins von 0,02 g/dl pro Jahr Zunahme des Alters;  $p = 0,032$ . Die GFR zeigte sich bei beiden Geschlechtern als signifikanter Einflussfaktor auf das Hämoglobin;  $p < 0,001$ . Die Zunahme einer Einheit der GFR hatte im Modell auf das Hämoglobin bei den Männern den Effekt von 0,035 g/dl und bei den Frauen 0,025 g/dl. Der höchste Effekt im Modell konnte jedoch beim 25D bei Männern als auch Frauen gefunden werden. Die Zunahme eines nmol/l 25D führte bei Männern zu einer Zunahme des Hämoglobins von 0,091 g/dl und bei Frauen von 0,071 g/dl;  $p < 0,001$ . Insgesamt konnte somit bei beiden Geschlechtern ein signifikanter und durchaus bemerkenswerter Einfluss des 25Ds auf das Hämoglobin auch unabhängig von der Nierenfunktion für Vitamin D-Spiegel  $< 30$  nmol/l bestätigt werden.

Inwiefern die unterschiedlichen Assoziationsstärken in den KDOQI-Stadien unter Männern und Frauen einem geschlechtsspezifisch fundierten physiologischen Korrelat begründet sind oder einer zufälligen Verteilung innerhalb der Stichprobe geschuldet war, kann anhand der Daten nicht eruiert werden und obliegt weiterer Untersuchungen zur Klärung der Kausalität.

Für das 1,25D konnte bei den Männern und Frauen initial eine signifikante Korrelation mit dem Hämoglobin gefunden werden, bei partieller Korrelation mit der GFR reduzierte sich der gefundene Effekt bei den Frauen deutlich und bei den Männern konnte kein Zusammenhang mehr signifikant belegt werden. Zusammenfassend war festzustellen, dass unabhängig von der Nierenfunktion für beide Geschlechter keine statistisch aussagekräftige Assoziation des 1,25Ds mit dem Hämoglobin belegt werden konnte.

Zur Klärung der Ursache der gefundenen Assoziation des 25Ds mit dem Hämoglobin erfolgten Korrelationsanalysen mit der RDW. Es stellte sich eine signifikante negative Korrelation des 25Ds mit der RDW ab Spiegeln von  $< 75$  nmol/l 25D heraus ( $p < 0,001$ ), deren Stärke mit abnehmendem MCV zunahm. Dies könnte somit die Hypothese des durch einen Vitamin-D-Mangel induzierten funktionellen Eisenmangels über die Hepcidin-Ferroportin-Achse stützen. Die Studienzahlen waren hier jedoch begrenzt. Diese Ergebnisse sind aber mit einer vorherigen Studie aus den USA vergleichbar. Im Rahmen einer Querschnittsstudie an über

15.000 nicht hospitalisierten Erwachsenen konnte in einer linearen Regression ein umgekehrter Zusammenhang zwischen dem 25D und der RDW nachgewiesen werden. Zudem wurde in einer logistischen Regression ebenfalls der Cut-off für eine erhöhte RDW bei  $\leq 75$  nmol/l 25D gefunden<sup>78</sup>. Dies lässt darauf schließen, dass unsere Ergebnisse, trotz der begrenzten Stichprobe, welche für diese Analyse nur zur Verfügung stand, doch valide Tendenzen wiedergaben.

Ähnliche Studien zur Assoziation zwischen dem Hämoglobinwert und dem Vitamin D in Deutschland konnten hingegen nicht recherchiert werden, welche einen Zusammenhang vom Vitamin D unter Berücksichtigung der Nierenfunktion bei Menschen  $\geq 60$  Jahre zum Thema hatten. Es liegen bislang nur internationale Studien vor, welche jedoch jeweils eine andere Kohorte untersuchten:

So war in einer US-amerikanischen Querschnittsanalyse von 5456 Personen mittels multivariaten logistischen Regressionsmodell kontrolliert für Alter, Geschlecht, Rasse, BMI, CKD, CRP, Ferritin, Vitamin-B12, Folsäure und Serumeisen die Zunahme einer 25D-Einheit (ng/ml) mit einer vier prozentigen Reduktion der Wahrscheinlichkeit einer Anämie verbunden. Außerdem war die Wahrscheinlichkeit für eine Anämie beim Cut-off von  $< 50$  nmol/l 25D doppelt so hoch im Vergleich zu Spiegeln von  $\geq 50$  nmol/l. Hier wurden jedoch Personen ab 17 Jahre untersucht, die Prävalenz von Anämie lag nur bei rund vier Prozent und die von CKD, definiert über einen Albumin-Kreatinin-Quotienten  $\geq 30$  mg/g, war unter zehn Prozent und somit ebenso nicht vergleichbar mit Kohorten älterer Menschen.<sup>25</sup>

In einer anderen Studie unter in einer Gemeinde lebenden australischen Männern im Alter von  $\geq 70$  Jahren wurde in einer Quer- und Längsschnittstudie über fünf Jahre eine Assoziation des 1,25Ds mit Hämoglobin nachgewiesen. Eine initiale Assoziation zwischen dem 25D und dem Hämoglobin verlor die Signifikanz nach Kontrolle mit u.a. der GFR. Die Prävalenz von Anämie, ebenfalls nach WHO-Definition, betrug in dieser Studie 14,6 %. Diese Studie untersuchte somit auch ältere Menschen, jedoch nur Männer einer definierten Region in Australien, wo durch die dort vorherrschende deutlich stärkere Sonneneinstrahlung im Vergleich zu Nordeuropa deren Vitamin D-Spiegel nicht mit Senioren aus Deutschland vergleichbar sein sollte.<sup>28</sup>

Des Weiteren gab es mehrere Studien aus Korea mit Erwachsenen, in welchen ein nicht linearer Zusammenhang vom 25D mit Hämoglobin und ein erhöhtes Risiko von Anämie bei VDM, teilweise nur für Frauen, gefunden werden konnte<sup>88-91</sup>. Hier sind jedoch auch weder die geografischen Gegebenheiten, die Kohorte, noch die untersuchte Ethnie mit einer Studie basierend auf einer Population aus Deutschland vergleichbar. Weitere bekannte Studien zum Thema erfolgten mit Säuglingen, Kindern mit und ohne Niereninsuffizienz und jungen Erwachsenen bis einschließlich 20 Jahre in den USA und Korea<sup>26,27,92,93</sup>.

Die Ätiologie des gefundenen Zusammenhangs zwischen einem VDM und dem Hämoglobin ist bislang noch nicht geklärt. Es liegen verschiedene Erklärungsansätze in der Literatur vor. Das Hepcidin, als Schlüsselenzym der Eisenhämostase, steht hierbei im zentralen Fokus. So wird der Aktivierung von Vitamin D-Rezeptoren die Hemmung der Expression von proinflammatorischen Zytokinen zugesprochen, welche wiederum die Hepcidininduktion unter Entzündung unterdrücken. Andererseits soll die Freisetzung von IL-10 durch Vitamin D gesteigert werden, was sich direkt proliferativ auf Zellen der Erythropoese auswirke.<sup>21</sup>

In einer anderen Studie konnte an Monozyten eine verminderte Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-1 $\beta$  unter Vitamin D Einfluss sowie eine dosisabhängige vermehrte Expression von NRAMP1-mRNA identifiziert werden. Dieses kodiert für einen weiteren Transporter, den endosomalen Eisen-Mangan-Transporter. Der Transport von Eisen aus den Speichern wird durch Vitamin D in Entzündungskonstellationen somit erleichtert und dem Entstehen eines funktionellen Eisenmangels entgegengesteuert.<sup>77</sup>

In einer Folgestudie konnte in vitro in Leberzellen und Monozyten unter Behandlung mit 25D und 1,25D eine direkte Reduktion der Expression von Hepcidin-mRNA nachgewiesen werden. Gleichzeitig wurde die Expression von Ferroportin erhöht und Ferritin nahm in den Zellen ab. In einer darauf aufbauenden Pilotstudie an gesunden Probanden führte die einmalige orale Gabe von 100.000 IE D<sub>2</sub> zu einer 34 prozentigen Reduktion des Hepcidinspiegels nach 24 Stunden.<sup>20</sup>

Da die Bestimmung des Hepcidins im Serum aktuell noch nicht für die Routine zur Verfügung steht, lagen uns leider auch keine Daten zur näheren ätiologischen Klärung der Hypothese vor, welche wir im Rahmen der Sekundärdatenakquirierung miteinschließen hätten können.

Trotz aller bislang vorliegenden Studienergebnisse, welche einen Einfluss von Vitamin D auf den Eisenstoffwechsel nahelegen sowie einen VDM mit dem Auftreten von Anämie in Assoziation bringen, konnte der angenommene Kausalzusammenhang bislang noch nicht abschließend bestätigt werden. Der Vitamin D-Status wird von diversen Faktoren beeinflusst. Darunter sind u.a. die Nierenfunktion, der Ernährungszustand, Grunderkrankungen und Medikation sowie die Sonnenexposition, welche sowohl individuell durch Kleidung oder das Aktivitätenprofil als auch durch die geografisch vorherrschenden Gegebenheiten für die gesamte Studienpopulation einer Region bestimmt wird. Dies kann ggf. für die heterogene Datenlage verantwortlich gemacht werden, die bisher keine generelle Erklärung für die wiederkehrenden Befunde eines VDMs im Zusammenhang mit einer Anämie zulässt.

Im Vergleich zu anderen Studien waren die durchschnittlichen 25D-Spiegel in unserer Studienpopulation mit 63,9 nmol/l höher als die in bislang erhobenen Daten für Deutschland mit 45,6 nmol/l. Auch stellten sich in unserer Studie für Frauen im Vergleich zu den Männern



statistisch signifikant höhere Spiegel dar. In der Vergleichsstudie konnte hingegen kein geschlechtsspezifischer Unterschied in der Versorgungssituation gefunden werden. 61,6 % der Teilnehmer wiesen dort 25D-Spiegel von  $< 50$  nmol/l sowie 30,2 % Werte von  $< 30$  nmol/l auf. Auch diese Rate an VDM war in unserer Population mit 35,2 % und 13,12 % deutlich geringer<sup>31</sup>. Diese Unterschiede könnten auf die Datenauswahl zurückzuführen sein. Während in der Vergleichsstudie eine Bevölkerungsstichprobe gezogen wurde, wurden hier die Daten aus ambulant abgenommenen Routinelaboren gezogen. Diesen Patienten ist somit zumindest überwiegend eine Indikation zu unterstellen, weshalb über eine Blutentnahme die Bestimmung ihres Vitamin D-Spiegels zu erfolgen hatte. Dies kann im besten Fall nur eine Statuserhebung gewesen sein, jedoch kann hier auch eine erfolgte Substitution zur Kontrolle gestanden haben. Somit bringt die initiale Fokussierung zur Bestimmung des Parameters das Potential einer etwaigen Verzerrung der Ergebnisse in Relation zu einer perfekt randomisierten Stichprobe mit sich. Die Anämieprävalenz von rund 20 % war hingegen, trotz der oben genannten möglichen Einschränkungen zur Datenerhebung, in dieser Studie vergleichbar mit vorherigen Studienlagen<sup>3,4</sup>.

Der Vorzug dieser Studie war die erstmalige Untersuchung einer Assoziation von Anämie und VDM unter Berücksichtigung der Nierenfunktion bei Senioren im Alter von  $\geq 60$  Jahren. Weder für Deutschland noch international konnte eine vergleichbare Studie eruiert werden. Besondere Stärke unserer Studie war zudem, dass zur Untersuchung ein sehr großes Kollektiv von  $> 4000$  Daten zur Analyse kam.

Jedoch wies diese Studie auch einige Limitationen auf, die mit Sekundärdatenanalysen einhergehen und zuvor teilweise bereits kurz angeschnitten wurden: Die Daten wurden im Rahmen der Routinediagnostik vor allem aus Hausarztpraxen erhoben. Es konnte daher auch weder für Komorbiditäten noch Medikamente oder Lebensstilfaktoren kontrolliert werden. Auch konnte keine ethnische Zugehörigkeit berücksichtigt werden; die Daten ließen hierzu nur Mutmaßungen zu und konnten somit nicht valide mit einbezogen werden. Die möglichen Wirkungen von Heparin und EPO zum Beleg der Kausalität der Hypothese konnten anhand der Datensätze ebenfalls nicht analysiert werden, da diese Parameter aktuell nicht als Routineparameter in Deutschland zur Verfügung stehen. Das 1,25D konnte nur bei einem kleinen Teil der Studienpopulation erhoben werden, da dieses in einem nur engen Indikationsbereich für Deutschland über die gesetzlichen Krankenkassen abrechenbar ist und daher auch für uns nur begrenzt zur Erhebung zur Verfügung stand. Es konnte ebenso nicht retrospektiv nachvollzogen werden, ob eine Vitamin D-Substitution im Vorfeld erfolgte, welche die Datenlage beeinflusst haben könnte. Ebenso schon kritisch erwähnt, die Einschränkung der Randomisierung der Stichprobendaten durch die zumindest anzunehmende medizinische Indikation zur Blutabnahme.

## 5.1 Schlussfolgerung/Ausblick

Dies ist die erste bekannte Studie aus Deutschland, welche den Zusammenhang zwischen einem VDM und einer Anämie unter Berücksichtigung der Nierenfunktion bei Personen im Alter von  $\geq 60$  Jahren analysiert. Die Ergebnisse deuten auf einen Zusammenhang von Anämie bei VDM hin und könnten somit nahelegen, dass Menschen  $\geq 60$  Jahre in Deutschland ermutigt werden sollten, sich unabhängig von ihrer Nierenfunktion auf Anämie und VDM untersuchen zu lassen. Diese Ergebnisse können die weitere Erforschung der Kausalität zwischen VDM und Anämie unterstützen und klinische Studien zur protektiven Wirkung einer Vitamin-D-Substitution auf Anämie bei älteren Patienten  $\geq 60$  Jahre anregen.

Längsschnittanalysen mit definierten Einschlusskriterien sowie prospektive Fall-Kontroll-Studien sind erforderlich, um zu analysieren, ob die Substitution von 25D den Hämoglobinspiegel erhöhen oder eine prophylaktische Gabe von Vitamin D einer Anämie vorbeugen kann. Ebenfalls bedarf es weiterer Daten zur ätiologischen Klärung des gefundenen Zusammenhangs und der gefundenen geschlechtsspezifischen Unterschiede in Bezug auf den Einfluss der Nierenfunktion auf die Assoziation des 25Ds auf das Hämoglobin.

Zudem scheinen speziell Männer laut ermittelter Studienergebnisse ein besonders hohes Risiko für VDM und Anämie zu haben. Inwieweit dies auf geschlechtsspezifischen pathophysiologischen oder sozioökonomischen Gründen basiert, obliegt ebenfalls weiterer Forschung.

## 6. Literaturverzeichnis

- 1 McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, Benoist B de. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. *Public Health Nutr* 2009; **12**: 444–54.  
<https://doi.org/10.1017/S1368980008002401>.
- 2 Guralnik JM, Eisenstaedt RS, Ferrucci L, Klein HG, Woodman RC. Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood* 2004; **104**: 2263–68.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2004-05-1812>.
- 3 Gaskell H, Derry S, Andrew Moore R, McQuay HJ. Prevalence of anaemia in older persons: systematic review. *BMC Geriatr* 2008; **8**: 1.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2318-8-1>.
- 4 Bach V, Schruckmayer G, Sam I, Kemmler G, Stauder R. Prevalence and possible causes of anemia in the elderly: a cross-sectional analysis of a large European university hospital cohort. *Clin Interv Aging* 2014; **9**: 1187–96.  
<https://doi.org/10.2147/CIA.S61125>.
- 5 Röhrig G, Klossok W, Becker I, Benzing T, Schulz RJ. Prevalence of anemia among elderly patients in an emergency room setting. *Eur Geriatr Med* 2014; **5**: 3–7.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurger.2013.10.008>.
- 6 Zaninetti C, Klersy C, Scavariello C, Bastia R, Balduini CL, Invernizzi R. Prevalence of anemia in hospitalized internal medicine patients: Correlations with comorbidities and length of hospital stay. *European journal of internal medicine* 2018; **51**: 11–17.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejim.2017.11.001>.
- 7 Culleton BF, Manns BJ, Zhang J, Tonelli M, Klarenbach S, Hemmelgarn BR. Impact of anemia on hospitalization and mortality in older adults. *Blood* 2006; **107**: 3841–46.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2005-10-4308>.
- 8 Röhrig G, Gütgemann I, Leischker A, Kolb G. Anämie im Alter – ein geriatrisches Syndrom? : Zweites Positionspapier zur Anämie im Alter der AG Anämie der Deutschen Gesellschaft für Geriatrie. *Z Gerontol Geriatr* 2018; **51**: 921–23.  
<https://doi.org/10.1007/s00391-018-1457-x>.

- 9 Dallman PR, Yip R, Johnson C. Prevalence and causes of anemia in the United States, 1976 to 1980. *Am J Clin Nutr* 1984; **39**: 437–45.  
<https://doi.org/10.1093/ajcn/39.3.437>.
- 10 Joosten E, Pelemans W, Hiele M, Noyen J, Verhaeghe R, Boogaerts MA. Prevalence and causes of anaemia in a geriatric hospitalized population. *Gerontology* 1992; **38**: 111–17.  
<https://doi.org/10.1159/000213315>.
- 11 Robinson B, Artz AS, Culleton B, Critchlow C, Sciarra A, Audhya P. Prevalence of anemia in the nursing home: contribution of chronic kidney disease. *J Am Geriatr Soc* 2007; **55**: 1566–70.  
<https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2007.01389.x>.
- 12 Zakai NA, McClure LA, Prineas R, et al. Correlates of anemia in American blacks and whites: the REGARDS Renal Ancillary Study. *Am J Epidemiol* 2009; **169**: 355–64.  
<https://doi.org/10.1093/aje/kwn355>.
- 13 Patel KV, Harris TB, Faulhaber M, et al. Racial variation in the relationship of anemia with mortality and mobility disability among older adults. *Blood* 2007; **109**: 4663–70.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2006-10-055384>.
- 14 Salive ME, Cornoni-Huntley J, Guralnik JM, et al. Anemia and hemoglobin levels in older persons: relationship with age, gender, and health status. *J Am Geriatr Soc* 1992; **40**: 489–96.  
<https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1992.tb02017.x>.
- 15 Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 2012; **1823**: 1434–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2012.01.014>.
- 16 Valancy D, Blachman-Braun R, Kuchakulla M, Nackeeran S, Ramasamy R. Association between low testosterone and anaemia: Analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey. *Andrologia* 2021; **53**: e14210.  
<https://doi.org/10.1111/and.14210>.
- 17 Latour C, Kautz L, Besson-Fournier C, et al. Testosterone perturbs systemic iron balance through activation of epidermal growth factor receptor signaling in the liver and repression of hepcidin. *Hepatology* 2014; **59**: 683–94.  
<https://doi.org/10.1002/hep.26648>.

- 18 Girelli D, Marchi G, Camaschella C. Anemia in the Elderly. *Hemasphere* 2018; **2**: e40.  
<https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000040>.
- 19 Argento V, Roylance J, Skudlarska B, Dainiak N, Amoateng-Adjepong Y. Anemia prevalence in a home visit geriatric population. *J Am Med Dir Assoc* 2008; **9**: 422–26.  
<https://doi.org/10.1016/j.jamda.2008.03.002>.
- 20 Bacchetta J, Zaritsky JJ, Sea JL, et al. Suppression of iron-regulatory hepcidin by vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 2014; **25**: 564–72.  
<https://doi.org/10.1681/ASN.2013040355>.
- 21 Icardi A, Paoletti E, Nicola L de, Mazzaferro S, Russo R, Cozzolino M. Renal anaemia and EPO hyporesponsiveness associated with vitamin D deficiency: the potential role of inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2013; **28**: 1672–79.  
<https://doi.org/10.1093/ndt/gft021>.
- 22 Del Valle E, Negri AL, Aguirre C, Fradinger E, Zanchetta JR. Prevalence of 25(OH) vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease stage 5 patients on hemodialysis. *Hemodial Int* 2007; **11**: 315–21.  
<https://doi.org/10.1111/j.1542-4758.2007.00186.x>.
- 23 Zaritsky J, Young B, Wang H-J, et al. Hepcidin--a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; **4**: 1051–56.  
<https://doi.org/10.2215/CJN.05931108>.
- 24 Kiss Z, Ambrus C, Almasi C, et al. Serum 25(OH)-cholecalciferol concentration is associated with hemoglobin level and erythropoietin resistance in patients on maintenance hemodialysis. *Nephron Clin Pract* 2011; **117**: c373-8.  
<https://doi.org/10.1159/000321521>.
- 25 Monlezun DJ, Camargo CA, Mullen JT, Quraishi SA. Vitamin D Status and the Risk of Anemia in Community-Dwelling Adults: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2006. *Medicine (Baltimore)* 2015; **94**: e1799.  
<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001799>.
- 26 Altemose KE, Kumar J, Portale AA, et al. Vitamin D insufficiency, hemoglobin, and anemia in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2018; **33**: 2131–36.  
<https://doi.org/10.1007/s00467-018-4020-5>.

- 27 Atkinson MA, Melamed ML, Kumar J, et al. Vitamin D, race, and risk for anemia in children. *J Pediatr* 2014; **164**: 153-158.e1.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.08.060>.
- 28 Hirani V, Cumming RG, Blyth F, et al. Cross-sectional and longitudinal associations between the active vitamin D metabolite (1,25 dihydroxyvitamin D) and haemoglobin levels in older Australian men: the Concord Health and Ageing in Men Project. *AGE* 2015; **37**: 9749.  
<https://doi.org/10.1007/s11357-015-9749-1>.
- 29 Girndt M, Trocchi P, Scheidt-Nave C, Markau S, Stang A. The Prevalence of Renal Failure. Results from the German Health Interview and Examination Survey for Adults, 2008-2011 (DEGS1). *Dtsch Arztebl Int* 2016; **113**: 85–91.  
<https://doi.org/10.3238/arztebl.2016.0085>.
- 30 Hintzpeter B, Mensink GBM, Thierfelder W, Müller MJ, Scheidt-Nave C. Vitamin D status and health correlates among German adults. *Eur J Clin Nutr* 2008; **62**: 1079–89.  
<https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602825>.
- 31 Rabenberg M, Scheidt-Nave C, Busch MA, Rieckmann N, Hintzpeter B, Mensink GBM. Vitamin D status among adults in Germany--results from the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1). *BMC Public Health* 2015; **15**: 641.  
<https://doi.org/10.1186/s12889-015-2016-7>.
- 32 Jorch G, Arenz S, eds. Neonatologie. Die Medizin des Früh- und Reifgeborenen; 187 Tabellen. Stuttgart: Thieme, 2010.
- 33 Horn F, Moc I, Helferich S, eds. Biochemie des Menschen. Das Lehrbuch für das Medizinstudium. Stuttgart: Thieme, 2005.
- 34 Roland Fuchs PS. Hämatologie. Manual zum Mikroskopierkurs. Nora-Verlag GmbH, 2022.
- 35 Watowich SS. Activation of erythropoietin signaling by receptor dimerization. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 1999; **31**: 1075–88.  
[https://doi.org/10.1016/s1357-2725\(99\)00075-8](https://doi.org/10.1016/s1357-2725(99)00075-8).
- 36 Löffler G. Basiswissen Biochemie. Heidelberg: Springer Medizin, 2005.
- 37 Dörner K, ed. Klinische Chemie. Stuttgart: Enke, 1992.
- 38 Herold G. Innere Medizin. Köln: Herold, 2015.
- 39 Silbernagl S, Despopoulos A. Taschenatlas Physiologie. Stuttgart: Thieme, 2007.

- 40 Gressner AM, Arndt T, eds. Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Berlin, Heidelberg: Springer, 2019.
- 41 Gerok W, Huber C, Meinertz T, Zeidler H, eds. Die Innere Medizin. Stuttgart: Schattauer, 2012.
- 42 Gekle M, ed. Taschenlehrbuch Physiologie. Stuttgart: Thieme, 2010.
- 43 Umbreit JN, Conrad ME, Moore EG, Latour LF. Iron absorption and cellular transport: the mobilferrin/paraferitin paradigm. *Semin Hematol* 1998; **35**: 13–26.
- 44 Thomas L. Labor und Diagnose. Frankfurt am Main: Th-Books, 2012.
- 45 Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. Berlin: de Gruyter, 2004.
- 46 Benoist B de. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005 of. WHO Global Database of anaemia. Geneva: World Health Organization, 2008.
- 47 Röhrig G, Rappl G, Vahldick B, Kaul I, Schulz RJ. Serumhepcidin bei Eisenmangelanämie und Anämie chronischer Erkrankungen im geriatrischen Kollektiv. *Z Gerontol Geriatr* 2014; **47**: 51–56.  
<https://doi.org/10.1007/s00391-013-0508-6>.
- 48 Girelli D, Nemeth E, Swinkels DW. Heparin in the diagnosis of iron disorders. *Blood* 2016; **127**: 2809–13.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2015-12-639112>.
- 49 Röhrig G, Hörter M, Becker I, et al. Anemia prevalence and hematologic findings in German geriatric inpatients – results of the prospective cross-sectional multicenter study “GeriAnaemie 2013”. *Eur Geriatr Med* 2016; **7**: 328–32.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurger.2016.02.008>.
- 50 Guralnik J, Ershler W, Artz A, et al. Unexplained anemia of aging: Etiology, health consequences, and diagnostic criteria. *J Am Geriatr Soc* 2022; **70**: 891–99.  
<https://doi.org/10.1111/jgs.17565>.
- 51 Katsumi A, Abe A, Tamura S, Matsushita T. Anemia in older adults as a geriatric syndrome: A review. *Geriatr Gerontol Int* 2021; **21**: 549–54.  
<https://doi.org/10.1111/ggi.14183>.
- 52 Eisenstaedt R, Penninx BWJH, Woodman RC. Anemia in the elderly: current understanding and emerging concepts. *Blood Rev* 2006; **20**: 213–26.  
<https://doi.org/10.1016/j.blre.2005.12.002>.
- 53 Joosten E. Iron deficiency anemia in older adults: A review. *Geriatr Gerontol Int* 2018; **18**: 373–79.  
<https://doi.org/10.1111/ggi.13194>.

- 54 Röhrig G, Gütgemann I, Kolb G, Leischker A. Klinisch-hämatologisches Bild des Vitamin-B12-Mangels im Alter : Zusammenfassende Übersicht zum diesjährigen Symposium der AG Anämie im Alter anlässlich des Jahreskongresses der Deutschen Gesellschaft für Geriatrie in Frankfurt. *Z Gerontol Geriatr* 2018; **51**: 446–52.  
<https://doi.org/10.1007/s00391-018-1410-z>.
- 55 Balducci L, Ershler WB, Krantz S. Anemia in the elderly-clinical findings and impact on health. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006; **58**: 156–65.  
<https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2005.09.003>.
- 56 Gadó K, Khodier M, Virág A, Domján G, Dörnyei G. Anemia of geriatric patients. *Physiol Int* 2022; **109**: 119–34.  
<https://doi.org/10.1556/2060.2022.00218>.
- 57 Röhrig G, Gütgemann I, Kolb G, Leischker A. Anemia in the aged is not ageing related: position paper on anemia in the aged by the "working group anemia" of the German Geriatric Society (DGG). *Eur Geriatr Med* 2018; **9**: 395–97.  
<https://doi.org/10.1007/s41999-018-0048-0>.
- 58 Tavenier J, Leng SX. Inflammatory Pathways to Anemia in the Frail Elderly. *Clinics in geriatric medicine* 2019; **35**: 339–48.  
<https://doi.org/10.1016/j.cger.2019.03.005>.
- 59 Denny SD, Kuchibhatla MN, Cohen HJ. Impact of anemia on mortality, cognition, and function in community-dwelling elderly. *Am J Med* 2006; **119**: 327–34.  
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2005.08.027>.
- 60 Beghé C, Wilson A, Ershler WB. Prevalence and outcomes of anemia in geriatrics: a systematic review of the literature. *Am J Med* 2004; **116 Suppl 7A**: 3S-10S.  
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2003.12.009>.
- 61 Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R. Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. *Am J Clin Nutr* 1998; **68**: 854–58.  
<https://doi.org/10.1093/ajcn/68.4.854>.
- 62 Nykjaer A, Dragun D, Walther D, et al. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell* 1999; **96**: 507–15.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80655-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80655-8).



- 63 Dickens AP, Lang IA, Langa KM, Kos K, Llewellyn DJ. Vitamin D, cognitive dysfunction and dementia in older adults. *CNS Drugs* 2011; **25**: 629–39.  
<https://doi.org/10.2165/11593080-000000000-00000>.
- 64 Barnard K, Colón-Emeric C. Extraskelatal effects of vitamin D in older adults: cardiovascular disease, mortality, mood, and cognition. *Am J Geriatr Pharmacother* 2010; **8**: 4–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.amjopharm.2010.02.004>.
- 65 Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol* 2010; **10**: 482–96.  
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2010.04.001>.
- 66 Barbarawi M, Kheiri B, Zayed Y, et al. Vitamin D Supplementation and Cardiovascular Disease Risks in More Than 83 000 Individuals in 21 Randomized Clinical Trials: A Meta-analysis. *JAMA Cardiol* 2019; **4**: 765–76.  
<https://doi.org/10.1001/jamacardio.2019.1870>.
- 67 Okereke OI, Reynolds CF, Mischoulon D, et al. Effect of Long-term Vitamin D3 Supplementation vs Placebo on Risk of Depression or Clinically Relevant Depressive Symptoms and on Change in Mood Scores: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2020; **324**: 471–80.  
<https://doi.org/10.1001/jama.2020.10224>.
- 68 DGE. Neue Referenzwerte für Vitamin D.  
<https://www.dge.de/presse/pm/neue-referenzwerte-fuer-vitamin-d/> (Zuletzt abgerufen am 11.12.2022).
- 69 RKI. Wie wird der Vitamin-D-Status bestimmt und beurteilt?  
[https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Vitamin\\_D/FAQ07.html](https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Vitamin_D/FAQ07.html) (Zuletzt abgerufen am 11.12.2022)
- 70 Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; **62**: 265–81.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02226.x>.
- 71 MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest* 1985; **76**: 1536–38.  
<https://doi.org/10.1172/JCI112134>.
- 72 Lindeman RD, Tobin J, Shock NW. Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. *J Am Geriatr Soc* 1985; **33**: 278–85.  
<https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1985.tb07117.x>.

- 73 Kupisz-Urbańska M, Łukaszkiwicz J, Marcinowska-Suchowierska E. Vitamin D in Elderly. In: Özdemir Ö, ed. Vitamin D. IntechOpen, 2021.
- 74 Hsu C-Y, McCulloch CE, Curhan GC. Epidemiology of anemia associated with chronic renal insufficiency among adults in the United States: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Soc Nephrol* 2002; **13**: 504–10.  
<https://doi.org/10.1681/ASN.V132504>.
- 75 Nand N, Mittal R. Evaluation of Effect of Vitamin D Deficiency on Anemia and Erythropoietin Hyporesponsiveness in Patients of Chronic Kidney Disease. *J Assoc Physicians India* 2017; **65**: 38–42.
- 76 Qin L-Y, Lin X, Liu J, Dong R, Yuan J, Zha Y. The combination of vitamin D3 and erythropoietin alleviates acute kidney injury induced by ischemia-reperfusion via inhibiting inflammation and apoptosis. *Iran J Basic Med Sci* 2021; **24**: 167–74.  
<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2020.51384.11661>.
- 77 Zughailer SM, Alvarez JA, Sloan JH, Konrad RJ, Tangpricha V. The role of vitamin D in regulating the iron-hepcidin-ferroportin axis in monocytes. *J Clin Transl Endocrinol* 2014; **1**: 19–25.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcte.2014.01.003>.
- 78 Otero TMN, Monlezun DJ, Christopher KB, Camargo CA, Quraishi SA. Vitamin D Status and Elevated Red Cell Distribution Width in Community-Dwelling Adults: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2006. *J Nutr Health Aging* 2017; **21**: 1176–82.  
<https://doi.org/10.1007/s12603-017-0980-6>.
- 79 Sysmex. Die Erythrozytenindizes. *Xtra* 2013; **17.1**: 3–4.  
[https://www.sysmex.de/fileadmin/media/f101/Xtra/Themenblaetter/17.1.04\\_Erythrozytenindizes.pdf](https://www.sysmex.de/fileadmin/media/f101/Xtra/Themenblaetter/17.1.04_Erythrozytenindizes.pdf) (Zuletzt abgerufen am 01.11.2022)
- 80 Sysmex. RDW-SD und RDW-CV:. *Xtra* 2007; **2**: 4.  
[https://www.sysmex.de/fileadmin/media/f101/Xtra/Themenblaetter/11.2.01\\_RDW-SD\\_und\\_RDW-CV\\_RZ\\_Web.pdf](https://www.sysmex.de/fileadmin/media/f101/Xtra/Themenblaetter/11.2.01_RDW-SD_und_RDW-CV_RZ_Web.pdf) (Zuletzt abgerufen am 01.11.2022)
- 81 Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; **150**: 604–12.  
<https://doi.org/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006>.

- 82 Roche Diagnostics. Elecsys Vitamin D total II.  
[https://labogids.sintmaria.be/sites/default/files/files/vit.\\_d\\_total\\_ii\\_2017-11\\_v2.pdf](https://labogids.sintmaria.be/sites/default/files/files/vit._d_total_ii_2017-11_v2.pdf)  
(Zuletzt abgerufen am 13.12.2022)
- 83 Roche Diagnostics. Elecsys Vitamin D total III.  
<https://a.storyblok.com/f/94122/x/2df667ed9a/201808-vitamin-d-total-ii-factsheet.pdf> (Zuletzt abgerufen am 13.12.2022)
- 84 Rasch, D., & Guiard, V. The robustness of parametric statistical methods.  
*Psychology Science* 2004; 175–208.
- 85 Pagano RR. Understanding statistics in the behavioral sciences. Australia, Belmont, CA: Thomson Wadsworth, 2010.
- 86 Wilcox RR. Introduction to robust estimation and hypothesis testing. Amsterdam, Boston: Academic Press, 2012.
- 87 Stone ER, ed. t Test, Paired Samples. Los Angeles: SAGE, 2010.
- 88 Han SS, Kim M, Kim H, et al. Non-linear relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and hemoglobin in Korean females: the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2010-2011. *PLoS ONE* 2013; **8**: e72605.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072605>.
- 89 Shin JY, Shim JY. Low vitamin D levels increase anemia risk in Korean women.  
*Clin Chim Acta* 2013; **421**: 177–80.  
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.02.025>.
- 90 Sim JJ, Lac PT, Liu ILA, et al. Vitamin D deficiency and anemia: a cross-sectional study.  
*Ann Hematol* 2010; **89**: 447–52.  
<https://doi.org/10.1007/s00277-009-0850-3>.
- 91 Yoo E-H, Cho H-J. Prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency in Korean patients with anemia. *J Clin Lab Anal* 2015; **29**: 129–34.  
<https://doi.org/10.1002/jcla.21740>.
- 92 Jin HJ, Lee JH, Kim MK. The prevalence of vitamin D deficiency in iron-deficient and normal children under the age of 24 months. *Blood Res* 2013; **48**: 40–45.  
<https://doi.org/10.5045/br.2013.48.1.40>.
- 93 Lee JA, Hwang JS, Hwang IT, Kim DH, Seo J-H, Lim JS. Low vitamin D levels are associated with both iron deficiency and anemia in children and adolescents.  
*Pediatr Hematol Oncol* 2015; **32**: 99–108.  
<https://doi.org/10.3109/08880018.2014.983623>.

## 7. Anhang

### 7.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Referenzwerte der Anämie n. WHO-Kriterien	25
Tabelle 2: 25D-Referenzwerte n. IOM	38
Tabelle 3: Ein- und Ausschlusskriterien	43
Tabelle 4: Referenzbereiche	43
Tabelle 5: Analysemethoden	44
Tabelle 6: Interferenzen 25D-Assay	47
Tabelle 7: Kreuzreaktivität 25D-Assay	47
Tabelle 8: Anämie-Geschlecht-Dekaden	52
Tabelle 9: Chi <sup>2</sup> -Test Anämie-Geschlechter in den Dekaden	52
Tabelle 10: ANOVA Hämoglobin-Dekaden, Männer	53
Tabelle 11: Kontraste ANOVA Hämoglobin-Dekaden, Männer	53
Tabelle 12: ANOVA Hämoglobin-Dekaden, Frauen	54
Tabelle 13: Kontraste ANOVA Hämoglobin-Dekaden, Frauen	54
Tabelle 14: Korrelation Hämoglobin-Alter	55
Tabelle 15: Erythrozytenindices der Anämien	55
Tabelle 16: KDOQI-Stadien-Geschlechter-Alter	56
Tabelle 17: Post-hoc Chi <sup>2</sup> -Test KDOQI-Geschlecht	57
Tabelle 18: Post-hoc Kruskal-Wallis-Test Alter-KDOQI	58
Tabelle 19: Korrelation KDOQI-Alter	59
Tabelle 20: 25D-Spiegel-Geschlechter	60
Tabelle 21: 1,25D-Spiegel-Geschlechter	61
Tabelle 22: Ergebnisübersicht deskriptive Statistik	62
Tabelle 23: Zentrale Tendenzen 25D/Hb in den KDOQI-Stadien	64
Tabelle 24: Korrelation Hämoglobin-KDOQI	65
Tabelle 25: Regression Hämoglobin-GFR, Männer	65
Tabelle 26: Regression Hämoglobin-GFR, Frauen	66
Tabelle 27: Chi <sup>2</sup> -Test Anämie-25D-Rubriken	66
Tabelle 28: R <sup>2</sup> Hämoglobin-Calcidiol in KDOQI-Stadien	67
Tabelle 29: Regression Hämoglobin-Calcidiol, Männer, KDOQI-St. 1-5	69
Tabelle 30: Regression Hämoglobin-Calcidiol, Frauen, KDOQI-St. 1-5	69
Tabelle 31: Regression Hämoglobin-Calcidiol, Frauen, KDOQI-St. 1-2	70
Tabelle 32: Regression Hämoglobin-Calcidiol, Männer, KDOQI-St. 3-5	70
Tabelle 33: Regression-Rückwärts Hämoglobin-GFR/Alter/25D < 30 nmol/l, Männer	71
Tabelle 34: Regression-Rückwärts Hämoglobin-GFR/ Alter/25D < 30 nmol/l, Frauen	71
	91

Tabelle 35: Rückwärts-Regression Hämoglobin-GFR/Alter /25D ohne Cut-off, Männer	72
Tabelle 36: Rückwärts-Regression Hämoglobin-GFR/Alter/25D ohne Cut-off, Frauen	72
Tabelle 37: Korrelation 1,25D-GFR	74
Tabelle 38: Korrelation Hämoglobin-1,25D	74
Tabelle 39: Korrelation RDW-25D in 25D-Stufen	75
Tabelle 40: Korrelation RDW-25D in MCV-Bereichen	75

## 7.2 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Puffersystem Blut.....	20
Abbildung 2: Testprinzip 25D-Assay.....	46
Abbildung 3: Altersverteilung Gesamtstichprobe, Geschlechter.....	49
Abbildung 4: Verteilung Hämoglobin, Männer.....	50
Abbildung 5: Verteilung Hämoglobin, Frauen .....	51
Abbildung 6: Boxplot Alter-KDOQI.....	58
Abbildung 7: Streudiagramm Hämoglobin-Calcidiol.....	63
Abbildung 8: Streudiagramm Hb-25D < 30nmol/l, Frauen, KDOQI-St. 1-5.....	68

## **8. Vorveröffentlichungen**

### **8.1 Vortrag**

Es wurde ein Vortrag zu den Ergebnissen dieser Studie auf dem Jahreskongress der Deutschen Geriatrie Gesellschaft im Rahmen des Symposiums der Arbeitsgemeinschaft Anämie in Frankfurt am 15.9.2023 um 16:25 - 16:45 im Hörsaal 4 unter dem Titel „Untersuchung zum Zusammenhang zwischen Vitamin D und Hämoglobin unter Senioren“ gehalten.

### **8.2 Publikation**

Schuchart DM, Becker I, Harbeck B, Röhrig G. Association between anemia and vitamin D deficiency in German seniors : A retrospective data analysis. *Z Gerontol Geriatr.* 2024 Nov;57(7):563-568. <https://doi.org/10.1007/s00391-024-02322-3>

Originalien

Z Gerontol Geriat  
<https://doi.org/10.1007/s00391-024-02322-3>  
 Received: 2 January 2024  
 Accepted: 22 May 2024

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature 2024



# Association between anemia and vitamin D deficiency in German seniors

## A retrospective data analysis

Dorothee Magdalena Schuchart<sup>1</sup> · Ingrid Becker<sup>2</sup> · Birgit Harbeck<sup>3,4</sup> · Gabriele Röhrig<sup>5</sup>

<sup>1</sup> amedes medical center for laboratory diagnostics and microbiology Halle/Leipzig GmbH, Halle/Leipzig, Germany

<sup>2</sup> Institute of Medical Statistics and Computational Biology, University Cologne, Cologne, Germany

<sup>3</sup> Germany and III. Department of Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, amedes medical specialist center of endocrinology and osteology, Hamburg, Germany

<sup>4</sup> III. Department of Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

<sup>5</sup> European University of Applied Sciences (EUFH), Cologne, Germany

### Abstract

**Background:** Anemia and deficiency of vitamin D (VDD) are frequently seen in seniors and an association is suspected. Approximately one third of the German population is affected by VDD, with a rising prevalence among seniors.

**Aim:** To analyze the association between anemia and VDD among German seniors aged  $\geq 60$  years.

**Methods:** Retrospective cross-sectional data analysis ( $n = 4008$ ) in a nationwide working laboratory medical center (January–December 2019). Study parameters included amongst others: hemoglobin (Hb), calcifediol (25D) and calcitriol (1.25D), glomerular filtration rate (GFR) to assess the kidney disease outcomes quality initiative (KDOQI) state. The inclusion criteria were age  $\geq 60$  years, normal C-reactive protein (CRP) and leucocyte levels.

**Results:** The 25D was estimated in 4008 patients and 1.25D only in 411 patients. Mean age 75 years ( $\pm 8.61$  years; 60–99 years) with 30.6% males; mean GFR 62 ml/min/1.73 m<sup>3</sup> ( $\pm 22.74$ ); 20% of patients were anemic, 35% were deficient for 25D ( $< 50$  nmol/l), with men  $>$  women ( $p = 0.014$ ). Linear regression analysis revealed a significant effect of 25D values  $< 30$  nmol/l on hemoglobin in males of KDOQI I–III and females of KDOQI I–IV ( $R^2 = 0.052$ ;  $p = 0.005$ ; and  $R^2 = 0.124$ ;  $p < 0.001$ , respectively). For 1.25D a weak but significant effect on hemoglobin independent of KDOQI was only seen in women ( $R^2 = 0.200$ ;  $p = 0.005$ ).

**Conclusion:** In this cohort deficiency of 25D and 1.25D was significantly associated with hemoglobin independent of renal function only in women but not in men.

### Keywords

Hemoglobin · Calciferol · Metabolite · Cholecalciferol · Geriatrics

### Supplementary Information

The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00391-024-02322-3>) contains supplementary material, which is available to authorized users.



Supplementary material online – scan QR code

### Short introduction

Anemia and deficiency of vitamin D (VDD) are frequently seen among older persons and associated with negative health outcomes. Growing evidence in the recent literature suggests an association between anemia and VDD; however, the underlying

studies are mainly derived from younger populations in Australia or the USA. Studies on geriatric populations in Germany have been lacking until now. Therefore, this retrospective data analysis of 4008 seniors  $> 60$  years of a nationwide working German laboratory center was intended to

Published online: 05 July 2024

Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie 1



**Table 1** Descriptive analyses of numerical and nominal study parameters

Parameter (n)	Males			Females			p
	N (%)	Mean value ± statistical deviation	Median value	N (%)	Mean value ± statistical deviation	Median value	
Age in years (4008)	1227 (31)	74.44 ±8.34	75	2781 (69)	74.70 ±8.73	75	0.563
Hemoglobin in g/dl (4008)	1227 (31)	13.86 ±1.70	14.10	2781 (69)	13.19 ±1.27	13.30	< 0.001
Glomerular filtration rate in ml/min/1.73 m <sup>2</sup> (4008)	1227 (31)	59 ±24.87	63	2781 (69)	64 ±21.60	66	< 0.001
25D in nmol/l (4008)	1227 (31)	61.13 ±30.03	57.8	2781 (69)	65.12 ±32.42	62.4	< 0.001
1.25D in pg/ml (410)	145 (35)	32.49 ±14.34	29.1	265 (65)	43.46 ±20.96	41.3	< 0.001
Anemia according to WHO definition	333 (27)	–	–	435 (16)	–	–	0.001
KDIOQI I (> 90 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	122 (10)	–	–	356 (13)	–	–	0.010
KDOQI II (60–89 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	550 (45)	–	–	1330 (48)	–	–	0.080
KDOQI III (30–59 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	388 (32)	–	–	878 (32)	–	–	0.975
KDOQI IV (15–29 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	90 (7)	–	–	160 (6)	–	–	0.056
KDOQI V (< 15 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	77 (6)	–	–	57 (2)	–	–	< 0.001

WHO World Health Organization definition of anemia: hemoglobin < 13 g/dl in males and hemoglobin < 12 g/dl in females  
*Italics* significant findings  
 KDOQI Kidney Disease Outcomes Quality Initiative

study the suggested association between anemia and VDD.

## Introduction

Anemia and VDD are frequent findings in older persons and associated with negative health outcomes [4, 13]. At least four types of anemia in the aged have been identified so far, among which are nutritional and supplementary deficiencies of iron, cobalamin or folic acid as well as hematologic malignancies, such as myelodysplastic syndromes or multiple myeloma [13, 18]. In some cases, identification of causes even fail, which is why this type is called unexplained anemia [13]. The most common type of anemia seen in seniors > 60 years is anemia of chronic inflammation (ACI) [29]. A subclinical state of systemic chronic inflammation connected with immunosenescence ("inflammaging") is held responsible for the development of ACI. Although anemia in the aged is mostly mild and normocytic it is associated with functional impairment, increased morbidity and mortality [17, 26].

A poor status of vitamin D is frequently found in Germany, affecting one third of the population with increasing prevalence among older people [6]. The synthesis of vitamin D is dependent on the exposure to sunlight, which is during the year only sufficient in areas below the 35th latitude. Therefore, Germany lacks sufficient solar radiation particularly during the "darker" months between October and March, resulting in seasonal fluctuations of VDD prevalence rates of up to 50% during winter and spring [23]. The important role of vitamin D for bone health, calcium absorption and metabolism is widely acknowledged and related to sufficient serum concentrations of 25 hydroxyvitamin D (calcifediol, 25D). Its synthesis depends on sufficient supply of ergocalciferol from nutritional sources and the UV light-dependent availability of cholecalciferol [23]. The storage and circulating form of vitamin D is 25D, which has to be converted by hydroxylation to the metabolically active form of 1.25 dihydroxyvitamin (calcitriol, 1.25D), predominantly in the kidneys, but also in other tissues [14]. Older people are for several reasons at a particular risk for VDD:

besides reduced mobility with lack of sun exposure, the age-related decline of vitamin D synthesis and metabolism due to chronic impairment of renal function are key factors for the development of VDD in the aged [9, 10].

In recent years a body of evidence has been growing for an association between anemia and low levels of vitamin D. The studies, however, focussed on different kinds of populations, such as pregnant women [16, 19], healthy children [1], patients with chronic kidney disease and renal anemia [11, 15] or community dwelling adults from the age of 17 years [20]. Data on older patients are scarce and are derived either from populations in Australia or the USA [9, 22]. To the best of the authors' knowledge there are no studies on associations between 25D or 1.25D and anemia among German seniors. There are a number of potential reasons which might explain the association between vitamin D and hemoglobin levels: the enzymes responsible for hydroxylation in tissues and kidneys are dependent on iron, therefore iron deficiency may disturb vitamin D synthesis [2]. Reverse effects

25D	nmol/l		< 30		30–< 50		50–< 75		75–< 125		≥ 125	
	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W
N (%)			167 (14)	359 (13)	299 (24)	585 (21)	430 (35)	895 (32)	284 (23)	827 (30)	47 (4)	115 (4)
Mean age, years			75	77	74	74	74	73	75	75	74	77
Total N (%)			526 (13)		884 (22)		1325 (33)		1111 (28)		162 (4)	

have been described in connection with VDD hampering erythropoiesis by increasing membrane permeability for calcium [2] and VDD is associated with elevated hepcidin levels, a proinflammatory mediator and key regulator of iron which is closely involved in the pathogenesis of ACI [3].

The aim of the present study was to see whether similar associations between VDD and anemia could be shown among German seniors aged ≥ 60 years.

The study was approved by the Ethics Committee of the University Hospital Cologne (EK-Nr.: 20-1284), Germany. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and its amendments.

## Methods

A retrospective cross-sectional data analysis ( $n=4008$ ) was performed with pseudonymized patient data derived from a nationwide working laboratory medical center, collected between January and December 2019.

Inclusion criteria comprised age ≥ 60 years, estimated values for 25D, complete blood count (CBC), including hemoglobin (Hb) and glomerular filtration rate (GFR) according to the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration formula (CKD-EPI).

Exclusion criteria comprised lack of inclusion criteria, and for avoiding inclusion of hemato-oncologic and inflammatory diseases we also excluded leucocytes < 4.0 G/l and > 9.0 G/l, erythrocytes > 5.9 T/l (men) and > 5.3 T/l (women), hemoglobin > 18g/dl (men) and > 16g/dl (women), platelets < 100 and > 400 G/l, CRP ≥ 5.0 mg/l (Table 1). Ferritin values serving as indicators for possible inflammatory diseases were hardly accessible in this cohort. We therefore did not include them.

Study parameters included age, sex, CBC, 25D and 1.25D, glomerular filtration

rate, presence of anemia and stage of renal function based on CKD-EPI.

Anemia was defined based on WHO reference values with Hb < 12g/dl (women) and Hb < 13g/dl (men) [25]. Due to a lack of data, analysis of anemia subtypes referring, e.g., either to inflammation or iron deficiency was not possible. Red cell distribution width (RDW) serving as an additional marker for iron deficiency anemia, was only accessible in 10% (433/4008) of the patients. Therefore, the predictive value for iron deficiency anemia based on a combination of RDW and erythrocytic markers could not be used.

Stages of renal function were defined according to Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI) with I: > 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, II: 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, III: 30–59 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, IV: 15–29 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> and V: < 15 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> [21]. VDD was defined according to the recommendations by the Robert Koch Institute (RKI) based on IOM report with deficient levels < 30 nmol/l, insufficient levels between 30 and 50 nmol/l and sufficient levels > 50 nmol/l [24, 28].

For statistical evaluation data were transferred to the database in IBM SPSS Statistics 28 (IBM Corp., Armonk, NY). Descriptive analysis was carried out to assess distribution of age, sex and prevalence rates of anemia, VDD and KDOQI stage. Study parameters were checked for normal distribution before correlation and regression analysis were performed to analyze an association between 25D, 1.25D, hemoglobin and GFR. Both sexes were evaluated separately for levels of 25D and 1.25D according to the corresponding KDOQI stage based on GFR values [21]. Pearson's correlation analysis between vitamin values and hemoglobin was followed by partial correlation analysis to control for effect of KDOQI stages based on GFR. Linear regression analysis was performed to study the linear association between hemoglobin and either

25D or 1.25D according to KDOQI stages. Additional backward regression analysis was intended to exclude independent variables.

## Results

### Patient characteristics

Among all study patients approximately one third was male, with a mean age of about 74 years in men and a mean age of about 75 years in women (Table 1). Males were significantly more often anemic and had significantly more often impaired kidney function according to KDOQI V (< 15 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>) than females (Table 1).

### Anemia prevalence

Anemia prevalence among all patients was approximately 20% (Table 2). With 27% versus 16%, significantly more men (333/1227) than women (435/2781) were anemic according to the World Health Organization (WHO) reference values ( $p < 0.001$ ) (Table 1). Anemic men were significantly younger with a mean age of 77 years ( $\pm 8.29$  years) than anemic women with a mean age of 80 years ( $\pm 8.52$  years,  $p < 0.001$ ). Analysis of the different age decade groups in this study group revealed a rise of anemia prevalence over the age decade groups which proved to be significant in Pearson's  $\chi^2$ -test ( $p < 0.001$ ). Further analysis of anemia subtypes failed due to lack of data.

### Prevalence of 25D deficiency

Mean levels of 25D based on IOM reference values are shown in Table 2. Approximately one third (35%) of all patients were deficient in 25D according to IOM with 25D < 50 nmol/l, one third showed sufficient 25D levels between 50 bis > 75 nmol/l and another third showed 25D levels be-

**Table 3** Levels of 1.25D according to Institute of Medicine (IOM) reference values among men and women

D 1.25	pg/ml	<20		20–79.3		>79.3	
		M	W	M	W	M	W
N (%)		27 (19)	18 (7)	117 (81)	234 (88)	1 (1)	13 (5)
Mean age/median (years)		74.96	77.00	73.99	74.00	68.50	69.00
Total N (%)		45 (11)	–	351 (86)	–	14 (3)	–

tween 75–125 nmol/l which are regarded as optimal for bone health according to IOM (Table 2).

#### Prevalence of 1.25D deficiency

Mean levels of 1.25D of all study patients are also shown in Table 3. Similarly to 25D, data also reveal a better mean 1.25D supply among women than among men. Only 11% of all patients showed deficiency of 1.25D according to IOM with levels <20 pg/ml (Table 3). The mean 1.25D level was significantly lower in men than in women ( $t(406) = -5.779$ ;  $p < 0.001$ ; effect size Hedges'  $g = -0.597$ ).

#### Association between eGFR, 25D and hemoglobin

Bivariate correlation between 25D and hemoglobin revealed significant results in men ( $r = 0.194$ ;  $p = 0.012$ ) and women ( $r = 0.336$ ;  $p < 0.001$ ). Results remained significant for both sexes after partial correlation analysis controlled for eGFR (men:  $r = 0.298$ ;  $p < 0.001$ ; women:  $r = 0.302$ ,  $p < 0.001$ ; supplementary tables 1).

#### Association between eGFR, 1.25D and hemoglobin

Bivariate correlation between 1.25D and hemoglobin revealed significant results in men ( $r = 0.376$ ;  $p < 0.001$ ) and women ( $r = 0.342$ ;  $p < 0.001$ ); however, after partial correlation, analysis controlled for eGFR results only remained significant in women (men:  $r = 0.157$ ;  $p < 0.060$ ; women:  $r = 0.171$ ,  $p = 0.005$ , supplementary tables 1).

#### Association between 25D and anemia

Pearson correlation analysis was performed for both sexes separately, including 25D levels below 30 nmol/l and

hemoglobin in all KDOQI states. Results revealed significant correlation between 25D and hemoglobin in KDOQI stages I–III for men ( $r = 0.229$ , 95% confidence interval, CI 0.069–0.377;  $p = 0.005$ ). For women Pearson correlation analysis revealed significant correlation between 25D and hemoglobin in KDOQI stages I–IV ( $r = 0.331$  (95% CI 0.235; 0.421);  $p < 0.001$ ). To further study the association between 25D levels <30 nmol and hemoglobin in men and women separately, linear regression analysis was carried out for men of KDOQI stages I–III and women of KDOQI stages I–IV (supplementary tables 2). A significant effect of 25D levels <30 nmol on hemoglobin was seen in women (F (1; 178) = 25.287; determination coefficient  $R^2 = 0.124$ ;  $p < 0.001$ ;  $f_2 = 0.142$ ) and with a lower effect size also in men (F (1; 145) = 8009; determination coefficient  $R^2 = 0.052$ ;  $p = 0.005$ ; Cohen's effect size  $f_2 = 0.055$ ).

#### Association between 1.25D and anemia

For analysis of 1.25D only limited data of 410 patients was accessible. A significant correlation was seen in Pearson correlation between 1.25D and hemoglobin (men  $r = 0.376$ ; CI 0.227; 0.508;  $p < 0.001$ ; women  $r = 0.342$  CI 0.230; 0.444;  $p < 0.001$ ). Subsequent partial correlation analysis was intended to control for GFR >60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> and only revealed a significant association between 1.25D and hemoglobin in women ( $p = 0.006$ ), but not in men ( $p = 0.06$ ). Additional backward linear regression analysis was carried out to exclude independent variables. Thus, GFR, 1.25D and hemoglobin failed to reveal a significant effect of 1.25D on hemoglobin independent of GFR in men. Among women, a significant but weak effect of 1.25D on hemoglobin independent of GFR remained (F-test (2;

260) = 32.452; determination coefficient  $R^2 = 0.200$ ;  $p = 0.005$ ).

## Discussion

The aim of the present retrospective cross-sectional study was the analysis of an association between VDD and anemia among senior patients aged  $\geq 60$  years. It could be revealed that 25D levels below the IOM recommended cut-off value of 30 nmol/l for VDD are associated with presence of anemia in women, independent of kidney function. Among the literature reviewed, the authors could not find a similar study on the association between VDD and anemia with respect to kidney function among German seniors aged  $\geq 60$  years. Monlezun et al. could show in their large USA study of 5456 individuals based on multivariable regression analysis controlled for presence of chronic kidney disease (CKD) that an increase of 1 ng/ml 25D was associated with a reduced likelihood of anemia [15]; however, as age of inclusion was  $\geq 17$  years in their study, prevalence of CKD was small and below 10% and in contrast to our study CKD was defined by urine albumin/creatinine ratio of  $\geq 30$  mg/g. This approach may possibly underestimate kidney function due to the age dependent loss of muscle mass and frequent malnutrition seen in seniors, resulting in lower creatinine levels with higher ratio values [15].

Results of the cross-sectional study by Hirani et al. on older Australian men revealed an independent association for serum 1.25D concentrations with hemoglobin but not for 25D, after exclusion of patients with GFR <30 ml/min. The authors raised the question whether vitamin D metabolites can influence anemia in this male cohort; however, an effect of reduced renal function cannot be fully excluded. Nevertheless, comparability with our results is limited as they selected independent dwelling, noninstitutionalized seniors from a defined urban region who were invited for a clinic visit and excluded if attendance failed for illness [8].

Reasons for the observed associations between anemia and VDD are still unclear and explanatory approaches remain heterogeneous. Some authors suggest a link with hepcidin, the key regulator of iron

homeostasis [6]. Hepcidin is responsible for the inhibition of enteral iron uptake and the sequestration of iron in the reticuloendothelial system, thus reducing iron availability for erythropoiesis. In CKD patients, the serum levels of hepcidin have been shown to be elevated, which might be partly due to the chronic inflammatory state in CKD, but also partly due to impaired renal excretion [8, 27]. Some studies revealed an inverse association between 25D and hepcidin serum concentrations, positively associated with iron concentrations and hemoglobin [30]. This finding is based on a suppression of hepcidin expression in monocytes by vitamin D [3].

A further explanatory approach is the role of vitamin D in connection with the immune system. Recent studies suggest vitamin D to be a key regulator of the innate immune system [7]. In an infection, immune cells, such as macrophages are assumed to be prompted to express the 1 $\alpha$ -hydroxylase enzyme, which induces the transformation from 25D to 1.25D. The latter form is then able to induce the molecular genetic production of antimicrobial peptides [12]. This involvement of vitamin D in immunomodulation has led to the suggestion of protective effects of vitamin D against cancer, chronic inflammatory or autoimmune diseases [5], while VDD has been found to be associated with presence of anemia of chronic inflammation in older seniors [22]; however, despite growing evidence of VDD being associated with the development of anemia, available data are still too heterogeneous for a causal explanation. The dependences of vitamin D metabolism on sunlight exposure, nutritional factors and kidney function can be made responsible for the heterogeneous data available, which until now does not allow a general explanation for the recurrent findings of VDD being associated with presence of anemia.

The potential role of iron deficiency being a causal factor for VDD as supposed by Azizi-Soleiman et al. [2] could not be confirmed in this study population due to too little data serving as markers for iron deficiency. The studies included in the review of Azizi-Soleiman et al. mainly referred to younger patients and patient groups predestined for iron deficiency like

pregnant women and children [2]. The most common subtype of anemia seen in senior patients is anemia of inflammation [26]. Due to lack of sufficient determining parameters in this study group, the role of iron deficiency in connection with VDD could not be conclusively answered.

Anemia prevalence seen in this senior patient cohort was in line with previous findings among independent dwelling seniors [28] and geriatric outpatients [29]. Prevalence of VDD for 25D, however, was lower in this patient cohort than among previously reported data from geriatric outpatients [29] and hospitalized frail seniors > 60 years [30]. This difference might be due to data selection, including seniors  $\geq$  60 years but not explicitly seniors > 60 years.

A virtue of our study was its pioneer character, being the first to study VDD and anemia with respect to kidney function among German seniors aged  $\geq$  60 years.

There are, however, a number of limitations of the study, typical for secondary data analysis:

- There is no information about comorbidities or medications in this patient cohort.
- The retrospective character of the study also denies a statement concerning putative substitutional effects of vitamin D on the presence of anemia in this cohort.

### Conclusions for clinical practice

This is the first study to analyze the association between VDD and anemia also considering kidney function among German seniors aged  $\geq$  60 years. Findings suggest that:

- Women  $\geq$  60 years living in Germany with VDD should be encouraged to get checked for anemia and vice versa, independent of renal function.
- These findings may foster further research on the causality between VDD and anemia and encourage clinical trials on the curative effects of vitamin D substitution on anemia in senior patients  $\geq$  60 years.

### Corresponding address



**Prof. Dr. med. habil Gabriele Röhrig, MPH**  
European University of Applied Sciences (EUFH)  
Neusser Straße 99, 50670 Cologne, Germany  
g.roehrig-herzog@eufh-medica.de

### Declarations

**Conflict of interest.** D.M. Schuchart, I. Becker, B. Harbeck and G. Röhrig declare that they have no competing interests.

**Ethical standards.** For this article no studies with human participants or animals were performed by any of the authors. All studies mentioned were in accordance with the ethical standards indicated in each case. This retrospective study was performed after consultation with the institutional ethics committee (Ethics Committee of the University Hospital Cologne (EK-Nr.: 20-1284)) and in accordance with national legal requirements.

### References

1. Atkinson MA, Melamed ML, Kumar J et al (2014) Vitamin D, race, and risk for anemia in children. *J Pediatr* 164:153–158.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.08.060>
2. Azizi-Soleiman F, Vafa M, Abiri B et al (2016) Effects of Iron on Vitamin D Metabolism: A Systematic Review. *Int J Prev Med* 7:126. <https://doi.org/10.4103/2008-7802.195212>
3. Bacchetta J, Zaritsky JJ, Sea JL et al (2014) Suppression of iron-regulatory hepcidin by vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 25:564–572. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013040355>
4. Durmuş ME, Kara Ö, Kara M et al. (2023) The relationship between vitamin D deficiency and mortality in older adults before and during COVID-19 pandemic. *Heart & lung : the journal of critical care* 57:117–123. <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2022.09.007>
5. Feige J, Moser T, Bieler L et al (2020) Vitamin D Supplementation in Multiple Sclerosis: A Critical Analysis of Potentials and Threats. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu12030783>
6. Ganz T, Nemeth E (2012) Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 1823:1434–1443. <https://doi.org/10.1016/j.bbmbcr.2012.01.014>
7. Gil A, Plaza-Diaz J, Mesa MD (2018) Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab* 72:87–95. <https://doi.org/10.1159/000486536>
8. Hanudel MR, Rappaport M, Gabayan V et al (2017) Increased serum hepcidin contributes to the anemia of chronic kidney disease in a murine

- model. *Haematologica* 102:e85–e88. <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.150433>
9. Hirani V, Cumming RG, Blyth F et al (2015) Cross-sectional and longitudinal associations between the active vitamin D metabolite (1,25 dihydroxyvitamin D) and haemoglobin levels in older Australian men: the Concord Health and Ageing in Men Project. *Age* 37:9749. <https://doi.org/10.1007/s11357-015-9749-1>
  10. Holick MF, Schnoes HK, DeLuca HF et al (1971) Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry* 10:2799–2804. <https://doi.org/10.1021/bk00790a023>
  11. Icardi A, Paoletti E, de Nicola L et al (2013) Renal anaemia and EPO hyporesponsiveness associated with vitamin D deficiency: the potential role of inflammation. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association—European Renal Association*, vol 28, pp 1672–1679 <https://doi.org/10.1093/ndt/gft021>
  12. Ismailova A, White JH (2022) Vitamin D, infections and immunity. *Rev Endocr Metab Disord* 23:265–277. <https://doi.org/10.1007/s11554-021-09679-5>
  13. Katsumi A, Abe A, Tamura S et al (2021) Anemia in older adults as a geriatric syndrome: A review. *Geriatrics Gerontology Int* 21:549–554. <https://doi.org/10.1111/ggi.14183>
  14. Khan SS, Petkovich M, Holden RM et al (2022) Megalin and Vitamin D Metabolism—Implications in Non-Renal Tissues and Kidney Disease. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu14183690>
  15. Kim YL, Kim H, Kwon YE et al (2016) Association between Vitamin D Deficiency and Anemia in Patients with End-Stage Renal Disease: A Cross-Sectional Study. *Yonsei Med J* 57:1159–1164. <https://doi.org/10.3349/ymj.2016.57.5.1159>
  16. Kinshella M-LW, Pickerill K, Bone JN et al. (2022) An evidence review and nutritional conceptual framework for pre-eclampsia prevention. *The British journal of nutrition*:1–35. <https://doi.org/10.1017/S0007114522003889>
  17. Lanier JB, Park JJ, Callahan RC (2018) Anemia in Older Adults. *Am Fam Physician* 98:437–442
  18. Leischker AH, Fetscher S, Kolb GF (2016) Anämie im Alter. *Dtsch Med Wochenschr* 141:954–959. <https://doi.org/10.1055/s-0041-103349>
  19. Mendes A, Silva V (2022) Possible etiologies of restless legs syndrome in pregnancy: a narrative review. *Sleep science (Sao Paulo, Brazil)* 15:471–479. <https://doi.org/10.5935/1984-0063.20220080>
  20. Monlezun DJ, Camargo CA, Mullen JT et al. (2015) Vitamin D Status and the Risk of Anemia in Community-Dwelling Adults: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001–2006. *Medicine* 94:e1799. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001799>
  21. (2017) NKF KDOQI Guidelines. [https://kidneyfoundation.org/cache/kyfnet/professionals/kdoqi/guidelines\\_ckd/p4\\_class\\_g1.htm](https://kidneyfoundation.org/cache/kyfnet/professionals/kdoqi/guidelines_ckd/p4_class_g1.htm) (22 Mar 2023).
  22. Perlstein TS, Pande R, Berliner N et al (2011) Prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency in subgroups of elderly persons with anemia: association with anemia of inflammation. *Blood* 117:2800–2806. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-09-309708>
  23. (2016) Rabenberg Martina, Mensink Gert BM. Bib, vol 1. Robert Koch-Institut, Vitamin-D-Status von Erwachsenen in Deutschland. RKI

## Zusammenhang zwischen Anämie und Vitamin-D-Mangel bei deutschen Senioren. Eine retrospektive Datenanalyse

**Hintergrund:** Anämie und Vitamin-D-Mangel (VitD-Mangel) kommen im Alter häufig vor, weswegen ein Zusammenhang vermutet wird. Ein Drittel der deutschen Bevölkerung ist von VitD-Mangel betroffen, mit steigender Prävalenz unter Älteren. **Ziel:** Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Anämie und VitD-Mangel unter deutschen Senioren  $\geq 60$  Jahre.

**Material und Methoden:** Retrospektive Querschnittsuntersuchung von 4008 Datensätzen eines bundesweit arbeitenden Labormedizinischen Zentrums (Januar bis Dezember 2019). Die Studienparameter umfassten Hämoglobin (Hb), Calcifediol (25D) und Calcitriol (1,25D), glomeruläre Filtrationsrate (GFR) zur Einteilung der Nierenfunktion gemäß *Kidney-Disease-Outcomes-Quality-Initiative* (KDOQI)-Stadium; Einschlusskriterien: Alter  $\geq 60$  Jahre, normale Werte für C-reaktives Protein (CRP) und Leukozyten.

**Ergebnisse:** Ergebnisse für 25D lagen von allen 4008 Patienten vor, Ergebnisse für 1,25D nur von 411. Mittleres Alter waren 75 Jahre ( $\pm 8,61$ ; 60–99) mit 30,6 % Männern; mittlere GFR 62 ml/min/1,73 m<sup>3</sup> ( $\pm 22,74$ ); Anämie lag bei 20 % der Patienten vor, 35 % hatten einen Mangel an 25D ( $< 50$  nmol/l), davon mehr Männer als Frauen ( $p = 0,014$ ). Die lineare Regressionsanalyse ergab einen signifikanten Zusammenhang von 25D-Werten  $< 30$  nmol/l auf den Hämoglobinwert bei Männern in KDOQI-Stadium I bis III und Frauen in KDOQI-Stadium I bis IV ( $R^2 = 0,052$ ;  $p = 0,005$ ;  $R^2 = 0,124$ ;  $p < 0,001$ ). Für 1,25D zeigte sich unabhängig vom KDOQI-Stadium nur bei Frauen ein schwacher aber signifikanter Zusammenhang mit Hämoglobinwerten ( $R^2 = 0,200$ ;  $p = 0,005$ ).

**Schlussfolgerung:** In dieser Kohorte zeigte sich unabhängig von der Nierenfunktion nur bei den Frauen ein signifikanter Zusammenhang zwischen Mangel an 25D und 1,25D einerseits und Hämoglobin andererseits.

### Schlüsselwörter

Hämoglobin · Kalziferol · Metabolit · Cholecalciferol · Geriatrie

24. Robert Koch Institut (RKI) (2023) RKI – Navigation – Wie wird der Vitamin-D-Status bestimmt und beurteilt? [https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Vitamin\\_D/FAQ07.html](https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Vitamin_D/FAQ07.html); (28 Mar 2023).
25. Röhrig G, Becker I, Gutensohn K et al (2018) Red blood cell counts and indices in the elderly German population. *LaboratoriumsMedizin* 42:131–139. <https://doi.org/10.1515/labmed-2017-0080>
26. Röhrig G, Hörter M, Becker I et al (2016) Anemia prevalence and hematologic findings in German geriatric inpatients—results of the prospective cross-sectional multicenter study “GerAnaemie 2013”. *Eur Geriatr Med* 7:328–332. <https://doi.org/10.1016/j.eurger.2016.02.008>
27. Röhrig G, Rappal G, Vahldick B et al (2014) Serumhepcidin bei Eisenmangelanämie und Anämie chronischer Erkrankungen im geriatrischen Kollektiv. *Z Gerontol Geriatr* 47:51–56. <https://doi.org/10.1007/s00391-013-0508-6>
28. Ross AC, Manson JE, Abrams SA et al (2011) The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 96:53–58. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-2704>
29. Tavenier J, Leng SX (2019) Inflammatory Pathways to Anemia in the Frail Elderly. *Clin Geriatr Med* 35:339–348. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2019.03.005>
30. Zughaier SM, Alvarez JA, Sloan JH et al (2014) The role of vitamin D in regulating the iron-hepcidin-ferroportin axis in monocytes. *J Clin Transl*

*Endocrinol* 1:19–25. <https://doi.org/10.1016/j.jcte.2014.01.003>

**Publisher's Note.** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.