

Aus dem Fachbereich Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

betreut in der  
Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie  
Direktor: Prof. Dr. Dr. Kai Zacharowski

**Diagnostik einer eisendefizitären Erythropoese  
mittels nicht-invasiver Messung von Zink-Protoporphyrin-IX  
bei chirurgischen Patienten**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

vorgelegt von  
Patricia Anna Glaser

aus Marl

Frankfurt am Main, 2020

Dekan:	Prof. Dr. Stefan Zeuzem
Referent:	Prof. Dr. Patrick Meybohm
Korreferent/in:	Prof. Dr. Erhard Seifried
Tag der mündlichen Prüfung:	10.03.2021

Meiner Familie

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	4
Abbildungsverzeichnis.....	6
Tabellenverzeichnis.....	7
Abkürzungsverzeichnis .....	8
1. Einleitung.....	9
1.1. Anämie.....	9
1.1.1. Eisenmangel, eisendefizitäre Erythropoese und Eisenmangelanämie im Detail.....	11
1.1.2. Eisenstatusparameter .....	12
1.1.3. Zink-Protoporphyrin im Detail .....	13
1.2. Patient Blood Management.....	15
1.3. Fragestellung .....	16
2. Patienten und Methoden .....	18
2.1. Studiendesign .....	18
2.2. Vorstellung des ZnPP-Messgeräts.....	19
2.3. Messablauf.....	21
2.4. Klinische Definitionen zur Einteilung der Studienpopulation .....	22
2.5. Datenschutz .....	25
2.6. Statistik .....	25
3. Ergebnisse .....	27
3.1. Vergleich der ZnPP-NI, ZnPP-FIDBlut und ZnPP-HPLC-Messungen .....	27
3.2. Klassifizierung in IDE und nicht-IDE-Gruppe .....	28
3.3. Analytische Performance der Parameter zur Detektion einer IDE.....	30
3.4. Einfluss von Inflammation .....	34

3.4.1. Betrachtung der analytischen Performance unter Inflammation .....	34
3.4.2. Veränderung von Eisenstatusparametern unter Inflammation .....	37
3.5. Separate Betrachtung der anämischen Patienten.....	39
4. Diskussion .....	41
4.1. Klassische Eisenmangel-Parameter in näherer Betrachtung .....	41
4.1.1. ZnPP als Parameter für die Detektion einer IDE.....	44
4.2. ZnPP zur Detektion von verschiedenen Ursachen einer Anämie.....	45
4.3. Nutzen von ZnPP-NI im Praxis-Alltag .....	46
4.4. Limitationen und Zukunft der nicht-invasiven ZnPP-Messung .....	48
5. Zusammenfassung.....	50
6. Summary.....	51
7. Literaturverzeichnis .....	52
Anhang .....	60
Schriftliche Erklärung .....	62
Curriculum vitae .....	63
Danksagung .....	65

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verlauf von Eisenstatusparametern.....	13
Abbildung 2: Aufbau des FIDscreen.....	20
Abbildung 3: Modifizierte Version des Algorithmus von Skikne et al. 2011 .....	24
Abbildung 4: Bland-Altman Plot.....	28
Abbildung 5: Studienpopulation.....	29
Abbildung 6: Verteilung von Eisenstatusparametern.....	30
Abbildung 7: AUC <sup>ROC</sup> Kurven der Eisenstatusparameter .....	32
Abbildung 8: Algorithmus für ein initiales Screening.....	47

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Operationen am UKF .....	19
Tabelle 2: Analytische Performance der Eisenstatusparameter .....	31
Tabelle 3: Optimale berechnete Cut-Off-Werte .....	33
Tabelle 4: Analytische Performance bei Patienten ohne Inflammation.....	35
Tabelle 5: Analytische Performance bei Patienten mit Inflammation.....	36
Tabelle 6: Patienten mit normalem sTfR-Wert.....	38
Tabelle 7: Patienten mit erhöhtem sTfR.....	39
Tabelle 8: Prävalenz von ACD, IDA, beidem oder Anämie anderer Ursache .....	40

## Abkürzungsverzeichnis

ACD	Anämie chronischer Erkrankungen, <i>Anemia of chronic disease</i>
AUC <sup>ROC</sup>	<i>Area under the curve receiver operating characteristics</i>
CRP	C-reaktives Protein (Entzündungsparameter)
Hb	Hämoglobin
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IDA	Eisenmangelanämie, <i>Iron Deficiency Anaemia</i>
IDE	Eisendefizitäre Erythropoese, <i>Iron Deficient Erythropoiesis</i>
IL-6	Interleukin 6 (Entzündungsparameter)
LoAs	Übereinstimmungsgrenzen, <i>Limits of agreement</i>
MCH	Mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt, <i>Mean corpuscular haemoglobin</i>
MCV	Mittleres korpuskuläres Volumen, <i>Mean corpuscular volume</i>
OP(s)	Operation(en)
ROC	<i>Receiver operating characteristics</i>
TSAT	Transferrinsättigung, <i>Transferrin saturation</i>
UKF	Universitätsklinikum Frankfurt
sTfR	Löslicher Transferrinrezeptor, <i>soluble Transferrinreceptor</i>
WHO	Weltgesundheitsorganisation, <i>World Health Organization</i>
ZnPP	Zink-Protoporphyrin
ZnPP-FIDBlut	Zink-Protoporphyrin im EDTA-Blut mittels FIDscreen gemessen
ZnPP-NI	Zink-Protoporphyrin nicht-invasiv mittels FIDscreen gemessen, <i>non-invasive zinc protoporphyrin</i>
ZnPP-HPLC	Zink-Protoporphyrin im EDTA-Blut mittels HPLC gemessen, <i>High-performance liquid chromatography zinc protoporphyrin</i>



## 1. Einleitung

Eisenmangel ist die weltweit häufigste Malnutrition.<sup>1, 2</sup> Da Eisen für eine optimale Erythropoese unerlässlich ist, resultiert eine Unterversorgung in einer eingeschränkten Blutbildung. Die eisendefizitäre Erythropoese (IDE) kann unbehandelt zu einer Eisenmangelanämie (IDA) führen. Die Anämie wiederum ist eine der am weitverbreitetsten, nicht diagnostizierten und nicht behandelten chronischen Erkrankungen.<sup>3</sup> Sie ist am häufigsten durch einen Eisenmangel bedingt.<sup>4</sup> Circa ein Drittel aller chirurgischen Patienten weist einen Eisenmangel oder gar eine Anämie auf.<sup>6</sup> Liegt präoperativ eine Anämie vor, geht dies mit einer erhöhten Gefahr für Fremdbluttransfusionen sowie eines schlechteren postoperativen Outcomes einher.<sup>7</sup> Um etwaige Risiken abzuwenden, besteht die Notwendigkeit, eine eisendefizitäre Erythropoese bereits im Vorfeld einer Operation zu diagnostizieren. Geschieht dies, kann mittels Eisensubstitution behandelt und der Entstehung einer IDA vielfach vorgebeugt werden.<sup>8</sup> Aktuell wird ein Eisenmangel typischerweise anhand von klassischen Eisenmangelparametern wie Ferritin, Transferrinsättigung (TSAT), löslichem Transferrinrezeptor (sTfR) und sTfR-Ferritin-Index (sTfR-F) bestimmt. Ein weiterer Parameter zur Diagnostik stellt Zink-Protoporphyrin (ZnPP) dar.<sup>9</sup> Für eine verlässliche Aussage auf Basis dieser Parameter sind in der Regel Blutentnahmen und Laborarbeit nötig.

### 1.1. Anämie

Bei einer Anämie handelt es sich um die Verminderung der Hämoglobinkonzentration. Bei Werten  $<13$  g/dl Hämoglobin (Hb) für Männer und  $<12$  g/dl für Frauen besteht, laut Definition der World Health Organization (WHO), eine Anämie.<sup>10</sup> Zur Einteilung der Anämie in ihre Ursachen wird zusätzlich der mittlere korpuskuläre Hämoglobingehalt (MCH) und das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV) herangezogen. Bei einer Erhöhung von MCH ( $>33$  pg) und MCV ( $>97$  fl) liegt eine hyperchrome makrozytäre Anämie vor, sind MCH ( $<27$  pg) und MCV ( $<80$  fl) vermindert, besteht eine hypochrome mikrozytäre Anämie. Klinisch kann sich eine Anämie vielfältig äußern, unter anderem durch Blässe,

Abgeschlagenheit, Dyspnoe und Palpitationen. Eine Vielzahl der Symptome sind auf den verringerten Sauerstofftransport zurückzuführen, welcher mit einer Anämie einhergeht. In den meisten Fällen entsteht eine Anämie über einen längeren Zeitraum, sodass sich der menschliche Körper an den verringerten Hämoglobingehalt adaptieren kann und Symptome ausbleiben können, wodurch die Anämie meist eine Zufallsdiagnose ist.

Bei kardio-<sup>11, 12</sup> und nicht-kardiochirurgischen<sup>13–16</sup> Patienten ist eine nicht behandelte präoperative Anämie mit einem schlechteren Outcome assoziiert.<sup>17–19, 20</sup> Dazu zählen verlängerte Krankenhausaufenthalte, schlechtere Wundheilung sowie eine erhöhte Morbidität und Mortalität.<sup>7, 21–23, 24</sup> Des Weiteren ist die Wahrscheinlichkeit einer allogenen Bluttransfusion während und nach der Operation (OP) erhöht.<sup>22, 25–27</sup>

Eine Anämie kann unterschiedliche Gründe haben: den Verlust und ebenso eine verringerte Bildung roter Blutkörperchen. Ein Verlust der Erythrozyten und damit des Hb entsteht durch akute oder chronische Blutungen. Können diese ausgeschlossen werden, kommt ein vermehrter Abbau von Hb durch Hypersplenismus oder eine hämolytische Anämie jedweder Ursache in Betracht.<sup>3</sup>

Eine verminderte Hb-Bildung ergibt sich unter anderem durch Malnutrition oder Malabsorption essentieller Stoffe. Beispielsweise können ein Folsäure- und/oder Vitamin B12-Mangel zu einer Anämie führen (makrozytär hyperchrom). Ein weiterer Grund für einen niedrigen Hb-Wert ist die Anämie chronischer Erkrankungen (anemia of chronic disease, ACD). Diese ist auch bekannt als Anämie der Entzündung und überschneidet sich mit der Tumoranämie und der funktionellen Anämie. Die funktionelle Anämie kommt vor allem bei hospitalisierten, multimorbiden Patienten vor, wobei die Inzidenz mit dem Alter steigt.<sup>5, 4</sup> Die ACD tritt überwiegend bei Malignomen, chronischen Nieren-, Lungen-, Darm- und Herzerkrankungen sowie bei entzündlichen und Autoimmunerkrankungen auf.<sup>18, 28, 29, 35, 30, 31</sup> Diagnostisch muss eine ACD immer dann erwogen werden, wenn eine Anämie vorliegt und gleichzeitig laboratorisch eine Inflammation nachgewiesen wurde. Der Entzündungsnachweis kann mittels erhöhtem C-reaktivem Protein (CRP) oder Interleukin-6 (IL-6) erfolgen. Eine ACD kann mit einer IDA einhergehen. Insgesamt am häufigsten entsteht die Anämie durch einen Eisenmangel.<sup>4</sup> Dieser

kann durch eine eingeschränkte Eisenzufuhr (absolut oder funktionell) oder durch erhöhten Eisenverlust entstehen. Die Erythrozyten sind in diesem Fall kleiner und blasser (mikrozytär hypochrom).

### 1.1.1. Eisenmangel, eisendefizitäre Erythropoese und Eisenmangelanämie im Detail

Hämoglobin ist der Bestandteil der Erythrozyten, welcher diesen die rote Färbung verleiht. Im Körper ist Hb vor allem für den Transport von Sauerstoff essenziell, welcher an die im Häm gebundenen zweiwertigen Eisen-Komplexe angelagert wird. Diese Bindung kann bei fehlendem Eisen nicht eingegangen werden. Im physiologischen Normalzustand sind die Eisenspeicher des Körpers gefüllt, zusätzlich wird Eisen aus der Zersetzung alter Erythrozyten gewonnen. Kommt es über einen längeren Zeitraum zu unzureichender Eisenaufnahme oder verstärkten Eisenverlusten, führt der Eisenmangel zur IDA. Die Entwicklung einer Eisenmangelanämie unterteilt sich in drei Phasen (Abbildung 1). In der ersten Phase des reinen Eisenmangels sind die Eisenspeicher bereits geleert. Die Erythropoese wird weitgehend durch Eisen aus zersetzten Erythrozyten aufrechterhalten. Dieser Prozess kann nach einer Zeit nicht mehr genug Eisen für die Erythropoese stellen und die zweite Phase, die eisendefizitäre Erythropoese, wird erreicht. Dauert dieser Zustand länger an, wird nicht mehr genug Hb produziert. Damit können die nachproduzierten Erythrozyten die nach ca. 120 Tagen abgebauten Erythrozyten nicht mehr ersetzen, sodass der Hb-Wert fällt und die Erythrozyten kleiner und blasser (mikrozytär und hypochrom) werden. Damit kommt es zur dritten Phase, der Eisenmangelanämie. Aufgrund des langen Zeitraumes, in dem ein Eisenmangel entsteht, ist dieser häufig asymptomatisch und aus diesem Grund häufig unterdiagnostiziert. Mögliche Anhaltspunkte können Konzentrationsschwäche, Kopfschmerzen, körperliche Schwäche und depressive Stimmung sein.<sup>32, 33, 34, 35</sup> Wird der Eisenmangel bzw. die IDE frühzeitig entdeckt, kann durch orale oder intravenöse Eisengabe gegengesteuert werden, sodass eine IDA mit den zugehörigen Risiken verhindert werden kann.<sup>36</sup>

## 1.1.2. Eisenstatusparameter

Zur Diagnose der verschiedenen Stadien des Eisenmangels, welche im Kapitel 1.1.1 erläutert wurden, gibt es mehrere Eisenstatusparameter (Abbildung 1). Im ersten Stadium (reiner Eisenmangel) nimmt Ferritin und später auch TSAT ab. Die übrigen Parameter bleiben zunächst normwertig. Eine Veränderung aller Eisenstatusparameter tritt erstmals im zweiten Stadium, der eisendefizitären Erythropoese, auf. Während dieser steigen ZnPP und sTfR deutlich an, wobei Ferritin und TSAT weiterhin deutlich abnehmen. Im dritten Stadium, der Eisenmangelanämie, kommt es dann schlussendlich auch zu einem Mangel roter Blutkörperchen. Entsprechend sinken Hb, MCV und MCH in diesem Stadium deutlich unter den Normbereich. Zusammenfassend wird zu einer optimalen, möglichst frühzeitigen Eisenmangeldiagnostik ein Parameter benötigt, welcher bereits einen Eisenmangel oder eine eisendefizitäre Erythropoese aufzeigt, bevor dieser zu einer Eisenmangelanämie führt. Die Bestimmung einer IDA mittels Laborparameter (z.B. Hb, MCH, MCV, Ferritin oder TSAT) gestaltet sich einfach, wohingegen die Diagnose einer IDE aufwändiger ist. Parameter wie Hb, MCH und MCV liegen während der eisendefizitären Erythropoese nicht zwingend unterhalb der Normbereiche und sind somit zur Diagnostik der IDE einzeln betrachtet nur bedingt heranzuziehen. Parameter, die eine Diagnostik einer IDE ermöglichen, sind Ferritin, TSAT, sTfR, sTfR-F und ZnPP. Ferritin liegt bei einem reinen Eisenmangel unterhalb des Normbereiches. Potentiell könnte Ferritin also frühzeitig Eisenmangel anzeigen. Jedoch ist Ferritin ein Akute-Phase-Protein, wird im Rahmen einer Inflammation hochreguliert und lässt bei Entzündungen oder Fastenzuständen keine valide Aussage zu.<sup>37</sup> Der ebenfalls früh auf einen Eisenmangel reagierende Parameter TSAT berechnet sich aus Transferrin und Serum-Eisen. Da Serum-Eisen einer zirkadianen Rhythmik unterliegt und es sich auch bei Transferrin um ein Akute-Phase-Protein handelt, erscheint auch TSAT in Einzelbetrachtung zunächst nicht optimal für eine möglichst frühe Diagnose eines Eisenmangels. Während Transferrin-Rezeptoren gebunden an Erythropoesezellen vorkommen, liegt sTfR frei im Plasma vor. Bei Eisenmangel steigt der sTfR-Wert an, da mehr Erythropoesezellen exprimiert werden. Da dieser Anstieg bereits vor dem Hb-Abfall

und damit während der eisendefizitären Erythropoese geschieht, könnte sTfR als Parameter zur Diagnose genutzt werden. Auch der Quotient von sTfR/log Ferritin, häufig als sTfR-F Index bezeichnet, stellt einen möglichen Parameter dar. Des Weiteren kann ZnPP zur IDE Diagnostik herangezogen werden.

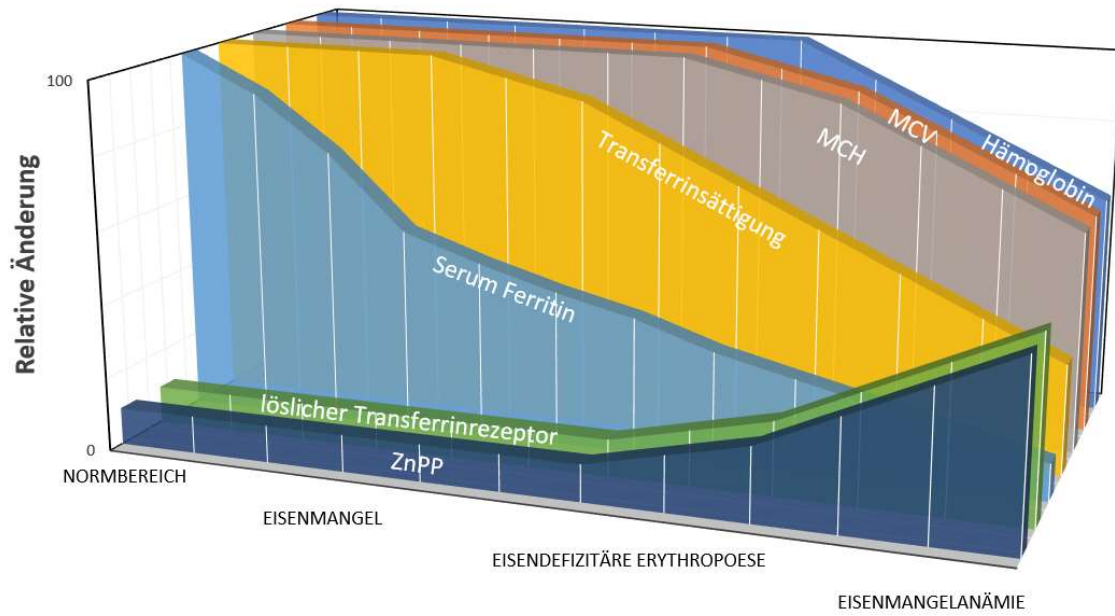


Abbildung 1: Verlauf von Eisenstatusparametern

Dargestellt sind auf der x-Achse die Phasen der Entwicklung einer Eisenmangelanämie und auf der y-Achse die relative Änderung der Eisenstatusparameter in %.

### 1.1.3. Zink-Protoporphyrin im Detail

Bei absolutem oder funktionellem Eisenmangel wird in die Hämkomplexe der Erythrozyten anstatt Eisen zweiwertiges Zink eingebaut, wodurch Zink-Protoporphyrin-IX entsteht. Der ZnPP-Wert steigt also mit anhaltendem Eisenmangel an. Zinkprotoporphyrin kommt ausschließlich in Erythrozyten vor und spiegelt den Eisenstoffwechsel der letzten 120 Tage wider, was der durchschnittlichen Lebensdauer eines Erythrozyten entspricht. Der ZnPP-Wert verändert sich somit, wenn die Häm Synthese verändert ist, wie beispielsweise bei einem Eisenmangel. Zusätzlich können genetische oder erworbene Erkrankungen bei Patienten mit ausreichendem Eisenspeicher erhöhte ZnPP-Werte hervorrufen. Dies könnte bei dem Myelodysplastischen Syndrom<sup>38</sup>,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thalassämie<sup>39</sup>,

Hämoglobinämien, Porphyrie und sideroblastischen/vererbten mikrozytären Anämien vorkommen.<sup>23, 41</sup> Die Ausprägung der ZnPP-Erhöhung kann dabei abhängig von der Patientengruppe äußerst unterschiedlich sein. Falsch niedrige ZnPP-Konzentrationen können durch die in Bluttransfusionen enthaltenen allogenen Erythrozyten entstehen und dadurch einen Eisenmangel verschleiern.

Trotz dieser Limitationen hat sich ZnPP in Studien als valider Parameter zum Nachweis einer IDE erwiesen.<sup>42–46, 47–49</sup> Beispielsweise wurde in der Studie von Schotten et al. 2018 ZnPP im EDTA-Blut ergänzend zu kapillär gemessenen Hb-Werten bei Blutspendern bestimmt. Die Annahme war, dass mittels ZnPP-Bestimmung im Blut bereits funktionell niedrige Eisenspeicher bei den Spendern erkannt werden und dadurch eine IDA verhindert werden kann. Die Autoren kommen zu dem Schluss, ZnPP zusätzlich zum Hb-Wert zu bestimmen, um einen Überblick über die funktionelle Erythropoese zu bekommen.<sup>47</sup>

Zur Zeit ist ZnPP nur vereinzelt in der klinischen Routine zu finden, möglicherweise da die Ergebnisse der am meisten durchgeführten Analysetechnik (Front-Face-Fluorometrie an einem Blutstropfen) durch Hintergrundsignale anderer Fluorophore (z.B. Bilirubin) gestört werden können, wenn die Blutproben ungewaschen analysiert werden.<sup>50, 51</sup> Eine möglichst unverfälschte Messung von ZnPP im Blut erfordert folglich umfangreiche Laborarbeit. Insbesondere Fluorophore, welche bei Inflammation, malignen oder degenerativen Erkrankungen entstehen, können die Messwerte verfälschen. Die Schwierigkeit dieser Waschung liegt im zeitlichen Aufwand und es wird angenommen, dass die jetzigen Referenzwerte für ZnPP die Plasma-Fluorophore berücksichtigen.<sup>51, 50</sup> In bisherigen Studien wurde ZnPP meist im Blut nachgewiesen und erfordert damit, wie auch die anderen Eisenstatusparameter, eine Blutentnahme.<sup>45, 48, 47, 39, 41, 42, 43</sup>

Eine kürzlich vorgestellte Messmethode scheint jedoch die nicht-invasive Messung von ZnPP (ZnPP-NI) ohne Blutentnahme zu ermöglichen.<sup>52</sup> Dabei wird mit einem neuentwickelten Gerät (FIDscreen) mittels Fluoreszenzspektroskopie innerhalb von Minuten die Fluoreszenz von ZnPP an der (gut durchbluteten) Unterlippe gemessen. Diese ZnPP-NI-Messung wurde bisher nur in homogenen Studienpopulationen bei gesunden Blutspendern, gesunden Kindern und schwangeren Frauen angewendet

und validiert.<sup>50, 53, 49, 54, 41, 52</sup> Die ZnPP-NI-Messung könnte eine schnelle präoperative IDE-Diagnostik, beispielsweise in einer Anämieambulanz im Rahmen eines Patient Blood Managements, ermöglichen oder auch im ambulanten Bereich beispielsweise bei Hausärzten Anwendung finden. Dafür muss die Validität der ZnPP-NI-Messung aber auch außerhalb der bisher getesteten homogenen Patientengruppen gegeben sein.

## 1.2. Patient Blood Management

Das Patient Blood Management (PBM) ist ein medizinisches Programm zur Steigerung der Patientensicherheit, welches sich durch die nachfolgenden drei Säulen auszeichnet:

- I. die frühe Detektion einer präoperativen Anämie und ihrer Behandlung
- II. die Minimierung von unnötigen Blutverlusten
- III. den standardisierten und rationalen Einsatz von Blutprodukten.

Am Universitätsklinikum Frankfurt am Main (UKF) wurde PBM im Juli 2013 implementiert. Studien, die den Effekt dieser Implementierung untersuchten, zeigten unter anderem die positive Auswirkung des PBM, insbesondere der ersten Säule des Programms. Beispielsweise zeigten Meybohm et al. 2016, dass die Prozentzahl an Patienten, welche eine Bluttransfusion während ihres Krankenhausaufenthaltes benötigten, durch den Einsatz des präoperativen Anämiemanagements sank. Statt 17,2% vor Implementierung des PBM benötigten nur noch 15,2% eine Transfusion. Zusätzlich reduzierte sich die Anzahl von Erythrozyteneinheiten von  $1,21 \pm 0,05$  auf  $1,00 \pm 0,05$ .<sup>55</sup> Auch Triphaus et al. 2019 unterstreichen in einer Nachfolgestudie die Wichtigkeit der präoperativen Behandlung von Patienten mit Eisenmangel. In dieser Studie wurden Patienten auf das Vorliegen eines Eisenmangels und/oder einer IDA gescreent. Eine intravenöse Eisensupplementierung >7 Tage vor der OP reduzierte die stationäre Aufenthaltsdauer von IDA-Patienten um 2,8 Tage.<sup>56</sup>

Für das präoperative Anämiemanagement stellen sich betroffene Patienten vor ihrer OP in der PBM-Ambulanz vor und werden auf eine Anämie und deren Ursache hin

untersucht. Es handelt sich um präoperative Patienten, die für eine OP mit einer Transfusionswahrscheinlichkeit >10% geplant sind.<sup>55</sup> Das Screening auf Anämie und mögliche Ursachen erfolgt aktuell durch eine Blutentnahme sowie Analyse im Labor. Dabei werden die Parameter Hb, Ferritin, TSAT, MCH, MCV und sTfR genutzt. Sollte bei den Patienten ein Eisenmangel auffallen, wird dieser vor der OP, wenn es zeitlich nicht möglich ist, nach der OP, mittels einer intravenösen Eisengabe ausgeglichen.

Erweist sich die ZnPP-NI-Messung mit dem FIDscreen als valide, könnte in der Anämieambulanz auf eine Blutentnahme verzichtet werden. Dadurch könnte das patienteneigene Blutvolumen weiter geschont werden. Zusätzlich würden nur wenige Minuten vergehen, bis das Ergebnis verfügbar ist, da dieses unabhängig vom Labor am Gerät angezeigt wird.

### 1.3. Fragestellung

Aktuell wird ein Eisenmangel im Labor anhand von im Blut gemessenen Eisenstatusparametern (z.B. Ferritin, TSAT, sTfR oder sTfR-F) diagnostiziert. Dafür sind Blutabnahmen und teils zeitintensive Laborarbeiten nötig. Die beiden am häufigsten genutzten Parameter, Ferritin und TSAT, können bei Inflammation verändert sein. Aus diesem Grund ist es wichtig zu evaluieren, mittels welcher Parameter eine Erkennung einer IDE zuverlässig möglich ist. Eine denkbare Option wäre ZnPP, wobei auch dieser Parameter aktuell eine Blutentnahme sowie zeitintensive Messung im Labor benötigt. Eine neue nicht-invasive ZnPP-Bestimmung, die direkt am Patienten erfolgt, könnte die Blutentnahme umgehen und den Zeitaufwand reduzieren.

In der vorliegenden prospektiven Studie wird die neue ZnPP-NI-Messung mit der bereits etablierten ZnPP-HPLC-Messung verglichen. Es soll eine größere Anzahl heterogener Patienten getestet werden, um zu prüfen, ob ZnPP-NI die valide Diagnostik eines Eisenmangels bei präoperativen Patienten erlaubt. Zusätzlich wird die analytische Performance der ZnPP-NI-Messung mit der der klassischen



Eisenstatusparameter verglichen. Im Fokus dieser Arbeit steht die Beantwortung folgender Fragestellungen:

- Sind die Ergebnisse der nicht-invasiven ZnPP-Messung mit denen der HPLC-Referenzmessung vergleichbar?
- Wie gut eignet sich ZnPP-NI als Parameter zur Erkennung einer eisendefizitären Erythropoese bei präoperativen Patienten?
- Wie valide ist ZnPP im Vergleich zu den anderen Eisenstatusparametern?
- Welchen Einfluss hat Inflammation auf die Eisenstatusparameter inkl. ZnPP?

## 2. Patienten und Methoden

### 2.1. Studiendesign

Bei der hier durchgeführten Studie handelt es sich um eine Subanalyse einer multizentrischen Untersuchung, welche am UKF und am Universitätsspital Zürich durchgeführt wurde. Diese ist unter [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) als NCT03071497 registriert. Die vorliegende Arbeit befasst sich ausschließlich mit den am UKF erfassten Daten. Die Studie wurde von der Ethikkommission genehmigt (468/16; siehe Anhang) und unter Heranziehen der Kriterien der Deklaration von Helsinki erstellt. Jeder Patient wurde mündlich über die Studie aufgeklärt und hat nach Einwilligung und Unterschrift auf Wunsch eine Kopie der Aufklärung erhalten.

Eingeschlossen wurden Patienten über 18 Jahren, welche sich zwischen März 2017 und April 2018 einer Operation unterzogen. Als Kriterium galten Operationen mit einer Transfusionswahrscheinlichkeit von  $>10\%$  (siehe Tabelle 1).<sup>55</sup> Als Ausschlusskriterien galten eine kürzlich erhaltene Bluttransfusion ( $<8$  Wochen vor der Untersuchung), eine Schwangerschaft oder die Diagnose einer Porphyrie, um Einflussfaktoren auf die Messmethode zu minimieren.

Tabelle 1: Operationen am UKF

<b>Chirurgische Fachdisziplin</b>	<b>Eingriff</b>
<b>Allgemeinchirurgie</b>	Ösophagusresektion
	Gastrektomie
	Rektumresektion
	Leberresektion
	Pankreatektomie
	Nierentransplantation
	Lebertransplantation
<b>Gefäßchirurgie</b>	große periphere Gefäßeingriffe
	Eingriffe an zentralen Gefäßen
<b>Gynäkologie</b>	Hysterektomie
	abdominelle Tumorchirurgie
<b>Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie</b>	große Tumorchirurgie
	Neck Dissection
<b>Neurochirurgie</b>	Aneurysma Clipping
	Intrakranielle Tumorsektion
	Spinale Tumorsektion
<b>Herz-, Thoraxchirurgie</b>	Bypasschirurgie
	Klappenchirurgie
	Lungenresektion
<b>Orthopädie und Unfallchirurgie</b>	Endoprothetische Chirurgie an Schulter, Hüfte, Knie
	Wirbelsäulenchirurgie (offen)
	Lappenplastiken
<b>Urologie</b>	Radikale Zystektomie
	Nephrektomie
<b>Andere</b>	Laparotomien
	Amputationen

Dargestellt sind die chirurgischen Fachdisziplinen und die Eingriffe mit Anämie-Diagnostik.

## 2.2. Vorstellung des ZnPP-Messgeräts

Die nicht-invasive ZnPP-Messung erfolgte mittels eines Prototyps (FIDscreen), der durch die FerroSens GmbH an der Ludwig-Maximilian-Universität München entwickelt wurde und dem UKF für diese Studie zur Verfügung stand (siehe Abbildung 2).

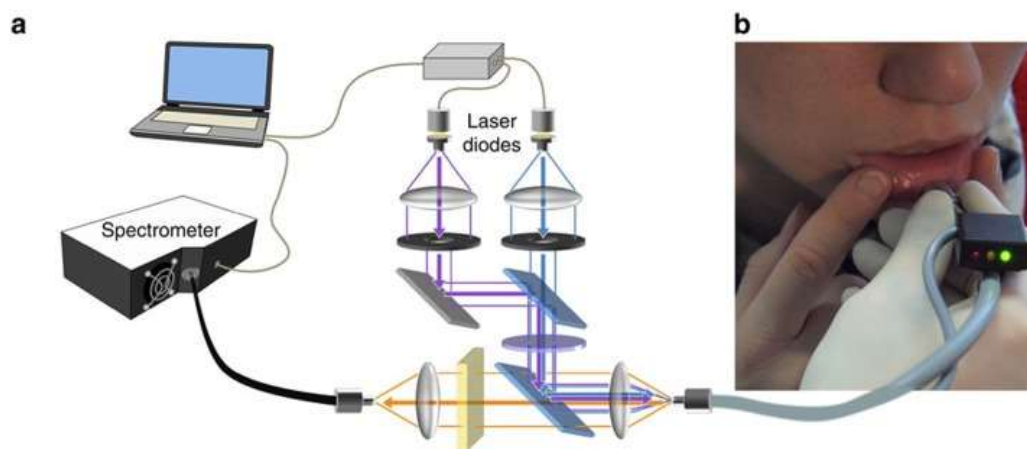


Abbildung 2: Aufbau des FIDscreen

(Quelle: Hennig G, Homann C, Teksan I, et al. Non-invasive detection of iron deficiency by fluorescence measurement of erythrocyte zinc protoporphyrin in the lip. *Nat Commun.* 2016;7:10776.)

Das Gerät misst ZnPP anhand eines optischen Verfahrens - der Fluoreszenzspektroskopie. Mittels zwei Fluoreszenzspektren wird die schwächere ZnPP-Fluoreszenz von der stärkeren Fluoreszenz des Elastins, Kollagens und der anderen Gewebefluorophore extrahiert. Der FIDscreen wurde auf äußere optische Standards geeicht. Für eine genauere Erläuterung der Funktionsweise und Berechnungen siehe Hennig et al. 2016.<sup>41</sup>

Das Gerät ermöglicht zwei Arten von Messungen: zum einen die Messung von ZnPP im EDTA-Blut (ZnPP-FIDBlut), zum anderen die ZnPP-NI-Messung an der Unterlippe. Für die ZnPP-FIDBlut-Messung wird eine Messsonde angeschlossen, in welche eine Küvette mit EDTA-Blut gesetzt werden kann. Die Sonde ermöglicht eine Blutmessung unter komplettem Ausschluss externer Lichtquellen. Die Blutmessung ist für den späteren Einsatz des Gerätes nicht vorgesehen und wurde im Rahmen der Studie zu Vergleichszwecken genutzt.

Die ZnPP-NI-Messung erfolgt an der Unterlippe der Patienten. Die Messfaser ist in ein 12 mm-Stahlhandstück eingebettet, welches sich in der Spitze auf 6 mm verjüngt. Die Hygiene wird mittels eines Plastiküberzugs gewährleistet, der am unteren Ende eine durchsichtige Folie besitzt. Die geeignete Messstelle wird in Echtzeit durch die Bestimmung des „Blutabsorptionsindex“ ermittelt. Ist die optimale

Stelle gefunden, leuchtet auf dem Bildschirm im Messprogramm eine grüne Anzeige auf. An der geeigneten Stelle ermöglichen die Eigenschaften der Schleimhaut und des darunterliegenden Gewebes eine quantitative Messung von ZnPP-NI. Der Index geht dabei nicht in die Berechnung ein.

### 2.3. Messablauf

Die Studienteilnehmer wurden im Vorfeld eines chirurgischen Eingriffs aufgesucht. Für den Einschluss in die Studie erfolgte bei jedem Teilnehmer eine Bestimmung des ZnPP-NI sowie eine Messung des ZnPP-FIDBlut. Des Weiteren wurden im Zentrallabor des UKF die Routineparameter zur Eisenmangeldiagnostik im EDTA- und Serum-Blut bestimmt. Die dafür benötigten Blutproben (1 x 2,6 ml Ethylendiamintetraacetat Röhrrchen, 1 x 4 ml Serum Röhrrchen, beide Produkt der Firma Sarstedt AG & Co. KG) wurden bei der klinischen präoperativen Routine abgenommen und daraus die Erythrozytenindizes (Hb, MCH, MCV), die Eisenstatusparameter (Ferritin, TSAT, sTfR, sTfR-F) und die Entzündungsmarker (CRP und IL-6) bestimmt.

Die ZnPP-NI-Messung am Patienten erfolgte bei gedämpftem Raumlicht. Dafür wurde die flexible Lichtleitfaser mittels Handapplikatorstück händisch in Kontakt mit der Unterlippe des Patienten gebracht. Die Messsonde wurde am Übergang zwischen trockenem und feuchtem Lippenrot zentral aufgesetzt. Anschließend wurden drei Messungen hintereinander durchgeführt und im Anschluss ein Durchschnittswert errechnet. Die Länge der Messungen betrug jeweils circa 60 Sekunden.

Zusätzlich zu der im Gewebe durchgeführten ZnPP-Messung (ZnPP-NI) wurde die ZnPP-Konzentration mittels FIDscreen optisch an 0,1 ml Blut erfasst (ZnPP-FIDBlut). Für die Messung des ZnPP-FIDBlut wurde das im Rahmen von maximal 36 Stunden vorher abgenommene Patientenblut aus dem Labor zurückgeordert oder bei Vorstellung in der Ambulanz direkt vor Ort abgenommen. Bei jedem Patienten wurde EDTA-Blut verwendet. Im Anschluss an die Blutentnahme oder der Ankunft der Proben aus dem Labor wurden 0,1 ml Blut mittels Pipette aus dem

Blutröhrchen in eine Messküvette übertragen. Zwischen Pipettieren und Messung lagen maximal 10 Sekunden. Für diese Messungen wurden andere verwechslungssichere Glasfasern (ohne Handapplikatorstück) verwendet.

Die Messung von ZnPP-NI und ZnPP-FIDBlut durch den FIDscreen wurden mit der ZnPP-Referenz-Messung des ZnPP/Häm-Verhältnisses mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (ZnPP-HPLC) verglichen. Dafür wurden zwei Aliquote des EDTA-Blutes (jeweils 250 µl) entnommen und bei -80°C gelagert. Die Messung des ZnPP/ZnPP-HPLC in beiden Aliquots wurde am MVZ Labor Dr. Volkmann und Kollegen GbR, Karlsruhe, Deutschland, durch Flüssigchromatographie realisiert. Während der noch laufenden Studie wurde mittels eines Aliquots der ZnPP-HPLC-Wert bestimmt. Die zweiten Aliquote der Patienten wurden zum Ende der Studie gesammelt versendet und erneut gemessen. Die ZnPP-HPLC-Messungen wurden miteinander verglichen. Zusätzlich wurden der Grad der Übereinstimmung und akzeptierte Abweichungen (Limits of Agreement, LoAs) berechnet, um die Schwankungen der Messungen zu ermitteln. Diese LoAs dienen als Grundlage, um die Accepted LoAs für ZnPP-NI vs. ZnPP-HPLC zu berechnen.

## 2.4. Klinische Definitionen zur Einteilung der Studienpopulation

Zur Erhebung der körpereigenen Eisenreserve stellt die Knochenmarksbiopsie den Goldstandard dar. Dieser ist ein hochinvasiver Eingriff und wird daher in dieser Studie nicht angewandt. Für eine optimale Auswertung der Studie fand auf Basis der Messwerte (TSAT, sTfR, ZnPP-HPLC) eine Einteilung der Patienten in IDE und nicht-IDE statt. Anhand dieser Einteilung wurde evaluiert, ob einzelne Eisenstatusparameter die Einteilung unterstützen oder widerlegen. Studien haben gezeigt, dass ein Multiparameter-Index-Test der beste Weg sein könnte, eine IDE zu diagnostizieren, da ein einzelner Parameter schnell zu Falscheinschätzung führen könnte.<sup>57, 53, 58</sup> Die Patienten in der vorliegenden Studie wurden, wenn zwei von drei Parametern (TSAT, sTfR, ZnPP-HPLC) auf eine IDE hinwiesen, der „IDE-Gruppe“ zugeordnet. Der „Nicht-IDE-Gruppe“ wurde genutzt, wenn ein oder kein Parameter über/unter dem Cut-Off lag. Die drei Parameter wurden explizit

ausgewählt, da sie Informationen über das Vorliegen von Eisen für die Erythropoese geben.<sup>59–61</sup>

Die Cut-Off-Werte für TSAT (<20%) und sTfR (Frauen >4,4 mg/L, Männer >5 mg/L) sind vom Labor des UKF empfohlen und durch nationale Richtlinien sowie durch ein Konsensusstatement<sup>6</sup> gestützt.<sup>62, 63</sup> Der Wert für TSAT berechnete sich wie folgt:

- Serum-Eisen [ $\mu\text{g/dl}$ ]/Transferrin [ $\text{mg/dl}$ ] x 70,9.

Die Cut-Off-Werte für sTfR-F (Frauen >2,2; Männer >2,5) berechneten sich wie folgt:

- Frauen: 4,4 [ $\text{mg/L}$ ]/log(100) [ $\text{ng/ml}$ ]
- Männer: 5 [ $\text{mg/L}$ ]/log(100) [ $\text{ng/ml}$ ]

Die Cut-Off-Werte von ZnPP (>40  $\mu\text{mol/mol}$  Häm, für ZnPP-HPLC und ZnPP-NI) sowie die Cut-Off-Werte für Ferritin (<100 ng/ml), MCH (<27 pg) und MCV (<80 fl) wurden basierend auf Literaturstellen festgesetzt.<sup>6, 64, 38, 65, 66</sup> Die Cut-Off-Werte für Ferritin, MCH und MCV deckten sich mit der Empfehlung des Labors am UKF, ZnPP wird am UKF nicht bestimmt. Für die Diagnostik eines absoluten Eisenmangels wird standardmäßig ein niedrigerer Ferritin Cut-Off (<30 ng/ml) herangezogen. Im Rahmen der Studie wurde ein Cut-Off von <100 ng/ml verwendet. Durch den höheren Schwellenwert soll sichergestellt werden, dass auch im Fall eines erhöhten intraoperativen Blutverlustes postoperativ genug Eisen für eine optimale Erythropoese vorhanden ist. Zusätzlich zeigen Studien, dass bei nicht-anämischen multimorbiden Patienten ein höherer Cut-Off für die Diagnostik eines Eisenmangels herangezogen werden sollte.<sup>6, 67</sup>

Auf die Empfehlung des Labors hin wurde das Vorliegen einer Inflammation durch die Parameter CRP (>5 mg/dl) und/oder IL-6 (>7 pg/ml) bestimmt. Wenn beide Parameter verfügbar waren, wurde CRP bevorzugt.

In der Hauptauswertung findet keine Unterteilung in anämische und nicht-anämische Patienten statt. Um dennoch Informationen für Patienten mit Anämie liefern zu können, wie sie häufig in der Literatur zu finden sind, ist diese Unterteilung zusätzlich zu der Hauptauswertung vorgenommen worden. Zur Unterteilung des anämischen Teils der Studienpopulation, hinsichtlich häufig vorkommender Gründe der Anämie

(IDA, ACD, IDA+ACD, andere Gründe), wurde eine modifizierte Version des von Skikne et al. 2011 publizierten Algorithmus verwendet (Abbildung 3).<sup>68</sup>

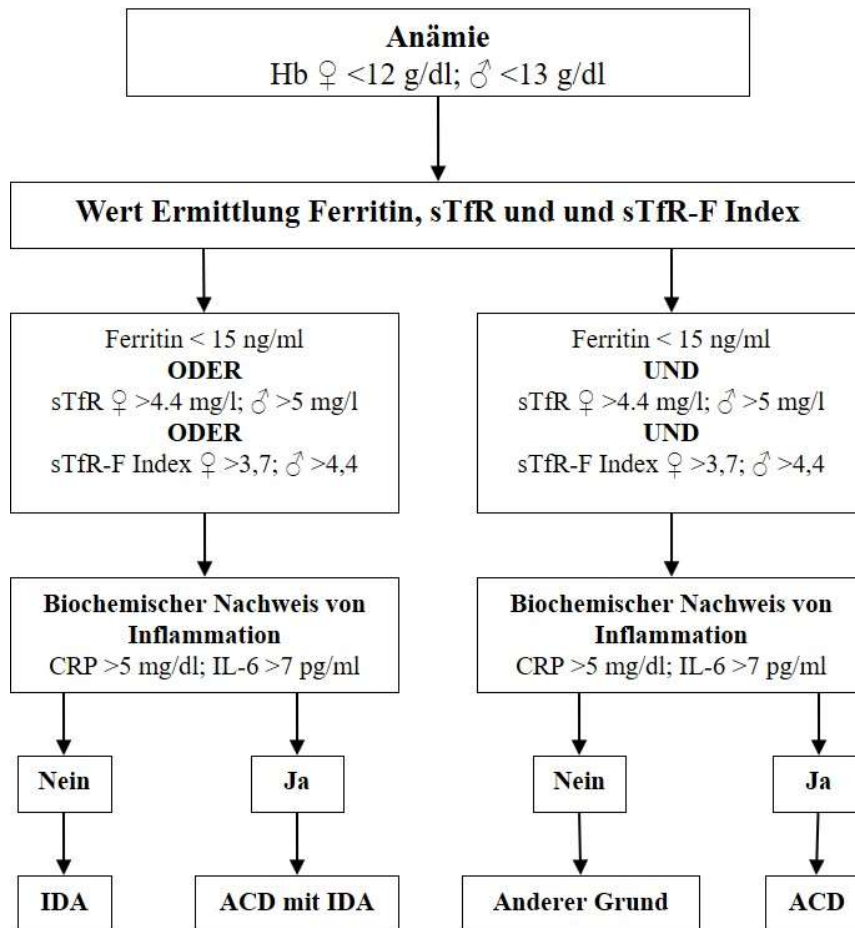


Abbildung 3: Modifizierte Version des Algorithmus von Skikne et al. 2011

Dargestellt ist der modifizierte Algorithmus, um Patienten mit IDA, ACD, eine Kombination oder eine Anämie anderer Ursache zu diagnostizieren. Die Modifizierung bezieht sich auf die Cut-Off Werte für sTfR (angepasst an den für die Analyse verwendeten Assay und unterteilt in Cut-Off-Werte für Frauen und Männer). Die Neuberechnung von sTfR-F Index basiert auf den angepassten sTfR Werten für Frauen und Männer (Frauen = 4,4 [mg/L]/log(15) [ng/ml]; Männer = 5 [mg/L]/log(15) [ng/ml]) und dem biochemischen Nachweis von Inflammation (angepasst an die Werte, welche in der Studie herangezogen werden)<sup>68</sup>.



## 2.5. Datenschutz

Alle gesammelten Daten wurden pseudonymisiert analysiert. Die Publikation entstand in anonymisierter Form. Die Sicherung der Daten erfolgte nach gesetzlichen Vorgaben und sieht eine Aufbewahrung bis zehn Jahre nach Veröffentlichung der Studie vor.

## 2.6. Statistik

Der Median und die 25./75. Perzentile sind für deskriptive Statistiken angegeben, da keiner der Erythrozytenindizes (Hb, MCV, MCH), Eisenstatusparameter (Ferritin, TSAT, sTfR, sTfR-F-Index, ZnPP-HPLC und ZnPP-NI) und Entzündungsmarker (CRP, IL-6) normal verteilt war (Shapiro-Wilk-Test,  $p < 0,05$ , statistisch signifikant). Der Unterschied zwischen zwei Gruppen wurde entsprechend mit dem Mann-Whitney-U-Test auf Signifikanz getestet. Auch hier wurden die Ergebnisse bei  $p < 0,05$  als signifikant gewertet.

Um die analytische Genauigkeit jedes Eisenstatusparameters zur Erkennung einer IDE zu bewerten, wurden ROC-Analyse, inklusive Berechnungen der „Area Under the Curve“ ( $AUC^{ROC}$ ) sowie Kontingenztabellen, basierend auf den in "Klinische Definitionen" aufgelisteten Cut-Off-Werten, durchgeführt. Zusätzlich wurden Kontingenztabellen auf Basis der für die Studienpopulation berechneten, optimalen Cut-Off-Werte erstellt. Ziel der Kontingenztabellen war der Vergleich einzelner Parameter zur Einteilung in IDE/nicht-IDE-Gruppe, mit dem vorher durch den Multiparameter-Index-Test bestimmten Ergebnis.

Für den direkten Vergleich von ZnPP-NI mit den gemessenen ZnPP-HPLC Referenzwerten des gleichen Patienten wurden die nicht-invasiven Werte durch lineare Anpassung mit Nullpunktverschiebung auf die ZnPP-HPLC Werte skaliert. Ebenso für den Vergleich von ZnPP-NI mit ZnPP-FIDBlut. Für den quantitativen Vergleich der beiden Methoden wurden, in beiden Fällen, die LoAs und der Bias anhand der robusten  $\tau$ -Schätzung der Unterschiede zwischen den beiden Methoden berechnet. Die 95%-Konfidenzintervalle (CI) wurden durch Bootstrapping berechnet.

Die LoAs mit ihren 95%-Konfidenzintervallen wurden mit R als Software (Version 3.2.2, scaleTau2, boot, boot.ci) berechnet. Für alle anderen wurde die Software Matlab (MATLAB R2014b, The MathWorks Inc., Natick, MA, USA) verwendet. Erstellt wurden diese Berechnungen und Abbildungen am Laser-Forschungslabor an der Universität München unter der Mithilfe von Dr. rer. nat. Christian Homann und Dr. rer. nat. Georg Hennig.

### 3. Ergebnisse

Insgesamt wurden am UKF 335 Patienten eingeschlossen und untersucht. Bei den Studienteilnehmern handelte es sich um 102 weibliche und 232 männliche Personen. Das Durchschnittsalter belief sich auf 63 Jahre, wobei der jüngste Patient 19 Jahre und der älteste 87 Jahre alt war. 50 Patienten wurden nachträglich ausgeschlossen, da entweder mindestens ein zu bestimmender Parameter fehlte ( $n = 43$ ) oder der Patient eine Bluttransfusion weniger als 8 Wochen vor der Untersuchung erhalten hatte ( $n = 6$ ). Ein Patient wurde zusätzlich ausgeschlossen, da bei diesem die Blutentnahme aus demselben venösen Zugang erfolgte, über welchen zuvor eine intravenöse Eisengabe stattfand (siehe Abbildung 5). Insgesamt wurden die Daten von 285 Patienten in der weiteren Analyse ausgewertet. Die Patienten verteilten sich wie folgt auf die Fachdisziplinen: 138 in der Herz-Thoraxchirurgie, 41 in der Allgemeinchirurgie, 31 in der Gefäßchirurgie, 24 in der Urologie, 23 in der hepatopankreatobiliären Chirurgie, 9 in der oberen Gastrointestinal Chirurgie, 8 in der Rektumchirurgie, 5 in der Unfallchirurgie, 3 in der Transplantationschirurgie, 2 in der Mund-Kiefer-Gesicht-Chirurgie und 1 Patient in der Gynäkologie.

Die Verteilung der Disziplinen ergab sich aus logistischen Gründen, da aufgrund des Handlings des Messgeräts nur im Haupthaus (Haus 23) des Uniklinikums gemessen wurde.

#### 3.1. Vergleich der ZnPP-NI, ZnPP-FIDBlut und ZnPP-HPLC-Messungen

Die Limits of Agreement zwischen den beiden ZnPP-HPLC Wiederholungsmessungen beliefen sich auf  $20,3 \mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$  (Bias  $-0,3 \mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$ ). Damit ergab sich als Accepted LoAs für die ZnPP-NI vs. ZnPP-HPLC-Messung  $24,4 \mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$  ( $24,4 \mu\text{mol ZnPP/mol Häm} = 1,2 \times 20,3 \mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$ ). Die errechneten LoAs der ZnPP-NI-Messung von  $21,8 \mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$  (Bias  $-0,5 \mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$ ) lagen damit innerhalb der zuvor definierten Kriterien ( $\text{LoAs-HPLC} \times 1,2$ ). Die Abweichungen zwischen den

ZnPP-NI- und ZnPP-HPLC-Messungen wichen weniger als 20% von den ZnPP-HPLC Wiederholungsmessungen ab (siehe Abbildung 4).

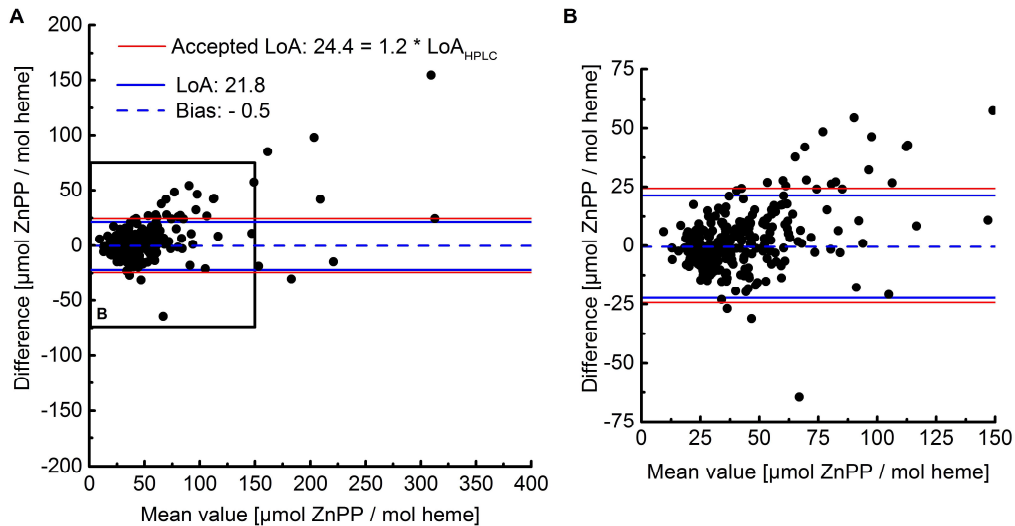


Abbildung 4: Bland-Altman Plot

Aufgetragen ist der Unterschied zwischen den ZnPP-NI-Messungen und der ZnPP-HPLC-Messung.

Die LoAs bei der ZnPP-FIDBlut im Vergleich zur nicht-invasiven ZnPP-Messung ergab 18,6  $\mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$  (Bias -0,5  $\mu\text{mol ZnPP/mol Häm}$ ). Da es das Hauptziel der Studie war, ZnPP-NI mit der bereits anerkannten ZnPP-HPLC-Messung zu vergleichen, wird ZnPP-FIDBlut nur in diesem Kapitel als Zusatz betrachtet.

### 3.2. Klassifizierung in IDE und nicht-IDE-Gruppe

Bei Patienten, die der IDE-Gruppe zugeordnet wurden ( $n = 91$ ), lagen entweder zwei ( $n = 49$ ) oder alle Parameter ( $n = 42$ ) über bzw. unter dem Cut-Off. Bei den nicht-IDE Patienten lag entweder nur einer ( $n = 96$ ) oder keiner ( $n = 98$ ) der Messwerte über bzw. unter dem vorher definierten Cut-Off.

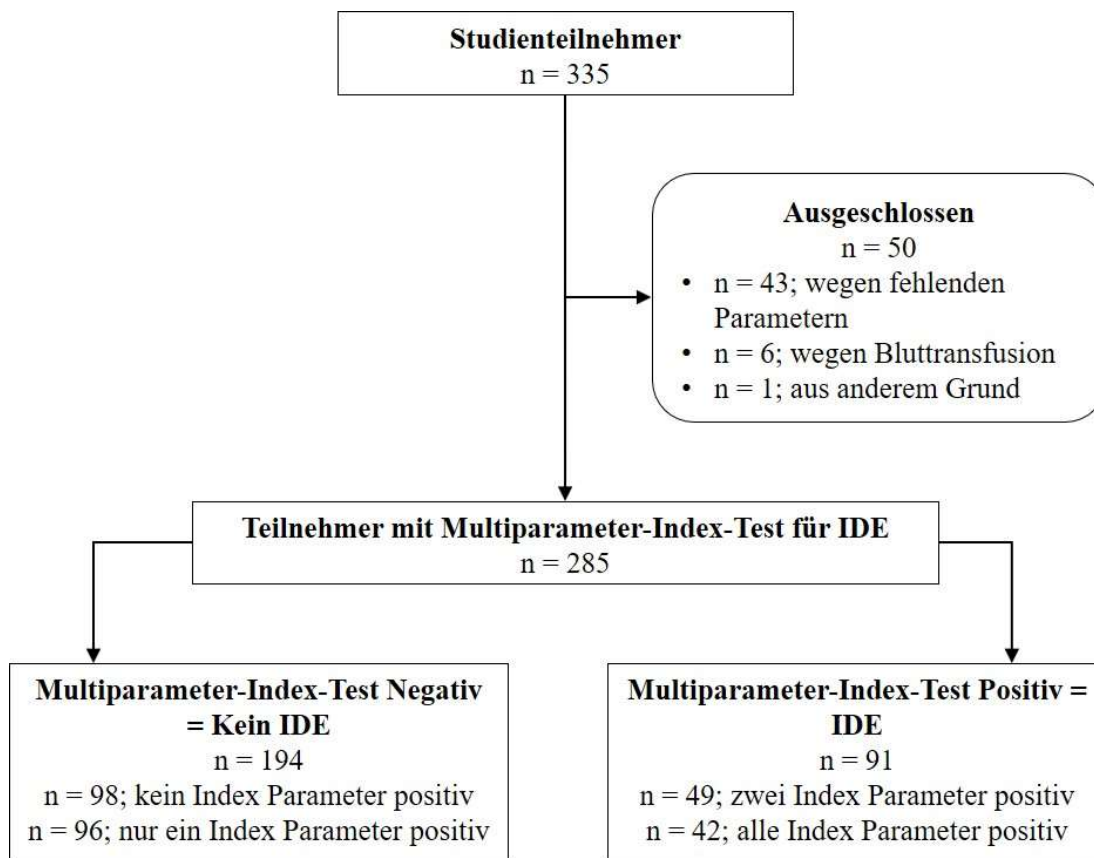


Abbildung 5: Studienpopulation

Die Messwerte und Cut-Offs, welche für den Multiparameter-Index-Test genutzt wurden, waren: Transferrinsättigung (<20%), löslicher Transferrinrezeptor (>4,4 mg/l für Frauen, >5 mg/L für Männer), ZnPP-HPLC (>40 µmol/mol Häm). Der IDE-Gruppe wurde zugeordnet, wer mindestens zwei positive Parameter aufwies. Probanden wurden der nicht-IDE Gruppe zugeordnet, wenn keiner oder nur ein Index Parameter positiv war.

In Abbildung 6 ist die Verteilung der Eisenstatusparameter für die IDE- und nicht-IDE-Gruppen aufgeführt. Während in der IDE-Gruppe Ferritin (92 ng/ml) und TSAT (13,2 %) unterhalb des Cut-Off lagen, waren sTfR (5,4 mg/l) und sTfR-F (2,6) knapp über dem Cut-Off, sodass im Durchschnitt alle vier Parameter auf einen Eisenmangel hinwiesen. Die gemessenen ZnPP-Werte in der IDE-Gruppe lagen über dem Cut-Off von 40 µmol/mol Häm. Jedoch lag ZnPP-HPLC mit 65,4 µmol/mol Häm deutlicher über dem Cut-Off als ZnPP-NI mit 54 µmol/mol Häm. Der Median

des CRP (9,3 mg/dl) lag ebenfalls über dem Cut-Off-Wert von >5 mg/dl, was auf eine höhere Inflamationsrate in der IDE-Gruppe schließen ließ.

In der nicht-IDE-Gruppe lagen Ferritin (192 ng/ml) und TSAT (24%) über dem Cut-Off. Die Mediane von ZnPP-HPLC (28,9  $\mu\text{mol/mol}$  Häm) und ZnPP-NI (32,5  $\mu\text{mol/mol}$  Häm) waren in der nicht-IDE- niedriger als in der IDE-Gruppe. Zusätzlich lagen die Mediane von sTfR (2,9 ml/l) und sTfR-F (1,3) unterhalb des Cut-Off. Die Mediane von CRP (4,2 mg/dl) und IL-6 (3,6 pg/ml) lagen in der nicht-IDE-Gruppe unter dem Cut-Off, sodass eine Inflammation bei der Mehrheit der Patienten unwahrscheinlich war.

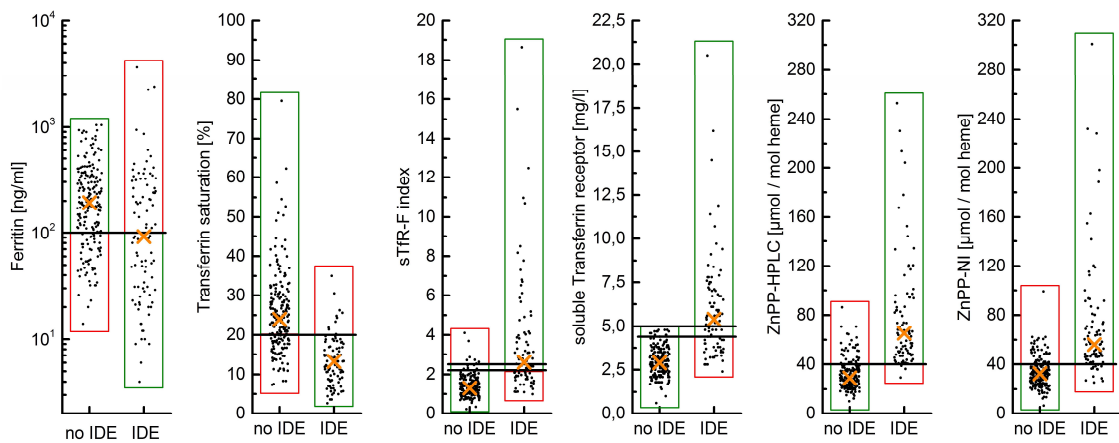


Abbildung 6: Verteilung von Eisenstatusparametern

Die schwarzen horizontalen Linien zeigen die Cut-Off-Werte der jeweiligen Parameter. Für sTfR-F und sTfR zeigt die obere Linie den Cut-Off-Wert für Männer und die untere den Cut-Off-Wert für Frauen. Mediane sind mittels orangener Kreuze gekennzeichnet. Die farbigen Rechtecke umschließen Patienten, die korrekt (grün) oder falsch (rot) in die IDE oder nicht-IDE-Gruppe (no IDE) zugeordnet wurden. Sie beziehen sich auf die Zuordnung anhand des abgebildeten Parameters. Ferritin ist auf einer logarithmischen Skala abgebildet.

### 3.3. Analytische Performance der Parameter zur Detektion einer IDE

Die untersuchten Eisenstatusparameter zeigten deutliche Unterschiede in ihrer analytischen Performance zum Nachweis einer IDE (Tabelle 2). Ferritin wies die geringste Sensitivität (52%) und die zweitniedrigste Spezifität (74%) auf. Die

niedrigste Spezifität zeigte TSAT mit 69%. Die höchste Sensitivität (97%) wurde von ZnPP-HPLC erreicht, wobei die Spezifität bei 83% lag. ZnPP-NI lag mit der Sensitivität (85%) im Mittelfeld, die Spezifität war bei 76%. Für sTfR-F lagen Sensitivität (81%) und Spezifität (83%) am nächsten beieinander.

Tabelle 2: Analytische Performance der Eisenstatusparameter

<b>Alle Patienten (n = 285)</b>						
	Ferritin	TSAT	sTfR-F	sTfR	ZnPP-HPLC	ZnPP-NI
<b>Sens</b>	52%	88%	60%	62%	97%	85%
<b>Spez</b>	74%	69%	95%	99%	82%	76%
<b>PPV</b>	48%	57%	86%	97%	72%	63%
<b>NPV</b>	77%	92%	84%	85%	98%	91%
<b>Falsch neg</b>	44	11	36	35	3	14
<b>Falsch pos</b>	50	60	9	2	34	46
<b>Richtig neg</b>	144	134	185	192	160	148
<b>Richtig pos</b>	47	80	55	56	88	77
<b>AUC<sup>ROC</sup></b>	0,65	0,87	0,89	0,90	0,95	0,88
<b>Cut-Off</b>	94 ng/ml	19,0%	1,8	3,9 mg/l	40,9 µmol/mol Häm	42,9 µmol/mol Häm

Die Cut-Off-Werte, welche verwendet wurden um die Sensitivität (Sens.), die Spezifität (Spez.), den positiv prädiktiven Wert (PPV) und den negativen prädiktiven Wert (NPV) zu berechnen, waren: <100 ng/ml für Ferritin, <20% für TSAT, >4,4 mg/l für Frauen und >5 mg/l für Männer für sTfR, >2,2 für Frauen und >2,5 für Männer sTfR-F, und >40 µmol/mol Häm für ZnPP-HPLC und ZnPP-NI.

Für die gesamte Patientenpopulation betrug die analytische Performance der Parameter (in der Betrachtung von  $AUC^{ROC}$ ) von ZnPP-HPLC (0,95), sTfR (0,90), sTfR-F (0,89), ZnPP-NI (0,88), TSAT (0,87), Ferritin (0,65; siehe Abbildung 7).

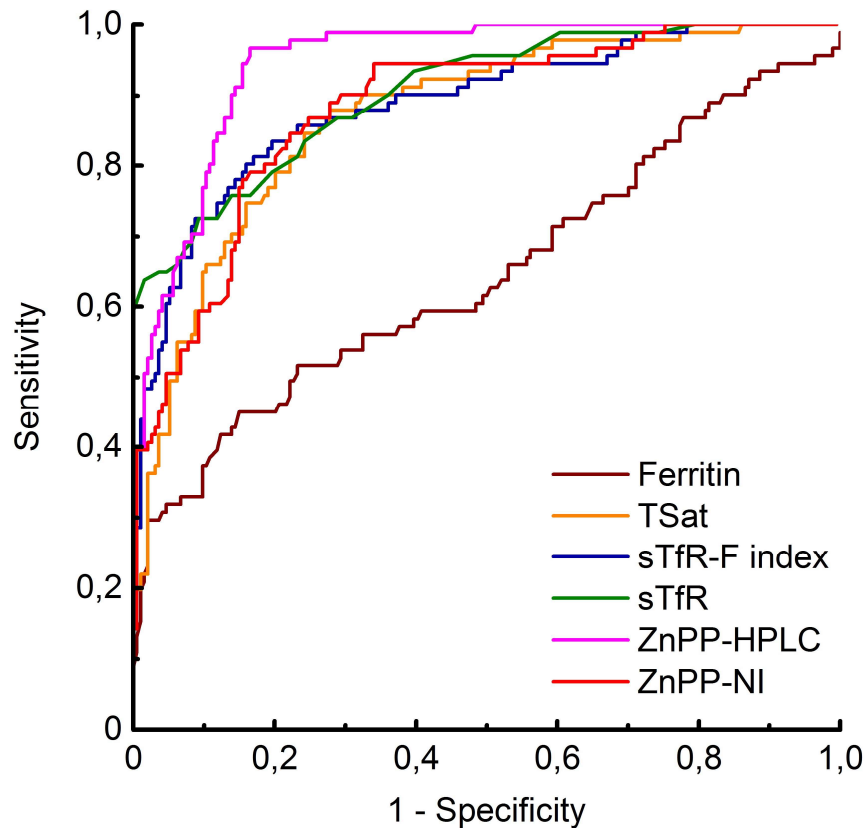


Abbildung 7:  $AUC^{ROC}$  Kurven der Eisenstatusparameter

Auf der x-Achse ist 1-Spezifität (1-Specificity) aufgetragen, welche mit der Falsch-Positiv-Rate gleichzusetzen ist. Während auf der y-Achse die Sensitivität (Sensitivity), die Richtig-Positiv-Rate aufgetragen ist. Die rote Kurve bildet die  $AUC^{ROC}$  Kurve für ZnPP-NI ab, die rosa ZnPP-HPLC, die grüne sTfR, die blaue sTfR-Index, die gelbe TSAT und die braune Ferritin. Deutlich zu erkennen ist, dass die Kurve für Ferritin ähnlich einer Diagonalen verläuft und sich von den anderen Kurven unterscheidet. Damit lässt sich die geringe analytische Performance von Ferritin (0,65), in Vergleich zu den anderen Parametern, auch hier erkennen.

Die analytische Performance der Eisenstatusparameter für die gesamte Studienpopulation, basierend auf den für diese Studienpopulation berechneten,



optimalen Cut-Off-Werten, sind in Tabelle 3 dargestellt. Ferritin zeigte basierend auf dem berechneten Cut-Off-Wert (94 ng/ml) weiterhin die geringste Sensitivität (52%) und zweitniedrigste Spezifität (77%). Die niedrigste Spezifität zeigte TSAT (76%). Die höchste Sensitivität (95%) wurde von ZnPP-HPLC erreicht, die Spezifität (85%) war ausgeglichen. ZnPP-NI lag mit der Sensitivität (79%) im Mittelfeld, die Spezifität lag bei 84%. Die optimalen berechneten Cut-Offs für ZnPP (ZnPP-HPLC 40,9  $\mu\text{mol/mol}$  Häm, ZnPP-NI 42,9  $\mu\text{mol/mol}$  Häm) lagen nah an denen der Literatur. Wider erwarten hatte sich nur die Spezifität für die ZnPP-Werte verbessert, während die Sensitivität abgenommen hatte.

Tabelle 3: Optimale berechnete Cut-Off-Werte

<b>Alle Patienten (n = 285)</b>						
	Ferritin	TSAT	sTfR-F	sTfR	ZnPP-HPLC	ZnPP-NI
<b>Sens</b>	52%	85%	81%	76%	95%	79%
<b>Spez</b>	77%	76%	83%	86%	85%	84%
<b>PPV</b>	51%	62%	69%	72%	74%	69%
<b>NPV</b>	77%	91%	90%	88%	97%	90%
<b>Falsch neg</b>	44	14	17	22	5	19
<b>Falsch pos</b>	45	47	33	27	30	32
<b>Richtig neg</b>	149	147	161	167	164	162
<b>Richtig pos</b>	47	77	74	69	86	72
<b>AUC<sup>ROC</sup></b>	0,65	0,87	0,89	0,90	0,95	0,88
<b>Cut-Off</b>	94 ng/ml	19,0%	1,8	3,9 mg/l	40,9 $\mu\text{mol/mol}$ Häm	42,9 $\mu\text{mol/mol}$ Häm

Sensitivität (Sens), Spezifität (Spez), positiver prädiktiver Wert (PPV), negativer prädiktiver Wert (NPV).

### 3.4. Einfluss von Inflammation

Eine Verfälschung der Eisenstatusparameter wie Ferritin und TSAT kann durch Inflammation stattfinden. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit untersucht, wie sich die Parameter mit/ohne Inflammation verhalten. Dafür wurden zwei Herangehensweisen genutzt:

- i. Aufteilung der Studienpopulation, zusätzlich zu IDE/nicht-IDE, in mit und ohne Inflammation und anschließend neues Erstellen der Kontingenztafeln
- ii. Aufteilung der Studienpopulation nach sTfR (normal vs. erhöht) und mit und ohne Inflammation, um zwei Durchschnittswerte der Eisenstatusparameter für die verschiedenen Gruppen berechnen und vergleichen zu können

#### 3.4.1. Betrachtung der analytischen Performance unter Inflammation

Die Studienpopulation wurde für eine Gegenüberstellung der analytischen Performance der Eisenstatusparameter mit und ohne vorliegende Inflammation in zwei Gruppen unterteilt. Dies geschah anhand CRP und/oder IL-6 Cut-Off-Werten. Die nachfolgende Tabelle 4 zeigt die analytische Performance der Eisenstatusparameter für alle Patienten ohne Inflammation (n = 164). Auch hier zeigte Ferritin die geringste Sensitivität (58%) und die zweitniedrigste Spezifität (82%). Die niedrigste Spezifität zeigte TSAT (79%). Die höchste Sensitivität (98%) wurde von ZnPP-HPLC erreicht, die Spezifität (89%) war ebenfalls am höchsten. ZnPP-NI lag mit der Sensitivität (88%) an zweiter Stelle, die Spezifität lag bei 84%.

Tabelle 4: Analytische Performance bei Patienten ohne Inflammation

<b>Patienten ohne Inflammation (n = 164)</b>						
	Ferritin	TSAT	sTfR-F	sTfR	ZnPP-HPLC	ZnPP-NI
<b>Sens</b>	58%	84%	81%	74%	98%	88%
<b>Spez</b>	82%	79%	88%	89%	89%	84%
<b>PPV</b>	53%	59%	71%	71%	76%	67%
<b>NPV</b>	85%	93%	93%	91%	99%	95%
<b>Falsch neg</b>	18	7	8	11	1	5
<b>Falsch pos</b>	22	25	14	13	13	19
<b>Richtig neg</b>	99	96	107	108	108	102
<b>Richtig pos</b>	25	36	35	32	42	38
<b>AUC<sup>ROC</sup></b>	0,70	0,88	0,89	0,90	0,97	0,91
<b>Cut-Off</b>	69 ng/ml	19,8%	2,0	3,9 mg/l	40,9 µmol/mol Häm	40,8 µmol/mol Häm

Sensitivität (Sens.), Spezifität (Spez.), positiver prädiktiver Wert (PPV), negativer prädiktiver Wert (NPV). Die Cut-Off-Werte für die Patienten ohne Inflammation waren CRP <5 mg/dl und IL-6 <7 pg/ml.

Tabelle 5 zeigt die analytische Performance der Eisenstatusparameter für Patienten mit Inflammation (n = 121). Auch hier zeigte Ferritin die geringste Sensitivität (50%) und die niedrigste Spezifität (74%). Die höchste Sensitivität (88%) wurde von ZnPP-HPLC erreicht, die Spezifität (81%) war ausgeglichen. ZnPP-NI lag mit der Sensitivität (75%) an dritter Stelle, die Spezifität lag bei 75%.

Tabelle 5: Analytische Performance bei Patienten mit Inflammation

<b>Patienten mit Inflammation (n = 121)</b>						
	Ferritin	TSAT	sTfR-F	sTfR	ZnPP-HPLC	ZnPP-NI
<b>Sens</b>	50%	73%	85%	73%	88%	75%
<b>Spez</b>	74%	82%	81%	90%	81%	75%
<b>PPV</b>	56%	73%	75%	83%	75%	67%
<b>NPV</b>	69%	82%	89%	84%	91%	82%
<b>Falsch neg</b>	24	13	7	13	6	12
<b>Falsch pos</b>	19	13	14	7	14	18
<b>Richtig neg</b>	54	60	59	66	59	55
<b>Richtig pos</b>	24	35	41	35	42	36
<b>AUC<sup>ROC</sup></b>	0,63	0,85	0,89	0,90	0,92	0,83
<b>Cut-Off</b>	123 ng/ml	15,2%	1,8	4,3 mg/l	43,4 µmol/mol Häm	43,7 µmol/mol Häm

Sensitivität (Sens), Spezifität (Spez), positiver prädiktiver Wert (PPV), negativer prädiktiver Wert (NPV).

Deutliche Unterschiede in der Auswertung ohne vs. mit Inflammation zeigten sich für ZnPP-NI. Während in der Gruppe ohne Inflammation  $AUC^{ROC} = 0,91$  war, lag es in der Gruppe mit Inflammation bei 0,83. Die Sensitivität für ZnPP-NI ist 88% (ohne Inflammation) und 75% (mit Inflammation). Die Spezifität betrug 84% und 75%, damit lagen die Werte im Vergleich zu den restlichen Parametern am weitesten auseinander. Für sTfR-F und sTfR zeigten sich in beiden Gruppen identische  $AUC^{ROC}$ -Werte (0,89 für sTfR-F; 0,90 für sTfR). Für Sensitivität und Spezifität ergab sich bei sTfR die geringste Abweichung. In der Gruppe ohne Inflammation lag die Sensitivität bei 74% und die Spezifität bei 89%. In der Gruppe ohne Inflammation war die Sensitivität bei 73% und die Spezifität bei 90%. Auch für sTfR-F lagen die

Sensitivität (81% versus 85%) und die Spezifität (88% versus 81%) in beiden Gruppen nah beieinander. Zusätzlich galt für alle Eisenstatusparameter, außer sTfR-F und sTfR, eine kleinere AUC<sup>ROC</sup> zur Erkennung einer IDE in der Gruppe mit Inflammation als in der Gruppe ohne Inflammation (vgl. Tabelle 4 und Tabelle 5).

### 3.4.2. Veränderung von Eisenstatusparametern unter Inflammation

Um die möglichen Effekte einer vorliegenden Inflammation auf die Eisenstatusparameter und damit auf die Detektion einer IDE näher zu betrachten, wurde die Studienpopulation in vier Untergruppen gegliedert. Diese Unterteilung erfolgte anhand von sTfR und mögliches Vorliegen einer Inflammation durch die Betrachtung von CRP und/oder IL-6. Die Wahl für die Einteilung der zwei Hauptgruppen hinsichtlich der Detektion einer IDE fiel auf sTfR, da dieser von allen konventionellen Eisenstatusparametern, laut Literatur, am wenigsten von Inflammation beeinflusst wird.<sup>6, 68, 34, 69, 70</sup> Bei den vier Untergruppen handelte es sich zum einen um die Gruppe mit erhöhtem sTfR, unterteilt in zwei Untergruppen (mit/ohne Inflammation). Zum anderen um die Gruppe mit normalem sTfR, ebenfalls mit zwei Untergruppen (mit/ohne Inflammation).

Dargestellt sind in Tabelle 6 die Subgruppen mit normalem sTfR (n = 227), aufgeteilt in Patienten mit (n = 89) und ohne (n = 138) Inflammation. In Tabelle 7 sind die Subgruppen mit (n = 32) und ohne (n = 26) Inflammation bei erhöhtem sTfR dargestellt (n = 58). Der Cut-Off-Wert für sTfR lag dabei für Frauen bei >4,4 mg/l und für Männer bei >5 mg/l. Wie in Tabelle 6 abzulesen, unterschied sich der Median von sTfR in der Gruppe mit normalem sTfR kaum zwischen den Untergruppen mit (3,2 mg/l) und ohne Inflammation (3,0 mg/l). Dies stützt die Annahme, dass sTfR wenig durch Inflammation beeinflusst wird. Bei normalem sTfR waren die Mediane für ZnPP-HPLC und ZnPP-NI in der Subgruppe mit Inflammation (34,7 und 37,0 mol/mol Häm) höher als in der Gruppe ohne Inflammation (30,4 und 32,3 µmol/mol Häm) (siehe Tabelle 6).

Bei Patienten mit erhöhtem sTfR (n = 58) war nur der Unterschied der Mediane für Ferritin in beiden Subgruppen statistisch signifikant (p <0,05), während bei der

Gruppe mit normalen sTfR-Werten (n = 227) Ferritin (p = 0,0062), TSAT (p <0,0001) und ZnPP-NI (p = 0,0107) statistisch signifikante Unterschiede zeigten.

Die Ferritin-Werte waren in der Untergruppe mit Inflammation deutlich höher (239 ng/ml vs. 166 ng/ml) und die TSAT-Werte deutlich niedriger (19,3% vs. 23,9%). Damit lagen die Mediane je nach Inflammationsstatus über bzw. unter dem Cut-Off.

Tabelle 6: Patienten mit normalem sTfR-Wert

Parameter	sTfR normal (n = 227)		
	keine Inflammation (n = 138)	Inflammation (n = 89)	p-Wert
<b>Ferritin [ng/ml]</b>	166 (78-300)	239 (107-369)	0,0062
<b>TSAT [%]</b>	23,9 (18,4-29,7)	19,3 (14,4-25,9)	<0,0001
<b>sTfR-F</b>	1,4 (1,1-1,7)	1,4 (1,1-1,8)	0,96
<b>sTfR [mg/l]</b>	3 (2,5-3,5)	3,2 (2,6-3,8)	0,101
<b>ZnPP-HPLC [µmol/mol Häm]</b>	30,4 (24-40,2)	34,7 (25,3-48,2)	0,064
<b>ZnPP-NI [µmol/mol Häm]</b>	32,3 (26,7-40,4)	37 (28,0-49,8)	0,0107
<b>CRP [mg/dl]</b>	1,65 (0,7-3,2)	16,7 (8,9-45,1)	<0,0001
<b>IL-6 [pg/ml]</b>	3 (1,5-4,1)	12,9 (8,7-16,5)	<0,0001

Die Patienten sind zusätzlich in eine Gruppe mit und ohne Inflammation eingeteilt.

Bei erhöhtem sTfR (Tabelle 7) waren die Ferritin-Werte bei Patienten mit Inflammation deutlich höher, verglichen zur Untergruppe ohne Inflammation (102 ng/ml vs. 33 ng/ml). Unter alleiniger Betrachtung von Ferritin wären die Patienten in der Gruppe mit Inflammation teilweise fälschlicherweise als nicht-IDE eingestuft. Wie bereits Ferritin war auch TSAT erneut niedriger bei Patienten mit erhöhtem sTfR in der Untergruppe mit Inflammation, wenn auch nur minimal (11,5% vs. 11,8%). In der Kohorte mit Inflammation waren die Werte für sTfR-F, ZnPP-HPLC und ZnPP-NI niedriger, verglichen mit der Gruppe ohne Inflammation.

Tabelle 7: Patienten mit erhöhtem sTfR

Parameter	sTfR erhöht (n = 58)		
	keine Inflammation (n = 26)	Inflammation (n = 32)	p-Wert
<b>Ferritin [ng/ml]</b>	33 (20-161)	102 (44-343)	0,022
<b>TSAT [%]</b>	11,8 (8,0-21,4)	11,5 (7,0-16,8)	0,5472
<b>sTfR-F</b>	4 (2,6-6,7)	2,9 (2,3-4,3)	0,0709
<b>sTfR [mg/l]</b>	6,5 (5,5-7,8)	6,6 (5,6-7,7)	0,8327
<b>ZnPP-HPLC [µmol/mol Häm]</b>	71,4 (52,5-97,5)	67,1 (48,3-110,5)	0,6672
<b>ZnPP-NI [µmol/mol Häm]</b>	63,3 (47,7-80,3)	54,6 (43,2-102,9)	0,5164
<b>CRP [mg/dl]</b>	1,9 (1,2-3)	12,6 (10,3-34,9)	<0,0001
<b>IL-6 [pg/ml]</b>	5,2 (3,1-6)	14 (8,2-18,0)	<0,0001

Die Patienten sind zusätzlich in eine Gruppe mit und ohne Inflammation eingeteilt.

### 3.5. Separate Betrachtung der anämischen Patienten

In Tabelle 8 ist die Studienpopulation, bei der eine Anämie nachgewiesen wurde, anhand der Prävalenz von ACD, IDA, einer Kombination von beidem und Anämie anderer Ursache dargestellt. Insgesamt hatten n = 114 Patienten eine Anämie (Hb für Frauen <12 g/dl; für Männer <13 g/dl). Der Median der Hb-Werte war bei allen Untergruppen vergleichbar und lag unter dem Cut-Off-Wert für Frauen (ACD: 11,2 g/dl; IDA: 11,4 g/dl; ACD + IDA: 10 g/dl; andere Anämie: 11,4 g/dl). Mit n = 46 Patienten handelte es sich bei der größten Gruppe um die Patienten mit einer ACD. Die Werte von CRP und IL-6 lagen deutlich über dem Cut-Off (CRP 26,8 mg/dl; IL-6 12,9 pg/ml). Die TSAT lag in der Gruppe mit ACD mit einem Median von 18,7% am zweithöchsten. Sowohl ZnPP-HPLC als auch ZnPP-NI (41,3 µmol/mol Häm; 40,7 µmol/mol Häm) lagen knapp über dem Cut-Off-Wert von 40 µmol/mol Häm. Die Patientengruppe IDA war mit n = 16 Patienten die kleinste. Der TSAT-Median zeigte

sich niedrig, wobei ZnPP-HPLC und ZnPP-NI deutlich >40 µmol/mol Häm erhöht waren (92 µmol/mol Häm; 74,1 µmol/mol Häm) und damit weit über dem Cut-Off lagen.

Auch in der Patientengruppe mit sowohl ACD als auch IDA lagen ZnPP-HPLC und ZnPP-NI mit Werten >40 µmol/mol Häm (86,9 µmol/mol Häm; 75,7 µmol/mol Häm) deutlich über dem Cut-Off. In der Gruppe mit Patienten anderer Anämien (n = 30) lagen ZnPP-HPLC und ZnPP-NI im Median unter dem Cut-Off-Wert von <40 µmol/mol Häm (36 µmol/mol Häm; 34,3 µmol/mol Häm).

Tabelle 8: Prävalenz von ACD, IDA, beidem oder Anämie anderer Ursache

<b>Parameter</b>	<b>ACD (n = 46)</b>	<b>IDA (n = 16)</b>	<b>ACD + IDA (n = 22)</b>	<b>andere Anämie (n = 30)</b>
<b>Hb [g/dl]</b>	11,2 (10,2-11,9)	11,4 (10,4-11,5)	10 (9,2-10,8)	11,4 (10,7-12,2)
<b>Ferritin [ng/ml]</b>	299 (113-391)	24,5 (11-174,5)	106,5 (31-471)	118 (49-294)
<b>TSAT [%]</b>	18,7 (13,4-22,2)	9,9 (5,7-18,6)	9 (6,4-16,9)	20,6 (17,0-32,4)
<b>sTfR-F</b>	1,3 (1,1-1,8)	6,2 (2,7-8,0)	3,4 (2,4-5,2)	1,5 (1,1-2,0)
<b>sTfR [mg/l]</b>	3,2 (2,6-3,8)	7,7 (5,8-8,9)	7,2 (5,9-8,5)	3 (2,5-3,5)
<b>ZnPP-HPLC [µmol/mol Häm]</b>	41,3 (28,2-59,8)	92 (68,9-142,6)	86,9 (64,1-144)	36 (28,3-45,2)
<b>ZnPP-NI [µmol/mol Häm]</b>	40,7 (31,7-55,8)	74,1 (53,5-103,7)	75,7 (49,7-119,1)	34,3 (27,8-49,9)
<b>CRP [mg/dl]</b>	26,8 (9,5-65,6)	1,6 (0,6-1,9)	15,5 (10,2-38,9)	1,3 (0,7-3,1)
<b>IL-6 [pg/ml]</b>	12,9 (9,2-14,2)	3,2 (1,5-6)	83,4 (14-152,7)	3,6 (3,2-5,4)



## 4. Diskussion

Im Rahmen dieser Studie wurden Patienten präoperativ auf einen Eisenmangel hin untersucht. Ein (präoperativer) Eisenmangel kann zu einer Eisenmangelanämie führen, die wiederum ein Risikofaktor für Fremdbluttransfusion unter der Operation sowie verzögerte Rehabilitation und längere Hospitalisierung sein kann. Wird ein Eisenmangel bzw. eine eisendefizitäre Erythropoese frühzeitig erkannt, kann einer Anämie z.B. durch eine Eisensubstitution vorgebeugt werden.

In der vorliegenden Studie mit 285 präoperativen Patienten wurden verschiedene Laborparameter hinsichtlich der Diagnose einer IDE evaluiert. Die Bestimmung von ZnPP (invasiv oder nicht-invasiv) war geeignet, um auf eine IDE frühzeitig zu screenen, und lieferte genauere Ergebnisse als klassische Parameter wie Ferritin oder TSAT. Die innovative Methode der nicht-invasiven ZnPP-Bestimmung brachte innerhalb von Minuten Ergebnisse und verzichtete auf eine Blutentnahme.

### 4.1. Klassische Eisenmangel-Parameter in näherer Betrachtung

An klassischen Parametern zur Diagnose einer IDE wurden in dieser Studie Ferritin, TSAT, sTfR und sTfR-F analysiert. Zusätzlich wurden Hb, MCV und MCH bestimmt, die aber erst in einem fortgeschrittenen Stadium einer bestehenden Eisenmangelanämie vom Normwert abweichen und deshalb in der Auswertung nicht näher betrachtet wurden. Von den untersuchten Parametern stellte sich Ferritin als am ungenauesten heraus. Bei Ferritin handelt es sich um ein Akute-Phase-Protein, das bei vorliegender Inflammation erhöht ist und in diesem Fall einen Eisenmangel verschleiert. Ebenso stellt Ferritin als einziger Parameter die Eisenreserven des Körpers dar und kann aus diesem Grund einen Eisenmangel, aber keine IDE anzeigen. Auch wenn die Eisenreserven und damit der Ferritinwert unter dem Normwert sind, muss dies nicht zwangsweise für eine IDE sprechen. Beispielsweise wird Eisen im Körper durch die Phagozytose von alten Erythrozyten wiederverwertet und liegt nicht alleinig als Speichereisen vor. Dadurch kann eine IDE vorliegen, auch wenn der Ferritin-Wert im Normbereich liegt. Interessanterweise ergab die ROC-Analyse von Ferritin gegenüber IDE einen optimalen Grenzwert von 94 ng/ml, der

nah am bekannten Ferritin-Grenzwert 100 ng/ml für die Diagnose eines Eisenmangels liegt.<sup>6</sup>

Die Messung der TSAT brachte im Vergleich zu Ferritin genauere Ergebnisse bezüglich der Diagnose einer IDE. Die ROC-Analyse von TSAT gegenüber IDE ergab einen optimalen Grenzwert von 19%, der nah am verwendeten Cut-Off von 20% liegt. Sensitivität und Spezifität von TSAT (für alle Patienten: 85% und 76%, mit Inflammation: 73% und 82%, ohne Inflammation: 84% und 79%) lagen im Vergleich zu Ferritin (für alle Patienten: 52% und 77%, mit Inflammation: 50% und 74%, ohne Inflammation: 58% und 82%) näher beieinander. Würde TSAT als alleiniger Parameter zur Einteilung in IDE/nicht-IDE herangezogen, wäre aber immer noch eine große Zahl Patienten wahrscheinlich falsch klassifiziert. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sich aus der Tatsache ergeben, dass sich TSAT aus dem Quotienten von Serum-Eisen und Transferrin errechnet. Da Serum-Eisen einer zirkadianen Rhythmik unterliegt, sollte die Blutprobe idealerweise bei nüchternen Patienten morgens abgenommen werden. Dies gestaltet sich im klinischen Alltag oft schwierig und war in der vorliegenden Studie nicht immer möglich. Auch der zweite Parameter, der in die TSAT-Berechnung eingeht, Transferrin, kann einen verfälschenden Einfluss haben. Transferrin ist ein Anti-Akute-Phase-Protein, welches bei akuter Inflammation erniedrigte Serumkonzentrationen zeigt. Bei einer vorliegenden Inflammation ist es folglich schwierig, anhand von Ferritin oder TSAT allein eine IDE zu diagnostizieren. Die alleinige Verwendbarkeit einer dieser Parameter ist bei präoperativen Patienten daher nicht optimal.<sup>71</sup>

Die übrigen klassischen Eisenstatusparameter sTfR und sTfR-F zeigten sich in der vorliegenden Studie und auch in vorangegangenen Studien zur Diagnostik einer IDE valider als Ferritin und TSAT. In verschiedenen Studien ergab sich der Hinweis, dass sTfR ein möglicher Parameter ist, um eine IDE auch beim Vorliegen einer Inflammation zu erkennen.<sup>6, 85, 69</sup> Mit einer  $AUC^{ROC} = 0,90$  sowohl für Patienten mit als auch ohne Inflammation wird diese Aussage von den vorliegenden Studienergebnissen gestützt. Die ROC-Analyse von sTfR gegenüber IDE berechnete einen optimalen Grenzwert von 3,9 mg/l, welcher niedriger als die verwendeten Cut-Offs >4,4 mg/l für Frauen und >5 mg/l für Männer war. Für sTfR

war die Spezifität in der Gruppe ohne Inflammation mit 89% im Vergleich zu 90% in der Gruppe mit Inflammation vergleichbar. Die Sensitivität war für sTfR in der Gruppe ohne Inflammation bei 74% und mit Inflammation 76%. Damit ist sTfR sowohl bei Patienten mit als auch bei solchen ohne Inflammation annähernd gleich gut.

In weiteren Studien wurde sTfR-F als genauere Parameter im Vergleich zu sTfR angeführt.<sup>72, 73</sup> Im Rahmen der vorliegenden Studie brachte sTfR-F gute Ergebnisse, konnte aber die Güte von sTfR nicht übertreffen. Für sTfR-F zeigte sich eine gute analytische Performance ( $AUC^{ROC} = 0,89$  für Patienten mit und ohne Inflammation). Der Median von sTfR-F in der IDE-Gruppe lag bei 2,6 und in der nicht-IDE-Gruppe bei 1,3, wobei in der IDE-Gruppe eine deutliche Streuung der Messwerte zu erkennen war. In der nicht-IDE-Gruppe hingegen lagen die Messwerte überwiegend nah am Median. Ein Grund hierfür ist, dass in der IDE-Gruppe einige Patienten einen falsch hohen Ferritin-Wert haben (Tabelle 7). Ohne Inflammation sind die sTfR-F Werte höher, da die erhöhten sTfR-Werte und korrekt niedriges Ferritin in die Berechnung eingehen. Mit Inflammation sind die sTfR-F Werte niedriger, da teilweise falsch hohe Ferritin-Werte in die Berechnung eingehen. Bei steigendem sTfR sind die Ferritin-Werte im Normalfall niedriger und führen damit zu höheren sTfR-F-Werten. Die ROC-Analyse von sTfR-F gegenüber IDE ergab einen optimalen Cut-Off von 1,8, während die in der Studie verwendeten Cut-Offs für Frauen  $>2,2$  und für Männer bei  $>2,5$  lagen. Im Gesamtkollektiv war die Sensitivität mit 81% besser als die von sTfR mit 76%. Bei Patienten ohne Inflammation zeigte sich sTfR-F (81%) ebenfalls sensitiver als sTfR (74%). Auch bei Patienten mit Inflammation lag die Sensitivität von sTfR-F höher (85% vs. 73%). Damit könnte sTfR-F als sensitiver und valider Parameter für die IDE-Diagnostik geeignet sein. Für sTfR-F in der Gruppe mit Inflammation war die Spezifität höher als in der Gruppe ohne (81% vs. 88%). Ein möglicher Grund für die höhere Sensitivität und Spezifität im Vergleich zu sTfR könnte die Einbeziehung des Ferritin-Wertes in die Berechnung von sTfR-F darstellen.

Obwohl sTfR und sTfR-F eine valide Diagnostik ermöglichen, sind sie etwas kostenintensiver, da sie nicht in allen Laboren gemessen werden. Zusätzlich

benötigen beide, wie auch alle anderen klassischen Eisenstatusparameter, eine Blutprobe sowie eine Auswertung im Labor.

#### 4.1.1. ZnPP als Parameter für die Detektion einer IDE

Zink-Protoporphyrin entsteht primär, wenn die Eisenzufuhr zu den Erythrozyten eingeschränkt ist, sei es durch einen absoluten Mangel oder eine funktionelle Störung. In diesen Fällen wird statt Eisen zweiwertiges Zink in das Häm-Gerüst eingebaut.<sup>20, 63, 65, 66, 59, 74, 44, 75</sup> Zink-Protoporphyrin steigt im Verlauf der IDE bereits früh an, sodass bereits im Anfangsstadium ein Therapiebeginn nach der Eisenmangeldiagnostik möglich wäre. Die in dieser Studie gesammelten Daten unterstützen die in vorherigen Studien gezeigte gute analytische Performance von ZnPP zur Diagnose einer IDE. Die Ergebnisse der ZnPP-Referenzmessung (ZnPP-HPLC) waren in der gesamten Studienpopulation mit denen von sTfR vergleichbar ( $AUC^{ROC}$  ZnPP-HPLC = 0,95 vs.  $AUC^{ROC}$  sTfR = 0,90). Für Patienten mit Inflammation ergab sich eine  $AUC^{ROC}$  ZnPP-HPLC = 0,91.

Die Messung von ZnPP-HPLC ist in Speziallaboren möglich, jedoch aufwendig und zeitintensiv. Mittels einer nicht-invasiven Messtechnik von ZnPP eröffnet sich ein innovativer Ansatz, den ZnPP-Wert schnell und einfach zu bestimmen. Frühere Untersuchungen stützend, ergab sich in der durchgeführten Studie bei dem Vergleich zwischen der ZnPP-HPLC Referenzmessung im Blut und der ZnPP-NI-Messung der heterogenen Studienpopulation ein LoAs von 20,3  $\mu\text{mol/mol}$  Häm, welches nah am Ergebnis einer vorigen Studie an einer Gruppe von Frauen postpartum liegt (19  $\mu\text{mol/mol}$  Häm).<sup>41</sup> Die Abweichungen zwischen den ZnPP-NI- und ZnPP-HPLC-Messungen entsprechen den zuvor definierten Kriterien ( $\text{LoAs-HPLC} \times 1,2$ ). Damit wichen die ZnPP-NI-Messungen weniger als 20% von den Messwerten der ZnPP-HPLC Wiederholungsmessungen ab. Insgesamt ließ sich die analytische Performance von ZnPP-NI ( $AUC^{ROC}$  0,88  $\mu\text{mol/mol}$  Häm) zur Diagnostik einer IDE gut mit Eisenstatusparametern, welche im Blut gemessen wurden, vergleichen ( $AUC^{ROC}$  ZnPP-HPLC = 0,95; sTfR = 0,90; sTfR-F = 0,89; TSAT = 0,87; Ferritin = 0,66). Wird jedoch die Analyse auf Patienten mit einer hohen Wahrscheinlichkeit eines Vorliegens einer Inflammation fokussiert, blieb die

analytische Performance von ZnPP-NI, eine IDE zu diagnostizieren, weiter relativ hoch ( $AUC^{ROC} = 0,83$ ). Bei Patienten mit ausreichend Eisen (gemäß sTfR) blieben die ZnPP-NI Werte in der Untergruppe mit wahrscheinlichem Vorliegen einer Inflammation (37,0 vs. 32,3  $\mu\text{mol/mol Häm}$ ,  $p < 0,05$ ; Tabelle 6) noch unter dem Cut-Off von 40  $\mu\text{mol/mol Häm}$ . Der Einfluss von chronischer Inflammation auf die ZnPP-NI-Messung in der Studienpopulation scheint jedoch, aufgrund des geringen Unterschieds zwischen den Untergruppen, klinisch nicht relevant zu sein.

Anhand der hohen Sensitivität und Spezifität lässt sich ableiten, dass ZnPP-NI auch in größeren heterogenen Studiengruppen valide Ergebnisse liefert und damit zur präoperativen oder ambulanten Diagnostik einer IDE geeignet ist. Im Vergleich zu Ferritin eignete sich ZnPP-NI besser zur Diagnose einer IDE. Zusätzlich zeigte es sich mindestens genauso valide wie TSAT. Jedoch schnitt ZnPP-NI bei den Patienten mit vorliegender Inflammation im Vergleich zu sTfR und ZnPP-HPLC etwas schlechter ab. Für Patienten mit kürzlich erhaltener allogener Bluttransfusion, Eisensubstitution oder Erkrankungen wie beispielsweise Myelodysplastisches Syndrom,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thalassämie, Hämoglobinämien, Porphyrie und sideroblastische/vererbte mikrozytäre Anämien, können ZnPP-NI-Werte in der Aussagekraft eingeschränkt sein.

#### 4.2. ZnPP zur Detektion von verschiedenen Ursachen einer Anämie

Um Informationen über Patienten mit Anämie liefern zu können, wie sie häufig in der Literatur zu finden sind, wurde die Studienpopulation neben der Einteilung durch den Multiparameter-Index-Test zusätzlich mittels eines modifizierten Algorithmus von Skikne et al. 2011 unterteilt.<sup>68</sup> In dieser Unterteilung wurden nur anämische Patienten berücksichtigt.

In der Gruppe mit ACD ( $n = 46$ ) lag ZnPP-NI (40,7  $\mu\text{mol/mol Häm}$ ) nah an dem Cut-Off von 40  $\mu\text{mol/mol Häm}$ , sodass keine genaue Diskriminierung möglich war.

Bei alleinigem Vorliegen einer IDA ( $n = 16$ ) lagen die ZnPP-Werte über dem Cut-Off von 40  $\mu\text{mol/mol Häm}$  (ZnPP-NI 74,1  $\mu\text{mol/mol Häm}$ ) und erlaubten damit die Diagnose einer IDE.

Die im Durchschnitt gemessenen ZnPP-Werte lagen bei Patienten mit ACD und dem gleichzeitigen Vorliegen einer IDA (n = 22) ebenfalls deutlich über dem Cut-Off von 40  $\mu\text{mol/mol}$  Häm (ZnPP-NI 75,7  $\mu\text{mol/mol}$  Häm). Damit wurde im Durchschnitt auch in dieser Gruppe der Eisenmangel korrekt diagnostiziert.

In den Patientengruppen (n = 30), die im Rahmen der Studie einer anderen Anämieform (z.B. makrozytäre Anämie, Blutungsanämie, renale Anämie) zugeordnet wurden, waren die ZnPP-Werte unter dem Cut-Off von 40  $\mu\text{mol/mol}$  Häm (ZnPP-NI 34,3  $\mu\text{mol/mol}$  Häm). Dies könnte daran liegen, dass bei verschiedenen Anämieformen bei der Erythropoese kein ZnPP entsteht. Als Beispiel wäre die makrozytäre Anämie zu nennen, welche durch einen Vitamin B12- oder einen Folsäuremangel entsteht. Bei dieser wird weiterhin Eisen eingebaut, sodass diese Anämie nicht mit erhöhtem ZnPP als Einzelparameter nachgewiesen werden kann. Für Patienten mit anderen Anämieformen könnte ZnPP aber durchaus zum Ausschluss einer IDE oder IDA herangezogen werden.

#### 4.3. Nutzen von ZnPP-NI im Praxis-Alltag

Für die Erleichterung der potentiellen Anwendung von ZnPP-NI im Alltag wurde ein Algorithmus für die Eingliederung der Patienten erstellt (siehe Abbildung 8). Inflammation scheint z.B. einen marginalen Einfluss auf den ZnPP-Wert zu haben, sodass Patienten mit Inflammation im Durchschnitt im Grenzbereich des Cut-Off-Wertes von 40  $\mu\text{mol/mol}$  Häm ZnPP lagen und damit eine IDE nur eingeschränkt möglich wäre. Auch Patienten mit einer ACD zeigen tendenziell erhöhte ZnPP-Werte. Um das Risiko einer potenziellen Falschdiagnose aufgrund von minimal erhöhten ZnPP-Werten zu vermeiden, wurde eine Übergangszone definiert. Der untere Cut-Off-Wert dieser Übergangszone ( $\leq 40$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm) wurde der Literatur entnommen.<sup>20, 69, 65, 66, 44, 38</sup> Dieser ist vergleichbar mit dem in der Studie mittels ROC Analyse berechneten Wert ( $\leq 40,9$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm). Als oberer Wert der Übergangszone wurde  $\geq 65$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm definiert, da dieser mehr als 95% der unklar diagnostizierten Patienten einschließt. Bei Werten außerhalb der Übergangszone ist eine IDE entweder unwahrscheinlich ( $\leq 40$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm) oder wahrscheinlich ( $\geq 65$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm). Bei ZnPP-NI-Werten innerhalb der

Übergangszonen, die keine eindeutige Aussage zulassen, sollte die Diagnostik mittels anderer Parameter (sTfR und TSAT) verifiziert werden.

Um zu testen, inwiefern eine solche Untergliederung mit den Ergebnissen des Multiparameter-Index-Tests übereinstimmt, wurde der Algorithmus auf die vorliegende heterogene Studienpopulation angewendet. Dabei zeigte sich, dass Diagnosen basierend auf den nicht-invasiven ZnPP-Werten außerhalb der Übergangszonen mit den Ergebnissen des Multiparameter-Index-Tests übereinstimmten (siehe Abbildung 8). Bei 45 Patienten lag ein ZnPP zwischen 40  $\mu\text{mol/mol}$  Häm und 65  $\mu\text{mol/mol}$  Häm. Nur ein Patient lag über 65  $\mu\text{mol/mol}$  Häm.

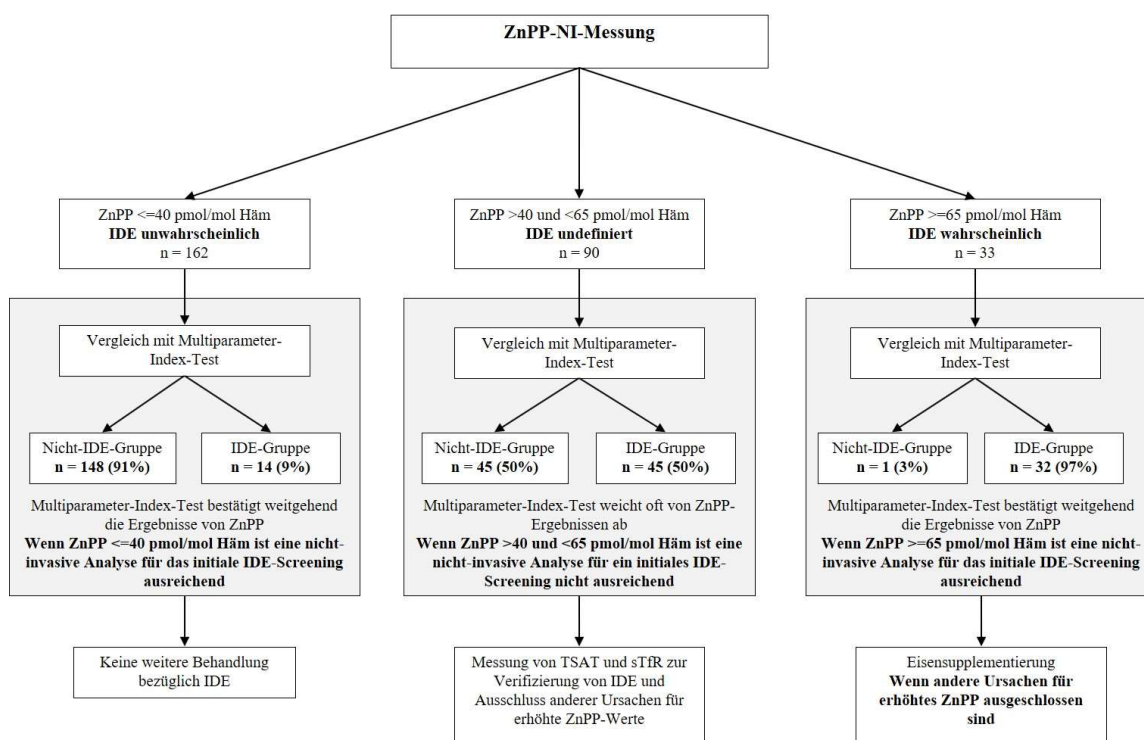


Abbildung 8: Algorithmus für ein initiales Screening

Dargestellt ist der Algorithmus für ein erstes Screening auf eine IDE bei chirurgischen Patienten basierend auf der Messung von ZnPP-NI.

Von 162 Patienten mit einem ZnPP-NI von  $\leq 40$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm wurden 91% ( $n = 148$ ) übereinstimmend als nicht-IDE eingeordnet. Von 33 Patienten mit einem ZnPP-NI von  $\geq 65$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm wurden 97% ( $n = 32$ ) übereinstimmend der IDE-Gruppe zugeordnet. Diese übereinstimmende Zuordnung ermöglicht die Annahme, dass bei

68% (n = 195) der Patienten die Diagnostik allein basierend auf der nicht-invasiven ZnPP-Bestimmung möglich gewesen wäre und eine zusätzliche Blutentnahme und Untersuchung unnötig waren und keine zusätzlichen Informationen lieferten, um eine IDE zu diagnostizieren. ZnPP-NI-Werte in der Übergangszone (>40 und <65  $\mu\text{mol/mol}$  Häm, n = 90; 32%) ließen keine verlässliche Diagnose bezüglich IDE zu (nicht-IDE, n = 45; 50% vs. IDE, n = 45; 50%) und sollten mittels zusätzlicher Parameter überprüft werden (z.B. TSAT und sTfR).

#### 4.4. Limitationen und Zukunft der nicht-invasiven ZnPP-Messung

Patienten, welche weniger als acht Wochen vor der Untersuchung Eisensupplemente erhalten hatten, wurden nicht explizit ausgeschlossen. Dies könnte einen Einfluss auf die Ergebnisse gehabt haben, da ZnPP die Eisenversorgung der letzten 120 Tage widerspiegelt. Durch die niedrige Anzahl an Patienten (n = 6) ist der Einfluss in der untersuchten Studienpopulation als eher gering einzuschätzen. Eine weitere Limitation bezieht sich auf Patienten mit einem funktionellen Eisenmangel. Hier steht zwar ausreichend Eisen zur Verfügung, dieses kann aber nicht freigesetzt werden. Daraus folgt, dass ein funktioneller Eisenmangel nicht allein mit einer ZnPP-Messung diagnostiziert werden kann. Eine zusätzliche Limitation stellt die fehlende Detail-Abklärung von Differentialdiagnosen für mit IDA und ACD diagnostizierten Patienten dar. Dieser sollte als Teil eines optimalen Patient Blood Management erfolgen. Ebenso ist anzuführen, dass der vorgeschlagene IDE Screening Algorithmus an derselben Population getestet wurde, an welcher er erstellt wurde. Es ist also keine Validierung an einer unabhängigen Kohorte erfolgt.

Abschließend ist zu erwähnen, dass auch ein Zinkmangel Einfluss auf die ZnPP-NI-Messung haben könnte. Dieser wird bisher selten laboratorisch diagnostiziert und könnte in zukünftigen Studien näher betrachtet werden.

Der FIDscreen bietet sich zukünftig vor allem im ambulanten Setting oder in Krankenhäusern mit beschränkten (Labor-)Ressourcen an, da eine Ersteinschätzung einer vorliegenden IDE statt einer invasiven Blutentnahme möglich wird. Die wesentliche Stärke der nicht-invasiven ZnPP-Messung mittels



FIDscreen ist die sofortige Eisenmangeldiagnostik ohne Blutentnahme. Wird der im Rahmen der Studie eingeführte Algorithmus angewandt, kann bei Patienten mit einem ZnPP-NI  $\leq 40$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm oder  $\geq 65$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm die klassische Eisenmangel-Labordiagnostik und die Blutentnahme vermieden werden. Zusätzlich ist die innovative Messtechnik mit geringen Kosten pro Messung von Vorteil. Es wird lediglich aus hygienischen Gründen ein Einmalplastikbezug benötigt, dessen Kosten sich auf wenige Cent belaufen.

Insgesamt kann das Gerät die Zeit, welche benötigt wird, einen Eisenmangel zu diagnostizieren, im Gegensatz zur herkömmlichen Blutanalytik deutlich verkürzen und damit die Therapie beschleunigen.

## 5. Zusammenfassung

**Hintergrund:** Patienten, die präoperativ an einer eisendefizitären Erythropoese (IDE) oder Anämie leiden, haben unabhängig von anderen Erkrankungen ein erhöhtes Risiko für postoperative Morbidität. Ein Eisenmangel ist der häufigste Grund für eine Anämie und kann, wenn er frühzeitig diagnostiziert wird, effizient mittels Eisensubstitution behandelt werden. Zink-Protoporphyrin (ZnPP) ist im Vergleich zu klassischen Parametern wie Ferritin ein vielversprechender Parameter, um eine IDE zu diagnostizieren. Bisher wurde der Parameter im Blut gemessen. Nun soll geprüft werden, ob eine nicht-invasive Messung valide Ergebnisse liefert.

**Methoden:** Von März 2017 bis April 2018 wurden am Universitätsklinikum Frankfurt Patienten, die für eine Operation mit einem erwarteten Blutverlust von >10% geplant waren, auf eine IDE untersucht. Die Messung von nicht-invasivem ZnPP (ZnPP-NI) wurde mit der ZnPP-Referenz-Messung des ZnPP/Häm-Verhältnisses mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (ZnPP-HPLC) verglichen. Die analytische Performance beim Nachweis einer IDE wurde mit im Blut gemessenen klassischen Eisenstatusparametern (Ferritin, Transferrinsättigung [TSAT], löslicher Transferrinrezeptor [sTfR] und sTfR-Index [sTfR-F]) verglichen.

**Ergebnis:** In dieser prospektiven Studie konnten 285 chirurgische Patienten präoperativ untersucht werden. Die Limits of Agreement zwischen ZnPP-NI und ZnPP-HPLC betragen 20,3  $\mu\text{mol/mol}$  Häm (95% -Konfidenzintervall 18,0-21,3; Akzeptanzkriterien 24,4  $\mu\text{mol/mol}$  Häm; absolute Bias -0,3  $\mu\text{mol/mol}$  Häm). Die analytische Performance zum Nachweis einer IDE der im Blut gemessenen Parameter war: ZnPP-HPLC (0,95), sTfR (0,90), sTfR-F (0,89), ZnPP-NI (0,88), TSAT (0,87) und Ferritin (0,65).

**Fazit:** Beim Nachweis einer IDE ist ZnPP-NI besser geeignet als Ferritin und vergleichbar valide wie TSAT. Der Vergleich mit einem Multiparameter-Index-Test ergab, dass ZnPP-NI von  $\leq 40$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm den Ausschluss einer IDE ermöglicht und ein Wert von  $\geq 65$   $\mu\text{mol/mol}$  Häm eine IDE wahrscheinlich macht. ZnPP-NI kann daher für eine schnelle Erstbewertung in der IDE-Diagnostik und im Anämie Management ohne Blutentnahme verwendet werden.

## 6. Summary

**Objective:** Preoperative Patients who suffer from iron-deficient erythropoiesis (IDE) or anemia have an increased risk of postoperative morbidity regardless of other diseases. Iron deficiency is the most common form of anemia which is easily treated by iron substitution. Zinc protoporphyrin (ZnPP) is a promising parameter for diagnosing IDE compared to classical parameter like Ferritin. So far, the parameter required blood drawing, now it should be checked whether a non-invasive measurement provides valid results.

**Methods:** From March 2017 to April 2018 patients at the University Hospital of Frankfurt who were planned for an operation with an expected blood loss >10% were screened for IDE. The measurement of non-invasive ZnPP (ZnPP-NI) was compared to the ZnPP reference measurement of the ZnPP/heme ratio using high performance liquid chromatography (ZnPP-HPLC). The analytical performance in detecting IDE was evaluated against traditional iron status parameters (ferritin, transferrin saturation [TSAT], soluble transferrin receptor [sTfR] and sTfR-Index [sTfR-F]), measured in blood.

**Results:** In this prospective study 285 surgical patients could be included in the preoperative measurement. The Limits of agreement between ZnPP-NI and ZnPP-HPLC equalled 20,3  $\mu\text{mol/mol}$  heme (95% confidence interval, 18.0-21.3; acceptance criteria, 24,4  $\mu\text{mol/mol}$  heme; absolute bias, -0,3  $\mu\text{mol/mol}$  heme). The analytical performance for detecting IDE of parameter measured in blood was: ZnPP-HPLC (0.95), sTfR (0.90), sTfR-F (0.89), ZnPP-NI (0.88), TSAT (0.87), Ferritin (0.65).

**Conclusion:** The data proved that ZnPP-NI is as valid in a detection of an IDE as TSAT and even better than Ferritin. The comparison with a multiparameter IDE test revealed that a ZnPP-NI of  $\leq 40$   $\mu\text{mol/mol}$  heme allows the exclusion of IDE, and a value of  $\geq 65$   $\mu\text{mol/mol}$  heme makes an IDE very likely. ZnPP-NI can be used for a fast-initial assessment in IDE-diagnostic and anemia management without blood drawing.

## 7. 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(4):444–454. doi:10.1017/S1368980008002401.
2. Pasricha S-R, Drakesmith H, Black J, Hipgrave D, Biggs B-A. Control of iron deficiency anemia in low- and middle-income countries. *Blood.* 2013;121(14):2607–2617. doi:10.1182/blood-2012-09-453522.
3. Camaschella C. Iron-deficiency anemia. *N Engl J Med.* 2015;372(19):1832–1843. doi:10.1056/NEJMra1401038.
4. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood.* 2014;123(5):615–624. doi:10.1182/blood-2013-06-508325.
5. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med.* 2005;352(10):1011–1023. doi:10.1056/NEJMra041809.
6. Muñoz M, Acheson AG, Auerbach M, et al. International consensus statement on the peri-operative management of anaemia and iron deficiency. *Anaesthesia.* 2017;72(2):233–247. doi:10.1111/anae.13773.
7. Patteril MV, Davey-Quinn AP, Gedney JA, Murdoch SD, Bellamy MC. Functional iron deficiency, infection and systemic inflammatory response syndrome in critical illness. *Anaesth Intensive Care.* 2001;29(5):473–478. doi:10.1177/0310057X0102900504.
8. Muñoz M, Gómez-Ramírez S, Besser M, et al. Current misconceptions in diagnosis and management of iron deficiency. *Blood Transfus.* 2017;15(5):422–437. doi:10.2450/2017.0113-17.
9. Conclusions and Recommendations of the WHO Consultation on Prevention and Control of Iron Deficiency in Infants and Young Children in Malaria-Endemic Areas. *Food Nutr Bull.* 2016;28(4\_suppl4):S621-S627. doi:10.1177/15648265070284S414.
10. WHO. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. <https://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>. Accessed July 20, 2020.

11. Kulier A, Levin J, Moser R, et al. Impact of preoperative anemia on outcome in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Circulation*. 2007;116(5):471–479. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.653501.
12. Karkouti K, Wijeyesundera DN, Beattie WS. Risk associated with preoperative anemia in cardiac surgery. A multicenter cohort study. *Circulation*. 2008;117(4):478–484. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.718353.
13. Beattie WS, Karkouti K, Wijeyesundera DN, Tait G. Risk associated with preoperative anemia in noncardiac surgery. A single-center cohort study. *Anesthesiology*. 2009;110(3):574–581. doi:10.1097/ALN.0b013e31819878d3.
14. Musallam KM, Tamim HM, Richards T, et al. Preoperative anaemia and postoperative outcomes in non-cardiac surgery. A retrospective cohort study. *Lancet*. 2011;378(9800):1396–1407. doi:10.1016/S0140-6736(11)61381-0.
15. Gupta PK, Sundaram A, Mactaggart JN, et al. Preoperative anemia is an independent predictor of postoperative mortality and adverse cardiac events in elderly patients undergoing elective vascular operations. *Ann Surg*. 2013;258(6):1096–1102. doi:10.1097/SLA.0b013e318288e957.
16. Saager L, Turan A, Reynolds LF, Dalton JE, Mascha EJ, Kurz A. The association between preoperative anemia and 30-day mortality and morbidity in noncardiac surgical patients. *Anesth Analg*. 2013;117(4):909–915. doi:10.1213/ANE.0b013e31828b347d.
17. Koch CG, Li L, Sun Z, et al. Magnitude of Anemia at Discharge Increases 30-Day Hospital Readmissions. *J Patient Saf*. 2017;13(4):202–206. doi:10.1097/PTS.000000000000138.
18. Choi YJ, Kim S-O, Sim JH, Hahm K-D. Postoperative Anemia Is Associated with Acute Kidney Injury in Patients Undergoing Total Hip Replacement Arthroplasty. A Retrospective Study. *Anesth Analg*. 2016;122(6):1923–1928. doi:10.1213/ANE.0000000000001003.
19. Pitter FT, Jørgensen CC, Lindberg-Larsen M, Kehlet H. Postoperative Morbidity and Discharge Destinations After Fast-Track Hip and Knee Arthroplasty in Patients Older Than 85 Years. *Anesth Analg*. 2016;122(6):1807–1815. doi:10.1213/ANE.0000000000001190.

20. Jørgensen CC, Kehlet H. Early thromboembolic events  $\leq$ 1week after fast-track total hip and knee arthroplasty. *Thromb Res.* 2016;138:37–42. doi:10.1016/j.thromres.2015.12.025.
21. Sim YE, Wee HE, Ang AL, Ranjakunalan N, Ong BC, Abdullah HR. Prevalence of preoperative anemia, abnormal mean corpuscular volume and red cell distribution width among surgical patients in Singapore, and their influence on one year mortality. *PLoS ONE.* 2017;12(8):e0182543. doi:10.1371/journal.pone.0182543.
22. Fowler AJ, Ahmad T, Phull MK, Allard S, Gillies MA, Pearse RM. Meta-analysis of the association between preoperative anaemia and mortality after surgery. *Br J Surg.* 2015;102(11):1314–1324. doi:10.1002/bjs.9861.
23. Hong FS, Sieradzki N, Pollock C, et al. Prevalence and causes of preoperative anaemia in elective major surgery patients. *Intern Med J.* 2017;47(12):1400–1404. doi:10.1111/imj.13613.
24. Dunne JR, Malone D, Tracy JK, Gannon C, Napolitano LM. Perioperative anemia. An independent risk factor for infection, mortality, and resource utilization in surgery. *J Surg Res.* 2002;102(2):237–244. doi:10.1006/jsre.2001.6330.
25. Clevenger B, Richards T. Pre-operative anaemia. *Anaesthesia.* 2015;70 Suppl 1:20-8, e6-8. doi:10.1111/anae.12918.
26. Kansagra AJ, Stefan MS. Preoperative Anemia. Evaluation and Treatment. *Anesthesiol Clin.* 2016;34(1):127–141. doi:10.1016/j.anclin.2015.10.011.
27. Shander A, Knight K, Thurer R, Adamson J, Spence R. Prevalence and outcomes of anemia in surgery. A systematic review of the literature. *Am J Med.* 2004;116 Suppl 7A:58S-69S. doi:10.1016/j.amjmed.2003.12.013.
28. Macciò A, Madeddu C, Gramignano G, et al. The role of inflammation, iron, and nutritional status in cancer-related anemia. Results of a large, prospective, observational study. *Haematologica.* 2015;100(1):124–132. doi:10.3324/haematol.2014.112813.

29. Batchelor EK, Kapitsinou P, Pergola PE, Kovesdy CP, Jalal DI. Iron Deficiency in Chronic Kidney Disease. Updates on Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *J Am Soc Nephrol*. 2020. doi:10.1681/ASN.2019020213.
30. Abdel-Noor RA, Abu-Zaid MH, Elshweikh SA, Rabee ES, Khedr GE. The Importance of Log Ferritin and Transferrin /Log Ferritin in Differentiating Iron Deficiency Anemia from Anemia of Chronic Disease in Rheumatoid Arthritis Patients. *Egypt J Immunol*. 2019;26(1):141–150. doi:10.1136/annrheumdis-2018-eular.3969.
31. Fraenkel PG. Understanding anemia of chronic disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2015;2015:14–18. doi:10.1182/asheducation-2015.1.14.
32. Pasricha S-R, Low M, Thompson J, Farrell A, De-Regil L-M. Iron supplementation benefits physical performance in women of reproductive age. A systematic review and meta-analysis. *J Nutr*. 2014;144(6):906–914. doi:10.3945/jn.113.189589.
33. Haas JD, Brownlie T. Iron deficiency and reduced work capacity. A critical review of the research to determine a causal relationship. *J Nutr*. 2001;131(2S-2):676S-688S; discussion 688S-690S. doi:10.1093/jn/131.2.676S.
34. Punnonen K, Irjala K, Rajamäki A. Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood*. 1997;89(3):1052–1057. doi:10.1182/blood.V89.3.1052.
35. Cook JD. Diagnosis and management of iron-deficiency anaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2005;18(2):319–332. doi:10.1016/j.beha.2004.08.022.
36. Jan Hastka, Georgia Metzgeroth, Norbert Gattermann. onkopedia Leitlinie. <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/eisenmangel-und-eisenmangelanaemie/@@guideline/html/index.html>. Accessed July 20, 2020.
37. Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torti SV, Torti FM. Ferritin for the clinician. *Blood Rev*. 2009;23(3):95–104. doi:10.1016/j.blre.2008.08.001.
38. Hastka J, Lasserre JJ, Schwarzbeck A, Reiter A, Hehlmann R. Laboratory tests of iron status. Correlation or common sense? *Clin Chem*. 1996;42(5):718–724.

39. Graham EA, Felgenhauer J, Detter JC, Labbe RF. Elevated zinc protoporphyrin associated with thalassemia trait and hemoglobin E. *J Pediatr*. 1996;129(1):105–110. doi:10.1016/s0022-3476(96)70196-8.
40. Hennig G, Homann C, Teksan I, et al. Non-invasive detection of iron deficiency by fluorescence measurement of erythrocyte zinc protoporphyrin in the lip. *Nat Commun*. 2016;7:10776. doi:10.1038/ncomms10776.
41. Hennig, G., Homann, C., Teksan, I. et al. Non-invasive detection of iron deficiency by fluorescence measurement of erythrocyte zinc protoporphyrin in the lip. *Nat Commun*. 2016(7). doi:10.1038/ncomms10776.
42. Akkermans MD, Vreugdenhil M, Hendriks DM, et al. Iron Deficiency in Inflammatory Bowel Disease. The Use of Zincprotoporphyrin and Red Blood Cell Distribution Width. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64(6):949–954. doi:10.1097/MPG.0000000000001406.
43. Grant FKE, Martorell R, Flores-Ayala R, et al. Comparison of indicators of iron deficiency in Kenyan children. *Am J Clin Nutr*. 2012;95(5):1231–1237. doi:10.3945/ajcn.111.029900.
44. Metzgeroth G, Schultheis B, Dorn-Beineke A, Hehlmann R, Hastka J. Zinc protoporphyrin, a useful parameter to address hyperferritinemia. *Ann Hematol*. 2007;86(5):363–368. doi:10.1007/s00277-007-0271-0.
45. Mwangi MN, Maskey S, Andang’o P, et al. Diagnostic utility of zinc protoporphyrin to detect iron deficiency in Kenyan pregnant women. *BMC Med*. 2014;12(1):229. doi:10.1186/PREACCEPT-5758420231368441.
46. Hinchliffe RF, Vora AJ, Lennard L. An assessment of methods used in the investigation of iron status. Findings in a population of young British South Asian children. *J Clin Pathol*. 2016;69(4):345–351. doi:10.1136/jclinpath-2015-203301.
47. Schotten N, Zalpuri S, Pasker-de Jong PCM, et al. Utility of zinc protoporphyrin in management of whole blood donors. *Transfusion*. 2018;58(3):692–700. doi:10.1111/trf.14480.
48. Gammon RR, Kozel T, Morel P, Kendrick C. Evaluation of Iron Stores by Zinc Protoporphyrin Analysis in Blood Donors. *Lab Med*. 2018;49(4):311–315. doi:10.1093/labmed/lmy007.



49. Teshome EM, Prentice AM, Demir AY, Andang'o PEA, Verhoef H. Diagnostic utility of zinc protoporphyrin to detect iron deficiency in Kenyan preschool children. A community-based survey. *BMC Hematol.* 2017;17:11. doi:10.1186/s12878-017-0082-z.
50. Hinchliffe RF, Waddoups VR, Lennard L, Vora AJ. Observations on the measurement of zinc protoporphyrin in both whole blood and washed red cells in young children. *Int J Lab Hematol.* 2018;40(3):e38-e40. doi:10.1111/ijlh.12791.
51. Hastka J, Lasserre JJ, Schwarzbeck A, Strauch M, Hehlmann R. Washing erythrocytes to remove interferents in measurements of zinc protoporphyrin by front-face hematofluorometry. *Clin Chem.* 1992;38(11):2184–2189.
52. Hennig G, Gruber C, Vogeser M, et al. Dual-wavelength excitation for fluorescence-based quantification of zinc protoporphyrin IX and protoporphyrin IX in whole blood. *J Biophotonics.* 2014;7(7):514–524. doi:10.1002/jbio.201200228.
53. Mei Z, Flores-Ayala RC, Grummer-Strawn LM, Brittenham GM. Is Erythrocyte Protoporphyrin a Better Single Screening Test for Iron Deficiency Compared to Hemoglobin or Mean Cell Volume in Children and Women? *Nutrients.* 2017;9(6). doi:10.3390/nu9060557.
54. Yu KH. Effectiveness of zinc protoporphyrin/heme ratio for screening iron deficiency in preschool-aged children. *Nutr Res Pract.* 2011;5(1):40–45. doi:10.4162/nrp.2011.5.1.40.
55. Meybohm P, Herrmann E, Steinbicker AU, et al. Patient Blood Management is Associated With a Substantial Reduction of Red Blood Cell Utilization and Safe for Patient's Outcome. A Prospective, Multicenter Cohort Study With a Noninferiority Design. *Ann Surg.* 2016;264(2):203–211. doi:10.1097/SLA.0000000000001747.
56. Triphaus C, Judd L, Glaser P, et al. Effectiveness of Preoperative Iron Supplementation in Major Surgical Patients with Iron Deficiency. A Prospective Observational Study. *Ann Surg.* 2019. doi:10.1097/SLA.0000000000003643.

57. Cook JD, Skikne BS, Lynch SR, Reusser ME. Estimates of iron sufficiency in the US population. *Blood*. 1986;68(3):726–731.
58. Thomas L, Thomas C. Detection of iron restriction in anaemic and non-anaemic patients. New diagnostic approaches. *Eur J Haematol*. 2017;99(3):262–268. doi:10.1111/ejh.12914.
59. Labbé RF, Rettmer RL, Shah AG, Turnlund JR. Zinc protoporphyrin. Past, present, and future. *Ann N Y Acad Sci*. 1987;514:7–14. doi:10.1111/j.1749-6632.1987.tb48755.x.
60. Labbé RF, Dewanji A. Iron assessment tests. Transferrin receptor vis-à-vis zinc protoporphyrin. *Clin Biochem*. 2004;37(3):165–174. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.10.006.
61. WHO & CDC. assessing the iron status in populations. [https://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/anaemia\\_iron\\_deficiency/9789241596107.pdf](https://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/anaemia_iron_deficiency/9789241596107.pdf). Accessed July 20, 2020.
62. Deutsche Gesellschaft für Anästhesie und Intensivmedizin (DGAI). Diagnostik und Therapie der Präoperativen Anämie - S3 Leitlinie. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/001-024I\\_S3\\_Praeoperative-Anaemie\\_2018-04.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/001-024I_S3_Praeoperative-Anaemie_2018-04.pdf). Accessed July 20, 2020.
63. Kotzé A, Harris A, Baker C, et al. British Committee for Standards in Haematology Guidelines on the Identification and Management of Pre-Operative Anaemia. *Br J Haematol*. 2015;171(3):322–331. doi:10.1111/bjh.13623.
64. Beguin Y. Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clinica Chimica Acta*. 2003;329(1-2):9–22. doi:10.1016/S0009-8981(03)00005-6.
65. Hastka J, Lasserre JJ, Schwarzbeck A, Hehlmann R. Central role of zinc protoporphyrin in staging iron deficiency. *Clin Chem*. 1994;40(5):768–773. doi:10.1093/clinchem/40.5.768.
66. Hastka J, Lasserre JJ, Schwarzbeck A, Strauch M, Hehlmann R. Zinc protoporphyrin in anemia of chronic disorders. *Blood*. 1993;81(5):1200–1204. doi:10.1182/blood.v81.5.1200.1200.

67. Cappellini MD, Comin-Colet J, Francisco A de, et al. Iron deficiency across chronic inflammatory conditions. International expert opinion on definition, diagnosis, and management. *Am J Hematol.* 2017;92(10):1068–1078. doi:10.1002/ajh.24820.
68. Skikne BS, Punnonen K, Caldron PH, et al. Improved differential diagnosis of anemia of chronic disease and iron deficiency anemia. A prospective multicenter evaluation of soluble transferrin receptor and the sTfR/log ferritin index. *Am J Hematol.* 2011;86(11):923–927. doi:10.1002/ajh.22108.
69. Worwood M. The laboratory assessment of iron status--an update. *Clinica Chimica Acta.* 1997;259(1-2):3–23. doi:10.1016/s0009-8981(96)06488-1.
70. Ho C-H. The diagnostic role of serum transferrin receptor in patients with various anemia. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei).* 2002;65(2):55–60.
71. Nguyen LT, Buse JD, Baskin L, Sadrzadeh SMH, Naugler C. Influence of diurnal variation and fasting on serum iron concentrations in a community-based population. *Clin Biochem.* 2017;50(18):1237–1242. doi:10.1016/j.clinbiochem.2017.09.018.
72. Nadeem S, Shah S, Iqbal T, Iqbal Z, Hanif E. Serum transferrin receptor, serum ferritin and serum transferrin receptor-ferritin index in adults with iron deficiency anaemia. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2011;23(3):44–46.
73. Casabellata G, Di Santolo M, Banfi G, Stel G, Gonano F, Cauci S. Evaluation of iron deficiency in young women in relation to oral contraceptive use. *Contraception.* 2007;76(3):200–207. doi:10.1016/j.contraception.2007.04.016.
74. Magge H, Sprinz P, Adams WG, Drainoni M-L, Meyers A. Zinc protoporphyrin and iron deficiency screening. Trends and therapeutic response in an urban pediatric center. *JAMA Pediatr.* 2013;167(4):361–367. doi:10.1001/jamapediatrics.2013.751.
75. Wong SS, Qutishat AS, Lange J, Gornet TG, Buja LM. Detection of iron-deficiency anemia in hospitalized patients by zinc protoporphyrin. *Clinica Chimica Acta.* 1996;244(1):91–101. doi:10.1016/0009-8981(95)06200-9.

## Anhang

Ethikvotum (468/16): Trail Registration: Clinical Trails.gov, NCT03071497.



Universitätsklinikum · Theodor-Stern-Kai 7 · 60590 Frankfurt am Main

Herr  
Prof. Dr. Patrick Meybohm

Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie  
KAIS

**Ihre Geschäftsnummer: 468/16 (Bitte stets angeben)**  
**Titel:** Diagnostik eines Eisenmangels mittels nicht-invasiver Messung von Zink-Protoporphyrin-IX bei chirurgischen Patienten

### VOTUM

Sehr geehrter Herr Professor Meybohm,  
die Ethik-Kommission des Fachbereichs Medizin der J. W. Goethe-Universität Frankfurt am Main hat sich am 12.12.2016 mit Ihrem vorgenannten Antrag befasst und um einige Änderungen und Ergänzungen in Protokoll und Patienteninformation und Einwilligungserklärung gebeten.

Nachdem Sie mit Schreiben vom 04.01.2017, eingegangen am 12.01.2017 die entsprechend geänderten Fassungen der Studienunterlagen vorgelegt haben, kann ich Ihnen mitteilen, dass nunmehr keine berufsrechtlichen und berufsethischen Bedenken gegen die Durchführung der oben genannten Studie bestehen.

### Wir bewerten die Studie zustimmend.

Eine Information über den Abschluss der Studie wird erbeten.

Nachfolgend sind die Mitglieder der Ethik-Kommission aufgeführt, die in der Sitzung am 12.12.2016 die o. g. Studie beurteilt haben:

### Ethik-Kommission

**Vorsitz:**  
Prof. Dr. Sebastian Harder

**Geschäftsführung:**  
Dr. Annette Malsch

**Bearbeitung des Vorgangs:**  
Malsch / Horbach

Dienstag, 7. Februar 2017

### Geschäftsstelle

**Sekretariat:**  
Angela Vardopoulos  
Tel.: 069 / 6301-3758  
Fax: 069 / 6301-83434  
E-Mail: [ethikkommission@kgu.de](mailto:ethikkommission@kgu.de)

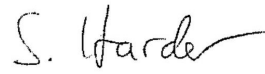
**Mitarbeiter/innen:**  
Durchwahl  
Kevin Horbach Tel.: 4552  
Myriam Ruggeri Tel.: 7239  
Sabine Stemler Tel.: 3884  
Fax: 83434  
E-Mail: [ethikkommission@kgu.de](mailto:ethikkommission@kgu.de)

<http://ethik-kommission.klinik.uni-frankfurt.de>

**Lieferadresse:**  
Ethik-Kommission des  
Fachbereichs Medizin  
Universitätsklinikum der  
Goethe-Universität  
Theodor-Stern-Kai 7  
Haus 1, 2, OG, Zi. 223/224  
60596 Frankfurt am Main

**Öffnungszeiten f. Anlieferungen**  
Montag bis Donnerstag:  
10:00 bis 16:00 Uhr  
Freitag:  
9:00 bis 13:00 Uhr

Mit freundlichen Grüßen



Prof. Dr. med. Sebastian Harder  
Vorsitzender der Ethik-Kommission

Die Stellungnahme der Ethik-Kommission erfolgte aufgrund folgender eingereichter  
Unterlagen:

<b>Dokument:</b>	<b>Version/ Nr.:</b>	<b>datiert vom:</b>
Protokoll	02	04.01.2017
Patienteninformation und Einwilligungserklärung	02	04.01.2017
CRF „Studieneinschluss“	02	04.01.2017
Angaben zur Kompensation der Studienteilnehmer	01	28.11.2016

## Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

*Diagnostik einer eisendefizitären Erythropoese mittels nicht-invasiver Messung von Zink-Protoporphyrin-IX bei chirurgischen Patienten*

in der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie unter Betreuung und Anleitung von Prof. Dr. med. Patrick Meybohm mit Unterstützung durch Dr. rer. Nat. Christoph Füllenbach, Dr. rer. nat. Christian Homann und Dr. rer. nat. Georg Hennig ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Vorliegende Ergebnisse der Arbeit wurden in folgendem Paper veröffentlicht:

Christoph Füllenbach, Philipp Stein, **Patricia Glaser**, Chris Triphaus, Simone Lindau, Suma Choorapoikayil, Elke Schmitt, Kai Zacharowski, Gudrun Hintereder, Georg Hennig, Christian Homann, Herbert Stepp, Gabriela H. Spahn, Alexander Kaserer, Andreas Schedler, Patrick Meybohm, Donat R. Spahn. Screening for iron deficiency in surgical patients based on noninvasive zinc protoporphyrin measurements. *Transfusion*. 2020;60(1):62–72. doi:10.1111/trf.15577; Impact Factor: 10,13.

---

(Ort, Datum)

---

(Unterschrift)

## Curriculum vitae

### Lebenslauf Patricia Anna Glaser

#### Persönliches

---

[REDACTED]  
[REDACTED]  
[REDACTED]  
[REDACTED]

#### Studium der Humanmedizin

---

Seit 02/2020	Assistenzärztin in Weiterbildung für Anästhesiologie an der Asklepios Klinik Langen
11/2019	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
09/2015	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2013 – 11/2019	Humanmedizinstudium an der J.W. Goethe Universität Frankfurt am Main

#### Schulbildung

---

09/2004 – 05/2013	Willy-Brandt-Gymnasium Oer-Erkenschwick Abschluss mit der allgemeinen Hochschulreife
09/2000 – 07/2004	Clemens-Höppe-Grundschule Oer-Erkenschwick

#### Publikationen

---

Füllenbach C, Stein P, **Glaser P**, et al. Screening for iron deficiency in surgical patients based on noninvasive zinc protoporphyrin measurements. *Transfusion*. 2020;60(1):62–72.

Triphaus C, Judd L, **Glaser P**, et al. Effectiveness of Preoperative Iron Supplementation in Major Surgical Patients with Iron Deficiency. A Prospective Observational Study. *Ann Surg*. 2019; Online ahead of print.

Füllenbach C, Triphaus C, **Glaser P**, et al. Iron supplementation in a case of severe iron deficiency anaemia. *Br J Anaesth*. 2018;121(2):502–504.

Frankfurt, den



## **Danksagung**

Mein Dank gilt Prof. Dr. med. Patrick Meybohm für die Überlassung des Themas, sowie die sehr gute Betreuung der Arbeit.

Außerdem bedanke ich mich bei Dr. rer. nat. Christoph Füllenbach für die ausgezeichnete Hilfe bei der Auswertung, sowie für die herausragende Unterstützung bei der Studie und der unendlichen Korrektur meiner Entwürfe.

Des Weiteren danke ich Frau Sabine Isik, welche die PBM-Ambulanz im Universitätsklinikum Frankfurt betreut und die Durchführung der Studie tatkräftig intensiv unterstützt hat.

Dr. rer. nat. Christian Homann und Dr. rer. nat. Georg Hennig gebührt mein Dank für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der Daten und der Stellung des FIDscreen.

Ich bedanke mich bei allen Freunden, welche mir bei der Korrektur und der Verfassung der Arbeit zur Seite standen, mir Mut gemacht haben und mich unterstützt haben. Ein besonderer Dank gilt Heiner, welcher immer hinter mir gestanden hat, mich bestärkt hat und mir fachmännisch bei „Computer-Problemen“ geholfen hat.

Abschließend geht der größte Dank an meine Familie. Danke, Opa, dass du schon vor meinem Studium meinen Wunsch bestärkt und immer daran geglaubt hast, dass aus mir eine Ärztin wird, auch wenn du leider meine Promotion nicht miterleben konntest.

Danke, Mama und Papa, für das beharrliche Nachfragen und dadurch Vorantreiben des Schreibprozesses und für die liebevolle, bestärkende Unterstützung nicht nur im Rahmen der Doktorarbeit. Danke an Fabian für die ehrlichen und aufmunternden Worte.