

Erythropoiese und Serumerythropoietinkonzentration vor und nach Nierenallotransplantation

G. Keusch^a, A. Kurtz^b, J. Fehr^a, K.-U. Eckardt^b, D. Frei^a, C. Bauer^b, U. Binswanger^a

^aDepartement für Innere Medizin, Universitätsspital; ^bPhysiologisches Institut der Universität Zürich, Schweiz

Als Ursache der renalen Anämie werden ein relativer Erythropoietin (EPO)-Mangel, eine Hemmung der Erythropoiese durch Urämietoxine oder EPO-Inhibitoren sowie Hämolyse diskutiert [1, 2]. Nach erfolgreicher Nierentransplantation (NTP) kommt es bei den meisten Patienten innerhalb von wenigen Monaten zur Korrektur der vorbestehenden renalen Anämie [3, 4, 6]. Wie in früheren Untersuchungen gezeigt werden konnte, tritt schon eine Woche nach NTP eine Retikulozytose auf [4, 6]. Befunde über Serum-EPO-Konzentrationen nach NTP liegen wegen methodischen Schwierigkeiten der EPO-Bestimmung jedoch nur vereinzelt und meist bei nur wenigen Patienten vor [4–6].

In der vorliegenden Untersuchung wurden bei einem grösseren Patientenkollektiv die Serum-EPO-Konzentrationen mit einem sensitiven Radioimmunoassay [7] und die hämatologischen Parameter vor und repetitiv nach NTP bestimmt, um einen Einblick in die Dynamik der Erythropoiese und den Verlauf der EPO-Konzentrationen nach NTP zu gewinnen.

Patienten und Methode

Bei 50 konsekutiven Nierenallotransplantatempfängern wurden unmittelbar vor und 1, 2, 3, 6 und 9 Monate nach NTP, Serum-EPO, Hämoglobin, Hämatokrit, Retikulozyten, Erythrozyten (EC)-Kreatin und Serumferritin untersucht. Die Bestimmung des EPO im Serum erfolgte mittels eines sensitiven Radioimmunoassays [7]. Bei Normalpersonen mit normalen Hämatokritwerten betragen die EPO-Konzentrationen im Serum 15–25 mU/ml. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 5 mU/ml. Die Inter- und Intraassayvariationskoeffizienten betragen 7 bzw. 2%. Die hämatologischen Parameter wurden mittels Routinemethoden bestimmt. Die Retikulozyten sind als korrigierte Werte [(Retikulozyten % × Hämatokrit):45] angegeben. Alle Werte sind als Mittelwerte ± 1 SD angegeben. Die statistischen Analysen erfolgten mittels des gepaarten und ungepaarten t-Testes.

Das mittlere Alter der Patienten betrug 42 ± 14 Jahre mit einer Verteilung von 17 bis 62 Jahre. 18 Patienten hatten als renale Grundkrankheit eine chronische Glomerulonephritis, 7 Patienten eine Analgetikanephropathie, 5 Patienten eine chronische Pyelonephritis, 5 Patienten eine zystische Nierenerkrankung (2 Patienten Zystennieren vom adulten Typ, 3 Patienten medulläre Zystennieren), 4 Patienten eine diabetische Nephropathie und 11 Patienten andere oder unbekannte Nierenerkrankungen. Zum Zeitpunkt der NTP hatten 40 Patienten beide Eigennieren in situ, 2 Patienten beide Eigennieren und ein nicht funktionierendes Transplantat, 4 Patienten eine Eigenniere, 3 Patienten ein nicht funktionierendes Transplantat und 1 Patient war anephrisch. 37 Patienten (74%) wurden vor NTP während 10–144 Monaten mittels Hämodialyse und 12 Patienten (24%) während 6–66 Monaten mittels CAPD behandelt. Bei 1 Patienten wurde die NTP ohne vorgängige Dialysebehandlung vorgenommen. 4 Hämodialysepatienten wurden vor NTP mit rekombinantem humanem EPO (r-HuEPO) behandelt. Bei 39 Patienten handelte es sich um die erste, bei 10 um die zweite und bei 1 Patienten um die dritte NTP. Die immunosuppressive Basistherapie in der posttransplantären Periode erfolgte mit Prednison, Azathioprin und Cyclosporin.

Resultate

Vor NTP fanden sich folgende hämatologische Parameter: Hämoglobin $9,7 \pm 2,4$ g/dl; Hämatokrit $29 \pm 8\%$; korrigierte Retikulozyten $15 \pm 8\%$. Der Serum-EPO-Gehalt betrug 29 ± 23 (11–131) mU/ml. Wie Abbildung 1 zeigt, hatten Patienten mit zystischer Nierenerkrankung sowie Hämodialysepatienten, welche mit r-HuEPO behandelt wurden, im Vergleich zu den übrigen Patienten signifikant höhere Hämoglobin- und Hämatokritwerte. CAPD-Patienten hatten verglichen mit den Hämodialysepatienten ohne zystische Nierenerkrankung höhere Hämoglobinwerte. Die Retikulozytenwerte waren bei den mit r-HuEPO behandelten Hämodialysepatienten im Vergleich zu den anderen 3 Untergruppen signifikant höher. Patienten mit zystischer Nierenerkrankung hatten

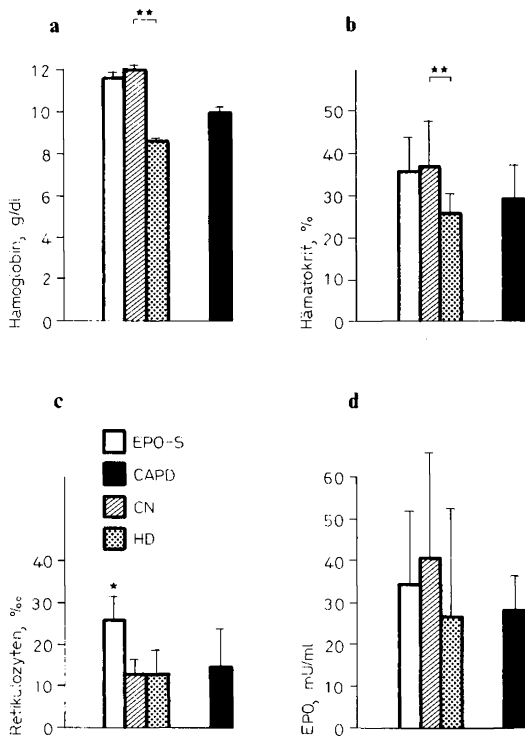


Abb. 1. Hämoglobin (a), Hämatokrit (b), Retikulozyten korrigiert (c) und Serum-EPO (d) vor NTP bei verschiedenen Patienten-Gruppen. Mittelwert \pm SD. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$. EPO-S = mit r-HuEPO behandelte Hämodialysepatienten; (n = 4); CN = Hämodialysepatienten mit zystischer Nierenerkrankung (n = 5); HD = Hämodialysepatienten ohne zystische Nierenerkrankung (n = 28); CAPD = CAPD-Patienten ohne zystische Nierenerkrankung (n = 12).

mit 41 ± 25 mU/ml deutlich höhere Serum-EPO-Konzentrationen im Vergleich zu Hämodialysepatienten ohne zystische Nierenerkrankung (27 ± 26 mU/ml) und zu den CAPD-Patienten (25 ± 15 mU/ml). Bei den mit r-HuEPO behandelten Hämodialysepatienten betrug die Serum-EPO-Konzentration 35 ± 17 mU/ml.

Die Beziehung zwischen der Serum-EPO-Konzentration und dem Hämatokritwert bei den einzelnen Patienten vor NTP ist auf Abbildung 2 wiedergegeben. Der Hämatokrit variierte zwischen 17 und 47,5%. Zwischen dem Hämatokritwert und der Serum-EPO-Konzentration bestand eine positive exponentielle Korrelation ($r = 0,31$; $p < 0,05$). Bei 15 der 50 Patienten lag die Serum-EPO-Konzentration nach der von Erslev et al. [8] angegebenen Beziehung zwischen EPO und Hämatokrit bei nicht renalen Anämien im Normbereich; die übrigen

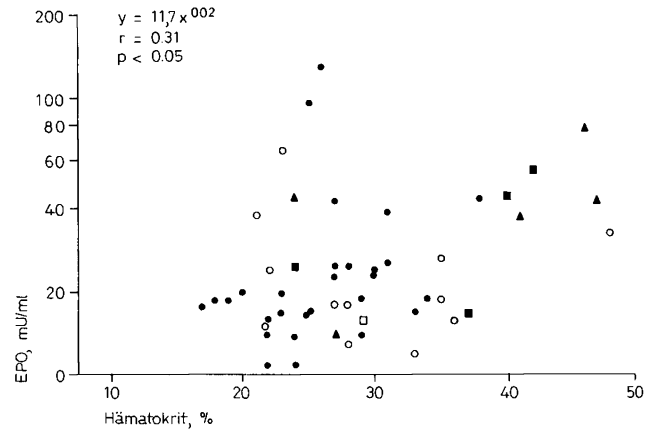


Abb. 2. Korrelation zwischen Hämatokrit und Serum-EPO-Konzentration vor NTP. Patienten: ● = Hämodialyse; ○ = CAPD; ▲ = zystische Nieren; □ = nicht dialysiert; ■ = EPO-Studie.

Patienten (70%) hatten im Verhältnis zum Hämatokrit eine zu tiefe EPO-Konzentration.

Verlauf nach NTP

Von 36 Patienten mit einem funktionierenden Nierentransplantat, welche mindestens während 6 Monaten beobachtet werden konnten, normalisierte sich die Hämoglobinkonzentration in 25 Fällen (69%). 3 Patienten erreichten normale Hämoglobinkonzentrationen bereits im 1., 7 Patienten im 2., 12 Patienten im 3. und 3 Patienten im 6. Monat nach Organübertragung. Bei 11 Patienten (31%) persistierte eine leichte Anämie mit einer Hämoglobinkonzentration von $12 \pm 1,3$ (9,8–13,8) g/dl. Die Serum-EPO-Konzentrationen waren jedoch in beiden Patientengruppen mit 28 ± 22 und 26 ± 19 mU/ml vergleichbar. Von den 4 Patienten, welche während der Dialysebehandlung mit r-HuEPO behandelt wurden, erreichte nur 1 Patient innerhalb der ersten 6 Monate nach NTP einen normalen Hämoglobinwert.

Bei 24 Patienten, welche ein primär funktionierendes Nierentransplantat und während der gesamten Beobachtungsperiode ein Serumkreatinin unter $200 \mu\text{mol/l}$ hatten, stieg innerhalb eines Monats nach NTP die Serum-EPO-Konzentration signifikant von 23 ± 10 auf 45 ± 31 mU/ml an. In derselben Zeitperiode war ein 4facher Anstieg der Retikulozyten von 9 ± 5 auf $38 \pm 14\%$, jedoch nur eine geringgradige Zunahme des Hämatokrits von 28 ± 7 auf $31 \pm 7\%$ zu beobachten. Im weiteren Verlauf kam es bis zum 3. Monat nach NTP zu einem signifikanten Abfall sowohl der Retikulozyten auf $28 \pm 10\%$, als auch der Serum-EPO-Konzentration auf

25 ± 18 mU/ml. Im 6. und 9. Monat nach NTP änderten sich die EPO-Konzentrationen und die Retikulozytenwerte nicht mehr signifikant. Im Gegensatz dazu stiegen der Hämatokritwert und die Hämoglobinkonzentrationen bis zum 9. Monat nach NTP stetig bis auf Werte von $44 \pm 5\%$ bzw. $14 \pm 1,5$ g/dl an (Abb. 3).

Bei 3 Patienten mit primär funktionierendem Transplantat, bei denen im 1. Monat nach NTP in wöchentlichen Intervallen die hämatologischen Parameter und das Serum-EPO bestimmt wurden, konnte schon nach einer Woche eine signifikante Zunahme des EPO von $14,7 \pm 1,2$ auf $25 \pm 5,6$ mU/ml beobachtet werden, während die Retikulozyten verzögert erst in der 2. bis 3. Woche anstiegen.

Im 1. Monat nach NTP waren die EC-Kreatinwerte mit $160 \pm 56 \mu\text{g}/10^{10}$ Erythrozyten (Normwert 37–93) deutlich erhöht und normalisierten sich bis zum 6. Monat nach NTP wieder. Zwischen den Retikulozytenwerten und dem EC-Kreatin fand sich eine signifikante positive Korrelation ($r=0,44$; $p<0,001$). Bei 17 Patienten, bei denen die Serumferritinkonzentration bestimmt wurden, kam es innerhalb von 6 Monaten zu einem signifikanten Abfall von 222 ± 161 auf 121 ± 99 ng/ml.

Diskussion

Als Hauptfaktoren für die Entstehung der renalen Anämie werden neben einer Hämolyse ein relativer EPO-Mangel und eine zusätzliche Hemmung der Erythropoese durch Urämietoxine oder EPO-Inhibitoren diskutiert [1, 2, 11, 12]. In der vorliegenden Untersuchung wurden die Serum-EPO-Konzentrationen bei 50 Transplantatempfängern vor und nach NTP mittels eines sensitiven Radioimmunoassays bestimmt. Im Verhältnis zum Hämatokrit hatten vor NTP 70% der Patienten eine zu tiefe EPO-Konzentration (Abb. 1). Wie die Untersuchungen von Erslev et al. [8] gezeigt haben, besteht bei nicht renalen Anämien zwischen Hämatokritwert und EPO-Konzentration im Serum eine negative Korrelation; bei Hämatokritwerten unter 20% sind die EPO-Werte um das 100fache erhöht [8]. Bei 30% unserer Patienten waren die Serum-EPO-Konzentrationen im Verhältnis zum Hämatokrit im Normbereich. Im Gegensatz zu nicht renalen Anämien fanden wir jedoch wie Besarab et al. [6] zwischen dem Schweregrad der Anämie und den Serum-EPO-Konzentrationen eine schwache signifikante positive Korrelation.

In fetalen Mäuseleberzellkulturen und menschlichen Knochenmarkkulturen konnten von verschiedenen Un-

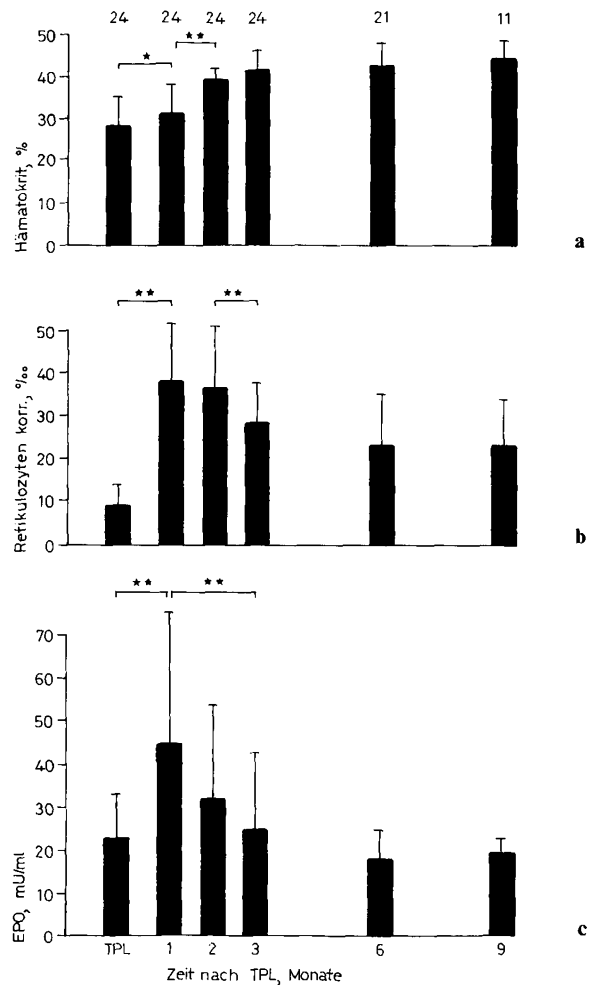


Abb. 3. Hämatokrit (a) Retikulozyten korrigiert (b) und Serum-EPO (c) vor und nach NTP bei 24 Patienten mit stabiler Transplantatfunktion (Serumkreatinin $< 200 \mu\text{mol/l}$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

tersuchern eine Hemmung von erythroiden Progenitorzellkolonien durch urämisches Serum nachgewiesen werden [2, 11, 12]. Andererseits weist die positive Beziehung zwischen Hämatokrit und Serum-EPO-Konzentration darauf hin, dass im urämischen Milieu EPO die Erythropoese noch zu stimulieren vermag. Im Tiermodell kann im Zustand der Urämie durch Infusion von EPO-reichem Plasma der Hämatokrit normalisiert werden [14]. Es war deshalb zu erwarten, dass bei renalen Anämien die Verabreichung von r-HuEPO zur Normalisierung des Hämatokrits führt [15]. Wir konnten die Beobachtung anderer Autoren bestätigen, dass Patienten mit zystischer Nierenerkrankung höhere Hämoglobin-, Hämatokrit- und EPO-Werte aufweisen [6, 9]. Obwohl CAPD-Patienten im Vergleich zu den Hämodialysepatienten höhere Hä-

moglobin- und Hämatokritwerte hatten, waren die Serum-EPO-Konzentrationen in beiden Patientengruppen vergleichbar. Die Angaben über EPO-Werte bei CAPD-Behandlung sind in der Literatur kontrovers. Während Wideröe et al. [11], Chandra et al. [9] und Rich und Kubanek [13] über eine Zunahme der EPO-Konzentration unter CAPD-Behandlung berichteten, fanden McGonigle et al. [12] zwischen Hämodialyse- und CAPD-Patienten keinen Unterschied in der Serum-EPO-Konzentration, obwohl CAPD-Patienten höhere Hämatokritwerte aufwiesen [10]. McGonigle et al. [12] fanden eine direkte Beziehung zwischen Hämatokrit und dem Ausmass der Hemmung der Erythroidprogenitorzellbildung, was auf eine bessere Clearance von EPO-Inhibitoren durch die CAPD hinweisen könnte.

Nach erfolgreicher NTP fanden wir im 1. Monat nach NTP eine Verdoppelung der Serum-EPO-Konzentration und einen 4fachen Anstieg der Retikulozyten, während der Hämatokrit nur geringgradig um 14% anstieg. Als Ausdruck der gesteigerten Erythropoese zeigten die EC-Kreatinwerte ein gleichsinniges Verhalten mit den Retikulozyten. Rejman et al. [4] beobachteten einen Anstieg des Serum-EPO schon am 1.–3. postoperativen Tag, was darauf hinweist, dass die transplantierte Niere im anämischen Empfänger unmittelbar zu einer erhöhten EPO-Sekretion fähig ist. In Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen erfolgte im späteren Verlauf bei weiterhin steigendem Hämatokritwert nach dem 1. Monat eine langsame Abnahme sowohl der Serum-EPO-Konzentration als auch der Retikulozyten [4, 6]. In der späteren Periode nach NTP (mehr als 3 Monate nach NTP) wurden bei normalen Hämatokritwerten wieder Serum-EPO-Werte wie vor NTP erreicht. Im Vergleich zu den Werten vor NTP waren die Retikulozyten aber deutlich erhöht, was auf eine bessere Stimulierung von Erythrozytenvorläuferzellen bei gleichen EPO-Konzentrationen hinweist. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass die Korrektur der Anämie nach erfolgreicher NTP teils Folge der Elimination von möglichen Inhibitoren der Erythropoese durch die transplantierte Niere sein könnte.

Bei 25 von 36 Patienten (69%) mit einer Beobachtungszeit von mehr als 6 Monaten normalisierte sich die Anämie, während bei 11 Patienten eine leichte Anämie persistierte. In beiden Patientengruppen waren die Serum-EPO-Werte jedoch vergleichbar. Die ungenügende Anämiekorrektur kann bei diesen Patienten somit nicht durch ungenügende EPO-Sekretion erklärt werden.

Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass bei den meisten Patienten vor NTP, gemessen am Hämatokrit, zu

tiefe EPO-Konzentrationen im Serum vorhanden waren; zwischen Hämatokrit und EPO bestand eine schwache positive Korrelation. Nach erfolgreicher NTP kam es innerhalb eines Monats zu einem signifikanten Anstieg der EPO-Konzentration, welche im weiteren Verlauf bei Korrektur der Anämie entsprechend einer normalen Feedbackregulation wieder abnahm.

Zusammenfassung

Hämatologische Parameter und Serum-EPO-Konzentrationen wurden bei 50 konsekutiven Nierentransplantatempfängern (Alter 42 ± 14 Jahre), 37 mittels Hämodialyse und 12 mittels CAPD vorbehandelt, untersucht. Befunde vor NTP umfassten: Hämoglobin $9,7 \pm 2,4$ g/dl; Hämatokrit $29 \pm 8\%$; Retikulozyten korrigiert $15 \pm 8\%$. Der Serum-EPO-Gehalt betrug 29 ± 23 (11–131) mU/ml (Normwert 15–25 mU/ml bei nicht anämischen Personen). Insgesamt hatten 35 Patienten im Verhältnis zum Hämatokrit eine zu tiefe EPO-Konzentration. Hämodialysepatienten mit zystischer Nierenerkrankung und Patienten, welche mit r-HuEPO behandelt wurden, hatten verglichen mit den übrigen Patienten höhere EPO-Konzentrationen sowie höhere Hämoglobin- und Hämatokritwerte. Zwischen dem Hämatokritwert und der Serum-EPO-Konzentration bestand eine schwache positive exponentielle Korrelation ($r = 0,31$; $p < 0,05$). Nach erfolgreicher NTP stiegen im 1. Monat die Serum-EPO-Konzentration signifikant auf 45 ± 31 mU/ml und die Retikulozytenwerte auf $38 \pm 14\%$ an, während der Hämatokrit nur geringfügig von 28 ± 7 auf $31 \pm 7\%$ zunahm. Im weiteren Verlauf senkten sich die EPO-Konzentration und die Retikulozytenwerte wieder und wurden im 3., 6. und 9. Monat nach NTP wie folgt gemessen: EPO 25 ± 18 , 18 ± 7 , 19 ± 4 mU/ml; Retikulozyten 28 ± 10 , 23 ± 12 , $23 \pm 11\%$. Bei 25 von 36 Patienten mit einem funktionierenden Transplantat und einer Beobachtungszeit von > 6 Monaten korrigierte sich die Anämie, während sie bei den übrigen 11 Patienten persistierte (Hämoglobin $12 \pm 1,3$ g/dl). Die EPO-Konzentrationen waren jedoch in beiden Patientengruppen mit 28 ± 22 und 26 ± 19 mU/ml vergleichbar.

Erythropoiesis and Serum Erythropoietin Level before and after Renal Allotransplantation

Hematological parameters and serum erythropoietin (EPO) levels were measured before and sequentially after grafting in 50 consecutive cadaver renal transplant recipients. EPO was estimated using a sensitive radioimmunoassay. Values for nonanemic controls were 15–25 mU/ml. Mean hematological values before transplantation were as follows: hemoglobin 9.7 ± 2.4 g/dl; hematocrit $29 \pm 8\%$; corrected reticulocytes count $15 \pm 8\%$ and EPO 29 ± 23 (11–131) mU/ml. In the entire studied population, 35 patients had inadequate low EPO levels for their degree of anemia. In the whole population, there was a significant positive exponential correlation between EPO and hematocrit ($r = 0.31$; $p < 0.05$). In the subset of patients with underlying cystic kidney disease and in hemodialysis patients treated with recombinant human EPO, hemoglobin, hematocrit and EPO levels were higher when compared to hemodialysis

or CAPD patients with other kidney diseases. Following successful renal transplantation, EPO increased to 45 ± 31 mU/ml at 1 month and then decreased to 25 ± 18 , 18 ± 7 and 19 ± 4 mU/ml at 3, 6 and 9 months, respectively. Within the 1st month after transplantation there was a 4-fold increase in reticulocytes from 9 ± 5 to $38 \pm 14\%$, followed by a slow decrease over the next several months to $23 \pm 11\%$ at 9 months. In contrast, the hematocrit level rose more gradually from 28 ± 7 to $44 \pm 6\%$ at 9 months.

In 25 of 36 patients with a functioning graft who were followed for more than 6 months, anemia was corrected and 11 patients remained slightly anemic with a mean hematocrit level of $36 \pm 4\%$. EPO levels were comparable in both subgroups of patients: 28 ± 22 and 26 ± 19 mU/ml, respectively.

Literatur

- 1 Eschbach, J.W.; Adamson, J.W.: Anemia of endstage renal disease (ESRD). *Kidney int.* 28:1 (1985).
- 2 McGonigle, R.J.S.; Wallin, J.D.; Shaddock, R.K.; Fisher, J.W.: Erythropoietin deficiency and inhibition of erythropoiesis in renal insufficiency. *Kidney int.* 25:437 (1984).
- 3 Wickre, C.G.; Norman, D.J.; Bennison, A.; Barry, J.M.; Benett, W.M.: Post-transplant erythrocytosis: a review of 53 cases. *Kidney int.* 23:731 (1983).
- 4 Rejman, A.S.M.; Grimes, A.J.; Cotes, P.M.; Nansell, M.A.; Joekes, A.M.: Correction of anemia following renal transplantation: serial changes in serum immunoreactive erythropoietin, absolute reticulocytes count and red-cell creatine levels. *Br. J. Haemat.* 61:421 (1985).
- 5 Denny, W.F.; Flannagan, W.J.; Zukowski, C.J.: Serial erythropoietin studies in patients undergoing renal transplantation. *J. Lab. clin. Med.* 61:386 (1966).
- 6 Besarab, A.; Caro, J.; Jarrell, B.E.; Francos, G.; Erslev, A.J.: Dynamics of erythropoiesis following renal transplantation. *Kidney int.* 32:526 (1987).
- 7 Eckardt, K.-U.; Kurtz, A.; Hirth, P.; Scigalla, P.; Wiczorek, L.; Bauer, C.: Evaluation of the stability of human erythropoietin in samples for radioimmunoassay. *Klin. Wschr.* 66:241 (1988).
- 8 Erslev, A.J.; Wilson, J.; Caro, J.: Erythropoietin titers in anemic, non-uremic patients. *J. Lab. clin. Med.* 109:429 (1987).
- 9 Chandra, M.; Miller, M.E.; Garcia, J.F.; Mossey, R.T.; McVicar, M.: Serum immunoreactive erythropoietin levels in patients with polycystic kidney disease as compared with other hemodialysis patients. *Nephron* 39:26 (1985).
- 10 De Paepe, M.B.J.; Schelstraete, K.H.G.; Ringoir, S.M.G.; Lameire, N.H.: Influence of continuous ambulatory peritoneal dialysis on the anemia of endstage renal disease. *Kidney int.* 23:744 (1983).
- 11 Wideröe, T.E.; Sanengen, T.; Halvorsen, S.: Erythropoietin and uremic toxicity during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney int.* 24: suppl. 16, pp. S208 (1983).
- 12 McGonigle, R.J.S.; Husserl, F.; Wallin, J.D.; Fisher, J.W.: Hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis effects on erythropoiesis in renal failure. *Kidney int.* 25:430 (1984).
- 13 Rich, I.N.; Kubanek, B.: Release of erythropoietin from macrophages mediated by phagocytosis of crystalline silica. *J. reticuloendoth. Soc.* 31:17 (1982).
- 14 Eschbach, J.W.; Mladenovic, J.; Garcia, J.F.; Wahl, P.W.; Adamson, J.W.: The anemia of chronic renal failure in sheep: response to erythropoietin-rich plasma in vivo. *J. clin. Invest.* 74:734 (1984).
- 15 Winearls, C.G.; Oliver, D.O.; Pippard, M.J.; Reid, C.; Downing, M.R.; Cotes, P.M.: Effect on human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anemia of patients maintained by chronic hemodialysis. *Lancet* ii:1175 (1986).

Dr. G. Keusch
Nephrologische Station
Medizinische Klinik
Universitätsspital
Rämistrasse 100
Ch-8091 Zürich (Schweiz)