

¹Schmidt WFJ, ²Heinicke K

Screening der totalen Hämoglobinmenge bei Triathleten und professionellen Radrennfahrern

Screening of total hemoglobin mass in triathletes and professional cyclists

¹Abteilung Sportmedizin/Sportphysiologie, Universität Bayreuth, Bayreuth²Neuromuscular Center, Institute for Exercise and Environmental Medicine, Presbyterian Hospital of Dallas, Dallas, USA

ZUSAMMENFASSUNG

Mittels neuer statistischer Verfahren können individuelle Veränderungen von hämatologischen Größen mit denen einer Referenzpopulation verglichen und die Wahrscheinlichkeit eines nicht normalen Verhaltens und somit einer Dopingprävalenz aufgezeigt werden. Methoden: In diesem Zusammenhang wurden Daten von 15 professionellen Radrennfahrern und von 16 Triathleten, die zwischen 1997 und 1999 zu drei Zeitpunkten (November, März und Juni/Juli) erhoben worden waren, reanalysiert. Messgrößen waren die totale Hämoglobinmenge und weitere hämatologische Parameter, Größen des Eisenhaushalts und der erythropoietischen Aktivität sowie die VO_2 max auf dem Fahrradergometer. Ergebnisse: Die tHb-Menge nahm bei den Radrennfahrern im Gegensatz zu den Triathleten von November bis März deutlich zu ($+66 \pm 49$ g), wobei sich zwei sehr homogene Untergruppen zeigten (tHb in Untergruppe I: $+22 \pm 24$ g, Untergruppe II: $+110 \pm 12$ g). Bei 8 von 15 Radrennfahrern wichen die tHb-Werte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1:100 (z -score $> 2,33$) von denen einer nicht Dopingbelasteten Referenzpopulation ab. Bei 5 von ihnen fällt die Irrtumswahrscheinlichkeit auf 1:1.000 (z -score $> 3,09$) und bei zweien auf 1:100.000 (z -score $> 4,26$). Hämoglobinkonzentration ([Hb]) und Hämatokrit (Hkt) waren bei den Triathleten aufgrund starker Plasmavolumenexpansion ($+454 \pm 276$ ml) vermindert, bei den Radrennfahrern stiegen beide Größen deutlich an (Differenz der Veränderungen für [Hb] $1,2 \pm 1,4$ g/dl, für Hkt $3,8 \pm 1,5$ %). Der Serum-Transferrinrezeptor blieb bei den Triathleten unverändert, war aber bei den Radrennfahrern im November gegenüber März stark (-46 ± 23 %) erniedrigt. Die VO_2 max zeigte keine Veränderungen bei den Triathleten und stieg bei den Radrennfahrern deutlich an, wobei eine enge Korrelation mit dem Anstieg der tHb-Menge bestand ($p < 0,01$). Schlussfolgerungen: Da physiologische Einflussfaktoren auf die Blutbildung (z.B. Höhenttraining) ausgeschlossen werden können, kann bei bis zu 8 der hier untersuchten Radrennfahrer eine Blutmanipulation in Betracht gezogen werden.

Schlüsselwörter: Sauerstofftransport, Erythropoietin, Blutmanipulation, individuelle Variation, 3rd generation model, z-Score

Einleitung

Blutmanipulationen sind im Ausdauersport, und hier am besten bekannt im professionellen Radsport, seit ca. 15 Jahren weit verbreitet. Wie durch den Festina-Skandal im Jahr 1998 offenkundig und im Jahr 2007 durch Geständnisse von Fahrern, Betreuern und Ärzten bestätigt wurde, wurde bis zur Entwicklung eines direkten Nachweisverfahrens im Jahr 2000 (10) insbesondere über die Zufuhr von rekombinantem Erythropoietin (rhEPO) manipuliert. Seit 2001

SUMMARY

Recently developed statistical methods facilitate the calculation of the likelihood of preceding blood manipulation by comparing individual changes of haematological indices with the normal changes of a reference group. Methods: In this context, data of 15 professional cyclists and 16 triathletes obtained at three different time points (November, March, and June/July) between 1997 and 1999 were reanalyzed. Screening was performed for total haemoglobin mass (tHb-mass), further haematological parameters, iron status, erythropoietic indices and VO_2 max. Results: tHb-mass significantly increased in the cyclist's group by 66 ± 49 g from November to March while it did not change in the triathletes. When the cyclists were divided into "responders" and "non-responders," we found homogenous behaviour in both subgroups with either no change ($+22 \pm 24$ g) or a substantial increase of $+110 \pm 12$ g. In 8 of the 15 cyclists, tHb-mass deviated from the reference population with a likelihood of 1 false out of 100 (z -score $> 2,33$). In 5 of the 8 the likelihood was 1:1.000 and in 2 of them 1:100.000. Hemoglobin concentration ([Hb]) and hematocrit (Hct) decreased in the triathletes due to plasma volume expansion ($+454 \pm 276$ ml) whereas both parameters obviously increased in the cyclist group (difference of changes in [Hb] $1,2 \pm 1,4$ g/dl and Hct $3,8 \pm 1,5$ %). Soluble Transferrin receptor remained constant in the triathletes. In the cyclists, however, it was considerably suppressed in November compared to March (-46 ± 23 %). VO_2 max did not change in the triathletes, but increased during the season in the cyclists showing a close relationship to the increase in tHb-mass ($p < 0,01$). Conclusions: As physiological influences can be excluded (e.g. prolonged altitude training) in 8 of the cyclists, blood manipulation has to be taken into consideration.

Key words: oxygen transport, erythropoietin, blood manipulation, intra-individual variation, 3rd generation model, z-score

wird zunehmend auf Bluttransfusionen und seit der Nachweisbarkeit von homologen Transfusionen (14) überwiegend auf autologe Transfusionen zurückgegriffen, was u.a. anhand von zunehmenden Hämoglobinkonzentrationen und abnehmenden Retikulozytenzahlen bei Routinetests im nordischen Skisport abgeleitet werden kann (13). Da autologe Transfusionen, ebenso wie viele der neuen auf dem Markt schon erhältlichen oder demnächst verfügbaren erythropoietisch aktiven Substanzen (neuartige Erythropoietine, EPO-Mimetika und HIF-Aktivatoren), noch nicht detektiert werden

können (9), dürften auch in absehbarer Zukunft Blutmanipulationen im Ausdauersport nur schwerlich durch direkte Nachweisverfahren eingedämmt werden.

Das Bestreben ist daher, biologische Marker, welche infolge von Blutmanipulationen verändert werden, als Screening-Parameter zu nutzen. Basierend auf dem indirekten EPO-Nachweisverfahren von Parisotto et al. (15) wurden weitere Nachweisalgorithmen entwickelt (z.B. OFF-Score (4)) und mittels statistischer Verfahren validiert. Grundidee ist hierbei, die individuelle Veränderung einer biologischen Größe mit der normalen Variation in einer nicht manipulierenden Athletenpopulation zu vergleichen und die Wahrscheinlichkeit zu bestimmen, mit der eine Abweichung von der Normalität vorliegt.

Bislang wurden für dieses Verfahren aus praktischen Gründen die Hämoglobinkonzentration, der Hämatokritwert und die Retikulozytenzahl sowie der OFF-Score (Verhältnis von Hb-Konzentration und Retikulozyten) genutzt. Die eigentliche Zielgröße eines jeden Blutdopings jedoch, die totale Hämoglobinmenge (tHb), fand noch keine Verwendung, da adäquate Bestimmungsmethoden nicht vorhanden und die Einflussgrößen nicht genau bekannt waren. In den vergangenen Jahren wurde sowohl die tHb-Bestimmung für den Routineeinsatz weiterentwickelt (19), als auch die normale Variation dieser Größe über ein Trainingsjahr bei Leistungssportlern quantifiziert (16), so dass die Methode nun zum Screening von Blutmanipulationen einsetzbar ist.

Schon im Zeitraum 1997-1999 wurde von unserer Arbeitsgruppe die totale Hämoglobinmenge von Triathleten und professionellen Radrennfahrern über ein Trainingsjahr hin untersucht, wobei festgestellt wurde, dass die Radrennfahrer im Verlauf der Saison eine wesentlich stärkere Erythropoese aufwiesen als die Triathleten (6,17). In Ermangelung von grundlegenden Kenntnissen des normalen Verhaltens der tHb-Menge bei Spitzenathleten sowie nicht vorhandener spezifischer statistischer Möglichkeiten, konnte zum damaligen Zeitpunkt keine genaue Einordnung und Wertung der Daten erfolgen. Ziel dieses Artikels ist es daher, die Daten aus den Jahren 1997-1999 zu reanalysieren und im Kontext der neuen statistischen Verfahren (u.a. 3rd Generation Modell nach (23)) zu interpretieren, um evtl. auf diese Weise Anhaltspunkte für Blutmanipulationen zu erhalten.

MATERIAL UND METHODEN

Überblick und Versuchspersonen

Insgesamt nahmen 31 männliche Athleten (15 Radrennfahrer eines Profi-Rad-Teams und 16 Ultra-Triathleten mit etwa gleicher aerober Leistungsfähigkeit) an der Studie teil, die in den Jahren 1997/98 (Triathleten) und 1998/99 (Radrennfahrer) durchgeführt wurde. Alle Athleten unterschrieben, nachdem sie über Zielsetzung und Risiken informiert worden waren, freiwillig eine Einverständniserklärung, die es ihnen u.a. einräumte, die Studie jederzeit und ohne Angabe von Gründen beenden zu können. Das Studiendesign sowie die durchgeführten Meßmethoden wurden von mehreren Ethikkommissionen deutscher Universitäten zugelassen. Die Studie bestand bei beiden Gruppen aus drei Messzeitpunkten jeweils am

Tabelle 1: Anthropometrische Daten und Leistungsdaten der untersuchten Triathleten und Radrennfahrer.

	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI	VO ₂ max (ml/kg/min)	Hfmax (S/min)	Lakmax (mmol/l)
Triathleten n = 16	31,3 ±5,0	181 ±5	73,6 ±5,3	22,5 ±1,2	66,0 ±4,5	181 ±9,8	10,7 ±2,1
Radrennfahrer n = 15	26,7 ±2,8	181 ±6	74,6 ±4,8	22,8 ±1,4	70,7** ±2,8	190* ±11	12,4* ±1,8

BMI = Body Mass Index, VO₂max = maximale O₂-Aufnahme, Hfmax = maximale Herzfrequenz, Lakmax = maximales Laktat. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind folgendermaßen angegeben: * = p < 0,05, ** = p < 0,01.

Ende der jährlichen Regenerationsphase (November), gegen Ende des Grundlagentrainings bzw. Beginn der Wettkampfsaison (März) und während der Wettkampfperiode (Triathleten im Juni; Radrennfahrer im Juli). Die anthropometrischen Daten und die am Ende der Regenerationsphase ermittelten Leistungsdaten sind in Tabelle 1 dargestellt.

Zu jedem der drei Messzeitpunkte wurde ein Ausbelastungstest auf dem Fahrradergometer zur Ermittlung der VO₂max, eine Bestimmung der totalen Hämoglobinmenge und des Blutvolumens sowie eine Analyse weiterer hämatologischer und erythropoetischer Parameter durchgeführt.

Bestimmung der VO₂max

Die VO₂max wurde bei den Triathleten und den Radrennfahrern jeweils über das portable Spirometriensystem MetaMax der Fa. Cortex, Leipzig bestimmt. Die Belastung (Ergometer Excalibur, Fa. Lode, Groningen, Niederlande) erfolgte bei den Triathleten beginnend mit 100 Watt und einer minütlichen Steigerung um 17 Watt bis zur Erschöpfung. Bei den Radrennfahrern wurde der Test ebenfalls mit 100 Watt begonnen und mit einer jeweils dreiminütigen Steigerung um 50 Watt fortgeführt. Die Bestimmung der Laktatkonzentration erfolgte wie bei Heinicke et al. (2001) beschrieben.

Totale Hämoglobinmenge und Blutvolumen

Die tHb-Menge wurde mittels einer modifizierten CO-Rückatmungsmethode nach Burge und Skinner (1) bestimmt. Das genaue Verfahren ist bei Heinicke et al. (7) beschrieben. Die Reliabilität des Verfahrens ist durch einen typischen Fehler (TE) von 1,86% charakterisiert und liegt damit nur geringfügig über derjenigen der optimierten CO-Rückatmungsmethode (TE=1,7%), auf deren Ergebnisse später Bezug genommen wird (19). Ein TE von 1,86% entspricht einem 95%-Konfidenzintervall der Methode von ±3,64%. Blutvolumen und Plasmavolumen wurden mittels tHb-Menge, Hämoglobinkonzentration ([Hb]) und Hämatokrit (Hkt) berechnet (genaue Beschreibung siehe (7)).

Hämatologische und erythropoetische Parameter

Zu jedem der drei Messzeitpunkte wurde nach 10 Min. in sitzender Position cubitalvenöses Blut entnommen. Bestimmt wurden Hämoglobinkonzentration ([Hb]), Hämatokrit (Hkt), freies Eisen, Ferritin, Transferrin, Serum-Transferrinrezeptor (sTFR) und Erythropoietin (EPO) (Methoden siehe Heinicke et al. (7)).

Statistische Verfahren

Die Veränderungen innerhalb einer Gruppe über die Zeit wurden mittels Varianzanalyse mit Messwertwiederholung und anschließendem gepaartem t-Test geprüft. Mögliche Unterschiede im zeitlichen Verlauf zwischen den beiden Athletengruppen wurden nach Hopkins (8) analysiert, der ein spezifisches Test-Design

zur Überprüfung einer Intervention über einen t-Test basierten Vergleich von Versuchs- und Kontrollgruppe entwickelt hat.

Um zu entscheiden, ob die tHb-Menge der einzelnen Athleten im Jahresverlauf die normalen zu erwartenden Veränderungen überschreitet, wurde ein individueller z-Score nach Sharpe et al. (23) berechnet, der dieses Verfahren speziell zur Aufdeckung von verdächtigen Hämoglobinkonzentrationen und OFF-Score Werten im Spitzensport entwickelt hat. Wenn mindestens 6 Vorwerte eines Athleten vorliegen, können weitere Messwerte mit diesen Vorwerten verglichen werden. Liegen weniger Werte vor oder schwanken die Vorwerte sehr stark, kann die Variation einer Referenzgruppe zum Vergleich herangezogen werden. In diesem Fall wird die Differenz eines Messwertes zu einem Vorwert oder dem Mittelwert bereits mehrerer vorliegender Werte derselben Person mit der intra-individuellen Varianz einer Referenzpopulation verglichen (siehe Formel 1).

$$(1) \quad z\text{-Score}_{tHb} = (tHb_{\text{aktuell}} - tHb_{\text{Vorwert}}) / \sqrt{(\sigma^2 (1 + 1/n))}$$

Dabei ist tHb_{aktuell} der augenblickliche Wert, tHb_{Vorwert} ein einzelner Vorwert oder der Mittelwert der vorliegenden Werte eines Athleten, σ^2 die intra-individuelle Varianz einer Vergleichspopulation und n die Anzahl der Vorwerte des getesteten Athleten.

Überschreitet der z-Score den Wert 2,33, liegt eine Abweichung von der Vergleichspopulation mit der Wahrscheinlichkeit einer falschen Aussage in 100 Fällen (einseitiger Test, da bei Manipulation von einer Erhöhung der tHb-Werte ausgegangen werden kann) vor, bei einem z-Score >3,09 ist die Wahrscheinlichkeit 1 zu 1.000, bei >3,721 zu 10.000 und bei >4,261 zu 100.000. Einflüsse auf die tHb-Menge und somit den z-Score besitzen mehr als 3-wöchige Höhengaufenthalte, schwere Verletzungen verbunden mit

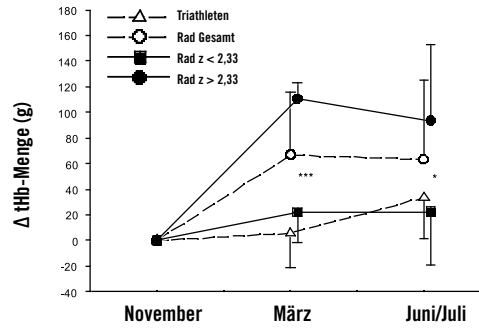


Abbildung 1: Veränderung der tHb-Menge im Verlauf der Saison. Die gestrichelten Linien repräsentieren die Triathleten und die gesamte Gruppe der Radrennfahrer; die durchgezogenen Linien die nach ihrem z-Score unterteilten Radrennfahrer-Subgruppen. Die Signifikanz der Unterschiede zwischen den Veränderungen in den Gesamtgruppen ist folgendermaßen angegeben: * = $p < 0.05$, *** = $p < 0.001$.

absoluter Ruhigstellung und langfristigem Trainingsausfall sowie schwere Infektionserkrankungen. Die hier verwendete Varianz der Vergleichspopulation beträgt 495 g^2 (4,84%) und wurde an 20 Radrennfahrern und Triathleten erhoben, bei denen ein Blutdoping mit sehr großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen wurde und die keinem Höheneinfluss ausgesetzt waren (16). Eine gleiche Varianz wurde von Eastwood et al. (2) beschrieben, die die identische Methode zur 40-fachen tHb-Mengenbestimmung innerhalb von 100 Tagen anwandten.

ERGEBNISSE

Hämoglobin und Blutvolumina

Während bei den Triathleten die tHb-Menge bis März nicht (+5 ± 26 g) und bis Juni nur geringfügig zunahm (+34 ± 32 g), zeigte sich bei den Radrennfahrern im März ein deutlicher Anstieg um im Mittel 66 ± 49 g ($p < 0.001$, Abbildung 1), der sich zum Juli hin nicht änderte. Bei 6 von den 12 Radrennfahrern, die bei der Messung im März anwesend waren, lag der tHb-Anstieg unter 53 g, bei ebenfalls 6 zwischen 93 g und 123 g. Bei den Triathleten lag der z-Score (Abbildung 2) zu beiden Zeitpunkten (März und Juni) mit einer Ausnahme (3,32 im Juni) unterhalb von 2,33 (der Wert bezeichnet die Abweichung von der Kontrollpopulation mit der Wahrscheinlichkeit einer Falschaussage von 1 zu 100). Bei den Radrennfahrern überschritten 8 den Wert von 2,33, 5 den Wert von 3,09 (Irrtumswahrscheinlichkeit: 1 zu 1.000) und 2 den Wert von 4,26 (Irrtumswahrscheinlichkeit: 1 zu 100.000). Bei separater Betrachtung der beiden Radrennfahrer-Untergruppen zeigte sich im März bei der Subgruppe „z-Score < 2,33“ ein sehr homogenes Bild mit einer nur ge-

Tabelle 2: Blutvolumina, Hämoglobin- und Eisenstatus.

	Triathleten			Radrennfahrer		
	November	März	Juni	November	März	Juli
tHb-Menge (g)	998,5 ±87,5	1012,5 ±63,4	1021,9 ±97,0	1049,9 ±109,9	1103,2*** ±71,1++	1113,1*** ±132,9+
Blutvolumen (ml)	7207 ±533	7631*** ±420	7755*** ±681	7574 ±769	7808 ±611	7713 ±748
Plasmavolumen (ml)	4154 ±344	4510*** 318	4607*** ±443	4475 ±506	4521 ±472	4396 ±393
Hb-Konzentration (g/dl)	15,2 ±0,8	14,6*** ±0,9	14,5*** ±0,8	15,3 ±0,9	15,6+ ±1,1	15,8* ±0,7+++
Hämatokrit (%)	46,6 ±2,3	45,0*** ±2,5	44,6** ±2,2	45,0 ±2,3	46,4 ±2,3	47,2** ±1,9++
sTFR (nmol/l)	19,1 ±4,8	18,5 ±3,9	19,1 ±4,7	13,3 ±3,0+++	20,8*** ±3,3	18,3*** ±3,0
EPO (mU/ml)	8,3 ±1,9	9,2* ±1,3	9,5* ±1,4	10,6 ±2,9+	13,3 ±4,8+	13,9 ±7,9+
Ferritin (ng/ml)	52,0 ±28,8	70,4 ±55,9	49,5 ±24,4	134,8++ ±104,1	110,0 ±84,0	151,9 ±94,8+++
Eisen (µg/dl)	94,2 ±28,5	75,0 ±19,2	82,6 ±31,4	83,5 ±20,3	116,5* ±42,2++	118,1* ±42,7+
Transferrin (mg/dl)	231,1 ±37,8	252,9 ±46,4	247,2 ±48,4	202,9 ±34,9+	216,6 ±31,6+	199,2 ±21,3++

tHb = totales Hämoglobin, Hb = Hämoglobin, sTFR = Serum-Transferrinrezeptor, EPO = Erythropoietin. Signifikante Unterschiede gegenüber dem Ausgangswert im November: * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$. Signifikanz der Differenzen zwischen den Gruppen zum jeweils gleichen Zeitpunkt: + = $p < 0.05$, ++ = $p < 0.01$, +++ = $p < 0.001$.

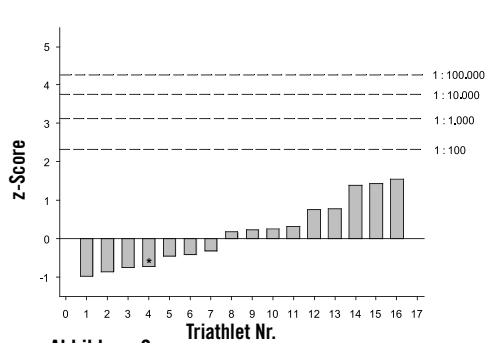


Abbildung 2a

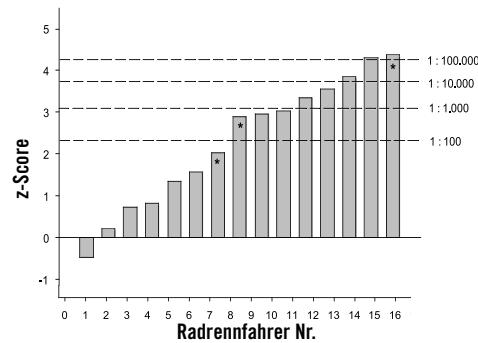


Abbildung 2b

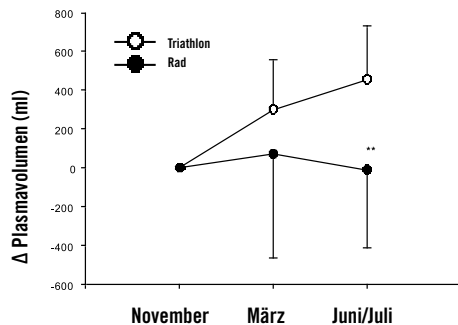


Abbildung 3a

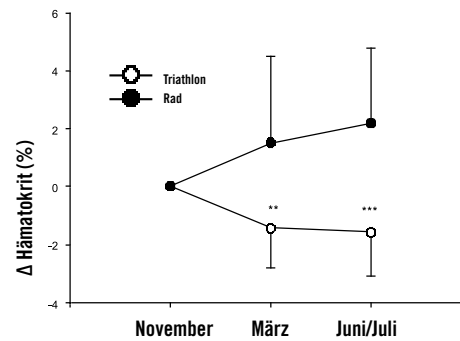


Abbildung 3b

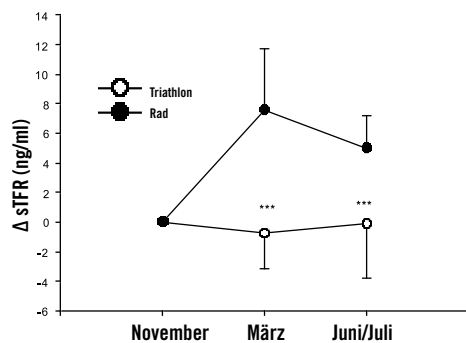


Abbildung 3c

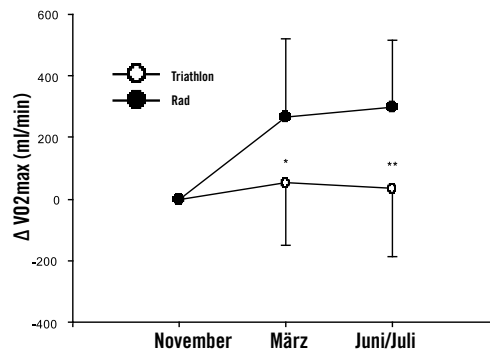


Abbildung 3d

Abbildung 2: z-Score der einzelnen Athleten (A = Triathleten, B = Radrennfahrer) beim Vergleich der tHb-Werte von März und November. Für die zu diesem Zeitpunkt nicht untersuchten Sportler (Triathleten n = 1; Radrennfahrer n = 3) wurde der z-Score für die Differenz von Juni/Juli zum November dargestellt (gekennzeichnet mit *). Die Berechnung des z-Scores erfolgte nach Sharp et al. (23); die Referenzgruppe ist bei Prommer et al. (17) beschrieben. Ein z-Score > 2.33 zeigt eine größere Veränderung der tHb-Menge als in der Referenzgruppe mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1:100 an (einseitiger Signifikanztest). Ein z-Score > 3.09 steht für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 1:1.000, ein z-Score > 3.72 für 1:10.000 und ein z-Score > 4.26 für 1:100.000.

Abbildung 3: Veränderung des Plasmavolumens (A), des Hämatokrits (B), des Serum-Transferrinrezeptors (sTFR) (C) und der maximalen O₂-Aufnahme (D) im Verlauf der Saison. Signifikanz der Unterschiede: * = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001.

ringen Veränderung der tHb-Menge (+22 ± 24g), bzw. deutlichen Steigerung bei der Subgruppe „z-Score>2.33“ (+110 ± 12g) (Abbildung 1).

Das Blutvolumen (siehe Tabelle 2) zeigte bis zum Juni bei den Triathleten einen relativ homogenen und deutlichen Anstieg um 592 ± 336 ml (p < 0.001), welcher bei den Radrennfahrern wesentlich geringer (nicht signifikant) und heterogener ausgeprägt war (+212 ± 586 ml). Der Anstieg des Blutvolumens bei den Triathleten war zu 76% auf einen Anstieg des Plasmavolumens zurückzuführen (p < 0,001), bei den Radrennfahrern war keine Veränderung des Plasmavolumens festzustellen (Abbildung 3A).

Resultierend aus dem starken Anstieg des Plasmavolumens und der nur geringen Erhöhung der totalen Hämoglobinmenge (Tabelle 2) und somit des Erythrozytenvolumens fielen Hämoglobinkonzentration und Hämatokrit bei den Triathleten kontinuierlich ab. Bei den Radrennfahrern lag der gegenteilige Effekt vor, was in einem Anstieg von [Hb] und Hkt resultierte. Die Differenz der Veränderungen zwischen beiden Gruppen betrug im Sommer 1,2 ± 1,4 g/dl in der [Hb], bzw. 3,8 ± 1,5 % im Hkt (p jeweils < 0,001; Tabelle 2, Abbildung 3B).

Erythropoietische Marker und Eisenstatus

Die Serumkonzentration des löslichen Transferrinrezeptors als Marker der erythropoietischen Aktivität war bei den Triathleten im Jahresverlauf unverändert; bei den Radrennfahrern zeigten sich im März ausgesprochen niedrige Werte (13,3 ± 3,0 nmol/l, Tabelle 2), die sich im weiteren Verlauf des Jahres auf das normale Niveau einstellten (März 20,8 ± 3,3 nmol/l, Abbildung 3C). Die EPO-Konzentration (Tabelle 2) war bei den Triathleten über das Trainingsjahr sehr homogen (intra-individuelle Varianz = 1,4) und stieg geringfügig im Laufe der Saison an. Demgegenüber zeigte die [EPO] der Radrennfahrer zwar im November sehr ähnliche Werte wie die der Triathleten; im weiteren Verlauf des Jahres war jedoch eine starke Streuung zu erkennen (intra-individuelle Varianz = 23,6).

Der Eisenstatus lag bei den Triathleten im normalen Bereich. Die Radrennfahrer waren durch eine hohe Eisenverfügbarkeit gekennzeichnet, was sich in einer hohen Ferritin- und Eisen- sowie niedrigeren Transferrin-Konzentration zeigte (Tabelle 2).

Maximale O₂-Aufnahme

Die VO₂max veränderte sich nicht bei den Triathleten, stieg aber

bei den Radrennfahrern um ca. 265 ml/min im März und um 300 ml/min im Juli gegenüber dem November an. Der Vergleich der Radrennfahrer-Subgruppen zeigte im März bei der Gruppe „z-Score > 2,33“ einen Anstieg der VO_{2max} um 408 ± 195 ml/min, während sie bei der Gruppe „z-Score < 2,33“ unverändert war (56 ± 176 ml/min, Differenz zwischen den Untergruppen: $p < 0,05$).

DISKUSSION

Das wichtigste Ergebnis der vorliegenden Untersuchung war ein starker Anstieg der tHb-Menge bei 8 von 15 Radrennfahrern im Laufe der Saison, was nur bei einem der Triathleten vorzufinden war.

Totale Hämoglobinmenge

Das Ziel einer jeden Blutmanipulation ist es, die Hämoglobinmenge zu erhöhen, um damit den Sauerstofftransport zu verbessern. Akute Belastung hat keinen Effekt und Training kann die tHb-Menge nur bei relativ untrainierten Personen langfristig moderat steigern (6,5% nach 9 Monaten Marathontraining, (20)). Langjährig trainierte Ausdauersportler, d.h. auch Radrennfahrer, zeigen nur geringfügige Oszillationen während eines Trainingsjahres, wenn mögliche Einflussfaktoren, wie Höhengenaufenthalt oder schwere Verletzungen und Infektionserkrankungen, ausgeschlossen sind (16). Physiologischerweise hat lediglich eine Höhen- oder Hypoxieexposition (mehr als 14h täglich in Hypoxie) ab ca. 3 Wochen oberhalb von 2100m einen deutlichen Einfluss von im Mittel 6% auf die tHb-Menge (3,5,20).

Die intra-individuelle Varianz der tHb-Menge über den Zeitraum von einem Jahr liegt in der Studie von Prommer et al. (16) für eine Gruppe von 20 Radrennfahrern und Triathleten bei $495g^2$, entsprechend $4,84\%^2$. In der hier vorliegenden Untersuchung zeigen die Triathleten eine nur geringfügig höhere Varianz ($638g^2$), die bei Eliminierung des Wertes eines Athleten (s.o.) sogar nahezu dem Wert von Prommer et al. (16) entspricht ($478g^2$). Bei den Radrennfahrern liegt dagegen, obwohl Höhen- und Verletzungseinflüsse ausgeschlossen werden können, die intra-individuelle Varianz im Mittel bei $3299g^2$ (Median $2355g^2$), bei der Subgruppe mit z-Score > 2,33 sogar bei $5376g^2$ (Median $4961g^2$), was, da Höheneffekte und Verletzungen ausgeschlossen werden können, auf Manipulationen beruhen könnte. Diese Ansicht wird durch die Anti-Doping Studie von Parisotto et al. (15) bestätigt, nach deren Daten sich nach 24 Tagen rhEPO Applikation eine intra-individuelle Varianz mit einem Median von $5512g^2$ berechnen lässt, der sehr ähnlich zum Wert der Radrennfahrer-Untergruppe „z-Score > 2,33“ in der vorliegenden Studie ist. Dabei lag der Median der Varianz der Kontrollgruppe aus o.g. Studie (15) mit $512g^2$ sehr nahe bei den Werten der von uns untersuchten Triathleten ($369g^2$) und der Radrennfahrer-Subgruppe mit „z-Score < 2,33“ ($516g^2$).

Mit der Entwicklung des z-Score Konzepts durch Sharpe et al. (23) und der Ermittlung normaler intra-individueller Varianzen für die tHb-Menge durch unsere Arbeitsgruppe lässt sich die Wahrscheinlichkeit einer nicht normalen Veränderung der Blutwerte und somit einer möglichen Blutmanipulation quantifizieren. Im Verlauf der Saison wiesen 8 Radrennfahrer mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 zu 100 Werte auf, die ein Doping nahe legen. Für 5 von ihnen erhöht sich die Irrtumswahrscheinlichkeit auf 1 zu 1.000, für 3 auf 1 zu 10.000 und für 2 auf 1 zu 100.000.

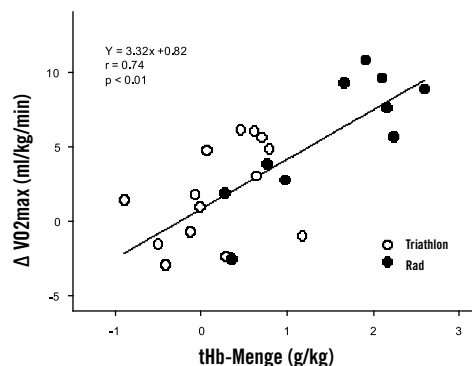


Abbildung 4: Veränderung der VO_{2max} in Relation zur Veränderung der tHb-Menge im Zeitraum November bis März. Die Steigung der Regressionsgeraden gibt an, dass eine Veränderung der tHb-Menge um 1 g/kg Körpergewicht mit einer Veränderung der VO_{2max} um 3,3 ml/kg/min

Wenngleich die vorliegenden Daten keinen offiziell akzeptierten Beweis darstellen, könnte eine Manipulation durch Anwendung von rekombinantem Erythropoietin erfolgt sein. Der Anstieg der tHb-Menge um 110g (10,9%) in der Radrennfahrer Untergruppe „z-Score > 2,33“ im März stimmt gut mit den Effekten kontrollierter Anti-Dopingstudien überein, die nach 24 Tagen rhEPO Applikation (3x pro Woche 50 IU/kg) um 107g (12,0%) höhere Werte (15), bzw. nach 5-wöchiger Applikation (60IU/kg mit abnehmender wöchentlicher Injektionsfrequenz) einen Anstieg von ca. 90g (9,4%; (12)) fanden.

Dennoch kann auch eine Manipulation durch autologe oder homologe Bluttransfusionen nicht ausgeschlossen werden, da die Bestimmung der tHb-Menge nicht zwischen den Effekten von rhEPO und Transfusionen unterscheidet und somit für das Screening beider Manipulationsarten eingesetzt werden kann. Da jedoch bei fast allen auffälligen Fahrern (eine Ausnahme) eine konstant hohe tHb-Menge sowohl im Frühling, als auch Sommer vorlag, was zum damaligen Zeitpunkt kaum durch autologe Bluttransfusionen erreicht worden sein konnte, ist ein Vorliegen dieser Form der Manipulation nicht sehr wahrscheinlich.

Erythropoiesemarker und Eisenstatus

Neben der tHb-Menge deuten weitere Werte auf eine mögliche Manipulation bei den Radrennfahrern hin: Die sTFR-Konzentration war im November gegenüber März um 46% und in der Radrennfahrer-Subgruppe „z-Score > 2,33“ sogar um 59% vermindert, was auf eine stark supprimierte Erythropoiese aufgrund zuvor (in der vorherigen Saison) erhöhter tHb-Mengen zurückgeführt werden könnte. Auch die im Vergleich zu den Triathleten sehr hohe intra-individuelle Varianz der EPO Konzentration bei den Radrennfahrern (23,6 gegenüber 1,4) könnte auf teilweise große Konzentrationen von rhEPO im Blut zurückzuführen sein. Wenngleich auch die hohen Ferritinkonzentrationen im Blut der Radrennfahrer sowie das Verhalten des freien Eisens und Transferrins kein Doping beweisen, passt es doch ins Bild, dass hier die Erythropoiese gezielt durch die hohe Eisenverfügbarkeit unterstützt wird.

Hämoglobinkonzentration und Hämatokritwert

Auch Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration weisen ein unerwartetes Verhalten auf. Beide Größen steigen im Verlauf der Saison bei den Radrennfahrern an, während die Werte der Triathleten im

gleichen Zeitverlauf abfallen (siehe Abbildung 3B, Tabelle 2). Zwei der Radrennfahrer überschreiten einen Hkt-Wert von 50% (Fahrer 1: Hkt von 44,9% auf 50,3%, [Hb] von 15,6 auf 18,1 g/dl, tHb-Menge +111 g; Fahrer 2: Hkt von 46,7% auf 51,6%, [Hb] von 16,5 auf 17,4 g/dl, tHb-Menge +123 g), was bei einem offiziellen Test eine zweiwöchige Sperre nach sich ziehen würde. Es zeigt sich hier allerdings auch die Limitierung dieser fixen Grenzwerte, da ein weiterer Fahrer mit einem tHb-Anstieg um 133 g (von November bis Juli) und einem um 6,7% höheren korrespondierenden Hämatokrit trotz möglicherweise vorliegenden Dopings den Grenzwert von 50% nicht überschreitet (Hkt von 42,2% auf 48,9%).

Der Abfall von [Hb] und Hkt bei den Triathleten kann auf eine starke Plasmavolumenexpansion (+454 ml) zurückgeführt werden, die den nur leichten Anstieg der tHb-Menge und somit des Erythrozytenvolumens weit überkompensiert und zu der bei Ausdauersportlern gut bekannten Blutverdünnung führt (18). Nach rhEPO Applikation bei gleich bleibendem Trainingsumfang wird in der Literatur ein unverändertes Blutvolumen und ein Abfall des Plasmavolumens um 250 ml (berechnet nach 15), bzw. 380 ml (12) beschrieben. Bei den Radrennfahrern könnten ähnliche Prozesse stattfinden, indem sich die stimulierenden Effekte eines hohen Trainingsvolumens und die negativen Effekte einer möglichen rhEPO-Applikation auf das Plasmavolumen neutralisieren, was durch ein leicht erhöhtes Blutvolumen bei unverändertem Plasmavolumen angezeit wird.

Wenngleich ein starker Anstieg der tHb-Menge von einer Erhöhung in Hämoglobinkonzentration und Hämatokrit begleitet sein kann, können diese Parameter eine Veränderung der Hämoglobinemenge jedoch nicht eindeutig repräsentieren (21), wie auch in dieser Studie anhand nur schwach ausgeprägter Korrelationen zwischen tHb-Menge und [Hb] ($r=0,29$) und Hkt ($r=0,41$) gezeigt wird. Die unterschiedlichen Einflüsse (u.a. Training, Höhe, Körperposition) auf das Plasmavolumen schwächen die Aussagekraft von [Hb] und Hkt ab. Dies wird insbesondere bei Etappenrennen deutlich, wenn durch die tägliche Belastung das Plasmavolumen expandiert (+407 ml in 5 Tagen (22), +825 ml in 7, bzw. 8 Tagen (eigene unveröffentlichte Daten)). In diesen Fällen sind massive Manipulationen bis zum Erreichen des fixen Hkt-Grenzwertes von 50% möglich und die Kontrolle müsste folglich über die tHb-Menge direkt geschehen.

Leistungsfähigkeit

Während sich im Mittel keine Veränderungen bei den Triathleten zeigten, nahm die maximale O_2 -Aufnahme in der Subgruppe mit z-Score > 2,33 um 408 ml/min, entsprechend 3,7 ml/min pro Gramm zusätzlich gebildetem Hämoglobin zu. Dabei war die Veränderung der VO_{2max} deutlich mit dem Anstieg der tHb-Menge korreliert ($r=0,75$, $p<0,001$; Abbildung 4), was in nahezu identischer Weise von Parisotto et al. (15) nach der Applikation von rhEPO beschrieben wurde. Die Steigung der Regressionsgeraden (3,3 sowohl in dieser Studie als auch bei Parisotto et al. (15)) beschreibt, wie viel O_2 (in ml/kg/min) pro Gramm zusätzlich verfügbaren Hämoglobins (bezogen auf das Körpergewicht) verbraucht werden kann. Dieses Verhältnis entspricht in etwa demjenigen, welches in Querschnittstudien von Gore et al. (1997) bei Ausdauersportlern (Steigung=4,4), bzw. von uns in einer Metaanalyse von 611 unterschiedlich trainierten Probanden gefunden wurde (Steigung=4,4 (20)).

Die durch den tHb-Anstieg von 10,9% in der Radrennfahrer-Subgruppe „z-Score > 2,33“ erzielte Verbesserung in der VO_{2max}

ist wesentlich größer, als dies bislang bei Hochleistungsathleten im langfristigen Trainingsverlauf beschrieben wird (11). Es bleibt also festzustellen, dass in dem hier untersuchten Radteam durch eine sehr wahrscheinliche Manipulation die Leistungsfähigkeit in einem Ausmaß gesteigert wurde, wie es durch alleiniges Training nicht erreicht werden könnte.

SCHLUSSFOLGERUNG

Bei der ersten Analyse der vorliegenden Daten vor ~9 Jahren konnte zwar eine ungewöhnlich starke Zunahme der tHb-Menge bei den Radrennfahrern aufgezeigt werden, es war aber nicht möglich, diese Veränderung hinsichtlich möglicher Manipulationen fundiert zu bewerten. In der Zwischenzeit liegen Daten vor, welche sowohl die normale Oszillation als auch die Effektivität von rhEPO-Applikation auf die tHb-Menge beschreiben. Individuelle Veränderungen können nun mit Referenzdaten verglichen werden, wodurch ein abnormales Verhalten offen gelegt werden kann.

Bei 8 von 15 untersuchten professionellen Radrennfahrern wurden in der Saison 1998/99 sehr hohe Steigerungen der tHb-Menge gefunden, die denen eines Dopings mit Erythropoietin entsprachen. Der statistische Vergleich mit einer nicht gedopten Referenzpopulation zeigt für 5 von ihnen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von <1:1.000 und für 2 von ihnen mit 1 zu 100.000, dass ein unphysiologisches Verhalten, d.h. sehr wahrscheinlich eine Manipulation mit rhEPO, vorlag. Der von diesen Sportlern erzielte Benefit in der VO_{2max} ist wesentlich größer als dies durch normales Training oder Höhentraining bislang erreicht wurde und dürfte einen nicht kompensierbaren Wettbewerbsvorteil darstellen.

DANKSAGUNG

Die Studie wurde finanziell unterstützt durch die Deutsche Telekom über die Deutsche Gesellschaft für Sportmedizin und Prävention. Wir danken Herrn Prof. Dr. Chris Gore und Herrn Robin Parisotto für die Überlassung von Originaldaten aus Anti-Doping-Studien, die im Jahr 2000 am Australian Institute of Sport (AIS) in Canberra durchgeführt wurden.

Angaben zu finanziellen Interessen und Beziehungen, wie Patente, Honorare oder Unterstützung durch Firmen: Keine.

LITERATUR

1. BURGE CM, SKINNER SL: Determination of hemoglobin mass and blood volume with CO: evaluation and application of a method. *J Appl Physiol* 79 (1995) 623-631.
2. EASTWOOD A, HOPKINS WG, BOURDON P, WITHERS RT, GORE CJ: Stability of hemoglobin mass over 100 days in active men. *J Appl Physiol* 104 (2008) 982-985.
3. FRIEDMANN B, FRESE F, MENOLD E, KAUPER F, JOST J, BÄRTSCH P: Individual variation in the erythropoietic response to altitude training in elite junior swimmers. *Br J Sports Med* 39 (2005) 148-153.
4. GORE CJ, PARISOTTO R, ASHENDEN MJ, STRAY-GUNDERSEN J, SHARPE K, HOPKINS W, EMSLIE KR, HOWE C, TROUT GJ, KAZLAUSKAS R, HAHN AG: Second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 88 (2003) 333-344.

5. HEINICKE K, HEINICKE I, SCHMIDT W, WOLFARTH B: A three-week traditional altitude training increases hemoglobin mass and red cell volume in elite biathlon athletes. *Int J Sports Med* 26 (2005) 350-355.
6. HEINICKE K, SCHMIDT W, SCHMID A, HUBER G, HEINRICH L, WINCHENBACH P, BIERMANN B, KEUL J: Elite cyclists and triathletes show different erythropoietic activity during a training year. *Med Sci Sports Exerc* 33 (2001) S51.
7. HEINICKE K, WOLFAHRT B, WINCHENBACH P, BIERMANN B, SCHMID A, HUBER G, FRIEDMANN B, SCHMIDT W: Blood volume and hemoglobin mass in elite athletes of different disciplines. *Int J Sports Med* 22 (2001) 504-512.
8. HOPKINS W: A spreadsheet for analysis of straightforward controlled trials. A new view of statistics. newstats.org/otherrems.html (2003).
9. JELKMANN W: Novel erythropoietic agents: a threat to sportsmanship. *Medicina Sportiva* 11 (2007) 32-42.
10. LASNE F, DE CEARRIZ, J: Recombinant erythropoietin in urine. *Nature* 405 (2000) 635.
11. LEGAZ ARRESE A, SERRANO OSTÁRIZ E, JCASAJÚS MALLÉN JA, MUNGUÍA IZQUIERDO D: The changes in running performance and maximal oxygen uptake after long-term training in elite athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 45 (2005) 435-440.
12. LUNDBY C, THOMSEN JJ, BOUSHEL R, KOSKOLOU M, WARBERG J, CALBET JAL, ROBACH P: Erythropoietin treatment elevates haemoglobin concentration by increasing red cell volume and depressing plasma volume. *J Physiol* 578 (2007) 309-314.
13. MORKEBERG J, SALTIN B, BELHAGE B, DAMSGAARD R: Blood profiles in elite cross-country skiers: a 6-year follow-up. *Scan J Med Sci Sports* DOI: 10.1111/j.1600-0838.2008.00770.x (2008).
14. NELSON M, POPP H, SHARPE K, ASHENDEN M: Proof of homologous blood transfusion through quantification of blood group antigens. *Haematologica* 88 (2003) 1284-1295.
15. PARISOTTO R, GORE CJ, EMSLIE KR, ASHENDEN MJ, BRUGNARA C, HOWE C, MARTIN DT, TROUT GJ: A novel method utilizing markers of altered erythropoiesis for the detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes. *Haematologica* 85 (2000) 564-572.
16. PROMMER N, SOTTAS PE, SCHOCH C, SCHUMACHER YO, SCHMIDT W: Total hemoglobin mass - A new parameter to detect blood doping. *Med Sci Sport Exerc* in press (2008).
17. SCHMIDT W, HEINICKE K, SCHMID A, HUBER G, HEINRICH L, BIERMANN B, KEUL J: Erythropoietic activity in endurance athletes during a training year. *Ann Hematol* 79 (2000) 6.
18. SCHMIDT W, MAASSEN N, BÖNING D: Training induced effects on blood volume, erythrocyte turnover and haemoglobin oxygen binding properties. *Eur J Appl Physiol* 57 (1988) 490-498.
19. SCHMIDT W, PROMMER N: The optimised CO-rebreathing method: a new tool to determine total haemoglobin mass routinely. *Eur J Appl Physiol* 95 (2005) 486-495.
20. SCHMIDT W, PROMMER N: Effects of various training modalities on blood volume. *Scan J Med Sci Sports* 18 (2008) 59-71.
21. SCHMIDT W, PROMMER N, STEINACKER JM, BÖNING D: Sinn und Unsinn von hämatologischen Grenzwerten im Ausdauersport - Folgerungen aus den Dopingskandalen von Turin 2006. *Dtsch Zeitschr Sportmed* 57 (2006) 54-56.
22. SCHUMACHER YO, POTTGIESSER T, AHLGRIM C, RUTHARDT S, DICKHUT HH, ROECKER K: Haemoglobin mass in cyclists during stage racing. *Int J Sports Med* PMID: 17614021 (2007).
23. SHARPE K, ASHENDEN MJ, SCHUMACHER YO: A third generation approach to detect erythropoietin abuse in athletes. *Haematologica* 91 (2006) 356-363.

Korrespondenzadresse:
Prof. Dr. Walter Schmidt
 Abteilung Sportmedizin/
 Sportphysiologie
 Universität Bayreuth
 D-95440 Bayreuth
 E-Mail: walter.schmidt@uni-bayreuth.de