

Jelkmann W

# Körper-eigene Produktion von Erythropoietin (EPO)

## Endogenous Production of Erythropoietin (EPO)

Institut für Physiologie, Universität zu Lübeck

### ZUSAMMENFASSUNG

Erythropoietin (EPO) hemmt die Apoptose der Erythrozytenvorläufer im Knochenmark, und es beschleunigt deren Proliferation und Differenzierung. Dieser Artikel beschreibt die physiologisch-chemischen Mechanismen der Regelung der Erythropoese durch EPO. Hauptproduzenten des Hormons sind Fibroblasten in der Nierenrinde. Der Transkriptionsfaktor GATA-2 bremst den EPO-Promotor unter normoxischen Bedingungen. Noch wichtiger sind die heterodimeren ( $\alpha/\beta$ ), sog. Hypoxie-induzierbaren Transkriptionsfaktoren (HIF). HIF- $\alpha$  Proteine werden in Anwesenheit von  $O_2$  (Normoxie) eliminiert, während sie unter hypoxischen Bedingungen im Komplex mit HIF-1 $\beta$  den EPO-Enhancer antreiben. Für die normoxische Elimination sind spezifische HIF- $\alpha$  Hydroxylasen verantwortlich: Drei Prolyl-Hydroxylasen (PHD-1, -2 und -3) induzieren den proteasomalen Abbau von HIF- $\alpha$  und eine Asparaginyl-Hydroxylase senkt das Transaktivierungspotential. Die HIF- $\alpha$  Hydroxylasen enthalten  $Fe^{2+}$  und benutzen  $\alpha$ -Ketoglutarat als Kofaktoren. Eisenchelatoren sowie  $\alpha$ -Ketoglutarat-Kompetitoren (sog. „HIF-Stabilisatoren“) hemmen die HIF- $\alpha$  Hydroxylasen und steigern die HIF-abhängige EPO-Expression. Die HIF-Stabilisatoren sind strukturell einfach aufgebaut und oral wirksam. Die Hypoxie induzierte EPO-Expression ist dynamisch, d.h. die Produktion von EPO steigt bei  $O_2$ -Mangel zunächst stark an und sinkt dann trotz fortgesetzter Hypoxie. Möglicherweise wird die EPO-Synthese in den Nieren durch  $O_2$ -Sensoren im Gehirn beeinflusst. Körperliche Belastung (Sport) beeinflusst die EPO-Produktion nicht wesentlich. Die Rolle humoraler Botenstoffe ist insgesamt unbedeutend, am wirksamsten sind Schilddrüsenhormone ( $T_3/T_4$ ). EPO und Angiotensin II kooperieren bei der Aufrechterhaltung des Blutvolumens. EPO Überproduktion führt zur Erythrozytose und EPO-Mangel zur Anämie (z.B. bei chronischen Nierenerkrankungen). Rekombinantes EPO ist ein wichtiges anti-anämisches Medikament, aber als Dopingmittel gesundheitsgefährdend.

**Schlüsselwörter:** Blutdoping, Erythrozyten, Genexpression, Hämoglobin, Hypoxie, rote Blutzellen, Sauerstofftransport

### EINLEITUNG

Der gesunde Mensch bildet pro Sekunde etwa 3 Mio. neue Erythrozyten. Diese sind Nachkommen der erythrozytären Vorläufer, die sich im roten Knochenmark vermehren. Zur Proliferation benötigen die Vorläuferzellen das Hormon Erythropoietin (EPO; altgriechisch erythros=rot und poiein=machen). Die Beziehung zwischen Erythropoieserate und  $O_2$ -Gehalt des Blutes beschrieb 1890 erstmals der französische Anatom Francois Gilbert Viault (70). Viault hatte festgestellt, dass seine roten Blutzellen (RBZ) während einer Reise in das Hochland von Peru (Morococha, ~ 4500 m ü. M.) drastisch zunahm. In der Tat stellt die Verringerung der  $O_2$ -Versorgung des Gewebes den wichtigsten Reiz für die Expression des EPO-Gens (EPO) dar. Dieser Artikel beschreibt das heutige Verständnis der Regulation der Erythropoese durch EPO, wobei physiologisch-chemische Schwerpunkte gesetzt werden.

### SUMMARY

Erythropoietin (EPO) maintains the mass of red blood cells by promoting the survival, proliferation and differentiation of erythrocytic progenitors in the bone marrow. The present article summarizes molecular and systemic mechanisms in EPO's control of erythropoiesis. Circulating EPO originates mainly from fibroblasts in the renal cortex. EPO production is controlled at the transcriptional level. GATA-2 blocks the EPO-promoter in normoxia, but is removed in hypoxia. Even more important is the regulation by the heterodimeric ( $\alpha/\beta$ ) hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). HIF- $\alpha$  subunits are inactivated in normoxia involving three HIF- $\alpha$  prolyl hydroxylases (PHD-1, -2 and -3), which initiate the proteasomal degradation of HIF- $\alpha$ , and an asparaginyl hydroxylase, which prevents trans-activation. In hypoxia, the HIF- $\alpha/\beta$  complexes stimulate the EPO enhancer. The HIF- $\alpha$  hydroxylases contain  $Fe^{2+}$ , and they use  $\alpha$ -ketoglutarate as co-factor. Small molecule inhibitors of the HIF- $\alpha$  hydroxylases ("HIF-stabilizers") have been described, which are effective orally. The in vivo EPO response on hypoxic stress is dynamic, i.e., the concentration of circulating EPO rises initially sharply and then declines despite persisting  $O_2$  deficiency. Physical work (sport) has no major direct influence on EPO production. Overall, humoral mediators play a minor role; most likely thyroid hormones ( $T_3/T_4$ ) are stimulators. EPO and angiotensin II cooperate in the maintenance of the blood volume. EPO overproduction leads to erythrocytosis. EPO deficiency causes anemia, such as in chronic kidney disease. Here, recombinant EPO can be of use.

**Key Words:** Blood doping, Erythrocytes, Gene expression, Hemoglobin, Hypoxia, Red blood cells, Oxygen transport

### STRUKTUR UND FUNKTION

Menschliches EPO ist ein 30 kDa Glykoprotein aus einer Peptidkette von 165 Aminosäuren und 4 Glykanen. Die Feinstruktur der Glykane der einzelnen EPO-Moleküle unterscheidet sich (66). Es besteht eine Mikroheterogenität, die sich nach isoelektrischer Fokussierung von Serum- oder Urinproben beim Immunblotting als Bandenmuster zeigt (41). EPO-Aktivitäten werden in der Regel in Internationalen Einheiten (IE) angegeben, wobei 1 IE die gleiche Erythropoese stimulierende Aktivität wie 5  $\mu$ mol Cobaltchlorid aufweist (vgl. (31)).

accepted: September 2013

published online: November 2013

DOI: 10.5960/dzsm.2013.094

Jelkmann W Körper-eigene Produktion von Erythropoietin (EPO). Dtsch Z Sportmed 64 (2013) 327-332.

EPO hemmt den programmierten Zelltod (Apoptose) der Erythrozytenvorläufer im Knochenmark (Abb.1) und fördert deren Proliferation (39). Das Hormon bindet an spezifische Rezeptoren (EPO-R) (13). Der menschliche EPO-R ist ein transmembranäres 484 Aminosäure-Glykoprotein von etwa 60 kDa. Nach EPO-Bindung an ein EPO-R Homodimer werden intrazellulär Janus-Kinasen 2 (JAK2) aktiv, welche die Phosphorylierung von Tyrosylresten des EPO-R und verschiedener intrazellulärer Proteine (Enzyme und Transkriptionsfaktoren) katalysieren (19). Die EPO-empfindlichsten Zellen sind die sog. „Colony-Forming Units-Erythroid“ (CFU-Es). Aus diesen wachsen in Anwesenheit von EPO innerhalb von ca. einer Woche Kolonien (8-64 Zellen) hämoglobinhaltiger Zellen heran (Abb.1).

Die Erythropoese verläuft langsam, denn sie umfasst viele Zellteilungen. Nach einem akuten Anstieg der EPO-Konzentration im Blut dauert es 3 bis 4 Tage, bis signifikant mehr junge rote Blutzellen (Retikulozyten) aus dem Knochenmark in das Blut gelangen (46). Verschiedene Hormone verstärken die EPO-Wirkung. Testosteron fördert die Proliferation der erythrozytären Vorläufer (8), daher die höheren Erythrozyten-, Hämatokrit (Hkt)- und Hämoglobin [Hb]-Werte im Blut von Männern gegenüber Frauen. Somatotropin (Wachstumshormon) und „Insulin-Like Growth Factor 1“ (IGF-1) steigern ebenfalls die Erythropoese (28).

## EPO IN DER BLUTZIRKULATION

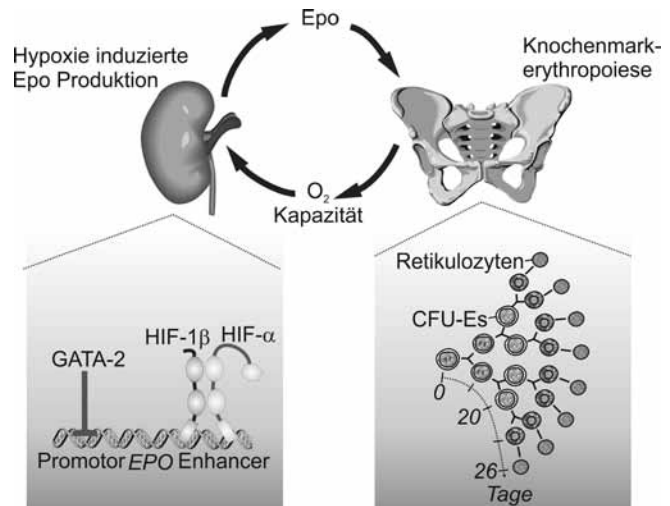
### Systemische EPO-Spiegel

Teleologisch betrachtet hat EPO die Funktion, die Hb-Konzentration des Blutes (bei Normovolämie) konstant zu halten und nach einer Blutung die Erythropoese zu beschleunigen. Die wichtigsten EPO exprimierenden Zellen (Fibroblasten) befinden sich in der Nierenrinde. Die Lage dort ist gut für die regulierte Produktion des Hormons geeignet: Der  $O_2$ -Partialdruck ( $pO_2$ ) in der Nierenrinde wird durch Änderungen der Herzleistung kaum beeinflusst, da der renale  $O_2$ -Verbrauch mit dem Blutfluss korreliert (15).

Die basale EPO-Konzentration im Blutplasma beträgt 6-32 IE/L ( $\sim 10^{-11}$  mol/L) (28). Die Normalwerte zeigen eine große individuelle Variabilität. Signifikante Gender- oder Alters-Unterschiede sind nicht feststellbar. Bemerkenswert sind Tagesschwankungen, mit einem Tiefpunkt in den Morgenstunden, der sich bei Trainierten wie bei Untrainierten zeigen lässt (36). Die EPO-Konzentration zeigt einen exponentiellen Anstieg (bei Frauen und Männern gleichermaßen (33)), wenn der [Hb]-Wert unter ca. 125 g/L abgefallen ist. Dieser exponentielle EPO-Anstieg fehlt bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz oder chronisch entzündlichen Erkrankungen.

EPO mRNA ist auch in anderen Organen (z.B. Leber, Milz und Gehirn) nachweisbar, aber diese Organe können die endokrine Funktion insuffizienter Nieren nicht ersetzen. Interessant ist die Hypothese, dass EPO im Gehirn parakrin neuroprotektiv wirksam ist (52,65).

Der Anstieg der EPO-Konzentration im Blut infolge Anämie oder anderer Formen von Hypoxie ( $O_2$ -Mangel) verhält sich dynamisch, mit anfänglich sehr hohen Werten, die abfallen, bevor die  $O_2$ -Versorgung normalisiert ist. Die EPO-Konzentration hängt nicht nur von der Rate der EPO-Produktion, sondern auch von der EPO-Elimination durch seine Zielzellen ab (30). Folglich ist die EPO-Konzentration bei Knochenmarkhypoplasie viel höher (10000 IE/L oder mehr) als bei Anämien anderer Ursache.



**Abbildung 1:** Schema der „Feedback“-Regelung der Erythropoese.  $O_2$ -Mangel (Hypoxie) induziert in den Nieren (und der Leber u.a.) die Expression des Erythropoietin-Gens (EPO). Der EPO-Promotor wird vom hemmenden Transkriptionsfaktor GATA-2 befreit und der EPO-Enhancer von heterodimeren Hypoxie induzierbaren Transkriptionsfaktoren (HIF- $\alpha$ /HIF- $\beta$ ) stimuliert. EPO fördert im Knochenmark die Proliferation und Differenzierung der „Colony-Forming Units-Erythroid“ (CFU-Es) und anderer erythrozytärer Vorläufer, so dass nach 3-4 Tagen zunehmend mehr Retikulozyten in die Blutbahn gelangen. Längerfristig nehmen die Erythrozyten- und Hämoglobinkonzentration – und damit auch die  $O_2$ -Kapazität – des Blutes zu.

Die Behandlung gesunder Personen mit rekombinantem humanem EPO (rHuEPO) erzeugt eine Zunahme der Masse roter Blutzellen (zur Dopingproblematik, s. (32)). Gleichzeitig nimmt das Blutplasma-Volumen ab, so dass das Blutvolumen sich kaum ändert. Damit führt die Gabe von rHuEPO über zwei Mechanismen zur Erhöhung des [Hb]-Wertes: Einerseits nimmt die Erythrozyten-Masse zu und andererseits das Blutplasma-Volumen ab (44). Das erythropoietische System ist mit dem Renin-Angiotensin(Ang)-System verknüpft (10). Ang II steigert über Ang II Typ 1-Rezeptoren die Produktion von EPO (20) und die Proliferation erythrozytärer Vorläufer (71).

Da die EPO-Produktion von der  $O_2$ -Versorgung des Organismus abhängt, wird EPO auch aktiviert, wenn der  $pO_2$  im arteriellen Blut absinkt oder die  $O_2$ -Affinität des Hb zunimmt. In großer Höhe ist der inspiratorische  $pO_2$  vermindert, so dass auch der Gewebep $O_2$  abnimmt. Bei simulierter Höhe von 4000 m ist in Normalpersonen bereits nach ca. 1,5 h ein signifikanter Anstieg der EPO-Konzentration im Blut nachweisbar (11). Die EPO-Konzentration erreicht nach 1-2 Tagen Spitzenwerte und fällt dann auf ein neues Plateau (vgl. (35)). Entsprechend ist die EPO-Konzentration bei Bewohnern mäßiger Höhenlagen (z.B. 2600 m) gegenüber der bei Tieflandbewohnern nicht signifikant erhöht (5). Schmidt et al. (62) haben jedoch darauf hingewiesen, dass die EPO-Konzentrationen höher als normal sind, wenn sie auf die – angestiegenen – [Hb]- bzw. Hkt-Werte der Höhenbewohner bezogen werden. Hinsichtlich anderer Erythropoese fördernder Hormone wurde gezeigt, dass Aufenthalt in 2315 m Höhe nicht zu einem Anstieg von Thyreotropin,  $T_3$  und  $T_4$  (21) und Aufenthalt in 6542 m Höhe nicht zu einem Anstieg von IGF-1 (60) im Blut führt.

### Rolle extrarenaler $O_2$ -Sensoren

Möglicherweise wird die EPO-Synthese in den Nieren durch  $O_2$ -

Sensoren im Gehirn beeinflusst. Lokale Hypoxie des Hirnstamms stimuliert in Versuchstieren die renale EPO-Produktion (72). Nach einer anderen Hypothese führt eine vermehrte Durchblutung der Haut zu einer Verschlechterung der renalen O<sub>2</sub>-Versorgung, so dass die EPO-Expression ansteigt (6). Allerdings ist dieses Konzept nicht allgemein anerkannt (55), unter anderem, weil der renale Blutfluss kein wichtiger Parameter der renalen EPO-Synthese ist (54). Eine isolierte Hypoxie der Haut führt beim Menschen nicht zum Anstieg der EPO-Konzentration im Blut (57). Auch eine Mehrdurchblutung der Muskulatur (z.B. bei körperlicher Arbeit) hat keinen bekannten Einfluss auf die EPO-Produktion (z.B. Fahrradergometerstudien von Schmidt et al. (61,62)). In diesem Zusammenhang muss aber an die wichtigen Befunde von Morici et al. (48) erinnert werden, die gezeigt haben, dass supramaximales Training (Rudern, Laufen, Gewichtheben) zu einem akuten Anstieg der Konzentration hämopoietischer Stamm- und Vorläuferzellen sowie unreifer Retikulozyten im Blut führt.

Die Nierenerven sind für die O<sub>2</sub>-abhängige EPO-Expression in der Niere nicht essentiell (12). Die Rolle humoraler Botenstoffe ist streitig. Einzige Ausnahme sind die Schilddrüsenhormone T<sub>3</sub> und T<sub>4</sub>, welche in *in vitro* Modellen die EPO-Bildung – möglicherweise über Steigerung des O<sub>2</sub>-Verbrauchs – stimulieren (16). Therapieversuche am Menschen sind hierzu nicht bekannt. Dagegen wurde gezeigt, dass die Infusion von Somatotropin in anämischen niereninsuffizienten Patienten die Plasma-EPO-Konzentration erhöht (67). Ein derartiger Effekt ist bei Normalpersonen nicht bekannt. Die Verabreichung von Testosteron bewirkt gleichfalls keinen Anstieg der EPO-Konzentration (8,45). Fisher (17) hat für Interessierte ausführlich zahlreiche andere humorale Faktoren (z.B. Adenosin und Prostanoid), die möglicherweise die EPO-Produktion beeinflussen, diskutiert.

### Molekulare Mechanismen der Hypoxie-induzierten EPO-Expression

Die EPO-Synthese wird durch Transkriptionsfaktoren kontrolliert. Der EPO-Promotor wird unter normoxischen Bedingungen von GATA-2 inhibiert (69). Diese Inhibition wird aufgehoben, wenn GATA-2 unter hypoxischen Bedingungen verschwindet (26). Die Zytokine Interleukin-1 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  induzieren GATA-2 (40), dies erklärt den EPO-Mangel bei chronisch entzündlichen und malignen Erkrankungen (vgl. (29)). Der missbräuchliche Einsatz von GATA-Inhibitoren ist im Sport denkbar. Es handelt sich um *in silico* herstellbare, kleinstmolekulare und oral wirksame Stoffe (Diazepan-Derivate) (50). Der GATA-Inaktivator K-11706 stimuliert im Versuchstier die Erythropoese und steigert so innerhalb weniger Tage die Ausdauerleistungsfähigkeit beträchtlich (25).

Eine besonders wichtige Kontrollinstanz für die EPO-Expression ist der EPO-Enhancer. Er wird durch Hypoxie induzierbare Transkriptionsfaktoren (HIF) aktiviert. HIF sind ubiquitäre Proteine aus zwei Untereinheiten: dem nur unter hypoxischen Bedingungen detektierbaren HIF- $\alpha$  (120 kDa; Isoformen -1 $\alpha$ , -2 $\alpha$  und -3 $\alpha$ ) und dem konstitutiv vorhandenen HIF-1 $\beta$  (90-95 kDa). Obwohl der Prototyp HIF-1 in EPO-Expressionsstudien entdeckt wurde (73), wird heute angenommen, dass HIF-2 der wichtigste Transkriptionsfaktor für EPO ist (56,74). Der C-Terminus der HIF- $\alpha$  Untereinheiten hat O<sub>2</sub>-labile Bereiche ("O<sub>2</sub>-dependent degradation domains", O-DDD), in denen Prolylreste hydroxyliert werden (Pro<sup>405</sup> und Pro<sup>531</sup> in HIF-2 $\alpha$ ), wenn O<sub>2</sub> vorhanden ist (14). Prolyl-hydroxyliertes HIF- $\alpha$  wird sofort vom von-Hippel-Lindau Tumor Suppressor-Protein (VHL) mit einer

E3-Ligase markiert und proteasomal abgebaut (53). HIF sind nicht nur für die hypoxische EPO-Expression verantwortlich, sondern steuern auch andere Gene für Proteine, die den Organismus vor O<sub>2</sub>- und Glukosemangel schützen (Übersicht bei (64)). HIF-2 ist z.B. an der Regulation des Eisenhaushaltes beteiligt, so dass EPO-Synthese und Eisen-Homöostase unmittelbar gekoppelt sind (34). Außerdem stimulieren HIF die Expression von Genen für gefäßwirksame Mediatoren, wie z.B. den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF).

Die HIF- $\alpha$  Hydroxylierung wird durch spezifische Prolyl-4-Hydroxylasen katalysiert (PHD-1, -2 und -3), welche ein O-Atom von O<sub>2</sub> auf den Prolylrest und das andere auf  $\alpha$ -Ketoglutarat übertragen, wobei CO<sub>2</sub> und Succinat entsteht (vgl. (7)). PHD-2 und PHD-3 sind selbst HIF-Zielgene, deren Expression bei Hypoxie zunimmt, so dass HIF- $\alpha$  während langfristiger hypoxischer Perioden beschleunigt hydroxyliert wird. Dieser negative "Feedback"-Mechanismus könnte die oben angesprochene Abnahme der EPO-Produktion bei andauernder Hypoxie mitverursachen (68). Außerdem katalysiert der sog. "Factor Inhibiting HIF-1" (FIH-1) (47) eine Asparaginyloxylierung der HIF- $\alpha$  Untereinheiten (Asn<sup>847</sup> in HIF-2 $\alpha$ ), wodurch die Bindung des transkriptionellen Co-Aktivators "CREB-Binding Protein" (CBP)/p300 verhindert wird (63). Laut *in-vitro*-Messungen sind die Dissoziationskonstanten der Enzym-Substrat-Komplexe („K<sub>m</sub>-Werte“) der drei PHD für O<sub>2</sub> ( $\approx$  170 mm Hg) oberhalb des arteriellen pO<sub>2</sub> (90-100 mm Hg), während FIH bei niedrigeren pO<sub>2</sub>-Werten (K<sub>m</sub>  $\approx$  60 mm Hg) arbeitet (38). Dies legt nahe, dass die HIF- $\alpha$  PHD die primären O<sub>2</sub>-Sensoren in der Regulation der EPO-Produktion sind.

Eisenchelatoren und  $\alpha$ -Ketoglutarat-Kompetitoren hemmen die Aktivität der HIF- $\alpha$  Hydroxylasen und steigern damit die HIF-abhängige Genexpression unter normoxischen Bedingungen. Die Entdeckung, dass Fe<sup>2+</sup> für die HIF- $\alpha$  Inaktivierung erforderlich ist, erklärt die erhöhten Plasma-EPO-Spiegel nach Gabe des Eisenchelators Desferrioxamin (37,59). Kobaltsalz (Co<sup>2+</sup>) stimuliert die EPO-Expression ebenfalls durch Hemmung der HIF- $\alpha$  Hydroxylierung (27). Verschiedene  $\alpha$ -Ketoglutarat-Kompetitoren („HIF-Stabilisatoren“) werden als Antianämika getestet, sie haben einfache Strukturen und sind oral wirksam (18,49,51). Der HIF-Stabilisator FG-2216 (Fa. Fibrogen) erhöhte in einer Phase-I-Studie bei einmaliger Gabe die EPO-Konzentration im Blut auf ein Mehrfaches des Ausgangswertes (3). Der Wirkstoff FG-4592 war in Phase-II-Studien erfolgreich: Chronisch Nierenkranke zeigten dosis abhängig einen [Hb]-Anstieg. Das Konkurrenzprodukt GSK1278863 (Fa. Glaxo-SmithKline) wird momentan in Phase-II-Studien auf Sicherheit und Wirksamkeit bei wiederholten Applikationen getestet. Auch AKB-6548 (Fa. Akebia Therapeutics) hat die Phase-I der klinischen Entwicklung abgeschlossen: Der Wirkstoff erhöhte die EPO-Spiegel ohne schwerwiegende unerwünschte Reaktionen. Es muss jedoch daran erinnert werden, dass HIF-Stabilisatoren die Synthese zahlreicher Proteine steigern (49,64). Damit wird möglicherweise das Wachstum von Tumoren, für die Nährstoffversorgung und anaerobe Glykolyse essenziell sind, gefördert (58). Die Vielzahl der chemischen Stoffe, welche die EPO-Expression steigern können, erschwert ihren Nachweis im Urin dopender Sportler(innen) (4).

## PATHOPHYSIOLOGIE

### EPO-Überproduktion

Wenn die Erythropoese längere Zeit über den Bedarf gesteigert ist

entwickelt sich das Bild einer Erythrozytose (syn. Polyzythämie). Erythrozytenzahl, [Hb]- und Hkt-Werte sind abnormal hoch (vgl. (24)). Bei einer sekundären Erythrozytose beruht die Störung auf einer EPO-Überproduktion. Diese wird am häufigsten durch Hypoxämien bei Höhenaufenthalt verursacht, d.h., sie ist erworben. Theoretisch könnte eine Zunahme des [Hb]-Wertes und damit der O<sub>2</sub>-Kapazität des Blutes sich positiv auf die O<sub>2</sub>-Versorgung des Gewebes auswirken. Mit dem Hkt nimmt jedoch auch die Viskosität des Blutes zu, die kardiale Nachlast steigt, und die Mikrozirkulation ist behindert (9). Die sekundäre Erythrozytose ist ein wichtiger pathogenetischer Faktor bei der chronischen Bergkrankheit, die auf einer Hypoxämie und pulmonaler Hypertension beruht. Die gesteigerte EPO-Produktion bei Höhenbewohnern (2) ist eine „maladaptive Reaktion“, mit Risiken für thromboembolische Ereignisse und Mortalität. Interessanterweise hat es evolutionsbiologisch unterschiedliche genetische Anpassungen der Menschen an die Höhe gegeben (23). Tibeter, die in etwa 4000 m Höhe leben, haben relativ niedrige [Hb]-Werte (75), während die südamerikanischen eingeborenen Höhenbewohner häufig unter der chronischen Bergkrankheit leiden (42). Bei tibetischen Höhenbewohnern konnten 31 HIF-2 $\alpha$  Einzelnukleotid-Polymorphismen („Single Nucleotide Polymorphisms“, SNPs) identifiziert werden, die mit den [Hb]-Werten korrelieren (1).

### EPO-Mangel

EPO-Mangel ist die Hauptursache renaler Anämien (vgl. (22)). Die Dialysebehandlung ersetzt die Ausscheidungsfunktion der Nieren, aber nicht die Hormonproduktion. Chronisch Nierenkranke im Prä-Dialyse- und im Dialyse-Stadium werden routinemäßig mit rHuEPO oder einem Analogon behandelt. In Deutschland haben – abhängig vom jeweiligen Handelspräparat – rHuEPO und seine Analoga auch folgende zugelassene Indikationen: symptomatische Anämie bei erwachsenen Tumorpatienten mit Chemotherapie, Unterstützung der autologen Blutentnahme, elektive Operation und Anämie bei Frühgeborenen. Als Ziel-[Hb]-Wert wird bei Nierenkranken und Tumorpatienten allgemein 100-120 g/L angestrebt (43). Die US Food and Drug Administration (FDA) hat kürzlich gewarnt, dass ab [Hb]-Werten >110 g/L das Risiko, schwere unerwünschte kardiovaskuläre Reaktionen (z.B. Schlaganfall) zu entwickeln, erhöht ist, und die Mortalität zunimmt (<http://www.fda.gov/drugs/drugsafety/ucm259639.htm>). Dies sollte Grund genug sein, rHuEPO und seine Analoga auf keinen Fall als Dopingmittel zu missbrauchen.

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

### LITERATUR

- BEALL CM: Two routes to functional adaptation: Tibetan and Andean high-altitude natives. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 Suppl 1 (2007) 8655 - 8660. doi:10.1073/pnas.0701985104
- BERNARDI L, ROACH RC, KEYL C, SPICUZZA L, PASSINO C, BONFICHI M, GAMBOA A, GAMBOA J, MALCOVATI L, SCHNEIDER A, CASIRAGHI N, MORI A, LEON-VELARDE F: Ventilation, autonomic function, sleep and erythropoietin. Chronic mountain sickness of Andean natives. *Adv Exp Med Biol* 543 (2003) 161 - 175. doi:10.1007/978-1-4419-8997-0\_12
- BERNHARDT WM, WIESENER MS, SCIGALLA P, CHOU, J, SCHMIEDER RE, GUNZLER V, ECKARDT KU: Inhibition of prolyl hydroxylases increases erythropoietin production in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 21 (2010) 2151 - 2156. doi:10.1681/ASN.2010010116
- BEUCK S, SCHÄNZER W, THEVIS M: Hypoxia-inducible factor stabilizers and other small-molecule erythropoiesis-stimulating agents in current and preventive doping analysis. *Drug Test Anal* 4 (2012) 830 - 845. doi:10.1002/dta.390
- BÖNING, D, ROJAS, J, SERRATO, M, ULLOA, C, COY, L, MORA, M, GOMEZ, J, HUTLER, M: Hemoglobin mass and peak oxygen uptake in untrained and trained residents of moderate altitude. *Int J Sports Med* 22 (2001) 572 - 578. doi:10.1055/s-2001-18530
- BOUTIN AT, WEIDEMANN A, FU Z, MESROPIAN L, GRADIN K, JAMORA C, WIESENER M, ECKARDT KU, KOCH CJ, ELLIES LG, HADDAD, G, HAASE VH, SIMON MC, POELLINGER L, POWELL FL, JOHNSON RS: Epidermal sensing of oxygen is essential for systemic hypoxic response. *Cell* 133 (2008) 223 - 234. doi:10.1016/j.cell.2008.02.038
- BRUEGGE K, JELKMANN W, METZEN E: Hydroxylation of hypoxia-inducible transcription factors and chemical compounds targeting the HIF- hydroxylases. *Curr Med Chem* 14 (2007) 1853 - 1862. doi:10.2174/092986707781058850
- COVIELLO AD, KAPLAN B, LAKSHMAN KM, CHEN T, SINGH AB, BHASIN S: Effects of graded doses of testosterone on erythropoiesis in healthy young and older men. *J Clin Endocrinol Metab* 93 (2008) 914 - 919. doi:10.1210/jc.2007-1692
- CROWELL JW, SMITH EE: Determinant of the optimal hematocrit. *J Appl Physiol* 22 (1967) 501 - 504.
- DUNN A, LO V, DONNELLY S: The role of the kidney in blood volume regulation: the kidney as a regulator of the hematocrit. *Am J Med Sci* 334 (2007) 65 - 71. doi:10.1097/MAJ.0b013e318095a4ae
- ECKARDT KU, BOUTELLIER U, KURTZ A, SCHOPEN M, KOLLER EA, BAUER, C: Rate of erythropoietin formation in humans in response to acute hypobaric hypoxia. *J Appl Physiol* 66 (1989) 1785 - 1788.
- ECKARDT KU, LEHIR M, TAN CC, RATCLIFFE PJ, KAISLING B, KURTZ A: Renal innervation plays no role in oxygen-dependent control of erythropoietin mRNA levels. *Am J Physiol* 263 (1992) F925 - F930.
- ELLIOTT S, SINCLAIR A: The effect of erythropoietin on normal and neoplastic cells. *Biologics* 6 (2012) 163 - 189.
- ERBEL PJ, CARD PB, KARAKUZU O, BRUICK RK, GARDNER KH: Structural basis for PAS domain heterodimerization in the basic helix-loop-helix-PAS transcription factor hypoxia-inducible factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 (2003) 15504 - 15509. doi:10.1073/pnas.2533374100
- ERSLEV AJ, CARO J, BESARAB A: Why the kidney? *Nephron* 41 (1985) 213 - 216. doi:10.1159/000183585
- FANDREY J, PAGEL H, FREDE S, WOLFF M, JELKMANN W: Thyroid hormones enhance hypoxia-induced erythropoietin production in vitro. *Exp Hematol* 22 (1994) 272 - 277.
- FISHER JW: Erythropoietin: Physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med* 228 (2003) 1 - 14.
- FRAISL P, ARAGONES J, CARMELIET P: Inhibition of oxygen sensors as a therapeutic strategy for ischaemic and inflammatory disease. *Nat Rev Drug Discov* 8 (2009) 139 - 152. doi:10.1038/nrd2761
- FRANK SJ: Receptor dimerization in GH and erythropoietin action-it takes two to tango, but how? *Endocrinology* 143 (2002) 2 - 10. doi:10.1210/en.143.1.2
- GOSSMANN J, BURKHARDT R, HARDER S, LENZ T, SEDLMEYER A, KLINKHARDT U, GEIGER H, SCHEUERMANN EH: Angiotensin II infusion increases plasma erythropoietin levels via an angiotensin II type 1 receptor-dependent pathway. *Kidney Int* 60 (2001) 83 - 86. doi:10.1046/j.1523-1755.2001.00773.x
- GUNGA HC, KIRSCH K, RÖCKER L, SCHOBERSBERGER W: Time course of erythropoietin, triiodothyronine, thyroxine, and thyroid-stimulating hormone at 2,315 m. *J Appl Physiol* 76 (1994) 1068 - 1072.
- HAMPL H, RIEDEL E: Zur Geschichte der renalen Anämie. *Nieren-Hochdruckkr* 31 (2002) 539 - 549.
- HOCHACHKA PW, GUNGA HC, KIRSCH K: Our ancestral physiological phenotype: an adaptation for hypoxia tolerance and for endurance performance? *Proc Natl Acad Sci U S A* 95 (1998) 1915 - 1920. doi:10.1073/pnas.95.4.1915

24. HODGES VM, RAINEY S, LAPPIN TR, MAXWELL AP: Pathophysiology of anemia and erythrocytosis. *Crit Rev Oncol Hematol* 64 (2007) 139 - 158. doi:10.1016/j.critrevonc.2007.06.006
25. IMAGAWA S, MATSUMOTO K, HORIE M, OHKOSHI N, NAGASAWA T, DOI T, SUZUKI N, YAMAMOTO M: Does K-11706 enhance performance and why? *Sports Med* 28 (2007) 928 - 933.
26. IMAGAWA S, NAKANO Y, OBARA N, SUZUKI N, DOI T, KODAMA T, NAGASAWA T, YAMAMOTO M: A GATA-specific inhibitor (K-7174) rescues anemia induced by IL-1beta, TNF-alpha, or L-NMMA. *FASEB J* 17 (2003) 1742 - 1744.
27. JELKMANN W: The disparate roles of cobalt in erythropoiesis, and doping relevance. *Open J Hematol* 3 (2012) 1 - 9. doi:10.13055/ojhm\_3\_1\_6.121211
28. JELKMANN W: Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiol Rev* 72 (1992) 449 - 489.
29. JELKMANN W: Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production. *J Interferon Cytokine Res* 18 (1998) 555 - 559. doi:10.1089/jir.1998.18.555
30. JELKMANN W: The enigma of the metabolic fate of circulating erythropoietin (Epo) in view of the pharmacokinetics of the recombinant drugs rhEpo and NESP. *Eur J Haematol* 69 (2002) 265 - 274. doi:10.1034/j.1600-0609.2002.02813.x
31. JELKMANN W: Efficacy of recombinant erythropoietins: is there unity of international units? *Nephrol Dial Transplant* 24 (2009) 1366 - 1368. doi:10.1093/ndt/gfp058
32. JELKMANN W, LUNDBY C: Blood doping and its detection. *Blood* 118 (2011) 2395 - 2404. doi:10.1182/blood-2011-02-303271
33. JELKMANN W, WIEDEMANN G: Lack of sex dependence of the serum level of immunoreactive erythropoietin in chronic anemia. *Klin Wochenschr* 67 (1989) 1218. doi:10.1007/BF01716210
34. KAPITSINOU PP, LIU Q, UNGER TL, RHA J, DAVIDOFF O, KEITH B, EPSTEIN JA, MOORES SL, ERICKSON-MILLER CL, HAASE VH: Hepatic HIF-2 regulates erythropoietic responses to hypoxia in renal anemia. *Blood* 116 (2010) 3039 - 3048. doi:10.1182/blood-2010-02-270322
35. KLAUSEN T: The feed-back regulation of erythropoietin production in healthy humans. *Dan Med Bull* 45 (1998) 345 - 353.
36. KLAUSEN T, DELA F, HIPPE E, GALBO H: Diurnal variations of serum erythropoietin in trained and untrained subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 67 (1993) 545 - 548. doi:10.1007/BF00241652
37. KLING PJ, DRAGSTEN PR, ROBERTS RA, DOS-SANTOS B, BROOKS DJ, HEDLUND BE, TAETLE R: Iron deprivation increases erythropoietin production in vitro, in normal subjects and patients with malignancy. *Br J Haematol* 95 (1996) 241 - 248. doi:10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1919.x
38. KOIVUNEN P, HIRSILA M, GUNZLER V, KIVIRIKKO KI, MYLLYHARJU J: Catalytic properties of the asparaginyl hydroxylase (FIH) in the oxygen sensing pathway are distinct from those of its prolyl 4-hydroxylases. *J Biol Chem* 279 (2004) 9899 - 9904. doi:10.1074/jbc.M312254200
39. KOURY MJ, BONDURANT MC: Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science* 248 (1990) 378 - 381.
40. LA FERLA K, REIMANN C, JELKMANN W, HELLWIG-BÜRCEL T: Inhibition of erythropoietin gene expression signaling involves the transcription factors GATA-2 and NF-kB. *FASEB J* 16 (2002) 1811 - 1813.
41. LASNE F, MARTIN L, MARTIN J, DE CEARRIZ J: Isoelectric profiles of human erythropoietin are different in serum and urine. *Int J Biol Macromol* 41 (2007) 354 - 357. doi:10.1016/j.ijbiomac.2007.04.002
42. LEON-VELARDE F, MONGE CC, VIDAL A, CARCAGNO M, CRISCUOLO M, BOZZINI CE: Serum immunoreactive erythropoietin in high altitude natives with and without excessive erythrocytosis. *Exp Hematol* 19 (1991) 257 - 260.
43. LOCATELLI F, DEL VECCHIO L: An expert opinion on the current treatment of anemia in patients with kidney disease. *Expert Opin Pharmacother* 13 (2012) 495 - 503. doi:10.1517/14656566.2012.658369
44. LUNDBY C, THOMSEN JJ, BOUSHEL R, KOSKOLOU M, WARBERG J, CALBET JA, ROBACH P: Erythropoietin treatment elevates haemoglobin concentration by increasing red cell volume and depressing plasma volume. *J Physiol* 578 (2007) 309 - 314.
45. MAGGIO M, SNYDER PJ, CEDA GP, MILANESCHI Y, LUCI M, CATTABIANI C, MASONI S, VIGNALI A, VOLPI R, LAURETANI F, PEACHEY H, VALENTI G, CAPPOLA AR, LONGO D, FERRUCCI L: Is the haematopoietic effect of testosterone mediated by erythropoietin? The results of a clinical trial in older men. *Andrology* 1 (2013) 24 - 28. doi:10.1111/j.2047-2927.2012.00009.x
46. MAJOR A, MATHEZ-LOIC F, ROHLING R, GAUTSCHI K, BRUGNARA C: The effect of intravenous iron on the reticulocyte response to recombinant human erythropoietin. *Br J Haematol* 98 (1997) 292 - 294. doi:10.1046/j.1365-2141.1997.2123031.x
47. MCNEILL LA, HEWITSON KS, CLARIDGE TD, SEIBEL JF, HORSEFALL LE, SCHOFIELD CJ: Hypoxia-inducible factor asparaginyl hydroxylase (FIH-1) catalyses hydroxylation at the beta-carbon of asparagine-803. *Biochem J* 367 (2002) 571 - 575. doi:10.1042/BJ20021162
48. MORICI G, ZANGLA D, SANTORO A, PELOSI E, PETRUCCI E, GIOIA M, BONANNO A, PROFITA M, BELLIA V, TESTA U, BONSIGNORE MR: Supramaximal exercise mobilizes hematopoietic progenitors and reticulocytes in athletes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289 (2005) R1496 - R1503. doi:10.1152/ajpregu.00338.2005 doi:10.1152/ajpregu.00338.2005
49. NAGEL S, TALBOT NP, MECINOVIC J, SMITH TG, BUCHAN AM, SCHOFIELD CJ: Therapeutic manipulation of the HIF hydroxylases. *Antioxid Redox Signal* 12 (2010) 481 - 501. doi:10.1089/ars.2009.2711
50. NAKANO Y, IMAGAWA S, MATSUMOTO K, STOCKMANN C, OBARA N, SUZUKI N, DOI T, KODAMA T, TAKAHASHI S, NAGASAWA T, YAMAMOTO M: Oral administration of K-11706 inhibits GATA binding activity, enhances hypoxia-inducible factor 1 binding activity, and restores indicators in an in vivo mouse model of anemia of chronic disease. *Blood* 104 (2004) 4300 - 4307. doi:10.1182/blood-2004-04-1631
51. NANGAKU M, IZUHARA Y, TAKIZAWA S, YAMASHITA T, FUJII-KURIYAMA, Y, OHNEDA O, YAMAMOTO M, VAN YPERSELE DE SC, HIRAYAMA N, MIYATA T: A novel class of prolyl hydroxylase inhibitors induces angiogenesis and exerts organ protection against ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27 (2007) 2548 - 2554. doi:10.1161/ATVBAHA.107.148551
52. NOGUCHI CT, ASAVARITIKRAI P, TENG R, JIA Y: Role of erythropoietin in the brain. *Crit Rev Oncol Hematol* 64 (2007) 159 - 171. doi:10.1016/j.critrevonc.2007.03.001
53. OHH M, PARK CW, IVAN M, HOFFMAN MA, KIM TY, HUANG LE, PAVLETICH N, CHAU V, KÄELIN WG: Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the beta-domain of the von Hippel-Lindau protein. *Nat Cell Biol* 2 (2000) 423 - 427. doi:10.1038/35017054
54. PAGEL H, JELKMANN W, WEISS C: O<sub>2</sub>-supply to the kidneys and the production of erythropoietin. *Respir Physiol* 77 (1989) 111 - 117. doi:10.1016/0034-5687(89)90034-0
55. PAUS R, BODO E, KROMMINGA A, JELKMANN W: Erythropoietin and the skin: a role for epidermal oxygen sensing? *Bioessays* 31 (2009) 344 - 348. doi:10.1002/bies.200800192
56. RANKIN EB, BIJU MP, LIU Q, UNGER TL, RHA J, JOHNSON RS, SIMON MC, KEITH B, HAASE VH: Hypoxia-inducible factor-2 (HIF-2) regulates hepatic erythropoietin in vivo. *J Clin Invest* 117 (2007) 1068 - 1077. doi:10.1172/JCI30117
57. RASMUSSEN P, NORDSBOG N, TAUDORF S, SORENSEN H, BERG RM, JACOBS RA, BAILEY DM, OLSEN NV, SECHER NH, MOLLER K, LUNDBY C: Brain and skin do not contribute to the systemic rise in erythropoietin during acute hypoxia in humans. *FASEB J* 26 (2012) 1831 - 1834. doi:10.1096/fj.11-191692
58. RATCLIFFE PJ: Oxygen sensing and hypoxia signalling pathways in animals: the implications of physiology for cancer. *J Physiol* 591 (2013) 2027 - 2042.
59. REN X, DORRINGTON KL, MAXWELL PH, ROBBINS PA: Effects of desferrioxamine on serum erythropoietin and ventilatory sensitivity to hypoxia in humans. *J Appl Physiol* 89 (2000) 680 - 686.
60. RICHalet JP, SOUBERBIELE JC, ANTEZANA AM, DECHAUX M, LE TRONG JL, BIENVENU A, DANIEL F, BLANCHOT C, ZITTOUN J: Control of erythropoiesis in humans during prolonged exposure to the altitude of 6,542 m. *Am J Physiol* 266 (1994) R756 - R764.
61. SCHMIDT W, ECKARDT KU, HILGENDORF A, STRAUCH S, BAUER C: Effects of maximal and submaximal exercise under normoxic and hypoxic conditions on serum erythropoietin level. *Int J Sports Med* 12 (1991) 457 - 461. doi:10.1055/s-2007-1024713

62. SCHMIDT W, SPIELVOGEL H, ECKARDT KU, QUINTELA A, PENALOZA R: Effects of chronic hypoxia and exercise on plasma erythropoietin in high-altitude residents. *J Appl Physiol* 74 (1993) 1874 - 1878.
63. SCHOFIELD CJ, RATCLIFFE PJ: Signalling hypoxia by HIF hydroxylases. *Biochem Biophys Res Commun* 338 (2005) 617 - 626. doi:10.1016/j.bbrc.2005.08.111
64. SEMENZA GL: Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell* 148 (2012) 399 - 408. doi:10.1016/j.cell.2012.01.021
65. SIREN AL, FASSHAUER T, BARTELS C, EHRENREICH H: Therapeutic potential of erythropoietin and its structural or functional variants in the nervous system. *Neurotherapeutics* 6 (2009) 108 - 127. doi:10.1016/j.nurt.2008.10.041
66. SKIBELI V, NISSEN-LIE G, TORJESEN P: Sugar profiling proves that human serum erythropoietin differs from recombinant human erythropoietin. *Blood* 98 (2001) 3626 - 3634. doi:10.1182/blood.V98.13.3626
67. SOHMIYA M, ISHIKAWA K, KATO Y: Stimulation of erythropoietin secretion by continuous subcutaneous infusion of recombinant human GH in anemic patients with chronic renal failure. *Eur J Endocrinol* 138 (1998) 302 - 306. doi:10.1530/eje.0.1380302
68. STIEHL DP, WIRTHNER R, KODITZ J, SPIELMANN P, CAMENISCH G, WENGER RH: Increased prolyl 4-hydroxylase domain proteins compensate for decreased oxygen levels. Evidence for an autoregulatory oxygen-sensing system. *J Biol Chem* 281 (2006) 23482 - 23491. doi:10.1074/jbc.M601719200
69. TSUCHIYA, T, OKADA, M, UEDA, M, YASUKOCHI, Y: Activation of the erythropoietin promoter by a point mutation from GATA to TATA in the -30 region. *J Biochem (Tokyo)* 121 (1997) 193 - 196.
70. VIAULT F: Sur l'augmentation considérable du nombre des globules rouges dans le sang chez les habitants des hauts plateaux de l'Amérique du Sud. *C R Acad Sci Paris* 111 (1890) 917 - 918.
71. VLAHAKOS DV, MARATHIAS KP, MADIAS NE: The role of the renin-angiotensin system in the regulation of erythropoiesis. *Am J Kidney Dis* 56 (2010) 558 - 565. doi:10.1053/j.ajkd.2009.12.042
72. VON WUSSOW U, KLAUS J, PAGEL H: Is the renal production of erythropoietin controlled by the brain stem? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289 (2005) E82 - E86. doi:10.1152/ajpendo.00182.2004
73. WANG GL, SEMENZA GL: Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 270 (1995) 1230 - 1237. doi:10.1074/jbc.270.3.1230
74. WARNECKE C, ZABOROWSKA Z, KURRECK J, ERDMANN VA, FREI U, WIESENER M, ECKARDT KU: Differentiating the functional role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha and HIF-2alpha (EPAS-1) by the use of RNA interference: erythropoietin is a HIF-2alpha target gene in Hep3B and Kelly cells. *FASEB J* 18 (2004) 1462 - 1464.
75. WINSLOW RM, CHAPMAN KW, GIBSON CC, SAMAJA M, MONGE CC, GOLDWASSER E, SHERPA M, BLUME FD, SANTOLAYA R: Different hematologic responses to hypoxia in Sherpas and Quechua Indians. *J Appl Physiol* 66 (1989) 1561 - 1569.

**Korrespondenzadresse:**

**Prof. Dr. med. Wolfgang Jelkmann**  
**Universität zu Lübeck**  
**Institut für Physiologie**  
**Ratzeburger Allee 160**  
**23562 Lübeck**

**E-Mail: [jelkmann@physio.uni-luebeck.de](mailto:jelkmann@physio.uni-luebeck.de)**