

Der Weg zum Blutpass – Blutparamater als indirekter Manipulationsnachweis

1 Geschichte

Aus historischer Sicht wird berichtet, dass Eigen- und Fremdblut seit den frühen 70er-Jahren angewandt wird. 1984 bekannte das US Radteam den Gebrauch von Blutinfusionen vor den olympischen Spielen (CRAMER, R. B., 1985). Ein Nachweisverfahren für Fremdblutmanipulationen, welches durch das Vorhandensein von bis zu 12 körperfremden Antigenen auf den Erythrozytenmembranen nachgewiesen wird, besteht seit 2002 (ELSON, M. et al., 2003). Es wurde von australischen Wissenschaftlern entwickelt und 2004 in den von der Welt-Anti-Doping-Agentur akkreditierten Laboratorien in Sydney, Athen und Lausanne angewandt (ÄRZTEZEITUNG, 2007). So wurden Tyler Hamilton, Santi Perez (2004) und Alexander Winokurov (2007) überführt. Während für Blutdoping eine aufwendige Infrastruktur notwendig ist, änderten sich 1987 diese Voraussetzungen durch rekombinantes humanes Erythropoetin (rhEPO). Aus Geständnissen von Fahrern und inzwischen vorliegenden Blutwerten, kann davon ausgegangen werden, dass im Radsport 1995 systematisch EPO zur Leistungssteigerung genutzt wurde. (Tab. 1)

Tab. 1. Erhöhte Hämatokritwerte in % der Gewiss-Ballan-Fahrer durch weitestgehend zugegebenen Gebrauch von rhEPO (CYCLING4FANS 1994/1995: Die Ära Gewiss-Ballan)

Fahrer	15. Dezember 1994	24. Mai 1995	Differenz absolut %
Bobrik	42,7	53	10,3
Cenghialta	37,2	54,5	17,3
Frattini	46	54	8
Volpi	38,5	52,6	14,1
Gotti	40,7	57	16,3
Furlan	38,8	51	12,2
Minali	41,7	54	12,3
Santaromita	41,4	45	3,6
Ugrumov	42,8	60	17,2
Berzin	41,7	53	11,3
Riis	41,1	56,3	15,2

Endgültig ins Blickfeld der Öffentlichkeit gelangten die Praktiken durch den Festina-Skandal 1998 und spätere Geständnisse von einzelnen Fahrern des Team Telekom. In welchem Alter bereits gedopt wurde räumte die erst 2005 positiv getestete kanadische Straßen-Meisterin Genevieve Jeanson 2007 ein, als sie angab, mit 16 Jahren das Blutdopingmittel EPO eingenommen zu haben. Wie der Doping-Skandal 2006 mit dem Ausschluss verschiedener Tour de France Fahrer der „Fuentes Liste“ durch die „Operation Puerto“ in Spanien zeigte, kam es anschei-

nend zu einer Rückkehr zum Eigenblutdoping. Durch die Einführung des EPO-Nachweises (LASNE, F., & DE CEARRIZ, J., 2000) erfolgte im Jahre 2000 die Unterscheidung rekombinanter Isoformen von humanen mittels isoelektrischer Fokussierung und anschließender Visualisierung. Die Methode gewann schlagartig weltweite Aufmerksamkeit, als damit der Missbrauch von NESP bei drei Athleten (u. a. Goldmedaillengewinner Johann Mühlegg) während der olympischen Spiele 2002 in Salt Lake City bewiesen werden konnte. Videman et al. (2000) konnten zeigen, dass bis zur Einführung des Epotests der mittlere Hämoglobinwert im Skilanglauf deutlich Anstieg (VIDEMAN, T. et al., 2000).

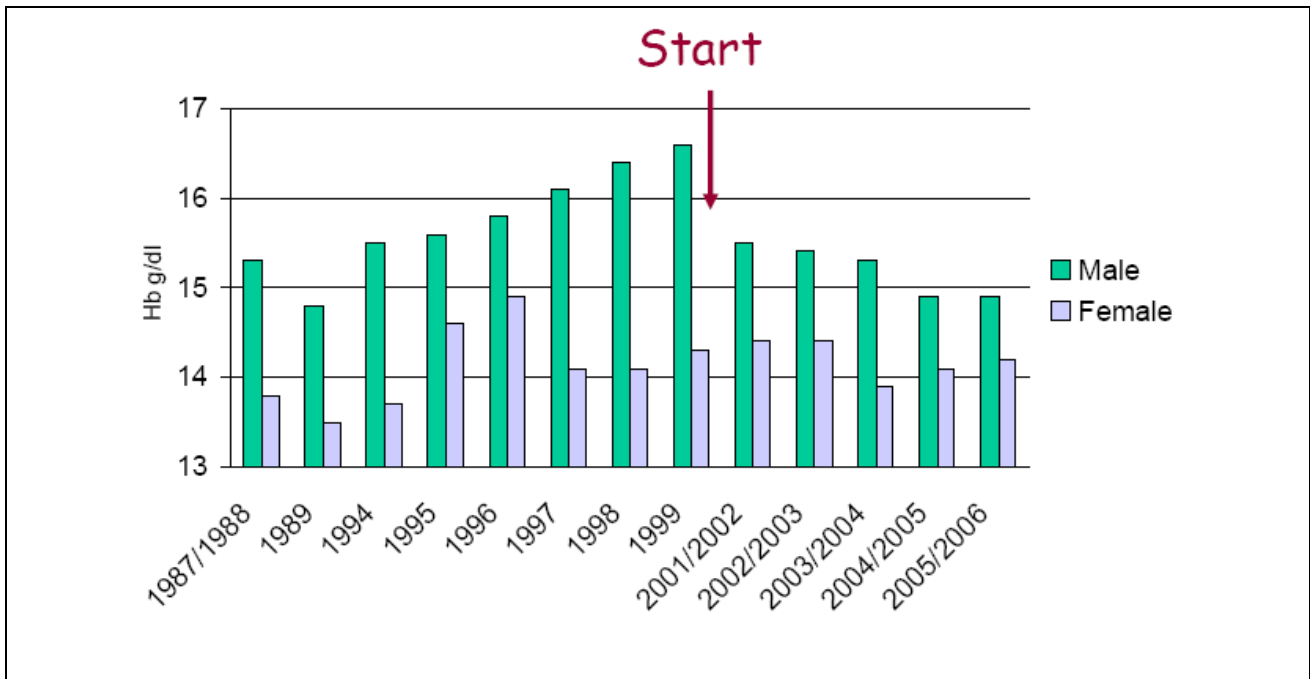


Abb. 1. Veränderungen der mittleren Hämoglobinwerte bei Skilangläufern der Weltspitze. Start markiert die Einführung des EPO-Urintests (VIDEMAN, T. et al., 2000)

So zeigten bei der WM 1995 einige Skiläufer Hb-Werte von 20 g/dl, wobei alle Medallengewinner über 17,5 g/dl lagen. Seit 1997 gilt der obere Grenzwert für Männer im Skilanglauf von 18,5 g/dl (FIS). 1999 lagen bei 30 männlichen Skiläufer zwischen die Hb-Werte zwischen 17,0-18,7 g/dl. Alle Medallengewinner hatten Werte > 17,0 g/l. Später wurde der Grenzwert für Männer auf 17,0 g/dl und für Frauen auf 16,0 g/dl festgelegt (Tab. 2).

2 Erythropoetin und Blutveränderungen

Die Halbwertszeit von Darbepoetin (NESP) ist ca. 3x länger als die von rhEPO und liegt bei ca. 21 h nach intravenöser Injektion, während Erythropoetin eine Halbwertszeit von 8,5 h aufweist. Nach subkutaner Injektion verlängert sich die Halbwertszeit von NESP auf ca. 49 h (27-89 h) und 16-24 h für rhEPO. (INSTITUT FÜR BIOCHEMIE DER DSHS KÖLN, 2002). Während die älteren Arbeiten einen sicheren Nachweis innerhalb von ca 48 h versprachen (WIDE, L. et al., 1995), propagiert

eine Arbeit aus dem Jahr 2003 einen möglichen Nachweis zumindest in ca. 50 % der Fälle mitunter bis zu sieben Tagen nach EPO-Administration (BREIDEBACH, A. et al., 2003). Das größte Problem ist allerdings, dass für einen positiven EPO-Test wenigstens 80 % isomere Formen (körperfremd) vorhanden sein müssen. DYNEPO, welches natürliche aus der menschlichen Haut gewonnene Zellen für die EPO-Biosynthese nutzt, ist zur Zeit nachweisbar und wurde mit dem suspendierten führenden der Tour de France 2007 Michael Rasmussen in Verbindung gebracht (BREIDEBACH, A. et al., 2003). Die Welt-Anti-Doping-Agentur (WADA) hatte die Nachweismethode für DYNEPO allerdings noch nicht autorisiert. Daher ist der positive Befund des Dänen juristisch bisher nicht verwertbar. Inzwischen wurde im Rahmen der Aufklärungen in Österreich durch Geständnisse des Fahrers Kohl gezeigt, dass Rasmussen wohl systematisch Eigenblutdopingsysteme aufbaute und nutzte. Das folgende Diagramm zeigt den typischen Verlauf des klassischen EPO-Doping mit dem Anstieg der Retikulozyten durch die Stimulation von rhEPO und anschließendem Hb-Anstieg. Da nach Absetzen von rhEPO die gesteigerte Produktion von Erythrozyten abgeschlossen ist, kommt es zum rasanten Abfall der Retikulozyten als Zeichen der erniedrigten Parameter der Erythropoese. Gleichzeitig besteht eine länger anhaltende Erythrozytenkonzentration und bleibt die maximale Sauerstofftransportkapazität noch erhöht, wobei rhEPO/NESP mit der direkten Methode nicht mehr nachzuweisen ist, da es aufgrund der Plasmahalbwertszeit vollständig aus dem Körperkreislauf eliminiert wurde. Daraus wird klar, dass relativ gut auf einen Wettkampf mit hohen Hb-Werten zugesteuert werden kann, ohne mit einem positivem Epo -Test zu rechnen.

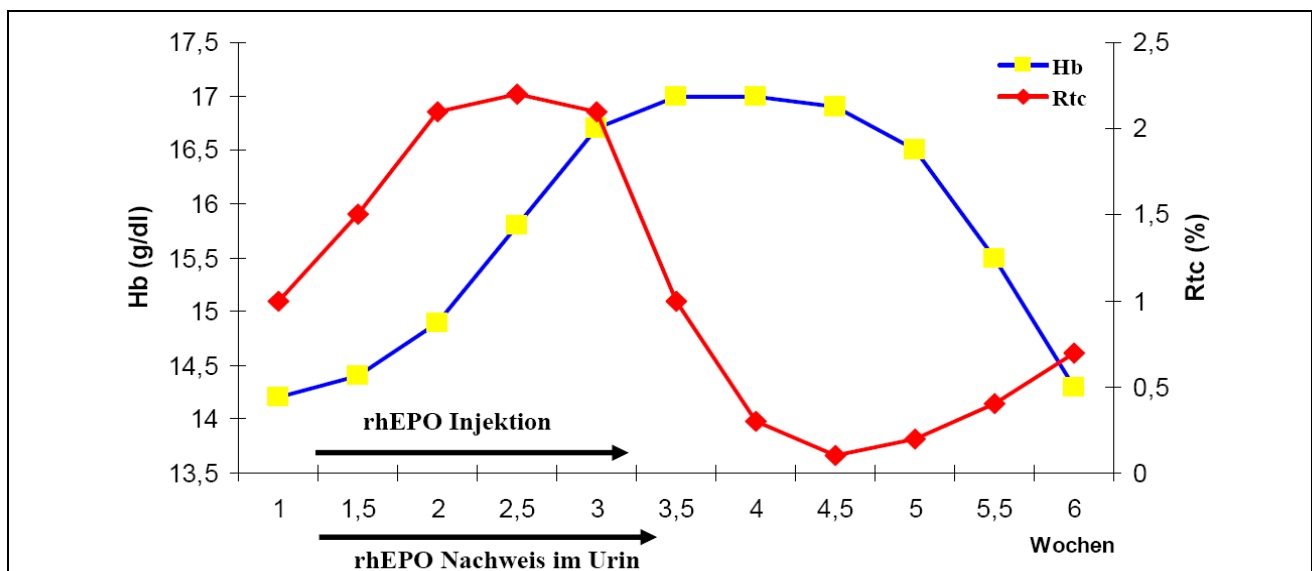


Abb. 2. Klassisches „altes“ Injektionschema von rhEPO. Beispiel der Veränderungen von Hämoglobin und Retikulozyten unter ca. 3-wöchiger EPO-Stimulation

Neuere Techniken von Athleten die an Rundfahrten und eng gesetzten Wettkämpfen teilnehmen, haben das sogenannte Low Dose Verfahren eingesetzt. Hierbei wird zu Beginn eine hohe Menge EPO eingesetzt und der erhöhte Hb an der Schutzsperrgrenze mit niedrigen intravenösen EPO Injektionen aufrechterhalten.

So konnte gezeigt werden, dass eine Mikrodosierung das Zeitfenster des positiven Urinnachweises auf 12-18 h reduziert (ASHENDEN, et al., 2006). Verfeinerte Techniken sorgen sogar bei abendlicher Injektion zu negativen Tests am Folgetag. Daher sollten Trainingskontrollen immer früh morgens stattfinden. Steigt die Anzahl der Erythrozyten und damit die Viskosität des Blutes, besteht grundsätzlich ein erhöhtes Thromboserisiko. Der Körper versucht dabei, das Plasmavolumen in den Grenzbereichen durch einen Albuminanstieg selbstständig weiter zu erhöhen. (Abb. 3) Dies führte dazu, dass die UCI 2003 einen Grenzwert für Albumin von 300mg/dl einführte.

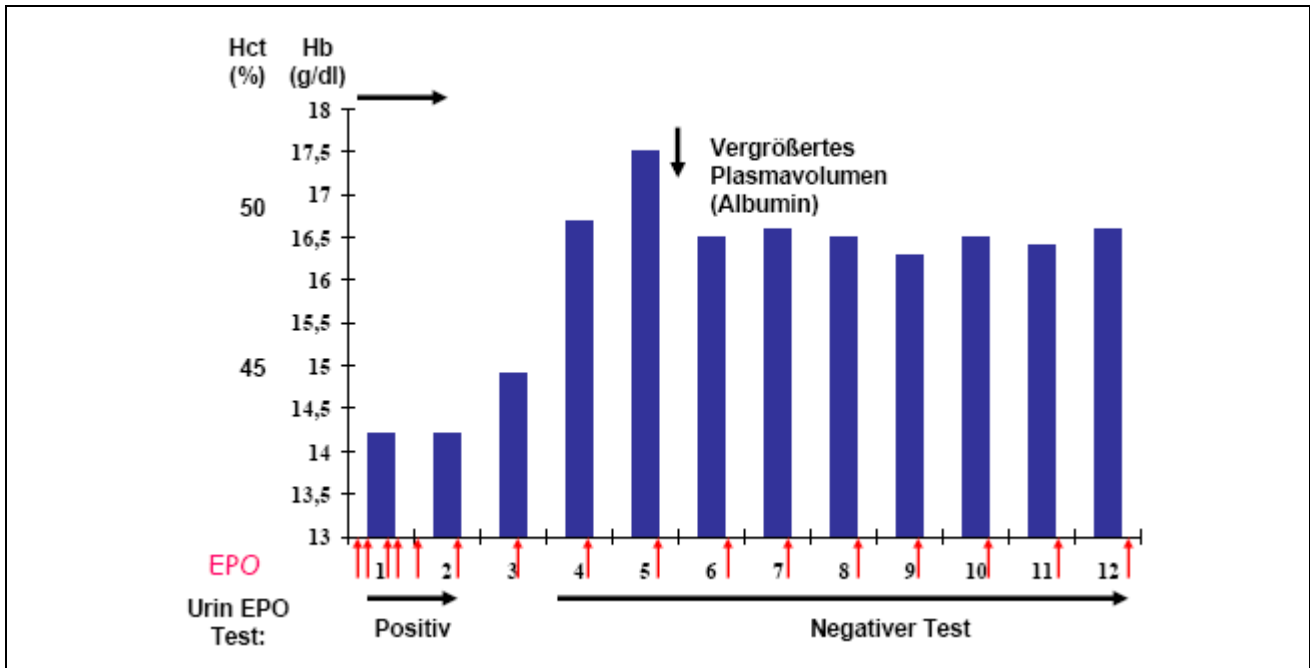


Abb. 3. Sog. Low-Dose-Schema (Mikrodosierung). Nach einer klassischen Boosterphase werden mit unterschwelligen rhEPO Injektionen die Hb-Werte hochgehalten. Ein Nachweis im Urin gelingt aufgrund der geringen rhEPO Menge kaum.

Aufgrund der geringen Nachweise von Substanzen im Urin wurde gleichzeitig versucht über Blutmonitoring indirekte Hinweise auf Missbrauch durch unerlaubte Substanzen oder Bluttransfusionen zu gewinnen. Diese Modelle dienten bereits in der Vergangenheit dazu, kostspielige Urin-Epokontrollen gezielter einzusetzen. Der Vorteil der Verwendung von Blutparametern besteht darin, dass eine große Anzahl von Proben in einem kurzen Zeitraum gescreent werden können und zusätzliche Informationen aus verschiedensten Blutparametern erhalten werden.

3 Blutparameter

Um Blutparameter zum indirekten Dopingnachweis heranzuziehen wurden insbesondere die Retikulozyten und deren Reifestadien, Hämoglobinwerte, Ferritin, der lösliche Transferrinrezeptor (sTfR) sowie der Erythropoetinspiegel im Blut sowie deren Kombinationen untersucht (SCHWENKE, D., 2004).

3.1 Hämoglobin

Frauen haben naturgemäß niedrigere Hb-Werte als Männer. Es ist bekannt, dass bei 2,5 % der Allgemeinbevölkerung Hb-Werte über 16 auftreten. Ein genetisch bedingter hoher Hb-Wert zeigt wohl auch erhöhte Retikulozytenwerte (MORKEBERG, J., SALTIN, B., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R., 2008)

3.2 Löslicher Transferrinrezeptor (sTfR)

Um einen Missbrauch von rhEPO zu erfassen wurde 1994 der lösliche Transferrinrezeptor (sTfR) als möglicher Parameter vorgeschlagen (BRISSON, 1994). Alle Studien zeigen eindeutig, dass sich die sTfR-Werte durch die rhEPO-Applikation signifikant erhöhen und damit die Frage aufkam ab welcher Konzentration die Werte nicht mehr als Normalwerte betrachtet werden können. Da der Aspekt einer Eisenmangelercheinung nicht außer Acht gelassen werden konnte, ergab sich hier auch unter Berücksichtigung mit Ferritinwerten kein sicherer Nachweis.

3.3 Retikulozyten

Die Stimulation der Erythropoese wirkt sich direkt auf die Zahl und die Reifestadien der Retikulozyten, die zellkernhaltigen Vorstufen der Erythrozyten, aus (PORTSMANN, B., 1993; ASHENDEN, M. J., FRICKER, P. A., MORRISON, N. K., DOBSON, G. P., HAHN, A. G. TH., 1998 ; DIXON, L. R., 1997; ASHENDEN, M. J.; DOBSON, G. P.; HAHN, A. G., 1998; MAJOR, et al., 1997; D'ONOFRIO, G., et al., 1996; TANAKA, H. et al., 1994). In der Klinik dienen diese zur Überwachung der Effizienz von rhEPO-Therapien (AHLUWALIA, N. et al., 1997; RUTHERFORD, C. J. et al., 1994; TANAKA, H. et al., 1994). Die Retikulozyten werden durch das Anfärben mit geeignetem Fluoreszenzfarbstoff über Messung der Fluoreszenzintensität mit entsprechenden automatisierten Analysegeräten (z. B. Sysmex oder ADVIA 120) über Absorption der aufgekugelten Zellen und Messung des Streulichts erfasst. Zudem ist eine Alterseinstufung möglich, die auf der Messung der Fluoreszenzintensität der angefärbten Zellen basiert und der niedrig- (LFR), der mittel- (MFR) und der hochfluoreszierenden Retikulozyten (HFR) unterscheidet. Je jünger die Retikulozyten, desto höher die Fluoreszenz. Retikulozyten wandeln sich innerhalb eines Tages in Erythrozyten um, wobei die normale Anzahl bei 0,5-2 % liegt. Der Ansatz eines Multiparameter-modells, d. h. der Kombination aus kleinem Blutbild, Retikulozytenparametern und relevanten Serumparametern führte zur Entwicklung der „ON“- und „OFF“-Modelle (PARISOTTO et al., 2000; PARISOTTO, R., et al., 2001), die seit den Olympischen Spielen 2000 in Sydney als Screeningmethode eingesetzt werden. Zu einer praktischen Umsetzung kam im Rahmen von Reglements vieler Verbände die Stimulationsphase („ON-Phase“) durch rhEPO, bei der es zum Anstieg der Retikulozyten kommt. Beim Vorfinden eines Wertes über 2 % wird hier sinnvollerweise sofort eine Zielkontrolle (= Urinkontrolle auf EPO) durchgeführt. Auch die Reifestadien der Retikulozyten können Aussagen über eine gesteigerte Erythropoese, d. h. eine Funktionsdiagnose des Knochenmarks, liefern,

da sich durch EPO die Reifezeit der Retikulozyten im Knochenmark von ca. vier Tagen auf lediglich zwei Tage verkürzt (BRUGNARA, C. et al., 2000; SOWADE, O. et al., 1997) und der Anteil der unreifen hochfluoreszierenden Retikulozyten (HFR) im Blut der steigt (TANAKA, et al., 1993; BREYMYNN, C. et al., 1996; MAJOR, A. et al., 1994). Wird EPO abgesetzt kommt es zum starken Abfall der Retikulozyten, da einerseits die Stimulation entfällt und andererseits das System die überhöhte Erythrozytenzahl erkennt. Die Hämoglobinkonzentration bleibt trotzdem länger erhöht, da rote Blutkörperchen eine Lebenszeit von bis zu 120 Tagen haben. Auch ein Abfallen des Anteils der hoch- und mittelfluoreszierenden frühen Reifestadien der Retikulozyten (Retikulozytenreifungsindex) kann beobachtet werden. Dies ist beim ungedopten Athleten eher ungewöhnlich da bei körperlicher Aktivität ein erhöhter Zellumsatz mit eher hohem Anteil von jungen hochfluoreszierenden Retikulozyten beobachtet wird (BANFI, G. F. M., 2007). Diese Situation nach dem Absetzen von EPO mit extrem niedrigen Retikulozyten und hohem Hämoglobinwert wurde als OFF-score-Wert in die Regularien aufgenommen. Es ist wichtig festzustellen, dass eine sehr niedrige Anzahl zirkulierender Retikulozyten nicht die Konsequenz anderer nicht verbotener Wege zur Erhöhung der Gesamtzahl der roten Blutkörperchen sein kann, wie Höhenttraining oder der Gebrauch von Mitteln für simulierte Höhe (ASHENDEN, M, GORE, C., PARISOTTO, R., SHARPE K, HOPKINS, W., HAHN A., 2003). Einem Anstieg des Hb in der Höhe geht in der Regel ein leichter Anstieg der Retikulozyten voraus, jedoch nie ein Abfall. Zudem sind nur wenige Bedingungen bekannt, die zu einem wesentlichen Abfall der Retikulozyten (Reticulocytopenie) führen. Diese Krankheiten (Osteomyelofibrose, myelodysplastisches Syndrom) sind allerdings nicht vereinbar mit sportlichen Leistungen auf sehr hohem Niveau. Niedrige Retikulozytenwerte sind somit immer mit einer Anämie verbunden. So wurde beschrieben, dass ein Blutbild mit angestiegenem Hämoglobin und abnormal niedrigen Retikulozyten auch nur irgendeiner krankhaften Veränderung in der Literatur zugeschrieben werden kann (GORE, C. et al., 2003; PARISOTTO, R. et al., 2003). Die Kombination dieser Werte ist in der medizinischen Welt nicht bekannt und aller Wahrscheinlichkeit nach auf den vorherigen Gebrauch verbotener Substanzen die das Knochenmark stimulieren oder Bluttransfusionen begründet. Reinfusionsstudien (DAMSGAARD, R. et al., 2006) (Eigenblutdoping) konnten im Übrigen keine so starken Abfälle von Retikulozyten zeigen, wie dies unter EPO Gebrauch beobachtet wird.

Der Off-score Wert wurde nach Zusammenführung großer Athletenkollektive erstellt, gilt als zweite Generation des indirekten Epo-Missbrauches und errechnet sich wie folgt: $\text{OFF-score} = \text{Hb (g/l)} - 60 \cdot \sqrt{\text{Retikulozyten \%}}$: Normalwerte liegen bei Männern bei ca. 90-95. So bestehen für Männer bei Werten auf Seehöhe von $> 125,6$ eine Manipulationswahrscheinlichkeit von 1000:1 = 99,9 % und > 133 eine Manipulationswahrscheinlichkeit von 10000 :1 = 99,99 %.
(GORE, C. J., R. PARISOTTO, M. J. ASHENDEN, et al.; 2003)

In der Praxis wurden z. B. bei 3699 Blutabnahmen seit 2001 beim Verband Fis nur von sechs Athleten die Werte von 133 überschritten. Bisher gab es sieben positive EPO Tests (Stand 8/2007).

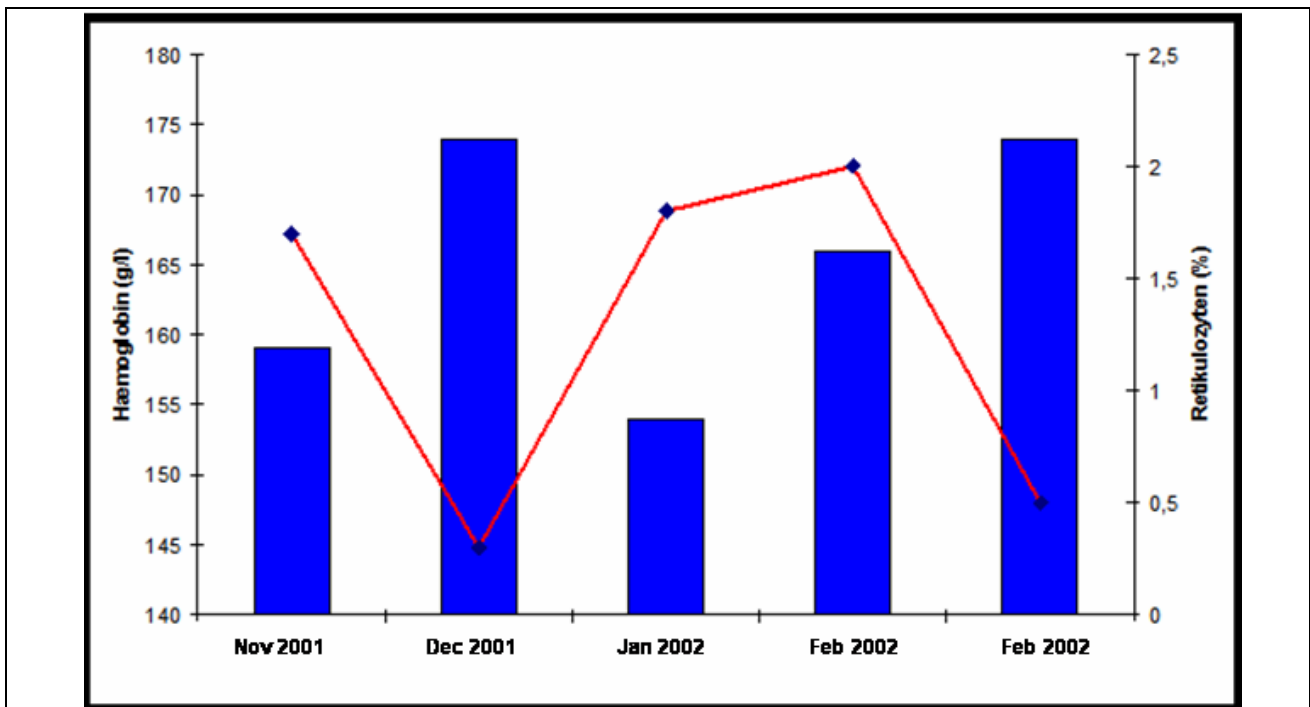


Abb. 4. Retikulozyten- und Hämoglobinverlauf eines Athleten der des EPO (NESP) Missbrauchs überführt wurde.

Tab. 2. Beispiele von Grenzwerten verschiedener Verbände die zu Schutzsperrern oder Zielkontrollen führen. (Bei der ISU wird noch nach Meereshöhe und Höhen über 610 m ü.M. unterschieden)
* von der deutschen Triathlon Union beschlossen am 18.11.2008

Verband	Hb g/dl männlich	Hb g/l weiblich	Off score männlich	Off score weiblich
UCI	17,0	16,0	133	123
DTU*	17,0	16,0	133	123
IAAF	17,0	16,0	133	123
ISU	17,2/18,0	15,7/16,5	125,6/134	113,5 /120,5

4 Praktische Beurteilung

Vor einer Bewertung dieser Parameter ist immer die Validität genauestens zu prüfen. Damit sind die möglichen messbedingten Abweichungen der Parameter (z. B. der Retikulozyten) und die Abnahmebedingungen in Form eines „best case szenario“ für den Athleten zu berechnen, da Abnahmezeit- und Zustand des Athleten (Training etc.) sowie die Analysebedingungen (Lagerung der Probe etc.) nachhaltigen Einfluss auf die untersuchten Parameter haben können. Auch sollte vor der Messung der Blutparameter die Eichung der verwendeten Messgeräte einem unabhängigen Qualitätskontrollsystem unterworfen sein und an entsprechenden Ringversuchen teilnehmen. Nur so können falsch positive Befunde vermieden und ungedopte Athleten geschützt werden.

Name	Short form	Number of parameters	rHuEPO doping		Blood transfusion	
			Loading phase	Maintenance phase	Removal	Infusion
Hemoglobin	Hgb	1	↑	↑	↓	↑
Hematocrit	Hct	1	↑	↑	↓	↑
Red Blood cells	Rbc	1	↑	↑	↓	↑
Reticulocytes	Ret%	1	↑	↓	↑	↓
OFF-score	OFFS	2	→	↑	↓	↑
Abnormal Blood Profile Score	ABPS	2-12	↑	↑	↓	↑

Abb. 5. Bekannte Marker bei Bluttransfusion, Blutspende und ihre Antwort auf EPO Behandlung. OFFS und ABPS (Abnormal Blood Profile Score) sind multiparametrische Marker, die insbesondere zur Aufdeckung verschiedener Formen von Blutdoping. ABPS beinhaltet zudem andere Parameter wie die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC), das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV), das mittlere korpuskuläre Hämoglobin (MCH), Erythropoietin (EPO) und die absolute Reticulozytenzahl. (SOTTAS, P.E., ROBINSON, N., SAUGY M., 2008)

5 Hb-Masse

Einen weiteren Ansatz geben die Arbeiten hinsichtlich der Erfassung der Gesamthämoglobinmasse und des Blutvolumens (HEINICKE, K. et al., 2001; SCHMIDT, W. et al., 2002). Gut trainierte Ausdauersportler haben im Vergleich zu anderen Athleten und „normalen“ Personen ein wesentlich erhöhtes Blutvolumen und Gesamthämoglobin (30-40 %), wobei die Steigerung durch Training und Höhenaufenthalt nur begrenzt möglich ist. Bei der ersten Blutprobe wird der Kohlenmonoxidgehalt bestimmt (SCHMIDT, W. et al., 2000). Danach muss der Sportler zwei Minuten lang Kohlenmonoxid (Menge von ca. drei Zigaretten) einatmen. Vier Minuten später wird eine zweite Blutprobe entnommen.

Aus der Differenz der Kohlenmonoxidwerte vor und nach dem Test lässt sich die Gesamtmenge an Hämoglobin unabhängig vom Plasmavolumen im Körper berechnen. Bisher gibt es jedoch keine Grenzwerte, und die eingeatmete CO Menge überschreitet die zulässigen arbeitsmedizinischen Grenzwerte. Als Screening-Methode ist diese allerdings sehr wertvoll. Es lassen sich individuelle Profile erstellen sowie Auffälligkeiten erkennen. Beim T-Mobile-Team war diese Messung in einem selbst geschaffenen, angeblich harten und transparenten Anti-Doping-System fester Bestandteil. So wurde z. B. der Ukrainer und T-Mobile-Star Sergej Gontschar, welcher bei der Tour 2006 mit zwei Etappensiegen zwei Tage im Gelben Trikot fuhr, wegen auffälliger Blutwerte und kontrollierter Hb-Massenwerte entlassen. Seine Manipulationswahrscheinlichkeit lag bei 1:22.000.000. Seine Klage gegen die Entlassung durch den Arbeitgeber vor dem CAS wurde abgewiesen. Beim Ironman Germany 2008 und 2009 wurden mehrere Athleten im Rahmen eines WADA Projektes mit der Uni Bayreuth vor und nach dem Rennen gemessen. Hier zeigte sich auch bei Weltklasse-Profis eine identische Hb-Masse vor und nach dem Rennen, was eine Manipulation mit Eigenblut ausschließt.

6 Z-Score

Als neuste und 3. Generation der indirekten Bestimmung des EPO Missbrauchs wird seit 2006 vorgeschlagen individuelle Profile von Athleten zu erstellen und Schwankungsprofile von Hb und Retikulozyten zu bewerten (SHARPE, K., ASHENDEN, M., SCHUMACHER, Y.O. (2006). Dabei wird sowohl der gegenwärtige Wert als auch der Mittelwert vorangegangener Messungen einbezogen. Diese Bewertung setzt entsprechend viele valide Blutabnahmen voraus. Ähnlich den OFF-score Werten werden hier Wahrscheinlichkeiten numerisch festgehalten (SOTTAS et al., 2006). Die Berechnung erfolgt über folgende Formel:
$$\text{Hbz-score} = (\text{Hbcurrent} - \text{Hbmean}) / (2 \cdot (1 + 1/n))$$

Tab. 4. Manipulationswahrscheinlichkeiten mit Hilfe des sogenannten Z-Score

Z-Score	Falsch positiv/Manipulationswahrscheinlichkeit
2,33	1:100 = 99 %
3,09	1:1000 = 99,9 %
3,72	1:10.000 = 99,99 %
> 4,26	1:100.000 = 99,999 %

Neueste Ansätze zur Bekämpfung von Blutdoping beinhalten statistische Modelle, die auf lernfähigen Mustererkennungsalgorithmen beruhen, die anhand von Blutprofilen von gedopten und ungedopten Athleten „trainiert“ wurden und Wahrscheinlichkeiten für Manipulationen berechnen. Diese Verfahren haben eine Sensitivität von bis zu 60 % bei 100 % Spezifität. Damit sind sie allen bisherigen indirekten Methoden weit überlegen und bilden den Weg zum Blutpass. Bei der Bewertung von Blutproben ist es immer wichtig die Validität zu prüfen. Dazu gehören insbesondere die Abnahmebedingungen, die Eichprotokolle, die Kühlkette sowie die Schwankungsbreiten der einzelnen Parameter.

7 Einfluss von Höhe

Bei Untersuchungen der FIS von 3.961 venösen Blutproben bei 440 weiblichen und 3.120 Proben von 634 männlichen Skilangläufern im Zeitraum November 2001 bis Juli 2007 konnte bei Frauen und Männern in Bezug auf Veränderungen der Retikulozyten in Höhe folgendes festgestellt werden. Bei den Frauen (w)/Männern (m) waren die Retikulozyten 0,08 (w)/0,13 (m) Prozentpunkte und Hämoglobin 0,1 (w)/0,05 (m) g/dL höher in Proben von 600-1.200 m ü. M. verglichen mit denen unter 600 m ü. M. Über 1.200 m Höhe zeigten die Retikulozyten 0,1 (w)/0,09 (m) höher Prozentpunkte und Hämoglobin 0,05 (w)/0,05 (m) g/dL höher als in den Blutproben von 600-1.200 m ü. M. (Abb. 6a und 6b) (MORKEBERG, J., SALTIN, B., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R., 2008).

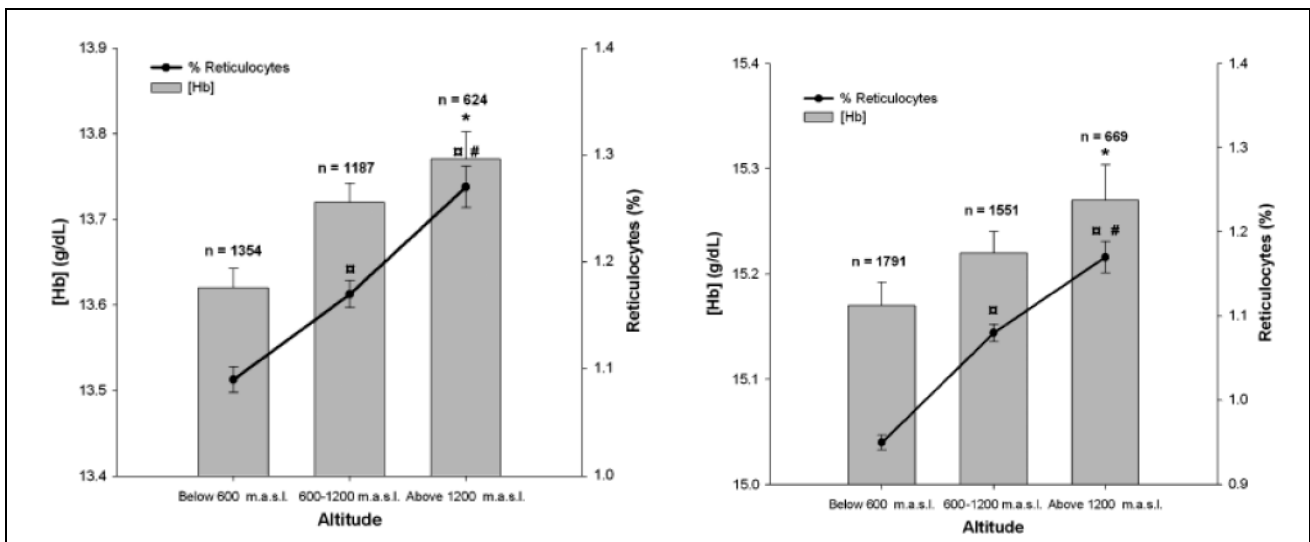


Abb. 6a. Mittlere Hb- und Retikulozytenwerte in Abhängigkeit von der Höhenlage des Wettkampforts bei Frauen (MORKEBERG, J., SALTIN, B., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R., 2008).

Abb. 6b. Mittlere Hb- und Retikulozytenwerte in Abhängigkeit von der Höhenlage des Wettkampfortes bei Männern (MORKEBERG, J., SALTIN, B., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R., 2008).

Im Vergleich zu den olympischen Spielen 2006 in Pragelato waren die Hb-Werte im Durchschnitt 1,1-1,3 g/dL höher als in derselben Gruppe vier Wochen später beim Weltcup in Sapporo. Obwohl Pragelato 1.500 m ü. M. und Sapporo 150 m ü. M. liegt, können allerdings nur Hb-Wert Erhöhungen von 0,1-0,15 g/dL durch Höheneffekte erklärt werden. Darüber hinaus wurden bei Athleten, die sowohl bei den olympischen Spielen in Pragelato 2006 und am Weltcup in Pragelato 2005 teilnahmen, 1,2 g/dL höher Hb-Werte bei den olympischen Spielen gemessen. Diese Effekte sind ebenfalls nicht durch Höhe oder individuelle Schwankungen zu erklären (Abb. 7a und 7b).

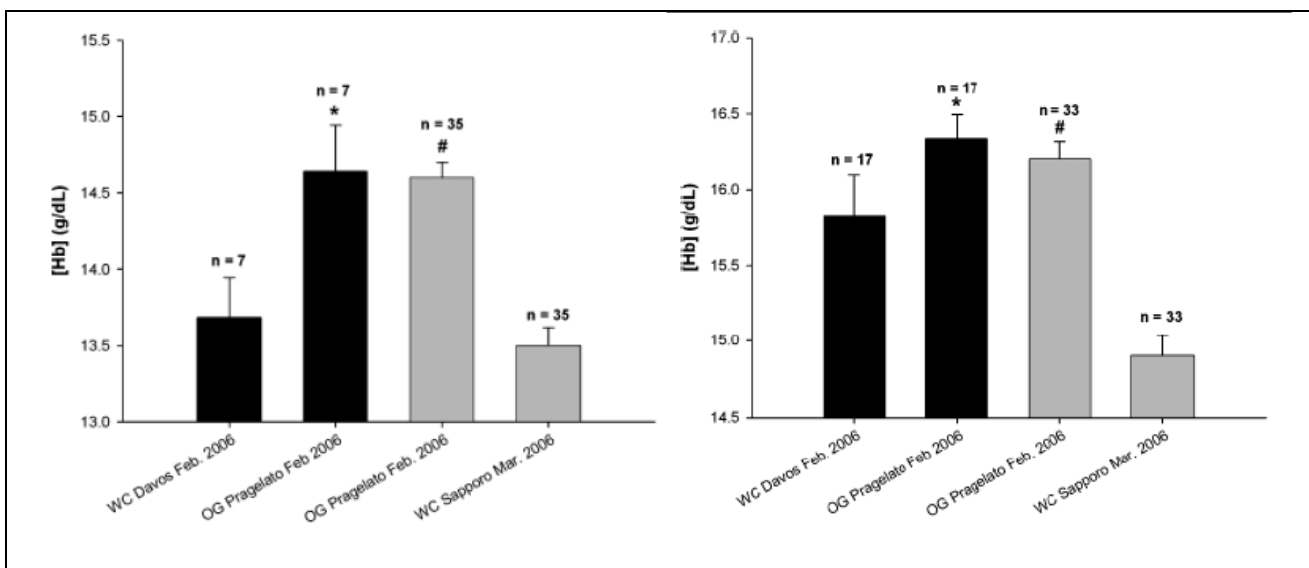


Abb. 7a. HB-Werte bei den Weltcups Skilanglauf eine Woche vor und vier Wochen nach den Olympischen Spielen bei Frauen. (MORKEBERG, J., SALTIN, B., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R., 2008)

Abb. 7b. HB-Werte bei den Weltcups Skilanglauf eine Woche vor und vier Wochen nach den Olympischen Spielen bei Männern. (MORKEBERG, J., SALTIN, B., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R., 2008)

8 Blutpass

Da Hämoglobin und Hämatokrit einfach manipuliert werden können entstanden Modelle mit unterschiedlichen Variablen wie der ABPS (Abnormal Blood Profile Score), welcher zudem andere Parameter wie die mittlere korpuskuläre Hämoglobin Konzentration (MCHC), das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV), das mittlere korpuskuläre Hämoglobin (MCH), Erythropoietin (EPO) und die absolute Retikulozytenzahl beinhaltet (Abb. 5). Somit entstand der Gedanke des individuellen Blutpasses (MALCOVATI, L. et al., 2003). Individuelle Blutprofile werden inzwischen durch statistische Modelle wie das zur Zeit aktuell angewandte Bayesische Modell, welches von der WADA anerkannt ist, bewertet. Sie arbeiten mit Verteilungskurven der Normalbevölkerung und von Spitzensportlern. Dies beginnt mit ein, zwei Blutwerten und zieht die Verteilung eines Referenzkollektivs und der Spitzensportler auf ein eigenes Profil zu. Dieses Profil der Wahrscheinlichkeitsverteilung wird genau auf den Athleten zugeschnitten. In diesem statistischen Kanal müssen sich dann seine Blutwerte bewegen. Somit gibt es keine allgemeinen Grenzwerte mehr, sondern es entstehen individuelle Grenzwerte.

9 Aktuelle Daten

Bei der Beurteilung von Blutparameter muss immer die Art der Kontrolle [out of competition (OCC), pre-competition (PC), in competition] und der Zeitpunkt im Saisonverlauf berücksichtigt werden. So zeigten 336 Blutkontrollen bei 28 männlichen Eliteradfahrern, dass im Saisonverlauf von Dezember 2006-September 2007 der durchschnittliche Hb (15,3 mg/dl auf 14,0 mg/dl) um 1,3 g/dl und der Hämtokrit um 4,3 % (45 % auf 40,7 %) abnahmen. Der Grund liegt in der Plasmadilution unter saisonbedingter Belastung. Auch bei Rundfahrten wie der Tour de France konnte gezeigt werden, dass der Hb um 11,5 % sank mit individuellen Abfällen von 7-20,6 %. Von September bis November 2007 stiegen dagegen der Hämatokrit (auf 47 %) und der Hb (15,3 mg/dl) wieder außersaisonal an. (MORKEBERG, J., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R., 2008)

Tab. 5. Daten von 28 männlichen Elite Radfahrern: 374 Blutproben von 12.12.2006 – 30.11.2007 (nach MORKEBERG, J., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R., 2008)

Zeitnahme der Blutkontrolle	Blutabnahmen (336)	Hämoglobin in mg/dl	Hämatokrit in %
In Competition	60	14,1	40,9
Out of Competition	229	15,0	43,2
Pre-Competition	47	14,9	43,5

In die Diskussion gerät 2009 nach der Tour de France erneut Lance Armstrong. Aufgrund seiner Veröffentlichungen (s.o.) stellt Morkeberg fest, dass die sechs Hb-werte während der Tour vom 2.7.2009-25.7 2009 bei Armstrong ansteigen, was ein Manipulationshinweis sei. (HB in mg/dl 14,3; 14,0 ; 13,7; 14,4; 14,0; 14,5)

10 Aktuelle Fälle

Im Juni 2009 gab die UCI die Namen der ersten fünf Fahrer bekannt, gegen die wegen Auffälligkeiten ihrer Blutprofile ein Dopingverfahren eingeleitet wurde.

Dabei handelt es sich nach Angabe des Weltverbands um Igor Astarloa (Amica Chips-Knauf/ESP, Straßenweltmeister von 2005, 2008 vom Milram-Team wegen Dopingverdachts entlassen), Ruben Lobato (ehemals Saunier Duval/ESP), Ricardo Serrano (Fuji-Servetto), Pietro Caucchioli (Lampre/ITA) und Francesco De Bonis (Serramenti PVC,ITA).

Im Juli 2009 wird die deutsche Eisschnellläuferin Claudia Pechstein (5-fache Goldmedaillengewinnerin bei Olympischen Spielen) wegen des Verdachts der Manipulation nur aufgrund von Blutwerten von der ISU für zwei Jahre gesperrt.

95 Blutwerte aus den Jahren 2000-2009 liegen vor. 2004 und 2007 sind Hämoglobinwerte über 16,0 g/dl dokumentiert. Im Gegensatz zu fast allen anderen Verbänden (Grenzwert 16,0 g/dl) liegt der Grenzwert bei der ISU bei 16,5 g/dl. Die Urteilsbegründung bezieht sich vor allem auf die sehr stark erhöhten Retikulozytenwerte während der WM im Februar 2009 in Hamar mit Werten von 3,38 %-3,54 %. Der Grenzwert der ISU liegt bei 2,4 %. Über die 95 Werte zeigt sich allerdings bei Claudia Pechstein ein Durchschnittswert von knapp 2,0 %, einem höheren Wert als die Normalwerte der Normalbevölkerung. Im September 2009 entsprach der Internationale Sportgerichtshof CAS in Lausanne einem Eilantrag der 37 Jahre alten Berlinerin. Damit darf Pechstein sofort wieder an allen Trainingsmaßnahmen der Deutschen Eisschnelllauf-Gemeinschaft (DESG) teilnehmen. Der Internationale Sportgerichtshof wird im Oktober 2009 über den Einspruch gegen die Sperre von Claudia Pechstein entscheiden. Ein Antrag bei der Nationalen Anti-Doping Agentur (NADA) zu einer engmaschigen Langzeitstudie von Claudia Pechstein zur Überprüfung von Blut- und Urinwerten, an der vier Experten mitbeteiligt waren, wird Anfang September 2009 eine Absage erteilt.

Literatur

- AHLUWALIA, N., SKKINE, B. S., SAVIN V., CHINKO, A. (1997). Markers of Masked Iron Deficiency and Effectiveness of EPO Therapy in Chronic Renal Failure. *Am J Kidney Dis* 1997, 30: 532-41.
- ÄRZTEZEITUNG (2007), 26.07.2007 Doping mit Fremdblut birgt große Risiken. Zugriff am 13.09.2009 unter <http://www.aerztezeitung.de/extras/druckansicht/?sid=459623&pid=464955>
- ASHENDEN, M. J.; DOBSON, G. P.; HAHN, A. G. (1998). Sensitivity of reticulocyte indices to iron therapy in an intensely training athlete. *Br J Sports Med* 1998, 32: 259-60.
- ASHENDEN, M. J., FRICKER, P. A., MORRISON, N. K., DOBSON, G. P., HAHN, A. G. T. (1998). Haematological response to an iron injection amongst female athletes. *Int J Sports Med* 1998, 19: 474-8.
- ASHENDEN, M., VARLET-MARIE, E., LASNE, F., AUDRAN, M. (2006). The effects of microdose recombinant human erythropoietin regimens in athletes. *Haematologica* 2006;91:1143-1144.

- ASHENDEN, M, GORE, C., PARISOTTO, R., SHARPE K, HOPKINS, W., HAHN A. (2003). Effect of altitude on second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 2003 88: 1053-62.
- BANFI G. F. M. (2007). Behavior of reticulocyte counts and immature reticulocyte fracture during a competitive season in elite athletes in four different sports. *Internatinal Journal of Laboratory Hematology* 29(2): 127-31.2007.
- BOCK, S. (2007) Zugriff am 13.09.2009 <http://de.eurosport.yahoo.com/28092007/73/dynepo-rasmussen-nachgewiesen.html>
- BREIDEBACH, A., CATLIN, D. H., GREEN, G. A., TREBUG, I., TRUONG, H., GORZEK, J. (2003) Detection of recombinant human erythropoietin in urine by isoelectric focusing. *Clin.Chem.* 49: 901-907.
- BREYMYNN, C., BAUER, C., MAJOR, A., ZIMMERMANN, R., GAUTSCHI, K., HUCH, A., HUCH, R. (1996). Optimal timing of repeated rh-erythropoietin administration improves its effectiveness in stimulating erythropoiesis in healthy volunteers. *Br J Haematol* 1996, 92: 295-301.
- BRISSON, G. R. (1994). Transferrin Soluble receptor: A Possible Probe for Detection of Erythropoietin Abuse by Athletes. *Horm Metab Res* 1994, 26: 311-2.
- BRUGNARA, C. (2000). Reticulocyte Cellular Indices: A new Approach in the Diagnosis of Anemias and Monitoring of Erythropoietic Function. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000, 37: 93-130.
- CRAMER, R. B. (1985) Olympic cheating: the inside story of illicit doping and the U. S. cycling team. *Rolling Stone* 14:25-30,1985.
- CYCLING4FANS (1994) Hämatokritwerte der Gewiss-Ballan-Fahrer (1994/1995: Die Ära Gewiss-Ballan , Zugriff am 14.09.2009 unter <http://www.cycling4fans.de/index.php?id=1424>
- DAMSGAARD, R., MUNCH, T., MORKEBERG, J., MORTENSEN, S.P., GONZALEZ-ALONSO, J. (2006). Effects of blood withdrawal and reinfusion on biomarkers of erythropoiesis in humans: Implications for anti-doping strategies. *Haematologica*, 2006 Jul; 91: 1006-1008.
- DIXON, L. R. (1997). The complete blood count: physiologic basis and clinical usage. *J Perinat Neonatal Nurs* 1997, 11: 1-18.
- D'ONOFRIO, G., KUSE, R., FOURES, C., JOU, J. M., PRADELLA, M., ZINI, G. (1996) Reticulocytes in haematological disorders. *Clin Lab Haematol* 1996, 18: 29-34.
- ELSON, M., POPP, H., SHARPE, K., ASHENDEN M (2003). Proof of homologous blood transfusion through quantification of blood group antigens. *Haematologica* 88:1284-1295, 2003.
- GAREAU, R.; GAGNON, M. G.; THELLEND, C.; CHENARD, C.; AUDRAN, M.; CHANAL, J.-L.; AYOTTE, C.; PORTSMANN, B. (1993). Retikulozyten Reifung - Analytik - Klinische Bedeutung; Nürnberg: Wachholz.
- GORE, C., PARISOTTO, R., ASHENDEN, M, STRAY-GUNDERSEN, J., SHARPE, K., HOPKINS, W., EMSLIE, K., HOWE C., TROUT G., KAZLAUSKAS, R., HAHN, A. (2003). Second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 2003; 88:333-344
- GORE, C., PARISOTTO, R., ASHENDEN, M. et al. (2003). Secondgeneration blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 88:333-344, 2003.
- HEINICKE, K., WOLFAHRT, B., WINCHENBACH, P., BIERMANN, B., SCHMID, A., HUBER, G., FRIEDMANN, B.; SCHMIDT, W. (2001). Blood volume and hemoglobin mass in elite athletes of different disciplines. *Int J Sports Med* 2001, 22: 504-12.
- INSTITUT FÜR BIOCHEMIE DER DSHS KÖLN, letztes Update 19.4.2002; Zugriff am 13.09.2009 http://www.dshs-koeln.de/biochemie/rubriken/00_home/00_dar.html
- KISHIMOTO, T., MAEKAWA, M. (1993). EPO Test in Hemodialysis Patients. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1993, 21: 221-9.
- LASNE, F., DE CEARRIZ, J. (2000) Recombinant erythropoietin in urine. *Nature* 405:635, 2000.
- MAJOR, A.; BAUER, C.; BREYMYNN, C., HUCH, A., HUCH, R.(1994). rh-Erythropoietin stimulates immature reticulocyte release in man. *Br J Haematol* 1994, 87: 605-8.
- MAJOR, A.; MATHEZ-LOIC, F., ROHLING, R., GAUTSCH, K., BRUGNARA, C. (1997) The effect of intravenous iron on the reticulocyte response to recombinant human erythropoietin. *Br J Haematol* 1997, 98: 292-4.
- MALCOVATI, L. , PASCUTTO, C., CAZZOLA, M. (2003). Hematologic passport for athletes competing in endurance sports: a feasibility study. *Haematologica*. 2003 May;88(5):570-81.
- MORKEBERG, J., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R. (2008). Changes in blood values in elite cyclist. *Int J Sports Med*. 2009 Feb;30(2):130-8. Epub 2008 Sep 4.

- MORKEBERG, J., SALTIN, B., BELHAGE, B., DAMSGAARD, R. (2008). Blood profiles in elite cross-country skiers: a 6-year follow-up. *Scand J Med Sci Sports* 2008
- PARISOTTO, R., GORE, C., EMSLIE, K. R., ASHENDEN, M. J., BRUGNARA, C.; HOWE, C.; MARTIN, D. T., TROUT, G. J., HAHN, A. G. (2000). A novel method utilising markers of altered erythropoiesis for detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes. *Haematologica* 2000, 85: 564-72.
- PARISOTTO, R., WU, M., ASHENDEN, M. J., EMSLIE, K. R., CHRISTOPHER, J. G., HOWE, C KAZLAUSKAS, R., SHARPE, K., TROUT, G. K., XIE, M., Hahn, A. G. (2001). Detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes utilizing markers of altered erythropoiesis. *Haematologica* 2001, 86: 128-37.
- PARISOTTO, R., ASHENDEN, M., GORE, C., SHARPE K, HOPKINS, W., HAHN A. (2003). The effect of common hematologic abnormalities on the ability of blood models to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 2003; 88:931-40
- RUTHERFORD, C. J., SCHNEIDER, T. J., DEMPSEY, H., KIRN, D. H.; BRUGNARA, C., GOLDBERG, M.A. (1994). Efficacy of Different Dosing Regimens for Recombinant Human Erythropoietin in a Simulated Perisurgical Setting: The Importance of Iron Availability in Optimizing Response. *Am J Med* 1994, 96: 139-45.
- SCHMIDT, W., BIERMANN, B., WINCHENBACH, P., BONING, D. (2000). How valid is the determination of hematocrit values to detect blood manipulations? *Int J Sports Med* 2000, 21: 133-8.
- SCHMIDT, W., HEINICKE, K., ROJAS, J., MANUEL_GOMEZ, J., SERRATO, M., MORA, M., WOHLFAHRT, B.; SCHMID, A.; KEUL, J.(2002). Blood volume and hemoglobin mass in endurance athletes from moderate altitude. *Med Sci Sports Exerc* 2002, 34: 1934-40.
- SCHUMACHER, Y.O., SCHMID, A., LENZ, T., KEUL, J. (2001). Blood Testing in Sports: Hematological Profile of a Convicted Athlete. *Clinical Journal of Sport Medicine, April 2001 - Volume 11 - Issue 2 - pp 115-117*
- SHARPE, K., ASHENDEN, M., SCHUMACHER, Y.O. (2006). A third generation approach to detect erythropoietin abuse in athletes ; *Haematologica* 2006; 91:356-363
- SOTTAS, P.E., ROBINSON, N., SAUGY M. (2008). A forensic approach to the interpretation of blood doping markers. Swiss Laboratory for Doping Analyses, Institut Universitaire de Médecine Légale, Université de Lausanne. *Law, Probability and Risk* 2008 7(3):191-210; doi:10.1093/lpr/mgm042
- SOTTAS, P.E., ROBINSON, N., SAUGY, M., S., TARONI, F., KAMBER, M., MANGUN, P., SAUGY M. (2006) Statistical Classification of Abnormal Blood Profiles in Athletes. *The International Journal of Biostatistics*, 2 (1), Article 3.
- SOWADE, O., SOWADE, B., BRILLA, K., FRANKE, W., STEPHAN, P., GROSS, S., SCIGALLA, P., WARNKE, H. (1997). Kinetics of Reticulocyte Maturity Fractions and Indices and Iron Status During Therapy With Epoetin beta (Recombinant Human Erythropoietin) in Cardiac Surgery Patients. *Am J Hematol* 1997, 55: 89-96.
- SCHWENKE, D., (2004) Indirekte und direkte Methoden zur Detektion des Erythropoietindopings; Dissertation: Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften der Technischen Universität Dresden; Zugriff am 13.09.2009 unter <http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=972777075>
- TANAKA, H., TATSUMI, N., KANN, E., SAWAMURA, A., YOSHIMOTO, M., INARIBA, H., OHNO, Y., TARALLO, P., HUMBERT, J. C., MAHASSEN, P., FOURNIER, B., HENNY, J. (1994). Reticulocytes: Biological variations and reference limits. *Eur J Haematol* 1994, 53: 11-5.
- VIDEMAN, T.; LEREIM, I.; HEMMINGSSON, P.; TURNER, M. S.; ROUSSEAU-BIANCHI. M.P.; JENOURE, P.; RAAS, E.; SCHONHUBER, H.; RUSKO, H.; STRAY-GUNDERSEN, J. (2000) Changes in hemoglobin values in elite cross-country skiers from 1987-1999. *Scand J Med Sci Sports* 2000, 10: 98-102.
- WIDE, L., BENGTTSSON, C., BERGLUND, B., EKBLUM, B. (1995) Detection in blood and urine of recombinant erythropoietin administered to healthy men. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 27: 1569-1576

Autorenkontakt:

Dr. Klaus Pöttgen
Hobrechtstrasse 26
64285 Darmstadt
E-Mail: klaus@drpoettgen.de