

---

# Pathophysiologische Grundlagen der myokardialen Schädigung bei chronischem Erythropoietinmissbrauch

Reinhard Depping & Klaus F. Wagner (Projektleiter)

Universität Lübeck

Institut für Physiologie und Klinik für Anästhesiologie

## 1 Problem

Die aerobe Kapazität hängt von der O<sub>2</sub>-Kapazität des Blutes und somit der Hämoglobin(Hb)-Konzentration des Blutes ab. Der Missbrauch von rekombinantem humanen Erythropoietin (rhEpo, Epoetin alpha oder beta) und des verwandten NESP (Darbepoetin alpha) zur Hb-Erhöhung und Verbesserung der körperlichen Ausdauer im Spitzensport ist besorgniserregend. Daher ist es präventiv wichtig, die Gefahren des rhEPO/NESP-Dopings zu belegen. Ausgeprägte Erythrozytosen führen zu Mikrozirkulationsstörungen. Durch den Flüssigkeitsverlust während und nach einem Wettkampf droht eine weitere Hämokonzentration. Die überraschenden Todesfälle an unklarem Herzversagen Ende der 80er Jahre bei Radprofis wurden mit EPO-Missbrauch in Verbindung gebracht. Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe haben kürzlich eindrucksvoll die hämodynamischen Konsequenzen einer ausgeprägten chronischen Hämatokriterhöhung um 85 % am Modell adulter EPO-transgener Mäuse demonstriert (Ruschitzka et al., 2000; Wagner et al., 2001). *Die Pathogenese der Hämatokritinduzierten myokardialen Dysfunktion ist jedoch bisher nur unvollständig verstanden.*

## 2 Methode

Die EPO-transgenen Tiere haben bei der Geburt den gleichen Hämatokrit wie ihre nicht-transgenen Geschwister. In den folgenden Monaten nimmt der Hämatokrit der EPO-transgene Tiere kontinuierlich zu. Im Alter von einem Monat liegt der Hämatokrit bei 50 %, nach zwei Monaten bei 60 %, und erreicht nach vier Monaten den adulten Wert von 80–85 %, welcher als Plateau bis zum Lebensende stabil bleibt. Bei Überbelastung des Herzens kommt es kompensatorisch zu einer Neubildung von Sarkomeren und damit zu einer Herzhypertrophie, wodurch die erhöhte Wandspannung der Überbelastung auf eine größere Zellmasse aufgeteilt wird (Grossman et al., 1975). Um einen Hinweis auf das Vorliegen einer Herzhypertrophie zu erhalten, wurden wildtyp- und tg6-Tiere im Alter von ein, zwei, vier, sechs und acht Monaten seziiert und die Formalin-fixierten Herzen nach aufsteigendem Alter angeordnet. Als biochemischer Marker der Herzinsuffizienz wurde die Plasmakonzentration des atrialen natriuretischen Peptids (ANP) bestimmt.

Dieses Hormon wird bei Herzinsuffizienz, besonders wenn eine Vorhofdilatation vorhanden ist, vermehrt gebildet und kann in erhöhten Konzentrationen im Plasma nachgewiesen werden.

### 3 Ergebnisse

#### Biventrikuläre Herzhypertrophie mit konsekutiver Dilatation

Während im Alter von einem Monat makroskopisch kein Unterschied in Herzgröße und Wanddicke bestand, waren ab dem zweiten Monat die Herzen der tg6-Tiere im Vergleich zu wildtyp Tieren vergrößert (Abbildung 1). Die Hypertrophie der Herzen der tg6-Tiere nahm mit dem Alter weiter zu und ab dem vierten Monat war auch eine mäßiggradige Dilatation von rechtem und linkem Ventrikel festzustellen (Abb. 1). In Übereinstimmung mit diesen Befunden war das Herzgewicht von tg6-Tieren ab dem vierten Monat signifikant erhöht.

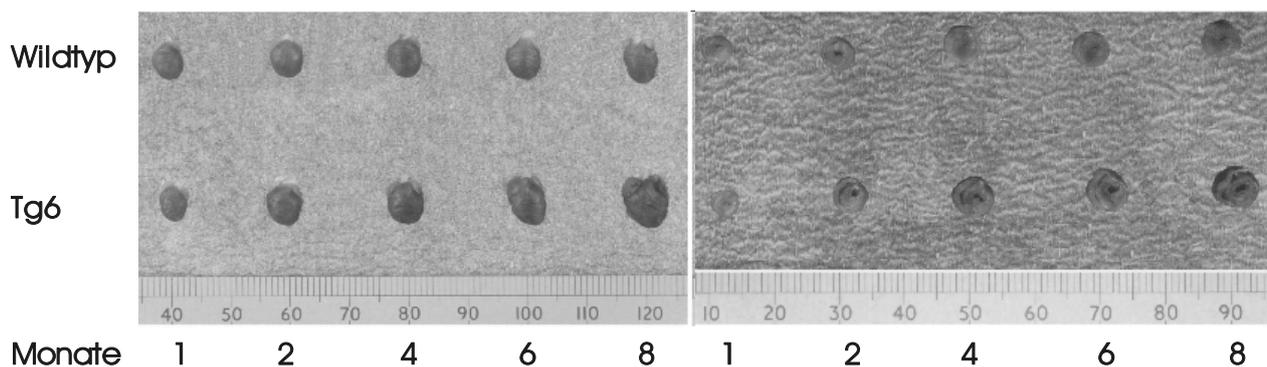


Abb. 1: *Makropathologie des Herzens von wildtyp- und tg6-Mäusen. Makroskopisch besteht ab dem zweiten Monat eine Herzvergrößerung (Abbildung links), im Transversalschnitt (rechts) ist eine progrediente biventrikuläre Herzhypertrophie sowie eine mäßiggradige Dilatation ab dem vierten Monat bei den Erythropoietin-transgenen tg6-Tieren festzustellen.*

#### ANP als biochemischer Marker einer EPO-induzierten Herzinsuffizienz

Bei den tg6-Tieren war die Plasma-ANP-Konzentration im Vergleich zu wildtyp-Tieren signifikant erhöht (Abb. 2). Dieser Befund bestätigt die pathologisch anatomisch nachgewiesene Herzhypertrophie und Herzdilatation.

## Deutlich verminderte Lebenserwartung der tg6-Tiere

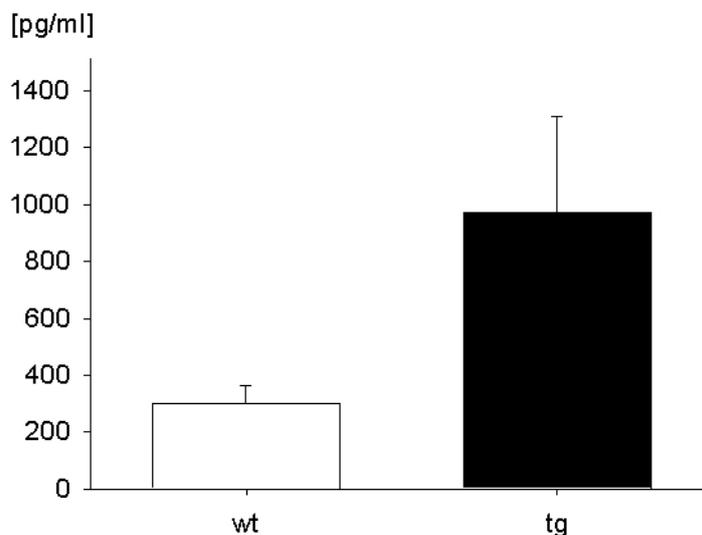


Abb. 2: **Plasma ANP.** Die ANP-Konzentration im Plasma von transgenen (tg) Mäusen war signifikant erhöht im Vergleich zu wildtyp(wt)-Kontrolltieren ( $n=5$ ; Alter 4,0 Monate;  $p<0,05$ ).

Bleibt die Überbelastung über einen längeren Zeitraum bestehen, kann ein Prozess initiiert werden, der in einer dekompensierten Herzinsuffizienz und vorzeitigem Tod endet (Lorell, 1997). Von einem Tiermodell zur Erforschung der Herzinsuffizienz können relevante Daten nur dann erhoben werden, wenn das Tier die wesentlichen Herz-Kreislaufveränderungen des Krankheitsbildes durchmacht. Dazu gehört unter anderem eine verkürzte Lebenserwartung als terminale Konsequenz einer Herzinsuffizienz. Aus diesem Grunde wurde die Überlebensrate bzw. der Tod der Gruppen von wildtyp- und tg6-Tieren aufgezeichnet und mittels der Kaplan-Meier-Statistik analysiert. Eine signifikant verkürzte mittlere Überlebenszeit der tg6-Mäuse ( $8,5\pm 1,3$  Monate vs.  $19,6\pm 1,9$  Monate) wurde über einen Beobachtungszeitraum von 21 Monaten festgestellt (vgl. Abb. 3) und damit die bereits publizierten Daten aus einem deutlich kürzeren Beobachtungszeitraum (Wagner et al., 2001) bestätigt.

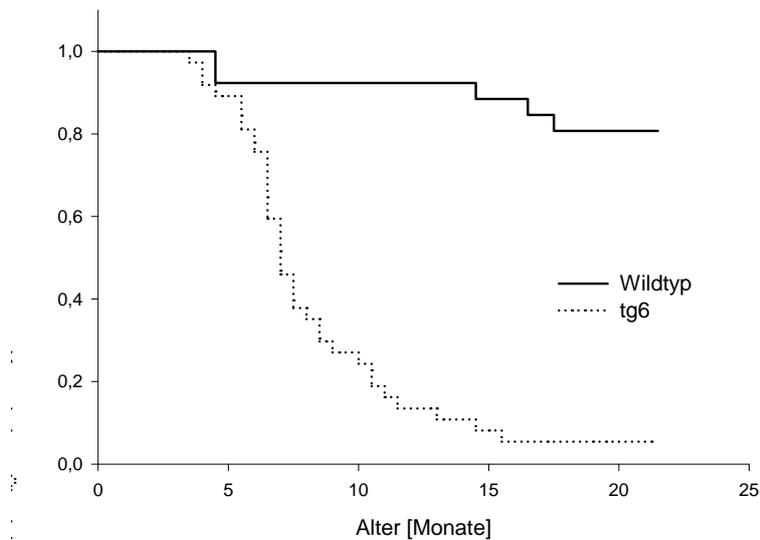


Abb. 3: **Kaplan-Meier Überlebenskurve.** Die mittlere Lebenserwartung der transgenen Mäuse ( $n=37$ ) war auf 8,5 Monate vermindert gegenüber 19,6 Monaten bei den wildtyp-Mäusen ( $n=26$ , Beobachtungszeitraum 21 Monate). Die kumulative Überlebensrate betrug 0,81 bzw. 0,05 bei wildtyp- bzw. tg6-Tieren ( $p < 0.0001$ , log rank test).

#### 4 Diskussion

Die EPO-induzierte Hämatokriterhöhung zieht schwerwiegende kardiopulmonale Veränderungen nach sich. Schon nach kurzzeitigem Bestehen des erhöhten Hämatokrit kommt es zu einer Herzhypertrophie, die bei Fortbestehen der Hämatokriterhöhung in eine Gefügedilatation des Herzens mit Dilatation beider Herzhöhlen übergeht. Diese Veränderungen sind jedoch nicht nur morphologische Besonderheiten, sondern Ausdruck einer messbaren funktionellen Verschlechterung der kardialen Leistungsfähigkeit. Denn ANP, ein prognostisch relevanter und etablierter biochemische Marker einer Herzinsuffizienz, ist in der Gruppe der EPO-induzierten Hämatokriterhöhung signifikant erhöht im Vergleich zu der nicht EPO-transgenen Kontrollgruppe.

Aufgrund dieser signifikanten Ergebnisse kann mit Recht postuliert werden, dass eine Hämatokriterhöhung auch kleineren Ausmaßes von großer kardiopulmonaler Relevanz zu sein scheint. Die Grenzwerte des Hämatokrits von WADA bzw. NADA liegen bei 0,50. Um nicht vom Wettbewerb ausgeschlossen zu werden, dürfen die Hämatokritwerte der Sportler diesen Grenzwert nicht überschreiten. Damit ist für den Wettkampf eine Gefährdung weitgehend ausgeschlossen. Deutlich höhere Hämatokritwerte z. B. während des Trainings können allerdings eine starke kardiopulmonale Belastung und über eine akute Herzdilatation eine erhebliche Gefährdung der Gesundheit des Sportlers bedingen. Kurz

nachdem Erythropoietin auf dem Markt verfügbar war, verstarben eine Reihe von Radrennfahrern an unklarem Herzversagen unter Ruhebedingungen oder sogar während des Schlafs. Es wurde vermutet, dass die Todesfälle mit einer Hämatokriterhöhung durch die Gabe von Erythropoietin in Kombination mit Flüssigkeitsverlust in Verbindung stehen (Eichner, 1992). Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchung liefern weitere Evidenz dafür, dass eine Hämatokriterhöhung, welcher Genese auch immer, eine erhebliche Gefahr für die Gesundheit des Organismus darstellt.

## 5 Literatur

- Eichner, E. R. (1992). Better dead than second. *J Lab Clin Med*, 120, 359-360.
- Grossman, W., Jones, D. & McLaurin, L. P. (1975). Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest*, 56, 56-64.
- Loell, B. H. (1997). Transition from hypertrophy to failure. *Circulation*, 96, 3824-3827.
- Ruschitzka, F. T., Wenger, R. H., Stallmach, T., Quaschnig, C., de Wit, K., Wagner, R., Labugger, M., Kelm, G., Noll, T., Rulicke, S., Shaw, R. L., Lindberg, B., Rodenwaldt, H., Lutz, C., Bauer, T., Luscher, F. & Gassmann, M. (2000). Nitric oxide prevents cardiovascular disease and determines survival in polyglobulic mice overexpressing erythropoietin. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 97 (21), 11609-11613.
- Wagner, K. F., Katschinski, D. M., Hasegawa, J., Schumacher, D., Meller, B., Gembruch, U., Schramm, U., Jelkmann, W., Gassmann, M. & Fandrey, J. (2001). Chronic inborn erythrocytosis leads to cardiac dysfunction and premature death in mice overexpressing erythropoietin. *Blood*, 97, 536-542.

