

# **Einführung der totalen Hämoglobinmenge als entscheidende Größe in einem Blutpass für Ausdauersportler**

Walter Schmidt (Projektleiter) & Nicole Prommer

Universität Bayreuth

Abteilung Sportmedizin/Sportphysiologie

## **1 Problemstellung**

Blutmanipulationen sind in allen Ausdauersportarten zu einem bedrohlichen Problem geworden. Ein Nachweis ist häufig nicht möglich, da bei niedrig dosiertem Erythropoietin (EPO) die Nachweisschwelle nicht überschritten wird und bei Anwendung von autologem Blutdoping kein Nachweisverfahren vorliegt. Des Weiteren befinden sich schon neuartige Erythropoietine, bzw. Erythropoietin-stimulierende Substanzen in der klinischen Prüfung, deren analytischer Nachweis noch nicht abzusehen ist. Auch die bestehenden Cut-Off-Limits in Form von Hämoglobin- und Hämatokritobergrenzen können das Problem nicht lösen, da sie individuelle Voraussetzungen nicht berücksichtigen. Zudem können gewollte oder ungewollte Veränderungen des Flüssigkeitsanteils im Blut beide Größen dermaßen beeinflussen, dass falsch positive oder auch falsch negative Befunde auftreten.

Bislang war es nicht möglich, die eigentliche Zielgröße einer jeden Blutmanipulation, d. h. die totale Hämoglobinmenge (tHb) des Körpers, zu bestimmen, da die Messverfahren zu aufwändig und für den Athleten zu invasiv waren. Die Existenz einer einfachen Messmethode würde es jedoch erlauben, einen für jeden Athleten normalen individuellen Wert zu bestimmen und diesen Wert über längere Zeit zu verfolgen und in einem Blutpass niederzulegen.

Inhalt des vorliegenden Projektes war es daher, in einem ersten Schritt eine entsprechende Methode zu entwickeln, um dann zu überprüfen, ob Blutmanipulationen von normalen Veränderungen der tHb-Menge während eines Trainingsjahres abzugrenzen sind.

## **2 Methode**

Alle Methoden zur tHb-Mengenbestimmung nutzen Tracer, die dem Blut zugeführt werden. Sie binden sich an das Hämoglobin, und ihre Hb-gebundene Konzentration ist nach kompletter Mischung umgekehrt proportional zur Gesamtmenge des Hämoglobins. Die als Goldstandard geltende Methode der radioaktiven Markierung kann aus ersichtlichen Gründen nicht regelmäßig beim gesunden Sportler eingesetzt werden. Zudem beschreiben Gore et al. (2005) die CO-Rückatmungsmethode als noch genauer als die radioaktiven

Methoden. Bislang war jedoch auch die CO-Methode zu unpraktikabel und zu belastend, um regelmäßig angewandt zu werden.

Wir haben daher die CO-Methode optimiert und folgendermaßen modifiziert (siehe Schmidt & Prommer, 2005): Anstelle der 10-20minütigen Atmung eines relativ großvolumigen (>9 Liter) Gasmisches aus O<sub>2</sub> und CO wird ein CO-Bolus inhaliert. Dazu wurde ein Spirometer konstruiert, über das zunächst eine individuell festgelegte CO-Menge eingeatmet wird, welche daraufhin mit reinem Sauerstoff in die Alveolen gespült wird. Durch Anhalten der Atemluft für 10-15 sek wird gewährleistet, dass das gesamte CO über längere Zeit in den Alveolen verweilt und der Großteil sehr schnell ins Blut übertritt, was sich in einem überschießenden Anstieg der COHb-Konzentration widerspiegelt. Im Verlauf der folgenden zweiminütigen Rückatmung aus dem geschlossenen kleinvolumigen Spirometer (3.5 Liter) wird gewährleistet, dass (fast) alles CO aufgenommen wird; der im Spirometer verbleibende Teil wird quantifiziert und bei der weiteren Berechnung der tHb-Menge berücksichtigt.

Sobald das im Blut befindliche und an das Hämoglobin gebundene CO gleichmäßig im Kreislauf verteilt ist, kann über den Anstieg der COHb-Konzentration die tHb-Menge berechnet werden (Berechnungsformel siehe Schmidt & Prommer, 2005). Von einer kompletten Mischung kann ausgegangen werden, wenn der Anstieg der COHb-Konzentration im arteriellen und venösen Blut gleich ist. Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, ist dies ab der sechsten Minute nach Beginn der Bolusatmung der Fall, so dass ab diesem Zeitpunkt die zweite COHb-Bestimmung erfolgen kann. Um die Messgenauigkeit zu erhöhen, empfehlen wir, zwei kapilläre Blutproben aus dem hyperämisierten Ohrläppchen oder der Fingerbeere nach sechs und acht Minuten zu entnehmen und den Wert auf die siebte Minute zu berechnen (Gore et al., 2006; Prommer & Schmidt, 2007).

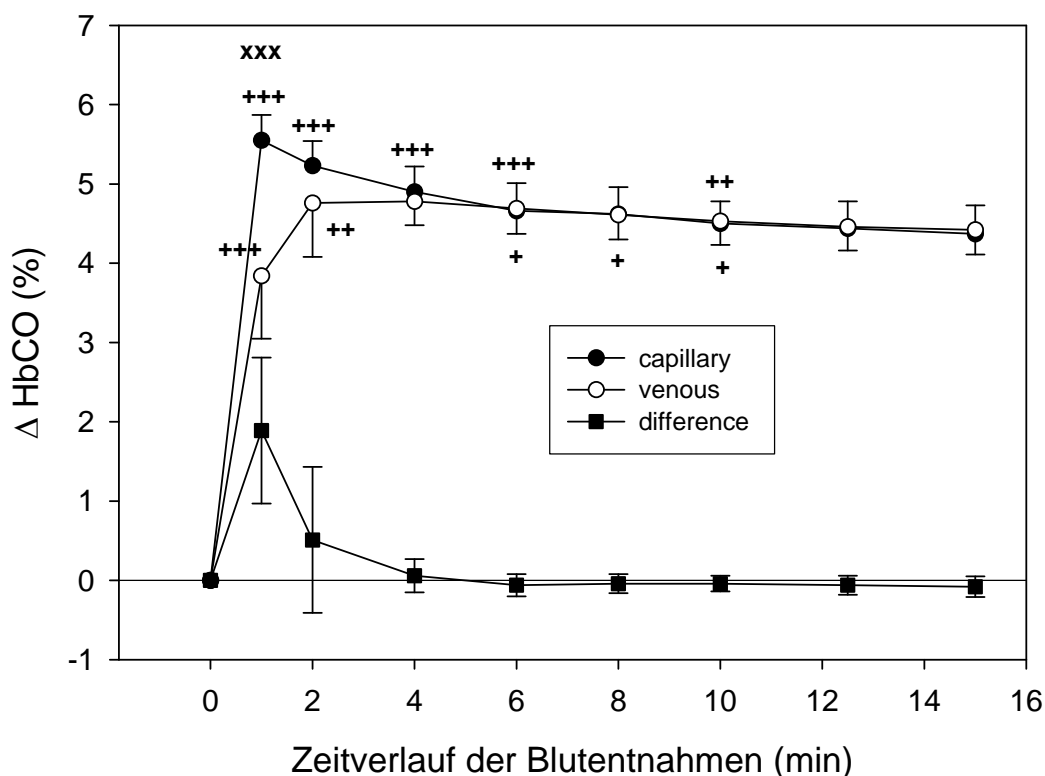


Abb.1: Verlauf der COHb-Konzentration im arterialisierten und venösen Blut nach Inhalation eines CO-Bolus

Zur Berechnung des CO-Volumens, welches sich zum Zeitpunkt der zweiten Blutabnahme im Gefäßraum befindet, muss die Menge des nach Absetzen des Spirometers abgeatmeten CO sowie die vom Hämoglobin an andere Cytochrome des Körpers, insbesondere an das Myoglobin, abdiffundierte CO-Menge bekannt sein. Die abgeatmete CO-Menge wurde durch Auffangen der Expirationsluft mittels eines Douglassacksystems und die Messung ihrer CO-Konzentration bestimmt (in den ersten sieben Minuten im Mittel  $0.32 \pm 0.09$  % des inhalierten CO pro Minute) und darauf basierend ein entsprechendes individuelles Korrektursystem entwickelt (Prommer & Schmidt, 2007).

Der Verlust von CO durch Diffusion vom Hämoglobin zum Myoglobin wird von Kritikern der Methode stark bemängelt und ihre Anwendung in Frage gestellt. Bei Anwendung unserer Methode kann die abdiffundierende CO-Menge nach kompletter Mischung des CO im Blut und bei bekannter abgeatmeter CO-Menge durch den Abfall der COHb-Konzentration bestimmt werden. Wir fanden im Mittel eine minütliche Diffusionsrate von  $0.32 \pm 0.14$  % des inhalierten Volumens (Prommer & Schmidt, 2007). Wenn um diesen Faktor korrigiert wird, stellt die Abdiffusion des CO vom Hämoglobin zum Myoglobin keinerlei Einflussfaktor auf die Präzision der Methode dar.

Qualitätskriterien einer Methode werden durch ihre Sensitivität und Reliabilität bestimmt. Nach Abnahme von 550 ml Blut kann die veränderte Blutmenge auf  $9 \pm 12$  g genau bestimmt werden (Schmidt & Prommer, 2005). Test-Retest-Vergleiche zeigen einen typischen Fehler der Methode (TE) von 1.7 %, was einem Konfidenzlimit (95%) von 3.3 % entspricht. Wenn zur COHb-Bestimmung anstelle des zunächst von uns eingesetzten ABL-520, der ein Probenvolumen von 85  $\mu$ l benötigt, das OSM3 (Probenvolumen 35  $\mu$ l; beide Geräte Fa. Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) genutzt und somit die Anzahl der Messwiederholungen erhöht werden kann, wird der TE in unserem Labor auf 1.4 % (sechs Wiederholungen) gesenkt und von Gore et al. (2006) wird sogar ein TE von 1.1 % (acht Wiederholungen) berichtet, wodurch das 95 %-Konfidenzintervall auf 2.2 % verbessert wird.

Die Einsatzmöglichkeit der Methode wird maßgeblich von ihrer Praktikabilität bestimmt. Da CO eine gegenüber dem Sauerstoff 200-300fach höhere Affinität zum Hämoglobin besitzt und es daher für längere Zeit den O<sub>2</sub>-Transport blockiert bzw. die O<sub>2</sub>-Dissoziationskurve ungünstigerweise zur linken Seite verschiebt, sind Auswirkungen auf die Leistungsfähigkeit zu erwarten. In einer Untersuchung an zehn mitteltrainierten Sportstudenten ( $VO_{2max}$  47.0–62.9 ml//kg/min) zeigte sich eine Verminderung der aeroben Leistung um  $3.0 \pm 3,7$  % unmittelbar nach Anwendung der CO-Rückatmung, so dass der Test nicht unmittelbar vor einem Wettkampf eingesetzt werden kann. Die Halbwertszeit beträgt  $132 \pm 27$  min bei körperlicher Inaktivität; nach einer im Anschluss an den Test durchgeführten Vita Maxima Belastung sank sie auf  $89 \pm 23$  min ab. Spätestens zwölf Stunden nach dem Test sind die initialen COHb-Werte wieder erreicht, so dass die CO-Rückatmung problemlos am Tag vor einem Wettkampf oder im Training durchgeführt werden kann (Schmidt & Prommer, 2005). Dies bestätigt ein Einzelfall, in dem 24 Stunden nach Durchführung des Tests von einem ostafrikanischen Läufer eine Weltjahresbestleistung über 1.500 m aufgestellt werden konnte.

Unter praktischen Gesichtspunkten kann es notwendig sein, einen Test zu wiederholen (Doppeltest) oder ihn unmittelbar nach einer physischen Belastung durchzuführen. Ein an Sportstudenten durchgeführter Doppeltest zeigte bei unveränderten Mittelwerten einen leicht erhöhten TE (2.2 % anstatt 1.7 %) ebenso wie ein unmittelbar nach zwei Stunden Belastung auf dem Fahrradergometer (60 % der  $VO_{2max}$ ) durchgeführter Doppeltest (TE 2.3 %), was im ersten Fall auf erhöhte CO-Konzentrationen im Atemsystem und in der Expirationsluft sowie auf möglicherweise veränderte CO-Diffusion nach Belastung zurückgeführt werden kann. Dennoch ist der Test robust genug, um auch unter diesen Bedingungen angewandt werden zu können.

### 3 Praktische Anwendung

Bei einer Ausgangsmenge von 900 g erhöht die Zunahme der Hämoglobinmenge um 110 g (12 %) durch Doping mit Erythropoietin den Hämatokritwert um ca. 5 % (Parisotto et al., 2000). Die Reinfusion einer Einheit Blut beim autologen Doping lässt die Hämoglobinmenge um ca. 75 g ansteigen, was bei o. g. Ausgangsmenge ca. 8 % entspricht. Um zu evaluieren, ob solche Veränderungen sicher erfasst werden können, wurde freiwilligen Probanden eine Einheit Blut (500 ml) entnommen und ihre tHb-Menge über einen Zeitraum von 50 Tagen jeweils zweimal pro Woche kontrolliert. Gleichermaßen wurde mit einer Kontrollgruppe verfahren. Die tHb-Menge sank nach Blutspende um durchschnittlich  $77 \pm 24$  g ab und stieg anschließend kontinuierlich bis zum ca. 26. Tag an. Bis zum 11. Tag nach der Blutspende lagen alle tHb-Werte außerhalb des 99%-Konfidenzlimits der Methode, so dass bis zu diesem Zeitpunkt eine sichere Veränderung konstatiert werden konnte.

Wenn die Bestimmung der tHb-Menge als Screeningmethode für Blutmanipulationen eingesetzt werden soll, müssen die normale Oszillation der tHb-Menge und ihre Einflussfaktoren bekannt sein. Um dies zu evaluieren, wurden in einer Pilotstudie 23 Leistungs-Ausdauersportler (Radrennfahrer, Triathleten) sowie 7 Freizeitsportler fünfmal während eines Trainingsjahres untersucht. Es zeigt sich bei leicht höheren tHb-Werten im Sommer eine mittlere maximale Abweichung vom Jahresmittelwert von  $1.7 \pm 1.0$  %,  $1.7 \pm 0.9$  % und  $1.5 \pm 1.1$  % bei den Triathleten, Radrennfahrern bzw. Freizeitsportlern sowie eine maximale individuelle Abweichung von 4.8 %, 4.4 % und 4.9 % in den einzelnen Untergruppen. Dies bedeutet, dass bei Vorliegen nicht unter Dopingeinfluss aufgenommenener Basiswerte eine Manipulation mit EPO oder Bluttransfusionen aufgedeckt werden kann.

### 4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die im Rahmen dieses Projektes evaluierte optimierte CO-Rückatemmethode stellt die z. Zt. genaueste und praktikabelste Methode zur Bestimmung der tHb-Menge dar. Bei Vorliegen eines sicheren Basiswertes ist es möglich, Veränderungen der tHb-Menge, wie sie bei Blutmanipulationen erfolgen, zu erfassen. Die bisherigen Daten zur normalen Schwankung der tHb-Menge während eines Trainingsjahres liegen unterhalb der durch Manipulation zu erwartenden Veränderungen. Diese Schwankungen sowie weitere Einflussfaktoren auf die tHb-Menge, wie Höhentherapie, Verletzungen und Infektionserkrankungen werden in weiteren Studien abgesichert.

## 5 Literatur

- Gore, C. J., Bourdon, P. C., Woolford, S. M., Ostler, L. M., Eastwood, A. & Scroop, G. C. (2006). Time and sample site dependency of the optimized CO-Rebreathing method. *Med. Sci. Sport Exerc.*, 38, 1187-1193.
- Gore, C. J., Hopkins, W. G. & Burge, C. M. (2005). Errors of measurement for blood volume parameters: a meta-analysis. *J. Appl. Physiol.*, 99, 1745-1758.
- Parisotto, R., Gore, C. J., Emslie, K. R., Ashenden, M. J., Brugnara, C., Martin, D. T., Trout, G. J. & Hahn, A. G. (2000). A novel method utilising markers of altered erythropoiesis for the detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes. *Haematologica*, 85, 564-572.
- Prommer, N. & Schmidt, W. (2007). Loss of CO from the intravascular bed and its impact on the optimised CO-rebreathing method. *Eur. J. Appl. Physiol.*, DOI 10.1007/s00421-007-0439-2, 383-391
- Schmidt, W. & Prommer, N. (2005). The optimised CO-rebreathing method: a new tool to determine total haemoglobin mass routinely. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 95, 486-95.