

Christian Bauer

Sportler, ‚dopes‘ und Erythropoietin

*„Denn nichts auf Erden ist so nutzlos schlecht,
Dass es der Erde nicht auch Gutes brächt,
Und nichts so gut, dass es für falsche Ziele
Missbraucht nicht in sein Gegenteil verfiel.“*

Romeo und Julia; II. Akt. 3. Szene,
in der Übersetzung von Frank Günther

In seinem Eingangsmonolog zu dieser 3. Szene gibt Bruder Lorenzo in harmonischen Reimpaaren seiner Überzeugung Ausdruck, dass in einer (pflanzlichen) Arznei zwar viel Gutes steckt, dass sie aber, wenn sie in falscher Absicht gebraucht wird, sich in ihrer Wirkung verkehrt und ein schauderhaftes Gegenteil bewirken kann. Dies ist nun leider auch der Fall für das Hormon Erythropoietin (Epo), das als rekombinantes humanes Epo (rhEpo) auf dem Markt erhältlich ist und genau wie körpereigenes Epo zu einer Zunahme der Sauerstofftransportkapazität des Blutes führt. Dieser therapeutische Effekt von rhEpo wurde und wird vor allem bei Patienten ausgenützt, die an renaler Anämie leiden, einer „Blutarmut“, die regelmäßig beim chronischen Nierenversagen beobachtet wird.

Was Wunder, dass deshalb auch Hochleistungssportler zu diesem „magic hormone“ griffen, um dadurch die Sauerstofftransportkapazität ihres Blutes und damit die maximale Leistungsfähigkeit zu erhöhen (e.g. Gleckhill 1999; Ekblom 2000; Gundersen et al. 2001, Spivak 2001, Joyner 2003). Zwar hat das International Olympic Committee rhEpo, zusammen mit einigen anderen Peptidhormonen, bereits 1989 auf die rote Liste gesetzt (Kicman und Cowan, 1992; Mottvám 1999), dennoch wird rhEpo bis auf den heutigen Tag als „Blutdoping“ gebraucht oder besser gesagt, missbraucht.

Die „Erfolgsgeschichte“ dieses rekombinanten Hormons hat wichtige Zwischenschritte durchlaufen, und hier sind die wesentlichen Erkenntnisstufen:

1. Wie kam es überhaupt zur Identifizierung und gentechnischen Herstellung von Erythropoietin?
2. Was ist Epo – biochemisch gesehen?
3. Wie wird die Bildung von Erythropoietin normalerweise reguliert?
4. Warum ist die unkontrollierte Verabreichung von Erythropoietin im Sport so gefährlich?

Ad 1: Die Reise zur Entdeckung von Erythropoietin

Lange bekannt ist die Tatsache, dass ein Höhengaufenthalt zu einer Vermehrung der roten Blutkörperchen führt, die deshalb rot sind, weil sie ein Protein enthalten, das Hämoglobin, welches Sauerstoff von der Lunge zu den Körpergeweben transportiert (Bert 1878, Viault 1890). Damit ergab sich die Frage, wie diese Verminderung des O₂-Angebots in der „dünnen“, d.h. sauerstoffarmen Höhenluft zu einer Erythrozytenvermehrung führen kann (Miescher 1893). Nicht recht viel später stellte sich heraus, dass hier ein Botenstoff, also ein Hormon beteiligt ist, der aus dem Blutplasma von „blutarmen“ (anämischen) Kaninchen gewonnen werden kann und in normalen Empfängertieren eine Zunahme der Erythrozytenzahl bewirkt (Carnot et Deflandre, 1906). Die Autoren gaben diesem Hormon den zunächst eher unverbindlichen Namen Hämopoietin (zu griechisch: *haima* <Blut> und *poiein* <machen>). Erst viel später wurde der Name Erythropoietin (zu griechisch: *erytros* <rot> und *poiein* <machen> geprägt (Bonsdorff und Jalavisto 1948), der sich bis heute gehalten hat und der auf die spezifische Wirkung des Hormons auf die „roten“ Vorläuferzellen des Knochenmarks hinweist. Dennoch ergaben sich immer wieder Zweifel an der „humoralen“ Natur dieses Faktors, welche jedoch durch die bahnbrechenden Untersuchungen von Reissmann (1950) und kurze Zeit später von Erslev (1953) ausgeräumt wurden. Vor allem hatte Allan Erslev klarsichtig erkannt, dass Erythropoietin bei der Behandlung der Blutarmut beim chronischen Nierenversagen (renale Anämie) zukünftig von herausragender medizinischer Bedeutung sein würde, da sich bald herausstellte, dass Erythropoietin in der Niere gebildet wird (Erslev 1974).

Aber langwierig ist der Weg zwischen einer Hoffnung und deren Erfüllung; denn die Konzentration von Erythropoietin liegt im Blutserum nur im pikomolaren Bereich und ist somit nur äußerst schwer direkt nachweisbar.

Zur Veranschaulichung: Pikomolar bedeutet, dass sich ein Molekül Erythropoietin unter ca. 1000 Milliarden anderen Serum-Eiweißen „versteckt“ hält und eben deshalb so schwierig zu isolieren ist. Dieser riesigen Aufgabe hat sich ein Biochemiker aus Chicago, Eugene Goldwasser, unter-

zogen, der folgende glänzende Idee hatte: Er ging aus von der lange bekannten Tatsache, dass die Niere alle möglichen Substanzen konzentrieren kann, z.B. Elektrolyte und zum Teil auch Eiweiße. Es sollte also möglich sein, so die Schlussfolgerung, aus dem Urin von Patienten, die an einer aplastischen Anämie leiden und die durchwegs sehr hohe Konzentrationen von Erythropoietin im Serum aufweisen, das im Urin „angereicherte“ Erythropoietin „herausangeln“ zu können (Goldwasser und Kung 1968). In Zusammenarbeit mit T. Miyake und C. K. Kung gelang es Eugene Goldwasser schließlich, aus ca. 2550 Litern Urin ca. 10 mg reines Erythropoietin zu gewinnen (Miyake et al. 1977).

Von da an ging es Schlag auf Schlag: Erst wurde eine Mikrosequenzanalyse von Erythropoietin durchgeführt, das Gen identifiziert und die entsprechende cDNA in eine Säugetier-Zelllinie (CHO, Chinese Hamster Ovary cells) eingebaut, wodurch nun das so genannte rekombinante humane Erythropoietin (rhEpo) in beinahe beliebig großen Mengen gewonnen werden kann (e.g. Jelkmann 1992; Bunn and Poyton 1996). Dies ebnete den Weg für rhEPO zunächst bei der Behandlung der Anämie beim chronischen Nierenversagen (Winearls et al. 1986, Eschbach et al. 1987) und später auch bei einer Reihe von anderen Anämieformen (e.g. Macdougall 1999).

Ad 2:Die Biochemie von Epo

Epo besteht aus einem Eiweiß- oder Peptidanteil mit einer relativen molekularen Masse von 18'235 Dalton, für endogenes als auch für rhEpo. Das Epo Molekül faltet sich in vier α -Helices, die durch zwei Disulfid-Brücken stabilisiert werden (Cys⁷-Cys¹⁶ und Cys²⁹-Cys³³). Diese beiden Disulfid-Brücken sind essentiell für die biologische Aktivität von Epo, das darüber hinaus noch komplexe Zuckeranteile trägt, wodurch sich die relative molekulare Masse auf 30'400 Da erhöht. Außer den Disulfidbrücken ist auch die vollständige Ausstattung von Epo mit den Kohlenhydrat-Seitenketten für die biologische Aktivität dieses Hormons erforderlich. Gibt es auch einen Unterschied zwischen endogenem und rhEpo? Ja, er beruht auf einem minimalen Unterschied im Anteil der sauren Endketten des Kohlehydratanteils, den Sialinsäuren, mit denen rhEpo weniger reichlich ausgestattet ist als endogenes Epo (Skibeli et al. 2001; Storrington et al. 2003). Ich werde darauf noch weiter unten eingehen, besonders im Zusammenhang mit dem Nachweis von rhEpo als „dope“.

Ad 3: Wie entsteht Erythropoietin und wie wird seine Bildung dem Bedarf angepasst?

Epo wird vor allem in der Niere beim Erwachsenen und in der Leber beim Neugeborenen gebildet. Dies hängt damit zusammen, dass der wichtigste Stimulus für die Epo-Bildung ein Sauerstoffmangel ist.

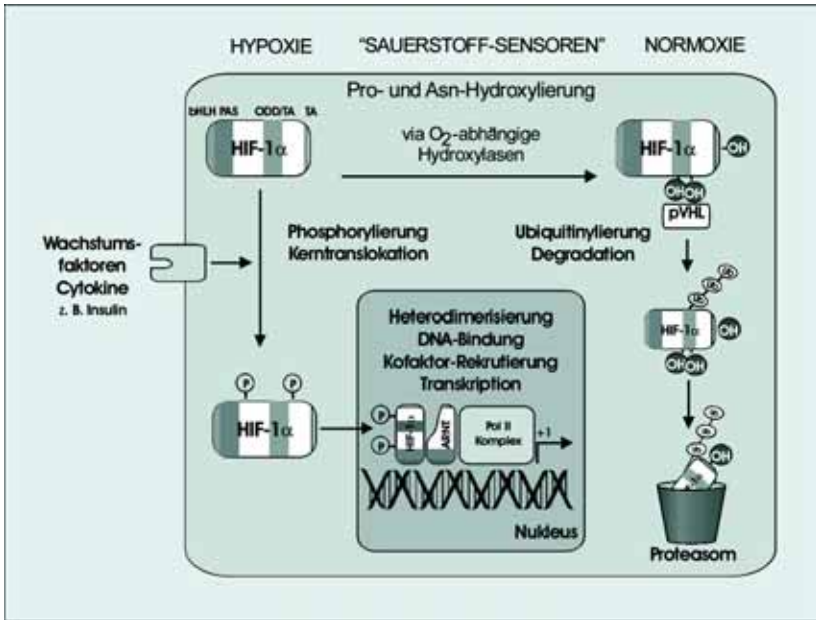
Niere und die Leber sind dafür gute Sensoren, weil in diesen Organen besonders hohe Gradienten für den Sauerstoffpartialdruck auftreten (e.g. Schurek und Johns, 1997; Jungermann und Kietzmann, 1997). Dies wiederum heisst, dass eine Verminderung des Sauerstoffangebots (Hypoxie) das „Sauerstoff-Mangel-Signal“ massiv verstärkt und zwar besonders in den Organen, die ohnehin schon hohe Sauerstoffgradienten aufweisen (Goldwasser 1996; Wenger 2002)

Der Sauerstoffmangel wird über nun sehr genau bekannte Mechanismen gemessen und in eine verstärkte Bildung von Epo übersetzt. Wie die biologische „O₂-Elektrode“ exakt funktioniert, wurde kürzlich von der Arbeitsgruppe von Peter Ratcliffe in Oxford aufgeklärt (Epstein et al. 2001, Maxwell et al. 1999). Immer, wenn in einer Zelle ein Sauerstoffmangel „registriert“ wird, kommt es zur Anreicherung eines sog. Transkriptionsfaktors, dem Hypoxia-Inducible Factor, abgekürzt HIF, der das Erythropoietin-Gen tausendfach (!) aktivieren kann (Semenza 2001). Das sind erstaunliche Leistungen, wie sie in der Molekularbiologie ihresgleichen suchen.

Der eigentliche „O₂-Sensor“ ist eine kleine molekulare Familie, die als „Prolylhydroxylasen“ bekannt sind. Sie empfangen Sauerstoff und übersetzen dieses „Signal“ in Hydroxylgruppen, die auf HIF übertragen werden: viele Hydroxylgruppen bei viel und nur wenige Hydroxylgruppen bei wenig O₂ (Wenger und Bauer, 2000).

Diese Besetzung von HIF mit Hydroxylgruppen verändert nun die Stabilität des Moleküls: viele Hydroxylgruppen führen zu einem beschleunigten Abbau von HIF und wenige erhöhen seine Stabilität. Deshalb steigt die Konzentration des Transkriptionsfaktors HIF bei niedrigem pO₂ und aktiviert das Epo-Gen.

Was ist die Wirkung von Epo? Es verhindert im Knochenmark ein eingebautes „Selbstmordprogramm“ (*Apoptose*) von Knochenmarkzellen, aus denen Erythrozyten entstehen. Diese sind prall gefüllt mit dem roten Blutfarbstoff (Hämoglobin), der Sauerstoff in der Lunge aufnimmt und an die sauerstoffhungrigen Körperzellen abgibt. Erythropoietin steigert die Bildung der Erythrozyten, indem es die entsprechenden Vorläuferzellen im Knochenmark vor dem programmierten Zelltod schützt (Koury und Bondurant, 1990).



aus: Wenger R.H. (2002): Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression. *FASEB J*: 1151–1162

Das Resultat ist eine gewünschte Zunahme der Sauerstofftransportkapazität des Blutes, wie sie z.B. im Hochgebirge typisch ist. Dort erfolgt zwar eine geringere Beladung der Erythrozyten mit Sauerstoff, dieses Defizit wird aber über eine höhere Anzahl von Erythrozyten ausgeglichen, so dass der Sauerstoffgehalt des Blutes gleich bleibt. Da mehr Erythrozyten ein größeres Volumen einnehmen, entstand die Frage, ob Erythropoietin nicht nur durch Sauerstoffmangel, sondern auch durch das *Blutvolumen* reguliert wird? Das ist tatsächlich der Fall (Ehmke et al. 1995; Breyman et al. 2000; Roberts et al. 2000).

Dieser Zusammenhang ist wichtig für das pathophysiologische Verständnis der Nebenwirkungen von Erythropoietin, die bei nierenkranken Patienten beobachtet werden, welche sich einer „Ersatztherapie“ mit rhEpo unterziehen müssen.

Bei chronischem Nierenversagen ist die Bildung von endogenem Epo zu gering, um eine ausreichende Anzahl von Erythrozyten zu gewährleisten. Sie

muß durch das rekombinante Hormon ergänzt werden. Bisher wurde rhEpo bei mehr als zwei Millionen Patienten erfolgreich eingesetzt. Eine der häufigsten Nebenwirkungen dieser rhEpo-Therapie ist das Auftreten eines Bluthochdrucks. Er kann jedoch kontrolliert werden, wenn das rekombinante Hormon unter strenger ärztlicher Kontrolle verabreicht wird. Eine strenge ärztliche Kontrolle ist jedoch beim sogenannten Epo-Doping keineswegs gewährleistet, wodurch Leib und Leben von Sportlern in Gefahr geraten, die sich einem Epo-Doping unterziehen.

Ad 4) Wie kann rhEpo nachgewiesen werden und warum ist „Epo-Doping“ überhaupt gefährlich?

Vor allem in der Tagespresse wurde berichtet, dass bei Elite-Radfahrern Todesfälle nach Epo-Verabreichung beobachtet wurden. Diese Berichte wurden aufgegriffen und die Überprüfung ergab eindeutig, dass die unkontrollierte Gabe von rhEpo aus medizinischen Gründen gefährlich ist (e.g. Adamson und Vapner 1991; Gareau 1996; Zachee 1995; Lage et al. 2002, Shaskey 2000).

Wie schon oben dargelegt, wird rhEpo benützt, um die Erythrozytenzahl nach oben zu schrauben. Dies führt zu einer Zunahme der maximalen Sauerstoffaufnahme, der aeroben Leistungsschwelle und der Atemantwortkurve vor allem bei Ausdauersportlern (e.g. Ekblom 2000, Gledhill 1999). All diese Parameter sind auch entsprechend verändert beim so genannten Höhentraining (Stray-Gundersen et al. 2001, Ashenden et al. 2001).

rhEpo wurde deshalb vorrangig bei Athleten in Ausdauersportarten verwendet wie Marathon, Skilanglauf, Rudern und Radfahren eingesetzt. An dieser Stelle soll der Frage nachgegangen werden, warum rhEpo, das doch vom IOC auf die rote Liste gesetzt wurde, zumindest im Ausdauerradsport ziemlich problemlos erhalten und auch eingesetzt werden kann (e.g. Neue Zürcher Zeitung, 2000, Gareau et al. 1996; Adamson und Vapner 1991, Kazlaukas et al. 2002). Offensichtlich lassen sich auch die wohlmeinendsten ethischen Aufrufe nur durch Sanktionen wirkungsvoll durchsetzen. Um im Fall von rhEpo zu solchen Sanktionen zu gelangen, muss der „Sünder“ bei Verdacht überführt werden, d.h. rhEpo muss eindeutig *nachweisbar* sein.

Und genau das ist die Crux: rhEpo wird rekombinant gewonnen und ist deshalb von normalem, endogen gebildetem Epo kaum zu unterscheiden: Träfe das nicht zu, würde rhEpo von unserem Immunsystem erkannt und eine Antikörperproduktion gegen rhEpo wäre die Folge. Dass dies bei den vielen Mil-

lionen behandelten Patienten äusserst selten beobachtet wurde (Casadevall 2002), ist eben Ausdruck der Tatsache, dass unser Immunsystem, welches sonst kleinste molekulare Feinheiten erkennen kann, den Unterschied zwischen rhEpo und endogenem Epo nicht „bemerkt“. So behalf sich das IOC bis vor kurzem mit indirekten Hinweisen: „Verdächtig“ waren Sportler, deren Hämoglobinkonzentration oberhalb bestimmter Normwerte lagen (e.g. O’Toole 1999), wobei sich alle Beteiligten klar waren, dass dies ein sehr wenig beweiskräftiger Parameter ist (Schumacher et al. 2000). Es folgten dann Testverfahren, die auf einer rhEpo-induzierten Stimulation der Erythropoese beruhen. Messparameter sind dafür:

1. die Zahl und biochemische Ausstattung der allerjüngsten Erythrozyten, so genannten Retikulozyten. Die Anzahl dieser „Frühformen“ der Erythrozyten ist bei Zufuhr von rhEpo erhöht.
2. Der so genannte „lösliche“ Transferrinrezeptor. Transferrin ist die Transportform von Eisen, wenn dieses vom Magen-Darm-Kanal ins Blut gelangt, wird es an Transferrin gebunden ins Knochenmark transportiert. Im Knochenmark wird das mit Eisen beladene Transferrin an Transferrin-Rezeptoren der Vorläuferzellen von Erythrozyten gebunden, die Eisen zur Synthese von Hämoglobin benötigen. Bei einer rhEpo bewirkten Zunahme der Erythropoese verlieren die erythroiden Vorläuferzellen einen Teil ihrer Transferrin-Rezeptoren. Sie gelangen als lösliche Transferrinrezeptoren ins Blut und können dort nachgewiesen werden (Lippi et al. 2000, Parisotto et al. 2000 und 2001). Allerdings beträgt das „Zeitfenster“ dieses Markers nicht mehr als eine Woche (Birkeland et al. 2000). Jedoch ist eine erhöhte Konzentration des löslichen Transferrinrezeptors, zusammen mit anderen relativ leicht nachweisbaren hämatologischen Parametern, nicht beweisend für ein rhEpo-Doping (Lippi et al. 2000; Parisotto et al. 2000, Magnani et al. 1999, Kazlauskas 2002). So erschien es nur logisch, eine ‚smoking gun‘ zu identifizieren und dies ist tatsächlich gelungen.
3. Der Zuckeranteil von rhEpo als Markierungselement.

Der Nachweis erfolgt bei diesem Verfahren direkt und zwar über so „Seltsames“ wie den Zuckeranteil von rhEpo. Wie schon oben unter 2) ausgeführt, ist die Zuckerstruktur von endogenem und rhEpo etwas unterschiedlich, und genau darauf beruht der direkte Nachweis von rhEpo (Storring 2003; Gore et al. 2003; Sharpe et al. 2002; Lasne and de Ceaurriz 2000). Dieser Zusammenhang wurde auch vom Bundesamt für Sport, (Magglingen, Schweiz) eingehend gewürdigt. Entsprechende Stellungnahmen können unter: www.dopinginfo.ch in der jeweils aktualisierten Form abgerufen werden.

Aber auch für diese Nachweismethode muss leider ein enges Zeitfenster von ca. 3 Tagen berücksichtigt werden. Ziemlich lang für eine ‚smoking gun‘.

Über die Gefährlichkeit von Epo bei Hochleistungssportlern

Warum ist Epo gefährlich, wenn es unkontrolliert gegeben wird? Es besteht der Verdacht, dass die Verabreichung von rhEpo bei „SpitzenradSPORTlern“ in den Niederlanden zu nicht näher aufgeklärten Todesfällen geführt hat. Über die möglichen Ursachen dieser Todesfälle ist keine einheitliche Meinung unter den Wissenschaftlern zu gewinnen, jedoch ist die Hypothese gut belegt, dass rhEpo, wenn es akut und in hohen Dosierungen verabreicht wird, zu einer gefährlichen Zunahme des Blutdrucks führt (e.g. Vaziri 2001, Akimoto et al. 2001, Roger et al. 1996).

In diesem Zusammenhang sind zwei mögliche Ursachen zu betrachten:

1. Indirekte Epo-Wirkung: der Blutdruck wird mit ansteigender Erythrozytenzahl durch eine Zunahme der Viskosität des Blutes erhöht. Dadurch nimmt der Reibungswiderstand an der Gefäßwand zu. Zusätzlich steigt die Hämoglobinkonzentration (Hb) des Blutes an. Durch die Zunahme des Hb wird auch Stickstoffmonoxid abgefangen, eine Verbindung, die normalerweise zu einer Gefäßerweiterung führt (Stamler et al. 1997, Chen et al. 2002).
2. Direkte Epo-Wirkung: der Blutdruck wird erhöht durch eine Zunahme der Wandspannung der peripheren Widerstandsgefäße (Arteriolen), die ihrerseits durch einen Epo-induzierten Einstrom von Kalzium in die Gefäßmuskulzellen ausgelöst wird (Schiffl und Lang, 1997, Akimoto et al. 2001). Des weiteren aktiviert rhEpo das Renin-Angiotensin-System wodurch der Blutdruck ebenfalls erhöht werden kann (Eggena et al. 1991)

Soweit zu den Mechanismen des Epo Dopings, die im Detail zwar noch einiger Aufklärung bedürfen, aber dennoch zu einer klaren Kernaussage führen. Kehren Sie zurück zum Titel dieses Beitrages und auch zu den sehr übersichtlichen Beiträgen von Gareau (1996), Shaskey (2000) oder Lage et al. (2002).

Ein „dope“ repräsentiert im umgangssprachlichen Englisch ein „Dummerchen“, eben einen „dope“, der trotz aller warnenden Zeichen unter allen Umständen gewinnen will und dabei seine Gesundheit opfert. Diese Mahnung geht an alle Hochleistungsathleten: Vertrauen Sie vor allem auf sich selbst und nicht auf irgendwelche „dopes“.

Literatur

- Adamson J.W., Vapner D.: Recombinant erythropoietin to improve athletic performance (1991). *NEJM* 324: 698–699
- Akimoto T., Kusano E., Fujita N., Okada K., Saito O., Ono S., Ando Y., Homma S., Saito T., Asano Y. (2001): Erythropoietin modulates angiotensin II- or noradrenaline-induced Ca^{2+} mobilization in cultured rat vascular smooth-muscle cells. *Nephrol Dial Transplant* 16: 491–499
- Ashenden M.J., Hhn A.G., Martin D.T., Logan P., Parisotto R., Gore C.J. (2001): A comparison of the physiological response to simulated altitude exposure and r-HuEpo administration. *J of Sports Sci* 19: 831–837
- Bert P. (1878): *La Pression Barométrique. Recherches de Physiologie Expérimentale.* Librairie de L'Académie de Médecine, Paris
- Birkeland K.I., Stray-Gundersen J., Hemmersbach P., Hallen J., Haug E., Bahr R. (2000): Effect of rhEpo administration on serum levels of sTfR and cycling performance. *Med. & Sci in Sports & Exercise* 32: 1238–1243
- Bonsdorff, E., Jalavisto, E. (1948): A humoral mechanism in anoxic erythrocytosis. *Acta Physiol Scand* 16: 150–170
- Breyman C., Rohling R., Huch A., Huch R. (2000): Intraoperative endogenous erythropoietin levels and changes in intravascular blood volume in healthy humans. *Ann Hematol* 79: 183–186
- Bunn H.F., R. O. Poyton (1996): Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Physiol Rev* 76: 839–885.
- Carnot P. und Deflandre C. (1906). Sur l'activité hémopoétique des différents organes au cours de la régénération du sang. *CR Acad Sci Paris* 143: 432-435
- Carnot P., Deflandre C. (1906): Sur l'activité hémopoétique du serum au cours de la régénération du sang. *CR Acad Sci Paris* 143: 384–386
- Casadevall N. (2002): Antibodies against rHhEpo: Native and recombinant. *Nephrol Dial Transplant* 17: 42–47
- Chen Z., Zhang J., Stamler J.S. (2002): Identification of the enzymatic mechanisms of nitroglycerin bioactivation. *PNAS* 99: 8306–8311
- Eggena P., Willsey P., Jamgotchian N., Truckenbrod L., Hu M.S., Barrett J.D., Eggena M.P., Clegg K., Nakhoul F., Lee D.B.N. (1991): Influence of recombinant human erythropoietin on blood pressure and tissue renin-angiotensin systems. *Am J Physiol* 261 (Endocrinol. Metab. 24): E642–646
- Ehmke H., Just A., Eckardt K.-U., Persson P., Bauer C., Kirchheim H. (1995): Modulation of erythropoietin formation by changes in blood volume in conscious dogs. *J Physiol (London)* 488: 181–191
- Erslev A. (1953): Humoral regulation of red cell production. *Blood* 8: 349–357
- Erslev A. (1974): *In vitro* production of erythropoietin by kidneys perfused with a serum-free solution. *Blood* 44:77–85

- Eschbach J.W., Egrie J.C., Downing M.R., Browne J.K., Adamson J.W. (1987): Correction of anemia of end-stage renal disease with recombinant erythropoietin. *NEJM* 316: 73–78
- Epstein A.C.R., Gleadle J.M., McNeill L.A., Hewitson K.S., O'Rourke J., Mole D.R., Mukherji M., Metzen E., Wilson M.I., Dhanda A., Tian Y-M., Masson N., Hamilton D.L., Jaakkola P., Barstead R., Hodgkin J., Maxwell P.H., Pugh Ch.W., Schofield Ch. J., Ratcliffe P.J. (2001): *C. elegans* EGL-9 and Mammalian Homologs Define a Family of Dioxygenases that Regulate HIF by Prolyl Hydroxylation. *Cell* 107: 1–20
- Gareau R., Audran M., Baynes R.D., Flowers C.H., Duvallet A., Senécal L., Brisson G.R. (1996): Erythropoietin abuse in athletes. *Nature* 380: 113
- Gleckhill N., Warburton D., Jamnik V. (1999): Haemoglobin, blood volume, cardiac function and aerobic power. *Can J Appl Physiol* 24: 54–65
- Goldwasser E. (1996). Epo: a somewhat personal history. *Perspectives Bio Med* 40: 18–31
- Goldwasser E., Kung, CK (1968). Progress in the purification of erythropoietin. *Ann NY Acad Sci* 149: 49–53
- Gore C.J., Parisotto R., Ashenden M.J. Stray-Gundersen J., Sharpe K., Hopkins W., Emslie K.R., Howe C., Trout G.J., Kazlauskas R., Hahn A.G. (2003): Second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 88: 333–344
- Jelkmann W. (1992). Erythropoietin: structure, control of production and function. *Physiol Rev* 72: 449–489
- Joyner M.J. (2003): VO_2 max, blood doping, and erythropoietin. *Brit J of Sports Med* 37: 190–191
- Jungermann K., Kietzmann Th. (1997). Role of oxygen in the zonation of carbohydrate metabolism and gene expression in liver. *Kidney Int* 51: 402–422
- Kazlauskas R., Howe C., Trout G. (2002): Strategies for rhEpo detection in sport. *Clinical Journal of Sport Medicine* 12: 229–235
- Koury M.J., Bondurant M.C. (1990). Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science* 248: 378–381.
- Lage J.M.M., Panizo C., Masdeu J., Rocha E.(2002): Cyclist's doping associated with cerebral sinus thrombosis. *Neurology* 58: 665
- Lasne F., de Ceaurriz J. (2000): Recombinant erythropoietin in urine. *Nature* 405: 635
- Lippi G., Guidi G. (2000): Laboratory screening for erythropoietin abuse in sport: an emerging challenge. *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine* 38: 13–19
- MacDougall I.C. (1999): Optimizing erythropoietin therapy. *Current Opinion in Hematology* 6:121–126
- Magnani M., Corsi D., Bianchi M., Paiardini M., Galluzi L., Parisi A., Pigozzi F., (1999): Monitoring erythropoietin abuse in athletes. *Brit J Haematol* 106: 260–261

- Maxwell P.H., Wiesener M.S., Chang G.W., Clifford S.C., Vaux E.C., Cockman M.E., Wykoff C.C., Pugh C.W., Maher E.R., Ratcliffe P.J. (1999). The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 399: 271–275
- Miescher F. (1893). Ueber die Beziehung zwischen Meereshöhe und Beschaffenheit des Blutes. *Korrespondenz-Blatt Schweizer Aerzte* 23: 809–830
- Miyake T., Kung, C.K., Goldwasser E. (1977). Purification of human erythropoietin. *J Biol Chem* 252: 5558–5564
- Neue Zürcher Zeitung (NZZ): „Aus meiner Sicht gibt es nur ein Mittel, das nützt: EPO“: NZZ, 6. September 2000
- O'Toole M.L., Douglas P.S., Hiller W.D., Laird R.H. (1999): Hematocrits of triathletes: is monitoring useful? *Med & Sci in Sports & Exercise* 31: 372–377
- Parisotto R., Gore C.J., Hahn A.G., Ashenden M.J. Olds T.S., Martin D.T., Pyne D.B., Gawthorn K., Brugnara C. (2000): Reticulocyte parameters as potential discriminators of recombinant human erythropoietin abuse in elite athletes. *Int J of Sports Med* 21: 471–479
- Parisotto R., Wu M., Ashenden M.J., Emslie K.R., Gore C.J., Howe C., Kazlauskas R., Sharpe K., Trout G.J., Xie M. (2001): Detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes utilizing markers of altered erythropoiesis. *Haematologica* 86: 128–137
- Reissmann K. (1950): Studies on the mechanism of erythropoietic stimulation in parabiotic rats during hypoxia. *Blood* 5: 372–380
- Roberts D., Smith D.J., Donnelly S., Simard S. (2000): Plasma-volume contraction and exercise-induced hypoxaemia modulate erythropoietin production in healthy humans. *Clin Sci* 98 (1): 39–45
- Roger S.D., Fluck R.J., McMahon A.C., Raine A.E. (1996): Recombinant erythropoietin increases blood pressure in experimental hypertension and uraemia without change in vascular cytosolic calcium. *Nephron* 73(2): 212–218
- Schiffel H., Lang S.M. (1997): Hypertension induced by recombinant human erythropoietin (rHU-EPO) can be prevented by indomethacin. Pathogenetic role of cytosolic calcium. *Eur J of Med Res* 2(3): 97–100
- Schumacher Y.O., Grathwohl D., Barturen J.M., Wollenweber M., Heinrich L., Schmid A., Huber G., Keul J. (2000): Haemoglobin, haematocrit and red blood cell indices in elite cyclists. Are the control values for blood testing valid? *Int J Sports Med* 21: 380–385
- Schurek H-J., Johns O. (1997). Is tubuloglomerular feedback a tool to prevent nephron oxygen deficiency? *Kidney Int* 51: 386–392
- Semenza G.L. (2001). HIF-1, O₂, and the 3 PHDs: How Animal Cells Signal Hypoxia to the Nucleus. *Cell* 107: 1–3
- Sharpe K., Hopkins W., Emslie K.R., Howe C., Trout G.J., Kazlauskas R., Ashenden M.J., Gore C.J., Parisotto R., Hahn A.G. (2002): Development of reference ranges

- in elite athletes for markers of altered erythropoiesis. *Haematologica* 87: 1248–1257
- Skibeli V., Nissen-Lie G., Torjesen P. (2001): Sugar profiling proves that human serum erythropoietin differs from recombinant human erythropoietin. *Blood* 98: 3626–3634
- Spivak J.L. (2001): Erythropoietin use and abuse: When physiology and pharmacology collide. *Advances in Exp Med & Biol* 502: 207–224
- Stamler J.S., Jia L., Eu J.P., McMahon T.J., Demchenko I.T., Bonaventura G.K., Piantadosi C.A. (1997). Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 272: 2034–2037
- Storring P.L., Yuen C.-T., Skibeli V., Nissen-Lie G., Torjesen P. (2003): Differences between the N-Glycans of human serum erythropoietin and recombinant human erythropoietin. *Blood* 101: 1204–1205
- Stray-Gundersen J., Chapman R.F., Levine B.D. (2001). „Living high-training low” altitude training improves sea level performance in male and female elite runners. *J Appl Physiol* 91: 1113–1120
- Vaziri N.D. (2001): Cardiovascular effects of erythropoietin and anemia correction. *Current Opinion in Nephrol and Hypertension* 10 (5): 633–637
- Viault F. (1890). Sur l’augmentation considérable du nombre des globules rouges dans le sang chez les habitants des hauts plateaux de l’Amérique du Sud. *CR Acad Sci Paris* 111: 917–918
- Wenger R.H. (2002): Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression. *FASEB J*: 1151–1162
- Wenger R.H., Bauer C. (2000). Oxygen Sensing: „Hydroxy” Translates „Oxy”. *News Physio Sci* 15: 195–196
- Winearls C.G., Oliver D.O., Pippard M.J., Reid C., Downing M.R., Cotes P.M. (1986). Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* II: 1175–1178
- Zachee P. (1995): Controversies in selection of epoetin dosages. *Issues and answers. Drugs* 49 (4): 536–554