

# 1. Einleitung

Seit Jahrzehnten ist bekannt, dass Höhengaufenthalte die Erythropoese anregen und zu einer Zunahme des ErythrocytENVolumens (EV) (Sánchez et al, 1970, Hurtado et al. 1945) bzw. des Gesamtkörperhämoglobins, (meist als Hb-Masse bezeichnet) führen. Trotz zahlreicher Studien gibt es aber erstaunlicherweise fast nur Kenntnisse über das männliche Geschlecht. Es existieren kaum Untersuchungen bei Frauen in der Höhe und es fehlt daher an Information über die Mechanismen, die die Blutbildung bei diesen beeinflussen. Eisenmangel oder die Atmungssteigerung durch weibliche Hormone könnten eine Rolle spielen. Da Hypoxietraining in Leistungs-Sport häufig eingesetzt wird, und da Training auch in Normoxie die Erythrocyten-Bildung und -Zerstörung beeinflusst, sind genauere Kenntnisse für die Sportmedizin sehr wichtig. Diese Studie befasst sich mit der Bedeutung von zwei langfristigen Faktoren, nämlich Hypoxie und Training (sowohl getrennt wie gemeinsam wirkend) auf die Erythropoese beim weiblichen Geschlecht, da jeweils trainierte sowie untrainierte Höhen- und Tieflandbewohnerinnen untersucht wurden.

## 1.1. Stand der Forschung

### 1.1.1. Regulation der Erythropoese

Beim Menschen werden 120 Millionen Erythrocyten in jeder Minute in der Milz und Leber zerstört, die durch die Bildung neuer Zellen (Erythropoese) ersetzt werden müssen, um eine Anämie zu vermeiden (Gunga et al. 2001). Die Erythropoese wird u. a. durch den Verlust von Blutkörperchen, (z. B. bei Blutungen) und den Abfall des Sauerstoffpartialdrucks ( $PO_2$ ) stark angeregt (Ebert & Bunn 1999). Zum Abfall des  $PO_2$  kommt es in großer Höhe durch die Abnahme des Barometerdrucks und während körperlicher Belastung in den Geweben durch den erhöhten Verbrauch von Sauerstoff. Bei Menschen und anderen Säugern steht die Erythropoese unter der Steuerung des Hormons Erythropoietin (EPO). EPO ist ein 34.4 kD schweres Glyko-protein, das hauptsächlich in der Niere und zum Teil in der Leber produziert wird. Sinkt der  $PO_2$  im Gewebe, wird die EPO-Synthese und -Ausschüttung angeregt. Das ausgeschüttete Hormon wandert über die Blutbahn in das Knochenmark und bindet dort an seinen Rezeptor auf der Zelloberfläche von Vorläuferzellen (burst-forming und colony-forming erythroids). Die Unterdrückung der Apoptose (der programmierte Zelltod) ist der Hauptmechanismus, wodurch EPO die Erythropoese stimuliert. Wenn die EPO-Konzentration im Blut zunimmt, entgeht eine erhöhte Zahl von Vorläuferzellen der

Apoptose (Jelkman & Hellwig-Burget, 2001). Die EPO-Ausschüttung hört auf, wenn die O<sub>2</sub>-Versorgung des Gewebes infolge der gesteigerten Erythro-poese zunimmt, oder wenn die Hypoxie nicht mehr vorhanden ist.

Die EPO-Synthese wird auf der Genebene reguliert. Ein Transkriptionsfaktor, der sogenannte Hypoxie-induzierbare Faktor-1 (HIF-1) ist der Hauptregulator der O<sub>2</sub>-abhängigen Genexpression und für die Anpassung bei reduzierter O<sub>2</sub>-Verfügbarkeit von wesentlicher Bedeutung. Der Transkriptionsfaktor HIF-1 besitzt 2 Untereinheiten, HIF-1 $\alpha$  und HIF-1 $\beta$ . Die Untereinheit HIF-1 $\alpha$  ist unter Einfluss von Hypoxie für die Aktivierung von Zielgenen verantwortlich. Überraschenderweise ist der Konzentrationsanstieg des HIF-1 $\alpha$  Proteins *in vitro* in wenigen Minuten nach Eintritt einer Hypoxie nachweisbar (Jewell et al 2001). Für viele Zellen findet eine messbare Aktivierung von HIF-1 $\alpha$  statt, wenn der *PO*<sub>2</sub> unter 40 mmHg absinkt (Semenza, 2001). Die neuesten Untersuchungen haben gezeigt, dass unter Normoxie HIF-1 $\alpha$  ständig synthetisiert, aber gleich wieder durch enzymatische Hydroxylierung von Prolin markiert wird, was den vollständigen Abbau von HIF-1 $\alpha$  determiniert. Beim O<sub>2</sub>-Mangel hingegen ist das Enzym Prolinhydroxylase inaktiv und der Abbauvorgang findet nicht statt. Als Folge davon wandert HIF-1 $\alpha$  in den Kern und aktiviert zusammen mit HIF-1 $\beta$  die Zielgene (Jelkman & Hellwig-Burget, 2001).

Bei Höhengaufenthalten oder zum Beginn von Trainingsprogrammen sind Hinweise auf eine gesteigerte Erythropoese, nämlich hohe Hb-Masse und hohes EV beobachtet worden (z.B. Böning et al. 1997b, Convertino 1991). Ausdauersportler und Höhenbewohner, die ständig mit Hypoxie konfrontiert sind, weisen trotz hoher Werte für diese Kenngrößen interessanterweise keine signifikant erhöhte EPO-Aktivität (z.B. Böning et al 2001, Schmidt et al. 1993). Trotz der aktuellen Kenntnisse über die zelluläre Änderung von EPO unter Hypoxie und Normoxie ist die Regulation der Erythropoese bei Höhengaufenthalt und Training nicht vollkommen geklärt.

### **1.1.2. Höhenanpassung im Bereich von Atmung und Blut**

Das Leben in der Höhe stellt für den Körper eine Herausforderung dar. Der atmosphärische Luftdruck nimmt mit der Höhe ab, die Luft dehnt sich aus und beinhaltet trotz des gleich bleibenden Anteils (21%) weniger Sauerstoff (O<sub>2</sub>) pro Volumeneinheit. Nach dem Gasgesetz sinkt der *PO*<sub>2</sub> in der Luft. Als Folge wird das Hämoglobin im Blut nicht vollständig gesättigt, transportiert weniger O<sub>2</sub>

und es kommt dadurch zur Hypoxie. Diese setzt Akklimatisationsvorgänge mit Auswirkungen auf verschiedene physiologische Systeme in Gang. Der Körper reagiert mit einer gesteigerten Ventilation (Hyperventilation), um den O<sub>2</sub>-Mangel in der Atemluft zu kompensieren. Die Hyperventilation macht sich bereits nach Minuten bemerkbar und steigert sich weiter über Monate (Powell et al. 2000, Moore et al. 2000). Diese Antwort begünstigt die Sauerstoffaufnahme in der Lunge, ruft aber gleichzeitig im Blut eine Alkalose hervor (Davenport 1974), welche die O<sub>2</sub>-Bindungskurve des Hb verändert.

Die Affinität des Hb für O<sub>2</sub> nimmt zu, es kommt deswegen zu einer Linksverschiebung der Bindungskurve, dadurch wird die O<sub>2</sub>-Aufnahme in der Lunge verbessert, aber die O<sub>2</sub>-Abgabe in die Gewebe verschlechtert. Später wird die Affinitätsänderung durch Zunahme von 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) kompensiert. Bei Höhenbewohnern ist außerdem die Hyperventilation abgeschwächt und die Säure-Base-Störung nimmt ab (Hochachka et al. 1999). Möglich ist dies durch eine erhöhte Diffusionskapazität der Lunge, durch die trotz gegenüber Tieflandbewohnern geringerem alveolarem PO<sub>2</sub> mehr Sauerstoff in das Blut gelangt.

Eine weitere Anpassung bei Höhenbewohnern ist die Zunahme des Hämatokrits (Hkt) und der Hämoglobinkonzentration ([Hb]). Bei kurzfristigen Höheaufenthalten verringert sich zunächst das Plasmavolumen (PV) (Hurtado et al. 1945), bevor neue Erythrocyten gebildet werden. Erhöhte [Hb] und Hkt-Werte (Hämokonzentration) sind ab etwa 2000 m über N.N. berichtet worden (Roskamm et al. 1968, Torrance et al. 1971). Weil et al. (1968) fanden bei Dauerhöhlenbewohnern eine Zunahme des EV zwischen 1600 m und 3100 m Höhe. Aus diesen Messungen errechnete sich durch Interpolation eine Schwellenhöhe zwischen 2 000 m - 2 500 m für die Anregung der Blutbildung. Diese Angabe wurde später in unabhängigen Studien bei männlichen Versuchspersonen bestätigt (Böning et al. 2001, Schmidt et al. 2002).

Die genannten Anpassungen können als kurzfristige individuelle physiologische Reaktionen angesehen werden. Genetische Änderungen wurden ebenfalls beobachtet. Auf der Suche nach Hypoxieanpassungen sind drei Höhenvölker intensiv erforscht worden: Sherpas in der Hochebene des Himalaya, Quechuas und Aymaras in den südamerikanischen Anden. Diese Völker eroberten die Höhen vor so vielen Jahren, dass die Hypoxie das Erbgut verändert hat. Die Messungen der arteriellen Sättigung (SaO<sub>2</sub>) und der [Hb] bei diesen Völkern zeigen eine Variabilität (Beall et al. 1998, 1999,

2002). Menschen mit Allelen für eine hohe SaO<sub>2</sub> oder [Hb] sollten einen selektiven Vorteil unter hypoxischen Bedingungen aufweisen.

Eine Zunahme der [Hb] macht das Blut jedoch visköser, was zu Beeinträchtigung der hämodynamischen Eigenschaften führt. Ruppert et al (1999) fanden bei Quechuas im Hochland vom Perú, die höhere [Hb] als Tibetaner haben, eine erniedrigte Allelhäufigkeit von Polymorphismen des Gens für  $\beta$ -Fibrinogen. Dies führt dazu, dass die  $\beta$ -Fibrinogen-Konzentration im Blut absinkt und den Beitrag von  $\beta$ -Fibrinogen zur Viskosität des Blutes begrenzt, so dass die höhere [Hb] keine pathologische Auswirkung auf den Kreislauf-Widerstand hat. Änderungen in anderen Organsystemen wie Herz und Kreislauf, Hormondrüsenfunktion und allgemein auf der Zellebene sind ebenfalls untersucht worden. In dieser Arbeit werden aber nur Änderungen der Hb-Masse, der Indikatoren des Eisenstoffwechsels und der Erythropoese behandelt, daher wird auf eine Beschreibung der Hypoxie-Wirkungen in anderen Organsystemen verzichtet.

### **1.1.3. Trainingsanpassung**

Zahlreiche Studien dokumentieren die zum Teil beachtlichen Änderungen von hämatologischen Messgrößen durch Ausdauersport. Ausdauersportler weisen positive Korrelationen von EV und Hb-Masse mit der Leistungsfähigkeit (Sawka et al. 2000, Gore et al 1997). Die Trainingsanpassungen sind teilweise gegensinnig zu Höheneffekten. Abnahmen des Hkt und der [Hb] werden oft bei Ausdauersportlern gefunden (Radomski et al. 1980, Ernst 1985). In der Sportmedizin ist der Begriff „Sportanämie“ geprägt worden, um subnormale Blutwerte zu bezeichnen. Diese Erscheinung hängt nicht unbedingt mit Eisenmangel zusammen (Weight et al 1991). Die Vorgänge, die diesen Zustand verursachen, sind sehr gut geklärt. Zum einen bedeutet das Training Zerstörung von alten Erythrocyten während längerer Trainingseinheiten oder Wettkämpfe, zum anderen vergrößert sich das PV; Hkt und [Hb] sinken daher (Übersicht bei Sawka et al. 2000). Bei Trainierten wird über mehrere Mechanismen Wasser in den Blutgefäßen zurückgehalten.

Die beteiligten Mechanismen der PV-Vergrößerung bei Ausdauersportler werden im Kapitel 4.2.5.2. ausführlicher behandelt. Um der drohenden Anämie entgegenzuwirken, wird die Bildung von jungen Erythrocyten (Reticulocyten) angeregt (Schmidt et al. 1988). Hormonelle Faktoren sollen dabei beteiligt sein, nämlich das Erythropoietin (Böning und Schmidt 1991) und Wachstumsfaktoren

(Schmidt et al 1998). Intensive körperliche Belastung soll in der Niere eine Gewebshypoxie verursachen, was zu höherer Erythropoietinbildung und -sekretion führen müsste. Da bei Sportlern meistens keine erhöhte EPO-Aktivität gefunden worden ist, hat diese Hypothese sich allerdings nicht bestätigt (Schmidt 1999). Somit ist ungeklärt welche Faktoren die Erythropoese bei Ausdauertraining stimulieren.

Die erwähnte Erhöhung des PV erlaubt nicht nur, ein der Belastung angepasstes Herzzeit-Volumen zu leisten, sondern auch besser die Wärme über Schweißbildung abzugeben. Hohe Spiegel von Renin, Angiotensin und Aldosteron sind mit der trainingsbedingten PV-Vergrößerung in Zusammenhang gebracht worden. Diese Hormone halten Natrium und damit Flüssigkeit im extrazellulären Raum zurück (Convertino et al 1980a, 1980b, 1981).

#### **1.1.4. Wechselwirkung von Höhe und Training**

Da sowohl Höhe wie Training die Erythropoese steigern, es ist interessant Training in der Höhe zu untersuchen. Die Vorteile von Trainingsprogrammen in der Höhe für Wettkämpfe im Tiefland sind noch heute umstritten. Für die Höhenphysiologie sind die mäßigen Höhen (2 000 m - 3 000 m) jedoch vom besonderen Interesse. Trotz der Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit ab 1000 m (Fulco et al 2000) läuft der Muskelstoffwechsel mit genügend hoher Intensität für sportliche Trainingseffekte ab (Böning 1997). Arbeitsgruppen in Deutschland und Kolumbien haben in Vergleichsstudien mit Männern aus Bogotá (2 600 m über N.N.) und Deutschland (>50 m über N.N.) gefunden, dass Training sowohl im Tiefland als auch im Hochland zum Anstieg der Hb-Masse führt (Schmidt et al. 2002, Böning et al. 2001). Für eine gute Leistungsfähigkeit sind Steigerungen dieser Kenngröße offensichtlich notwendig.

Die Ergebnisse der oben genannten Untersuchungen zeigten, dass untrainierte Männer auf die Hypoxie mit einer 12–21%-igen Steigerung der Hb-Masse reagierten. Damit wurde bestätigt, dass die Stadt Bogotá oberhalb der postulierten Schwelle liegt. Ein weiterer interessanter Aspekt war, dass sich beim Zusammenhang zwischen maximaler Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2max}$ ) und der Hb-Masse zwei Gruppen mit unterschiedlichen Regressionsgeraden fanden. Möglicherweise hat dies genetische Ursachen, da die Bevölkerung in Bogotá einerseits aus indianischen Ureinwohnern, die seit Jahrtausenden dort leben, andererseits aus zugewanderten Spaniern entstanden ist.

Frauen sind bisher nur spärlich untersucht worden. Bei einer Durchsicht der Literatur stellte sich heraus, dass bei in der Höhe lebenden Frauen abgesehen von Messungen vor und nach der Schwangerschaft (Zamudio et al 1995), überhaupt keine Messungen der Hb-Masse bzw. des EV durchgeführt worden sind. Nur die [Hb] wurde öfter gemessen (Beall et al 1998). Es ist deswegen interessant zu erforschen, ob die Blutbildungsregulation bei Frauen unter Hypoxie Besonderheiten aufweisen. In der Atmung haben Männern und Frauen unterschiedliche Muster, die auf den Effekt von weiblichen Hormonen (Progesteron und Östrogen) zurückzuführen sind (Takano et al. 1981, 1984a, 1984b). Frauen in der Lutealphase wiesen in Alveolen und Arterien einen höheren  $PO_2$  als Frauen in der Folikelphase auf. Progesteron und Östrogen wirken auf das Atemzentrum im Gehirn und steigern die Ventilation und die hypoxische ventilatorische Reaktion (Hannhart et al. 1990). Diese Geschlechtsunterschiede rufen unter hypoxischen Bedingungen möglicherweise eine unterschiedliche Erythropoesereaktion hervor.

Eventuelle Unterschiede zu Männern sind auch wegen Blut- und Eisenverlusten während der Menstruation, Schwangerschaft, Geburt und Stillperiode zu erwarten. Es gibt außerdem Hinweise aus Messungen bei Versuchstieren, dass das weibliche Geschlecht Sauerstoffmangel besser verträgt als das männliche Geschlecht (z. B. Stupfel et al. 1978,). Ein solches Verhalten ist beim Menschen nicht erforscht worden.

### **1.1.5. Alterseffekt**

Bekannt beim Menschen ist, dass nach der Menopause die Ausschüttung von Geschlechts-hormone aufhört und damit der Antrieb auf die Atmung, was die Erythropoese indirekt beeinflussen kann. Sehr wenige Studien haben die Änderung der Hb-Masse und der Blutvolumina im Alter untersucht. Sjöstrand (1949) registrierte eine Abnahme der Hb-Masse ab dem 50. Jahresalter. Diese Abnahme steht in Übereinstimmung mit den niedrig gemessenen Blutvolumina bei postmenopausalen Frauen (Carroll et al. 1995, Stachenfeld et al. 1998). Diese Angaben beziehen sich auf Kilogramm Körpergewicht. Da das Gewicht im Alter meist wegen Fett-speicherung zunimmt, die Hb-Masse aber mit der Muskelmasse korreliert ist, können diese Befunde Scheineffekte sein. Messungen nach der Menopause unter Berücksichtigung dieser Tatsache und Bezugnahme auf die fettfreie Körpermasse können dazu beitragen die Rolle der weiblichen Geschlechtshormone bei der Erythropoese zu klären.

## 1.2. Ziele der Arbeit

Diese Arbeit versucht, folgende Fragen zu beantworten:

Wie wird die Blutbildung bei in mäßiger Höhe lebenden Frauen im Vergleich zu Männern von der Hypoxie beeinflusst?

Ist bei Frauen die Schwellenhöhe für die Erythropoeseanregung auch auf 2 600 m über N.N. überschritten? Wie hoch ist deren Ausmaß?

Welche Bedeutung haben Hb-Masse und Blutvolumen für die Leistungsfähigkeit in der Höhe?

Welche Einflüsse haben verschiedene physiologische Effekte wie Wirkung von EPO, Eisenhaushalt, genetische Einflüssen, Geschlechtsunterschieden und Alter bei der Atmung auf die Hb-Masse und Leistungsfähigkeit in der Höhe?