

Eritropoetin (EPO)



Pripravil:
Doc. dr. Tadej Malovrh

Eritropoetin (angl. Erythropoietin; EPO) je telesni hormon, ki regulira nastajanje eritrocitov v telesu, zlasti v primeru, ko iz različnih razlogov prične zmanjkovati aerobne kapacitete krvi. EPO se uporablja v medicini za zdravljenje določenih bolezni, pri katerih se pojavlja ali izraža slabokrvnost (anemija). Zaradi vloge, ki jo ima pri nastajanju eritrocitov in s tem tudi pri vlogi oskrbovanja tkiv s kisikom, so začeli uporabljati EPO tudi športniki, zlasti tisti v aerobnih športih. Taka uporaba eritropetina pri športnikih je prepovedana in sodi med t.i. krvni doping. Pri uporabi EPO se poveča količina eritrocitov v krvi, poveča se torej aerobna kapaciteta, posledično pa tudi aerobne zmogljivosti športnika. Zlorabo EPO pa kljub temu, da gre za popolnoma naraven hormon, danes s posebnimi testi lahko dokažemo. Prav tako pa tudi njegova uporaba ni tako nedolžna kakor se zdi na prvi pogled, saj obstaja kar precej opisanih smrtnih primerov med vzdržljivostnimi športniki.

Uvod

Kri sestavljata dve glavni komponenti, tekoči del, ki jo imenujemo plazma, ter krvne celice, v največji meri so to eritrociti, ki s pomočjo hemoglobina prenašajo kisik po telesu. Eritrociti vsebujejo skoraj 90% hemoglobina. Hemoglobin je kompleksna molekula, ki vsebuje skupino hem v kateri železove molekule vežejo kisik in ga iz pljuč prenašajo po telesnih tkivih. Glavna naloga hemoglobina je torej transport kisika po telesu in transport ogljikovega dioksida iz tkiv nazaj v pljuča, skupina hem pa eritrocitom in s tem tudi krvi

daje značilno rdečo barvo. Kadar pa opazujemo medsebojni odnos tekočega in celičnega dela krvi, to izrazimo s pojmom hematokrit (Ht). Hematokrit je torej mera, s katero določamo količino eritrocitov v krvi in predstavlja razmerje med tekočim in celičnim delom krvi. Najbolj enostaven način določanja hematokrita je kar s centrifugiranjem krvi v kapilari, iz katere nato od celotne količine krvi v kapilari odčitamo nivo eritrocitov ter ga izrazimo z deležem ali preprosto v odstotkih. Običajna vrednost Ht tako pri človeku znaša med 0,35 (35%) in 0,52 (52%), z značilnimi, nekoliko višjimi vrednostmi pri moških. Iz navedenega torej sledi, da se z zmanjšanjem števila eritrocitov v krvi, kar splošno imenujemo anemija, vrednosti hematokrita znižajo; npr. pri različnih boleznih, neustrezni prehrani, krvavitvah ali kot stranski učinke uporabe določenih zdravil. Nasprotno pa povečane vrednosti Ht lahko opazujemo pri osebah, ki živijo na višjih nadmorskih višinah, ob pojavu nekaterih vrst tumorjev, pri uporabi klasičnega krvnega dopinga in seveda ob uporabi hormona eritropoetina.

Z razpravo o eritrocitih in njihovem pomenu pa se ne moremo izogniti podatkom o njihovem izvoru in regulaciji nastajanja. Eritrociti tako izvirajo iz rdečega kostnega mozga (vsebinski kosti), kjer nastajajo iz matičnih celic, nato pa preko procesov zorenja (ti trajajo približno 7 dni) na koncu preidejo v krvni obtok, kjer ostajajo 120 dni. Telo celoten proces glede na potrebe organizma med drugim regulira tudi s hormonom eritropoetinom. EPO je torej hormon, ki ga telo proizvaja predvsem v ledvicah in jetrih pa tudi v možganih in maternici, glede na potrebe organizma po kisiku. Po kemični sestavi je to molekula, ki je sestavljena iz sladkornega in beljakovinskega dela, imenovana glikoprotein. Podrobna aminokislinska zgradba hormona je bila odkrita leta 1983, z rekombinantno tehnologijo pa so ga na umeten način začeli izdelovati leta 1985 (recombinant human EPO oz. rhEPO). Ravno zaradi velike podobnosti v molekularni strukturi med rhEPO in naravnim EPO je bilo še pred kratkim zelo težko odkriti zlorabe tega hormona pri športnikih. Pred uporabo rhEPO so

tako leta 1980 v študiji pri kolesarjih - tekmovalcih izmerili povprečni Ht 0,43, iz česar je sledilo, da je mednarodna kolesarska organizacija (UCI) na podlagi omenjene raziskave določila mejo za diskvalifikacijo tekmovalcev, če je njihova vrednost Ht preseгла 0,50. V zadnjem času pa se pri dokazovanju zlorabe EPO že uporabljajo metode, s katerimi lahko natančno dokažemo prisotnost rhEPO v krvi. V normalnih okoliščinah je namreč v krvi zelo majhna koncentracija EPO, ki pa se po naravni poti poveča šele takrat, ko se zniža koncentracija hemoglobina v krvi pod mejo 110 g/l.

Delovanje eritropoetina

EPO ima v telesu v splošnem podoben način delovanja kakor vsi ostali proteinski hormoni (npr. rastni hormon). Deluje namreč tako, da se veže na specifične receptorje, ki se nahajajo v celični membrani ciljne celice, v primeru EPO so to EpoR, ki se nahajajo na predhodnikih eritrocitov v kostnem mozgu. Tako EPO stimulira te matične celice, da se začnejo razmnoževati in zoreti v funkcionalne eritrocite, ki preidejo v krvni obtok, kar na koncu vodi do povečanja koncentracije eritrocitov v krvi in do višjih vrednosti Ht.

Eritropoetin kot zdravilo

Potem, ko je prišlo do možnosti izdelave umetnega, rekombinantnega EPO, ki se je začel uporabljati kot zdravilo in je pomenil velik napredek pri zdravljenju nekaterih bolezenskih stanj, se je kaj kmalu izkazalo, da se ga lahko uporablja oz. zlorablja v športu. Zloraba v športu je razvidna že iz nekaterih podatkov, ki segajo v obdobje od leta 1987 do 1991. EPO se danes kot zdravilo uporablja pri bolnikih z dializo, pri bolnikih, kjer se anemija pojavlja kot neželeni stranski učinek zdravljenja, npr. pri zdravljenju raka ali AIDS-a, po hudi izgubi krvi pri Jehovih pričah. Pri zdravljenju z EPO se mora obvezno strokovno spremljati njegovo učinkovanje ter morebitne interakcije z drugimi zdravili; npr. spremljanje Ht, pomembno je istočasno uživanje zdravil, ki vsebujejo železo, ter jemanje vitaminov B kompleksa.

Prepovedane metode za povečevanje prenosa kisika

Prepovedane metode za povečevanje prenosa kisika so lahko zelo veliko pomagale pri poklicnih komercialnih aerobnih športih, kot so teki na dolge proge, kolesarstvo, tek na smučeh, plavanje na daljše razdalje, triatlon ter tudi pri veslanju in nogometu. Uporaba takih metod pa ni izvzeta tudi iz amaterskega športa. V modernem komercialnem kot tudi amaterskem športu danes prevladujejo osebni, nacionalni in finančni interesi nad bistvom samega športa in pomenom zdravja. Dejstvo, da je uporaba teh metod tako pogosta na tekmovanjih kljub prepovedi in kontrolam, torej ne preseneča.

Na Listi prepovedanih snovi in tehnik je med Prepovedanimi metodami skupina M1: Povečevanje prenosa kisika, v katero spada tudi krvni doping, t.i. avtotransfuzija krvi, kar pomeni, da se športniku nekaj mesecev pred načrtovanim tekmovanjem odvzame določen volumen krvi, izloči in shrani se eritrocite ter se jih nekaj ur pred tekmovanjem vrne preko vene (i.v.) nazaj v njegov krvotok. Tako se poveča količina eritrocitov v krvi, kar je razvidno, če izmerimo vrednosti Ht, zaradi tako povečane aerobne kapacitete krvi pa se izboljšajo tudi aerobne sposobnosti športnika.

Z začetkom na kolesarskem tekmovanju Tour de France, preko Olimpijskih iger v Sydneyu, do zimskih Olimpijskih iger v Salt Lake Cityju, se uporablja hormon EPO. Glede na Listo prepovedanih snovi in tehnik lahko zlorabo EPO razvrstimo v skupino M1: Povečevanje prenosa kisika in tudi v skupino S2: Hormoni in sorodne snovi. Uporaba EPO je precej poenostavila doseganje učinkov klasičnega krvnega dopinga z avtotransfuzijo krvi, saj ni več potrebno toliko medicinskega predznanja, spretnosti in opreme za samo izvedbo.

Uporaba EPO je razmeroma enostavna, saj ga je v telo potrebno aplicirati le s podkožnim (s.c.) ali intravenoznim (i.v.) injiciranjem 1- do 3-krat na teden, učinek pa je mogoče opaziti že po treh do petih dneh. Nekatere študije navajajo rezultate, da lahko z uporabo EPO povečamo Ht od 15 - 20% in s tem povečamo aerobne kapacitete za 6 - 8%. Pri zlorabah EPO pa se pri številnih športnikih pogosto zanemari ravno strokovno spremljanje krvnih parametrov, na podlagi katerih naj bi se kas-

neje določala tudi režim in odmerki EPO. Takšno »dvojno« neodgovorno ravnanje pa lahko vodi do najbolj drastičnega stranskega učinka: smrti športnika.

Stranski učinki uporabe EPO

Pri zdravljenju z EPO je poznanih kar nekaj neželenih stranskih učinkov, ki pa ob strokovni zdravniški podpori ne predstavljajo velikega tveganja za pacienta in so skoraj zanemarljivi v primerjavi z učinkom samega zdravljenja. Pri zlorabi EPO pri športnikih pa so stranski učinki pogosto zelo usodni. Vsi športniki niso vedno deležni ustrezne strokovne podpore, po želji za čim večjim učinkom dopinga in seveda po želji doseči čim boljši rezultat, so uporabljene doze in režim jemanja velikokrat v nasprotju z medicinsko domeno. Velikokrat stranske učinke okrepijo, spremenijo ali pa tudi prikrijejo z istočasno uporabo še drugega dopinga ali uporabe drugih preparatov ter dodatkov k prehrani.

Stranske učinke uporabe EPO lahko razdelimo na tiste, ki sicer neposredno ne ogrožajo življenja, vplivajo pa na njegovo kakovost in imajo lahko dolgoročne posledice. Predvsem pri športnikih se zaradi drugačnega subjektivnega zaznavanja bolečine zanemarija bolečine v prsih, oteženo dihanje, pogosti glavoboli, bolečine v mišicah in kosteh, mišični krči, otekanje okončin, občutek utrujenosti, opisani pa so tudi neželeni stranski učinki v povezavi z EPO, ki sploh ne pritegnejo posebne medicinske pozornosti: diareja, gripi podobno obolenje, slabost in bruhanje, rdečina in oteklina na mestu aplikacije.

Drugi, bolj pomembni stranski učinki pa so rezultat neposrednega delovanja EPO na sestavo krvi, s tem pa na celotno regulacijo krvožilnega sistema. Zaradi povečanega števila eritrocitov, torej povišane vrednosti Ht, se poveča viskoznost krvi, na kar telo odgovori s povišanim krvnim pritiskom. To predstavlja veliko obremenitev za srce, ki pa ga športniki do neke mere zaradi treniranosti lahko kompenzirajo. Dodatno obremenitev za srce pa predstavlja dehidracija med tekmovanjem, ki še poviša Ht, zmanjša se krvni volumen in zaradi velike viskoznosti krvi se poveča tudi žilni upor. Tako že pri nedopingiranih tekmovalcih Ht naraste med 0,45 in 0,55. Meja, pri kateri visok Ht postane ogrožajoč, sicer ni natančno poznana, ker je le ta precej individualno odvisna, vendar se pri vrednosti Ht nad

0,55 močno poveča verjetnost za odpoved srca; t.i. srčna neučinkovitost. S tem so povezane dokumentirane nenadne odpovedi srca pri športnikih med počitkom, večinoma med spanjem.

Poznano je, da znaša Ht pri z EPO-m dopingiranih maratoncih lahko že ob startu teka 0,52 in se dvigne nad 0,60 med samim tekmovanjem. V takih pogojih pa je pogostost smrtnih primerov zaradi odpovedi srca, zlasti med kolesarji in maratonskimi tekači, velika. V takšnih nefizioloških pogojih se poveča tudi sposobnost strjevanja krvi, kar lahko vodi do nastajanja krvnih strdkov ter zamažitve žil in smrti zaradi srčne ali možganske kapi. Številni »senzacionalni« smrtni primeri vrhunskih športnikov, zlasti med kolesarji in maratonce, ostajajo športni javnosti nerazjasnjeni, celo skrivnostni, česar pa si po vseh navedenih dejstvih potemtakem le ni tako težko razložiti.

Ker je EPO, kot smo že omenili, proteinskega izvora, lahko vsak njegov vnos v organizem naše telo zazna. To lahko zaradi ponazoritve primerjamo z vdorom mikroorganizmov; telo se jim bo zoperstavilo z aktivacijo imunskega sistema, ki tvori protitelesa. Prav to pa se lahko zgodi tudi pri uporabi EPO. Telo ga pri vnosu prepozna kot tujek, proti molekuli tvori antieritropoetinska protitelesa, ki EPO inaktivirajo, tako da hormon ne more učinkovati. Najhuje pri tem pa je, da antieritropoetinska protitelesa ne razlikujejo med naravnim EPO in rhEPO; pride torej do inaktivacije naravnega hormona in posledično do nastanka anemije.

Preprati, ki vsebujejo EPO

Na trgu je danes mogoče dobiti kar nekaj različnih pripravkov, ki vsebujejo takšno ali drugačno obliko eritropoetina. Pripravke je mogoče naročiti preko interneta, lahko so zdravila za uporabo v veterini ali pa jih predpišejo nekateri zdravniki vprašljivih nazorov kot zdravniki, a za zlorabe v športu. Naj omenimo le nekatere pripravke kot so: Epogen, Procrit, Eprex, Darbepoetin, Aranesp.

Dokazovanje EPO

Uporabo EPO lahko dokazujemo posredno, z dokazovanjem sprememb ali učinkov v telesu: npr.: z določanje maksimalne porabe kisika (VO₂max), hematokrita in hemoglobina, z določanjem topnih transferinskih recep-

torjev (sTfr), ali z določanjem števila nezrelih eritrocitov, imenovanih retikulociti, v krvi.

EPO pa lahko dokazujemo tudi neposredno. Analize iz te skupine preiskav so predpisane za dokazovanje nedovoljene uporabe EPO pri športnikih. Do nedavnega je bilo namreč nemogoče direktno določevati in med seboj razlikovati naravni EPO od rhEPO, vendar so bili strokovnjaki zaradi pogoste zlorabe prisiljeni razviti teste, s katerimi lahko v vzorcih razlikujemo med telesu lastnim hormonom in tistim, ki je pridobljen z rekombinantno tehnologijo. Molekuli EPO sta si namreč v beljakovinskem delu popolnoma identični, majhna razlika pa se pojavi v sladkornem delu molekule in ravno na dokazovanju teh razlik so zasnovani testi. Principi testov temeljijo na tehniki razločevanja električnega naboja in na imunoloških tehnikah, v katerih zaznamo razliko v strukturi molekule EPO, metode pa se imenujejo imunoafinitetna izolacija, imunobloting, izoelektrično fokusiranje, RIA, ELISA.

Postopek direktnega testiranja zaenkrat obsega krvni in urinski vzorec športnika, saj predpisi zahtevajo, da morata biti oba vzorca pozitivna, da je dokončno potrjeno jemanje dopinga. Največja slabost testa je v tem, da se rhEPO v krvi lahko dokaže še štiri tedne po uporabi, v vzorcu urina pa le do tri dni po aplikaciji, kar je tesno povezano z izredno kratko biološko razpolovno dobo rhEPO, ki traja od 6 do 8 ur. Zaradi predpisov, ki zahtevajo oba testa, se torej EPO lahko kjerkoli zlorablja za izboljšanje dosežkov še do štirih tednov pred predvidenim vzorčenjem. To pa pomeni, da je potrebno izvajati pogosta naključna testiranja izven tekmovalnega obdobja, drugače bodo nekateri še vedno »hazardirali« in zlorabljali rhEPO ter izkoriščali nepošteno pridobljeno prednost pred poštenimi športniki brez večjega strahu, da jih bodo odkrili.

Zaključek

Kljub temu, da so danes testi, s katerimi določamo Ht, kot tudi testi za dokazovanje prisotnosti rhEPO z namenom dokazovanja zlorabe, dovršeni, in so na »vsakdanji« listi akreditiranih laboratorijev, ki izvajajo doping kontrolo, pa še vedno ostaja zelo zanimiva ideja, kako na dovoljeni način povečati aerobno kapaciteto krvi. Treniranje v krajih z višjo nadmorsko višino ter spanje v

»dušikovih hišah«, dekompresijskih komorah ali hipoksičnih šotorih (to so načini, ki sprožajo povečano izločanje naravnega eritropoetina v telesu) zaobide medicinsko in farmakološko manipulacijo kot doping. Taki pogoji namreč omogočajo naravno povečanje količine EPO in s tem tudi povečanje količine eritrocitov v krvi, vendar so številne športne federacije in Olimpijski komite, kot je bilo omenjeno, sprejeli postavljeno zgornjo dovoljeno mejo vrednosti Ht, tako da so s tem regulirali, če ne tudi izločili možno pridobitev prednosti, ki je povezana ravno s krvnim dopingom. Le tako namreč lahko dokaj učinkovito preprečimo doping, s katerim manipuliramo s koncentracijo eritrocitov v krvi. Predvidevamo pa lahko, da se bo iskanje načinov, kako na legalni način povečati Ht oz. koncentracijo hemoglobina, najverjetneje še nadaljevalo. Veliko grožnjo na tem področju pa predstavlja vsekakor genetski doping, saj so znanstveniki v nekaterih živalskih modelih že prišli do rezultatov, ki bi lahko marsikateremu športniku ali menedžerju obrnili misli tudi v smer, da bi učinke preskusili na športnikih.

Literatura

Åstrand PO. Experimental studies on physical working capacity in relation to sex and age. Copenhagen: Ejnar Munksgaard, 1952.

Audran M, Gareau R, Matecki S, et al. Effects of erythropoietin administration in training athletes and possible indirect detection in doping control. *Med. Sci. Sports Exerc* 1999; 31: 639-45.

Berne RM, Levy MN. *Physiology*. St. Louis, Baltimore, Boston Carlsbad, Chichago Minneapolis, New York: Mosby, 1998.

Bodary PF, Russell PR, Quiong FW, McMillan G. Effects of acute exercise on plasma erythropoietin levels in trained runners. *Med Sci in Sports Exer* 1999; 31(4):543-6.

Breyman C, Bauer C, Major A, et al. Optimal timing of repeated rh-erythropoietin administration improves its effectiveness in stimulating erythropoiesis in healthy volunteers. *Brit J of Haematol* 1996; 92: 295-301.

Cheung WK, Goon BL, Guilfoyle MC, Wacholtz MC. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human erythropoietin after single and multiple subcutaneous doses to healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64(4): 412-23.

Deska PK. *Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests*. St. Louis, MO: Mosby Inc., 1998.

Ekblom B, Goldberg AN, Gullbring B. Response to exercise after blood loss and reinfusion. *J Appl Physiol* 1972; 33: 175-80.

Ekblom B, Berglund B. Effect of erythropoietin administration on maximal aerobic power. *Scand J of Med Sci in Sports* 1991;1(2): 88-93.

Ekblom B. Blood doping and erythropoietin: the effects of variation in haemoglobin concentration and other related factors on physical performance. *Amer J of Sports Med* 1996; 24 (6): S40-S42.

Farrell PA, Wilmore JH, Coyle EE, et al. Plasma lactate accumulation and distance running performance. *Med Sci Sports* 1979; 11: 338-44.

Joyner MJ. News brief: altitude training, erythropoietin, and blood doping. *Exerc Sport Sci Rev* 2002; 3: 97-8.

Kanstrup I, Ekblom B. Blood volume and hemoglobin concentration as determinants of maximal aerobic power. *Med Sci Sports Exerc* 1984; 16: 256-62.

Kazlauskas R, Howe C, Trout G. Strategies for rhEPO detection in sport. *Clin J Sport Med* 2002; 12(4):229-35.

Rang HP, Dale MM Ritter JM. *Pharmacology*. Edinburg, London, New York, Philadelphia, Sydney, Toronto: Churchill, Livingstone, 1999.

Rowell LB. *Human circulation regulation during physical stress*. New York: Oxford University Press, 1986: 1-416.

Saltin B, Strange S. Maximal oxygen uptake: "old" and "new" arguments for a cardiovascular limitation. *Med Sci Sports Exerc* 1992; 24: 30-7.

Sawka MN, Joyner MJ, Miles DS, et al. American College of Sports Medicine position stand: the use of blood doping as an ergogenic aid. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28:i-viii.

Stray-Gundersen J, Chapman RF, Levine BD. "Living high-training low" altitude training improves sea level performance in male and female elite runners. *J Appl Physiol* 2001; 91: 1113-20.

Stray-Gundersen J, Videman MD, Tapio MD, et al. Abnormal Hematologic Profiles in Elite Cross-Country Skiers: Blood Doping or? *Clin J Sport Med* 2003; 13(3):132-137.