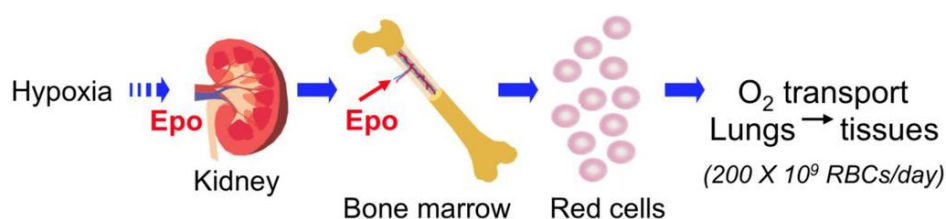


EPO, EPOMIMETIKÁ A ŠPORT

ERYTROPOETÍN (EPO)

Erytropoetín je glykoproteínový hormón **zodpovedný za reguláciu erytropoézy**. Väzbou na svoj receptor lokalizovaný na membráne prekursorových buniek spustí kaskádu reakcií, ktorých výsledkom je stimulácia proliferácie a diferenciácie erytroidných prekursorov v kostnej dreni. Primárnym stimulom pre syntézu EPO je zníženie parciálneho tlaku kyslíka v krvi. Počas embryonálneho vývoja je EPO syntetizovaný prevažne v pečeni, a po narodení v peritubulárnych bunkách kortexu obličiek. Pre zachovanie fyziologického počtu erytrocytov je erytropoetín v malých množstvách vylučovaný neustále. Denne sa tak vyprodukuje zhruba 200 miliárd červených krviniek.



Mechanizmus tvorby a účinku erytropoetínu

Nedostatok erytropoetínu je primárnou príčinou anémie spojenej s chronickým zlyhávaním obličiek. V takom prípade je nutná substitučná terapia rekombinantným erytropoetínom alebo inou látkou stimulujúcou erytropoézu.

OD PRIRODZENÉHO K REKOMBINANTNÉMU

V roku 1984 sa podarilo izolovaný EPO gén exprimovať v ovariálnych bunkách čínskeho škrečka, čo umožnilo vývoj prvého rekombinantného erytropoetínu ako liečiva. **Prvý rekombinantný EPO (rHuEPO), epoetín alfa** bol vyrobený spoločnosťou Amgen a predávaný ako Epogen od roku 1989 (prvá generácia rHuEPO). Vzhľadom na biologický polčas (cca 8 hodín) bolo na udržanie primeraných hladín hemoglobínu nevyhnutné jeho časté dávkovanie. Novodobé rekombinantné EPO sú vyvinuté so zmenenými štruktúrami, predlžujúcimi eliminačný polčas, čo umožňuje znížiť dávkovanie na 1x týždenne až 1x mesačne.

INDIKÁCIE

Cieľom farmakoterapie je dosiahnutie hladiny hemoglobínu 110 až 120 g/l (hematokrit 0,33–0,36). **Okrem zlyhania obličiek** sa dnes erythropoetín klinicky používa i v ďalších indikáciách, ako napr. **prevencia anémie u pacientov s nádorovým ochorením, ktorí podstupujú chemoterapiu, u pacientov s AIDS liečených zidovudinom, u pacientov s hepatítidou C alebo pred závažnými chirurgickými zákrokmi.**

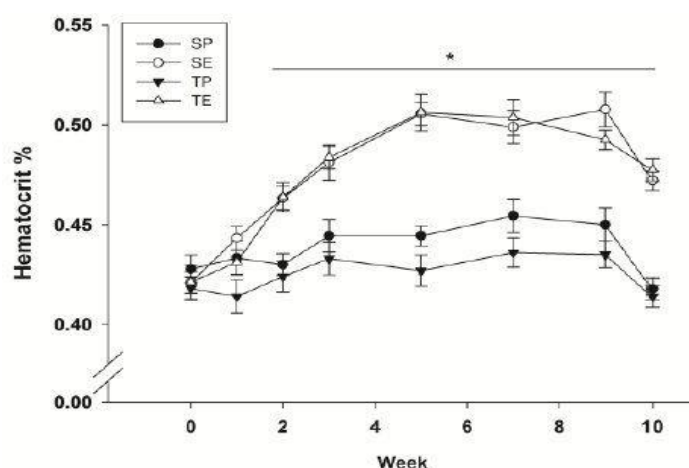
NEŽIADUCE ÚČINKY

Humánný rekombinantný erythropoetín i ďalšie látky stimulujúce erythropoézu sú obvykle dobre znášané, s minimom nežiaducich účinkov. Závažným, ale vzácnym vedľajším účinkom je produkcia protilátok erythropoetínu spôsobujúcich **úplnú apláziu červených krviniek.**

VYUŽITIE V ŠPORTE

Cieľom zneužívania EPO športovcami je **zlepšenie vytrvalosti a zníženie času potrebného na regeneráciu.** Nárast počtu červených krviniek zvýši transport kyslíka z pľúc do tkanív (svalov), a taktiež zvýši export oxidu uhličitého. Štúdia na zdravých dobrovoľníkoch potvrdila zvýšenie VO_{2max} (maximálna rýchlosť spotreby kyslíka) o 6-12%. Vysoké množstvo erytrocytov (vysoké hodnoty hematokritu) spôsobí zvýšenie viskozity krvi, čím sa zníži prietok krvi v cievach, a v dôsledku toho môže dôjsť k trombóze, či mozgovej príhode.

S príchodom rekombinantného erythropoetínu v 90. rokoch 20. storočia sa doping autológnu a homológnu transfúziou krvi čiastočne nahradil injekčným podávaním rHuEPO. V tom čase neexistoval žiadny spôsob ako ho vo vzorkách priamo detegovať. Až v roku 2000 bol vedcami vo francúzskom národnom antidopingovom laboratóriu vypracovaný test na detekciu rHuEPO, ktorý následne schválila aj WADA.



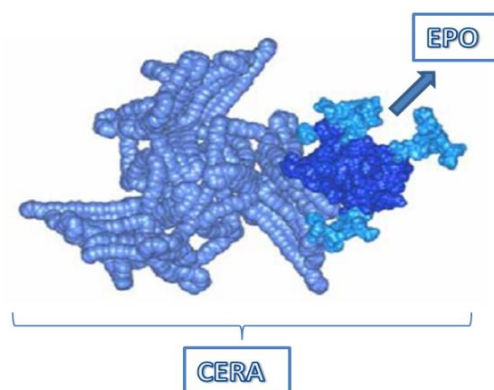
Hodnoty hematokritu počas 10 týždňov za daných okolností: (SP = bez tréningu + placebo, SE = bez tréningu + EPO, TP = tréning + placebo, TE = tréning + EPO)

Rekombinantný EPO je dnes možné detegovať v krvi aj v moči, a jeho zneužívanie možno odhaliť aj na základe odchýlok krvného modulu v biologickom pase športovca.

O mechanizme účinku erythropoetínu, jeho chemickej štruktúre, vedľajších účinkoch a športoch v ktorých sa najviac zneužíva si môžete prečítať tu: https://www.antidoping.sk/data/files/379_s2-erythropoetin.pdf

CERA

CERA (Continuous erythropoietin receptor activator), **kontinuálny aktivátor EPO receptorov je 3. generáciou ľudského rekombinantného erythropoetínu**. Z hľadiska chemickej štruktúry je CERA rekombinantný EPO viazaný na polyetylén glykol (metoxyetylén glykol-epoetín beta), ktorý priniesla na trh švajčiarska firma Roche pod názvom lieku MICERA s indikáciou na liečbu symptomatickej anémie spojenjej s chronickým ochorením obličiek. Tento liek sa podáva vo forme injekcie subkutánne alebo intravenózne, a na Slovensku je dostupný od roku 2008.



Štruktúra metoxypolyetylén glykol-epoetín beta (CERA)

VÝHODY

V porovnaní s predošlými generáciami rHuEPO má CERA predĺžený biologický polčas (cca 6 dní) i samotný mechanizmus účinku, čím sa zabezpečí **nepretržitá stimulácia receptorov pre EPO**. Pre pacientov to znamená zníženie počtu aplikovaných injekcií (cca raz mesačne) a nižšie náklady na zdravotnú starostlivosť.

NEŽIADUCE ÚČINKY

Nežiaduce účinky CERA a iných rekombinantných erytropoetínov sú: **príznaky podobné chrípke, alergické a anafylaktické reakcie, hyperviskozita krvi, zvýšené riziko trombózy, hypertenzia, či aplázia červených krviniek po vytvorení autoprotilátok.**

CERA A DOPING

Aj keď si športovci mysleli, že pri menej frekventovanom podávaní CERA je nižšia šanca na odhalenie dopingu touto látkou, opak je však pravdou. Predĺžený biologický polčas predĺžil aj detekčné okno, a navyše prostredníctvom spolupráce WADA s firmou Roche bola už počas vývoja lieku úspešne vyvinutá metóda detekcie CERA v moči aj krvi. V súčasnosti možno na odhalenie dopingu touto látkou využiť **metódy izoelektrickej fokusácie, imunochemickú metódou ELISA, kvapalinovú chromatografiu s hmotnostnou spektrometriou alebo elektroforetické techniky.**

ŠTATISTIKA DOPINGU

Podľa štatistiky WADA bolo v priebehu roka 2017 zistených **62 prípadov dopingu EPO, 21 prípadov dopingu CERA a 2 prípady dopingu darbepoetínom (2. generácia rHuEPO).**

Positívny test na CERA mali v minulosti najmä atléti a cyklisti (napr. Rashid Ramzi, Riccardo Ricco, Bernhard Kohl, Erik Tysse, Davide Rebellin).

EPO MIMETIKÁ

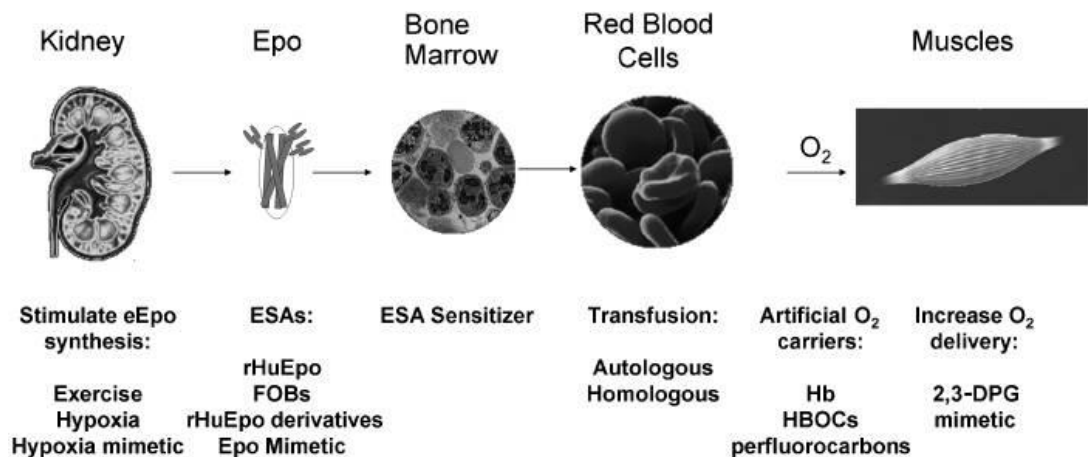
EPO mimetické peptidy (EPO mimetiká) sú syntetické **cyklické peptidy, ktoré nevykazujú žiadnu sekvenčnú homológiu s EPO, ale dokážu sa viazať na EPO receptor, aktivovať ho a stimulovať tak syntézu EPO.** Spolu s hypoxiou indukovateľnými faktormi (HIFs) patria k látkam stimulujúcim erytropoézu.

PEGINESATID

Najznámejšou a klinicky najvyspelejšou látkou tejto skupiny je peginesatid, známy aj pod názvami Omontys alebo Hematide. Štruktúrne ide o **syntetický homodimér dvoch EPO mimetických peptidov viazaných s polyetylén glykolom,** ktoré sa podobajú ľudskému EPO. Peginesatid bol vyvinutý na liečbu anémie spojenej s chronickým ochorením obličiek pre dospelých pacientov podstupujúcich dialýzu.

Dve randomizované kontrolované štúdie uverejnené v roku 2013 zistili, že **účinnosť peginesatidu je porovnateľná s darbepoetínom** (2. generácia rHuEPO), avšak oproti darbepoetínu prináša liečba peginesatidom zvýšené riziko kardiovaskulárnych príhod i úmrtia. Vzhľadom na predĺžený biologický polčas sa peginesatid podáva intravenózne alebo subkutánne v dávke 0,03 - 0,1 mg/kg telesnej hmotnosti cca raz mesačne.

Nakoľko peginesatid nemá homologickú sekvenciu aminokyselín s EPO, bolo nutné vyvinúť nové analytické postupy a metódy na jeho detekciu vo vzorkách. Za posledné roky boli úspešne validované a aplikované metódy na jeho detekciu v krvi, moči i sére (napr. ELISA, LC-MS/MS).



Metódy používané na zvýšenie transportu kyslíka.