

Erytropoietiini (EPO) ja sen dopingkäytön osoittaminen

Erytropoietiini eli EPO on elimistön hormoni, jonka pääasiallinen tehtävä on kiihdyttää punasolutuotantoa kudosten happipitoisuuden laskiessa. EPO:n synteesi lisääntyy voimakkaasti esimerkiksi ihmisen oleskellessa vähähappisessa ympäristössä.

Täysikasvuisella ihmisellä noin 90 prosenttia EPO:sta muodostuu munuaisissa. Vähäisempiä määriä hormonia muodostuu maksassa, aivoissa ja kiveksissä. EPO:lla on fysiologista merkitystä paitsi punasolujen muodostumisessa myös paikallisena verenkierroksen säätelijänä eräissä elimissä.

Lääkemuotoista EPO:a (rekombinantti erytropoietiini; rEPO; rhEPO) valmistetaan yhdistelmä-DNA-tekniikalla. Ihmisen EPO-geeni on tällöin liitetty jonkin viljellyn solukannan DNA:han. Yleisin viljelty solulaji on kultahamsterin munasarjasolu (CHO-solu). Viljelmästä eristetään aminohappokoostumukseltaan ja vaikutukseltaan ihmisen EPO-hormonin kanssa täysin identtistä hormonia. Vaikka aminohappokoostumus on soluviljelyistä eristetyissä rEPO-molekyyleissä täysin sama kuin ihmiselimistön tuottaman EPO:n, poikkeavat EPO-molekyylit kuitenkin sokeriketjujen osalta. Sokeriketjut poikkeavat toisistaan siksi, että eri solutyypeissä on erilaisia EPO:on sokeriosia liittäviä entsyymejä. Koska sokeriosat ovat sähköisesti varautuneita, poikkeavat eri solukantojen tuottamat molekyylit sähköisiltä ominaisuuksiltaan, mitä käytetään hyväksi erotettaessa dopingtestissä ihmisen fysiologista EPO:a elimistön ulkopuolisesta rEPO:sta.

Lääkkeellisessä käytössä rEPO on ollut vuodesta 1988 lähtien munuaisperäistä anemian sairastavilla potilailla. rEPO on potentiaalinen dopingaine kestävyyslajeissa, koska se parantaa merkittävästi elimistön hapenottoa. Myös muiden lajien urheilijoita on jäänyt kiinni rEPO:n käytöstä. rEPO:n käytön on arveltu olleen syynä useiden ammattipyöriäilijöiden kuolemiin 1980-luvun lopulla.

rEPO on ollut Kansainvälisen Olympiakomitean kiellettyjen aineiden listalla vuodesta 1990 lähtien, ja ensimmäiset rEPO-testit tehtiin Sydneyn olympialaisissa vuonna 2000. Suomen Antidopingtoimikunta ADT ry on tehnyt rEPO-testejä vuodesta 2003 lähtien.

EPO:n rakenne

EPO on glykoproteiinihormoni. Sen runko koostuu 165 aminohappoa käsittävästä peptidiketjusta, johon EPO:a muodostavissa soluissa liitetään EPO-molekyyliin erilaisia sokeriketjuja. Ilman sokeriosia proteaasientsyymit pilkkoisivat EPO-molekyylit verenkierrossa ennen kuin EPO pääsisi vaikutuskohtaansa luuytimeen. Sokeriketjujen liittyminen ei ole geneettisesti säädeltyä, joten niiden koostumus eri EPO-molekyyleissä vaihtelee. Sokeriosat määräävät molekyylin muodon, koon ja varauksen sekä kunkin yksittäisen molekyylin tehon ja vaikutuksen keston.

EPO-hormoni on pienikokoinen proteiini, minkä vuoksi se voi kulkeutua munuaiskerästen kautta virtsaan. Kuitenkin vain häviävän pieni määrä EPO-molekyyleistä poistuu virtsaan, ja elimistön entsyymit hajottavat muun EPO:n.

rEPO:n lääketieteellinen käyttö

rEPO:a käytetään munuaisten vajaatoimintaan liittyvän kroonisen anemian hoitoon. Hoidon saa aloittaa vain lääkäri, jolla on kokemusta kyseisen taudin hoidosta. Mahdollisen allergisen sokkireaktion vuoksi ensimmäinen annos tulee antaa lääkärin valvonnassa. EPO:a käytettäessä on hoidon tehoa ja vaikutuksia seurattava säännöllisesti. Lisätessään punasolujen ja verihiutaleiden määrää rEPO lisää veritulppien riskiä. Se voi myös aiheuttaa flunssantapaisia oireita sekä verenpaineen nousua.

rEPO annetaan ruiskeena joko ihon alle tai hitaasti laskimoon. rEPO-annokset ovat yksilöllisiä, ja EPO:a annostellaan tavallisimmin kolme kertaa viikossa.

Punasolujen määrää lisäävä vaikutus kehittyy hitaasti, viikkojen kuluessa. rEPO:n vaikutus kestää toisaalta useita viikkoja annon lopettamisen jälkeen.

Valmisteet

Lääkevalmisteissa oleva rEPO valmistetaan yhdistelmä-DNA-tekniikalla. Tällöin tiettyyn solukantaan liitetään ihmisen EPO:a tuottava geeni ja soluviljelmässä muodostuu rEPOa. Riippuen siitä, missä solukannassa rEPO on tuotettu, se on nimetty eri tavoin: epoetiini alfa, epoetiini beeta, epoetiini omega, epoetiini theta, epoetiini zeta tai epoetiini delta. Viimeksi mainittu on tuotettu ihmissoluissa. Patenttisuojien umpeutumisen vuoksi markkinoille on viime vuosina ilmaantunut jo noin 100 toisiaan biologiselta teholtaan vastaavaa niin sanottua biosimilaarista rEPO-valmistetta, joiden sokeriosien välillä on vain pieniä rakenne-eroja.

Tavallinen rEPO poistuu elimistöstä nopeasti, ja sitä joudutaan annostelemaan anemiapotilaalle suhteellisen usein, tavallisimmin kolme kertaa viikossa. Tämän vuoksi on kehitetty useita pitkävaikutteisempia johdoksia, joita voidaan annostella harvemmin. Ensimmäinen näistä niin sanotuista toisen polven EPO-johdoksista oli darbepoetiini eli NESP, jossa rEPO:n peptidiketjua on keinotekoisesti muutettu siten, että siihen sitoutuu useampia sokeriketjuja. Tämän vuoksi sen vaikutusaika on pitempi ja sitä voidaan annostella kerran viikossa.

Uusimmat kolmannen polven EPO-johdannaiset ovat darbepoetiiniakin pitempivaikutteisia. Esimerkiksi metoksipolyetyleeniglykoliepoetiini-betaa eli CERA:a (Continuous Erythropoietin Receptor Activator) voidaan annostella kerran kuukaudessa, sillä sen polyetyleeniglykolipäällis suojaa EPO-molekyyliä hajottavilta entsyymeiltä. Toisaalta sen molekyylipaino on kaksi kertaa EPO:a suurempi ja sitä filtroituu munuaiskeräsistä virtsaan vain vähän.

rEPO:n dopingkäytön osoittaminen

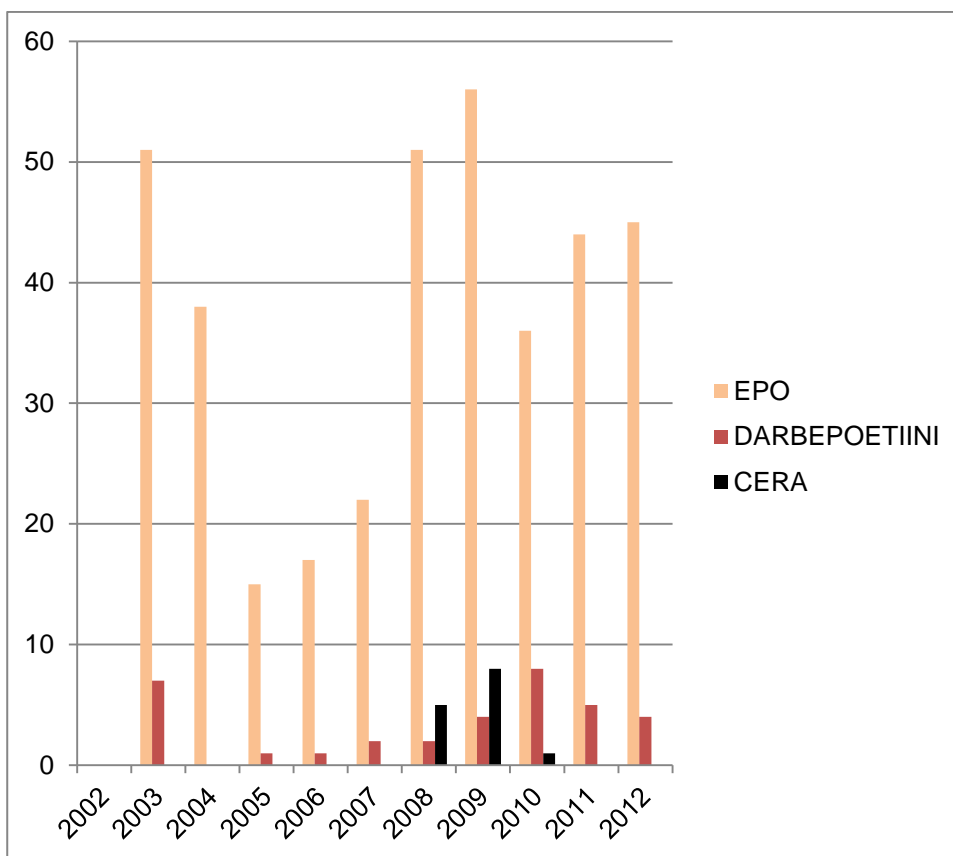
rEPO:n ja sen tavoin punasolujen muodostumista stimuloivien aineiden analytiikkaa on kehitetty jatkuvasti, koska uusia aineita ilmaantuu markkinoille nopeaa tahtia. Maailman Antidopingtoimisto WADA on antanut uudistetun ohjeistuksen dopinglaboratorioille viimeksi vuonna 2013 (Technical Document TD2013EPO, ks. www.wada-ama.org). Menetelmä soveltuu nykymuodossaan paitsi biosimilaaristen rEPO-johdannaisten myös uudempien lääkemuotojen, kuten suurikokoisten rEPO-johdoksien (esimerkiksi CERA:n ja rEPO-immunoglobuliini-fuusioproteiinit) sekä EPO:n tavoin vaikuttavien peptidien ("EPO-mimeettien", esimerkiksi peginesatiden eli Hematiden) analysoimiseen.

Dopinganalyttisissä menetelmissä erotus perustuu elimistön itse tuottaman ja lääkemuotoisten EPO:jen sekä niiden johdannaisten erisuuruisiin molekyylipainoihin ja erilaisiin sokeriosiin.

EPO-testi tehdään useimmiten virtsasta mutta myös yhä useammin verestä (seerumista tai plasmasta), josta voidaan luotettavammin löytää suurikokoisemmat, heikommin virtsaan erittyvät rEPO-johdannaiset. Testi on monivaiheinen ja aikaa vievä, eikä rEPO:a määritetä rutiininomaisesti kaikista dopingnäytteistä. Uusimpien tilastojen mukaan maailmassa tehdään vuosittain noin 25 000 EPO-analyysia (kaikkien dopinganalyysien määrä on yli 250 000). rEPO-analyysit on keskitetty pääosin kestävyysurheilijoihin, kuten pyöräilijöihin, triathlonisteihin, hiihtäjiin, pitkän matkan juoksijoihin ja uimareihin. Urheilijan Biologisen Passin käyttöönoton (vuonna 2009) jälkeen EPO-testejä on kohdennettu yhä enemmän urheilijan veriprofiilimuutosten perusteella.

WADA:n tilastojen mukaan vuosina 2002–2012 yhteensä 353 urheilijaa antoi rEPO-positiivisen A-näytteen. Lisäksi uudempia EPO-johdannaista on todettu 46 näytteestä:

Vuosi	EPO	DARBEPOETIINI	CERA
2002	0	0	0
2003	51	7	0
2004	38	0	0
2005	15	1	0
2006	17	1	0
2007	22	2	0
2008	51	2	5
2009	56	4	8
2010	36	8	1
2011	44	5	0
2012	45	4	0
	<hr/> 353	<hr/> 32	<hr/> 14



KUVA 1. rEPO-, darbepoietini- ja CERA-positiiviset A-analyysit vuosina 2002–2012 (Viite: [www.wada-ama.org/ statistics](http://www.wada-ama.org/statistics)).

Timo Seppälä
 ADT-lääketieteellinen johtaja
 puh: 0400 685 337