

Literatura

1. Markovič S. Mikroskopski kolitis. In: Košnik M, ed. *Interna medicina*. Košnik M. Ljubljana: Littera picta; 2011. p. 591–2.
2. Tysk C, Bohr J, Nyhlin N, Wickbom A, Eriksson S. Diagnosis and management of microscopic colitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7280–88.
3. Lindström CG. »Collagenous colitis« with watery diarrhoea—a new entity? *Pathol Eur* 1976; 11: 87–9.
4. Lazenby AJ, Yardley JH, Giardiello FM, Jessurun J, Bayless TM. Lymphocytic (»microscopic«) colitis: a comparative histopathologic study with particular reference to collagenous colitis. *Hum Pathol* 1989; 20: 18–28.
5. Pardi DS, Loftus EV, Smyrk TC, Kammer PP, Tremaine WJ, Schleck CD et al. The epidemiology of microscopic colitis: a population based study in Olmsted County, Minnesota. *Gut* 2007; 56: 504–8.
6. Bohr J, Tysk C, Eriksson S, Järnerot G. Collagenous colitis in Örebro, Sweden, an epidemiological study 1984–1993. *Gut* 1995; 37: 394–7.
7. Fernández-Bañares F, Salas A, Forne M, Esteve M, Espinos J, Viver JM. Incidence of collagenous and lymphocytic colitis: a 5-year population-based study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 418–23.
8. Agnarsdottir M, Gunnlaugsson O, Orvar KB, Carriglia N, Birgisson S, Bjornsson S et al. Collagenous and lymphocytic colitis in Iceland. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 1122–8.
9. Rajan J, Noble C, Anderson C, Satsangi J, Lessels A, Arnott I. The epidemiology and clinical features of collagenous colitis in Lothian. *Gut* 2005; 54(Suppl.2): A99.
10. Heron T, Walsh S, Mowat A. Microscopic colitis in Tayside: clinical features, associations and behaviour. *Gut* 2005; 54 (Suppl.2): A84.
11. Kohut M, Duhamel A, Flamant M, Savoye G, Saleron J, Brazier F et al. Incidence of microscopic colitis in northern France. *Gut* 2010; 59 (Suppl III): A179.
12. Dietrich CF (author), Rutgeerts P (section editor), Travis AC (deputy editor). Lymphocytic and collagenous colitis (microscopic colitis). UpToDate 2011, version 19.2 online access 18.4.2011
13. Nyhlin N, Bohr J, Eriksson S, Tysk C. Systematic review: microscopic colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1525–34.
14. O'Mahony S, Nawroz IM, Ferguson A. Coeliac disease and collagenous colitis. *Postgrad Med J* 1990; 66: 238–41
15. Gillet HR, Freeman HJ. Prevalence of celiac disease in collagenous and lymphocytic colitis. *Can J Gastroenterol* 2000; 14: 919–21
16. Zsolt B, Zold E, Nagy A, Zeher M, Csipo I. Celiac disease and microscopic colitis: a report of 4 cases. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2150–4.
17. Chagnon JP, Cerf M. Simvastatin-induced protein-losing enteropathy. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 257.
18. Olesen M, Eriksson S, Bohr J, Järnerot G, Tysk C. Lymphocytic colitis: a retrospective clinical study of 199 Swedish patients. *Gut* 2004; 53: 536–41.
19. Rassiat E, Michiels C, Sgro C, Yaziji N, Piard F, Faivre J. Lymphocytic colitis due to Modopar. *Gastroenterol Clin Biol* 2000; 24: 852–3.
20. Beaugerie L, Pardi DS. Review article: drug-induced microscopic colitis—proposal for a scoring system and review of the literature. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 277–84.
21. Dajčman D. Vloga kolonoskopske preiskave pri kronični vnetni črevesni bolezni (KVČB). *Zdrav Vestn* 2008; 77: 623–7.

PREGLEDNI ČLANEK/REVIEW

Biološki potni list v boju proti doping

Biological passport in the fight against doping

Mitja Ferlež, Joško Osredkar

Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

Korespondenca/Correspondence:

Mitja Ferlež, mag. farm., prof. šp. vzg., Ul. Bratov Tuma 10, 1119 Ljubljana, mitjaferlez@gmail.com

Ključne besede:

krvni doping, abnormalni krvni profil, posredni kazalniki krvnega dopinga

Key words:

blood doping, abnormal blood profile, indirect markers of blood doping

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012; 81: 717–25

Prispelo: 11. apr. 2011, Sprejeto: 20. jul. 2011

Izveček

Dokazovanje zlorabe snovi (zdravil) in metod, prepovedanih v vrhunskem športu, kar imenujemo boj proti doping v športu, temelji na zaznavi in prepoznavi telesu tuje snovi v bioloških vzorcih športnika (urin, kri, lasje). Takšen pristop je učinkovit, vendar ima številne pomanjkljivosti. Zato se iščejo novi načini dokazovanja zlorabe prepovedanih snovi in metod. Eden od teh je strategija dolgoročnega spremljanja posrednih bioloških kazalnikov za identificiranje in sankcioniranje krvnega dopinga pri športnikih. Strategija sloni na predpostavki, da bo ob dopingu športnika prišlo do sprememb njegovih bioloških kazalnikov, ki se drugače ohranjajo v homeostazi. Da lahko ugotovimo, ali je sprememba bioloških kazalnikov posledica dopinga ali pa je posledica naravnega nihanja, moramo uporabiti validiran matematični model. Tak model je biološki potni list, s katerim je z visoko verjetnostjo mogoče identificirati nenormalne spremembe krvnih bioloških kazalnikov pri športniku. Od leta 2010 je v primeru ugotovljenih nenormalnih sprememb bioloških kazalnikov mogoče uvesti sankcije proti športniku zaradi kršitve antidopingških pravil. Uvedba biološkega potnega lista je zato mejnik v dokazovanju zlorabe zdravil v športu, saj utemeljuje nenormalna odstopanja bioloških kazalnikov od pričakovanih, čeprav vzrok zanje ostaja neznan.

Abstract

Demonstration of substance abuse (drugs) and methods prohibited in top sports, what we call the fight against doping in sports, is based on the detection and characterization of foreign substances in biological samples of athletes (urine, blood, hair). Such an approach is effective, but has many drawbacks. Therefore, we are looking for new ways of proving abuse of prohibited substances and methods. One of these is the strategy of long-term monitoring of biomarkers for identifying and sanctioning blood doping in athletes. This strategy is based on the assumption that doping will change values of biomarkers of the athlete that are otherwise kept in homeostasis. If we use a validated mathematical model, it is possible to determine whether the change in the values of biomarkers is due to doping or due to natural variations. Such a model is a biological passport, which enables the identification of the abnormal blood changes in biological indicators of the athlete. Since 2010 it has been possible to introduce sanctions against the athlete for breach of anti-doping rules based solely on an abnormal change of biomarkers. The introduction of the biological passport is a milestone in demonstrating drug abuse in sports, because it substantiates the abnormal deviations of biomarkers from the expected, although the cause of it remains unknown.

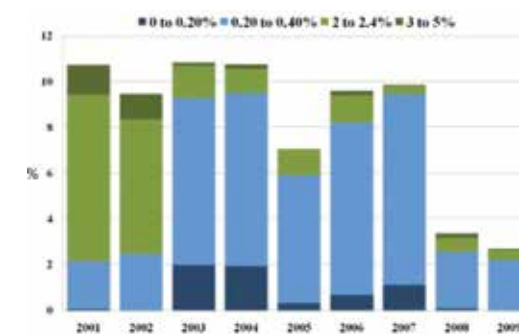
Doping po svoji definiciji zajema uporabo snovi ali metod, ki je potencialno škodljiva za človekovo zdravje, vendar lahko izboljša športne dosežke. Dokazovanje zlorab snovi (zdravil) in postopkov, prepovedanih v vrhunskem športu, kar imenujemo boj proti doping u v športu, poteka neprekinjeno že več kot 40 let.¹ V tem času so se oblikovali pristopi za dokazovanje zlorabe, ki temeljijo na zaznavi in prepoznavi telesu tuje snovi v bioloških vzorcih športnika (urin, kri, lasje).¹ Takšen pristop je učinkovit, vendar ima naslednje pomanjkljivosti: (A) številne telesu tuje snovi se v telesu metabolizirajo, zato je pred dokazovanjem njihove zlorabe potrebno za vsako od njih narediti študijo metabolizma in določiti njihove presnovke,² kar zahteva svoj čas,¹ ob tem da nove snovi (zdravila) nenehno prihajajo na trg in se zato lahko do razvoja testov zlorablajo brez bojazni;³ (B) nekatere snovi se iz telesa hitro izločijo, njihov učinek na telesne sposobnosti športnika pa je prisoten dalj časa;¹ (C) dokazujejo se le odobrena zdravila in metode, ne zlorablajo pa se samo te;^{1,3} (Č) razvoj novih zdravil, še posebej bioloških, usmerjenih v čim natančnejše posnemanje telesu lastnih hormonov, grozi, da bo izničil napore boja proti doping u, ki so utemeljene le na razlikovanju telesu tuje snovi od telesu lastne.⁴

Rešitev? Posredno dokazovanje dopinga

Zaradi navedenih razlogov se iščejo novi načini dokazovanja zlorabe prepovedanih snovi in metod. Eden od teh je dolgoročno spremljanje sprememb posrednih bioloških

kazalnikov, odzivnih na krvni doping (npr. sprememba koncentracije hemoglobina ([Hb])). Strategija dolgoročnega spremljanja bioloških kazalnikov (v bližnji prihodnosti pa še bioloških kazalnikov endogenih steroidnih hormonov)⁶ temelji na predpostavki, da bo ob doping u športnika prišlo do sprememb njegovih bioloških kazalnikov, ki se sicer ohranjajo v homeostazi.⁷ Npr. transfuzija ene vrečke krvi povzroči povečanje [Hb] za 10 g/L. Za vzpostavitev vzročne povezave med vzrokom (prejemom krvne transfuzije) in posrednim kazalnikom (dvig [Hb]), moramo uporabiti validiran model, s katerim lahko ugotovimo, ali je povišanje hemoglobina posledica transfuzije ali je posledica naravne spremembe tega biološkega kazalnika (npr. dnevno nihanje [Hb]).⁵ Tak validiran matematični model predstavlja biološki potni list, ki dosega tako visoko občutljivost (uspešno zazna dejanje dopinga) kot tudi visoko specifičnost (nizka verjetnost lažno pozitivnega rezultata).⁵ Biološki potni list je najnovejši matematični model za ocenjevanje sprememb posrednih krvnih bioloških kazalnikov. Je del pilotnega projekta boja proti doping u mednarodne kolesarske zveze (UCI), ki poteka od leta 2008.⁸ Decembra 2009 je WADA odobrila in vključila sistem biološkega potnega lista v Svetovni kodeks proti doping u, zato se od leta 2010 naprej odstopanja v biološkem potnem listu obravnavajo kot dopinški prekrški.⁹ Gre za mejnik v dokazovanju zlorabe prepovedanih snovi in metod, saj lahko s pomočjo tega modela utemeljemo nenormalna odstopanja bioloških kazalnikov od za posameznega športnika pričakovanih vrednosti, ne glede

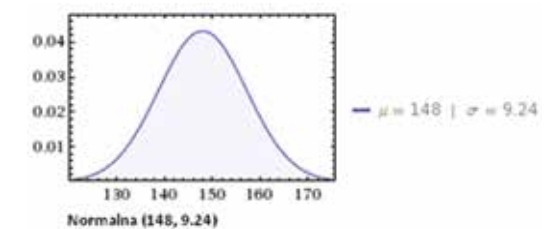
Slika 1: Delež vzorcev kolesarjev, katerih delež retikulocitov dosega skrajne vrednosti: nizke vrednosti (modra barva) so tipične za t. i. »fazo OFF« (predhodna uporaba zdravil z vplivom na eritropoezo ali uporaba krvne transfuzije), medtem ko so visoke vrednosti (zelene), značilne za »fazo ON« (trenutno uporabo zdravil z vplivom na eritropoezo ali hematološka bolezen).⁸



na uporabljena sredstva. To prinaša številne prednosti, a tudi pomanjkljivosti (Tabela 1).

Uspešnost koncepta biološkega potnega lista

Leta 2008 je bilo v pilotni projekt biološkega potnega lista vključenih 804 kolesarjev (vseh 18 ekip ProTour in 15 poklicnih kontinentalnih ekip), leto pozneje 848.⁸ Prvo leto je bilo načrtovano, da se od vsakega športnika pridobi najmanj 10 krvnih in 4 urinske vzorce, čeprav program zaradi finančnih in organizacijskih omejitev ni bil uresničen v celoti.⁸ V naslednjem letu je bil program izpeljan (povprečno 12,6 odvzetih vzorcev/športnika) ob tem, da so bili na novo vključeni tekmovalci izpostavljeni enakemu protokolu zbiranja vzorcev kot preteklo leto, medtem ko so že spremljani tekmovalci opravili manjše število testov (6 krvnih in 3 urinske teste).⁸ Obenem je bilo uvedeno geografsko sledenje športnikov z vnosom podatkov o njihovi lokaciji v internetno platformo ADAMS (angl. Anti-Doping Ad-



Slika 2 in Tabela 2: Normalna porazdelitev s parametroma $\mu = 148$ g/L in $\sigma^2 = 85,37$ (levo), ter tabela percentilov te porazdelitve (desno).

Tabela 1: Prednosti in pomanjkljivosti posrednega dokazovanja dopinga.

	Neposredno dokazovanje	Posredno dokazovanje
	Testiranje prisotnosti eksogene substance	Testiranje motenj v telesu, ki jih povzročata vnos substance
Glavne prednosti	Lažje za interpretacijo (odločitev DA/NE).	Lahko testira katerokoli substanco ali metodo.
	Uporabljena substanca je identificirana.	Ista metodologija se lahko uporabi za detekcijo vseh substanc.
Glavne pomanjkljivosti	Ni mogoče testirati snovi, ki imajo enako molekulsko strukturo kot telesu lastne.	Težje interpretirati (vključuje naravno variacijo)
	Nov test mora biti razvit za vsako novo substanco.	Substanca ali metoda dopinga ostane neznana.

ministration & Management System), ki jo je razvila WADA.⁸ Takšen obseg testiranja je v dveh letih pripeljal do uvedbe postopkov proti devetim kolesarjem (nekateri še tečejo), utemeljenih le na osnovi nenormalnih odstopanj njihovih krvnih vrednosti.⁸ Poleg tega so bili športniki s "sumljivimi" profili izpostavljeni tudi tarčnim testiranjem. Ta testiranja so vodila v 22 pozitivnih primerov pri športnikih.⁸ Dvajset od teh je bilo pozitivnih na zdravila z vplivom na eritropoezo (9 leta 2008 in 11 leta 2009), dva pa na androgene anabolične steroide.⁸ Nenazadnje je bilo ugotovljeno, da se je število vzorcev s skrajnimi vrednostmi deleža retikulocitov (RET %) (< 0,4 % ali > 2,0 %), ki so lahko pripisane uporabi prepovedanih snovi ali metod, glede na pretekla leta znižal (s ~ 10 % v obdobju 2001–2007, na 2–3 % v letih 2008 in 2009) (Slika 1).⁸

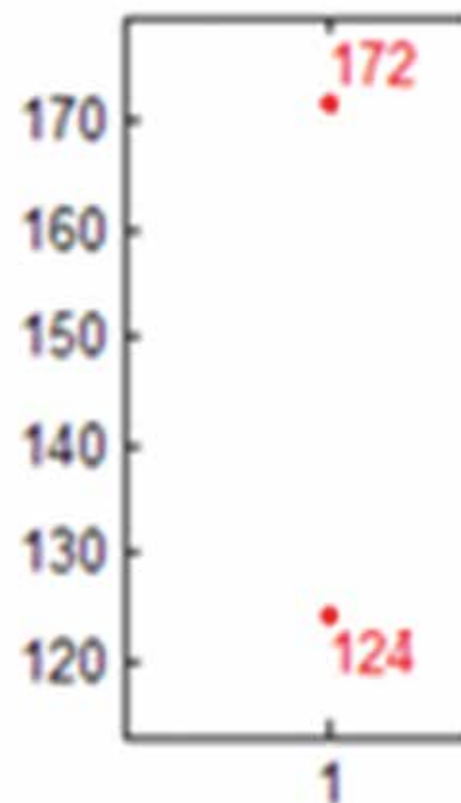
Kako določiti razliko med dvema zaporednima meritvama v bioloških sistemih?

Vprašanje je izrednega pomena v zdravstvu, kjer mora zdravnik interpretirati podatke laboratorijskih meritev in odločiti o tem, kaj je najmanjša sprememba v izbranih laboratorijskih kazalcih, ki prikazuje potrebo po nadaljnjih zdravstvenih ukrepih pri bolnikih.¹⁰ V boju proti doping u pa nas zanima, kaj je najmanjša sprememba v izbranih kazalnikih (npr. dvig [Hb]), ki prikazuje morebitno bolezensko stanje oziroma upo-

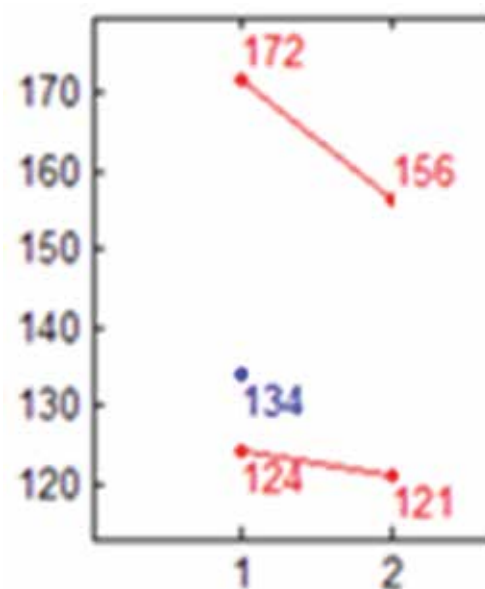
Percentili porazdelitve	
1	126.505
5	132.802
10	136.158
25	141.768
50	148
75	154.232
90	159.842
95	163.198
99	169.495

Normalna (148, 9,24)

Slika 3: Prikaz zgornje in spodnje meje v programu biološkega potnega lista (ABP software, verzija 2.2.1.).



rabo prepovedane snovi oziroma metode, ki lahko obe vodita v izključitev športnika iz tekmovanja (zaradi zdravstvenih oziroma etičnih razlogov).¹¹ Uporaba matematičnega modela, ki omogoča izračunavanje verjetnosti naslednje meritve, na osnovi preteklih meritev posameznika, vključno z upoštevanjem informacij, pridobljenih na



Slika 4: Prikaz zgornje in spodnje meje v programu biološkega potnega lista (ABP software, verzija 2.2.1.).

populacijah bolnikov, se je potrdila, ko je bilo dokazano, da bi dolgoročno spremljanje biološkega kazalnika značilno izboljšalo zgodnje odkrivanje raka na jajčnikih.¹²

Model biološkega potnega lista

Cilj je ugotovitev, ali je športnik uporabljal doping s preverjanjem posrednih krvnih kazalnikov.⁵ Ta problem je mogoče rešiti le z uporabo Bayesovega teorema.⁵ Če je športnik prejel krvno transfuzijo (vzrok), se vrednost hemoglobina poveča (učinek). Če je model, ki povezuje vzrok in učinek na voljo (npr. transfuzija ene vrečke krvi povzroči povečanje koncentracije hemoglobina za 10 g/L), lahko uporabimo Bayesov teorem, da sledimo smeri, ki je v nasprotju vzročnosti, in ugotovimo, ali pa povišanje hemoglobina posledica transfuzije ali pa posledica naravne variacije tega biološkega kazalnika.⁵ Če uporabimo dvoravenski Bayesov model, je mogoče določiti spremenljivke, ki izražajo variacije znotraj posameznika (biološko nihanje vrednosti krvnih kazalnikov v organizmu športnika – predpostavlja se namreč nihanje okoli homeostatske sredine) in variacije zunaj posameznika (različne homeostatske točke biološkega kazalnika pri različnih športnikih).⁵ Ob tem predpostavljamo, da so posamezne meritve neodvisne (to je: pretekle meritve biološkega kazalnika ne spremenijo verjetnosti vrednosti naslednje meritve) in da se vrednosti meritve spremenljivke okoli homeostatske točke porazdeljujejo normalno (ob privzeti predpostavki normalne porazdelitve vsako spremenljivko ustrezno določata aritmetična sredina (μ) in standardni odklon (σ)).⁵ Znotraj območja prvega standardnega odklona okoli sredine se tako pričakuje 68,27 % vseh meritev *nedopingiranega* športnika. Na podlagi večkratnih zaporednih meritev biološkega kazalnika pri večjem številu *nedopingiranih* športnikov so raziskovalci natančno preučili porazdelitve tako homeostatskih sredin bioloških kazalnikov (sredine zaporedij [Hb] se pri različnih športnikih porazdeljujejo normalno z aritmetično sredino 149 g/L in standardnim odklonom 7,6 g/L), kot tudi, kako jim nihajo vrednosti meritev okoli teh homeostatskih sredin, če so izmerje-

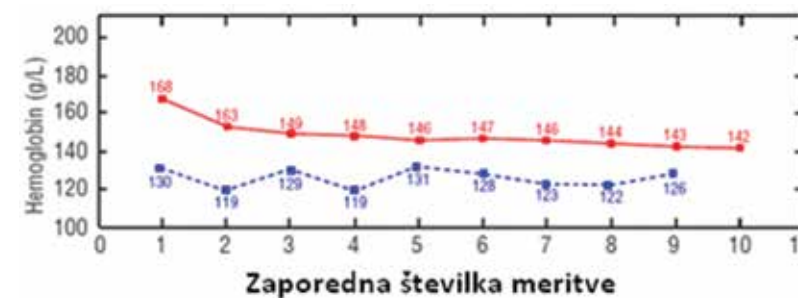
Izračun verjetnosti prve meritve pri športniku

Pri prvi meritvi o kolesarju ne vemo ničesar (ne poznamo njegove homeostatske sredine [Hb]), ne kako nihajo krvne vrednosti okoli njegove individualne homeostatske sredine). Predpostavljamo pa, da pripada skupini *nedopingiranih* kolesarjev (predpostavka o nedolžnosti), za katero pa poznamo porazdelitev homeostatskih sredin [Hb] (normalna, z $\mu = 148$ g/L in $\sigma^2 = 57,15$). Ker pa lahko posamezna meritve športnika odstopa bolj ali manj od njegove individualne homeostatske sredine [Hb], moramo poznati tudi porazdelitev njegovih meritev okoli homeostatske sredine. Vemo, da mora biti njegova individualna sredina znotraj porazdelitve sredin *nedopingiranih* kolesarjev (čeprav so možne vse sredine [Hb] pri športniku, pa niso vse enako verjetne), prav tako pa je vnaprej predpostavljena tudi razpršitev njegovih meritev ($\sigma^2_{\text{znotraj posameznika}} = 28,22$), znotraj katere se mora nahajati njegova meritve. Torej negotovost prve meritve opišemo s seštevanjem varianc:⁵ $57,15 + 28,22 = 85,37$

Porazdelitev, znotraj katere pričakujemo prvo vrednost meritve kolesarja, ob predpostavki, da je *nedopingiran*, ima torej parametre $\mu = 148$ g/L in $\sigma^2 = 85,37$ (standardni odklon $\sigma = 9,24$ g/L).⁵ Porazdelitev pričakovanih vrednosti [Hb] za prvo meritev neznanega kolesarja vidimo na sliki skupaj s percentili porazdelitve (Slika 2, Tabela 2).

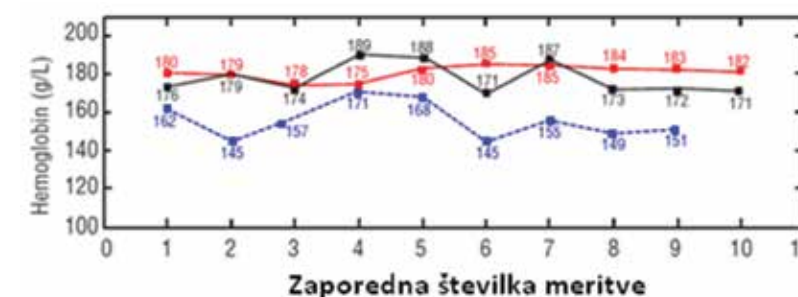
Ugotovimo lahko, da npr. vrednost meritve [Hb] = 170 g/L pade nad 99. percentil pričakovanih vrednosti za *nedopingirane* kolesarje. Takšne vrednosti so torej pri *nedopingiranih* kolesarjih izredno redke (99 % *nedopingiranih* kolesarjev dosega nižje vrednosti prve meritve [Hb]). Z izborom ustrezne specifičnosti, npr. 99 % (ustreza percentilom 0,5 % – spodnja meja) in 99,5 % – zgornja meja), lahko izračunamo dovoljne meje odstopanja (Slika 3). Z-vrednost, ki ustreza 0,5 % in 99,5 % percentilu pri standardizirani normalni porazdelitvi je $\pm 2,58$. Meje za prvi test torej izračunamo tako [5]: $148 \pm 2,58 \cdot \sqrt{85,37} = [124;172]$ g/L.

S prvim odvzetim krvnim vzorcem lahko že bolje (vendar še ne v celoti) ocenimo najbolj verjetno homeostatsko sredino in

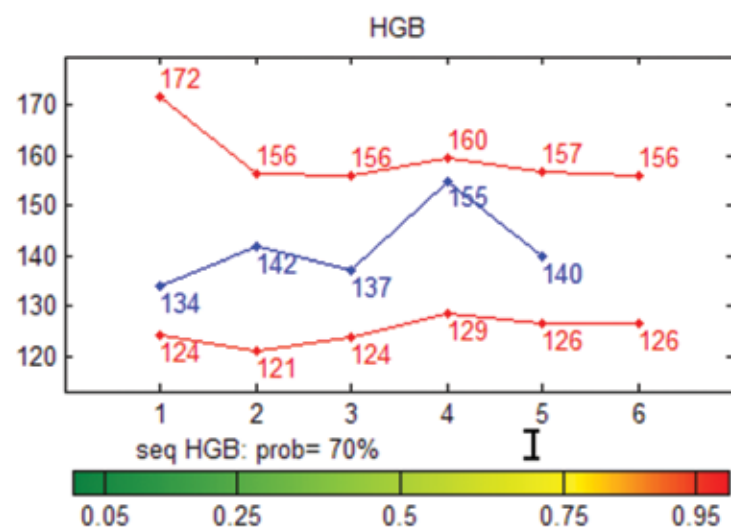


Slika 5: Rdeča zgornja črta predstavlja zgornjo mejo specifičnosti 99,9 % (99,95 percentil porazdelitve) za žensko osebo. Prva vrednost (168 g/L) predstavlja populacijsko mejo. 1 od 1000 *nedopingiranih* oseb ženskega spola, kavkaške rase, vzdržljivo treniranih in starih 28 let naj bi v povprečju presegle mejo 168 g/L.¹⁴ Mejna vrednost se takoj spremeni, ko se upoštevajo posameznikove krvne vrednosti. V primeru zelo velikega števila testov na posamezniku, zadnja mejna vrednost, tukaj 142 g/L, prikazuje individualno mejo, neodvisno od vseh populacijskih dejavnikov.¹⁴

ne večkrat zaporedoma (zaporedne meritve [Hb] se pri različnih športnikih porazdeljujejo po logaritmno normalni porazdelitvi z aritmetično sredino 1,7 g/L in standardnim odklonom 0,1 g/L).¹³ Vendar pa se pri modelu biološkega potnega lista uporablja poenostavljen Bayesov model – odločeno je bilo namreč, da se v modelu uporabi univerzalna varianca znotraj posameznika za vse športnike.¹³ To pomeni, da model predpostavlja enako normalno porazdelitev meritev okoli homeostatske sredine biološkega kazalnika pri vseh športnikih, razlikujejo se le v homeostatskih sredinah, okoli katerih vrednosti meritev nihajo.¹³



Slika 6: Sledenje krvnih vrednosti [Hb] pri moškem vzdržljivostnem športniku.¹⁴ Četrta, peta in sedma meritev so bili narejeni na višini nad 2000 m. Modra prekinjajoča črta predstavlja izmerjene vrednosti, rdeča in črna polna črta pa zgornjo mejo specifičnosti 99,9 % za tega športnika. Rdeča črta predstavlja mejo specifičnosti brez upoštevanja heterogenega dejavnika – bivanja na višini. Črna črta predstavlja specifičnost 99,9 % ob upoštevanju heterogenega dejavnika. Dvig meje specifičnosti (npr. s 175 na 189 pri vzorcu št. 4) zmanjšuje možnost lažno pozitivnega rezultata. Prav tako model, ki upošteva bivanje na višini, daje pri končni vrednosti nižje meje specifičnosti (171 nasproti 182), kar kaže večjo občutljivost na krvni doping.¹⁴



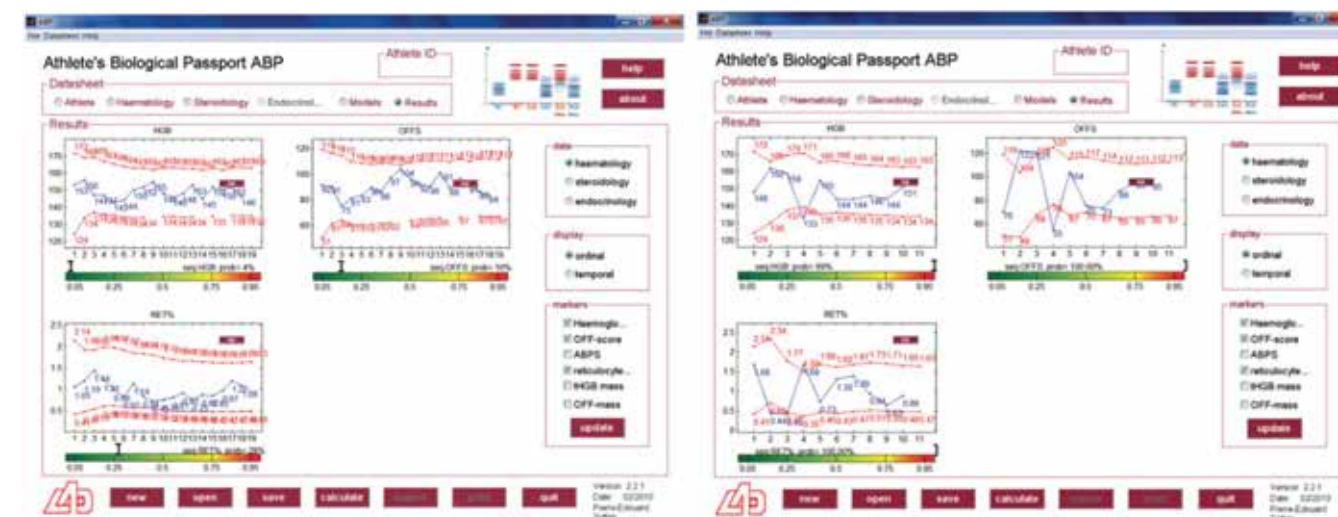
Slika 7: Barvni trak pod grafom kaže kateremu percentilu (na sliki 70 %) napovedne porazdelitve pričakovanega zaporedja odgovarja opazovano zaporedje (4. meritev, odvzeta na višini 1800 m nadmorske višine). Slika je pridobljena s pomočjo računalniškega programa biološki potni list (ABP software).¹⁵

varianco porazdelitve, znotraj katere pričakujemo novo vrednost meritve športnika. Ob tem pričakovana varianca njegovega zaporedja ostaja enaka (28,22). Npr. športnik ima prvo meritev [Hb] = 134 g/L. Ta pade znotraj dovoljenih mej odstopanj, zato ne gre za abnormalno meritev.⁵ Ob predpostavki normalne porazdelitve meritev okoli homeostatske sredine [Hb] športnika, je bolj verjetno, da je odvzeta meritev blizu homeostatske sredine biološkega kazalnika določenega športnika, malo verjetno pa, da je zelo oddaljena od sredine (čeprav je to mogoče). Torej se naša pričakovanja, kam lahko pade naslednja meritev, spremenijo. Sedaj po Bayesu pričakujemo, da bo sredina športnika 138,6 g/L (ne več 148 g/L) ter varianca 47,11 (ne več 85,37). Meje za drugi test pri isti specifičnosti torej izračunamo: $138,6 \pm 2,58 \cdot \sqrt{47,11} = [121;156]$ g/L. Sprememba sredine in variance napovedne porazdelitve naslednje meritve je v prikazu programa biološkega lista dobro vidna. Poudarjena je s povezovanjem točk, ki označujejo meje nove porazdelitve (homeostatske sredine niso prikazane) (Slika 4).

Takoj ko so na posamezniku opravljeni novi testi, se lahko zmeraj bolj natančno določi homeostatska sredina biološkega kazalnika (negotovost se drastično zmanjša). Predhodne verjetnosti se tako postopoma spremenijo od populacijskih k individualnim (Slika 5). Širina mej se kljub nizki raznolikosti izmerjenih vrednosti pri športniku, kljub večanju števila meritev, ne zniža

močno, saj je omejena z vnaprej predpostavljeno varianco meritev znotraj posameznika (vrednosti biološkega kazalnika ne morejo nihati manj, kot je fiziološka, biološka, raznolikost). Z odločitvenim pravilom, ki zrcali ustrezno specifičnost (običajno 99 ali 99,9 %), določimo vrednosti meritev domnevno nedolžnega športnika. Izbrana specifičnost pomeni, da bo z 99 oziroma 99,9 % verjetnostjo športnikov testni rezultat za izbran biološki kazalnik padel v dovoljeno območje v primeru, da je športnik zdrav in nedopingiran. Če je testni rezultat (oziroma zaporedje vrednosti) višji ali nižji od intervala zaupanja 99 oziroma 99,9 %, za kar obstaja izjemno majhna verjetnost, se športnik izloči iz tekmovanja, nato pa se ugotavlja vzrok nenormalnosti (npr. bolezen ali doping).⁸ Nenazadnje vemo, da imajo moški in ženske različne homeostatske sredine bioloških kazalnikov (npr. nižja [Hb] pri ženskah v primerjavi z moškimi), prav tako se lahko sredina spremeni zaradi dolgotrajnega bivanja na višini ali bolezni. Nekatere od teh vplivov v modelu biološkega potnega lista upoštevamo. Tako razlikujemo heterogene in zunanje dejavnike.⁵ Heterogeni dejavniki so tisti dejavniki, za katere je znano, da vplivajo na biološki kazalnik in so značilni za vsakega posameznika (spol, rasa, starost, tip športa in uporaba različnih merilnih instrumentov).⁵ Zunanji dejavniki pa so dejavniki, ki izhajajo iz aktivnosti posameznika in za katere je znano, da lahko vplivajo na merjene krvne kazalce (spremembe nadmorske višine in kajenje).⁵ S poznavanjem teh dejavnikov v modelu biološkega lista se lahko ustrezno razložijo spremembe krvnih kazalnikov (korekcija sredin) in tako omogoči boljše specifičnost brez večje verjetnosti lažno pozitivnih rezultatov. Na spodnjih dveh slikah vidimo prikazano zgornjo mejo pri izbrani specifičnosti (Slika 6 in 7).

V okviru biološkega potnega lista pa se ne ocenjujejo le verjetnosti posameznih meritev, temveč tudi verjetnost zaporedja večjega števila meritev (vsaj tri zaporedne meritve)¹⁵. Abnormalno zaporedje vrednosti je zaporedje, ki vsebuje vsaj eno individualno abnormalno vrednost ali skupno visoko abnormalno varianco zaporedja ali kombinacijo obeh.¹³ Verjetnost zaporedja se ocenjuje



Slika 8 in 9: Primer profila športnika, ki s strani ekspertne komisije velja za normalnega (levo) oziroma »sumljivega« (desno).⁸

z verjetnostno logaritemsko funkcijo, katere napovedna porazdelitev je funkcija gama.¹⁵ Percentil napovedne porazdelitve je podan v obliki barvnega traku pod grafom in označuje doseženo specifičnost (Slika 7). Če percentil napovedne funkcije gama presega izbrano specifičnost (99 oziroma 99,9 %), gre pri danem krvnem profilu za abnormalno zaporedje meritev.

Trenutno se v modelu biološkega potnega lista dolgoročno spremljajo le spremembe [Hb] in vrednosti OFF – hr.¹⁵ Indeks stimulacije (ang. OFF – hr vrednost) predstavlja prvi multiparametrični model, ki kombinira dva biološka kazalnika (enačba 1) na način, ki zagotavlja večjo občutljivost na krvni doping:¹⁶ $OFF-hr = [Hb] (g/L) - 60\sqrt{(RET \%)} (1)$

Model biološkega potnega lista je bil validiran na podatkih večjega števila športnikov z znanim statusom dopinga.¹³ Vendar pa danes boj proti dopingju, ki temelji na posrednih krvnih kazalnikih, temelji na pojmu praga specifičnosti.⁵ Trenutno ne moremo izključiti možnosti, da so vsi pozitivni primeri določenega pravila, ki temelji na pragu specifičnosti, v resnici lažno pozitivni.⁵ Če poznamo specifičnost in občutljivost testa za doping (poznane iz validacije modela) ter razširjenost dopinga v preučevani populaciji (izjemno težko določljiva), lahko po Bayesu izračunamo verjetnost, da je športnik kriv. Verjetnost, da je kolesar, ki ima v svojem profilu abnormalno vrednost biološkega kazalnika pri določeni specifičnosti, res uporabnik dopinga, se spreminja v odvisnosti od pričakovane razširjenosti dopinga pri ko-

lesarjih. Zato je bil leta 2008 v Bayesov model vključen še en heterogen dejavnik – razširjenost dopinga med kolesarji, utemeljen na meritvah ABPS (Abnormal Blood Profile Score) biološkega kazalnika vzorcev večjega števila kolesarjev, ki so bili odvzeti pred pomembno mednarodno kolesarsko dirko leta 2008.⁵ Pri ugotovljeni prevalenci dopinga med kolesarji, ocenjeni v višini 52 %, pomeni preseganje praga specifičnosti napovedno verjetnost, da je v povprečju 999 primerov od 1000 v resnici dopingiranih.⁵ Tako abnormalni krvni profil dosega stopnjo dokaza, ki ga je mogoče samostojno uporabiti za sankcioniranje športnika. Vendar pa naj bi bili rezultati Bayesovega modela, ne glede na raven dokaza, potrebnega za uvedbo disciplinskega ukrepa, uporabljeni skupaj z vsemi ostalimi elementi, ki se nanašajo na fiziološko in/ali patološko stanje športnika.⁵

Postopek uvedbe sankcije proti športniku?

Če so z modelom biološkega lista z 99-odstotno verjetnostjo identificirane abnormalne vrednosti [Hb] ali vrednosti OFF – hr (za posamezno odstopajočo meritev ali celotno zaporedje meritev), rezultate obravnava ekspertna komisija UCI.⁸ Eksperti so specialisti s področja hematologije, športne medicine, športne fiziologije ali krvnega dopinga.⁸ Vsak teden tako eksperti običajno pregledajo 10–15 anonimnih profilov športnikov.⁸ Abnormalni krvni profil namreč ne dokazuje uporabe dopinga, temveč do-

kazuje, da so v profilu vrednosti, ki jih program biološkega potnega lista, ki predstavlja formalni način potrjevanja normalnih fizioloških variacij bioloških kazalnikov pri športnikih, ne more razložiti. Obstaja več alternativnih hipotez razlage abnormalnih krvnih vrednosti pri športniku. Za njihovo presojanje je UCI imenovala ekspertno komisijo treh ekspertov, ki na podlagi športnikovega profila, drugih dostopnih informacij (razlaga športnika, podatki iz ADAMS, tekmovalni koledar) presodi, katera od hipotez je bolj in katera manj verjetna.⁸ Profil športnika ocenijo kot »normalen« oziroma »sumljiv« (Slika 8 in 9).

V primeru »sumljivega« profila lahko na zahtevo ekspertov izvedejo tarčna testiranja športnika, kar lahko vodi v odkritje prepovedane snovi ali metode.⁸ Tudi če dodatna testiranja ne razkrijejo prisotnosti prepovedanih snovi ali metod v vzorcih športnika, lahko kljub temu eksperti – s soglasno odločitvijo, da je krvni profil abnormalen ter v skladu z vzorcem krvnega dopinga – priporočijo UCI uvedbo postopka proti športniku zaradi kršitve antidopinških pravil.⁸ V takšnem primeru se po smernicah WADA vodi naslednji postopek:⁸ (A) Obvesti se športnika, da organizacija proti dopingiu razmišlja o uvedbi sankcij proti njemu zaradi kršitve antidopinških pravil; (B) Športniku se izročijo vsi dokumenti, ki so bili dostopni ekspertu; (C) Športniku se da možnost, da poda svojo razlago abnormalnega profila. Tako športnik lahko dokaže, da so ugotovljeni rezultati testiranja posledica patološkega stanja. Eksperti pregledajo to razlago, nato pa se morajo končno in soglasno odločiti, če po njihovem mnenju ni nobene druge razumne razlage abnormalnega krvnega profila, kot pa uporaba prepovedane snovi ali metode.⁸ V takšnem primeru vsi trije eksperti podpišejo pisno izjavo, da športnikov profil daje »prepričljive dokaze o uporabi prepovedane metode« in uradno zaprosijo organizacijo proti dopingiu, da začne disciplinski postopek proti športniku.⁸ Ko se proti športniku uvede disciplinski postopek, se po pravilih UCI obvesti športnika, njegovo moštvo, nacionalno kolesarsko zvezo, nacionalno organizacijo proti dopingiu in WADA-o.⁸ Nacionalna organizacija proti

dopingiu je zadolžena, da začne disciplinski postopek proti športniku.⁸ Na tej ravni se proti športniku ne uvedejo dodatne sankcije, čeprav se običajno zgodi, da moštvo športniku prepove udeležbo na tekmovanjih.⁸

Prihodnost

Uvedba biološkega potnega lista je nedvomno pomemben korak v boju proti dopingiu v športu.⁸ Vendar pa je na drugi strani v znanstvenih krogih že deležna tudi resnih kritik.^{17,18} Trenutno se v biološkem potnem listu upoštevajo le različni hematološki parametri rdeče krvne slike, vendar UCI skupaj z WADO vzporedno razvija tudi hormonske potne liste,¹⁹ ki bodo morda dodani hematološkemu modulu že v letu 2011.²⁰ Tako se bo zaprla pomembna vrzel na področju zlorabe steroidnih in drugih hormonov in tako še dodatno prispevala k uspehu bioloških potnih listov v boju proti dopingiu. Nena zadnje je uporabnost takšnega matematičnega modela širša. Tako bi ga bilo mogoče uporabiti za prilagajanje odmerka zdravil na osnovi sprememb bioloških kazalcev (npr. glikiranega hemoglobina pri sladkorni bolezni ...) in tako omogočili posamezniku prilagojeno zdravljenje.²¹ Prav tako bi bilo mogoče z njegovo pomočjo močno zmanjšati število udeležencev v kliničnih študijah ali pa bi se lahko klinične študije zaključile hitreje. Tako bi se izboljšalo razmerje med stroški in učinkovitostjo razvoja zdravil.²¹

Literatura

1. Catlin DH, Fitch KD, Ljungqvist A. Medicine and science in the fight against doping in sport. *J Intern Med* 2008; 264: 99–114.
2. Eenoo PV, Delbeke FT. Metabolism and excretion of anabolic steroids in doping control – New steroids and new insights. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2006; 101: 161–78.
3. Thevis M, Thomas A, Kohler M, Beuck S, Schänzer W. Emerging drugs: mechanism of action, mass spectrometry and doping control analysis. *J Mass Spectrom* 2009; 44: 442–60.
4. Parisotto R, Gore CJ, Emslie KR, Ashenden MJ, Brugnara C, Howe C, et al. A novel method utilising markers of altered erythropoiesis for the detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes. *Haematologica* 2000; 85: 564–72.
5. Sottas PE, Robinson N, Saugy M. The athlete's biological passport and indirect markers of blood doping. *Handb Exp Pharmacol* 2010;(195): 305–26.
6. Sottas PE, Saugy M, Saudan C. Endogenous steroid profiling in the athlete biological passport. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39: 59–73.
7. Ashenden M, Gough CE, Garnham A, Gore CJ, Sharpe K. Current markers of the athlete blood passport do not flag microdose EPO doping. *Eur J Appl Physiol* 2011. In press.
8. Zorzoli M, Rossi F. Implementation of the biological passport: the experience of the International Cycling Union. *Drug Test Anal* 2010; 2: 542–7.
9. WADA. Athlete biological passport operating guidelines and compilation of required elements. January 2010. Version 2.1. Dosegljivo na: <http://www.wada-ama.org/en/Science-Medicine/Athlete-Biological-Passport/Operating-Guidelines/>
10. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a "reference change" for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem* 1983; 29: 25–30.
11. Malcovati L, Pascutto C, Cazzola M. Hematologic passport for athletes competing in endurance sports: a feasibility study. *Haematologica* 2003; 88: 570–581.
12. McIntosh MW, Urban N. A parametric empirical Bayes method for cancer screening using longitudinal observations of a biomarker. *Biostatistics* 2003; 4: 27–40.
13. Sottas PE, Robinson N, Saugy M. A forensic approach to the interpretation of blood doping markers. *Law, Probability and Risk* 2008; 7: 191–210.
14. Robinson N, Sottas PE, Mangin P, Saugy M. Bayesian detection of abnormal hematological values to introduce a no-start rule for heterogeneous populations of athletes. *Haematologica* 2007; 92: 1143–4.
15. Athlete's Passport Hematological Module Interpretation Technical Document, Swiss Laboratory for Doping Analyses, 2009.
16. Gore CJ, Parisotto R, Ashenden MJ, Stray-Gundersen J, Sharpe K, Hopkins W, et al. Second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 2003; 88: 333–44.
17. Banfi G. Limits and pitfalls of athlete's biological passport. *Clin Chem Lab Med* 2011. In press.
18. Sanchis-Gomar F, Martinez-Bello VE, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Current limitations of the athlete's biological passport use in sports. *Clin Chem Lab Med* 2011. In press.
19. WADA. WADA Technical document – TD2009E-AAS. Dosegljivo na: http://www.wada-ama.org/Documents/News_Center/WADA_TD2009EA-AS_Endogenous_Anabolic_Androgenic_Steroids_Oct2009.pdf
20. UCI. Biological Passport–Questions / Answers. Dosegljivo na: <http://www.uci.ch/templates/UCI/UCI2/layout.asp?MenuId=MTU4ODY&LangId=1>
21. Sottas PE, Robinson N, Rabin O, Saugy M. The athlete biological passport. *Clin Chem* 2011; 57: 969–76.