

# Bloddopning kan stoppas

## Ny metod skiljer nytt och gammalt blod

Rent spel är grundprincipen i all idrott. Bloddopning är ett effektivt sätt att genom fusk förbättra sin prestation. Risken att åka fast är relativt liten då testmetoder för blodtransfusion saknas. Men vår forskning visar att fusket går att avslöja.

PRESTATIONEN VID uthållighetsidrotter kan till stor del tillskrivas den relativa eller absoluta aeroba arbetskapaciteten, ofta mätt som maximal syreupptagning ( $VO_{2max}$ ). Den viktigaste enskilda faktorn för aerob arbetskapacitet är mängden syre som kan transporteras i cirkulationen varje minut. Hjärtats pumpförmåga och blodets syrebärande kapacitet är till stor del avgörande för hur mycket syre som når de arbetande musklerna. Det visades redan år 1947 att man genom tillförsel av fler röda blodkroppar till cirkulationen, och därigenom en större mängd av den syrebindande molekylen hemoglobin, kunde öka den fysiska prestationen (1). Ett flertal studier har därefter genomförts (2) vilka visat att både  $VO_{2max}$  och prestation kan förbättras med upp till 30 procent beroende på bland annat träningsgrad hos forskningspersonerna, mängd återinfört blod och, vid autolog ( eget) blod transfusion, tiden mellan donation och infusion (3). Lagringsförhållanden påverkar också blodets kvalitet vid infusionen. Kylförvarade ( $+4^{\circ}C$ ) röda blod kroppar (RBC) håller sig 5-6 veckor medan frysta ( $-80^{\circ}C$ ) RBC kan lagras i årtionden. Ett förbud mot bloddopning vid tävlingsidrott kom år 1986 och sedan dess har en rad olika metoder utvecklats för att upptäcka otillåten manipulering av blodvärden. Efter introduktionen av kommersiellt tillgängligt erythropoetin (EPO) år 1987 blev blodtransfusioner plötsligt föråldrat. En översikt av littera-

turen (4) visar att traditionell blodtransfusion eventuellt ger större prestationshöjande effekt än injektioner med EPO. Eftersom EPO i dag kan spåras är blodtransfusioner åter en intressant dopningsmetod.

### Fyra sätt att bloddopa sig

Det finns i princip fyra olika sätt att på ett otillåtet sätt öka mängden hemoglobin i cirkulationen. Framtiden kan komma att även inkludera manipulering av gener som styr produktionen av RBC. Alla metoder har både för och nackdelar och sett både ur en fuskande idrottarens perspektiv och för de som försöker upptäcka fusket:

*Homolog blodtransfusion* innebär att man använder lagrat blod från en annan person med samma blodgrupp. Eftersom man inte själv donerar blod får man heller ingen svacka i prestation tiden efter bloddonation utan kan träna och tävla med bibehållen intensitet. Risken för idrottaren är att cirka 50 procent av de positiva proverna kan, i alla fall teoretiskt sett, upptäckas genom analys av proteiner på RBC ytan så kallat blodgruppsantigen (5).

*Autolog blodtransfusion* görs genom att man vid ett eller flera tillfällen donerar blod (en vanlig blodpåse rymmer 450 mL). Separerade RBC kyl- eller fryslagras för att sedan återinföras till cirkulationen



**Christer Malm**  
docent, Idrottsmedicin,  
Umeå Universitet och  
Winternet, Boden



Längdskidåkarna Mika Myllylä och Johann Mühlegg har gjort det liksom cyklisten Marco Pantani. Men hur många fuskare finns det som har inte har åkt fast för bloddopning?

några dagar innan en viktig tävling (6). Fördelen för idrottaren med att använda eget blod är att det i dag inte finns någon tillförlitlig metod att upptäcka dopning som görs på detta sätt samt att man undviker risker med reaktioner mot främmande blod och blodburna infektioner. En betydande nackdel är att man efter donationen tappar aerob kapacitet och prestation under en tämligen lång tid, 5-15 veckor, dels beroende på blodförlust och dels på grund av att träningen inte kunnat bedrivas med samma intensitet, innan RBC har återproducerats. Indikationer finns på att idrottare därför tappar små mängder vid upprepade tillfällen, lagrar det under lång tid för att sedan "poola" blodet vid infusionen strax före en viktig tävling. Av detta skäl är fryslagrat troligen vanligare än kylagrat blod vid dopning.

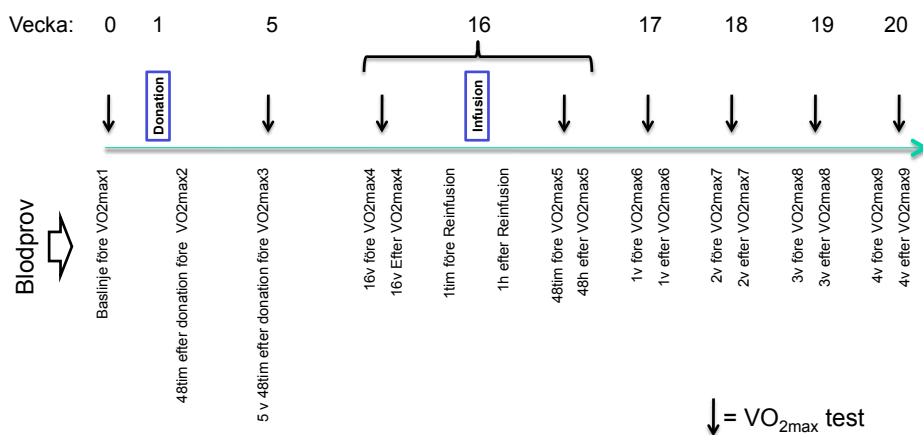
*Erythropoetin* (EPO) är ett hormon som stimulerar kroppen att producera röda blodkroppar. Injektioner av rekombinant EPO leder till en väldokumenterad prestationshöjande effekt vid uthållighetsidrott men har även effekter på musklerna. EPO blev tillgängligt på marknaden år 1987, men kunde inte spåras i urin förrän 1995 (7). I dag finns även andra substanser som kan stimulera produktionen av RBC genom att efterlikna EPO, påverka hemoglobinet kapacitet att binda syre och öka produktionen av EPO (8). Fördelen med att använda EPO eller

andra substanser i stället för blodtransfusioner är uppenbara; en enkel injektion i stället för tappning, lagring och infusion av RBC. Nackdelen för idrottaren är att EPO, och andra främmande substanser, kan spåras både i blod och i urin.

*Artificiellt blod* är produkter som kan användas i stället för blod och möjligheten finns att dessa används för dopning (9). Fördelen med att använda artificiellt blod är att det kan hanteras och lagras enklare än naturligt blod. Nackdelen för den som ämnar använda produkten för dopning är att det kan spåras, även om man lyckas producera en fullgod ersättning för blod.

### Svårt att upptäcka fuskare

Metoder som kan upptäcka autolog blodtransfusion är under ständig utveckling. Genom att kontinuerligt följa en persons hematologiska värden (blodvärden) har man skapat olika profiler för att indirekt spåra otillåten manipulation (10). Variationer i blodvärden på individuell nivå kan i teorin avslöja alla former av bloddopning. Problemen är däremot logistiska då alla idrottare som ska kontrolleras kontinuerligt måste lämna prover med så korta intervaller som 15 dagar, ett tillvägagångssätt som blir både dyrt och svårt att praktiskt genomföra. De individuella variationerna är relativt stora vilket gör att gränsvärden måste sättas med stor marginal och tillförlitligheten har också ifrågasatts (11). Vid kontrollerade blodtransfusioner fann man att bara ett fåtal dopade (män) överskred den fastställda gränsen på 170 g/L (12). I samma studie konstateras också att det OFF-hr värde som beräknas från koncentrationen av hemoglobin (Hb) och mängden RBC inte kunde upptäcka någon av de tio dopade personerna. Våra egna preliminära data visar samma resultat. En orsak är troligen att beräkningsmodeller förenade med stora variationer medför att gränsvärden måste sättas med stora marginaler, ett förfarande som för till exempel OFF-hr ger mellan 1:100 och 1:1000 falska positiva värden. Enligt antidopningsbyrån WADA borde denna siffra vara närmare 1:10000 för att vara acceptabel ur etiska och juridiska aspekter. Eftersom en infusion av extra blod ger en ökad mängd Hb i cirkulationen, även



**Figur 1.** Tidsaxel för den genomförda blodtransfusionsstudien med indikationer för blod och urinprover (Blod) samt maximala arbetsprov ( $VO_{2max}$ ).

om koncentrationen Hb normaliseras tämligen snabbt genom tillförsel av mer plasma, kan den totala mängden Hb i cirkulationen användas som en indikator på blodgivning (4). Problemet är dock detsamma som för hematologiska variabler, det vill säga att idrottare måste testas kontinuerligt för att avvikande variationer ska kunna indikera dopning.

Man kan alltså konstatera att gammal är fortfarande äldst; autolog blodtransfusion, med de svårigheter metoden har, är i dag det säkraste sättet att blodgiva sig utan att bli upptäckt. Mörkertalet för hur många som i verkligheten använder sig av metoden är troligen mycket stort (9).

### Stora krav på framtidens tester

För tillfället pågår forskning på flera olika spår. Genom att notera en immunologisk reaktion mot det införda blodet (13) och spåra ämnen (till exempel di-(2-ethylhexyl)phthalate) som frisätts från blodpåsar till blodet under lagring (14) skulle man kunna avslöja gammalt (lagrat) blod. Förekomsten av mRNA i RBC kan användas som markör för gammalt blod (15). Ett annat spår som forskningen följer är screening av RBC, serum och urin för biomarkörer med hjälp av proteomik, vilket är det spår som vår forskning fokuserar på. Vid utvecklingen av ett praktiskt användbart test för att detektera blodgivning finns flera faktorer att ta hänsyn till. Testet måste vara specifikt, det vill säga får inte visa på andra förändringar än just blodtransfusion. Testresultat får inte påverkas av andra faktorer så som träning, vistelse på hög höjd, sjukdom, kön, ålder, etnicitet, kost etcetera. Detta betyder att tester för en immunologisk reaktion (13) måste kunna visas vara

specifik för just blodtransfusion och att en liknande reaktion inte sker vid någon typ av infektion. Plast finns i princip överallt och ett juridiskt hållbart test mot frisatta plastprodukter (14), måste kunna särskilja frisättning från en blodpåse från plast som kan ha kommit in i blodet via kost, kläder eller luft.

### Fusket kan avslöjas

Eftersom förvarat blod skiljer sig från färskt blod, och det sedan länge är känt att RBC till viss del bryts ner under förvaring är vår hypotes att man med hjälp av ett "fingeravtryck" baserat på proteinmönster kan skilja nytt från gammalt blod och därigenom spåra det lagrade blodet även efter infusion och blandning med blod i cirkulationen. Efter en lång rad tester på både frys- och kylagrade RBC genomförde vi nyligen en transfusionsstudie där tio personer återfick två enheter RBC (2 x 300 mL) som varit frysförvarade i  $-80^{\circ}\text{C}$  i 15 veckor. Blodprover och tester av fysisk prestation gjordes vid upprepade tillfällen (Figur 1). En kontrollgrupp genomgick samma testprogram men utan blodtransfusion. Förutom att prestationen förbättrades med 15-20 procent visar våra preliminära data att vi med hjälp av en proteomisk screeningmetod (2D DIGE) kan skilja prover tagna före och efter en transfusion. Identifiera av flera användbara markörer fortgår, bland annat med en ny och förfinad screeningmetod (LC-MS/MS). Pågående arbete syftar till att utveckla en enklare metod, användbar för mer rutinmässiga analyser.

### Referenser

1. Pace, N., E.L. Lozner, and C. W.V. *Am J Physiol.* 1947.148:152-63.
2. Jones, M. and D.S. Tunstall Pedoe. *Br J Sports Med.* 1989. 23(2):84-8.
3. Ekblom, B., A.N. Goldberg, and B. Gullbring.1972. 33(2):175-80.
4. Schmidt, W. and N. Prommer. *Eur J Appl Physiol.* 2005. 95(5-6):486-95.
5. Nelson, M., et al. *Haematologica.* 2002. 87(8):881-2.
6. Ekblom, B.T. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2000. 14(1):89-98.
7. Wide, L., et al. *Med Sci Sports Exerc.*1995.27(11):1569-76.
8. Morkeberg, J., et al. *Med Sci Sports Exerc.* 2007.39(10):1742-7.
9. Eichner, E.R. *Sports Med.* 2007.37(4-5):389-91.
10. Morkeberg, J., et al. *Scand J Med Sci Sports.* 2009.
11. Pialoux, V., R. Mounier, and J.V. Brugniaux. *Int J Hematol.*2009.89(5): 714-5.
12. Damsgaard, R., et al. *Haematologica,* 2006.91(7):1006-8.
13. Pottgiesser, T., et al. *Vox Sang.* 2009.96(4):333-6.
14. Monfort, N., et al. *Transfusion.* 2009.50(1):145-9.
15. Bailly-Chouriberry, L., et al. *Drug Test Anal.* 2010.2(7):339-45.

### Kontakt

Christer.malm@idrott.umu.se

**Forskningen stöds** av WADA, VINNOVA och Umeå Biotech Incubator. Medverkande forskargrupper är Hans Gulliksson, Karolinska universitetssjukhuset, och Staffan Wikström, Sunderby sjukhus. Delar av arbetet ingår i Andreas Hults avhandlingsarbete.