

NE!DOPINGU

SLUŽBENO GLASILO HRVATSKOG ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO • GODINA 2024 • BROJ 95 • SVIBANJ/LIPANJ 2024.



HRVATSKO **NE!** DOPINGU



Homologna trnsfuzija krvi (HBT) primjenjuje se od šezdesetih godina 20. stoljeća za doping u sportovima izdržljivosti.

Unatoč tome što ju je MOO zabranio 1985., nikakva metoda detekcije nije bila dostupna sve do 2003. Tada se pojavljuje protočna citometrija.

Vesna Barišić

Glavna urednica



Desetljećima je Španjolska kritizirana zbog svojih polovičnih napora u borbi protiv dopinga. Olimpijske igre u Parizu otkrile su razmjere neuspjeha.

Ako je bilo zemalja koje su imale koristi od ceremonije otvaranja Olimpijskih igara u Parizu u francuskom stilu, Španjolska je svakako bila jedna od njih. Dok su se timovi čamcem vozili rijekom Seinom, bili su neobično daleko od dosega televizijskih kamera. Malotko je u gužvi mogao vidjeti tko je sve u čamcu.

Ulaskom na stadion Španjolska bi riskirala da joj novinari postave pitanje: *Hoće li španjolski šef misije na proteklih devet Olimpijskih igara - Cayetano Cornet, bivši nacionalni reprezentativac trkač – hodati bez srama među španjolskom delegacijom u olimpijsku arenu?*

Odluka Španjolske da otputuje s Cornetom u Pariz, u ulozi višeg vodstva, prikladno opisuje odnos zemlje s antidopingom u posljednjim desetljećima.

Ozlogašeni dr. Eufemian Fuentes otkrio je da je dopinški surađivao s Cornetom.

WADA, globalni nadzornik za borbu protiv dopinga, već nekoliko godina zna da je doping u Španjolskoj sve problematičniji. Čak je uložila žalbu na niz španjolskih slučajeva ABP-a CAS-u, koji su trenutačno još u tijeku.

Pišemo i o doniranju plazme sportašima.

Donacija plazme podrazumijeva uklanjanje krvnih produkata i njihovo ponovno vraćanje u krvožilni sustav. Plazma je tekuća sastavnica naše krvi i čini 55 % našeg volumena krvi.

Donacija plazme traje otprilike 45 do 90 minuta. Zapremina izvučene plazme je približno 800 ml. Uobičajene nuspojave uključuju modrice na mjestu donacije, osjećaj nesvjestice ili vrtoglavice.

Zahtjev za terapijsko izuzeće (TUE) nije potreban ako sportaši žele donirati plazmu (ili punu krv), no trebali bi osigurati da se čuva detaljan medicinski karton iz banke krvi, koji potvrđuje datum, vrstu i količinu donacije.

Dok je darivanje plazme sada dopušteno, infuzija plazme (tj. primanje plazme) ostaje zabranjena metoda. Ovaj proces obično je potreban za ozbiljna medicinska stanja, tako da su rijetki elitni sportaši koji se i dalje natječu s tako ozbiljnim bolestima.

Približili smo vam i homolognu trnsfuziju krvi (HBT) koja se primjenjuje od šezdesetih godina 20. stoljeća za doping u sportovima izdržljivosti.

Unatoč tome što ju je MOO zabranio 1985., nikakva metoda detekcije nije bila dostupna sve do 2003.

Dvadeset godina nakon uvođenja prve izravne metode detekcije HBT-a protočnom citometrijom, ova je tehnika još uvijek najpouzdanija za procjenu potencijalnog dopinga, posebno s najnovijim poboljšanjima.

Ideja koja je dovela do prve metode otkrivanja HBT-a bila je upotreba nekih obilježja crvenih krvnih zrnaca, koja su gotovo jedinstvena za jednu osobu, kako bi se mogla prepoznati prisutnost podskupine crvenih krvnih zrnaca koja dolazi od druge osobe.

**U STAROM STILU –
DR. FUENTES**
stranica 4

**DONIRANJE
PLAZME
SPORTAŠIMA**
stranica 6

**PROTOČNA
CITOMETRIJA**
stranica 9



IMPRESSUM

NE!DOPINGU
Službeno glasilo Hrvatskog zavoda
za javno zdravstvo

BROJ 95
svibanj/lipanj 2024.

ODGOVORNA OSOBA:
Vesna Barišić
Voditeljica Odsjeka za informiranje

GLAVNA UREDNICA:
Vesna Barišić

NOVINAR:
Vesna Barišić

LEKTURA:
Vesna Pudrlja

OBLIKOVANJE I PRIJELOM:
Studio HS internet d.o.o.

FOTOGRAFIJE:
Shutterstock, Freepik

NAKLADNIK:
HZJZ

For decades, Spain has been criticized for its mediocre anti-doping efforts. The Olympic Games in Paris only revealed the extent of their failure.

If there were any countries that benefited from the French-style opening ceremony of the Olympic Games in Paris, Spain was certainly one of them. While the teams were riding along the Seine by boat, they were unusually far from the reach of television cameras. Few could see in the crowd who the boats were carrying.

By entering the stadium, Spain would risk being asked by journalists: *Could the Spanish head of mission in the past nine Olympic Games - Cayetano Cornet, a former national runner - walk tall among the Spanish delegation into the Olympic arena?*

Spain's decision to take Cornet to Paris, as senior head, vividly reflects the country's relationship with anti-doping in recent decades.

The infamous Dr. Eufemian Fuentes has revealed that he had been cooperating on doping with Cornet.

WADA, the global anti-doping surveillance authority, has known for several years that doping has grown increasingly vehement in Spain. It has even lodged appeals in a number of Spanish ABP (athlete biological passport) cases at the Court of Arbitration for Sport (CAS), which are still pending.

This issue also covers athletes' plasma donations.

Plasma donation involves the removal of blood products and their return to the circulatory system. Plasma is a liquid component of the blood accounting for 55% of the blood volume.

Plasma donation takes approximately 45 to 90 minutes. The volume of plasma extracted is approximately 800 ml. Common side effects include bruising at the donation site, lightheadedness or dizziness.

A therapeutic use exemption (TUE) is not required if athletes want to donate plasma (or whole blood), but they should make sure that a detailed medical record from the blood bank is kept, confirming the date, type and amount of donation.

While plasma donation is now allowed, plasma infusion (i.e. plasma reception) remains a prohibited method. This process is usually necessary for serious medical conditions, hence only rare professional athletes continue to compete with corresponding serious diseases.

This issue also brings you closer to homologous blood transfusion (HBT), applied since the 1960s for doping in endurance sports.

Despite being banned by the International Olympic Committee (IOC) in 1985, no detection method was available until 2003.

Twenty years after the introduction of the first direct method of detecting HBT by flow cytometry, this technique is still the most reliable for assessing potential doping, especially after the latest technological achievements.

The idea that led to the initial method of detecting HBT was application of certain red blood cell properties, which are virtually unique to every individual, in order to recognize the presence of a subgroup of red blood cells coming from another person.

Homologous Blood Transfusion (HBT) has been applied since the 1960s for doping in endurance sports.

Despite HBT being banned by the IOC in 1985, no detection method was available until 2003, when flow cytometry was discovered.

Vesna Barišić
Editor-in-Chief



U starom stilu - dr. Fuentes

Fuentes se pohvalio da je još uvijek u tijeku sa suvremenim metodama krvnog dopinga: „Više to ne radim, ali znam druge koji to rade. Oni više ne ulijevaju cijelu vrećicu krvi. Umjesto pune količine od 500 mililitara primijenjeno prvog dana, 150 mililitara ponovno pet dana kasnije i još 150 mililitara nakon deset dana, dakle, to je progresivno povećanje!“

Piše **Vesna Barišić**

Desetljećima je Španjolska kritizirana zbog svojih polovičnih napora u borbi protiv dopinga. Olimpijske igre u Parizu otkrile su razmjere neuspjeha.

Ako je bilo zemalja koje su imale koristi od ceremonije otvaranja Olimpijskih igara u Parizu u francuskom stilu, Španjolska je svakako bila jedna od njih. Dok su se timovi čamcem vozili rijekom Seinom, bili su neobično daleko od dosegata televizijskih kamera. Malotko je u gužvi mogao vidjeti tko je sve u čamcu.

Da se događaj održao u uobičajenom okruženju, ulaskom na stadion Španjolska bi riskirala da joj novinari postave pitanje: *Hoće li španjolski šef misije na proteklih devet Olimpijskih igara - Cayetano Cornet, bivši nacionalni reprezentativac trkač koji obara rekorde – hodati bez srama među španjolskom delegacijom u olimpijsku arenu?* Njegova uloga u Parizu bila je osjetljivo pitanje otkako je Odjel za doping ARD nedavno prikazao tajne snimke razgovora između novinara i najozloglašnijeg španjolskog liječnika za doping – dr. Eufemiana Fuentes, čovjeka koji je pomogao bivšoj njemačkoj zvijezdi Tour de Francea Janu Ullrichu da se podvrgne zabranjenoj transfuziji krvi, rekao je u kameru da je on Cornetu pružio sve što je moglo pomoći u jamčenju sportske slave – „hGH, testosteron, anaboličke steroide“. Cornet je ipak odlučio otputovati u Pariz, očito neimpressioniran otkrićima, ali teško da je itko mogao biti siguran u to da je to bio on na palubi na ceremoniji



ŠPANJOLSKA SABOTAŽA BORBE PROTIV DOPINGA?

otvaranja. Odluka Španjolske da otputuje s Cornetom u Pariz, u ulozu višeg vodstva, prikladno opisuje odnos zemlje s antidopingom u posljednjim desetljećima.

Primjer za to je uloga dr. Fuentesesa u španjolskom sportu, koji je u dokumentarcu „Tajna dopinga: Prljave igre“ tvrdio da je medicinski pripremao španjolske sportaše, u ime države, za Olimpijske igre u Barceloni 1992. godine. Ipak, svi postupci protiv njega uvijek su završavali bez osuđujuće presude. Identitet njegovih najpoznatijih klijenata i dalje ostaje tajna.

Fuentes: Različiti krvni doping

Na tajnim snimkama Fuentes se pohvalio da je još uvijek u tijeku sa suvremenim metodama krvnog dopinga: „Više to ne radim, ali znam druge koji to rade. Oni više ne ulijevaju cijelu vrećicu krvi. Umjesto pune količine od 500 mililitara primijenjeno prvog dana, 150 mililitara ponovno pet dana kasnije i još 150 mililitara nakon deset dana, dakle, to je progresivno povećanje!“ Upitao je za intervjuu ARD Corneta, optuženog španjolskog šefa misije Paris, ali je on rekao da je previše zauzet tijekom Olimpijskih igara. Odjel za doping ARD sada ima dodatne dokaze o ozbiljnim antidopinškim nepravilnostima u Španjolskoj. Kaže se da su španjolski sportaši bili unaprijed upozoreni na navodne „nenajavljene“ dopinške kontrole, a u anonimnoj anketi među španjolskim sportašima gotovo 10 % ispitanika priznalo je doping. Španjolska antidopinška agencija (CELAD) također nije sankcionirala sportaše za koje se sumnjalo da su se dopingirali, što je pokazivala biološka putovnica sportaša.

CELAD-ova kršenja

Kritike španjolskih medija usmjerene prema direktoru CELAD-a, Joseu Luisu Terrerosu u siječnju 2024., prisilile su visokog dužnosnika na ostavku. Nekoliko primjera odgođenih ili blago obrađenih slučajeva dopinga doveli su do otpuštanja Terrerosa. WADA, globalni nadzornik za borbu protiv dopinga, već nekoliko godina zna da je doping u Španjolskoj sve problematičniji. U studenom 2019. WADA je izvršila reviziju CELAD-a i prepoznala nekoliko točaka koje izazivaju zabrinutost. Najozbiljniji od njih, kako je zaključeno u konačnom izvještaju, glasi: „Tim za reviziju nalazi da su sljedeće biološke putovnice sportaša dale

netipične rezultate, ali još nisu bile podvrgnute nikakvom postupku u skladu s člankom 7.5 Kodeksa: BPG2101N37, VRR301U8, VR33AJP4.“

Zašto slučajevi nisu procesuirani, nije jasno. „WADA je uložila žalbu na niz španjolskih slučajeva ABP-a CAS-u, koji su trenutačno još u tijeku. WADA je također prenijela upravljanje ishodom niza drugih španjolskih slučajeva ABP-a na relevantne međunarodne federacije. Ti su slučajevi također još uvijek u tijeku. Osim toga, WADA-in odjel za neovisne istrage otvorio je istragu o navodnom nedoličnom ponašanju u španjolskom sportu prije nekoliko mjeseci.“

Zaštita prevaranata

Odvjetnik Alberto Yelmo godinama je osuđivao strukturalne nedostatke u španjolskoj kampanji protiv dopinga. Prethodno je bio član vanjskog pravnog savjetnika CELAD-a. „Predsjednik Visokog vijeća za sport također je predsjednik španjolske antidopinške agencije“, kaže Yelmo, „što stvara jasan sukob interesa. Jer teško je osvajati medalje i poboljšavati učinak dok se u isto vrijeme borite protiv dopinga.“ Osim toga, Yelmovo istraživanje otkrilo je da CELAD vjerojatno nije procesuirao gotovo šest slučajeva mogućeg krvnog dopinga. Jedan uključeni sportaš koji obara rekorde čak je imao koristi od državnog financiranja nakon što su mu otkrivene abnormalne vrijednosti krvi, kaže Yelmo. „Mislim da je CELAD postao sumnjiva organizacija. Nema transparentnosti“, žali se Yelmo, „bilo je više interesa za borbu protiv antidopinga nego za samu borbu protiv dopinga.“

Sportaši upozoreni na testiranje.

ARD Odjel za doping dobio je informacije iz nekoliko neovisnih izvora bliskih španjolskim sportskim krugovima, što sugerira da je CELAD možda upozorio sportaše o nadolazećim dopinškim kontrolama – čini se da WADA nije izvršila dovoljan pritisak na CELAD u vezi s nekažnjenim slučajevima krvnih putovnica iz 2019. Kao drugo, WADA je odlučila da ne progona dokazane slučajeve dopinga u operaciji *Puerto*, skandalu s krvnim dopingom iz 2006. koji uključuje dr. Fuentesesa. Glavni direktor WADA-e, Olivier Niggli, oklijevao je objaviti imena Fuentesovih dopinških klijenata.

„Veliki rizik od odgovornosti“

„Kako bi WADA potencijalno mogla opravdati objavljivanje imena“, govori Niggli na sastanku u svibnju 2017. „a da ne naruši ugled sportaša nakon što je nastupila zastara?“ Prema zapisniku odbora, WADA je imala pristup 116 vrećica krvi i 27 odgovarajućih uzoraka DNK-a koji su pripadali Fuentesovim klijentima. Niggli je, međutim, očito bio više zabrinut zbog zaštite prevaranata i financijske odgovornosti. Upozorio je na „uključene troškove“ i „veliki rizik od odgovornosti“ ako WADA objavi imena dopingiranih nakon isteka roka zastare.

DONIRANJE PLAZME SPORTAŠIMA

Donacija plazme podrazumijeva uklanjanje krvnih produkata i njihovo ponovno vraćanje u krvožilni sustav. Plazma je tekuća sastavnica naše krvi i čini 55 % našeg volumena krvi.

Piše **Vesna Barišić**

Jeste li znali da Popis zabranjenih tvari iz 2024. dopušta donaciju plazme putem plazmafereze, pod uvjetom da se ona provodi u službenom registriranom centru za prikupljanje? Svjetska antidopinška agencija (WADA) napravila je ovu ključnu promjenu kako bi sportašima omogućila doniranje plazme iz humanitarnih ili drugih osobnih razloga. Promjena je stupila na snagu 1. siječnja 2024. Medicinska savjetnica Sport Integrity Australije, dr. Laura Lallenec, objašnjava što je plazma, funkciju koju ona ima u tijelu i učinke koje sportaši mogu doživjeti ako je odluče donirati. Donacija plazme podrazumijeva uklanjanje krvnih produkata i njihovo ponovno vraćanje u krvožilni sustav. „Plazma je tekuća komponenta naše krvi i čini 55 % našeg volumena krvi“, kaže dr. Lallenec. „Plazma prenosi stanice, proteine, hormone itd. po tijelu i uklanja otpad. Pomaže u transportu proteina koji osiguravaju naš imunitet i elektrolita koji reguliraju kemijski sastav krvi. Plazma se uglavnom sastoji od vode (oko 92 %) i pomaže u održavanju naše cirkulacije.“

Ona kaže da se plazma upotrebljava za liječenje raznih medicinskih stanja kao što su autoimune bolesti, opekline, transplantacija organa, zatajenje jetre, traume, infekcije i poremećaji krvarenja. Također se upotrebljava za pripremu imunizacije kao što je cjepivo protiv tetanusa.

DONIRANJE PLAZME „Doniranje plazme uključuje stroj za plazmaferezu koji izvlači krv iz vaše ruke putem igle“, kaže dr. Lallenec. „Stroj zatim razdvaja krv na crvene krvne stanice i komponentu plazme. Crvena krvna zrnca vam se vraćaju tijekom darivanja. Dodana je mala količina antikoagulansa kako bi se spriječilo zgrušavanje krvi u aparatu. Ovaj proces se ponavlja nekoliko puta dok se ne dobije željena količina plazme, na temelju vaše težine i visine.“ Donacija plazme traje otprilike 45 do 90 minuta. Zapremina izvučene plazme je približno 800 ml. Uobičajene nuspojave uključuju modrice na mjestu donacije, osjećaj nesvjestice ili vrtoglavice. Dan prije donacije trebali biste se dobro hidratirati, s otprilike 2000 – 2500 ml vode ili druge tekućine. Trebali biste se dobro naspavati i izbjegavati hranu bogatu mastima. Dr. Lallenec savjetuje da ćete „u tri sata prije donacije morati popiti 750 ml tekućine i izbjegavati napornu tjelovježbu“. „Savjetuje se da se darivatelj nakon donacije odmara minimalno tri sata i da se dignu s nogu kako bi se omogućio oporavak.“ „Svi, a posebno sportaši koji se natječu, trebali bi izbjegavati naporne vježbe i pregrijavanje 24 sata nakon vaše donacije. Donacija plazme može imati privremeni utjecaj na vašu izvedbu vježbanja kao elitnog sportaša koji provodi vježbe visokog intenziteta.“



PROMJENA PRAVILA

JE LI POTREBNO IZUZEĆE ZA TERAPEUTSKU UPORABU?

Zahtjev za izuzeće za terapijsku uporabu (TUE) nije potreban ako sportaši žele donirati plazmu (ili punu krv), no trebali biste osigurati da se čuva detaljan medicinski karton iz banke krvi, koji potvrđuje datum, vrstu i količinu donacije. Ovo je osobito važno ako je sportaš u Registriranoj skupini za testiranje i ako testiranje uključuje biološku putovnicu sportaša (ABP) jer dokaz o gubitku plazme (bilo da je namjeran kao dio režima dopinga ili zbog nesreće, bolesti ili davanja krvi) može dovesti do promjena krvnog tlaka i od vas se može tražiti da te promjene objasnite antidopinškim tijelima. Evidencija o donaciji pomogla bi u ovim okolnostima.

INFUZIJA PLAZME I DALJE JE ZABRANJENA

Dok je darivanje plazme sada dopušteno, infuzija plazme (tj. primanje plazme) ostaje zabranjena metoda. Ovaj proces obično je potreban za ozbiljna medicinska stanja, tako da su rijetki elitni sportaši koji se i dalje natječu s tako ozbiljnim bolestima. Ako iz bilo kojeg razloga primete infuziju, trebali biste pročitati Upozorenje za sportaše: IV infuzije, jer to u određenim okolnostima može biti zabranjeno.

SAVJET: Što sportaši trebaju znati o egzosomima

Lijekovi ili tretmani dobiveni iz samog tijela ili iz drugih živih organizama nazivaju se biološkim lijekovima. Primjena bioloških lijekova u regenerativnoj medicini postaje sve popularnija. Dok je Svjetska antidopinška agencija (WADA) zabranila korištenje stanica, normalnih ili genetski modificiranih, za poboljšanje izvedba, mnogi sportaši imaju pitanja o statusu raznih bioloških tretmana koji ne sadrže stanice. Naprimjer, često je upitna upotreba izvanstaničnih vezikula, kao što su egzosomi matičnih stanica. Kao takvi, u nastavku su odgovori na neka često postavljena pitanja o terapijama koje uključuju izvanstanične vezikule.

Što su biološki lijekovi? Postoje mnoge klinike koje nude sve vrste terapija na bazi stanica ili krvi za liječenje medicinskih stanja uključujući ozljede mišića, tetiva i ligamenata. Najčešća vrsta terapije koja se reklamira jest uzimanje krvi od pacijenta, iz koje potom izoliraju sastavnicu krvi za ponovno ubrizgavanje u tjelesni sustav, često na mjestu ozljede. Primjeri uključuju plazmu bogatu trombocitima (PRP), koja koncentrira plazmu i trombocite, terapije matičnim stanicama koje izoliraju matične stanice iz krvi ili terapiju egzosomima, koja izolira egzosome matičnih stanica (vrsta izvanstaničnih vezikula) i ubrizgava ih natrag u pacijenta. Osim ovih, postoje i druge vrste postupaka.

Što su izvanstanične vezikule? Izvanstanične vezikule otpuštaju se iz svih stanica u tijelu i smatra se da su važan dio stanične komunikacije i održavanja. Postoje mnoge vrste izvanstaničnih vezikula, ovisno o njihovoj veličini i vrsti stanice iz koje potječu. Primjeri uključuju

egzosome, mikrovezikule i apoptotička tijela. Jedna vrsta izvanstaničnih vezikula koje se primjenjuju u terapiji je egzosom matičnih stanica, ali izvanstanične vezikule dio su stanične biologije i otpuštaju ih sve vrste stanica, a ne samo matične. Nedavno su izvanstanične vezikule, kao što su egzosomi matičnih stanica, istražene i reklamirane kao oblik personalizirane medicine. Jedan od uobičajenih postupaka je da se krv uzme iz pacijentova tijela, zatim se izvanstanične vezikule na neki način izoliraju uklanjanjem svih stanica (tj. uklanjaju se crvene i bijele krvne stanice i sve druge cirkulirajuće stanice), a zatim se ubrizgavaju natrag u pacijenta. Kao i kod svih bioloških lijekova, antidopinški status povezan je sa stvarnim sadržajem proizvoda i s time jesu li u pripremi proizvoda dodane zabranjene tvari.

Je li WADA zabranila izvanstanične vezikule (kao što su egzosomi)? U većini slučajeva egzosomi nisu zabranjeni. Međutim, postoje okolnosti u kojima bi uporaba takvih terapija mogla predstavljati kršenje antidopinških pravila. Naprimjer, zabranjeno je: 1. ako pripravak egzosoma sadrži crvena krvna zrnca (čak i slučajno, kada, naprimjer, preostane nekoliko crvenih krvnih zrnaca nakon što se većina njih filtrira) i tada se daje intravenski; 2. ako se postupkom prikupljaju egzosomi, a zatim dodaju čimbenici rasta, hormoni ili bilo koja zabranjena tvar u pripravak, koji ubrizgava natrag u pacijenta. Ako postupak može poboljšati učinkovitosti, također bi se mogao zabraniti. Sportaši koji se odluče na terapiju egzosomima trebali bi pitati svog liječnika hoće li se u pripravak egzosoma dodati neki čimbenici rasta ili hormoni. Ako je tako, sportaš bi trebao znati za svaku tvar koja će biti dodana kako bi provjerio antidopinški status prije primjene tretmana. Ako je tvar zabranjena, sportaši mogu podnijeti zahtjev za terapijskim izuzećem (TUE).

Postoje li zdravstveni rizici povezani s izvanstaničnim vezikulama? FDA je izdala upozorenje nakon ozbiljnih nuspojava pacijenata koji su primali egzosome (vrsta izvanstaničnih vezikula) na klinici u Nebraski. Sigurnosno upozorenje FDA-e pojašnjava sljedeće: „Egzosomi koji se koriste za liječenje bolesti i stanja kod ljudi regulirani su kao lijekovi i biološki proizvodi prema Zakonu o javnom zdravstvu i Federalnom zakonu o prehrambenim lijekovima i kozmetici te podliježu zahtjevima za reviziju i odobrenje prije stavljanja na tržište. Klinike mogu tvrditi da ti proizvodi ne potpadaju pod regulatorne odredbe za lijekove i biološke proizvode – to je jednostavno neistina. Trenutačno ne postoje egzosomski proizvodi odobreni od strane FDA.“ FDA dalje pojašnjava da bi svatko tko razmatra regenerativnu medicinu; uključujući matične stanice, proizvode egzosoma ili bilo što izvedeno iz masnog tkiva (stromalne vaskularne frakcije), pupkovine, Whartonove mliječi ili amnijske tekućine; trebao biti svjestan da ništa od toga nije odobreno za liječenje tendonitisa, teniskog lakta ili bolova u leđima, kuku ili koljenu. Egzosomi i drugi proizvodi regenerativne medicine reklamiraju se i za mnoga druga stanja, ali nisu odobreni za takvu upotrebu. (V. B.)

Izvor: USADA

PROTOČNA CITOMETRIJA

Dvadeset godina nakon uvođenja prve izravne metode detekcije HBT-a protočnom citometrijom, ova je tehnika još uvijek najpouzdanija za procjenu potencijalnog dopinga, posebno s najnovijim poboljšanjima.

Piše **Vesna Barišić**



Homologna transfuzija krvi (HBT) primjenjuje se od šezdesetih godina 20. stoljeća za doping u sportovima izdržljivosti. Krv dolazi od kompatibilnog darivatelja, odnosno nekoga s kompatibilnim ABO-om i rezus krvnom grupom. Unatoč tome što ju je MOO zabranio 1985., nikakva metoda detekcije nije bila dostupna sve do 2003. Tada je uslijedila ideja da se primijene antigeni manjih krvnih grupa crvenih krvnih zrnaca (RBC) koji čine „osobnu iskaznicu“ nečijeg RBC-a za otkrivanje prisutnosti drugih RBC populacija. Metoda potvrđena za uzorke uzete tijekom provođenja dopinške kontrole koristi se protočnom citometrijom nakon inkubacije izoliranih crvenih krvnih zrnaca s osam do 12 primarnih protutijela protiv specifičnih antigena manje krvne grupe. Prisutnost dvostrukih populacija crvenih krvnih zrnaca otkriva se velikim i manjim vrhom u histogramu fluorescencije.

Osjetljivost je procijenjena dovoljnom za otkrivanje HBT-a. Unatoč složenosti i skupoći metode, odmah nakon njezine primjene 2004. godine, prepoznato je nekoliko slučajeva HBT-a, ali se broj slučajeva s godinama rapidno smanjivao. Tijekom 2010-ih razvijeni su i procijenjeni drugi načini otkrivanja HBT-a: neizravna detekcija upotrebom pristupa biološke putovnice sportaša, a nekoliko godina kasnije – forenzička DNK analiza kako bi se utvrdila prisutnost dvaju različitih DNK-ova u uzorku krvi nakon HBT-a. Unatoč visokoj specifičnosti potonjeg, osjetljivost je nedavno dovedena u pitanje *in vivo*. Danas je metoda protočne citometrije metoda izbora za detekciju HBT-a, a nedavna istraživanja pomogla su pojednostaviti metodu i povećati njezinu specifičnost i osjetljivost.

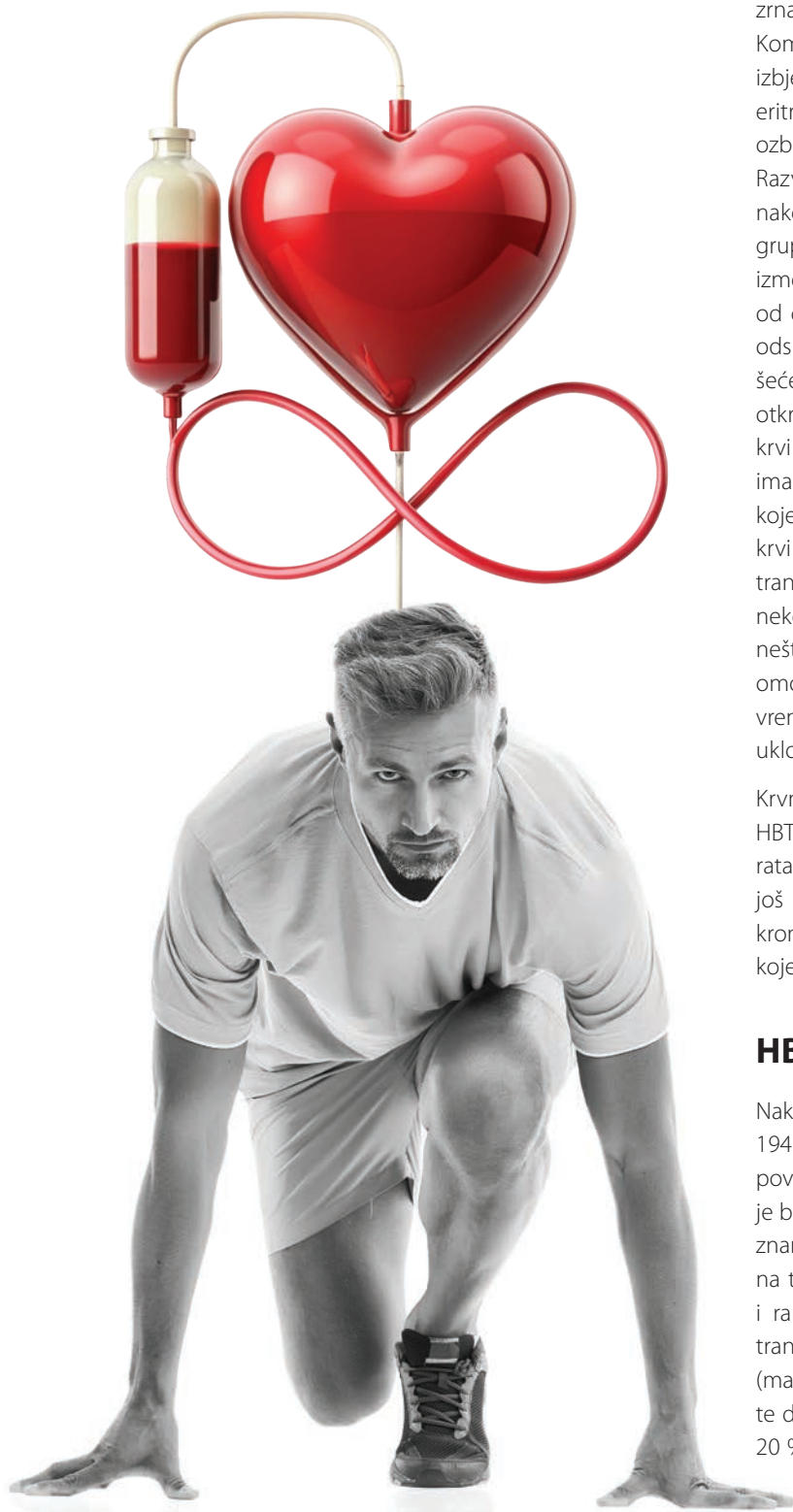
RAZVOJ TRANSFUZIJE HOMOLOGNE KRVI ZA MEDICINU

Homologna (ili alogena) transfuzija krvi (HBT) odgovara infuziji nečije krvi (pune krvi ili krvnih komponenti, posebno crvenih krvnih zrnaca [RBC]) u nekoga drugoga s istom krvnom kompatibilnošću. Kompatibilnost između davatelja i primatelja ključna je kako bi se izbjegla reakcija imunološkog sustava primatelja na unesene strane eritrocite. To može dovesti do jake hemolize povezane s nizom ozbiljnih nuspojava uključujući zatajenje bubrega, a ponekad smrt. Razvoj moderne transfuzije za medicinsku primjenu započeo je nakon što je 1901. godine dr. Karl Landsteiner otkrio sustav ABO grupe, čime je otvoren put za uspostavljanje kompatibilnosti krvi između davatelja i primatelja. Ova glavna krvna grupa sastoji se od četiriju glavnih krvnih grupa (A, B, AB i 0) prema ekspresiji ili odsutnosti ekspresije specifičnih antigena (kombinacija proteina i šećera) na površini RBC-a. Rhesus-faktor (izražen [Rh+] ili ne [Rh-]) otkriven je kasnije, 1940., što je dovelo do tablice kompatibilnosti krvi koja se i danas upotrebljava. Istovremeno, transfuzija je također imala koristi od razvoja aditiva za očuvanje krvi. Vrećice za krv koje sadrže odgovarajuće pufere omogućuju dobro očuvanje krvi pohranjene u hladnjaku, a vrijeme između uzimanja krvi i transfuzije krvi dobre kakvoće povećalo se s nekoliko dana na nekoliko tjedana (42 dana u današnjoj kliničkoj medicini). Iako je nešto složenije, dodavanje glicerola centrifugiranim eritrocitima omogućuje zamrzavanje i čuvanje na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom duljeg vremena prije reinfuzije, ali zahtijeva nekoliko ispiranja kako bi se uklonio glicerol prije nego što se može izvršiti transfuzija.

Krvna grupa 0 univerzalni je darivatelj, AB+ je univerzalni primatelj. HBT velikih razmjera počeo se provoditi tijekom Drugoga svjetskog rata, a nakon njega se broj transfuzija eksponencijalno povećao i još uvijek se primjenjuje diljem svijeta za liječenje velikog broja kroničnih krvnih bolesti te hitnih medicinskih stanja i operacija koje uključuju ozbiljan gubitak krvi.

HBT I UČINCI NA IZVEDBU

Nakon povećanja znanja o transfuziji nakon Drugog svjetskog rata, 1947. godine istraživanje je dokazalo da alogena transfuzija krvi povećava toleranciju na hipoksiju kod zdravih mladih muškaraca, što je bio prvi korak u demonstraciji ergogenog učinka HBT-a. Izravna znanstvena demonstracija da transfuzija krvi ima znatan učinak na tjelovježbu i izdržljivost, dodatno je provedena sedamdesetih i ranih osamdesetih godina 20. st. Tada je jasno utvrđeno da transfuzija pune krvi ili eritrocita povećava aerobni kapacitet (maksimalnu potrošnju kisika, $\text{VO}_2\text{ max}$) i vrijeme do iscrpljenosti, te da ovaj učinak također ovisi o volumenu transfuzirane krvi (do 20 %, 1 L krvi). U međuvremenu, HBT je upotrebljavan za doping



tijekom šezdesetih u sportovima izdržljivosti poput atletike na duge staze, biciklizma ili skijaškog trčanja te postaje dobro primjenjivana tehnika za poboljšanje sportske izvedbe tijekom natjecanja na visoko zahtjevnim razinama, uključujući Olimpijske igre sedamdesetih. Nakon javnih otkrića o upotrebi HBT-a olimpijskih prvaka poput Karla Maaninke, koji je osvojio medalje u utrkama 5 i 10 km i to nakon transfuzije 1 L krvi na Olimpijskim igrama 1980. i američkog olimpijskog biciklističkog tima koji je na Olimpijskim igrama 1984. osvojio devet medalja, javnost i znanstvena zajednica jednoglasno su osudile HBT. Ubrzo nakon toga, on se proglašava dopingom. Transfuziju krvi u sportu zabranio je Međunarodni olimpijski odbor (MOO) 1986. godine. Međutim, unatoč učinku odvratanja ove zabrane, koja je još uvijek na snazi, nikakva metoda otkrivanja nije bila dostupna za kontrolu sportaša. U isto vrijeme, porast rekombinantnog eritropoetina (rEPO) kao novog dopinškog sredstva za izdržljivost vjerojatno je usporio upotrebu transfuzije. Stvari su se ponovno promijenile na prijelazu u 2000. godinu, razvojem globaliziranog i sustavnijeg antidopinškog sustava istraživanja, stvaranjem Svjetske antidopinške agencije (WADA) 1999. godine i uvođenjem metode otkrivanja rEPO-a 2000. godine. EPO se može otkriti, međutim ponovno je počela rasti zabrinutost u vezi s povratkom transfuzije u svrhu dopinga i potreba za metodom otkrivanja za HBT.

PREMA PRVOJ METODI OTKRIVANJA: UPORABA ANTIGENA SMANJENIH KRVNIH GRUPA

Ideja koja je dovela do prve metode otkrivanja HBT-a bila je upotreba nekih obilježja crvenih krvnih zrnaca, koja su gotovo jedinstvena za jednu osobu, kako bi se mogla prepoznati prisutnost podskupine crvenih krvnih zrnaca koja dolazi od druge osobe. Napredak u istraživanju medicinske transfuzije proveden je u prepoznavanju stotina površinskih markera na membrani crvenih krvnih zrnaca uključenih u različite funkcije (strukturni integritet membrane, transport molekula kroz membranu, receptori izvanstaničnih liganda, adhezijske molekule, itd.). Oni su preraspoređeni u sustavima ljudskih krvnih grupa (45 ih je priznalo Međunarodno društvo za transfuziju krvi 2023.). Svaka osoba izražava specifičan obrazac ovih antigena. Kako bi se ograničili rizici hemolitičke transfuzijske reakcije (jaka hemoliza transfuzirane krvi) ili aloimunizacije (protutijela proizvedena protiv novouvedenih crvenih krvnih zrnaca) za medicinsku transfuziju, kompatibilnost krvi između krvi primatelja i krvi darivatelja mora se pratiti – ne samo za glavnu krvnu grupu ABO, već i za sedam sekundarnih sustava krvnih grupa (Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, P, Lewis i Lutheran), od kojih svaki pregrupira nekoliko antigena. Da bi se odredio status ekspresije ovih antigena, test aglutinacije provodi se s pomoću antitijela specifičnih za svaki antigen. Aglutinacija se događa kada antitijela pronađu svoj odgovarajući antigen prisutan na membrani crvenih krvnih zrnaca,

što upozorava na ekspresiju ovog antigena od strane osobe. S ovim je znanjem 12 glavnih uobičajenih antigena manje krvne grupe za koje se zna da imaju varijabilnu ekspresiju u općoj populaciji, odabrano za karakterizaciju RBC-a jedne osobe u svrhu antidopinga. Bio je to C, c, E, e iz krvne grupe Rh; K, k iz krvne grupe Kell; Jka, Jkb iz krvne grupe Kidd; S, s iz krvne grupe MNS i Fya, Fyb iz krvne grupe Duffy. Grupa Nelsona M. razvila je i potvrdila metodu protočne citometrije za procjenu statusa ekspresije (prisutnost/odsutnost) svakog od ovih antigena u uzorku krvi i otkrivanje je li prisutna jedinstvena populacija RBC-a ili dvije populacije nakon HBT-a. Nakratko, počevši od razrijeđene pune krvi, krv je inkubirana u nizu epruveta s antiserumima usmjerenima protiv jednog antigena. Zatim se dodaje sekundarno protutijelo konjugirano s fluoresceinom kako bi se otkrili eritrociti na koje su fiksirana primarna protutijela. Zatim su stanice analizirane protočnom citometrijom, sortirane (fluorescentne/nefluorescentne) i prebrojane. Rezultati su se pojavili u histogramu fluorescencije koji pokazuje vrhunac fluorescencije u slučaju ekspresije antigena u eritrocitima ili vrh nefluorescencije ako antigen nije ekspimiran. U normalnom uzorku krvi za jednu osobu trebao bi biti vidljiv samo jedan vrh za svaki antigen. Nakon HBT-a, bilo je moguće pronaći prisutnost drugog vrha u histogramu fluorescencije koji odražava prisutnost druge populacije eritrocita s različitim statusom ekspresije za neke antigene. Kriterij zadan za HBT-pozitivan rezultat bio je pronaći dvostruku populaciju (DP) za najmanje dva antigena. Smatralo se da ova metoda može otkriti unošenje 5 % strane krvi (jedna vrećica krvi) nekoliko tjedana i prvi je put primijenjena tijekom Olimpijskih igara 2004. u Ateni.

Tyler Hamilton, osvajač zlatne medalje u Ateni u biciklizmu na kronometar, bio je prvi sportaš koji je ikada uhvaćen ovom metodom. Njegova je obrana tvrdila da bi se druga populacija crvenih krvnih zrnaca mogla povezati s „nestajućim blizancem“ koji je nestao u embrionalnom stanju, s preostalim stanicama koje proizvode različite crvene krvne stanice, ali to se smatralo malo vjerojatnim i sportaš je kasnije potvrdio da je primio transfuziju. Važno je napomenuti da osim od transfuzije, prisutnost mješovitih populacija crvenih krvnih zrnaca može biti posljedica transplantacije koštane srži (takav veliki postupak se bilježi i lako ga je dokumentirati ako je potrebno) ili kimerizma, iznimno rijetkog događaja koji se može otkriti analizom DNK-a.

Kompletan fenotip RBC-a provodi se kao mjera predostrožnosti prije transfuzije kako bi se osigurala najbolje usklađena transfuzija i spriječio rizik od aloimunizacije. Navedeni se antigeni testiraju za svaki sustav sekundarne krvne grupe.

Metoda protočne citometrije upotrebljava se za detekciju HBT-a. Metoda je standardizirana za primjenu u nekoliko antidopinških laboratorija: odabrano je osam antigena kao glavna meta od interesa (C, c, E, Jka, Jkb, Fya, Fyb i alternativno S ili e), umjesto poliklonskih protutijela (antiseruma) za povećanje specifičnosti, za upotrebu su preporučena monoklonska protutijela IgM ili IgG i rad je obavljen

TRANSFUZIJA HOMOLOGNE KRVI I DOPING: GDJE SMO SADA?

na detekciji fluorescencije kako bi se povećao pronalazak signala, naprimjer – uporabom dodatne fluorescentne oznake fikoeritina (PE). Otkrivanje HBT-a bilo je moguće sa samo 0,3 do 2 % druge krvi, ovisno o razmatranom antigenu. Tako je uhvaćeno nekoliko visokorangiranih sportaša – poput biciklista Alexandra Vinokourova tijekom biciklističkog natjecanja Tour de France 2007.

OGRANIČENJA METODE DETEKCIJE HBT I NOVE STRATEGIJE

Do 2010-ih više nije bilo slučajeva HBT-a koje su otkrili antidopinški laboratoriji. To se može pripisati promjeni metode krvnog dopinga s porastom autologne transfuzije (ponovne infuzije vlastite krvi nakon određenog vremena), prakse koju na visokoj razini izvodi više sportaša iz različitih sportova, a što je otkriveno operacijom *Puerto*, te zbog pojavnosti dopinga s rEPO-om i novim generacijama analoga. Međutim, u isto vrijeme, metoda se također manje provodila u antidopinškim laboratorijima: uz manju potražnju antidopinških organizacija, metoda je postala složena i skupa za održavanje. Evolucija dopinga prema manjem volumenu transfuzirane krvi i potreba da se analiza izvrši brzo kako bi se omogućila potencijalna protuanaliza na uzorku krvi dobre kakvoće, također su bili čimbenici koji su mogli utjecati na učinkovitost testa u otkrivanju HBT-a. Osim toga, neka su se istraživanja usredotočila na rizik od lažno negativnih rezultata s metodom protočne citometrije. To se može dogoditi ako davatelj i primatelj krvi dijele sličan obrazac ekspresije za antigene testirane metodom otkrivanja HBT. Prvobitno procijenjen ispod 0,2 %, kada se uzmu u obzir ABO, Rh status i 12 odabranih antigena manjih krvnih grupa koji su izvorno odabrani, daljnja istraživanja kohorti sportaša koji se natječu u istom sportu u Rusiji i Italiji pokazala su da neki od njih dijele potpuno isti fenotip za osam do deset antigena ili su imali samo jedan različiti antigen (nedovoljan za proglašavanje slučaja HBT-a). To je dovelo do zabrinutosti da ovom metodom raste rizik od dobivanja lažno negativnih uzoraka.

DRUGE STRATEGIJE PROCIJENJENE ZA OTKRIVANJE

HBT-a istodobno su procijenjene i druge strategije za otkrivanje HBT-a. Prvi koji je odgovorio na globalni problem krvnog dopinga transfuzijom (homolognom ili autolognom) i/ili stimulacijom eritropoeze (rEPO i analoziji), implementiranje je neizravne metode detekcije: biološka putovnica sportaša (ABP). Temelji se na longitudinalnom proučavanju hematoloških parametara svakog sportaša, posebno hemoglobina (HGB) i postotka mladih crvenih krvnih zrnaca (RET%) kako bi se otkrile atipične varijacije potencijalno povezane s krvnim dopingom. WADA je službeno uvela hematološki ABP modul 2009. godine i studije su pokazale da je on doista osjetljiv na otkrivanje upotrebe rEPO-a ili

transfuzije krvi u dovoljnoj količini (jedna do dvije vrećice krvi dovest će do povećanja HGB-a i blagog smanjenja RET-a% i uglavnom će se izvoditi neposredno prije natjecanja). ABP je imao stvarni učinak i doveo je do toga da je stotine sportaša sankcionirano zbog dopinga nakon procjene neovisnih hematoloških stručnjaka ili nakon daljnjeg testiranja pokrenutog nakon promatranja atipičnih varijacija. Sportaši koji su odlučni u varanju sada upotrebljavaju niže doze rEPO-a i manji volumen krvi ili druge tehnike maskiranja kako bi se ograničila amplituda hematoloških varijacija.

Kako bi se izbjegao potencijalni rizik od lažno negativnih uzoraka zbog sličnih fenotipova eritrocita, ispitana je još jedna izravna tehnika detekcije HBT-a s visokom specifičnošću. Ideja je bila upotrijebiti forenzičku DNK analizu za otkrivanje prisutnosti dviju DNK u uzorku krvi kako bi se otkrio HBT. DNK profiliranje je uspješno razvijeno i tehnika je priznata za medicinsku i pravnu primjenu. Između 16 i 24 kratka tandem-ponavljanja (STR), ponovljene male sekvence nukleotida prisutnih na različitim položajima u nekodirajućoj regiji ljudskog DNK-a se pojačavaju i sekvenciraju: broj ponavljanja određuje se i vizualizira kao vrhunac. Svaki pojedinac posjeduje dvije sekvence DNK-a, jednu od oca i jednu od majke, koje su pregrupirane u parove kromosoma: normalna nemiješana krv sadržavat će samo jedan DNK, pokazujući za svaki STR ili jedan vrh (ako je prisutan isti broj ponavljanja u alelu majke i alelu oca) ili dva pika (ako su alel majke i alel oca imali različit broj ponavljanja). U slučaju prisutnosti drugog DNK-a, dodatni manji vrhovi mogu biti prisutni za jedan ili više STR-ova ako se broj ponavljanja iz drugog DNK-a razlikuje od glavnog DNK-a. Uz jedan ili dva glavna pika, manji treći te četiri pika su stoga pokazatelji drugog DNK-a, posebno ako se mogu pronaći u nekoliko STR-ova. Šansa za dijeljenje istog STR profila ovom metodom profiliranja DNK-a jedan je prema milijardu (osim u slučaju homozigotnih blizanaca).

TESTIRANA KRV

RBC su stanice s jezgrom koje ne sadrže DNK, a izvor DNK-a u krvi bit će bijele stanice s jezgrom. Uklanjanje bijelih krvnih stanica s pomoću leukodeplecijskog filtra jednostavan je korak koji se izvodi kako bi se spriječile neke imunološke reakcije nakon transfuzije i može se učiniti tijekom pripreme koncentrata eritrocita (RBCC). Ovaj korak će drastično smanjiti broj stanica koje sadrže DNK (> 99,95 %). Nakon ovih vrlo ohrabrujućih rezultata, mogućnost rada s osušenim mrljama krvi (DBS) umjesto svježe krvi bila je dokazano bez gubitka osjetljivosti, što bi moglo pojednostaviti testiranje sportaša i omogućiti ponovnu analizu – ako je to potrebno nakon sumnjivih rezultata iz ABP-a ili drugih izvora obavještajnih podataka. Kao alternativa STR profiliranju, nedavno je procijenjena još jedna strategija genotipizacije za otkrivanje HBT-a iz DBS-a s dobrom osjetljivošću: usmjeravanje na otkrivanje nekoliko jednonukleotidnih polimorfizama (SNP) omogućilo je otkrivanje mješavina krvi sve do 1 % nepoznate krvi u pokusima *ex vivo*. Prva

TRANSFUZIJA HOMOLOGNE KRVI I DOPING: GDJE SMO SADA?



PULSE 82

SBD 125

STATUS: 15% COMPLETE

FUNC ATAT : STABLE

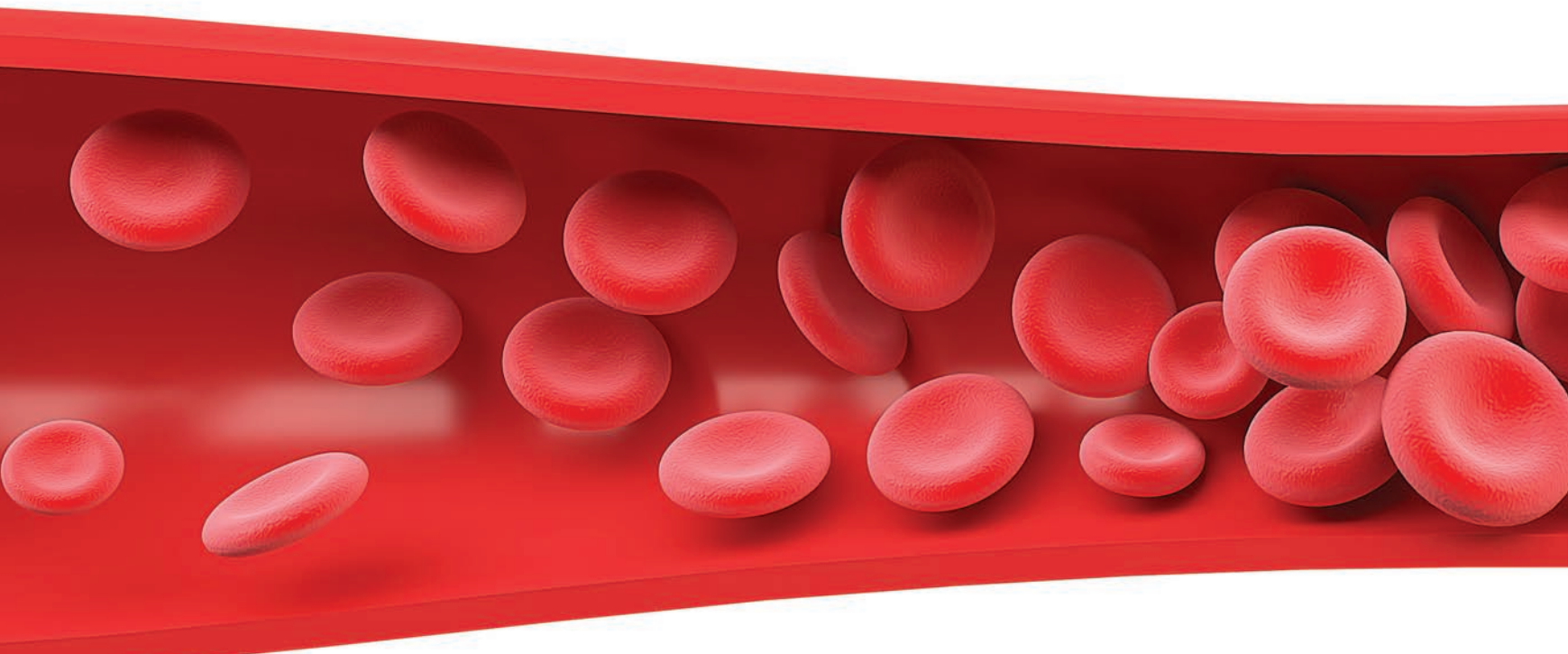
TEMP : 104.2

TRANSFUZIJA HOMOLOGNE KRV I DOPING: GDJE SMO SADA?

in vivo procjena otkrivanja transfuzije s RBCC-om (bez leukodeplecije) ocijenjena je 2022. Međutim, pronađeni su neočekivani rezultati: dok je prepoznavanje DNK-a bilo uspješno u RBCC-u, pokazujući STR profil specifičan za donora i različit od STR profila primatelja, nakon transfuzije 150ml RBCC-a (≈pola vrećice krvi) nije pronađen nikakav trag DNK donora. Objašnjenje bi moglo biti da je bijela krvna zrnca donora vrlo brzo prepoznao i eliminirao imunološki sustav primatelja, stoga su ostaci DNK donora bili neotkriveni čak i dan nakon primitka transfuzije. Daljnje studije trebale bi razjasniti je li forenzička DNK analiza stvarno neučinkovita za otkrivanje HBT-a *in vivo* ili bi mogla biti učinkovita u nekim slučajevima (naprimjer, transfuzija pune krvi umjesto RBCC-a). U svakom slučaju, metoda protočne citometrije *de facto* ostaje metoda izbora za otkrivanje HBT-a.

NAJNOVIJA EVOLUCIJA ZA METODU PROTOČNE CITOMETRIJE

Nakon godina bez slučajeva, HBT se vratio u središte pozornosti 2019. s prvim nepovoljnim analitičkim nalazima, a dva su se slučaja dogodila tijekom Olimpijskih igara u Tokiju 2020. To je potvrdilo da je istraživanje potencijalnog dopinga HBT-a još uvijek relevantno i potrebno. Proteklih godina postignut je napredak u metodi protočne citometrije kako bi se pojednostavio analitički rad, ograničio rizik od lažno negativnih rezultata i poboljšala osjetljivost. Prvi korak za pojednostavljenje i lakšu visoku propusnost metode bio je izvođenje svih koraka pripreme u jažicama iz mikropločice s 96 jažica, umjesto rada s pojedinačnim epruvetama. Tehničko poboljšanje protočnog



citometra tijekom godina omogućilo je povećanje osjetljivosti s boljim odvajanjem pojedinačnih stanica fluidnim sustavom (hidrodinamičko ili akustoforetsko fokusiranje) i mogućnost uporabe svjetlijih fluorescentnih oznaka za protutijela. Osim toga, odabir dobre kombinacije lasera (ljubičasti, plavi, crveni i žuti ili većinom zeleni) i fluorescentnih boja omogućuje višebojnu analizu s vrlo malim spektralnim preklapanjem ili bez njega. U ovom trenutku antigeni nisu izravno obilježeni fluorescentnom oznakom, ali upotreba sekundarnih protutijela različite prirode (IgG i IgM) omogućuje dobro otkrivanje kombinacije dvaju različitih antigena.

Kako bi se povećala specifičnost i izbjegao rizik od lažno negativnih rezultata, provedeno je nekoliko studija za procjenu ekspresije antigena manjih krvnih grupa u populaciji sportaša različitog podrijetla. Najzanimljiviji antigeni trebali bi biti eksprimirani malo iznad 50 % kako

bi imali dobru distribuciju ekspresijskih i neekspresijskih osoba, čime se povećavaju šanse za pronalaženje razlika nakon HBT-a. Utvrđene su velike razlike u učestalosti ekspresije nekih antigena, ovisno o etničkoj pripadnosti (Fyb i S gotovo da nisu bili izraženi kod sportaša kineskog podrijetla, ali su prisutni kod 50 do 80 % europskih). Gledajući sportaše s pet kontinenata i one uključene u razne sportove, potvrđen je interes za testiranje 11 različitih antigena za probir na HBT (C, c, E, e, Fya, Fyb, Jka, Jkb, S, s i K). Detekcija HBT-a sa 150ml RBCC-a koji nije otkriven forenzičkom DNK analizom učinkovito je provedena primjenom najnovijeg razvoja metode protočne citometrije i pronađen je prozor detekcije od 50 dana nakon transfuzije. Potvrda je izvršena testiranjem prisutnosti dvostruke populacije za svaki antigen koji predstavlja DP u probiru, u novom eksperimentu u kojem se eritrociti inkubiraju s trima različitim razrjeđenjima primarnih protutijela (isto kao za probir

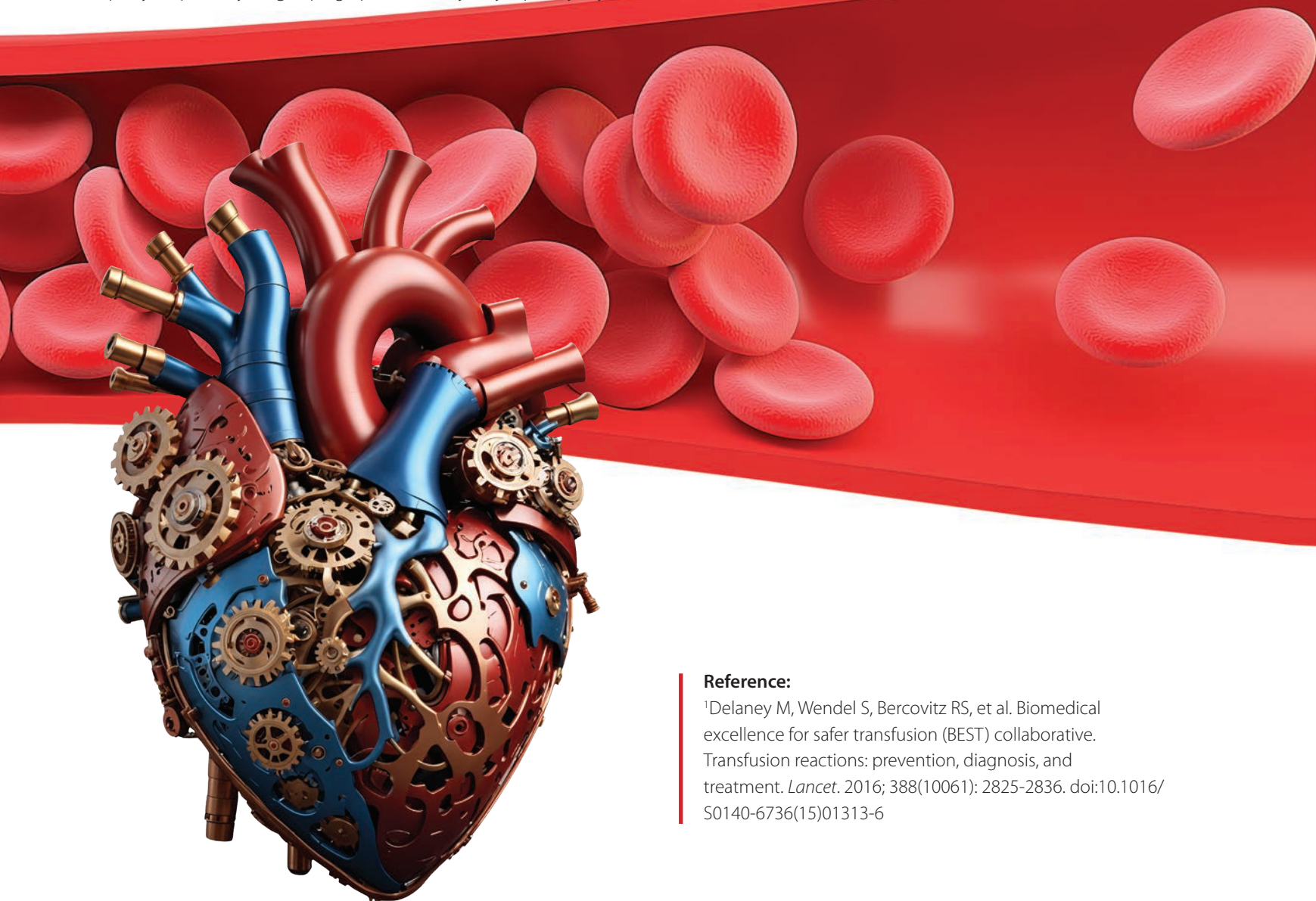
TRANSFUZIJA HOMOLOGNE KRVI I DOPING: GDJE SMO SADA?

i dva puta razrijeđena i dvostruko koncentrirana) i DP će potvrditi s najmanje dvjema od tri različite koncentracije protutijela. Potrebni su DP-ovi za dva različita antigena da bi se uzorak smatrao pozitivnim na HBT, dok će se uzorak smatrati atipičnim ako je potvrđen samo jedan DP. Rezultati su pokazali da je potvrda HBT-a bila moguća na krvi pohranjenoj 30 dana na 4 °C, zbog čega je bila primjenjiva i u slučaju kontra-vještačenja. To je pokazalo da je protočna citometrija moćan alat koji bi se trebao nastaviti primjenjivati u antidopinškim laboratorijima.

ZAKLJUČAK

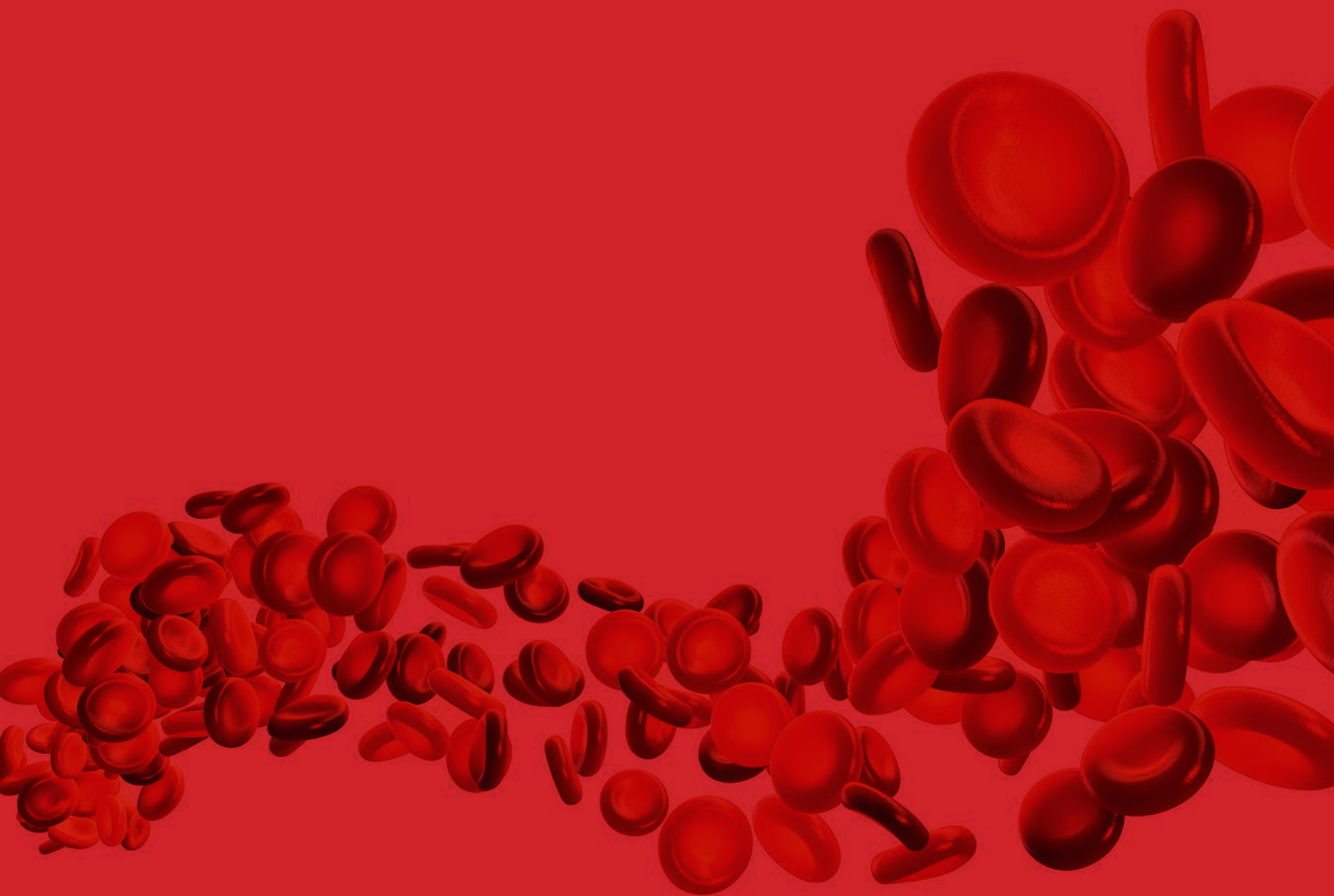
Dvadeset godina nakon uvođenja prve izravne metode detekcije HBT-a protočnom citometrijom, ova je tehnika još uvijek najpouzdanija za procjenu potencijalnog dopinga, posebno s najnovijim poboljšanjima.

Unatoč stvarnom potencijalu i vrlo visokoj specifičnosti, forenzičkoj analizi DNK-a za otkrivanje HBT-a potrebna je dodatna evaluacija *in vivo*, s obzirom na to da se nedavno pojavila zabrinutost glede osjetljivosti. U nedostatku drugih dokaza, na neizravno otkrivanje HBT-a procjenom promjena otkrivenih s pomoću ABP-a također može utjecati nedostatak osjetljivosti. Potraga za dobrim biomarkerima autologne transfuzije se nastavlja i oni bi također mogli biti primjenjivi za otkrivanje HBT-a u budućnosti, ali nijedan još nije u potpunosti potvrđen. Nedavni slučajevi na velikim natjecanjima pokazuju da je potrebno više testiranja na HBT s uzorcima krvi prikupljenim tijekom ili nakon natjecanja. Više smjernica o otkrivanju HBT-a protočnom citometrijom koristilo bi antidopinškim laboratorijima, jer WADA nije objavila smjernice ili tehnički dokument.



Reference:

¹Delaney M, Wendel S, Bercovitz RS, et al. Biomedical excellence for safer transfusion (BEST) collaborative. Transfusion reactions: prevention, diagnosis, and treatment. *Lancet*. 2016; 388(10061): 2825-2836. doi:10.1016/S0140-6736(15)01313-6



HRVATSKI ZAVOD ZA JAVNO ZDRAVSTVO

