

儿童慎用, 以免影响生长、性发育以及可能的精神改变; 青春期少年慎用, 以防骨骺早闭而致矮身材。③成年男性慎用, 以防损害生育能力; 老年男性要防止前列腺肥大或增加患前列腺癌的危险; 前列腺癌患者禁用。④心血管病、肝肾损害、癫痫、偏头痛、糖尿病、高血压等病人慎用, 防止水、钠潴留, 加重病情。⑤避免同时使用肾上腺皮质激素、抗凝剂、肝毒性药物以及对抗雄激素同化激素的药物如黄体酮、孕酮、安体舒通、甲氧咪呱等。⑥避免长期大剂量使用。⑦用药期间注意监测肝功。

4 蛋白同化激素的滥用情况

20 世纪 50 年代中期, 随着不同类型蛋白同化激素药物的问世, 滥用蛋白同化激素类药物的现象日显严重。健美健身者以及青少年开始使用此类药物以增加肌肉力量和性感, 出现滥用。从运动生理学角度出发, 普遍认为蛋白同化激素对运动能力的提高, 尤其是对一些力量性运动项目成绩的提高有积极作用, 因此造成了大量运动员置体育道德于不顾, 出现了大量滥用的情况。由于同化激素对人体

严重的危害性已引起了高度重视, 加之滥用这类兴奋剂有悖于体育运动的宗旨, 扼杀了公平、合理竞争的体育精神, 1976 年蒙特利尔奥运会第一次将蛋白同化激素列入禁药范围。现在在国际奥委会医学中心的“兴奋剂”阳性案例中, 蛋白同化激素所占的比例始终高居榜首。

【参考文献】

- [1] Freeman ER, Bloom DA, McGuire EJ. A brief history of testosterone. *J. Urol*, 2001, 165 (2): 371-373
- [2] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学, 第 16 版, 北京: 人民卫生出版社, 2007, 635-638
- [3] Shahidi NT. A review of the chemistry, biological action and clinic applications of anabolic-androgenic steroids. *Clin Ther*, 2001, 23 (9): 1335-1390
- [4] 岑瑛, 王怀胜, 罗旭松. 苯丙酸诺龙对烫伤大鼠创面愈合及代谢的影响. *中华烧伤杂志*, 2003, 19 (5): 305
- [5] Orr R, Fiatarone Singh M. The anabolic androgenic steroid oxandrolone in the treatment of wasting and catabolic disorders: review of efficacy and safety. *Drugs*, 2004, 64 (7): 725-50

文章编号: 1672-3384 (2008) -03-0034-05

促红细胞生成素与竞技运动

【作者】 史亦丽

中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院 (北京 100730)

【中图分类号】 R973.3; R872.5

【文献标识码】 B

促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 是一种糖蛋白激素, 主要是由肾脏生成的一种造血生长因子, 能促进骨髓红细胞的生成和释放。作为兴奋剂使用则是源于它提高机体携氧能力、增强运动耐力的特性。1989 年 EPO 被国际奥委会 (IOC) 列为兴奋剂, 2005 年起, IOC 和世界反兴奋剂机构 (WADA) 的禁用清单中, 被列为赛内和赛外所有

场合禁用的肽类物质的第一位。鉴于此, 本文就 EPO 及其对竞技运动的影响作一综述。

1 EPO 的结构与生物效应

1.1 EPO 的结构和来源

EPO 为糖基化蛋白, 相对分子质量为 $(3.5 \sim 4.0) \times 10^4$, 由蛋白和多糖组成, 蛋白部分由 166 个氨基酸单链蛋白组成, 糖部分由 4 条 N-乙酰基乳

糖胺连结的寡糖链组成,其中3条通过天冬氨酸残基,1条经丝氨酸残基连结在肽链的不同位置上,半衰期约4~12h,具有两种可区分的形式 α 和 β ,两者都具有相似的生物活性和抗原属性^[1]。EPO主要由肾小管内皮细胞合成,也可由肝脏、巨噬细胞、有核红细胞产生,但其肾外的产生量不足总量的10%~15%^[2]。

1985年重组人红细胞生成素(r-HuEPO)问世并随后成为注册药物,以Epoetin(依泊汀,或简称促红素)命名,其相对分子质量约为 3.04×10^4 ,由165个氨基酸组成的肽链上有3个N-连接的和1个O-连接的糖基化位点。与内源EPO一样,肽链部分占60%,多糖占40%。产品有促红素 α 、促红素 β 、促红素 δ 、促红素 γ 和促红素 ω ,它们的差别只在糖基化结构上^[3]。临床使用品种主要为阿尔法依泊汀(促红素 α)、倍他依泊汀(促红素 β),是从含有人红细胞生成素基因的中国仓鼠卵巢细胞(CHO细胞)培养液中提取得到,具有与内源EPO相同的生物效应。

近年来美国安进(Amgen)公司研制开发的新一代长效EPO制剂——Darbepoetin,分子量比r-HuEPO大,为 3.8×10^4 ,含5个N-糖链,糖基含量增加到52%。作用与r-HuEPO相同,但其生物活性较r-HuEPO大,半衰期延长了约2倍。可以延长给药间隔时间,减少给药次数^[4]。

1.2 EPO的生物效应

正常血浆中EPO含量约为 $10 \sim 30 \text{ mU} \cdot \text{mL}^{-1}$,为促进骨髓红系祖细胞生长、增生、分化和成熟的主要刺激因子,在 $0.05 \sim 1 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时即呈剂量依赖效应。EPO促进红细胞生成的生物学效应是通过位于骨髓红系祖细胞表面的特异性EPO受体(EPOR)形成二聚体,再通过信号传导途径调节红系的增生和分化^[2]。其主要作用为^[1]:①促进骨髓造血祖系细胞分化和增殖;②促进网织红细胞的释放和血红蛋白合成;③通过抗氧化作用稳定红细胞膜。

EPO主要由低氧诱导产生,但也受雌激素的诱导产生,在依赖雌激素的正常子宫内膜和女性生殖

器官起血管生成作用。EPO只作用于骨髓巨核前体细胞,对红细胞造血过程的调节需其他细胞因子(如IL-3、GM-CSF和IL-1等)的协同作用才能完成。

近年来研究发现EPOR还广泛分布于各种非造血组织,具有多种非造血作用,如促进血管生成、胚胎发育、组织保护、抗炎等作用,所以被认为是一种全身性的保护性细胞因子^[5]。

2 r-HuEPO的临床药理与应用

2.1 r-HuEPO的药理作用

内源性EPO从人体尿液中分离及精制得到。目前,临床上使用的均是重组人红细胞生成素(r-HuEPO)。正常人的EPO约90%是由肾脏产生,患慢性肾功能衰竭(CFR)的病人EPO的生产受到抑制,不能刺激产生更多的红细胞生成素,造成肾性贫血。r-HuEPO可补充内源性EPO不足,对于肾性贫血、再生障碍性贫血、多发性骨髓瘤及阵发性夜间血尿等均有一定疗效;此外,应用EPO还可减少手术中的输血量,并能在一定程度上纠正由恶性肿瘤、化疗及类风湿性关节炎引起的贫血。

2.2 r-HuEPO的药代动力学

促红素 α 和促红素 β 在药动学上有些区别,可能是由于两者的糖基化和制剂组成的存在差别之故。促红素 α 和促红素 β 皮下注射的吸收均慢且不完全。皮下注射的生物利用度,促红素 α 约10%~20%;促红素 β 约23%~42%;血药浓度达峰时间,促红素 α 静脉给药为15min,皮下注射为4~24h;促红素 β 皮下注射为12~28h;慢肾衰病人的消除 $t_{1/2}$ 静脉给药约为4~16h,皮下注射约为24h;促红素 β 皮下注射血药浓度达峰时间为12~28h;消除 $t_{1/2}$,促红素 α 静脉给药,慢肾衰患者约为4~13h,皮下注射约为24h;促红素 β 静脉给药约4~12h,皮下注射约13~28h^[3]。随着剂量的增加,在血浆中的消除会轻微减缓。大部分在体内代谢,约10%以原型经尿排出。

2.3 r-HuEPO的临床应用

由于EPO主要由肾小管内皮细胞产生,其最初的适应证是肾性贫血。随着EPO临床应用的研究深入,其治疗贫血的范围在不断扩大。EPO临床适应证包括:①慢性肾衰引起的贫血(适用于透析和非透析病人);②癌症化疗引起的贫血(非恶性骨髓肿瘤)和艾滋病贫血;③早产儿贫血。促红素的剂量依据适应证、给药方法而定,维持剂量依据红细胞压积或血红蛋白水平调整。给药途径可以皮下注射、静脉注射,依据适应证和所使用的品种而定。给药频率根据给药途径而定,静脉注射至少每2~3天1次,皮下给药次数可减少至每周1次或每周1次。

最近的几个临床试验,并不支持EPO的一些适应证外贫血治疗,如2007年1月,美国Amgen公司公开发布其促红素产品Aranesp(darbepoetin alfa)严禁用于治疗癌症本身引起的贫血,并修改产品说明书,针对临床使用适应证增加了安全使用的警示。提示应重视EPO治疗的适应证的选择,严格按照产品说明书和NCCN2007最新版指南所示来规范使用EPO。2007年6月,美国FDA发出警告:癌症病人使用促红素,可发生严重性或致命性副作用,如静脉血栓、肿瘤恶化、血压升高发生率提高,甚至导致死亡。

3 EPO的不良反应及处置

EPO常见的不良反应主要有血压升高及流感样症状。有些反应可能与制剂、给药途径等因素有关。

3.1 流感样症状

少数病人用药初期可出现头痛、低热、乏力,个别病人可出现肌痛、关节痛,绝大多数不良反应经对症处理后可以自行好转,不影响继续用药,个别病例上述症状持续存在,应考虑停药。

3.2 心脑血管系统

可能会引起血压升高、原有的高血压恶化和因高血压脑病而有头痛、幻觉、意识障碍、痉挛发生,甚至可引起脑出血。因此治疗期间应定期观察血压变化,必要时应减量或停药,并调整降压药物

的使用。对有心肌梗死、肺梗塞、脑梗塞患者应慎重给药。

3.3 血液系统

随着红细胞压积(HCT)增高,血液粘度可明显增高,因此应注意防止血栓形成。用药期间应定期检查红细胞压积,用药初期每星期1次,维持期每两星期1次。注意避免过度的红细胞生成(维持HCT在35vol%以下,最大红细胞浓度不超过12g/dL),如发现过度的红细胞生长,应采取暂停用药等适当处理。另外,治疗期间因造血增强,铁利用增强,通常会出现血清铁浓度下降,因此,治疗过程中必须密切监测有关参数,如果患者血清铁蛋白低于100ng/mL,或转铁蛋白饱和度低于20%,应每日补充铁剂。叶酸或维生素B₁₂不足会降低本品疗效,予以注意。

纯红细胞再生障碍性贫血(PRCA,简称纯红再障)也罕有发生,主要发生在肾衰患者。PRCA表现为应用r-HuEPO过程中出现的进行性严重贫血,并且加大r-HuEPO剂量也无法纠正。这与r-HuEPO作为生物活性物质,具有免疫原性,可刺激机体的免疫反应,产生抗EPO的抗体有关。若怀疑为r-HuEPO引起的PRCA,则应停药,并给予输血以改善贫血症状。同时进行检查,若诊断成立,则应给予糖皮质激素或免疫抑制剂治疗。

3.4 过敏反应

极少数患者用药后可能出现皮疹或荨麻疹等过敏反应,包括过敏性休克。因此,初次使用本品时,建议先注射少量,确定无异常反应再注射全量,如发现异常,应立即停药并妥善处理。

3.5 其他

有时会有恶心、呕吐、食欲不振、腹泻等消化道反应。也有眼底出血、脾肿大、鼻出血、尿素氮(BUN)上升、尿酸上升、血肌酐上升、血钾上升、浮肿等反应。

4 EPO制剂与其不良反应

国内临床应用的r-HuEPO制剂,进口品牌有:日本麒麟公司的利血宝(Espo)、美国安进公司的

怡波津 (Epogen)、德国宝灵曼公司的罗可曼 (Recormon), 前两个为促红素 α , 后者为促红素 β 。1997 年国产品种上市, 品牌有济脉欣、益比奥、宁红欣、怡宝、依倍、环尔博等, 均为促红素 α 。剂型有注射液、粉针剂、预充制剂、多剂量笔。规格众多, 有 1000iu, 2000iu, 3000iu, 6000iu, 10000iu 等等。Darbepoetin 制剂国内未引入。

r-HuEPO 分子中糖基的完整性直接影响 r-HuEPO 分子在体内的稳定性和活性^[6]。不同厂家生产的 r-HuEPO 因细胞株、培养基、工艺等不同, 差异很大。同时为了保持制剂的稳定性, 添加有不同的稳定剂 (如人血白蛋白、明胶、吐温 80 等) 或缓冲剂等辅料, 故不同品种制剂的组成也存在差异, 这些可能影响其生物效应和不良反应。如 Bennett 等就 1998 年至 2000 年与 r-HuEPO 相关的 PRCA 增加的现象, 对 1988 年 1 月到 2004 年 4 月全世界的相关病例进行的调查分析, 发现其与所用制剂及慢肾衰病人的皮下给药有关, PRCA 发生率在 2001~2002 年达到峰值, 随着对引起 PRCA 相关因素进行干预, 改变储藏、操作和给药途径后, PRCA 发生率迅速下降, 到 2004 年回复到 1998 年的水平^[7]。2004 年 Janssen-Ortho 公司据此修订其产品 EPREX (epoetin alfa) 的说明书^[8]。

5 EPO 与竞技运动

5.1 EPO 滥用对运动员的危害

竞技运动对 EPO 的滥用源于其能增加红细胞的形成和血红蛋白的含量, 从而增强人体的耐缺氧能力的特点, 达到提高体育成绩的目的。所以 EPO 与运动尤其是耐力运动 (如长跑、自行车、游泳、划船等) 关系十分密切。当今, 运动机体获得 EPO 的手段主要有大剂量使用 r-HuEPO (禁用物质)、血液回输方法 (禁用清单中三个禁用方法之一)、基因疗法 (新出现的方法, 2003 年列为禁用方法)、高原训练 (各国普遍采用的提高运动员能力的方法)。

EPO 于 1977 年由 Miyake 从尿中分离纯化。1985 年应用基因重组技术成功制造 r-HuEPO,

1989 年在美国注册批准用于临床, 自此 r-HuEPO 就开始替代以往使用的危险的血液兴奋剂 (blood doping)。有些运动员试图通过使用 r-HuEPO 提高运动成绩, 由此在运动场上发生了一些不应发生的悲剧, 1988 年在自行车比赛中 3 名运动员猝死, 1989 年 5 名荷兰运动员丧生, 可能均与使用了大剂量的 r-HuEPO 有关^[9]。1989 年 IOC 将其列为禁用药物, 从此 EPO 就和兴奋剂联系在一起。2000 年前, 由于其使用后很难被检测到, 可以无所顾忌地使用, 而一直倍受各国运动员的关注, 目前已成为使用最广泛的肽类兴奋剂, 也成为目前兴奋剂检测研究的焦点。

r-HuEPO 滥用对运动员的健康危害非常大。有些运动员为了提高运动成绩, 超剂量使用, 同时缺乏医学监护, 耐力运动时体液大量丢失, 由血粘滞度急剧加大所致的严重不良反应的风险增加。其次, 由于其短期使用额外增加了血液中红细胞的数量比, 使血过于浓稠, 血流明显减慢, 引发高血压、脑病发作, 出现休克甚至死亡, 仅 2003 年就有 8 名自行车选手由于滥用促红细胞生成素而导致突发心脏病死亡, 其中包括环法自行车大赛的前总冠军潘塔尼。长期注射 r-HuEPO 会对内源性 EPO 产生反馈性抑制, 可引起运动机体对骨髓的相对抑制, 损害了运动机体自身的造血功能, 剂量越大, 抑制效果越明显。

5.2 血液回输方法

血液回输方法又称血液兴奋剂, 20 世纪 40 年代开始使用, 原来是用异体同型输血, 来达到短期内增加血红细胞数量, 从而达到增强血液载氧能力, 最终提高运动成绩的目的。进入 20 世纪 80 年代, 发明了血液回输术, 即从运动员本人体内抽出一定数量的血液, 经处理后储备待用, 赛前 1~7d 再将血细胞随生理盐水输回原抽血者体内。1988 年汉城奥运会正式被国际奥委会列入禁用范围。

5.3 兴奋剂疗法

基因兴奋剂指非治疗目的使用能提高运动员能

力的基因、遗传构件和(或)细胞。这是最新禁用的兴奋剂方法,2003年首次列入禁用方法。目前对向身体中注射的r-HuEPO已经有了检查的方法。但是,如果有人采用解码基因的方法使身体中的EPO增加的话,仍然是无法检测的,因为其身体中的EPO是内源性的。

总之,随着生物技术特别是基因工程技术的发展和基因重组产品的问世,在利益的诱惑和趋势下,越来越多的违禁药物将会出现,新品种的兴奋剂也会陆续被使用,这给反兴奋剂工作提出了挑战。

5.4 EPO的检测

在使用r-HuEPO 4~7d后,r-HuEPO已恢复正常水平,应用常规检测的色谱学方法无法查出,而其功效还可持续4周之久,这正是有氧耐力运动员所期望的,所以导致EPO在运动场上的滥用。因其通过一般尿检不易查出,所以被国际体坛称为最具欺骗性的药物^[11]。

过去,由于分不清哪些是人体自生的,那些是药物补给的,所以对EPO的分析没有很好的测定方法,2000年,澳大利亚的科学家在这方面取得了突破,在悉尼奥运会上采取了血检和尿检相结合的方法检测EPO。但方法准确率不高,且还需要通过过程复杂、需时长的尿检来确定。

2005年,法国生物学家弗朗索瓦丝·拉纳和同事合作发明了一种通过尿液准确检测EPO兴奋剂的新方法。拉纳与雅克·索里兹教授长期合作研究后发现,合成的EPO与人体中自然生成的促红细胞生成素在电荷上存在着细微差别,因而可以将二者区分。在此基础上,两位科学家发明了准确检测EPO兴奋剂的新方法。新方法只需采集被检者的几滴尿液,便可检测出当事人在3d内是否接受过EPO兴奋剂注射。然而,由于r-HuEPO在注射后很快就从人体中消失,因此鉴别真假EPO法只在注射后4至7d内有效。因此需进行赛前检

查。

6 结语

EPO作为红细胞生成的重要调节因子,能改善运动机体的携氧能力,从而促进运动成绩的提高,我们应当利用科学的方法(如高原训练法等)来正确地获得运动机体所需的EPO,达到进一步提高运动成绩的目的。滥用r-HuEPO会给运动员的健康带来危害,教练员和运动员对此应有高度的认识。同时,应进一步提高EPO检测技术,提高检出率,对使用者予以重罚,以警示其他运动员。

【参考文献】

- [1] 熊正英,刘海英,等. EPO的生化功能及其在竞技体育中的滥用. 渭南师范学院学报, 2003, 18 (5): 65-67
- [2] 冯玫,李玉翠. EPO与EPO受体的研究进展. 白血病·淋巴瘤, 2005, 14 (4): 254-256
- [3] Sweetman SC, editor. Martindale, the Extra Pharmacopoeia 34th Edition. London: Pharmaceutical Press, 2005: 954, 956-959
- [4] 邵瑞奇,冯琰. 新型EPO类兴奋剂--Darbepoetin. 辽宁体育科技, 2004, 26 (3): 30-31
- [5] 段爱华. 促红细胞生成素的研究进展. 中国全科医学, 2008, 11 (2A): 264-266
- [6] 周勇,王簪舟,等. 重组人促红素体内、体外生物学活性差异成因分析. 中国生物制品学杂志, 2008, 21 (2): 136-138
- [7] Bennett CL, et al. Pure red-cell aplasia and epoetin therapy. N Engl J Med, 2004, 351: 1403-1408
- [8] Janssen-Ortho. Important drug safety information: Eprex (epoetin alfa) sterile solution revised prescribing information for patients with chronic renal failure (January 13, 2004). Available at: http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/medeff/advisories-avis/prof/2004/eprex_3_hpc-cps_e.html
- [9] 张磊. 促红细胞生成素对体育运动的影响. 盐城工学院学报(自然科学版), 2006, 19 (3): 73-74
- [10] Baron DA, Martin DM, Abol Magd S. Doping in sports and its spread to at-risk populations: an international review. World Psychiatry, 2007, 6 (2): 118-123
- [11] 刘建华,常波. 运动与促红细胞生成素. 沈阳体育学院学报, 2004, 23 (3): 297-300