

INFRADIÁNNE OSOBITOSTI HEMATOLOGICKEJ VARIÁCIE ŠPORTOVKÝŇ

INFRADIAN SPECIFICITIES OF HAEMATOLOGICAL VARIATION IN FEMALE ATHLETES

M. Pupiš, H. Burzalová, Z. Pupišová, & K. Bako

Fakulta telesnej výchovy, športu a zdravia, Univerzita Mateja Bela v Banskej Bystrici, Slovenská republika

Abstract

The aim of the present research was to define the infradian peculiarities of hematological variation in female athletes. The research was conducted in the form of a case study on four female endurance elite athletes (18-24 years old). Each female athlete underwent 4-5 tests, which were performed on each of them individually according to the phases of the menstrual cycle. The testing was carried out chronologically in the following time sequence: T1 10-8 days before menstruation (hereafter M), T2 4-3 days before M, T3 during M, T4 1-2 days after M, T5 9-10 days after M. All testing was carried out under the same conditions and according to the WADA rules. Collections were performed at 8:00 h $\pm$ 30 min fasting. The results demonstrated the fact that there was a significant hormonal response in female athletes who were menstruating and, on the contrary, there was only moderate hormone variability in female athletes who were not menstruating during the study. The results of the research demonstrate that more pronounced hematological variability was noted in female athletes with menstruation. Based on the results, it can be concluded that strict recording of the phase of the menstrual cycle should be considered when assessing the results in the biological passport of female athletes.

Keywords: infradian variation; hemoglobin; reticulocytes; hormones

Súhrn

Cieľom predloženého výskumu bolo zdefinovať infradiánne osobitosti hematologickej variácie športovkýň. Výskum bol realizovaný formou kazuistiky na štyroch vytrvalostných vrcholových športovkyniach (18-24 rokov). Každá športovkyňa absolvovala 4 – 5 testovaní, ktoré sa realizovali u každej z nich individuálne podľa fáz menštruačného cyklu. Testovania prebiehali chronologicky v časovom slede: T¹ 10 – 8 dní pred menštruáciou (ďalej M), T² 4 – 3 dni pred M, T³ počas M, T⁴ 1 – 2 dni po M, T⁵ 9 – 10 dní po M. Všetky testovania boli realizované za rovnakých podmienok a podľa pravidiel WADA. Odbery boli realizované o 8:00 hod. $\pm$ 30min nalačno. Vo výsledkoch sa preukázal fakt, že u športovkýň, ktoré mali menštruáciu bola zaznamenaná výrazná hormonálna odozva a naopak u športovkýň, ktoré počas výskumu menštruáciu nemali, bola variabilita hormónov len mierna. Výsledky výskumu preukazujú, že u športovkýň s menštruáciou bola zaznamenaná výraznejšie hematologických variabilita. Na základe výsledkov možno konštatovať, že pri posudzovaní výsledkov v biologickom pase športovkýň by sa mala zväžiť striktná evidencia fázy menštruačného cyklu.

Kľúčové slová: infradiánna variácia; hemoglobín; retikulocyty; hormóny

Úvod

Športová príprava ako aj boj proti dopingu prechádzajú neustále inováciami a vývojom. Hematologické ukazovatele sú predmetom záujmu výskumov v športu už niekoľko desaťročí a to z rôznych dôvodov, pričom ani súčasná úroveň poznania nedospela k jednoznačným záverom. Aktuálne sa zvý-

šená pozornosť venuje tejto oblasti najmä v dôsledku aplikácie hematologického modulu využívaného pri interpretácii výsledkov v biologickom pase športovca. Athlete Biological Passport – biologický pas športovca (ďalej ABP) bol prvýkrát oficiálne predstavený v roku 2009 a obsahoval výlučne hematologický modul (WADA, 2017). Tento hematologický modul zhromažďuje informácie o jednotlivých krvných parametroch, ktorých hodnota môže signalizovať požitie zakázaných látok alebo používanie zakázaných metód na zlepšenie prenosu, či dodávania kyslíka, vrátane použitia akejkoľvek formy manipulácie s krvou či aplikáciu krvnej transfúzie (Pupiš, 2021). Pri interpretácii výsledkov sa posudzovatelia zameriavajú najmä na hladinu hemoglobínu, retikulocytov a OFF-score. V tejto súvislosti treba pripomenúť, že ide o nepriamy ukazovateľ novej aplikácie krvného dopingu. Viaceré prípady však ukazujú, že v tejto oblasti ostáva stále veľké množstvo nejasností (čo potvrdzujú prípady Romana Kreuzigera, Mateja Tótha, Claudie Pechstain atď.), preto by sme chceli v nadväznosti na tieto skúsenosti rozšíriť poznatky o infradiánnej variácii vybraných hematologických ukazovateľov v športe. Mullen et al. (2020) síce vo svojom výskume „zľahčujú“ potenciálny vplyv menštruácie na výsledky v ABP, avšak 2 „rizikové“ výsledky zo 17 v ich výskume nemožno opomenúť. Podobne nemožno opomenúť infradiánne cykly u mužov, ako aj ich potenciálny vplyv na hematologické ukazovatele, keďže už Celec et al. (2003, 2007) popisujú infradiánnu hormonálnu odozvu (podobnú ženskému menštruačnému cyklu) aj u mužov. V zmysle tohto je možné očakávať vzťah medzi hormonálnou odozvou a hladinou hemoglobínu, či podielom retikulocytov. Bachman et. al. (2014) a Cervi & Balitsky (2017) popisujú vzťah medzi hladinou testosterónu a hemoglobínom, ako aj retikulocytmi. V kontexte týchto súvislostí je možné očakávať pozitívny vzťah medzi hladinou testosterónu (najmä u mužov) smerom k hemoglobínu, retikulocytov, čo by malo logicky súvisieť aj produkciou erytropoetínu a na druhej strane je možné očakávať negatívnu koreláciu vo vzťahu s kortizolom (Brownlee et al., 2005). V zmysle výraznejšej hormonálnej odozvy žien a to najmä vo vzťahu k menštruačnému cyklu, možno očakávať určité hematologické zmeny, ktoré by za určitých okolností mohli ovplyvniť aj výsledky v biologickom pase športovkyne. V rámci projektu VEGA1/0707/22 (Špecifiká variability hematologických ukazovateľov sledovaných v biologickom pase športovca) sme sa zamerali na posúdenie potenciálneho vplyvu menštruácie na výsledky v ABP.

Metodika

Výskum bol realizovaný formou kazuistiky na štyroch vytrvalostných vrcholových športovkyňach (18-24 rokov), ktoré sa venujú atletickej chôdzi, resp. biatlonu. Každá športovkyňa absolvovala 4 – 5 testovaní, ktoré sa realizovali u každej z nich individuálne na základe menštruačného cyklu. Testovania prebiehali chronologicky v časovom slede: T¹ 10 – 8 dní pred menštruáciou (ďalej M), T² 4 – 3 dni pred M, T³ počas M, T⁴ 1 – 2 dni po M, T⁵ 9 – 10 dní po M. Všetky testovania boli realizované za rovnakých podmienok a podľa pravidiel WADA. Odbery boli realizované o 8:00 hod. ± 30min nalačno. Porovnávaná bola hladina hemoglobínu, retikulocytov, OFF-skóre ($Hb \cdot 10^{-6} \cdot \sqrt{\text{retikulocyty } \%}$), erytropoetínu, progesterónu a estradiolu športovkýň. Využitie boli vysoko spoľahlivé analyzátory Mindray BC 6200, resp. Mindray BC 6000.

Výsledky výskumu

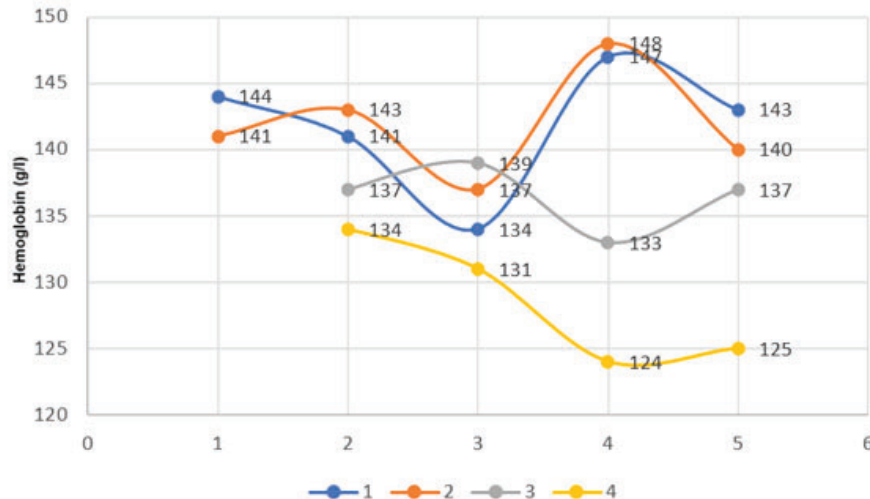
Výsledky výskumu ukazujú, že menštruačný cyklus môže u niektorých športovkýň zásadne ovplyvniť údaje, ktoré sú sledované v biologickom pase športovca. Ako vidíme na obrázku 1, u športovkýň 1,2 bol zaznamenaný maximálny rozdiel v hladine hemoglobínu medzi meraním počas menštruácie (odber T³) kedy bola nameraná hladina 134, resp. 137 g.l⁻¹ a odberom po menštruácii (T⁴), kedy boli namerané hodnoty 147, resp. 148 g.l⁻¹, čo znamená, že bola zaznamenaná zmena o 13, resp. 11 g.l⁻¹.

V prípade športovkýň 1,2 ide o športovkyne, ktoré mali menštruáciu. Športovkyne 3,4 nemali menštruáciu, teda v ich prípade išlo o očakávaný priebeh menštruácie, podľa predchádzajúceho cyklu. V ich prípade bol zaznamenaný opačný trend, keďže u nich v období po očakávanej menštruácii (ktorú napokon nemali) došlo k poklesu hladiny hemoglobínu.

Pri ďalšom sledovanom ukazovateli a to retikulocytoch sme nezaznamenali jednoznačný trend, ale ako vidíme na obrázku 2, u športovkýň 1,2 sme opäť zaznamenali vyššiu variáciu.

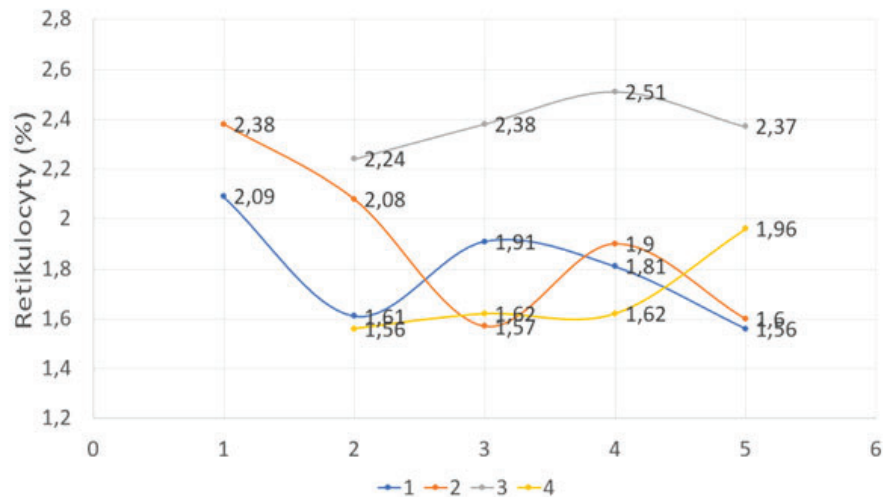
Obrázok 1./ Figure 1.

Porovnanie hladiny hemoglobínu ($1=T^1$ 10 – 8 dní pred M, $2=T^2$ 4 – 3 dni pred M, $3=T^3$ počas M, $4=T^4$ 1 – 2 dni po M, $5=T^5$ 9 – 10 dní po M)./ Comparison of hemoglobin levels ($1=T1$ 10-8 days before M, $2=T2$ 4-3 days before M, $3=T3$ during M, $4=T4$ 1-2 days after M, $5=T5$ 9-10 days after M).



Obrázok 2./ Figure 2.

Porovnanie podielu retikulocytov ($1=T^1$ 10 – 8 dní pred M, $2=T^2$ 4 – 3 dni pred M, $3=T^3$ počas M, $4=T^4$ 1 – 2 dni po M, $5=T^5$ 9 – 10 dní po M)./ Comparison of the proportion of reticulocytes ($1=T1$ 10 - 8 days before M, $2=T2$ 4 - 3 days before M, $3=T3$ during M, $4=T4$ 1 - 2 days after M, $5=T5$ 9 - 10 days after M).



Obe mali maximum retikulocytov pri T1 a to 2,38, resp. 2,09 %, pričom ich najnižšie hodnoty retikulocytov boli 1,57, resp. 1,56 %, avšak v iných fázach menštruačného cyklu. Teda v ich prípade išlo o zmenu o 0,81, resp. 0,53 percentuálneho bodu. U športovkýň 3,4, ktoré nemali menštruáciu boli zmeny menšie a to 0,4, resp. len 0,27 percentuálneho bodu.

V prípade OFF- skóre sme rovnako nezaznamenali jednoznačný trend. Na obrázku 3 vidíme, že zmeny skóre dosahovali 10-18.

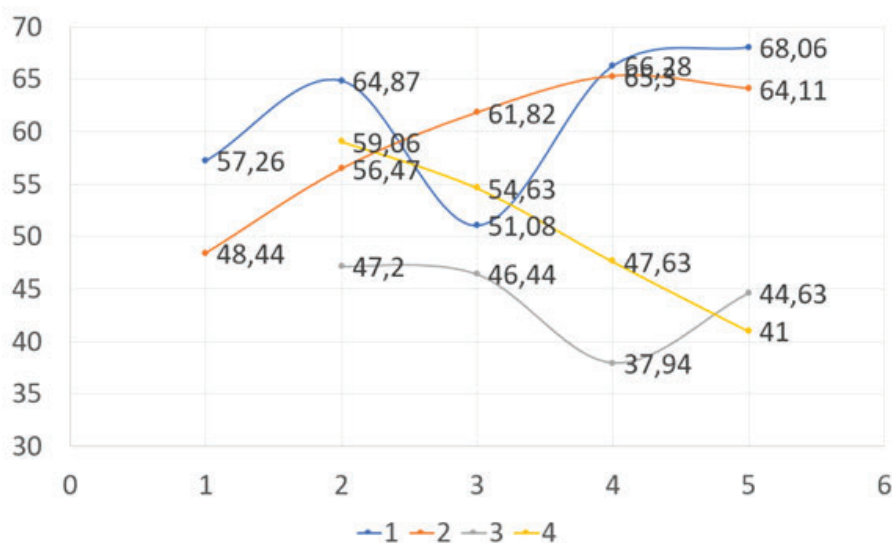
Okrem týchto troch ukazovateľov, ktoré sa sledujú v biologickom pase športovca sme na dokreslenie sledovali aj hormonálnu odozvu, kde sme sa zamerali na erytropoetín, estradiol a progesterón. Pri hormonálnych zmenách môžeme konštatovať, že športovkyne 1,2 (ktoré mali menštruáciu) mali

výraznejšiu hormonálnu variáciu oproti športovkyňam 3,4 (ktoré nemali menštruáciu). Pri estradiole bol u športovkýň 1,2 rozdiel 1751,6 pmol.l⁻¹ (min. 149 max. 1900,6 pmol.l⁻¹), resp. 1435,46 pmol.l⁻¹ (min. 83,84 max. 1519,3 pmol.l⁻¹), kým u športovkýň 3,4 bol rozdiel len 191,7 pmol.l⁻¹ (min. 191,9 max. 383,6 pmol.l⁻¹), resp. 117,17 pmol.l⁻¹ (min. 57,03 max. 174,2 pmol.l⁻¹).

Pri progesteróne bol u športovkýň 1,2 rozdiel 20,98 nmol.l⁻¹ (min. 2,82 max. 23,8 nmol.l⁻¹), resp. 2,38 nmol.l⁻¹ (min. 1,49 max. 3,87 nmol.l⁻¹), kým u športovkýň 3,4 bol rozdiel len 0,39 nmol.l⁻¹ (min. 1,51 max. 1,9 nmol.l⁻¹), resp. 0,27 nmol.l⁻¹ (min. 0,84 max. 1,11 nmol.l⁻¹). Pri progesteróne tiež môžeme konštatovať výraznejšiu variáciu u športovkýň s menštruáciou.

Obrázok 3./ Figure 3.

Porovnanie zmien OFF-skóre (1=T¹ 10 - 8 dní pred M, 2=T² 4 - 3 dni pred M, 3=T³ počas M, 4=T⁴ 1 - 2dni po M, 5=T⁵ 9 - 10 dní po M)./ Comparison of OFF-score changes (1=T¹ 10 - 8 days before M, 2=T² 4 - 3 days before M, 3=T³ during M, 4=T⁴ 1 - 2 days after M, 5=T⁵ 9 - 10 days after M).



Podobný trend rozdielov medzi športovkyňami s menštruáciou a športovkyňami, ktoré menštruáciu nemali vidíme aj pri erytropoetíne, keďže u športovkýň 1,2 bol rozdiel 9,1 mlU.ml⁻¹ (min. 10,7 max. 19,8 mlU.ml⁻¹), resp. 7,1 mlU.ml⁻¹ (min. 11,5 max. 18,6 mlU.ml⁻¹), kým u športovkýň 3,4 bol rozdiel len 1,8 mlU.ml⁻¹ (min. 6,21 max. 8,01 mlU.ml⁻¹), resp. 5,6 mlU.ml⁻¹ (min. 12,5 max. 18,1 mlU.ml⁻¹). Pri erytropoetíne tiež môžeme konštatovať výraznejšiu variáciu u športovkýň s menštruáciou.

Diskusia

Výsledky výskumu naznačujú dve pozoruhodné zistenia, ktoré je samozrejme potrebné overiť na širšej skupine športovkýň. Hoci Mullen et al. (2020) naznačujú, že vplyv menštruácie na ukazovatele monitorované v ABP je zanedbateľný, naše zistenia naopak ukazujú, že najmä u športovkýň s menštruáciou sú hematologické zmeny v priebehu menštruačného cyklu na úrovni, ktoré môže signalizovať falošnú pozitivitu z pohľadu interpretácie dát v ABP.

Pri hemoglobíne počíta ABP s rozptylom hladiny cca 28-29 g.l⁻¹, teda od prípadnej stredovej hodnoty by zmena nemala presiahnuť 14 g.l⁻¹. Samozrejme, hodnoty hemoglobínu sa môžu meniť v celom predikovanom rozsahu a tak môžu byť bližšie k dolnej, alebo hornej hranici. V takom prípade aj nami zaznamenané zmeny 11 a 13 g.l⁻¹ môžu zvýrazniť možnosť falošnej positivity.

Podobne ako pri hemoglobíne, tak aj pri retikulocytoch nepôsobia zmeny počas menštruačného cyklu až tak výrazne, avšak ak si uvedomíme, maximálny predikovaný rozptyl je na úrovni jedného percentuálneho bodu, teda pol percentuálneho bodu od stredu, tak rozdiely o 0,53, resp. 0,81 percentuálneho bodu u športovkýň 1,2 nie sú z pohľadu ABP vôbec zanedbateľné.

Pri OFF-skóre počíta ABP z rozptylom skóre do 45, teda od prípadnej stredovej hodnoty by zmena nemala presiahnuť 22. Samozrejme, hodnoty OFF-skóre sa môžu meniť v celom predikovanom rozsahu

a tak môžu byť bližšie k dolnej, alebo hornej hranici. V takom prípade aj nami zaznamenané zmeny skóre viac ako 10-18 môžu zvýrazniť možnosť falošnej pozitivity.

Z výsledkov výskumu vyplýva, že hematologická variácia je výraznejšia u športovkýň, ktoré majú menštruáciu. U týchto športovkýň sa pochopiteľne prejavila aj vyššia hormonálna variácia. Na základe týchto zistení je nutné konštatovať, že menštruačný cyklus u športovkýň by mohol v niektorých prípadoch zásadne ovplyvniť výsledky v ABP a to až tak, že by to mohlo signalizovať falošnú pozitivitu. V súlade so zisteniami Celeca et al. (2003, 2010) je potrebné uvažovať o podobnom vplyve aj na mužský organizmus. Celkovo možno vnímať biologický pas športovca ako vhodný nástroj naznačujúci porušenie antidopingových pravidiel, avšak v súlade s viacerými autormi treba veľmi citlivo pristupovať k interpretácii záverov s dôrazom na potenciálne limity (Banfi 2011, Banfi et al., 2011, Lippi et al., 2012).

Záver

Biologický pas športovca je vhodný ukazovateľ na identifikáciu potenciálnej indikácie krvného dopingu, avšak ako ukazujú mnohé prípady z posledných rokov, pomerne často dochádza k prejavom falošnej pozitivity, ktorú musia športovci neraz zdĺhavo a náročne odôvodňovať. Hoci je jednoznačné, že ABP je relatívne spoľahlivý, aj výsledky nášho výskumu naznačujú potenciálne riziká nesprávnej interpretácie dát. Dáta, ktoré boli analyzované vo vzťahu k menštruačnému cyklu naznačujú, že infradiánna variácia, hlavne u športovkýň s pravidelnou menštruáciou môže zásadne vplyvať na hematologické parametre monitorované v biologickom pase športovkýň. Zaznamenané rozdiely v prípade hemoglobínu až na úrovni 13, resp. 11 g.l⁻¹ a v prípade retikulocytov o 0,81, resp. 0,53 percentuálneho bodu v prípade športovkýň, ktoré mali menštruáciu ukazujú významné rozdiely z pohľadu interpretácie výsledkov v ABP. Hoci interpretáciu výsledkov limituje početnosť výskumnej vzorky, na základe našich zistení odporúčame, aby boli v biologickom pase jednoznačne zaznamenávané fázy menštruačného cyklu, pričom pokladáme za nevyhnutné, aby bol vplyv menštruačného cyklu naďalej monitorovaný na širšej skupine športovkýň, keďže cieľom WADA a aplikácie biologického pasu športovca je čistý šport a nie vystavenie riziku falošného obvinenia nevinných športovcov. Z uvedeného vyplýva, že ABP je vhodným nástrojom pre boj proti dopingu, avšak je nevyhnutné prihliadať na jeho limity, ktoré treba naďalej skúmať.

Literatúra

- Banfi, G. (2011) Limits and pitfalls of Athlete's Biological Passport. *Clin Chem Lab Med*, 49, 1417–1421.
- Banfi, G., Lombardi, G., Colombini, A., & Lippi, G. (2011) Analytical variability in sport hematology: its importance in an antidoping setting. *Clin Chem Lab Med*, 49, 779–782.
- Bachman, E. et al. (2014). Testosterone Induces Erythrocytosis via Increased Erythropoietin and Suppressed Hecidin: Evidence for a New Erythropoietin/Hemoglobin Set Point. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 69(6), 725–735.
- Brownlee, K. K., Moore A. W., & Hackney, A. C. (2005). Relationship between circulating cortisol and testosterone: influence of physical exercise. *J Sports Sci Med.*, 4(1), 76–83.
- Cervi, A., & Balitsky, K. A. (2017). Testosterone use causing erythrocytosis. *CMAJ*, 189(41) E1286–E1288
- Celec, P., Ostatníková, D., Putz, Z., Hodosy, J., Burský, P., Stárka, L., & Kúdela, M. (2003). Circatrigintan Cycle of Salivary Testosterone in Human Male. *Biological Rhythm Research*, 34(3), 305–315.
- Celec, P. & Ostatníková, D. (2010) Infradian variations of salivary estradiol and progesterone in women. *Biological Rhythm Research*, 41(2), 99–104.
- Lippi, G., Plebani, M., Sanchis-Gomar, F., & Banfi, G. (2012). Current limitations and future perspectives of the Athlete Blood Passport. *Eur J Appl Physiol*, 112, 3693–3694.
- Mullen, J., Baekken, L., Bergström, H., Björkhem Bergman, L., Ericsson, M., & Ekström, L. (2020). Fluctuations in hematological athlete biological passport biomarkers in relation to the menstrual cycle. *Drug Test Anal.*, 12(9), 1229–1240. doi: 10.1002/dta.2873. Epub 2020 Jun 18. PMID: 32497419.
- Pupiš, M. (2021). Biologický pas športovca - benefity a riziká interpretácie výsledkov = Athlete biological passport - benefits and risks of the interpretation of the results. *Česká kinantropologie*, 25(3–4), 97–105.

World Anti Doping Agency. (2017). *Athlete Biological passport operating guidelines*. [online] dostupné na internete: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/guidelines_abp_v6_2017_jan_en_final.pdf

Prof. PaedDr. Martin Pupiš, PhD.
FTVŠaZ UMB
Tajovského 40
97401 Banská Bystrica
Slovenská republika
martin.pupis@umb.sk