

PASAULES ANTIDOPINGA AĢENTŪRA

Godīga spēle

***WADA tehniskais dokuments* – TD2021CG/LH**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Dokumenta numurs: | TD2021CG/LH | Versijas numurs: | 1.0 |
| Sarakstījusi:Pārskatījusi: | *WADA* zinātnes/*CG*/LH darba grupa*WADA* Laboratoriju ekspertu grupa | Apstiprinājusi: | *WADA* izpildkomiteja |
| Datums: | 2020. gada 21. decembris | Spēkā stāšanās diena: | 2021. gada 1. aprīlis |

# ANALĪZES CILVĒKA HORIONU GONADOTROPĪNA (*hCG*) UN LUTEINIZĒJOŠĀ HORMONA (LH) KONSTATĒŠANAI VĪRIEŠU DZIMUMA *SPORTISTU* URĪNĀ, ZIŅOŠANA PAR ŠĀDĀM ATRADĒM UN TO PĀRVALDĪBA

Šis *tehniskais dokuments* (*TD*) ir izstrādāts, lai nodrošinātu saskaņotu pieeju ziņošanai par paaugstinātu cilvēka horionu gonadotropīna (*hCG*) un luteinizējošā hormona (LH) koncentrāciju urīnā un šādas atrades pārvaldībai.

*hCG* α/β heterodimēra atrade vīriešu dzimuma *sportistu* urīnā koncentrācijā, kas ir augstāka par noteikto *izšķiršanas robežu* (*DL*), var norādīt, ka *hCG* ir *lietots* dopingam. Tomēr, tā kā paaugstinātu *hCG* koncentrāciju urīnā saista ar patoloģiju, piemēram, sēklinieku vēzi, ir jāapsver citi iespējamie cēloņi, kas nav saistīti ar dopingu un var izraisīt paaugstinātu *hCG* koncentrāciju vīriešu dzimuma *sportistu* urīna *paraugos*.

*[Piezīme. hCG α/β heterodimērs ietver nešķeltu α/β heterodimēru un šķeltu α/β heterodimēru, kurā β frakcija (parasti) ir sadalīta starp 47. un 48. atliekvielu. Lai gan α un β frakcijas ir sadalītas, tās sašķeltajā hCG kopā satur nekovalentās saites.*

*Imūntestos, kas izstrādāti atbilstīgi nešķeltajam hCG, parasti mēra divas α/β heterodimēriskā hCG molekulas. Turpretī “kopējā hCG” pārbaudes metodēs papildus α/β heterodimēram mēra arī citas hCG molekulārās formas (piemēram, α un β frakcijas vai noārdīšanās fragmentus, piemēram, β pamatfragmentu).]*

Paaugstināts kopējā LH daudzums vīriešu dzimuma *sportistu* urīnā var arī norādīt, ka šī *aizliegtā viela* ir ievadīta dopingam vai ka ir *lietotas* citas *aizliegtās vielas*, kas palīdz atbrīvot endogēno LH, piemēram, gonadotropīna atbrīvotājfaktori (t. i., gonadotropīna atbrīvotājhormons (*GnRH*) un tā sintētiskie analogi) vai estrogēna blokatori (antiestrogēni, aromatāzes inhibitori). Turpretim pazemināta LH koncentrācija vīriešu dzimuma *sportistu* urīnā var norādīt uz androgēnu *lietošanu* vai pierādīt šādu lietošanu.

*[Piezīme. Kopējais LH ietver α/β LH heterodimēru, kā arī atdalītas β frakcijas un to noārdīšanās produktus.]*

Šis *TD* ir izstrādāts, lai palīdzētu laboratorijām ziņot par *hCG* un LH analīžu rezultātiem un *antidopinga organizācijām* (*ADO*) noteikt, vai ir noticis antidopinga noteikumu pārkāpums (*ADRV*).

# 1.0. Ievads

• *hCG* un LH ir aizliegti tikai vīriešu dzimuma *sportistiem*.

• Gan *hCG*, gan LH ir heterodimēriski proteīni, kas ietver divas (2) polipeptīdu ķēdes, kopēju α frakciju un unikālu β frakciju (*hCG*β, LHβ). Bioloģiski aktīvs ir tikai α/β heterodimērs, ko raksturo hormonam raksturīgā β frakcija.

• Urīnā ir sastopamas dažādas *hCG* un LH molekulārās formas, tostarp nešķeltie un šķeltie α/β heterodimēri, kā arī atdalītas α un β frakcijas un to noārdīšanās produkti (piemēram, β pamatfragmenti, šķeltie produkti utt.).

• Vīriešu organismā *hCG* un LH stimulē testosterona veidošanos, ko izraisa Leidiga šūnas, piesaistoties *CG*/LH receptoriem un tos aktivizējot.

• Veselu vīriešu, kuri nelieto dopingu, urīnā heterodimēriskais *hCG* vai nu nav atrodams, vai ir atrodams tikai ļoti zemā līmenī (parasti zem 2 IU/l). Tomēr paaugstinātu heterodimēriskā *hCG*, brīvā *hCG*β, *hCG*β pamatfragmentu līmeni izraisa daži ļaundabīgi audzēji,jo īpaši sēklinieku vēža gadījumos. Heterodimērisko *hCG* var veidot arī dzimumšūnu audzēji ārpus sēkliniekiem. Turklāt *hCG*β var veidot dažādi vēža veidi, kas nav trofoblastiski.

• Endogēno LH parasti var atrast veselu vīriešu urīnā. LH ir īsāks cirkulācijas puslaiks nekā *hCG*. Cirkulējošs LH izraisa negatīvu reakciju, veidojot endogēno testosteronu vai ievadot androgēnus.

# 2.0. Pirmsanalītiskā procedūra

• Pirms sadalīšanas alikvotās, lai veiktu analīzi, *parauga* pudelē ir jāveic urīna *parauga* homogenizācija.

• Analīzei paņemtās alikvotas ir jāanalizē nekavējoties. Tomēr nepieciešamības gadījumā alikvotas var uzglabāt atdzesētā veidā septiņas (7) dienas līdz analīzei. Alikvotas nedrīkst sasaldēt.

• Ja alikvotas uzglabā atdzesētā veidā, pēc izņemšanas no glabātavas atkārtoti jāveic to suspendēšana (piemēram, izmantojot pipeti, samaisot vai sakratot). Pirms ievietošanas instrumentā analīzes veikšanai, ir jānogaida, līdz alikvotas sasilst līdz istabas temperatūrai.

Varbūtēja *nelabvēlīga analīžu rezultāta* (*PAAF*) gadījumā *paraugu* “A” daļām, ko glabā –20 °C temperatūrā, iespējami īsā laikā ir jāveic apstiprināšanas procedūra (*CP*).

*Paraugu* “B” daļām, kas saistītas ar *nelabvēlīgu analīžu rezultātu* (*AAF*) attiecībā uz *parauga* “A” daļā konstatētu *hCG*, jāveic *CP* vai tās iespējami īsā laikā jānogādā uz saldētavu (–70 *°*C vai zemākā temperatūrā), kur tās jātur līdz analīžu veikšanai.

**3.0. Analītiskās *pārbaudes* stratēģija**

3.1. *hCG* analītiskā *pārbaude*

3.1.1. Sākotnējās *pārbaudes* procedūra (*ITP*)

• *ITP* vajadzībām var izmantot pārbaudes metodes (imūntestu un hromatogrāfijas masas spektrometrijas pārbaudes metodes[1]), ko izmanto vai nu *hCG* α/β heterodimēra, vai “kopējā *hCG*” noteikšanai.

*[Piezīme. Vīriešiem, kuriem ir “pārmantots hCG” – hCG sekrēcijas anomālija, kas ir acīmredzami fizioloģiska un nav patoloģiska –, serumā un urīnā pastāvīgi ir paaugstināta hCGβ koncentrācija. Tas var izraisīt pozitīvu rezultātu, ja izmanto pārbaudes metodi, kas paredzēta kopējā hCG noteikšanai. Tāpēc praktisku iemeslu dēļ (piemēram, ja nav automatizētas pārbaudes metodes heterodimēriskā hCG noteikšanai) laboratorija var arī apsvērt kopējā hCG līmeņa noteikšanu, tikai veicot sākotnējo priekšatlases pārbaudi, un pēc tam ikvienam paraugam, kam ir aizdomīgi rezultāti (> 5,00 IU/l), veikt ITP, izmantojot heterodimēriskam hCG raksturīgu pārbaudes metodi.]*

• Laboratorija izmanto vismaz vienu kvalitātes kontroles (*QC*) paraugu līmenī, kas ir tuvu 5 IU/l (imūntesti) vai 2 IU/l (hromatogrāfijas masas spektrometrijas pārbaudes metodes). *QC* veikto *hCG* mērījumu konsekvenci uzrauga, izmantojot *QC* tabulas.

*[Piezīme. QC paraugus ieteicams sagatavot analīzes matricē (urīnā), sadalīt alikvotās un līdz lietošanai uzglabāt sasaldētus (–70 °C vai zemākā temperatūrā).]*

3.1.2. Apstiprināšanas procedūra (*CP*)

• *CP* vajadzībām laboratorijas piemēro pārbaudes metodi, kas ir validēta kā nolūkam atbilstīga tieši *hCG* α/β heterodimēra noteikšanai un kvantitatīvai noteikšanai (imūntests vai hromatogrāfijas masas spektrometrijas pārbaudes metode[1]). Gan *parauga* “A” daļas, gan *parauga* “B” daļas *CP* vajadzībām izmanto vienu un to pašu pārbaudes metodi (imūntestu vai *LC-MS/MS* pārbaudes metodi).

*[Piezīme. Nolūkam atbilstīgi imūntesti hCG α/β heterodimēra kvantitatīvai noteikšanai urīnā ir, piemēram, Roche hCG STAT, DELFIA un Siemens EXL Dimension pārbaudes metodes. Tomēr pirms pārbaudes metodes piemērošanas paraugu analīzei laboratorija to validē un iekļauj ISO/IEC 17025 standarta akreditācijas darbības jomā.]*

• Pieļaujamās vērtības šādiem α/β heterodimēriskā *hCG* pārbaudes metodes veiktspējas parametriem, kas noteikti *CP* pārbaudes metodes validācijas laikā, ir norādītas turpmāk iekļautajā tabulā.

|  |  |
| --- | --- |
| **Validācijas parametrs** | **Apstiprinājuma kritērijs** |
|  | **Imūntesti** | ***LC-MS/MS*** |
| ***sr***(Atkārtojamība) | ≤ 10 %(pie 5,00 IU/l) | ≤ 10 %(pie 2,00 IU/l) |
| ***sw***(Starpposma precizitāte) | ≤ 15 %(pie 5,00 IU/l) | ≤ 15 %(pie 2,00 IU/l) |
| ***LOQ***\*(kvantifikācijas robeža) | ≤ 3,00 IU/l) | ≤ 0,50 IU/l) |
| ***uc\_Max***(%)(maksimālā kombinētā standarta nenoteiktība) | 20 %(pie 5,00 IU/l) | 20 %(pie 2,00 IU/l) |

\* ***LOQ*** ir definēta kā zemākā *hCG* koncentrācija urīnā, kas atbilst noteiktajam *uc\_Max* kritērijam.

• Ja laboratorija izmanto *ITP* imūntestu, kas ir specifisks kopējā *hCG* līmeņa noteikšanai, tad *CP* vajadzībām izmanto *hCG* α/β heterodimēra noteikšanai specifisku pārbaudes metodi (*LC-MS/MS* vai imūntestu).

• Ja laboratorija izmanto *hCG* α/β heterodimēra noteikšanai specifiskus imūntestus gan *ITP*, gan *CP* vajadzībām, tad apstiprinošais imūntests atšķiras no *ITP* nolūkos piemērotā imūntesta.

• Ja laboratorija izmanto uz *LC-MS/MS* balstītu pārbaudes metodi, kas ir specifiska *hCG* α/β heterodimēra noteikšanai *ITP* vajadzībām, tad *CP* vajadzībām var izmantot to pašu pārbaudes metodi vai imūntestu, kas balstīts uz *LC-MS/MS* (kas arī ir specifisks *hCG* α/β heterodimēra noteikšanai).

• Laboratorijas, kurām nav analītisko spēju veikt *CP* attiecībā uz *hCG*, izmantojot (otru) imūntestu, kas paredzēts *hCG* α/β heterodimēra noteikšanai, pēc apspriešanās ar atbildīgo *pārbaudes iestādi* nosūta *paraugu* analīzei uz citu laboratoriju, kurai ir analītiskās spējas.

*[Piezīme. Otrais imūntests, kas specifisks hCG α/β heterodimēra noteikšanai, CP vajadzībām ir nepieciešams tikai tad, ja laboratorija ITP vajadzībām izmanto hCG α/β heterodimēra noteikšanai specifisku imūntestu un tai nav validētas LC-MS/MS pārbaudes metodes.]*

*[Piezīme. Papildu norādījumus skat. WADA vadlīnijās “Conducting and Reporting Subcontracted Analysis and Further Analysis for Doping Control” [Dopinga kontroles analīzes, ko uzticēts veikt saskaņā ar apakšlīgumu, un papildu analīžu veikšana un ziņošana par tām].]*

• Laboratorija izmanto gan negatīvu urīna *QC* paraugu (kur koncentrācija ir zemāka par (<) attiecīgo *DL*), gan pozitīvu urīna *QC* paraugu (6–15 IU/l). *QCP* veikto *hCG* mērījumu konsekvenci uzrauga, izmantojot *QC* tabulas.

• *Paraugiem*, kuriem tiek iegūts *PAAF* attiecībā uz *hCG* (attiecīgi α/β heterodimērs vai “kopējais” *hCG*), iespējami drīz jāveic *parauga* “A” daļas *CP*. Alternatīva iespēja – *parauga* “A” daļas un *parauga* “B” daļas atlikumu līdz analīzei ir nekavējoties jāsasaldē (–70 °C vai zemākā temperatūrā).

• Lai veiktu *parauga* “A” un “B” daļas *CP*, mērījumus veic trīs (3) *paraugu* alikvotām, izņemot gadījumus, kad *parauga* tilpums nav pietiekams; šādos gadījumos var izmantot zemāku maksimālo atkārtojumu skaitu.

3.2. LH analītiskā *pārbaude*

3.2.1. Sākotnējās *pārbaudes* procedūra (*ITP*)

• Laboratorijām *ITP* laikā jānosaka kopējā LH koncentrācija urīnā, izmantojot **kopējā LH līmeņa** pārbaudes metodi, ar ko ir iespējams izmērīt kopējo LH imūnreaktivitātes saturu, t. i., konstatēt α/β heterodimēru, kā arī brīvo β ķēdi un β pamatfragmentu (piemēram, *Siemens Immulite*, *DELFIA*).

• Laboratorija izmanto vismaz vienu *QC* paraugu, kurā kopējā LH koncentrācija ir robežās no 5 līdz 50 IU/l. *QC* veikto LH kopējā daudzuma mērījumu konsekvenci uzrauga, izmantojot *QC* tabulas.

*[Piezīme. QC paraugus ieteicams sagatavot analīzes matricē (urīnā), sadalīt alikvotās un līdz lietošanai uzglabāt sasaldētus (–70 °C vai zemākā temperatūrā).]*

3.2.2. Apstiprināšanas procedūra (*CP*)

• Ja *ITP* laikā attiecībā uz LH ir iegūts *PAAF*, laboratorija pārbauda, vai *paraugā* nav gonadotropīna atbrīvotājfaktoru (piemēram, buserelīna, gonadorelīna vai leiprorelīna), antiestrogēnisku vielu un aromatāzes inhibitoru klātbūtnes.

*[Piezīme. Antiestrogēnisku vielu un aromatāzes inhibitoru analīzei ir jābūt iekļautai laboratorijas standarta analītiskās pārbaudes izvēlnē. Gonadotropīna atbrīvotājfaktoru analīze var nebūt iekļauta laboratorijas kārtējās analītiskās pārbaudes izvēlnē, tomēr laboratorijām jābūt tādai analītiskajai spējai, lai šo metodi piemērotu paaugstinātu LH atražu CP.]*

# 4.0. Rezultātu interpretācija un ziņošana

## 4.1. *hCG* rezultāti

4.1.1. *ITP* rezultāti

i) Varbūtējs *nelabvēlīgs analīžu rezultāts* (*PAAF*)

• *ITP* konstatē *PAAF* attiecībā uz *hCG*, ja *hCG* (vai nu *hCG* α/β heterodimēra, vai “kopējā” *hCG*) koncentrācija *paraugā* ir lielāka nekā (>) 5,00 IU/l, veicot imūntestus, vai lielāka nekā (>) 2,00 IU/l, izmantojot *LC-MS/MS* pārbaudes metodes.

*[Piezīme. Saskaņā ar Laboratoriju starptautisko standartu (ISL)[2], ja ir PAAF attiecībā uz hCG, laboratorija var rakstveidā sazināties ar pārbaudes iestādi (vai rezultātu pārvaldības iestādi, ja tās atšķiras), lai noskaidrotu, vai attiecībā uz hCG pastāv apstiprināta terapeitiskās lietošanas atļauja (TLA). Laboratorijai jānorāda hCG koncentrācija, kas noteikta ITP. Tomēr laboratorijai tā nav obligāta prasība; laboratorija pēc saviem ieskatiem var apstiprināt PAAF.*

*Norādījumus par to, vai laboratorijai ir vai nav jāuzsāk apstiprināšana, pamatojoties uz apstiprinātu TLA, pārbaudes iestāde (vai rezultātu pārvaldības iestāde, ja tās atšķiras) laboratorijai sniedz rakstveidā. Ja apstiprināšana netiek uzsākta, pārbaudes iestāde (vai rezultātu pārvaldības iestāde, ja tās atšķiras) iesniedz WADA apstiprinātās TLA kopiju vai norāda saistīto TLA numuru, ja šī TLA ir iesniegta ADAMS sistēmā.]*

ii) Negatīvs rezultāts

• Laboratorijai jāuzskata *hCG* rezultāts par negatīvu rezultātu, ja *ITP* laikā tiek konstatēta attiecīgi *hCG* α/β heterodimēru vai “kopējā *hCG*” koncentrācija, kas ir vienāda ar 5,00 IU/l vai mazāka par to (≤), veicot imūntestus, vai vienāda ar 2,00 IU/l vai mazāka par to, izmantojot *LC-MS/MS* pārbaudes metodes.

*[Piezīme. Laboratorijai jāziņo par šiem rezultātiem kā par negatīviem rezultātiem, ja vien tā, pamatojoties uz ITP metodes validācijas datiem, nesecina, ka rezultāts ir uzskatāms par PAAF un attiecībā uz to jāveic CP.]*

4.1.2. *CP* rezultāti

i) *Nelabvēlīgs analīžu rezultāts* (*AAF*)

• Laboratorija ziņo par *AAF* attiecībā uz *hCG*, ja *CP* ir apstiprinājusies *hCG* α/β heterodimēra klātbūtne koncentrācijā, kas lielāka par (>) 5,00 IU/l *DL* (imūntesti) vai 2,00 IU/l (*LC-MS/MS*).

• Urīna *paraugiem*, kuru izmērītās īpatnējā svara vērtības (*SGSample*) ir lielākas par (>) 1,018, koriģē *DL*.

*[Piezīme. Urīna paraugiem, kuriem SGSample > 1,018, hCG DL koriģē saskaņā ar 1. formulu:*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| (1. formula) | *DLadj =* | *SGSample\_Max – 1* | *· DL* |
| (1,020 – 1) |

*kur DL = 5,00 IU/l, veicot imūntestus, un 2,00 IU/l, izmantojot LC-MS/MS pārbaudes metodes.*

*Norādījumus par SGSample\_Max aprēķināšanu skat. spēkā esošajā TD DL[3].*

*DLadj izsaka, saīsinot līdz trīs nozīmīgajiem skaitļiem (piemēram, DLadj 5,326 izsaka kā 5,32; pēdējās nulles (0) uzskata par nozīmīgiem skaitļiem, piemēram, 5,30; 6,00).]*

• Ziņojot par *AAF* attiecībā uz *hCG*, laboratorija pārbaudes ziņojumā iekļauj *hCG* α/β heterodimēra vidējo koncentrāciju (izsakot starptautiskajās mērvienībās uz litru (IU/l) līdz trīs (3) nozīmīgajiem skaitļiem), kas iegūta, *CP* laikā veicot atkārtojumus, kā arī relatīvo kombinēto standarta nenoteiktību *uc* (%), kuras vērtības ir tuvas *DL*, ko noteikusi laboratorija metodes validācijas laikā.

• Ja iegūts *AAF* attiecībā uz *hCG*, pārbaudes ziņojumam pievieno piezīmi ar ieteikumu *ADO* paziņot *sportistam*, ka viņam ir jāveic klīniskie izmeklējumi, lai izslēgtu visus patoloģiskos cēloņus, kas izraisa paaugstinātu *hCG* koncentrāciju urīnā (skat. 1. pielikumu).

ii) Negatīvs rezultāts

• Laboratorija paziņo apstiprināšanas rezultātu attiecībā uz *hCG* kā negatīvu rezultātu, ja *CP* laikā tiek konstatēta *hCG* α/β heterodimēru koncentrācija, kas ir vienāda ar 5,00 IU/l vai mazāka par to (≤), veicot imūntestus, vai vienāda ar 2,00 IU/l vai mazāka par to, izmantojot *LC-MS/MS* pārbaudes metodes, vai vienāda ar koriģēto *DL* vērtību vai mazāka par to (≤), ja *SG* > 1,018.

• *CP* negatīvs rezultāts attiecībā uz *hCG* α/β heterodimēru ir saistīts ar *PAAF*, kas attiecīgā gadījumā iegūts *ITP* vai nu attiecībā uz “kopējo *hCG*”, vai attiecībā uz nešķelto *hCG*. Tāpēc šajos gadījumos laboratorija pārbaudes ziņojumam pievieno piezīmi ar ieteikumu *ADO* paziņot *sportistam*, ka viņam ir jāveic klīniskie izmeklējumi, lai izslēgtu iespējamību, ka paaugstinātai *hCG* koncentrācijai urīnā ir patoloģisks cēlonis (skat. 1. pielikumu).

## 4.2. LH rezultāti

Urīna *paraugiem*, kuru *SG*Sample > 1,018, LH koncentrāciju pielīdzina atbilstīgi *SG* = 1,020.

*[Piezīme. Urīna paraugiem, kuru SGSample vērtības ir > 1,018, LH koncentrāciju paraugā koriģē saskaņā ar 2. formulu:*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| (2. formula) | *Concadj* = | (1,020 – 1) | · *Concmeasured* |
| *SGSample\_Max* – 1 |

*Norādījumus par SGSample\_Max aprēķināšanu skat. spēkā esošajā TD DL[3].]*

4.2.1. *ITP* rezultāti

i) Varbūtējs *nelabvēlīgs analīžu rezultāts* (*PAAF*)

• Laboratorija izdara slēdzienu par *PAAF* attiecībā uz LH, ja *ITP* izmērītā kopējā LH koncentrācija (pēc korekcijas, ja urīna *SG* > 1,018) ir lielāka par (>) 60,0 IU/l, lietojot *Immulite* pārbaudes metodi, vai lielāka par (>) 40,0 IU/l, piemērojot *DELFIA* pārbaudes metodi.

• Laboratorija *ADAMS* sistēmā ziņo izmērīto kopējā LH koncentrāciju, kas izteikta saīsināti līdz trīs (3) nozīmīgajiem skaitļiem (pēdējās nulles (0) uzskata par nozīmīgiem skaitļiem, piemēram, 45,0; 110).

ii) Negatīvs rezultāts

• Laboratorija uzskata rezultātu attiecībā uz LH par negatīvu rezultātu, ja *ITP* izmērītā kopējā LH koncentrācija (pēc korekcijas, ja urīna *SG* > 1,018) ir vienāda ar 60,0 IU/l vai mazāka par to (≤), izmantojot *Immulite* pārbaudes metodi, vai vienāda ar 40 IU/l vai mazāka par to (≤), piemērojot *DELFIA* pārbaudes metodi.

• Gadījumos, kad *paraugā* LH nav iespējams konstatēt, laboratorija *ADAMS* sistēmā ziņo, ka “LH koncentrācija bija zemāka nekā noteikšanas robeža (*LOD*)”, un norāda piemērojamo *LOD*.

4.2.2. *CP* rezultāti

i) *Nelabvēlīgs analīžu rezultāts* (*AAF*)

Ja attiecībā uz LH iegūts *PAAF* un ir veiktas pārbaudes, lai noteiktu gonadotropīna atbrīvotājfaktoru, antiestrogēnisku vielu un aromatāzes inhibitoru klātbūtni, laboratorija ziņo par *AAF*, ja *paraugā* ir apstiprināta kāda no šīm *aizliegtajām vielām* (saskaņā ar *TD IDCR*[4]). Turklāt laboratorija paziņo aplēsto LH koncentrāciju (kas izteikta saīsināti līdz trīs (3) nozīmīgajiem skaitļiem).

ii) *Netipiska atrade* (*ATF*)

• Ja attiecībā uz LH ir iegūts *PAAF* un pārbaudēs, kas veiktas, lai noteiktu gonadotropīna atbrīvotājfaktoru, antiestrogēnisku vielu un aromatāzes inhibitoru klātbūtni, ir iegūti negatīvi rezultāti, laboratorija ziņo, ka *paraugam* konstatēta *ATF*. Laboratorija paziņo aplēsto LH koncentrāciju (kas izteikta saīsināti līdz trīs (3) nozīmīgajiem skaitļiem).

**5.0. *Rezultātu pārvaldība***

5.1. *hCG* rezultāti

• Ja attiecībā uz *paraugu* tiek paziņots *AAF* attiecībā uz *hCG* vai negatīvs rezultāts neapstiprinātam *PAAF* attiecībā uz nešķelto vai kopējo *hCG* (t. i., sākotnējam *PAAF* par “kopējo” vai “nešķelto” *hCG* seko negatīvs apstiprinājuma rezultāts attiecībā uz “nešķeltu” *hCG*), *ADO* jābrīdina *sportists* un jāiesaka veikt klīniskus izmeklējumus pieņemamā laika posmā, lai izslēgtu paaugstinātas *hCG* koncentrācijas urīnā patoloģiskos cēloņus (skat. 1. pielikumu). **Klīnisko izmeklējumu laikā *sportistam* nepiemēro *pagaidu aizliegumu piedalīties sacensībās* saistībā ar *AAF*.** Ja *sportistam* veic klīniskos izmeklējumus, *ADO* par to paziņo *WADA*.

*[Piezīme. Neapstiprināta PAAF gadījumus attiecībā uz α/β heterodimērisko (“nešķelto”) hCG vai attiecībā uz “kopējo” hCG var izraisīt hCG noārdīšanās urīnā pēc parauga savākšanas. Tomēr neapstiprināts PAAF attiecībā uz “kopējo” hCG var būt saistīts arī ar patoloģisku cēloni, jo vairums sēklinieku vēža gadījumu ir saistīti ar paaugstinātu brīvā hCGβ un hCGβ pamatfragmentu urīnā.*

*Ar α/β heterodimērisku hCG saistīts AAF vai neapstiprināts PAAF neizslēdz patoloģiska cēloņa iespējamību, jo sēklinieku vēzis ir saistīts arī ar paaugstinātu heterodimēriskā hCG koncentrāciju serumā un urīnā. Šādos gadījumos sportista pienākums ir sniegt medicīnisko informāciju vai klīniskos pierādījumus, kas apliecina, ka heterodimēriskā hCG AAF cēlonis ir patoloģisks stāvoklis.]*

• Ja tiek paziņots, ka *paraugam* ir *AAF* vai apstiprināts negatīvs rezultāts attiecībā uz *hCG* (attiecīgā gadījumā saistīts ar *PAAF* nešķeltam vai kopējam *hCG*), *ADO* ir ieteicams pieņemamā laika posmā (piemēram, 2 nedēļu laikā) pēc sākotnējā rezultāta veikt vismaz vienu (1) papildu pārbaudi bez iepriekšēja paziņojuma. Ja iespējams, *paraugs*, kam veic papildu pārbaudi, būtu jāanalizē tajā pašā laboratorijā, izmantojot tās pašas pārbaudes metodes, ar kurām iegūts sākotnējais rezultāts. Ja ir jāizmanto dažādas laboratorijas, piemēro vismaz to pašu pārbaudes metodi, ar kuru tika apstiprināta *hCG* koncentrācija.

• Ja nav iesniegti klīniskie pierādījumi vai ja klīniskajos izmeklējumos ir noteikts, ka ar *AAF* nav saistīts patoloģisks stāvoklis, piemēro tādu pašu rezultātu pārvaldības procedūru, kādu piemēro gadījumos, kad *AAF* attiecas uz citas(-u) *aizliegtas(-u) vielas(-u)* vai *aizliegtas(-u) metodes(-žu)* *lietošanu*. Novērtējot sākotnējo rezultātu un klīnisko informāciju, ir jāņem vērā *parauga(-u)* papildu pārbaudes rezultāti.

*[Piezīme. Piemēram, negatīvs parauga papildu pārbaudes rezultāts drīzāk norāda uz hCG iepriekšēju lietošanu un patoloģiska stāvokļa neesību.]*

• Ja *sportists* iesniedz medicīnisku informāciju, kas apstiprina apgalvojumu, ka *AAF* ir izraisījis fizioloģisks vai patoloģisks stāvoklis, šādu informāciju ņem vērā, un, pamatojoties uz to, *ADO* beidz rezultātu pārvaldības procedūru, kas tiek īstenota tā, it kā tas būtu *ADRV* gadījums.

## 5.2. LH rezultāti

• Ja par gonadotropīna atbrīvotājfaktoru, antiestrogēnisku vielu un aromatāzes inhibitoru klātbūtni ir ziņots kā par *AAF*, īsteno tādu pašu rezultātu pārvaldības procedūru, kādu piemēro jebkuras(-u) citas(-u) *aizliegtās(-o) vielas(-u)* vai *aizliegtās(-o) metodes(-žu)* *lietošanas* gadījumā.

• Ja ir ziņots par *ATF* attiecībā uz LH (paaugstināta kopējā LH koncentrācija un negatīvi rezultāti attiecībā uz gonadotropīna atbrīvotājfaktoriem, antiestrogēniskajām vielām un aromatāzes inhibitoriem), pēc sākotnējo rezultātu iegūšanas *ADO* *sportistam* veic vismaz vienu (1) iepriekš nepaziņotu papildu pārbaudi pieņemamā laika posmā (piemēram, 2 nedēļu laikā), izņemot gadījumus, kad *ADO* rīcībā par *sportistu* ir garengriezuma dati, kas norāda, ka papildu pārbaudei nav pamatota iemesla.

• Papildu pārbaudes *paraugu* būtu vēlams analizēt laboratorijā, kas kopējā LH noteikšanai izmanto to pašu pārbaudes metodi, kas izmantota pirmajam *paraugam*.

• *ADO* garengriezuma pārbaužu rezultāti ir jāņem vērā, veicot *sportista* “steroīdu garenprofila” novērtējumu. Šis novērtējums jāveic, apspriežoties ar *sportista* bioloģiskās pases pārvaldības struktūrvienību (*APMU*).

# 6.0. Atsauces

[1] Woldemariam GA and AW Butch. Immunoextraction-Tandem Mass Spectrometry Method for Measuring Intact Human Chorionic Gonadotropin, Free β-Subunit, and β-Subunit Core Fragment in Urine. *Clin Chem* **60**: 1089–1097, 2014.

[2] The World Anti-Doping *Code International Standard* for Laboratories (ISL).

[3] *WADA Technical Document* TD DL. *Decision Limits* for the Confirmatory Quantification of Exogenous Threshold Substances by Chromatography-based Analytical Methods.

[4] *WADA Technical Document* TD IDCR. Minimum Criteria for Chromatographic-Mass Spectrometric Confirmation of the Identity of Analytes for *Doping Control* Purposes.

*[WADA ISL un tehnisko dokumentu aktuālās redakcijas ir atrodamas tīmekļa vietnē https://www.wada- ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories.]*

# 1. pielikums

**Medicīnisks atzinums apstiprināta pozitīva *hCG* pārbaudes rezultāta gadījumā**

Ja vīriešu dzimuma *sportistam* attiecībā uz *hCG* ir konstatēts *nelabvēlīgs analīžu rezultāts* (*AAF*), pirms *sportista* apsūdzēšanas antidopinga noteikumu pārkāpumā (*ADRV*) saistībā ar *hCG* dopingu ir jāveic ar dopinga lietošanu nesaistīta, patoloģiska cēloņa izmeklēšana. (Piezīme: *hCG* nav aizliegts *sportistēm*.) Šādu medicīnisko atzinumu ar mērķi noteikt iespējamo patoloģiju veic arī neapstiprinātu varbūtēju *nelabvēlīgu analīžu rezultātu* (*PAAF*) gadījumā (t. i., sākotnējam *PAAF* par “kopējo” vai “nešķelto” *hCG* seko negatīvs apstiprinājuma rezultāts par “nešķelto” *hCG*).

**1.0. *hCG* *pārbaude***

Hormons *hCG* ir heterodimērisks glikoproteīns, kas sastāv no divām frakcijām – α (*hCG*α) un β (*hCG*β). Urīnā ir sastopamas dažādas *hCG* molekulārās formas, tostarp nešķeltie un šķeltie α/β heterodimēri, kā arī atdalītas α un β frakcijas un to noārdīšanās produkti (piemēram, β pamatfragmenti, šķeltie produkti utt.).

Abus *hCG*, tā frakcijas un to fragmentus urīnā var noteikt, veicot *hCG* imūntestus, kuriem ir plaša specifika (“kopējā *hCG*” pārbaudes metodes). Tomēr antidopinga pārbaudes veic, lai apstiprinātu tikai *hCG* α/β heterodimēru klātbūtni un noteiktu to daudzumu (t. i., piemērojot tā dēvētās “nešķeltā *hCG*” pārbaudes metodes apstiprināšanas procedūrām, ar kurām papildus nešķeltajiem α/β heterodimēriem var konstatēt arī “šķeltos” α/β heterodimērus).

Veselu vīriešu urīnā heterodimēriskais *hCG* vai nu nav atrodams, vai ir atrodams ļoti zemā līmenī (parasti zem 2 IU/l). Tomēr heterodimērisko *hCG* var veidot arī sēklinieku vēzis vai dzimumšūnu audzēji ārpus sēkliniekiem. Ja var izslēgt šādu audzēju iespējamību, citādā veidā neizskaidrojama heterodimēriskā *hCG* klātbūtne serumā vai urīnā palielinātā koncentrācijā ir pierādījums *hCG* farmakoloģiskai ievadīšanai.

Pozitīvu “nešķeltā *hCG*” pārbaudes rezultātu (*AAF*) (vai neapstiprinātu *PAAF*, piemēram, attiecībā uz “kopējo” *hCG*) *sportistam* var būt izraisījis nediagnosticēts sēklinieku audzējs, kas satur trofoblastiskus elementus, kuri sintezē *hCG*. Retos gadījumos ektopisku *hCG* sekrēciju var izraisīt dzimumšūnu audzēji ārpus sēkliniekiem, kas parasti atrodas videnes viduslīnijā, retroperitoneālajā telpā vai epifīzē. Šiem audzējiem, kas atrodas ārpus sēkliniekiem, ir ievērojami sliktākas ārstēšanas prognozes nekā sēklinieku dzimumšūnu audzējiem.

*[Piezīme. Neapstiprināts PAAF var būt saistīts arī ar dopingu, bet radies nešķelta hCG noārdīšanās rezultātā parauga uzglabāšanas laikā.]*

# 2.0. Medicīnisks atzinums

Ja attiecībā uz *hCG* ir iegūts *AAF* vai neapstiprināts *PAAF*, vispirms ar medicīnisku atzinumu ir jāizslēdz patoloģisks cēlonis. Šādas pārbaudes nozīme ir jāpaskaidro *sportistam*, kam tālāk jāvēršas pie ārsta pārbaudes veikšanai (vislabāk pie urologa vai endokrinologa).

Pozitīva *hCG* pārbaudes rezultāta iespējamā patoloģiskā cēloņa medicīniskajā atzinumā jāiekļauj šādi elementi:

1. vēsture (ieskaitot kriptorhismu, ģimenes vēsturi);

2. fiziska izmeklēšana (ieskaitot sēklinieku palpāciju, sēklinieku apjomu, ginekomastiju);

3. laboratoriskie izmeklējumi – seruma *hCG* (nešķelts), alfa fetoproteīns (*AFP*), *LDH* kā audzēja marķieris un seruma LH, *FSH*, testosterons, *SHBG* (lai noteiktu *hCG* bioloģisko aktivitāti);

4. attēldiagnostika:

a) sēklinieku ultrasonogrāfija (hipoehogēni bojājumi, mikrolitiāze);

b) ja seruma *hCG* (nešķelts) pārbaudē joprojām ir iegūts pozitīvs rezultāts un nav sataustāmi palielināti sēklinieki, vai ultrasonogrāfijā un attēldiagnostikā nav atklāts varbūtējs audzējs, lai izslēgtu varbūtību par dzimumšūnu audzēju ārpus sēkliniekiem, norīko veikt krūškurvja, vēdera dobuma un smadzeņu datortomogrāfiju (vai magnētisko rezonansi, vai pozitronu emisijas tomogrāfiju).

Ja ir sataustāmi palielināti sēklinieki, sportists ir jānosūta pie urologa vai onkologa varbūtējā sēklinieku audzēja tālākai novērtēšanai un ārstēšanai.

Ja (nešķelta) *hCG* koncentrācija serumā joprojām ir paaugstināta un sākotnējā izmeklējumā nav atklāts ne sēklinieku audzējs, ne arī audzējs ārpus sēkliniekiem, pēc trīs (3) mēnešiem *sportistam* ir jāveic klīniska papildu pārbaude, izmantojot to pašu (nešķelta) seruma *hCG* imūntestu, kā arī jāveic atkārtota sēklinieku ultrasonogrāfija (lai pārbaudītu, vai nav jaunu vai izmainītu hipoehogēnu sēklinieku bojājumu). Tā kā daži no šiem audzējiem var attīstīties lēni, lai izslēgtu sēklinieku audzēja varbūtību, ir jāpagarina papildu pārbaužu veikšanas termiņš (līdz diviem (2) gadiem).

Lai gan izmeklējums sēklinieku audzēju/vēžu noteikšanai ir jāveic nekavējoties, situācijas precizēšanai izmeklēšanas laikposmā bieži vien ir jāveic papildu antidopinga *pārbaudes*.