



ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση

Διπλωματική Εργασία

Επίδραση στην υγεία και στην απόδοση αθλητών των απαγορευμένων ουσιών κατά
WADA και προκλήσεις στον έλεγχο αντιντόπινγκ

Μιχάλης Καντιμοίρης

Επιβλέπων καθηγητής: Αλέξανδρος Γεωργακίλας

Πάτρα, Ιούνιος 2023

© Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, 2023

Η παρούσα Εργασία καθώς και τα αποτελέσματα αυτής, αποτελούν συνιδιοκτησία του ΕΑΠ και του φοιτητή, ο καθένας από τους οποίους έχει το δικαίωμα ανεξάρτητης χρήσης, αναπαραγωγής και αναδιανομής τους (στο σύνολο ή τμηματικά) για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, σε κάθε περίπτωση αναφέροντας τον τίτλο και το συγγραφέα της Εργασίας καθώς και το όνομα του ΕΑΠ όπου εκπονήθηκε.



Επίδραση στην υγεία και στην απόδοση αθλητών των απαγορευμένων ουσιών κατά
WADA και προκλήσεις στον έλεγχο αντντόπιγκ

Μιχάλης Καντιμοίρης

Επιτροπή Επίβλεψης Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπων Καθηγητής:

Αλέξανδρος Γεωργακίλας

Καθηγητής Φυσικής

Τμήμα Εφαρμοσμένων Μαθηματικών &
Φυσικών Επιστημών

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής:

Ανδρέας Σκορίλας

Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας

Τμήμα Βιολογίας

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών

Πάτρα, Ιούνιος 2023

Περίληψη

Στην παρούσα διπλωματική εργασία παρουσιάζεται η επίδραση στην υγεία και στην απόδοση αθλητών των απαγορευμένων ουσιών κατά WADA και επίσης γίνεται αναφορά στις κυριότερες δυσκολίες που παρουσιάζει η ανάλυση αυτών των ουσιών λόγω της πολυπλοκότητας των μορίων αυτών.

Αρχικά γίνεται μια εισαγωγή στις βασικές έννοιες φαρμακολογίας οι οποίες είναι πολύ σημαντικές για το κομμάτι της ανίχνευσης τους, δεδομένου ότι απαιτείται να γνωρίζουμε πως μια ουσία μετασχηματίζεται στο σώμα ώστε να μπορούμε να ανιχνεύσουμε τους μεταβολίτες της. Ειδικότερα γίνεται αναφορά στους μηχανισμούς δράσης των φαρμάκων, απορρόφησης από τον οργανισμό και αποβολής τους από αυτόν, καθώς και οι αντιδράσεις μεταβολισμού των φαρμάκων στον άνθρωπο.

Στο δεύτερο μέρος περιγράφεται η δομή του παγκοσμίου οργανισμού αντιντόπινγκ ο οποίος είναι ο θεσμός που θέτει τους κανόνες και τυποποιεί τους ελέγχους με συγκεκριμένα πρότυπα για την πρόληψη, εκπαίδευση και ανάλυση των βιολογικών υλικών για τους ελέγχους χρήσης απαγορευμένων ουσιών. Συγκεκριμένα επισημαίνονται τα διεθνή πρότυπα του WADA που είναι το κανονιστικό πλαίσιο σε διαφορά θέματα αρμοδιότητας του, η διαδικασία συλλογής δειγμάτων από τους αθλητές καθώς επίσης αναφέρονται τα αντικανονικά αναλυτικά ευρήματα (AAF) και πως προκύπτουν μέσα από τον έλεγχο αντιντόπινγκ.

Στο τρίτο μέρος περιγράφονται ποιες είναι οι κατηγορίες απαγορευμένων ουσιών κατά WADA και πληροφορίες σχετικά με την σύσταση τους και τον μηχανισμό δράσης τους. Επίσης αναφέρονται τα τυχόν ενισχυτικά αποτελέσματα αλλά και τις παρενέργειες χρήσης αυτών των ουσιών.

Στο τέταρτο μέρος καταγράφονται τα προβλήματα που έχουν προκύψει ως σήμερα στην ανάλυση των ουσιών αυτών καθώς και τις αναλυτικές τεχνικές που επιστρατεύτηκαν για την αντιμετώπιση τους. Τέλος επισημαίνονται ενδεχόμενοι τρόποι αλλοίωσης των αποτελεσμάτων αντιντόπινγκ μέσα από την εξέταση περιστατικών από την βιβλιογραφία.

Λέξεις – Κλειδιά

WADA, ντόπινγκ, Ανδρογόνα Αναβολικά Στεροειδή, β2 αγωνιστές, διουρητικά, διεγερτικά, ναρκωτικά, κανναβινοειδή, γλυκοκορτικοστεροειδή, παράγοντες κάλυψης, κλενβουτερόλη, Αέρια Χρωματογραφία, φασματομετρία μάζας λόγου ισοτόπων, γονίδια αναφοράς, αυξητική ορμόνη, τεχνική προσδιορισμού των ισόμορφών της αυξητικής Ορμόνης

Abstract

In this master's dissertation, the effect on health and performance of prohibited substances according to WADA is presented and also the main difficulties of the analysis of these substances due to the complexity of these molecules are mentioned.

In first part , there is an introduction to the basic concepts of pharmacology, which are very important for drugs detection, since it is necessary to know how a substance is transformed in the body in order to be able to detect its metabolites. In particular, reference is made to the mechanisms of drug action, absorption by the body and their elimination from it, as well as the drug metabolism reactions in humans.

The second part describes the structure of the world anti-doping organization which is the institution that sets the rules and standardizes the tests with specific standards for the prevention, training and analysis of the biological materials for the tests regarding the use of prohibited substances. In particular, WADA's international standards are highlighted, which are the regulatory framework in various matters of its competence, the sample collection process from athletes, as well as the abnormal analytical findings (AAF) and how they arise through anti-doping control.

The third part describes the categories of prohibited substances according to WADA and information about their composition and mechanism of action. It also mentions any performance enhances effects and side effects of using these substances.

The fourth part mention the problems that have arisen to date in the analysis of these substances as well as the analytical techniques have been used to their detection . Finally, possible ways of altering anti-doping results are highlighted through the examination of cases from the literature.

Keywords

WADA, doping, anti-doping, anabolic androgenic steroids, $\beta 2$ agonists, diuretics, stimulants, narcotics, cannabinoids, glucocorticoids, masking agents, clenbuterol, gas chromatography (GC), Isotope-ratio mass spectrometry (IRMS), Reporter gene assays, growth hormone, Isoform Differential Immunoassays

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη	v
Abstract	vii
1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΟΙΕΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ	11
1.1 Ορισμός Φαρμάκου	11
1.2 Υποδοχείς	11
1.3 Μηχανισμός Δράσης Φαρμάκων	12
1.4 Μεταβολισμός Φαρμάκων	13
1.4.1 Φάση I και Φάση II Στον Μεταβολισμό Φαρμάκων	14
1.4.2 Παράγοντες Που Επηρεάζουν Το Μεταβολισμό Των Φαρμάκων	16
1.4.3 Σημασία και Συνέπειες του Μεταβολισμού των Φαρμάκων	18
2 ΕΛΕΓΚΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΑΝΤΙΝΤΟΠΙΓΚ	18
2.1 Ίδρυση Του WADA	18
2.2 Παγκόσμιος Κώδικας Αντιντόπινγκ	20
2.3 Διεθνή Πρότυπα	21
2.3.1 Διεθνές Πρότυπο Για Ελέγχους Και Έρευνες	21
2.3.2 Διεθνές Πρότυπο Για Εργαστήρια	21
2.3.3 Διεθνές Πρότυπο Για Τις Εξαιρέσεις Θεραπευτικής Χρήσης	21
2.3.4 Διεθνές Πρότυπο Για Την Προστασία Του Απορρήτου Και Των Προσωπικών Πληροφοριών	22
2.3.5 Διεθνές Πρότυπο Για Την Εκπαίδευση	22
2.3.6 Διεθνές Πρότυπο Για Τη Συμμόρφωση Με Τον Κώδικα Απο Τους Ενδιαφερομένους	22
2.4 Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή	23
2.5 Διαδικασία Ελέγχου Ντόπινγκ	23
2.5.1 Είδη Δειγμάτων	23
2.5.2 Έλεγχοι Εντός Και Εκτός Αγώνων	24
2.5.3 Διαδικασία Συλλογής Δειγμάτων	24
2.5.4 Παραβίαση Κανόνα Αντιντόπινγκ (ADRV)	25
3 ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ	27
3.1 Προσθήκη Ουσίας -Μεθόδου Στον Κατάλογο	27
3.2 Κατηγορίες Ουσιών	27
3.3 Αντικανονικό Αναλυτικό Εύρημα	28
3.4 S1—Αναβολικοί Παράγοντες	29
3.5 S2—Πεπτιδικές Ορμόνες, Αυξητικοί Παράγοντες Και Συγγενείς Ουσίες	37
3.6 S3—Βητα-2 Αγωνιστές	44
3.7 S4—Ορμονικοί Και Μεταβολικοί Ρυθμιστές	47
3.8 S5 — Διουρητικά Και Άλλοι Παράγοντες Κάλυψης	52
3.9 S6—Διεγερτικά	56
3.10 S7—Ναρκωτικά	61
3.11 S8—Κανναβινοειδή	62
3.12 S9—Γλυκοκορτικοστεροειδή	64
4 ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΝΤΟΠΙΓΚ	68
4.1 Πιστοποίηση Διαδικασιών Και Λειτουργίας Του Εργαστηρίου στο Αντιντόπινγκ	68
4.2 Προσδιορισμός Ανδρογόνων Αναβολικών Στεροειδων (AAS)	70

4.3	Ντόπινγκ Αίματος	79
4.4	Προσδιορισμός Συνθετικής Αυξητικής Ορμόνης	81
4.5	Επιμολύνσεις Συμπληρωμάτων Διατροφής Και Τροφίμων	85
5	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	90
6	ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ / ΣΧΗΜΑΤΩΝ	107

1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΟΙΕΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ

Τα φάρμακα είναι ισχυρές ουσίες που χρησιμοποιούνται ευρέως στη σύγχρονη κοινωνία. Οι παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν τους αθλητές στη λήψη απαγορευμένων φαρμάκων είναι κυρίως για να ενισχύσουν την αντοχή τους, να ενισχύσουν την ανάπτυξη των μυών ή να μειώσουν το σωματικό λίπος. Σήμερα εμφανίζεται αύξηση στη χρήση φαρμάκων μεταξύ εκείνων που ασχολούνται με σωματικές δραστηριότητες. Όλα τα φάρμακα προκαλούν παρενέργειες, των οποίων η σοβαρότητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη δόση και τη συχνότητα χρήσης και το βάρος. Οι φαρμακευτικές ουσίες που εμφανίζονται στον Απαγορευμένο κατάλογο του Παγκόσμιου Οργανισμού Αντιντόπινγκ (WADA) χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση των ζητημάτων που αφορούν τη χρήση φαρμακευτικών ουσιών στον αθλητισμό συζητούνται σε αυτή την εργασία.

1.1 Ορισμός Φαρμάκου

Με τη γενικότερη έννοια, ένα φάρμακο μπορεί να οριστεί ως οποιαδήποτε ουσία που επιφέρει μια αλλαγή στη βιολογική λειτουργία μέσω των χημικών της δράσεων. Στις περισσότερες περιπτώσεις, το μόριο του φαρμάκου αλληλεπιδρά ως αγωνιστής (ενεργοποιητής) ή ανταγωνιστής (αναστολέας) με ένα συγκεκριμένο μόριο στόχο που παίζει ρυθμιστικό ρόλο στο βιολογικό σύστημα. Αυτό το μόριο στόχος ονομάζεται υποδοχέας. Σε πολύ μικρό αριθμό περιπτώσεων, φάρμακα γνωστά ως χημικοί ανταγωνιστές μπορεί να αλληλεπιδράσουν άμεσα με άλλα φάρμακα, ενώ μερικά φάρμακα (ωσмотικοί παράγοντες) αλληλεπιδρούν σχεδόν αποκλειστικά με μόρια νερού. Τα φάρμακα μπορεί να συντίθενται μέσα στο σώμα (π.χ. ορμόνες) ή μπορεί να είναι χημικές ουσίες που δεν συντίθενται στο σώμα (δηλαδή, ξеноβιοτικά). [1][2]

1.2 Υποδοχείς

Η έννοια του υποδοχέα έχει σημαντικές πρακτικές συνέπειες για την ανάπτυξη φαρμάκων και για τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων στην κλινική πράξη. Αυτές οι συνέπειες μπορούν να συνοψιστούν εν συντομία ως εξής:

1. Η μέγιστη δράση που μπορεί να παράγει ένα φάρμακο εξαρτάται από την συγγένεια του υποδοχέα για τη δέσμευση ενός φαρμάκου και από τον συνολικό αριθμό υποδοχέων. Η συγκέντρωση του φαρμάκου πρέπει να είναι επαρκής για να σχηματιστεί ένας σημαντικός αριθμός συμπλεγμάτων φαρμάκου-υποδοχέα.

2. Η χημική δομή ενός φαρμάκου έχει μεγάλη σημασία. Το μοριακό μέγεθος, το σχήμα και το ηλεκτρικό φορτίο ενός φαρμάκου καθορίζουν εάν -και με ποια συγγένεια- θα συνδεθεί με έναν συγκεκριμένο υποδοχέα μεταξύ της τεράστιας σειράς χημικά διαφορετικών θέσεων δέσμευσης που διατίθενται σε ένα κύτταρο ή ιστό. Οι υποδοχείς είναι υπεύθυνοι για την επιλεκτικότητα της δράσης του φαρμάκου

οπότε αλλαγές στη χημική δομή ενός φαρμάκου μπορούν να αυξήσουν ή να μειώσουν δραματικά τις συγγένειες ενός νέου φαρμάκου για διαφορετικές κατηγορίες υποδοχέων, με αποτέλεσμα αλλαγές στα θεραπευτικά και τοξικά αποτελέσματα.

3. Οι υποδοχείς μεσολαβούν στις δράσεις των φαρμακολογικών αγωνιστών και ανταγωνιστών. Ορισμένα φάρμακα και πολλοί φυσικοί προσδέτες, όπως ορμόνες και νευροδιαβιβαστές, ρυθμίζουν τη λειτουργία των μακρομορίων των υποδοχέων ως αγωνιστών. Αυτό σημαίνει ότι ενεργοποιούν τον υποδοχέα για να σηματοδοτήσει ως άμεσο αποτέλεσμα της δέσμευσης σε αυτόν. Μερικοί αγωνιστές ενεργοποιούν ένα μόνο είδος υποδοχέα για να παράγουν όλες τις βιολογικές τους λειτουργίες, ενώ άλλοι επιλεκτικά προάγουν τη λειτουργία ενός υποδοχέα περισσότερο από έναν άλλο.

Άλλα φάρμακα δρουν ως φαρμακολογικοί ανταγωνιστές δηλαδή συνδέονται με υποδοχείς αλλά δεν ενεργοποιούν την παραγωγή σήματος. Κατά συνέπεια, παρεμβαίνουν στην ικανότητα ενός αγωνιστή να ενεργοποιεί τον υποδοχέα. Μερικά από τα πιο χρήσιμα φάρμακα στην κλινική ιατρική είναι φαρμακολογικοί ανταγωνιστές. Άλλα φάρμακα δεσμεύονται σε διαφορετική θέση στον υποδοχέα από αυτή που δεσμεύεται από ενδογενείς προσδέτες. Τέτοια φάρμακα μπορούν να παράγουν χρήσιμα και αρκετά διαφορετικά κλινικά αποτελέσματα δρώντας ως λεγόμενοι αλλοστερικοί ρυθμιστές του υποδοχέα. [3] [4]

1.3 Μηχανισμός Δράσης Φαρμάκων

Ένας αριθμός μοριακών μηχανισμών χρησιμοποιείται για την διαμεμβρανική σηματοδότηση. Ομάδες πρωτεϊνών περιλαμβάνουν υποδοχείς στην επιφάνεια του κυττάρου και εντός του κυττάρου και επιτρέπουν σε κάθε τύπο μηχανισμού να μεταδίδει πολλά διαφορετικά σήματα. Επίσης στους μηχανισμούς αυτών υπάρχουν ένζυμα και άλλα συστατικά που δημιουργούν, ενισχύουν, συντονίζουν και τερματίζουν τη σηματοδότηση μετά τον υποδοχέα από χημικούς δεύτερους αγγελιοφόρους στο κυτταρόπλασμα.

Πέντε βασικοί μηχανισμοί διαμεμβρανικής σηματοδότησης είναι καλά κατανοητοί.

(1) Ένας λιποδιαλυτός πρόσδετης που διασχίζει τη μεμβράνη και δρα σε έναν ενδοκυτταρικό υποδοχέα.

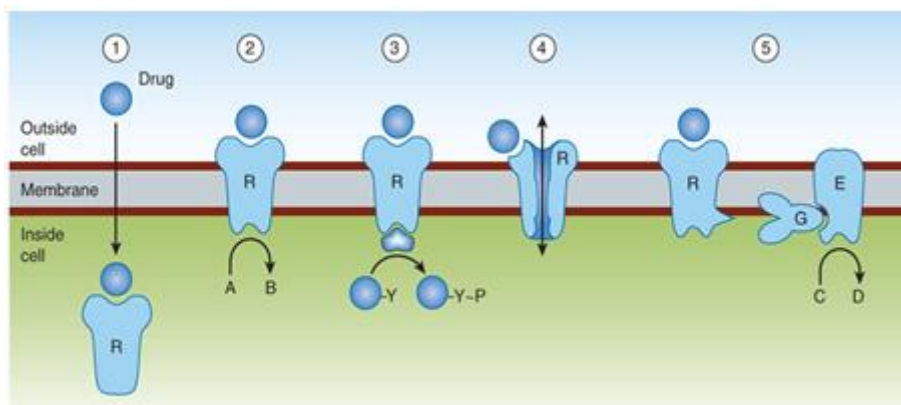
(2) Μια πρωτεΐνη διαμεμβρανικού υποδοχέα της οποίας η ενδοκυτταρική ενζυματική δραστηριότητα ρυθμίζεται αλλοστερικά από έναν προσδέτη που συνδέεται σε μια θέση στην εξωκυτταρική περιοχή της πρωτεΐνης.

(3) Ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας που δεσμεύει και διεγείρει μια ενδοκυτταρική πρωτεϊνική κίνηση τυροσίνης.

(4) Ένας διαμεμβρανικός δίαυλος ιόντων με πύλη που μπορεί να προκληθεί να ανοίξει ή να κλείσει με τη δέσμευση ενός προσδέτη.

(5) Μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη υποδοχέα που διεγείρει μια πρωτεΐνη μετατροπέα σήματος που δεσμεύει GTP (πρωτεΐνη G), η οποία με τη σειρά της ρυθμίζει την παραγωγή ενός ενδοκυτταρικού δεύτερου αγγελιοφόρου.

[5] [6]



Εικόνα 1 -Βασικοί μηχανισμοί διαμεμβρανικής σηματοδότησης

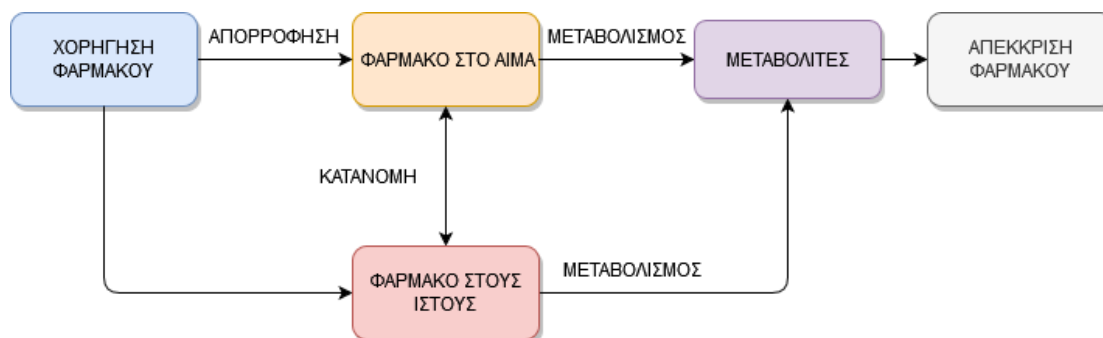
1.4 Μεταβολισμός Φαρμάκων

Στον τομέα του ελέγχου αντιντόπινγκ οι μεταβολικές μελέτες είναι χρήσιμες προκειμένου να γνωρίζουμε τον καλύτερο δείκτη χορήγησης μιας φαρμακευτικής ουσίας.

Ο μεταβολισμός των φαρμάκων είναι μια κρίσιμη πτυχή της ιατρικής πρακτικής και της φαρμακολογίας. Οι βιομετασχηματισμοί είναι η χημική αλλοίωση των φαρμάκων από διάφορα συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού, για να δημιουργήσουν ενώσεις που αποβάλλονται πιο εύκολα από το σώμα, κυρίως στο ήπαρ.

Για την επιλογή των κατάλληλων δεικτών για τη βελτίωση της ανίχνευσης των ενώσεων απαιτούνται μεταβολικές μελέτες. Για εξωγενείς παράγοντες ντόπινγκ ο πιο χρήσιμος μεταβολίτης για την ανίχνευση της κατάχρησης του φαρμάκου δεν είναι πάντα ο πιο άφθονος μεταβολίτης αλλά ο μεταβολίτης που μπορεί να ανιχνευθεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μετά τη χορήγηση. Για ορισμένους παράγοντες ντόπινγκ, περισσότεροι από ένας μεταβολίτες χρησιμοποιούνται ως δείκτες για την κάλυψη διαφορετικών χρόνων απέκκρισης. Σε άλλες περιπτώσεις, οι μεταβολικές μελέτες είναι χρήσιμες για την εύρεση συγκεκριμένων μεταβολιτών που επιτρέπουν τη διάκριση της οδού χορήγησης. Τέτοιες εξωγενείς ουσίες όπως τα γλυκοκορτικοστεροειδή και οι β2-αγωνιστές απαγορεύονται όταν χορηγούνται με συστηματικές οδούς, αλλά η χρήση τους επιτρέπεται από άλλες οδούς, (π.χ. εισπνοή).

Για ουσίες ντόπινγκ που παράγονται επίσης ενδογενώς απαιτούνται μελέτες για την αναζήτηση δεικτών εξωγενούς χορήγησης. Για παράδειγμα η μεθοδική αξιολόγηση βασικών παραμέτρων του ουροποιητικού προφίλ των στεροειδών, συμβάλει στην ανίχνευση της χορήγησης ενός ανδρογόνου που θα μπορούσε να υπάρχει φυσιολογικά στα υγρά του ανθρώπινου σώματος. Η άμεση επιβεβαίωση προέρχεται από τη μέτρηση των τιμών που αντικατοπτρίζουν τη συνθετική προέλευση, αποκλείοντας πάντα μια πιθανή φυσιολογική απόκλιση. [7] [8] [9]



Εικόνα 2 Η διαδρομή του φαρμάκου από την χορήγηση του μέχρι την απέκκριση του από τον οργανισμό.

1.4.1 Φάση I και Φάση II Στον Μεταβολισμό Φαρμάκων

Οι βιομετασχηματισμοί συμβαίνουν με μηχανισμούς που κατηγοριοποιούνται είτε ως φάση I (τροποποίηση), φάση II (σύζευξη) και σε ορισμένες περιπτώσεις, φάση III (επιπλέον τροποποίηση και απέκκριση). Η μονοαμινοξειδάση και το κυτόχρωμα P450 είναι τα πιο σημαντικά ένζυμα για ιατρικούς σκοπούς. Αυτά τα δύο ένζυμα είναι υπεύθυνα για τον μεταβολισμό δεκάδων ενδογενών και εξωγενών χημικών ουσιών. Η μονοαμινοξειδάση, όπως υποδηλώνει το όνομα της, καταλύει την επεξεργασία μονοαμινών όπως η σεροτονίνη και η ντοπαμίνη (πχ αντικαταθλιπτικά).

Το κυτόχρωμα P450 καταλύει το μεταβολισμό πολλών ψυχοδραστικών φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των αμφεταμινών και των οπιοειδών.

Αντιδράσεις Φάσης I Στον Μεταβολισμό Φαρμάκων

Οι τροποποιήσεις της φάσης I μεταβάλλουν τη χημική δομή του φαρμάκου, συνήθως με οξείδωση, αναγωγή, υδρόλυση, κυκλοποίηση/αποκυκλοποίηση και αφαίρεση υδρογόνου ή προσθήκη οξυγόνου. Σε ορισμένες περιπτώσεις, αυτή η διαδικασία θα αλλάξει ένα ανενεργό φάρμακο σε ένα μεταβολικά ενεργό φάρμακο.

Τα ένζυμα εστεράσης και αμιδάσης υδρολύουν ξενοβιοτικά με λειτουργικές ομάδες εστέρων και αμιδίου με προϊόντα της αντίδρασης ελεύθερα οξέα. Είναι επίσης ικανά να επεξεργάζονται θειοεστέρες και καρβαμικά.

Ένζυμα κυτοχρώματος P450-αναγωγασής καταλύουν αντιδράσεις νιτροαναγωγής ενώ εποξειδικές υδρολάσες είναι ένζυμα που ενυδατώνουν απλά εποξείδια σε δυο διόλες. Λίγα φάρμακα υπόκεινται σε αναγωγικές αντιδράσεις, οι οποίες συνήθως περιλαμβάνουν νιτρο-αναγωγή και ενυδάτωση.

Οι οξειδάσες μικτής λειτουργίας καταλύουν την οξείδωση διαφόρων λιπόφιλων υποστρωμάτων φαρμάκων όπως τα στεροειδή, τα λιπαρά οξέα ή οι ορμόνες. Η πιο ευρέως μελετημένη οικογένεια γονιδίων οξειδασών μικτής λειτουργίας και αυτή που

συμμετέχει περισσότερο από κάθε άλλη στην οξείδωση των φαρμάκων είναι η οικογένεια του κυτοχρώματος P450. Η οξείδωση συνήθως οδηγεί σε μεταβολίτες που διατηρούν ακόμη μέρος της φαρμακολογικής τους δράσης. Οι οξειδώσεις φαρμάκων είναι από τους πιο σημαντικούς τύπους βιομετασχηματισμού. [10] [11]

Αντιδράσεις Φάσης II Στον Μεταβολισμό Φαρμάκων

Οι τροποποιήσεις της φάσης II περιλαμβάνουν αντιδράσεις που συνδέουν το μόριο του φαρμάκου με ένα άλλο μόριο σε μια διαδικασία που ονομάζεται σύζευξη. Οι μηχανισμοί σύζευξης περιλαμβάνουν μεθυλίωση, ακετυλίωση, θείωση, γλυκουρονίωση και σύζευξη γλυκίνης ή γλουταθειόνης.

Αυτές οι διεργασίες μπορεί να συμβούν στο ήπαρ, τα νεφρά, τους πνεύμονες, το έντερο και άλλα συστήματα οργάνων. Η σύζευξη συνήθως καθιστά την ένωση φαρμακολογικά αδρανής και υδατοδιαλυτή, έτσι ώστε η ένωση να μπορεί εύκολα να απεκκριθεί.

Αντιδράσεις Γλυκουρονίωσης

Η γλυκουρονίωση καταλύεται από διφωσφορική ουριδίνη (UDP)-γλυκουρονοσυλτρανσφεράση ή UGT και χρησιμοποιεί ουριδινο-5'-διφωσφογλυκουρονικό οξύ ως συνυπόστρωμα.

Αυτά τα ένζυμα καταλύουν τη μεταφορά του γλυκουρονικού οξέος από τον συμπαράγοντα UDP-γλυκουρονικό οξύ σε ένα υπόστρωμα για να σχηματίσουν β-D-γλυκοκυρανοσιδουρονικά οξέα (γλυκουρονίδια). Τα UGTs είναι μια σούπερ οικογένεια ενζύμων. Στον άνθρωπο υπάρχουν τρεις υποοικογένειες γνωστές ως UGT1A, UGT2B και UGT2A. Το ήπαρ είναι η κύρια θέση στην οποία συμβαίνει η γλυκουρονοποίηση, αν και τα UGT εντοπίζονται επίσης στον εγκέφαλο, στους νεφρούς, στον ιστό του μαστού και στον προστάτη. Τα UGTs παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποτοξίνωση της φάσης II των φαρμάκων στους ανθρώπους και είναι υπεύθυνες για περισσότερο από το ένα τρίτο του συνόλου του μεταβολισμού της φάσης II των φαρμάκων.

Αντιδράσεις Σουλφόνωσης

Η σουλφοσύζευξη (ή σουλφόνωση) αποτελεί μια σημαντική οδό στο μεταβολισμό πολυάριθμων εξωγενών και ενδογενών ενώσεων. Τα ένζυμα που μεσολαβούν στην ξενοβιοτική σουλφονίωση είναι τα ένζυμα σουλφοτρανσφεράσης (SULT). Τα SULT περιλαμβάνουν μια υπεροικογένεια ενζύμων. Τέσσερις ανθρώπινες οικογένειες SULT, SULT1, SULT2, SULT4 και SULT6, έχουν ταυτοποιηθεί. Η πηγή της σουλφονυλικής ομάδας (SO₃-) είναι η 3'-φωσφοαδενοσινο-5'-φωσφοθειική αδενοσίνη. Τα SULT εντοπίζονται σε διαφορετικούς ιστούς όπως το ήπαρ, τον εγκέφαλο, το στήθος, το έντερο, τον πνεύμονα, τα επινεφρίδια ή τους νεφρούς μεταξύ άλλων.

Αντιδράσεις Ακετυλίωσης

Στον άνθρωπο, οι αντιδράσεις ακετυλίωσης καταλύονται από δύο ισοένζυμα N-ακετυλοτρανσφεράσης (NATs), N-ακετυλοτρανσφεράση 1 (NAT1) και 2 (NAT2). Τα NAT είναι κυτταροσολικά ένζυμα που βρίσκονται σε πολλούς ιστούς όπως το ήπαρ, το έντερο, τα κύτταρα του αίματος, τον πλακούντα ή το δέρμα. Αυτά τα ένζυμα μεταφέρουν οξικό άλας από το ακετυλο-συνένζυμο A (acetylCoA) σε πρωτοταγείς αμίνες, υδραζίνες, σουλφοναμίδες και αρωματικές αμίνες.

Αντιδράσεις Μεθυλίωσης

Οι μεθυλτρανσφεράσες ή μεθυλάσες, μεταφέρουν μια ομάδα μεθυλίου από έναν δότη σε έναν δέκτη. Ο συμπαράγοντας που απαιτείται για το σχηματισμό συζυγών μεθυλίου είναι η S-αδενοσυλμεθειονίνη (SAM), η οποία σχηματίζεται κυρίως από τη συμπύκνωση του ATP και της L-μεθειονίνης. Ένας μεγάλος αριθμός τόσο ενδογενών όσο και εξωγενών ενώσεων μπορεί να υποστεί μεθυλίωση κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού τους.

Αντιδράσεις Μεταφοράς Γλουταθειόνης

Οι γλουταθειόνη-S-τρανσφεράσες (GSTs) καταλύουν τη μεταφορά της γλουταθειόνης σε αντιδραστικά ηλεκτρόφιλα, μια λειτουργία που χρησιμεύει στην προστασία των κυτταρικών μακρομορίων από την αλληλεπίδραση με ηλεκτρόφιλα που περιέχουν ηλεκτρόφιλες ενώσεις όπως κετόνες, κινόνες, σουλφοξείδια, εστέρες, υπεροξείδια και οζονίδια και προστατεύει το κυτταρικό περιβάλλον από βλάβες.

Μετά τον μεταβολισμό της φάσης II, μπορεί επίσης υπάρχει και μια ακόμα φάση μεταβολισμού, η φάση III, όπου οι συζευγμένες ενώσεις και οι μεταβολίτες μπορούν να απεκκριθούν από τα κύτταρα. [12] [13] [14]

1.4.2 Παράγοντες Που Επηρεάζουν Το Μεταβολισμό Των Φαρμάκων

Σε κάθε είδους φαρμακολογική παρέμβαση, είναι απαραίτητο να εξετάζεται πώς και πότε ένα συγκεκριμένο φάρμακο αποβάλλεται από τον οργανισμό. Η κατανόηση της φαρμακοκινητικής επιτρέπει στους ιατρούς να διαμορφώνουν τις θεραπείες με τρόπο ειδικό για τον ασθενή. Ο στόχος της θεραπείας είναι η επίτευξη σταθερής συγκέντρωσης στο πλάσμα, στην οποία ο μεταβολισμός και η αποβολή του φαρμάκου πραγματοποιούνται με ίσους ρυθμούς.

Χρόνος Ημιζωής

Ο χρόνος ημιζωής αντιπροσωπεύει την διάρκεια που χρειάζεται για να αποβληθεί το 50% του φαρμάκου απο τον οργανισμό. Όταν έχουμε κινητική πρώτης τάξης ο ρυθμός κάθαρσης του φαρμάκου εξαρτάται απο την συγκέντρωση του στο πλάσμα. Τις περισσότερες φορές, η κάθαρση του φαρμάκου πραγματοποιείται σύμφωνα με την κινητική πρώτης τάξης.

Σε κινητική μηδενικής τάξεως η αποβολή των φαρμάκων γίνεται με σταθερό ρυθμό που είναι ανεξάρτητος από τις συγκεντρώσεις τους στο πλάσμα. Τα ένζυμα σε κινητική μηδενικής τάξης έχουν καλύψει τις θέσεις δέσμευσης τους σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

Αποθήκευση Φαρμάκων Στον Λιπώδη Ιστό

Μια σημαντική επιπλοκή στον μεταβολισμό του φαρμάκου είναι η μη πρόσβαση του στον μηχανισμό του μεταβολισμού λόγω της σύζευξης του με ανενεργές θέσεις στο σώμα. Αυτές οι θέσεις δεσμεύουν εύκολα φάρμακα και μπορούν να μειώσουν τον αριθμό των μορίων του φαρμάκου που φτάνουν στη θέση στόχο. Η ταχεία σύνδεση σε αυτές τις θέσεις πριν φτάσει στον ιστό στόχο έχει ως αποτέλεσμα βραδύτερη έναρξη της λειτουργίας της ουσίας και μειωμένα αποτελέσματα. Έτσι ουσίες που είναι εξαιρετικά λιποδιαλυτές και δεσμεύονται στο λιπώδη ιστό επιβραδύνουν δραστηρικά το μεταβολισμό τους. Οι μεταβολίτες αυτών των ουσιών μπορούν να ανιχνευθούν στα ούρα εβδομάδες μετά την τελευταία χρήση (πχ THC).

Επαγωγή Ενζύμων

Η επαγωγή ενζύμων είναι άλλος παράγοντας στο μεταβολισμό του φαρμάκου. Οι ασθενείς που λαμβάνουν για μεγάλο διάστημα κάποια φάρμακα (πχ Οπιώδη), τα φάρμακά τους γίνονται λιγότερο αποτελεσματικά με την πάροδο του χρόνου. Αυτό συμβαίνει λόγω της αύξησης των ενζύμων από την επαναλαμβανόμενη χρήση της ίδιας χημικής ουσίας. Ο οργανισμός συνηθίζει τη συνεχή παρουσία του εν λόγω φαρμάκου και το αντισταθμίζει αυξάνοντας την παραγωγή του ενζύμου που είναι απαραίτητο για το μεταβολισμό του φαρμάκου. Αυτό συμβάλλει στη φαρμακολογική ανοχή και είναι ένας λόγος για τον οποίο οι ασθενείς χρειάζονται συνεχώς αυξανόμενες δόσεις ορισμένων φαρμάκων για να έχουν το ίδιο αποτέλεσμα.

Καταστολή Ενζύμων

Η καταστολή ενζύμων σε ορισμένα φάρμακα καθιστούν τον ασθενή πιο ευαίσθητο σε άλλα φάρμακα που μεταβολίζονται μέσω της δράσης αυτών των ενζύμων. Ένα κλασικό παράδειγμα είναι η αναστολή της μονοαμινοξειδάσης (ΜΑΟ) από ορισμένα αντικαταθλιπτικά φάρμακα και χρήση κοκαΐνης. Ένας ασθενής με ΜΑΟ που χρησιμοποιεί κοκαΐνη, η οποία αυξάνει τη συγκέντρωση της σεροτονίνης, της ντοπαμίνης και της νορεπινεφρίνης, θα έχει πολύ πιο ισχυρό αποτέλεσμα από την κοκαΐνη.

Ο ανταγωνισμός κάποιων φαρμάκων για τις ίδιες θέσεις δέσμευσης στα ένζυμα μειώνουν την αποτελεσματικότητά του μεταβολισμού τους. Για παράδειγμα, το αλκοόλ και ορισμένα ηρεμιστικά μεταβολίζονται από το ίδιο μέλος της οικογένειας του κυτοχρώματος P450. Μόνο ένας περιορισμένος αριθμός ενζύμων υπάρχει για τη διάσπαση αυτών των χημικών ουσιών. Αυτός είναι ένας λόγος που το αλκοόλ και άλλα ηρεμιστικά/υπνωτικά φάρμακα μπορεί να έχουν συνεργική δράση όταν συγχωρηθούνται.

1.4.3 Σημασία και Συνέπειες του Μεταβολισμού των Φαρμάκων

Ο μεταβολισμός του φαρμάκου με την διαδικασία βιομετατροπής μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα συνέπειες όπως :

- Φαρμακολογική αδρανοποίηση φαρμάκων, ο μεταβολίτης που σχηματίζεται έχει μικρή ή καμία απολύτως φαρμακολογική δράση
- Καμία επίδραση στη φαρμακολογική δραστηριότητα, οι μεταβολίτες που σχηματίζονται μετά από διεργασίες βιομετασχηματισμού έχουν ίση και παρόμοια δράση με αυτή του αρχικού φαρμάκου.
- Τοξικολογική ενεργοποίηση φαρμάκων, οι μεταβολίτες που σχηματίζονται μετά τη διαδικασία βιομετασχηματισμού έχουν υψηλή ιστική αντιδραστικότητα, προκαλώντας έτσι τοξικότητα
- Φαρμακολογική ενεργοποίηση φαρμάκων, με αυτή τη διαδικασία, τα προφάρμακα (ανενεργά) μεταβολίζονται σε εξαιρετικά δραστικά φάρμακα. Το προφάρμακο είναι το ανενεργό παράγωγο που μετατρέπεται στο δραστικό συστατικό in vivo. Αυτά γενικά επινοούνται όταν τα φάρμακα έχουν μη ελκυστικές φυσικοχημικές και ανεπιθύμητες φαρμακοκινητικές ιδιότητες. Αυτά χρησιμοποιούνται για τη βελτίωση της αποδοχής του ασθενούς, τη βελτίωση της απορρόφησης, την αλλαγή του μεταβολισμού, τη βιοκατανομή και την αποβολή.
- Αλλαγή της φαρμακολογικής δραστηριότητας, η θεραπευτική δράση που εμφανίζεται από τον μεταβολίτη που σχηματίζεται είναι διαφορετική από αυτή του αρχικού φαρμάκου. [15] [16]

2 ΕΛΕΓΚΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΑΝΤΙΝΤΟΠΙΓΚ

2.1 Ίδρυση Του WADA

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός κατά του Ντόπινγκ (World Anti-Doping Agency, WADA) ιδρύθηκε στις 10 Νοεμβρίου 1999 στη Λωζάνη για την προώθηση και τον συντονισμό της καταπολέμησης του ντόπινγκ στον αθλητισμό διεθνώς. Ο WADA ιδρύθηκε ως ίδρυμα υπό την πρωτοβουλία της ΔΟΕ (Διεθνής Ολυμπιακή Επιτροπή) με την υποστήριξη και τη συμμετοχή διακυβερνητικών οργανισμών, κυβερνήσεων, δημόσιων αρχών και άλλων δημόσιων και ιδιωτικών φορέων που καταπολεμούν το ντόπινγκ στον αθλητισμό. Ο Οργανισμός διοικείται από το Συμβούλιο Ιδρύματος με 36 μέλη και την Εκτελεστική Επιτροπή με 12 μέλη, η καθεμία αποτελούμενη από ισάριθμους εκπροσώπους του Ολυμπιακού Κινήματος και των κυβερνήσεων.



Εικόνα 3 Λογότυπο WADA

Ο WADA είναι υπεύθυνος για :

- Δημοσίευση του Παγκόσμιου Κώδικα Αντιντόπινγκ και παρακολούθηση της αποδοχής και της συμμόρφωσής του από τα αθλητικά όργανα διοίκησης.
- Προώθηση της παροχής εκπαίδευσης και ενημέρωσης για την πρόληψη του ντόπινγκ σε αθλητές, προπονητές, νέους και άλλες σχετικές με τον αθλητισμό ομάδες.
- Παροχή και διαχείριση επιστημονικής έρευνας και ερευνητικών προγραμμάτων κοινωνικών επιστημών με στόχο την ανάπτυξη νέων μεθόδων ανίχνευσης και τη βελτίωση της πρόληψης του ντόπινγκ.
- Παρατήρηση προγραμμάτων ελέγχου ντόπινγκ και διαχείρισης αποτελεσμάτων σε μεγάλες εκδηλώσεις.
- Προώθηση της παγκόσμιας ανάπτυξης εθνικών ή περιφερειακών προγραμμάτων κατά του ντόπινγκ.

Ο WADA δεν είναι υπεύθυνος για:

- Διενέργεια αναλύσεων σε δείγματα ούρων ή αίματος. Αυτές οι αναλύσεις πραγματοποιούνται σε εργαστήρια που έχουν διαπιστευθεί από τον WADA για να το κάνουν.
- Επιβολή κυρώσεων για παραβιάσεις των κανόνων κατά του ντόπινγκ (Adverse Analytical Finding ,ADRV). Οι κυρώσεις επιβάλλονται από το διοικητικό όργανο του οποίου το άτομο παραβίασε τους κανόνες ντόπινγκ. Αυτά τα όργανα διοίκησης μπορεί να είναι Οργανισμοί κατά του Ντόπινγκ (Anti-Doping Organizations, ADOs), διοργανωτές εκδηλώσεων ή αθλητικές ομοσπονδίες, είτε λειτουργούν σε διεθνές είτε σε εθνικό επίπεδο. [17] [18] [19]

2.2 Παγκόσμιος Κώδικας Αντιντόπινγκ

Η ανάγκη για:

- μια πιο δίκαιη προσέγγιση των κυρώσεων για αθλητές που κρίνονται ένοχοι για ντόπινγκ
- τον συντονισμό των προσπαθειών κατά του ντόπινγκ
- την οργάνωση των πόρων που απαιτούνται για αυτό το σκοπό
- την παροχή γνώσης σχετικά με συγκεκριμένες ουσίες και τις διαδικασίες που ακολουθούνται

οδήγησε στον εναρμονισμό και τον συντονισμό των ενδιαφερομένων για αυτό το σκοπό και την δημιουργία του Κώδικα.

Ο Κώδικας είναι το βασικό έγγραφο που παρέχει το πλαίσιο για εναρμονισμένες πολιτικές, κανόνες και κανονισμούς κατά του ντόπινγκ στους αθλητικούς οργανισμούς και στις δημόσιες αρχές. Λειτουργεί σε συνδυασμό με πέντε Διεθνή Πρότυπα που στοχεύουν στην εναρμόνιση μεταξύ των οργανισμών κατά του ντόπινγκ σε διάφορους τομείς: Έλεγχοι και έρευνες, Εργαστήρια, Εξαιρέσεις Θεραπευτικής Χρήσης (Therapeutic Use Exemption, TUE), Κατάλογος Απαγορευμένων Ουσιών και Μεθόδων, Απόρρητο Πληροφοριών για την προστασία της ιδιωτικής και της προσωπικής ζωής.

Ο WADA έχει το δικαίωμα :

- να προσφύγει στο Διαιτητικό Αθλητικό Δικαστήριο (Court of Arbitration for Sport, CAS) για υποθέσεις που υπάγονται στη δικαιοδοσία οργανισμών που εφαρμόζουν τον Κώδικα.
- παρέμβασης για να διασφαλίσει ότι η κάθε Θεραπευτική Εξαίρεση (TUE, Therapeutic Use Exemption) χορηγείται με συνέπεια.
- να παρακολουθεί και να επανεξετάζει TUE που χορηγείται από ομοσπονδία ή οργανισμό κατά του ντόπινγκ.
- Επανεξέτασης μετά από αίτημα αθλητή μιας απόφασης αρνητικής για χορήγηση TUE.
- να υποβάλλει επίσημα έκθεση σχετικά με τη συμμόρφωση των ενδιαφερομένων με τον Κώδικα και να αναφέρει περιπτώσεις μη συμμόρφωσης στα ενδιαφερόμενα μέρη του που έχουν δικαιοδοσία να επιβάλλουν κυρώσεις, συμπεριλαμβανομένης της Διεθνούς Ολυμπιακής Επιτροπής (ΔΟΕ).

Η μη επικύρωση της Διεθνούς Σύμβασης της UNESCO κατά του ντόπινγκ στον αθλητισμό μπορεί να επιφέρει κυρώσεις από την ΔΟΕ ενώ είναι υποχρεωτική η επικύρωση της από χώρες που θα φιλοξενήσουν Ολυμπιακούς Αγώνες και από αθλήματα που συμμετέχουν σε αυτούς. [20]

2.3 Διεθνή Πρότυπα

Τα Διεθνή Πρότυπα είναι ο Απαγορευμένος Κατάλογος (Prohibited List), οι Έλεγχοι και οι Έρευνες (Testing And Investigations), τα εργαστήρια (Laboratories), οι Εξαιρέσεις Θεραπευτικής Χρήσης (TUEs), η προστασία του απορρήτου και των προσωπικών πληροφοριών (Protection of Privacy and Personal Information), Διαχείριση αποτελεσμάτων (Results Management) και Εκπαίδευση (Education). Τα πρότυπα έχουν αναπτυχθεί σε συνεννόηση με τα ενδιαφερόμενα μέρη και έχουν εγκριθεί από τον WADA .

2.3.1 Διεθνές Πρότυπο Για Ελέγχους Και Έρευνες

Ο κύριος σκοπός του Διεθνούς Προτύπου Ελέγχων και Ερευνών (ISTI) είναι να σχεδιάσει αποτελεσματικούς ελέγχους τόσο εντός όσο και εκτός αγώνων και να διατηρήσει την ακεραιότητα και την ταυτότητα των δειγμάτων που συλλέγονται, από τη στιγμή που ο αθλητής ειδοποιηθεί για το τεστ μέχρι το σημείο που τα δείγματα μεταφέρονται στο εργαστήριο για ανάλυση, καθώς και οι αρμοδιότητες των Οργανισμών Αντιντόπινγκ όσον αφορά τις έρευνες και τη συλλογή πληροφοριών. [21]

2.3.2 Διεθνές Πρότυπο Για Εργαστήρια

Ο κύριος σκοπός του Διεθνούς Προτύπου Εργαστηρίων (ISL) είναι να διασφαλίσει την εργαστηριακή παραγωγή έγκυρων αποτελεσμάτων δοκιμών και αποδεικτικών δεδομένων και να επιτύχει ομοιόμορφα και εναρμονισμένα αποτελέσματα και αναφορές από όλα τα διαπιστευμένα εργαστήρια της WADA. Το ISL περιλαμβάνει προδιαγραφές για την απόκτηση και τη διατήρηση της διαπίστευσης των εργαστηρίων WADA, πρότυπα λειτουργίας για τις εργαστηριακές επιδόσεις και περιγραφή της διαδικασίας διαπίστευσης. Η εφαρμογή των τεχνικών συστάσεων που περιγράφονται στα Τεχνικά Έγγραφα είναι υποχρεωτική και θα πραγματοποιηθεί έως την ημερομηνία έναρξης ισχύος που καθορίζεται στο Τεχνικό Έγγραφο. [22]

2.3.3 Διεθνές Πρότυπο Για Τις Εξαιρέσεις Θεραπευτικής Χρήσης

Ο σκοπός του Διεθνούς Προτύπου για Εξαιρέσεις Θεραπευτικής Χρήσης (ISTUE) είναι να διασφαλίσει ότι η διαδικασία χορήγησης Εξαιρέσης Θεραπευτικής Χρήσης (TUEs) είναι εναρμονισμένη σε όλα τα αθλήματα και τις χώρες. Ο Κώδικας επιτρέπει στους αθλητές να υποβάλουν αίτηση για TUE (δηλαδή άδεια χρήσης, για θεραπευτικούς σκοπούς, ουσιών ή μεθόδων που περιέχονται στον Κατάλογο Απαγορευμένων Ουσιών ή Μεθόδων) όπου διαφορετικά θα απαγορευόταν η χρήση. [23]

2.3.4 Διεθνές Πρότυπο Για Την Προστασία Του Απορρήτου Και Των Προσωπικών Πληροφοριών

Ο σκοπός του Διεθνούς Προτύπου για την Προστασία του Απορρήτου και των Προσωπικών Πληροφοριών (ISPPPI) είναι να διασφαλίσει ότι οι Οργανισμοί κατά του Ντόπινγκ εφαρμόζουν κατάλληλες, επαρκείς και αποτελεσματικές προστασίες απορρήτου στις προσωπικές πληροφορίες που επεξεργάζονται κατά τη διεξαγωγή προγραμμάτων κατά του ντόπινγκ. αναγνώριση του γεγονότος ότι οι προσωπικές πληροφορίες που συλλέγονται στο πλαίσιο της καταπολέμησης του ντόπινγκ μπορούν να επηρεάσουν και να εμπλέκουν τα δικαιώματα και τα συμφέροντα της ιδιωτικής ζωής των ατόμων που εμπλέκονται και σχετίζονται με τον οργανωμένο αθλητισμό. [24]

2.3.5 Διεθνές Πρότυπο Για Την Εκπαίδευση

Το Διεθνές πρότυπο για την εκπαίδευση (ISE) καθορίζει τις αρχές και τα ελάχιστα πρότυπα που θα περιλαμβάνουν τα εκπαιδευτικά προγράμματα και υποστηρίζουν τα ενδιαφερόμενα μέρη στον σχεδιασμό, την εφαρμογή, την παρακολούθηση και την αξιολόγηση αποτελεσματικών εκπαιδευτικών προγραμμάτων, όπως ορίζεται στο Άρθρο 18 του Παγκόσμιου Κώδικα κατά του Ντόπινγκ (Κώδικας). Επίσης μέσα στους σκοπούς αυτού του Προτύπου είναι ο καθορισμός της ορολογίας στον τομέα της εκπαίδευσης και την υποστήριξη στην μεγιστοποίηση της χρήσης των πόρων στον τομέα της εκπαίδευσης. [25]

2.3.6 Διεθνές Πρότυπο Για Τη Συμμόρφωση Με Τον Κώδικα Απο Τους Ενδιαφερομένους

Το Πρότυπο περιγράφει τα δικαιώματα και υποχρεώσεις των ενδιαφερομένων που υιοθετούν τον Κώδικα, τους τρόπους υποστήριξης τους από τον WADA σχετικά με την επίτευξη, την διατήρηση και, όπου ισχύει, την ανάκτηση της συμμόρφωσης με τον Κώδικα. Τέλος αναφέρει τις διαδικασίες για τον προσδιορισμό της μη συμμόρφωσης στους κανόνες και τις ενδεχόμενες ποινές και συνέπειες. Σκοπός του Προτύπου είναι να διασφαλίσει ότι εφαρμόζονται ισχυροί, συμβατοί με τον Κώδικα κανόνες και προγράμματα κατά του ντόπινγκ και να επιβάλλονται με συνέπεια και αποτελεσματικότητα σε όλα τα αθλήματα και όλες τις χώρες. Έτσι οι καθαροί αθλητές μπορούν να έχουν εμπιστοσύνη ότι υπάρχει δίκαιος ανταγωνισμός και μπορεί να διατηρηθεί η εμπιστοσύνη του κοινού στην ακεραιότητα του αθλητισμού. [26]

2.4 Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή

Βασικά χαρακτηριστικά του Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή (Athlete's Biological Passport, ABP) είναι τα εξής :

- Σε αντίθεση με την παραδοσιακή άμεση ανίχνευση του ντόπινγκ βασίζεται στην παρακολούθηση επιλεγμένων παραμέτρων που αποκαλύπτουν έμμεσα την χρήση απαγορευμένων ουσιών.
- Δεν συγκρίνει τις τιμές των βιολογικών παραμέτρων του ατόμου με τις τιμές που θεωρούνται ως παράβαση των κανόνων αντιντόπινγκ αλλά καταγράφει πως μεταβάλλονται αυτές οι τιμές κατά τους προβλεπόμενους ελέγχους και έτσι εντοπίζει αποκλίσεις από τα φυσιολογικά επίπεδα του κάθε αθλητή.
- Μπορούν να βρεθούν ιατρικές παθήσεις που δεν είχαν γίνει αντιληπτές από τους αθλητές και τους ιατρούς τους και να λάβουν την κατάλληλη θεραπεία.
- Υποστηρίζει περαιτέρω την έξυπνη στόχευση αθλητών για έλεγχο ντόπινγκ.
- Εντός του προγράμματος ABP υπάρχουν 2 ενότητες , η αιματολογική (αίμα) για την ανίχνευση ντόπινγκ αίματος και η στεροειδής (ούρα) για την ανίχνευση αναβολικών στεροειδών. [27]

2.5 Διαδικασία Ελέγχου Ντόπινγκ

Οι όροι «διαδικασία ελέγχου ντόπινγκ» και «διαδικασία συλλογής δειγμάτων» χρησιμοποιούνται συχνά εναλλακτικά, υπάρχει, ωστόσο, μια μικρή διαφορά στον τρόπο χρήσης αυτών των όρων. Η διαδικασία ελέγχου ντόπινγκ περιλαμβάνει την επιλογή αθλητή, την ειδοποίηση αθλητή, την συλλογή δειγμάτων και την παράδοση των δειγμάτων στο διαπιστευμένο εργαστήριο του Παγκόσμιου Οργανισμού Αντιντόπινγκ (WADA) καθώς και τη διαδικασία διαχείρισης αποτελεσμάτων, ενώ η συλλογή δειγμάτων περιλαμβάνει απλώς τη συλλογή ούρων ή δείγματος αίματος από έναν αθλητή. Η διαδικασία ελέγχου ντόπινγκ διεξάγεται σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Κώδικα Αντιντόπινγκ (Κώδικας) και το Διεθνές Πρότυπο για Ελέγχους και Έρευνες (ISTI).

2.5.1 Είδη Δειγμάτων

Τα ούρα συλλέγονται πιο συχνά για ανάλυση για τις περισσότερες απαγορευμένες ουσίες και όλο και περισσότερο αίμα συλλέγεται και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση ορισμένων ουσιών όπως η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη (hGH) και το CERA(Continuous erythropoietin receptor activator). Το αλκοόλ ανιχνεύεται με ανάλυση αναπνοής ή/και αίματος. Ο αθλητής δεν μπορεί να επιλέξει να δώσει δείγμα αίματος αντί να δώσει δείγμα ούρων αλλά εξαρτάται από το είδος της ουσίας που αναλύεται.

2.5.2 Έλεγχοι Εντός Και Εκτός Αγώνων

Οι Οργανισμοί Αντιντόπινγκ μπορούν να διεξάγουν ελέγχους εντός και εκτός αγώνων. Στους ελέγχους εντός αγώνων:

- Οι αθλητές επιλέγονται για έλεγχο σε σχέση με έναν συγκεκριμένο αγώνα όπως Εθνικά Πρωταθλήματα, Ολυμπιακούς Αγώνες και Παγκόσμια Πρωταθλήματα.
- Τα κριτήρια επιλογής ελέγχου μπορεί να περιλαμβάνουν τη θέση τερματισμού, τυχαία επιλογή ή στοχευμένη επιλογή.

Στους ελέγχους εκτός αγώνων:

- Ο έλεγχος μπορεί να πραγματοποιηθεί ανά πάσα στιγμή και σε οποιοδήποτε μέρος, χωρίς προηγούμενη ειδοποίηση προς τον αθλητή.
- Οι Οργανισμοί Αντιντόπινγκ αποφασίζουν πότε και πού θα ελεγχθεί ο αθλητής.
- Οι αθλητές πρέπει να παρέχουν ακριβείς και τρέχουσες πληροφορίες για το πού βρίσκεται (Whereabouts, Πληροφορίες Εντοπισμού Αθλητή). Αυτές οι πληροφορίες περιλαμβάνουν λεπτομέρειες όπως διεύθυνση σπιτιού, πρόγραμμα εργασίας, χώροι και πρόγραμμα προπονήσεων και πρόγραμμα αγώνων.

2.5.3 Διαδικασία Συλλογής Δειγμάτων

Για έλεγχο ντόπινγκ μπορεί να συλλεχθεί δείγμα ούρων ή αίματος σε έναν αθλητή οποτεδήποτε και οπουδήποτε. Η διαδικασία σύμφωνα με τις οδηγίες της WADA είναι ως εξής :

- 1) Ο αθλητής θα ειδοποιηθεί από τον υπεύθυνο ελέγχου ντόπινγκ (Doping Control Officer, DCO) ή από τον συνοδό που ορίζεται για τον έλεγχο ντόπινγκ.
- 2) Υπογράφει ένα έντυπο που θα επιβεβαιώνει ότι κατανοεί τα δικαιώματα και τις υποχρεώσεις του/της.
- 3) Παρουσιάζεται στο χώρο ελέγχου ντόπινγκ το ταχύτερο δυνατό.
- 4) Στον χώρο ελέγχου ντόπινγκ ο αθλητής θα επιλέξει ένα δοχείο συλλογής από τα διαθέσιμα που του παρέχονται.
- 5) Ο αθλητής θα γδυθεί από τα γόνατα μέχρι τον αφαλό και στα χεριά μέχρι τον αγκώνα για να παρέχει ανεμπόδιστη εποπτεία της διέλευσης του δείγματος στο δοχείο με τον DCO ή τον συνοδό (του ίδιου φύλου με τον αθλητή) να εποπτεύει τον αθλητή κατά τη διάρκεια της συλλογής του δείγματος.

6) Η συγκέντρωση του δείγματος σταματάει όταν έχει συλλεχθεί όγκος τουλάχιστον 90 ml ούρων.

7) Ο αθλητής θα επιλέξει ένα κιτ συλλογής δειγμάτων από τα διαθέσιμα και θα χωρίσει το δείγμα σε δυο δοχεία, σε Α και Β δοχεία. Ο διαχωρισμός του δείγματος ξεκινάει στο Δοχείο Β μέχρι τα 30 ml και μετά στο Δοχείο Α μέχρι τα 60 ml.

8) Ο DCO θα μετρήσει το ειδικό βάρος του δείγματος για να διασφαλιστεί ότι δεν είναι πολύ αραιωμένο για ανάλυση. Αν είναι πολύ αραιωμένο, μπορεί να ζητηθεί από τον αθλητή να παράσχει επιπλέον δείγματα.

9) Ο αθλητής θα συμπληρώσει τη φόρμα ελέγχου ντόπινγκ με πληροφορίες για τις τυχόν ουσίες μπορεί να παίρνει, συνταγογραφούμενα φάρμακα, φάρμακα χωρίς ιατρική συνταγή και συμπληρώματα διατροφής και επίσης σημειώνοντας ανησυχίες ή σχόλια, εάν έχει, σχετικά με τον έλεγχο ντόπινγκ.

10) Επιβεβαιώνει ο αθλητής ότι οι πληροφορίες, οι αριθμοί που κατεγράφησαν και ο κωδικός του δείγματος είναι σωστά και υπογράφει την φόρμα ελέγχου και λαμβάνει αντίγραφο της φόρμας ελέγχου ντόπινγκ.

Τα δείγματα στην συνέχεια θα σταλούν σε εργαστήριο διαπιστευμένο από τον WADA με αυστηρή εμπιστευτικότητα και θα παρακολουθείται η διαδρομή μέχρι το εργαστήριο για να διασφαλιστεί η ασφάλειά τους.

Το δείγμα Α θα αναλυθεί και το δείγμα Β θα αποθηκευτεί με ασφάλεια για περαιτέρω δοκιμή εάν απαιτείται. Το εργαστήριο θα στείλει τα αποτελέσματα στον αρμόδιο οργανισμό αντιντόπινγκ (Anti-Doping Organization, ADO) και στον WADA.



Εικόνα 4 Ειδικά δοχεία δειγμάτων ούρων για την αποθήκευση και μεταφορά τους στο εργαστήριο προς ανάλυση. Τα δοχεία, εκτός του ότι είναι αριθμημένα, εφόσον σφραγιστούν μπορούν να ανοίξουν μόνο με ειδικό εργαλείο.

2.5.4 Παραβίαση Κανόνα Αντιντόπινγκ (ADRV)

Ο Κώδικας περιγράφει τις ακόλουθες παραβιάσεις κανόνων αντιντόπινγκ (ADRV, anti-doping rule violation):

- 1) Παρουσία απαγορευμένης ουσίας ή μεταβολιτών ή δεικτών της σε δείγμα αθλητή. Οι αθλητές είναι υπεύθυνοι για οτιδήποτε μπαίνει στο σώμα τους. Δεν είναι απαραίτητο να αποδεικνύεται η πρόθεση, το σφάλμα, η αμέλεια ή η εν γνώσει χρήση του από την πλευρά του αθλητή προκειμένου να δημιουργηθεί ADRV. Αυτό αναφέρεται ως η έννοια της απόλυτης ευθύνης, που είχε εφαρμοστεί από τη Διεθνή Ολυμπιακή Επιτροπή (ΔΟΕ) στον Κώδικα Αντιντόπινγκ. Ενώ απαιτείται απόδειξη, μέσω εργαστηριακής ανάλυσης ενός δείγματος σωματικού υγρού για την σύσταση ADRV μπορεί να περιλαμβάνει και κατάθεση αθλητή, καταθέσεις μαρτύρων ή συμπεράσματα που προέρχονται από ένα προφίλ αναλύσεων που σχηματίζεται σε βάθος χρόνου (Βιολογικό Διαβατήριο).
- 2) Χρήση ή απόπειρα χρήσης από αθλητή απαγορευμένης ουσίας ή απαγορευμένης μεθόδου.
- 3) Αποφυγή, άρνηση ή αποτυχία στην συλλογή δειγμάτων.
- 4) Οποιοσδήποτε συνδυασμός τριών χαμένων τεστ και/ή αποτυχίες υποβολής Πληροφοριών Εντοπισμού Αθλητή, όπως ορίζεται στο Διεθνές Πρότυπο για Ελέγχους και Έρευνες, εντός δωδεκάμηνης περιόδου από τον αθλητή σε Κατάλογο Ελεγχόμενων Αθλητών (RTP, Registered Testing Pool). Οι αθλητές σε Κατάλογο Ελεγχόμενων Αθλητών απαιτείται να ενημερώνουν τους Οργανισμούς Αντιντόπινγκ (ADO) που και πότε θα βρίσκονται. Αυτό αναφέρεται ως Πληροφορίες εντοπισμού Αθλητή (Whereabouts). Εάν ένας αθλητής δεν παρέχει αυτές τις πληροφορίες ή δεν βρίσκεται εκεί που λέει ότι βρίσκεται τρεις φορές μέσα σε μια περίοδο 12 μηνών, ο αθλητής μπορεί να χρεωθεί με ADRV και να του επιβληθεί ανάλογη κύρωση.
- 5) Παραποίηση ή απόπειρα παραβίασης οποιουδήποτε μέρους του ελέγχου ντόπινγκ.
- 6) Κατοχή απαγορευμένων ουσιών και απαγορευμένων μεθόδων.
- 7) Εμπορία ή απόπειρα εμπορίας οποιασδήποτε απαγορευμένης ουσίας ή απαγορευμένης μεθόδου.
- 8) Χορήγηση ή απόπειρα χορήγησης σε οποιονδήποτε αθλητή εντός αγώνα οποιασδήποτε απαγορευμένης μεθόδου ή απαγορευμένης ουσίας. Ακόμα η χορήγηση ή απόπειρα χορήγησης σε οποιονδήποτε αθλητή εκτός αγώνα οποιασδήποτε απαγορευμένης μεθόδου ή οποιασδήποτε απαγορευμένης ουσίας που απαγορεύεται εκτός αγώνων.
- 9) Βοήθεια, συνέργεια, συγκαλύψη ή οποιουδήποτε άλλου είδους σκόπιμη ενέργεια που περιλαμβάνει παραβίαση κανόνων αντιντόπινγκ όπως και απόπειρα παραβίασης κανόνων αντιντόπινγκ.
- 10) Σχέση από αθλητή ή άλλο πρόσωπο που υπόκειται στον έλεγχο από τον Οργανισμό Αντιντόπινγκ με επαγγελματική ή αθλητική σχέση με οποιοδήποτε άτομο

που έχει διαπράξει ADRV, είτε πρόκειται για την κατοχή, διαχείριση ή διακίνηση μιας απαγορευμένης ουσίας ή άλλου ADRV που προσδιορίζεται στον Κώδικα. Ένα ADRV θεωρείται για έναν αθλητή που σχετίζεται με τεχνικό αθλητικό προσωπικό που εκτίει περίοδο αποκλεισμού το οποίο έχει καταδικαστεί για παραβίαση συμπεριφοράς που θα συνιστούσε ντόπινγκ, όπως ένας προπονητής σε αναστολή για ADRV. Η συσχέτιση περιλαμβάνει δραστηριότητες όπως προπόνηση, κατάστρωση στρατηγικής, εξάσκηση τεχνικής, παροχή διατροφικής ή ιατρικής συμβουλής, παροχής θεραπείας και συνταγογράφησης ή επιτρέποντας στο προσωπικό υποστήριξης του αθλητή να λειτουργεί ως αντιπρόσωπος ή εκπρόσωπος του. Αυτό το άρθρο δεν εφαρμόζεται σε περιπτώσεις που υπάρχει σχέση παιδιού/γονέα ή συζύγου. Πριν βρεθεί ένας αθλητής να έχει παραβιάσει αυτό το άρθρο, ο αθλητής πρέπει να λάβει ειδοποίηση από την αρμόδια ADO του καθεστώτος αποκλεισμού του υποστηρικτικού προσωπικού αθλητών και των συνεπειών της συνέχισης της συσχέτισης. [28] [29] [30] [31]

3 ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Ο Απαγορευμένος κατάλογος ουσιών δημοσιεύτηκε για πρώτη φορά το 1963 υπό την εποπτεία της Διεθνούς Ολυμπιακής Επιτροπής (ΔΟΕ). Από το 2004, όπως ορίζει ο Κώδικας, ο WADA είναι υπεύθυνος για την προετοιμασία και τη δημοσίευση του Καταλόγου.

3.1 Προσθήκη Ουσίας -Μεθόδου Στον Κατάλογο

Μια ουσία ή μια μέθοδος που πληροί δύο από τα ακόλουθα τρία κριτήρια μπορεί να εξεταστεί για συμπερίληψη στον Κατάλογο. Αυτά περιλαμβάνουν:

- Βελτίωση απόδοσης: Ιατρικές ή άλλες επιστημονικές ενδείξεις, φαρμακολογική επίδραση ή εμπειρία ότι η ουσία ή η μέθοδος, μαζί ή σε συνδυασμό με άλλες ουσίες ή μεθόδους, έχει τη δυνατότητα να ενισχύσει ή να βελτιώσει τις αθλητικές επιδόσεις.
- Απειλή για την υγεία του αθλητή: Ιατρικά ή άλλα επιστημονικά στοιχεία, φαρμακολογική επίδραση ή εμπειρία ότι η χρήση της ουσίας ή της μεθόδου αντιπροσωπεύει πραγματικό ή δυνητικό κίνδυνο για την υγεία του αθλητή.
- Παραβιάζει το πνεύμα του αθλητισμού: Η απόφαση της WADA ότι η χρήση της ουσίας ή της μεθόδου παραβιάζει το πνεύμα του αθλητισμού όπως περιγράφεται στην εισαγωγή του Κώδικα. [32] [33]

3.2 Κατηγορίες Ουσιών

Ο κατάλογος περιλαμβάνει ενώσεις χωρισμένες σε εννέα ομάδες απαγορευμένων ουσιών (αναβολικοί παράγοντες, πεπτιδικές ορμόνες, αυξητικούς παράγοντες και

σχετικές ουσίες, β-2 αγωνιστές, ορμονικοί και μεταβολικοί ρυθμιστές, διουρητικά και άλλοι παράγοντες κάλυψης, διεγερτικά, ναρκωτικά, κανναβινοειδή και γλυκοκορτικοστεροειδή), τρεις απαγορευμένες μεθόδους M1-M3 (χειρισμός αίματος και συστατικών του αίματος, χημικός και φυσικός χειρισμός ή/και γονιδιακό ντόπινγκ) και δύο ομάδες ουσιών που απαγορεύονται σε συγκεκριμένα αθλήματα (αλκοόλ και β-αναστολείς).

Ουσίες που απαγορεύονται εντός και εκτός αγώνων :

Οι κατηγορίες ντόπινγκ από το S0 έως το S5 και οι μέθοδοι M1 έως M3 . Στην κατηγορία S0 οι απαγορευμένες ουσίες αυτής της κατηγορίας είναι οποιαδήποτε φαρμακολογική ουσία που δεν αναφέρεται σε κάποια από τις άλλες ενότητες του Καταλόγου και χωρίς τρέχουσα έγκριση από καμία κυβερνητική ρυθμιστική υγειονομική αρχή για ανθρώπινη θεραπευτική χρήση.

Ουσίες που απαγορεύονται εντός αγώνων:

Οι ουσίες από το S6 έως το S9 απαγορεύονται μόνο εντός του αγώνα. Με την επιφύλαξη διαφορετικής περιόδου που έχει εγκριθεί από την WADA για ένα δεδομένο άθλημα, η περίοδος εντός των αγώνων είναι η περίοδος που αρχίζει λίγο πριν τα μεσάνυχτα (στις 23:59) την ημέρα πριν από έναν αγώνα στον οποίο ο Αθλητής έχει προγραμματιστεί να συμμετέχει μέχρι το τέλος του αγωνίσματος και της διαδικασίας συλλογής δειγμάτων.

Σε ορισμένες συγκεκριμένες περιπτώσεις, τα φάρμακα απαγορεύονται μόνο όταν χορηγούνται από ορισμένες οδούς για παράδειγμα από το στόμα ή ενδοφλέβια.
[32] [33]

3.3 Αντικανονικό Αναλυτικό Εύρημα

Αντικανονικό Αναλυτικό Εύρημα (Adverse Analytical Finding, AAF): Η παρουσία σε ένα δείγμα μιας απαγορευμένης ουσίας ή των μεταβολιτών ή των δεικτών της ή απόδειξη της χρήσης απαγορευμένης μεθόδου.

Ελάχιστο Απαιτούμενο Επίπεδο Απόδοσης (Minimum Required Performance Level, MRPL) :

- Η ελάχιστη ικανότητα ανίχνευσης και ταυτοποίησης για τις μεθόδους ελέγχων.
- Καθορίζεται για κάθε απαγορευμένη ένωση λαμβάνοντας υπόψη τον μεταβολισμό, τη σταθερότητα, τη φαρμακοκινητική και τη φαρμακοδυναμική.
- Ουσίες με μακροχρόνιες επιδράσεις ντόπινγκ ως αναβολικοί παράγοντες έχουν χαμηλότερες τιμές MRPL από εκείνες τις ουσίες που λαμβάνονται για άμεση δράση (π.χ. διεγερτικά ή διουρητικά).

- Διασφαλίζει ότι όλα τα διαπιστευμένα εργαστήρια ελέγχου ντόπινγκ μπορούν να αναφέρουν την παρουσία απαγορευμένων ουσιών με ομοιόμορφο τρόπο
- Για ενώσεις χωρίς ανώτερο όριο, το εργαστήριο πρέπει να προσδιορίσει (όχι να ποσοτικοποιήσει) την παρουσία της ένωσης στο δείγμα.
- Οι ουσίες με ανώτερο όριο θεωρούνται παράγοντες ντόπινγκ μόνο πάνω από μια οριακή συγκέντρωση και επομένως απαιτείται ποσοτική μέτρηση. Τα υψηλά επίπεδα ενδογενών ενώσεων, όπως τα αναβολικά ανδρογόνα στεροειδή (AAS), ποσοτικοποιούνται για την εκτίμηση του AAF. Έχουν καθοριστεί στατιστικά όρια ή αναλογίες για την εκτίμηση ενός ύποπτου δείγματος . [32] [33] [34]

ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΑΠΑΓΟΡΕΥΟΝΤΑΙ ΕΝΤΟΣ ΚΑΙ ΕΚΤΟΣ ΑΓΩΝΩΝ
S1—Αναβολικοί παράγοντες
S2—Πεπτιδικές ορμόνες, αυξητικοί παράγοντες και σχετικές ουσίες
S3—Βήτα-2 Αγωνιστές (εκτός από Σαλβουταμόλη, Σαλμετερόλη και Φορματορόλη)
S4—Ορμονικοί και μεταβολικοί ρυθμιστές
S5 —Διουρητικά και άλλοι παράγοντες κάλυψης
ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΑΠΑΓΟΡΕΥΟΝΤΑΙ ΜΟΝΟ ΕΝΤΟΣ ΑΓΩΝΩΝ
S6—Διεγερτικά
S7—Ναρκωτικά
S8—Κανναβινοειδή
S9—Γλυκοκορτικοστεροειδή
ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΑΠΑΓΟΡΕΥΟΝΤΑΙ ΣΕ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ ΑΘΛΗΜΑΤΑ
P1 — Αλκοόλ
P2—Βήτα-αναστολείς

Πίνακας 1 Κατάλογος Απαγορευμένων Ουσιών κατά WADA

3.4 S1—Αναβολικοί Παράγοντες

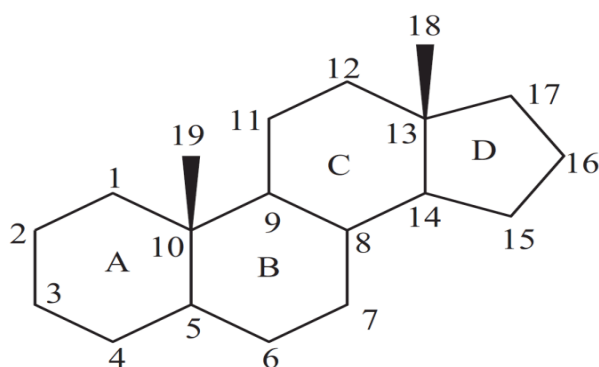
ΑΝΔΡΟΓΟΝΑ ΑΝΑΒΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ

Η χρήση ουσιών που ενισχύουν την απόδοση (performance-enhancing substance, PES), ιδιαίτερα των ανδρογόνων-αναβολικών στεροειδών (Androgen Anabolic Steroids, AAS), έχει αναγνωριστεί ως κοινή πρακτική και βλάπτει τον θεμιτό ανταγωνισμό στα υψηλού επιπέδου αθλήματα. Η κατάχρηση AAS εκτείνεται πλέον πολύ πέρα από τους επαγγελματίες αθλητές και έχει γίνει ένα σοβαρό παγκόσμιο ζήτημα δημόσιας υγείας. Τα AAS είναι σχετικά φθηνά, αποκτώνται εύκολα από

νόμιμες και παράνομες πηγές, διαχειρίζονται εύκολα και είναι εξαιρετικά αποτελεσματικά. Ελλείψει κατάλληλων ελεγχόμενων μελετών, η επιστημονική κοινότητα αμφισβήτησε την αποτελεσματικότητα των AAS ως ενισχυτικές ουσίες για μεγάλο χρονικό διάστημα, αλλά ακόμη και η ενδογενής τεστοστερόνη έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει το μέγεθος και τη δύναμη των μυών όταν χορηγείται σε υπερφυσιολογικές δόσεις.

Κατηγορίες Στεροειδών

Οι στεροειδείς ορμόνες μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα κορτικοστεροειδή και τα στεροειδή του φύλου. Οι υποκατηγορίες των κορτικοστεροειδών είναι τα γλυκοκορτικοειδή και τα αλατοκορτικοειδή και τα στεροειδή του φύλου μπορούν να χωριστούν σε ανδρογόνα, προγεσταγόνα και οιστρογόνα. Και οι πέντε κατηγορίες προέρχονται από τη χοληστερόλη. Όλοι οι σκελετοί έχουν κοινό ότι αποτελούνται από τέσσερις δακτυλούς, τρεις δακτυλούς κυκλοεξανίου (A, B, C) και έναν δακτύλιο κυκλοπεντανίου (D). Ο στεροειδικός προσανατολισμός όλων των υποκαταστατών ονομάζεται σχετικά με την ομάδα μεθυλίου μεταξύ των δακτυλίων A και B (C-10): εάν κατευθύνονται προς την ίδια κατεύθυνση (διαμόρφωση cis), ονομάζονται βήτα. αν οι υποκαταστάτες στέκονται αντίθετα (trans), ονομάζεται άλφα. [35]



Εικόνα 5 Δομή Ανδροστανίου όπου επισημαίνονται οι δακτύλιοι A,B,C,D καθώς και η αρίθμηση των ανθράκων του.

Βιοσύνθεση Στεροειδών

Η χοληστερόλη είναι ο κοινός πρόδρομος για το σχηματισμό όλων των στεροειδών ορμονών που περιλαμβάνουν προγεστίνες, ανδρογόνα, οιστρογόνα, γλυκοκορτικοειδή και αλατοκορτικοειδή. Ο ορός είναι η κύρια πηγή κυτταρικής χοληστερόλης αλλά μπορεί να συντεθεί και απο την αρχή στο σώμα.

Η πρεγνενολόνη είναι το πρώτο στάδιο στην βιοσύνθεση στεροειδών. Η χοληστερόλη μετατρέπεται σε πρεγνενολόνη με οξειδωτική διάσπαση της πλευρικής αλυσίδας της από το ένζυμο διάσπασης πλευρικής αλυσίδας (Cholesterol Side-Chain Cleavage Enzyme-CSCC) μέσα στα μιτοχόνδρια με την απώλεια έξι ατόμων άνθρακα (C27 σε C21))

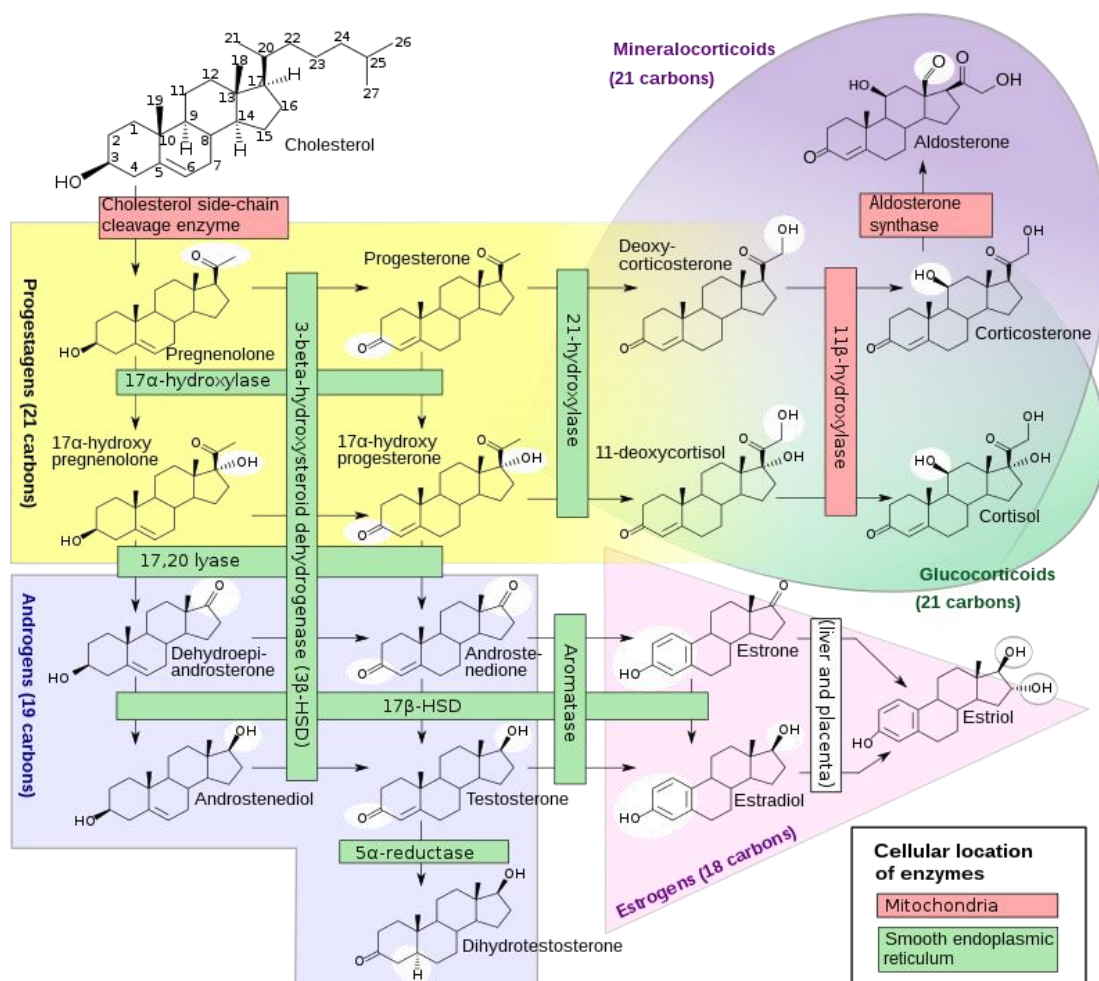
Η προγεστερόνη σχηματίζεται από την πρεγνενολόνη από το ένζυμο 3β-υδροξυστεροειδές αφυδρογονάση/Δ5-Δ4 ισομεράση (3β-HSD)

Εδώ, η στεροειδογενής οδός διακλαδίζεται στην οδό Δ5-υδροξυστεροειδών (ξεκινώντας με πρεγνενολόνη) και Δ4-κετοστεροειδή (ξεκινώντας με προγεστερόνη). Επιπλέον, η προγεστερόνη μπορεί να μετατραπεί σε δεοξυ-κορτικοστερόνη από την 21-υδροξυλάση η οποία με τη σειρά της μετατρέπεται σε κορτικοστερόνη. Στη συνέχεια, αυτή η ένωση οξειδώνεται προς το τελικό προϊόν αλδοστερόνη.

Η τρίτη ενζυματική αντίδραση περιλαμβάνει τη 17α-υδροξυλάση/C17-20 λυάση.(17,20 λυάση). Αυτό το ένζυμο καταλύει δύο χημικές αντιδράσεις, την υδροξυλίωση και τη διάσπαση (μετατρέπει το στεροειδές από μόριο 21 άνθρακων σε μόριο 19 άνθρακων. Έτσι, για την οδό Δ5-υδροξυστεροειδούς, η 17α-υδροξυλάση καταλύει αρχικά τη μετατροπή της πρεγνενολόνης σε 17α-OH-πρεγνενολόνη, η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται σε δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) με τη δράση της λυάσης 17, 20.

Ομοίως για τα Δ4-κετοστεροειδή, η 17-υδροξυλάση μετατρέπει την προγεστερόνη σε 17α-OH-Προγεστερόνη. Επιπλέον, αυτή η ένωση μπορεί να μετατραπεί σε 11-δεοξυ-κορτιζόλη από 21-υδροξυλάση η οποία με τη σειρά της μετατρέπεται σε κορτιζόλη.

Το επόμενο ενζυματικό στάδιο περιλαμβάνει τη μετατροπή της DHEA σε ανδροστενδιόνη με τη δράση της 3β-HSD. Στη συνέχεια, αυτή η ένωση μετατρέπεται σε τεστοστερόνη από αφυδρογονάση 17β-υδροξυστεροειδούς (17β-HSD). Μια δεύτερη πιθανή αντίδραση που περιλαμβάνει ανδροστενδιόνη εμφανίζεται στις γυναίκες, όπου η ανδροστενδιόνη μετατρέπεται σε οιστρόνη από την αρωματάση. Στους άνδρες, η τεστοστερόνη μετατρέπεται σε δεϋδροτεστοστερόνη (DHT) από την 5α-αναγωγάση, η οποία είναι σημαντικά πιο ισχυρή ως ανδρογόνο από την Τεστοστερόνη αφού συνδέεται ισχυρότερα με τους υποδοχείς των ανδρογόνων. [36]

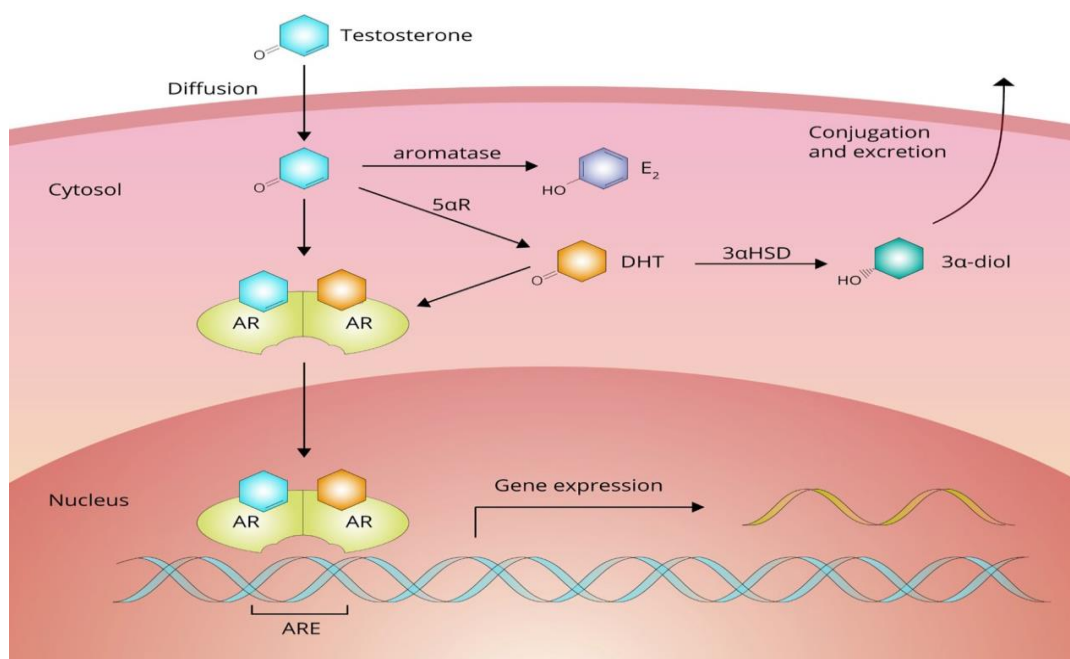


Εικόνα 6 Βιοσύνθεση των Στεροειδων Ανδρογόνων

Μηχανισμός Δράσης

Στον άνδρα, η τεστοστερόνη είναι το κύριο AAS που κυκλοφορεί. Για τη σωστή δράση του AAS μερικές φορές είναι απαραίτητη η μετατροπή της τεστοστερόνης σε διυδροτεστοστερόνη πριν μπορέσει να ενεργοποιήσει πλήρως τον υποδοχέα ανδρογόνων (Androgen Receptor AR). Απουσία προσδέτη, ο υποδοχέας ανδρογόνων υπάρχει σε ανενεργή μορφή σε σύμπλοκο με μοριακούς συνοδούς. Αυτές οι πρωτεΐνες βοηθούν στη διατήρηση της σωστής διαμόρφωσης του υποδοχέα που είναι απαραίτητος για την αποτελεσματική δέσμευση του προσδετη. Κατά τη δέσμευση ορμονών, υποδοχέας ανδρογόνων μετατοπίζεται από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα όπου χρησιμοποιεί την περιοχή δέσμευσης DNA του για να αλληλεπιδράσει ως ομοδιμερές σε συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA που ονομάζονται στοιχεία απόκρισης ανδρογόνου (androgen response element, ARE). Η προσκόλληση σε κλώνους DNA πυροδοτεί μια στρατολόγηση διαφόρων πρωτεϊνών συνρύθμισης για να σχηματιστεί ένα σύμπλοκο μεταγραφής που ενεργοποιεί τη μεταγραφή στις ρυθμιστικές περιοχές του γονιδίου στόχου. Οι συνρρυθμιστές τροποποιούν τη μεταγραφική δραστηριότητα και μπορούν να έχουν ενεργοποιητική

δράση ή κατασταλτική ανάλογα με τον ιστό στόχο. Η ανοδική ρύθμιση της μεταγραφικής δραστηριότητας έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση του αγγελιοφόρου RNA. Στα ριβοσώματα, μεταφράζεται το αγγελιοφόρο RNA σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες. [37] [38]



Εικόνα 7 Μηχανισμός δράσης Στεροειδων Ανδρογόνων

Μεταβολισμός Στεροειδών

Μόνο μια μικρή ποσότητα στεροειδών που κυκλοφορεί στο πλάσμα απεκκρίνεται αμετάβλητη στα ούρα, τα περισσότερα από τα οποία μεταβολίζονται από το ήπαρ. Για κάθε στεροειδές παράγεται ένας μεγάλος αριθμός ηπατικών μεταβολιτών, οι περισσότεροι από τους οποίους περιέχουν επιπλέον υδροξυλομάδες ή συνδέονται με ένα τμήμα θειικού ή γλυκουρονιδίου

Στον άνθρωπο ο κύριος όγκος των μεταβολιτών AAS εμφανίζεται στα ούρα. Οι μεταβολικές αντιδράσεις ομαδοποιούνται σε δύο τύπους, τις αντιδράσεις φάσης I και φάσης II, και μετατρέπουν το στεροειδές σε πιο πολικές ενώσεις προκειμένου να αδρανοποιήσουν συνήθως το υπόστρωμα και να διευκολύνουν την αποβολή του από τον οργανισμό.

Λόγω κοινών οδών μεταβολισμού δεν δημιουργούν όλα τα AAS μοναδικούς μεταβολίτες. [39]

Ρυθμιστικός Μηχανισμός Ανάδρασης Των Στεροειδών

Ο υποθάλαμος και η υπόφυση ρυθμίζουν έμμεσα την έκκριση τεστοστερόνης στο σώμα. Ο υποθάλαμος παράγει ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροπίνης (Gonadotropin Releasing Hormone, GnRH). Η GnRH διεγείρει την υπόφυση να

παράγει ωχρινοτρόπο ορμόνη (Luteinizing Hormone, LH) και ωοθυλακιοτρόπο ορμόνη (Follicle Stimulating Hormone, FSH). Η LH και η FSH ρυθμίζουν την παραγωγή των ορμονών φύλου στις γονάδες. Μέσω αυτού του συστήματος μπορεί να εκτιμηθεί η ποσότητα τεστοστερόνης στο αίμα και ως αποτέλεσμα να ρυθμιστεί η έκκριση, η λεγόμενη αρνητική ανάδραση. Η παραγωγή της υποθαλαμικής GnRH και η παραγωγή των LH και FSH από την υπόφυση αναστέλλονται, γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή ενδογενούς τεστοστερόνης.

Σχήματα Δόσεων Πρόσληψης AAS

Οι χρήστες συνήθως κάνουν ένεση AAS ενδομυϊκά ή λαμβάνουν χάπια AAS από το στόμα. Η χρήση των AAS λαμβάνει χώρα συνήθως σε φάσεις γνωστές ως «κύκλοι» (cycles). Υπάρχουν δύο κύρια είδη κύκλων. Όταν ο χρήστης είναι «σε κύκλο» (on cycle) είναι σε φάση χρήσης AAS ενώ όταν ο χρήστης είναι «εκτός κύκλου» (off cycle) είναι η φάση αποχής από AAS. Ο σκοπός του κύκλου απενεργοποίησης είναι να αποτρέψει την ανοχή του AAS και να μειώσει την πιθανότητα παρενεργειών καθώς και να ομαλοποιήσει τη δραστηριότητα των φυσικών ορμονών. Οι χρήστες AAS συμμετέχουν επίσης στη «στοίβαξη» (stacking) - τον συνδυασμό διαφορετικών ενέσιμων και από του στόματος AAS. Παρόμοια με τα παραπάνω είναι και οι «κύκλοι blitz» (blitz-cycles) όπου οι χρήστες αλλάζουν συνεχώς AAS προκειμένου να αποτρέψουν την ανοχή και τη μείωση της ρύθμισης των υποδοχέων ανδρογόνων. Πολλοί χρήστες συνδυάζουν τη χρήση AAS με τη χρήση νόμιμων και παράνομων ουσιών. Οι αθλητές συνήθως λαμβάνουν μεγάλες δόσεις στεροειδών, περίπου 50-100 φορές την ποσότητα της φυσιολογικής συγκέντρωσης στεροειδών. [40] [41]

Χρήση AAS Στον Αθλητισμό

Στους άνδρες, η τεστοστερόνη παίζει βασικό ρόλο στην ανάπτυξη των ανδρικών αναπαραγωγικών ιστών όπως οι γονάδες και ο προστάτης, καθώς και στην προώθηση δευτερογενών σεξουαλικών χαρακτηριστικών όπως η αύξηση των μυών, η οστική μάζα και η ανάπτυξη τριχών του σώματος.

Η αναβολική δράση επηρεάζει τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών διεγείροντας τη σύνθεση πρωτεϊνών και αναστέλλοντας τον καταβολισμό των πρωτεϊνών στους σκελετικούς μύες και τα οστά. Η χορήγηση AAS αυξάνει τις διαστάσεις του σώματος κυρίως στην άνω περιοχή του σώματος (λαιμός, θώρακας, ώμοι και άνω βραχίονας).

Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι η χρήση του AAS ενισχύει τα αποτελέσματα της προπόνησης δύναμης.

Τα δευτερεύοντα σεξουαλικά χαρακτηριστικά συνδέονται κυρίως με ανδρογόνες αλλαγές: η διεύρυνση του λάρυγγα προκαλεί εμβάθυνση της φωνής, ανάπτυξη τριχών στην ηβική και μασχαλιαία περιοχή και στο πρόσωπο, προωθείται η δραστηριότητα των σμηγματογόνων αδένων που μπορεί να οδηγήσει σε ακμή και την επίδραση στο κεντρικό νευρικό σύστημα που προκαλεί μια αίσθηση ευεξίας και μερικές φορές πιο επιθετική συμπεριφορά. Προφανώς, οι αθλητές ενδιαφέρονται πρωτίστως για την αναβολική επίδραση του AAS και όχι για την ανδρογόνο δράση που είναι ανεπιθύμητη για αυτούς.

Παρενέργειες Χρήσης AAS

Μια μεγάλη ποικιλία καρδιαγγειακών παρενεργειών έχουν συσχετιστεί με την κατάχρηση ανδρογόνων. Παθολογικά ευρήματα όπως θανατηφόρες αρρυθμίες, μυοκαρδιοπάθεια, υπερτροφία αριστερής κοιλίας, μυοκαρδίτιδα, έμφραγμα του μυοκαρδίου, καρδιακός επιπωματισμός, καρδιακή ανεπάρκεια, θρομβωτικό και αιμορραγικό εγκεφαλικό επεισόδιο, υποσκληρίδιο αιμάτωμα, περιφερική αρτηρία και φλεβική θρόμβωση, και πνευμονική θρόμβωση.

Οι αναπαραγωγικές επιδράσεις της κατάχρησης ανδρογόνων είναι σοβαρές αλλά τουλάχιστον αρχικά αναστρέψιμες. Η καταστολή του άξονα υποθάλαμου-υπόφυσης-γοναδων οδηγεί σε υπογοναδισμό, διαταραχή της σπερματογένεσης, στειρότητα, σεξουαλική δυσλειτουργία και γυναικομαστία στους άνδρες. Στις γυναίκες, η καταστολή του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης οδηγεί σε αμηνόρροια, ανωορρηξία, υπογονιμότητα και ατροφία του μαστού. Η αποκατάσταση της αναπαραγωγικής λειτουργίας μετά τη διακοπή της χρήσης ανδρογόνων εξαρτάται από τη διάρκεια και την ένταση της κατάχρησης. Με παρατεταμένη χρήση υψηλής δόσης, όπως οι επαγγελματίες body builders που χρησιμοποιούν συχνά τεράστιες δόσεις συνεχώς για χρόνια χωρίς διακοπή, μπορεί να διαρκέσει περισσότερο από ένα χρόνο ή σε ορισμένες ακραίες περιπτώσεις, μπορεί να μην ανακάμψει ποτέ.

Η ηπατοτοξικότητα είναι μια σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια που προκύπτει από του στόματος λήψη 17α-αλκυλιωμένων ανδρογόνων, αν και όχι από άλλα ανδρογόνα. Η ηπατοτοξικότητα περιλαμβάνει ηπατικούς όγκους (αδένωμα, καρκίνωμα, χολαγγειοσάρκωμα, αγγειοσάρκωμα) και ηπατοτοξικότητα φαρμάκων (συνήθως χολοστατική). Οι περισσότεροι ηπατικοί όγκοι είναι αργά προοδευτικοί και αναστρέψιμοι μετά τη διακοπή της λήψης ανδρογόνων, αλλά αναφέρονται και θανατηφόροι καρκίνοι.

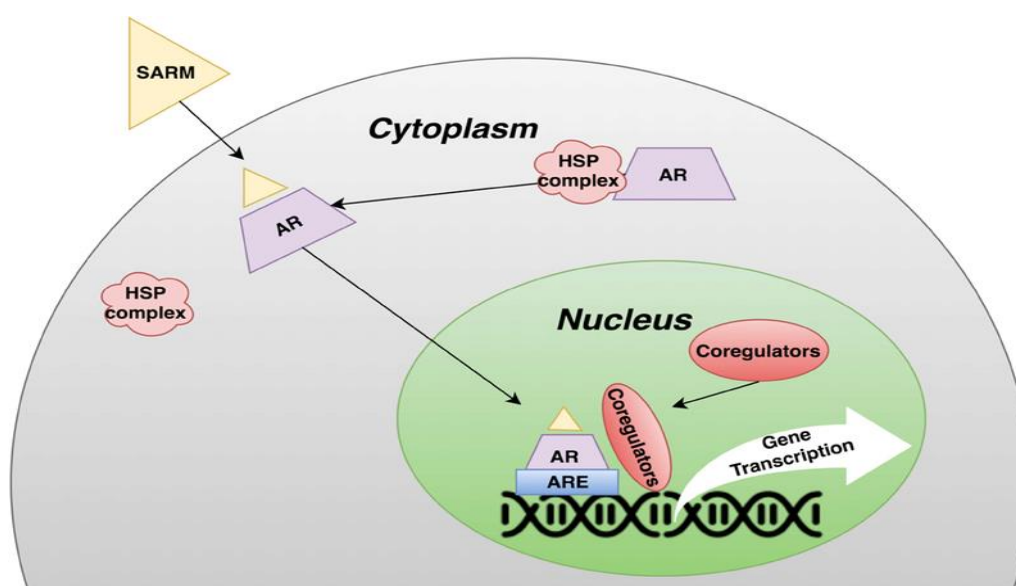
Αρνητική επίδραση της κατάχρησης ανδρογόνων είναι και ο κίνδυνος ανεπιθύμητων νευροψυχολογικών διαταραχών. Οι νευροψυχιατρικές παρενέργειες μπορεί να ποικίλλουν από ήπιες διαταραχές της διάθεσης, κακή κρίση, ανεξέλεγκτη επιθετικότητα, εχθρότητα, διαταραχές ύπνου, μανία και κατάθλιψη. [42][43]

ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΙ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΩΝ ΑΝΔΡΟΓΟΝΩΝ

Οι εκλεκτικοί τροποποιητές υποδοχέα ανδρογόνων (Selective Androgen Receptor Modulators, SARMs) είναι ουσίες που καταφέρνουν να διαχωρίσουν το αναβολικό αποτέλεσμα από τα δευτερογενή ανδροποιητικά αποτελέσματα των αναβολικών, σε σύγκριση με τις ανδρογόνες ορμόνες, λόγω της μη στεροειδούς δομής που διαθέτουν. Έχοντας αυτό το πλεονέκτημα, εκτός από τη δυνατότητα χορήγησης από το στόμα, οι ουσίες αυτές χρησιμοποιούνται παράνομα από αθλητές. Οι SARM απαγορεύονται για αθλητές από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Αντιντόπινγκ, αλλά μπορούν να βρεθούν εύκολα από διάφορες παράνομες πηγές.

Μηχανισμός Δράσης

Ο υποδοχέας ανδρογόνου (AR) ανήκει στην υπερικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων στεροειδούς ορμόνης και η δέσμευση των ενδογενών προσδετών του (δηλαδή τεστοστερόνη και διυδροξυτεστοστερόνη) ρυθμίζει τη λειτουργία του ως μεταγραφικού παράγοντα. Τα αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης μεταξύ του AR και των ανδρογόνων είναι πολύπλοκα και ποικίλλουν ανάλογα με το φύλο, την ηλικία, τον τύπο ιστού και την ορμονική κατάσταση. Ενώ ο AR είναι ευρέως γνωστός για το ρόλο του στην ανδρική ανάπτυξη και συντήρηση, έχει επίσης σημαντικές επιπτώσεις στην οστική πυκνότητα, τη δύναμη, τη μυϊκή μάζα, την αιμοποίηση, την πήξη, το μεταβολισμό και τη γνωστική λειτουργία. Όπως τα ανδρογόνα, τα SARM εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα, όπου εκτοπίζουν τον υποδοχέα ανδρογόνων από τις πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSPs, Heat Shock Proteins). Μόλις συνδεθούν, μετατοπίζονται στον πυρήνα και δρουν ως μεταγραφικοί παράγοντες δεσμεύοντας στοιχεία απόκρισης ανδρογόνων (Androgen Response Elements, AREs). Ανάλογα με τον τύπο ιστού και το ρυθμιστικό περιβάλλον του κυττάρου, διαφορετικές συνρρυθμιστικές πρωτεΐνες βοηθούν στον προσδιορισμό και τη ρύθμιση της μεταγραφικής απόκρισης. [44] [45] [46]

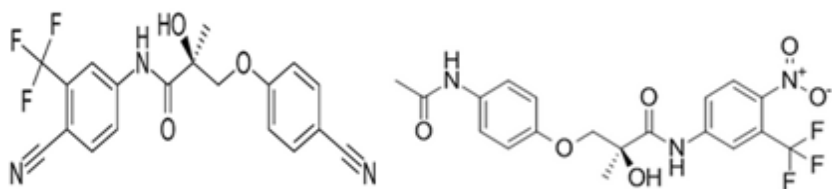


Εικόνα 8 Μηχανισμός δράσης SARM

Επιπτώσεις Στην Υγεία Και Στην Απόδοση

Τα πιο γνωστά SARM είναι τα Ostarine (enobosarm) και Andarine (S-4). Αυτά τα φάρμακα προορίζονται για χορήγηση από το στόμα. Αναπτύχθηκαν για τη θεραπεία

Η διαφορά μεταξύ του ντόπινγκ με στεροειδή και με SARMs, είναι ότι οι μακροχρόνιες παρενέργειες όπως ο υπογοναδισμός λόγω καταστολής του άξονα υποθαλάμου- υπόφυσης, η γυναικομαστία, η ατροφία των γονάδων, η σεξουαλική δυσλειτουργία ή η αλωπεκία που συνήθως εμφανίζονται μετά τη χορήγηση παραγώγων τεστοστερόνης δεν εμφανίζονται λόγω της μη στεροειδούς δομής. Άλλες παρενέργειες που προκαλούνται από τη χρόνια χορήγηση στεροειδών είναι αρρυθμία, δυσλιπιδαιμία, παθολογική αναδιαμόρφωση στην καρδιά, υπέρταση, θρόμβωση, ερυθροκυττάρωση, νευροψυχιατρικές και συμπεριφορικές διαταραχές, επιδράσεις που δεν περιγράφονται μετά τη χορήγηση SARMs. [45] [46]

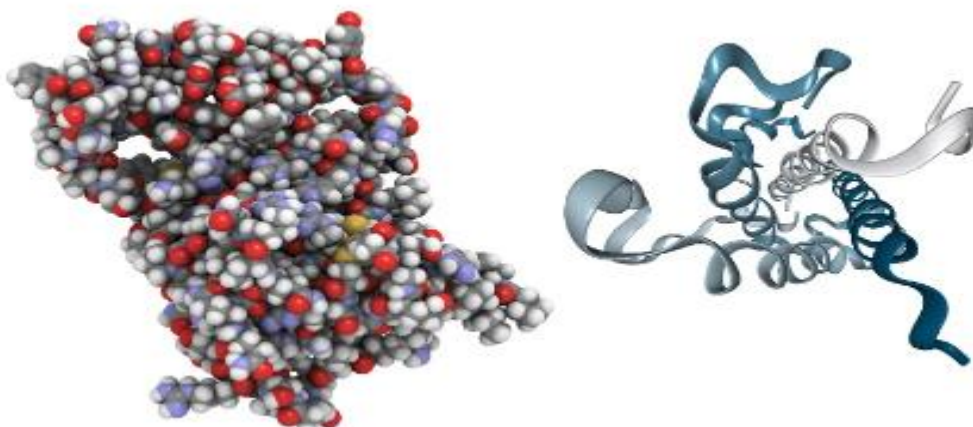


Εικόνα 9 Χημική Δομή των SARMs Ostarine και Andarine

Ένας αριθμός πεπτιδικών ορμονών που απαντώνται φυσικά στο σώμα περιλαμβάνονται στον Απαγορευμένο Κατάλογο του WADA. Η ερυθροποιητίνη (EPO) αυξάνει τον αριθμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων, ενισχύοντας έτσι την παροχή οξυγόνου στους μύες και ενισχύοντας την αντοχή και την αποκατάσταση. Η χρήση της EPO μπορεί να ανιχνευθεί στο εργαστήριο είτε απευθείας είτε μέσω βιοδεικτών ως μέρος του Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή. Η χοριακή γοναδοτροπίνη (CG) και η ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH) έχουν τη δυνατότητα να αυξήσουν τα ενδογενή επίπεδα τεστοστερόνης και να εξουδετερώσουν τις παρενέργειες που παρουσιάζονται από τη μακροχρόνια χρήση αναβολικών ανδρογόνων στεροειδών. Η αυξητική ορμόνη (GH) έχει μια σειρά από σημαντικές βιολογικές επιδράσεις, συμπεριλαμβανομένης της αύξησης της μυϊκής μάζας και της δύναμης. Οι επιδράσεις της GH μεσολαβούνται μέσω του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 (IGF-1), ο οποίος χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της χρήσης GH μέσω του ελεγχου βιοδεικτών. Η κακή χρήση πεπτιδικών ορμονών και αυξητικών παραγόντων από τους αθλητές αποτελεί σοβαρό κίνδυνο για την υγεία.

Αυξητική Ορμόνη (GH)

Η αυξητική ορμόνη (GH), επίσης γνωστή ως σωματοτροπίνη, είναι μια πρωτεΐνη 191 αμινοξέων που παίζει κρίσιμο ρόλο στην ανθρώπινη φυσιολογία. Η GH συμμετέχει σε πολλές φυσιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης του σκελετού και των οργάνων, της ομοιόστασης του ασβεστίου, της λιπόλυσης και της ρύθμισης της άλιπης μάζας σώματος. Η ανασυνδυασμένη hGH (rhGH) αναπτύχθηκε μέσω γενετικής μηχανικής και έχει χρησιμοποιηθεί με καλά αποτελέσματα στη θεραπεία ασθενών με ανεπάρκεια hGH επιτρέποντας την ανάπτυξη των οστών και επηρεάζοντας το τελικό ανάστημα του ασθενούς. Αυτή η μορφή hGH έχει μια αλληλουχία πανομοιότυπη με τη φυσική ορμόνη των 22 kDa. Η κακή χρήση της στον αθλητισμό συμβαίνει λόγω των αναβολικών της ιδιοτήτων. Αθλητές και bodybuilders ισχυρίζονται ότι η hGH αυξάνει την μυϊκή μάζα σώματος και μειώνει το ποσοστό λίπους. [47]



Εικόνα 10 Δομή Αυξητικής Ορμόνης

Μηχανισμός Δράσης

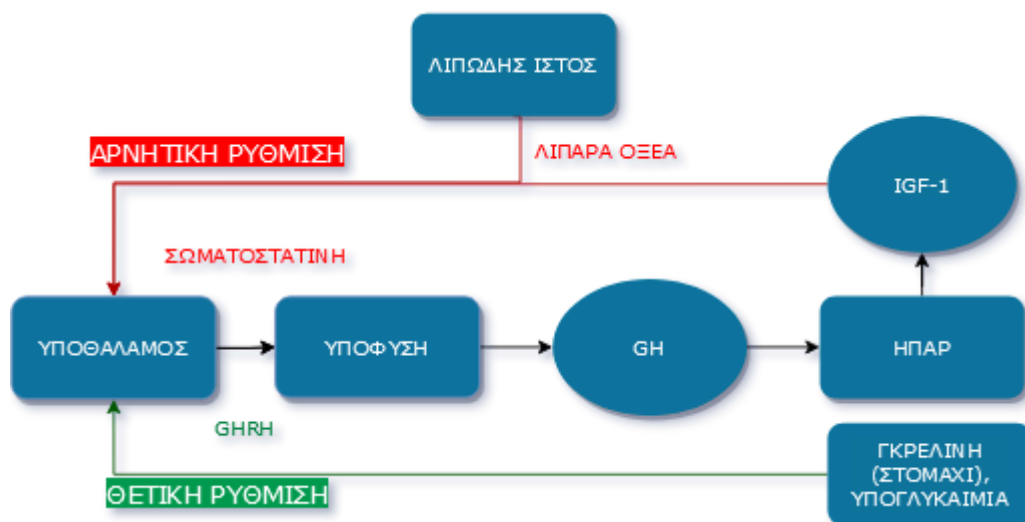
Η GH παράγεται από την πρόσθια υπόφυση. Η κύρια λειτουργία της GH είναι η αύξηση του ύψους μέσω του πολλαπλασιασμού των χονδροκυττάρων, αν και έχει μια σειρά από λειτουργίες στη φυσιολογική ομοιόσταση και την ανάπτυξη και ανάπτυξη.

Η GH μεταδίδει τις δράσεις της διεγείροντας την ηπατική παραγωγή του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1), ο οποίος με τη σειρά του προάγει την ανάπτυξη των οργάνων και των οστών του σώματος. Οι δευτερεύουσες λειτουργίες της GH περιλαμβάνουν τη ρύθμιση της λιπόλυσης, την ενίσχυση της διαθεσιμότητας της γλυκόζης, τη διατήρηση της

ομοιοστάσης του ασβεστίου και της υγείας των οστών, την αύξηση της άλιπης μάζας σώματος και τη βοήθεια στη ρύθμιση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω μιας σειράς οδών.

Η έκκριση της ποικίλλει ανάλογα με τις φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις. Τα επίπεδα της hGH είναι υψηλότερα κατά τον βαθύ ύπνο και αυξάνονται από την άσκηση, το στρες, τον πυρετό, τη νηστεία και, με ορισμένα αμινοξέα (λευκίνη και αργινίνη). Ορισμένα φάρμακα, όπως η κλονιδίνη (clonidine), η l-dopa και το γ-υδροξυβουτυρικό (γ-hydroxybutyric acid, GHB), αυξάνουν την έκκρισή της, όπως και τα ανδρογόνα και τα οιστρογόνα.

Μια ισορροπία διεγερτών και αναστολέων της απελευθέρωσης της GH ρυθμίζει την έκκρισή της από τα σωματοτροφικά κύτταρα της υπόφυσης. Δύο υποθαλαμικές ορμόνες, η ορμόνη απελευθέρωσης της αυξητικής ορμόνης (Growth hormone-releasing hormone, GHRH) και η ορμόνη αναστολής της αυξητικής ορμόνης (σωματοστατίνη), διεγείρουν και αναστέλλουν την έκκριση της GH, αντίστοιχα, ενώ οι αναστολείς έκκρισης GH περιλαμβάνουν IGF-1, υπεργλυκαιμία, ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκοκορτικοειδή. Ένας ακόμα ενισχυτής της έκκρισης GH είναι η ορμόνη γκρελίνη που συντίθεται στον γαστρεντερικό σωλήνα. Η προκύπτουσα ισορροπία διεγερτών και αναστολέων αποδίδει έναν παλμικό κύκλο απελευθέρωσης GH από την υπόφυση. Η μεγαλύτερη ημερήσια αύξηση της έκκρισης GH εμφανίζεται λίγο μετά την έναρξη του ύπνου και μικρότεροι παλμοί εμφανίζονται κατά διαστήματα κατά τη διάρκεια της ημέρας. [48] [49] [50] [51]



Εικόνα 11 Μηχανισμός Ρύθμισης της Αυξητικής Ορμόνης (GH)

Χρήση Στον Αθλητισμό

Η αυξητική ορμόνη παίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση της σύστασης του σώματος. Μια σημαντική ιδιότητα της GH είναι η ισχυρή λιπολυτική της δράση αφού αυξάνει τη λιπόλυση:

- Άμεσα, μειώνοντας τη δράση ενός αριθμού λιπογονικών ενζύμων.
- Έμμεσα, αυξάνοντας την παραγωγή άλλων λιπολυτικών ορμονών, όπως οι κατεχολαμίνες και η γλυκαγόνη, και αυξάνοντας την έκφραση των αδρενεργικών υποδοχέων των λιποκυττάρων.

Συνολικά αυτά τα αποτελέσματα οδηγούν σε αυξημένη χρήση σωματικού λίπους.

Ένα από τα καλύτερα εκτιμώμενα αποτελέσματα της GH είναι η επίδρασή της στον αναβολισμό των μυών. Μειωμένη μυϊκή μάζα και πρωτεϊνική σύνθεση παρατηρείται όταν η παραγωγή GH και IGF-I μειώνεται. Η GH επάγει την πρόσληψη γλυκόζης και αμινοξέων και διεγείρει τη σύνθεση πρωτεϊνών, πιθανώς χρησιμοποιώντας την ενέργεια που προέρχεται από τη λιπολυτική της δραστηριότητα.

Η GH έχει μικρή επίδραση στην αποικοδόμηση των πρωτεϊνών. Αντίθετα, η ινσουλίνη και σε μικρότερο βαθμό ο IGF-I αναστέλλουν την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών και αυτό μπορεί να εξηγήσει γιατί ορισμένοι αθλητές κάνουν κατάχρηση ινσουλίνης και GH μαζί. Οι επιδράσεις της GH στην πρωτεΐνη μεσολαβούνται τόσο έμμεσα μέσω του IGF-I όσο και άμεσα. Η αναβολική επίδραση στην πρωτεΐνη και η καταβολική επίδραση στο λίπος οδηγεί σε αύξηση της μυϊκής μάζας σε βάρος της λιπώδους μάζας.

Αν και αυτές οι παρατηρήσεις μπορεί να οδηγήσουν τους αθλητές να πιστεύουν ότι τα υπερφυσιολογικά επίπεδα GH θα βελτιώσουν την αθλητική απόδοση, το αντίθετο προτείνεται από την ακρομεγαλία που σχετίζεται με μυϊκή αδυναμία, διαβήτη και μυοκαρδιοπάθεια. [52] [53] [54] [55]

Παρενέργειες Της Αυξητικής Ορμόνης

Οι μακροπρόθεσμοι κίνδυνοι από τη χρήση της hGH δεν είναι καλά γνωστοί καθώς δεν είναι διαθέσιμα επιδημιολογικά δεδομένα σχετικά με αυτό το είδος θεραπείας σε υγιείς αθλητές. Η ακρομεγαλία (ή μεγαλακρία), η οποία προκύπτει από μια παθολογική αύξηση της ενδογενούς παραγωγής GH, αναφέρεται συχνά ως ένας από τους κύριους κινδύνους που σχετίζονται με την υπερβολική χρήση της GH.

Τα κύρια συμπτώματα είναι το πρήξιμο των χεριών και των ποδιών, η τραχιά εμφάνιση του προσώπου, τα προβλήματα οδοντοφυΐας, οι αρθραλγίες, η κατακράτηση υγρών και η υπερβολική εφίδρωση. Ακρομεγαλικοί ασθενείς έχουν αυξημένο κίνδυνο για σακχαρώδη διαβήτη και υπέρταση που μπορεί να οδηγήσει σε πρόωγη θνησιμότητα από καρδιαγγειακές παθήσεις.

Μπορεί να τεκμηριωθεί ότι το μακροχρόνιο ντόπινγκ hGH με υψηλές δόσεις πιθανώς θα έχει ως αποτέλεσμα οι κακοί χρήστες να εμφανίσουν συμπτώματα κατακράτησης υγρών και αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδη διαβήτη και υπέρταση. Υπάρχει επίσης κίνδυνος μυοκαρδιοπάθειας, οστεοπόρωσης, διαταραχών

της εμμήνου ρύσεως και ανικανότητας. Μερικές από αυτές τις ανεπιθύμητες ενέργειες είναι αναστρέψιμες μετά τη διακοπή του φαρμάκου. Επιπλέον, η κακή χρήση της hGH μπορεί να διαταράξει το λιπιδικό προφίλ με μειωμένη λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (High-density lipoprotein, HDL) χοληστερόλη. [56] [57] [58]

ΩΧΡΙΝΟΤΡΟΠΟΣ ΟΡΜΟΝΗ (LH)

Η ωχρινότροπος ορμόνη (LH) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που συντίθεται και εκκρίνεται στην πρόσθια υπόφυση, από τα γοναδοτροπικά κύτταρα, και παίζει καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή οιστρογόνων και ανδρογόνων στη λειτουργία των γονάδων και στη γαμετογένεση.

Μηχανισμός Δράσης

Στις γυναίκες, η LH έχει επίδραση στον υποθαλαμικό άξονα της υπόφυσης, στις ωοθήκες και στη ρύθμιση και τον έλεγχο του εμμηνορροϊκού κύκλου. Η LH απελευθερώνεται από τα κύτταρα γοναδοτροπίνης της υπόφυσης με παλμικό τρόπο και φτάνει στις ωοθήκες μέσω του αίματος. Στις ωοθήκες, η LH διεγείρει την ανάπτυξη και την ωρίμανση των ωοθυλακίων καθώς και τη σύνθεση οιστρογόνων και προγεστερόνης. Στους άνδρες, η LH επηρεάζει την παραγωγή τεστοστερόνης από τα κύτταρα Leydig. [59] [60]

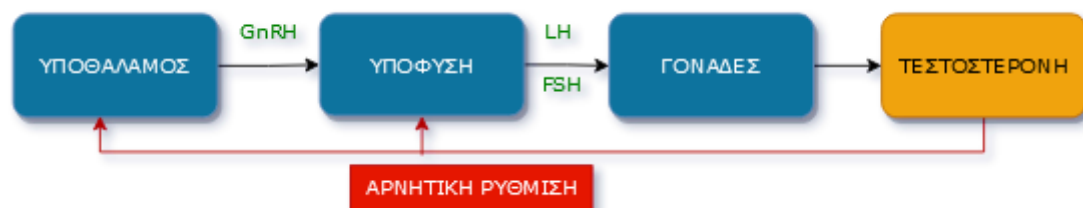
Χρήση Στον Αθλητισμό

Το έμμεσο ντόπινγκ ανδρογόνων είναι ένας εναλλακτικός τρόπος που χρησιμοποιείται για την αύξηση των παράνομων ανδρογόνων επιδράσεων, είναι η χρήση δηλαδή ορμονών που αυξάνουν τα επίπεδα των ενδογενών στεροειδών ως τεστοστερόνη.

Η χρήση της LH είναι παράνομη μόνο για άνδρες αθλητές. Η LH μπορεί να χρησιμοποιηθεί από άνδρες αθλητές με στόχο την αύξηση της παραγωγής τεστοστερόνης, προκειμένου να βελτιωθεί η φυσική απόδοση ενώ διεγείρει την παραγωγή ενδογενών στεροειδών χωρίς να επηρεάζει την αναλογία τεστοστερόνης/επιτεστοστερόνης (T/E).

Επιπλέον, οι αθλητές μπορούν να χρησιμοποιούν LH για να ομαλοποιήσουν την παραγωγή ενδογενούς τεστοστερόνης που καταστέλλεται κατά τη διάρκεια και μετά από παρατεταμένη χρήση συνθετικών ανδρογόνων. Δεδομένου ότι η LH σχετίζεται με δυσλειτουργία των γονάδων και ανεπάρκεια της υπόφυσης ή του υποθαλάμου, η ορμόνη υποδεικνύει εάν τα χαμηλά επίπεδά της είναι πρωτογενούς προέλευσης ή είναι αποτέλεσμα ασθενούς διέγερσης από ορμόνες της υπόφυσης.

Η χρήση τεστοστερόνης για σκοπούς ντόπινγκ οδηγεί σε χαμηλά επίπεδα LH στα ούρα και έτσι η συγκέντρωση της LH θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος ανίχνευσης για χρήση τεστοστερόνης. Επίσης, αναλογίες διαφορετικών στεροειδών και LH έχουν προταθεί ως δείκτες για τη χρήση τεστοστερόνης (T/LH) και 5α-διόλη/LH ως δείκτης της χρήσης 5α-διωδροτεστοστερόνης (DHT). [61] [62]



Εικόνα 12 Μηχανισμός Ρύθμισης της Ωχρινοτρόπου Ορμόνης (LH)

ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ (ΕΡΟ)

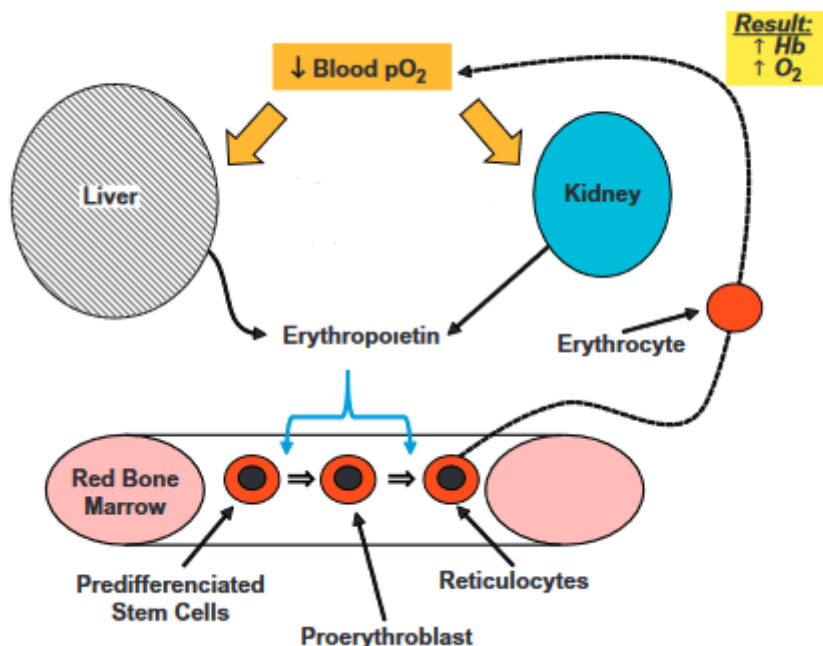
Η ερυθροποιητίνη (ΕΡΟ) είναι μια φυσική ορμόνη που παράγεται από τα νεφρά και διεγείρει την παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων (ερυθροκυττάρων) στο μυελό των οστών. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η αύξηση της αντοχής στην άσκηση και η μείωση του χρόνου αποκατάστασης. Η συνθετική ΕΡΟ αναπτύχθηκε τη δεκαετία του 1980 και χρησιμοποιείται κυρίως για τη θεραπεία της αναιμίας. Τα άτομα με χρόνια νεφρική νόσο υποφέρουν σχεδόν πάντα από αναιμία επειδή τα νεφρά τους αδυνατούν πλήρως ή εν μέρει να παράγουν ΕΡΟ. [63] [64]

Μηχανισμός Δράσης

Η ΕΡΟ είναι μια γλυκοπρωτεϊνική ορμόνη που παράγεται στα νεφρά. Η μειωμένη παροχή οξυγόνου στο σώμα, για παράδειγμα όταν βρίσκεται σε μεγάλα υψόμετρα, πυροδοτεί την παραγωγή ΕΡΟ. Η ΕΡΟ διανέμεται στο σώμα μέσω των αιμοφόρων αγγείων και διεγείρει τα βλαστοκύτταρα που βρίσκονται στον ερυθρο μυελό των οστών για να μετατραπούν σε ερυθρά αιμοσφαίρια (ερυθροκύτταρα). Η ωρίμανση των βλαστοκυττάρων στο μυελό των οστών μέσω νεαρών ερυθρών αιμοσφαιρίων (δικτυοερυθροκύτταρα) σε λειτουργικά ερυθροκύτταρα διαρκεί πέντε έως εννέα ημέρες.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια μεταφέρουν οξυγόνο από τον πνεύμονα στους ιστούς και παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα από τους μύες. Η αυξημένη ποσότητα ερυθρών αιμοσφαιρίων οδηγεί έτσι σε μεγαλύτερη αντοχή στην άσκηση και ταχύτερη ανάρρωση.

Η ΕΡΟ στοχεύει ειδικά τον ιστό του κόκκινου μυελού των οστών και ξεκινά τη διαδικασία διαφοροποίησης με την οποία οι αιμοκυτταροβλάστες (βλαστικά κύτταρα) γίνονται δικτυοερυθροκύτταρα και τελικά ερυθροκύτταρα. Συγκεκριμένα, η ΕΡΟ συνδέεται με τον υποδοχέα της στο αιμοποιητικό βλαστοκύτταρο και ενεργοποιεί μια οδό καταρράκτη σηματοδότησης Janus kinase 2 εντός του κυττάρου. Αυτές οι βιοχημικές διεργασίες έχουν ως αποτέλεσμα τη διαφοροποίηση, την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, γεγονός που επιτρέπει την εξέλιξή τους σε ώριμα ερυθροκύτταρα στην κυκλοφορία του αίματος. [65] [66]



Εικόνα 13 Μηχανισμός δράσης ερυθροποιητίνης που αυξάνει τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης (Hb) και ερυθροκυττάρων (Erythrocyte). pO_2 , μερική πίεση οξυγόνου. Reticulocytes (Δικτυοερυθροκύτταρα) Stem Cells (Βλαστοκύτταρα) Proerythroblast (προερυθροβλάστης)

Χρήση Στον Αθλητισμό

Πολλά αθλήματα απαιτούν ένα εξαιρετικά ανεπτυγμένο καρδιαγγειακό αναπνευστικό σύστημα - καρδιά, πνεύμονες, αιμοφόρα αγγεία, αίμα - για να μεταφέρει οξυγόνο στους ιστούς.

Όσο περισσότερο οξυγόνο παρέχεται στους σκελετικούς μύες, τόσο περισσότερο μπορούν να πραγματοποιηθούν αερόβια παραγωγή ενέργειας με τη μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), η οποία επιτρέπει μεγαλύτερη μυϊκή εργασία και βελτιωμένη απόδοση, ειδικά για αθλήματα αντοχής.

Ένα κρίσιμο συστατικό στην παροχή οξυγόνου είναι η ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου του αρτηριακού αίματος. Η περιεκτικότητα σε οξυγόνο είναι συνάρτηση της ποσότητας της αιμοσφαιρίνης (Hb) στα ερυθροκύτταρα και του αριθμού των ερυθροκυττάρων. Η Hb είναι η πρωτεΐνη που δεσμεύει, μεταφέρει και απελευθερώνει μοριακό οξυγόνο.

Δεδομένου ότι το EPO διεγείρει την ερυθροποίηση, αυξάνοντας τον αριθμό των ερυθροκυττάρων και συνεπώς την ποσότητα της Hb, το ντόπινγκ με EPO έχει θετική επίδραση στην καρδιαγγειακή-αναπνευστική ικανότητα και επομένως ενδεχομένως στην αερόβια, καρδιαγγειακή-αναπνευστική απόδοση. [67] [68]

Παρενέργειες EPO

Ο αυξημένος σχηματισμός ερυθρών αιμοσφαιρίων που διεγείρεται από την EPO αυξάνει την αναλογία των σχηματισμένων κυτταρών στο αίμα (αιματοκρίτης). Το αίμα γίνεται πιο παχύρρευστο (λιγότερο υγρό) και η αρτηριακή πίεση αυξάνεται.

Η χρήση της EPO προσθέτει ερυθροκύτταρα χωρίς την απαραίτητη ταυτόχρονη αύξηση του όγκου του πλάσματος. Ως εκ τούτου, το αίμα γίνεται πιο παχύρρευστο. Ένα πιο παχύρρευστο ρευστό συναντά μεγαλύτερη αντίσταση στη ροή. Αυτό σημαίνει ότι το έργο της καρδιάς αυξάνεται και μπορεί να υπερβεί την ικανότητά της. Ειδικά όταν το σώμα είναι αφυδατωμένο μετά από έντονη άσκηση, αυτή η πύκνωση του αίματος προκαλεί θρομβώσεις που μπορεί να προκαλέσουν έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό ή στη χειρότερη περίπτωση θάνατο. Ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου αυξάνεται επίσης όταν γίνεται κατάχρηση της EPO. [69] [70] [71]

3.6 S3—Βήτα-2 Αγωνιστές

Οι βήτα-2 αγωνιστές περιλαμβάνονται στον κατάλογο των απαγορευμένων ουσιών ως ουσίες που δυνητικά βελτιώνουν την απόδοση. Βελτιώνουν την αναπνοή διευρύνοντας τους βρόγχους στους πνεύμονες και περιέχονται στα φάρμακα για το άσθμα. Μπορούν να χορηγηθούν από το στόμα ή με εισπνοή. Σε υψηλές δόσεις, διεγείρουν επίσης την ανάπτυξη των μυών. Τα πιο γνωστά μέλη αυτής της κατηγορίας ουσιών είναι η κλενβουτερόλη (clenbuterol), η φορμοτερόλη (formoterol) και η σαλβουταμόλη (salbutamol). Ορισμένοι από τους κανόνες σχετικά με τους απαγορευμένους βήτα-2 αγωνιστές στον Απαγορευμένο Κατάλογο έχουν χαλαρώσει σταδιακά, ως αποτέλεσμα οι βήτα-2 αγωνιστές που χρησιμοποιούνται συνήθως σε συσκευές εισπνοής άσθματος επιτρέπονται υπό την προϋπόθεση ότι δεν ξεπερνιέται ένα συγκεκριμένο όριο.

Μηχανισμός Δράσης

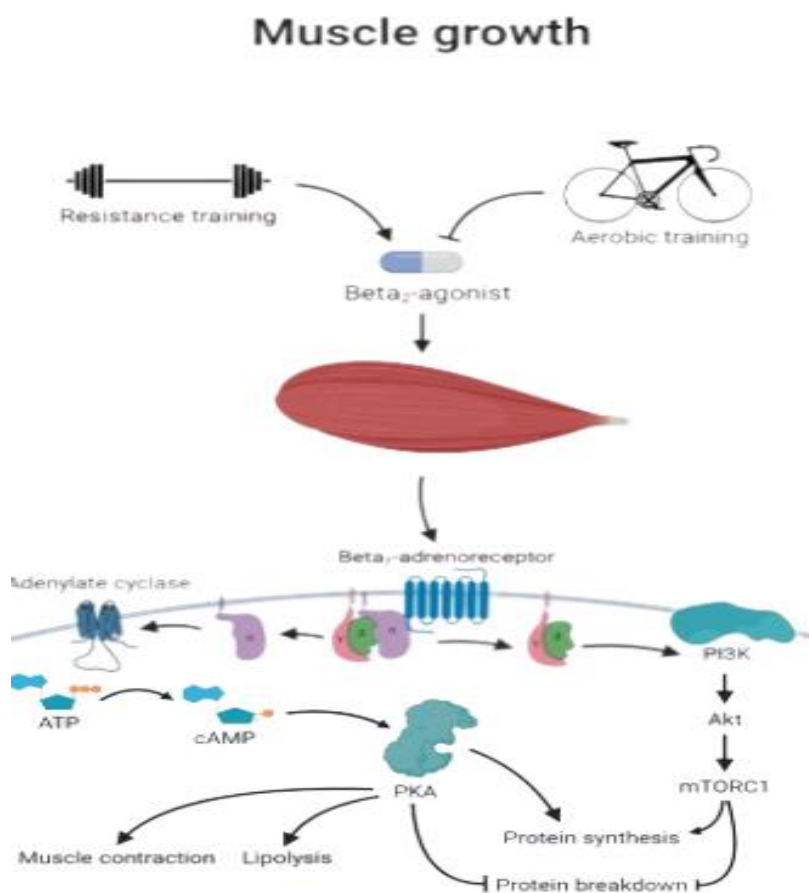
Οι βήτα-2 αγωνιστές δρουν ως προσδέτες σε αδρενεργικούς υποδοχείς με αυξημένη εκλεκτικότητα προς τους βήτα-2 αδρενεργικούς υποδοχείς. Η ενεργοποίηση του βήτα-2 αδρενεργικού υποδοχέα εκκινεί έναν καταρράκτη διαμεμβρανικού σήματος, ο οποίος περιλαμβάνει την ετεροτριμερή πρωτεΐνη G, Gs, και το δραστικό μόριο αδενυλική κυκλάση (adenyl cyclase).

Η αδενυλική κυκλάση στη συνέχεια αυξάνει το ενδοκυτταρικό cAMP μέσω της υδρόλυσης του ATP. Η αυξημένη συγκέντρωση cAMP χρησιμεύει για την ενεργοποίηση της εξαρτώμενης από cAMP πρωτεϊνικής κινάσης A (Protein kinase A, PKA).

Το PKA μπορεί να φωσφορυλιώσει ενδοκυτταρικά υποστρώματα, τα οποία ρυθμίζουν διάφορα αποτελέσματα εντός του κυττάρου. Συγκεκριμένα, στους λείους μυς των αεραγωγών, η PKA δρα για να φωσφορυλιώνει τους συζευγμένους με Gq υποδοχείς που οδηγούν σε έναν καταρράκτη ενδοκυτταρικών σημάτων, τα οποία έχουν σαν αποτέλεσμα τη μείωση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} ή τη μείωση στην ευαισθησία του Ca^{2+} .

Η αλλαγή στο Ca^{2+} έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της φωσφορυλίωσης της ελαφριάς αλυσίδας της μυοσίνης, αποτρέποντας στη συνέχεια τη συστολή των λείων μυών των αεραγωγών. Αυτή η δράση είναι ο υποκείμενος μηχανισμός πίσω από τους βήτα-2 αγωνιστές, οι οποίοι προάγουν τις βρογχοδιασταλτικές επιδράσεις που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία πολλών κοινών αναπνευστικών ασθενειών.

Εκτός από την κανονική cAMP/ PKA σηματοδότηση, οι βήτα-αγωνιστές έχουν αποδειχθεί ότι ενεργοποιούν την οδό PI3K-Akt-mTORC1 που οδηγεί σε πρωτεϊνοσύνθεση και αναστολή των παραγόντων μεταγραφής O (Fork head box O, FOXO) με αποτέλεσμα την μειωμένη πρωτεολυτική δραστηριότητα. Επίσης η πρωτεΐνη μυοστατίνη που αναστέλλει την ανάπτυξη και ρυθμίζει προς τα πάνω την φολλιστατίνη (Follistatin), η οποία εμποδίζει την ανασταλτική δράση της μυοστατίνης. [72] [73] [74] [75]



Εικόνα 14 Μηχανισμός δράσης β-2 αγωνιστών

Χρήση Στον Αθλητισμό

Πολλές μελέτες έχουν διερευνήσει την πιθανή επίδραση ντόπινγκ των β-αδρενεργικών αγωνιστών. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών ποικίλλουν ανάλογα με το πρωτόκολλο που χρησιμοποιείται.

Στα αθλήματα που απαιτείται εκρηκτικότητα (μέγιστη προσπάθεια 10–30 s) φαίνεται να δείχνουν ευεργετικά αποτελέσματα η εισπνοή βήτα-αδρενεργικών αγωνιστών, ενώ στα αθλήματα αντοχής δεν δείχνουν κανένα αποτέλεσμα. Άλλες μελέτες σχετικά με τις επιδράσεις δύο εβδομάδων χορήγησης σαλβουταμόλης στην απόδοση της άσκησης, σε σπριντ 30 δευτερολέπτων και τη μυϊκή δύναμη σε αθλητές χωρίς άσθμα και βρογχοσυστολή που προκαλείται από την άσκηση έδειξε μόνο βελτίωση στην ικανότητα σπριντ.

Στους ανθρώπους, οι β2-αγωνιστές αυξάνουν, ανάλογα με τη δόση, τον μεταβολικό ρυθμό ηρεμίας κατά 10-50%. Έχει παρατηρηθεί επίσης ότι λίγες εβδομάδες θεραπείας με β2-αγωνιστές αυξάνει τη μυϊκή μάζα και μειώνει τη λιπώδη μάζα σε νεαρά υγιή άτομα. Οι βήτα-αγωνιστές ασκούν επίσης ευεργετικά αποτελέσματα στη σύνθεση του σώματος όταν χρησιμοποιούνται ταυτόχρονα με την προπόνηση και δρουν προσθετικά για να αυξήσουν τη μυϊκή δύναμη και μάζα κατά τις περιόδους με προπόνηση με αντίσταση. Έτσι, ο β2-αδρενεργικός υποδοχέας φαίνεται σαν ένας ελκυστικός στόχος στην ανάπτυξη φαρμάκων κατά της παχυσαρκίας. [76] [77]

Παρενέργειες β-2 Αγωνιστών

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των βήτα-2 αγωνιστών συνήθως περιλαμβάνουν την απευαισθητοποίηση του βήτα-2 αδρενεργικού υποδοχέα στον βήτα-2 αγωνιστή. Λόγω των παρόμοιων ιδιοτήτων μεταξύ των κατηγοριών των αδρενεργικών υποδοχέων, οι βήτα-2 αγωνιστές μπορούν να είναι αποτελεσματικοί στην διέγερση είτε των υποδοχέων α-1, α-2 ή β-1.

Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες των βήτα-2 αγωνιστών αφορούν το καρδιακό, το μεταβολικό ή το μυοσκελετικό σύστημα. Η ταχυκαρδία είναι σχετικά συνηθισμένη στις πρώτες εβδομάδες χρήσης λόγω της αγγειοδιασταλτικής δράσης των περιφερικών αγγείων και της επακόλουθης μείωσης της καρδιακής φλεβικής επιστροφής. Η καρδιακή τοξικότητα με τη μορφή αρρυθμιών, μυοκαρδιοπάθειας και ισχαιμίας έχει συσχετιστεί πιο ισχυρά με τους βήτα-2 αγωνιστές παλαιότερης γενιάς, σύμφωνα με πολλαπλές αναφορές. Οι αρρυθμίες παρατηρούνται πιο συχνά στη χρήση φενοτερόλης έναντι της αλβουτερόλης και οι αρρυθμίες αυξάνονται σε συχνότητα σε ασθενείς με υποκείμενη καρδιακή νόσο ή ταυτόχρονη χρήση θεοφυλλίνης.

Οι αγωνιστές βήτα-2 έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τα επίπεδα καλίου στον ορό μέσω μιας μετατόπισης του καλίου προς τα μέσα, στα κύτταρα, λόγω μιας επίδρασης στη συνδεδεμένη με τη μεμβράνη Na/K-ΑΤΡαση, η οποία μπορεί δυνητικά να οδηγήσει σε υποκαλιαιμία. Οι αγωνιστές βήτα-2 προάγουν επίσης τη γλυκογονόλυση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ακούσιες αυξήσεις της γλυκόζης του ορού.

Ο μυοσκελετικός τρόμος είναι επίσης μια πιθανή παρενέργεια, που απαντάται συχνότερα με τη χρήση από του στόματος βήτα-2 αγωνιστών. Ο βαθμός στον οποίο εμφανίζονται αυτές οι ανεπιθύμητες ενέργειες σχετίζεται γενικά με παράγοντες όπως η ικανότητα εκλεκτικότητας κάθε βήτα-2 αγωνιστή στον αντίστοιχο υποδοχέα του και οι δόσεις του φαρμάκου.[78] [79] [80]

3.7 S4—Ορμονικοί Και Μεταβολικοί Ρυθμιστές

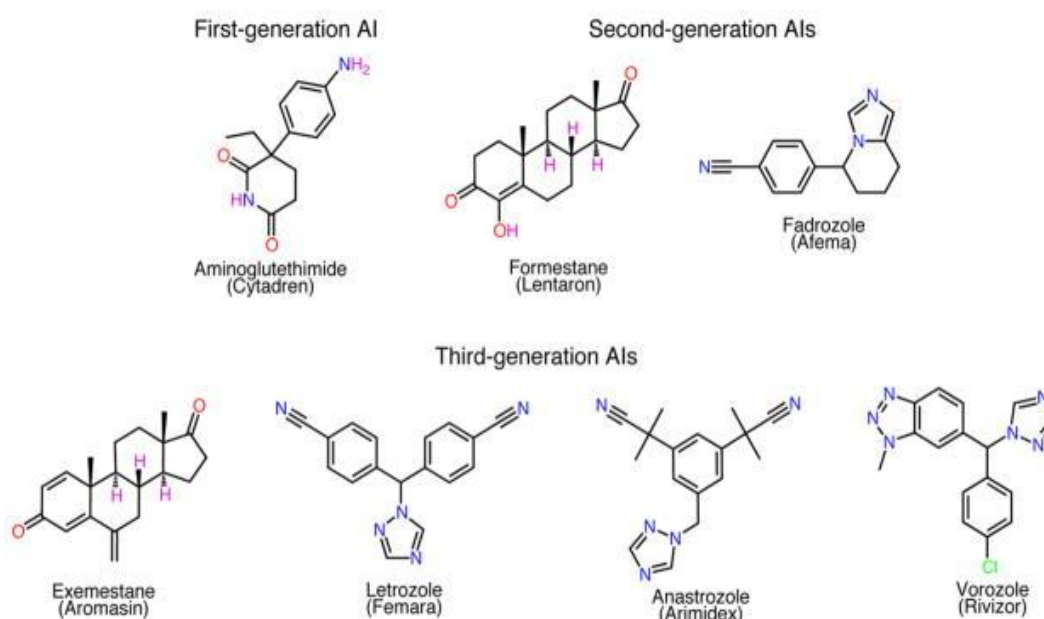
Ουσίες που ταξινομούνται ως «ορμονικοί και μεταβολικοί ρυθμιστές» τροποποιούν τις επιδράσεις των ορμονών ή επιταχύνουν ή επιβραδύνουν συγκεκριμένες ενζυμικές αντιδράσεις. Για παράδειγμα, τα αντι-οιστρογόνα μπορούν να εμποδίσουν τη μετατροπή της ανδρικής ορμόνης τεστοστερόνης σε γυναικεία ορμόνη οιστρογόνο.

Οι ορμονικοί και οι μεταβολικοί ρυθμιστές είναι ουσίες:

- που επηρεάζουν τις ορμόνες και έτσι τροποποιούν τις επιδράσεις τους.
- οι οποίες δρουν στο μεταβολισμό του οργανισμού.

ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΑΡΩΜΑΤΑΣΗΣ

Οι στεροειδείς αναστολείς είναι μια υποομάδα αναστολέων αρωματάσης, των οποίων η χημική δομή σχετίζεται στενά με αυτές των AAS και βασίζεται στη ραχοκοκαλιά του ανδροστανίου. Λειτουργούν περιορίζοντας το σύμπλεγμα ενζύμων αρωματάσης, το οποίο μετατρέπει τα ανδρογόνα σε οιστρογόνα. Τυπικά παραδείγματα αναστολέων αρωματάσης είναι η εξεμεσάνη, και η φορμεσάνη.



Εικόνα 15 Χημική δομή Αναστολέων Αρωματάσης

Μηχανισμός Δράσης

Η αρωματάση (συνθετάση οιστρογόνου) καταλύει την απομεθυλίωση του άνθρακα 19 των ανδρογόνων, παράγοντας φαινολικά οιστρογόνα 18 άνθρακων και είναι μέλος της υπεροικογένειας μονοοξυγενασών του κυτοχρώματος P450. Οι αναστολείς αρωματάσης (Aromatase Inhibitors, AI) αναστέλλουν τη δράση του ενζύμου αρωματάση.

Οι αναστολείς αρωματάσης τύπου I είναι ανάλογα ανδρογόνων, τα οποία παρεμβαίνουν στη θέση δέσμευσης του υποστρώματος του ενζύμου και μπλοκάρουν το ενζυματικό σύμπλεγμα παράγοντας έναν άθραυστο ομοιοπολικό δεσμό μεταξύ του αναστολέα και της ενζυμικής πρωτεΐνης (ονομάζονται επίσης απενεργοποιητές αρωματάσης).

Οι μη στεροειδείς AI τύπου II μπλοκάρουν την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων από την προσθετική ομάδα κυτοχρώματος P450 του συμπλέγματος αρωματάσης, ενεργώντας ως ανταγωνιστικοί αναστολείς που συνδέονται αναστρέψιμα στην ενεργό ενζυματική θέση.

Οι αναστολείς αρωματάσης στις γυναίκες:

- Καταστέλλουν τα επίπεδα οιστρογόνων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η κύρια πηγή οιστρογόνων είναι η μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα στα επινεφρίδια, το δέρμα, τους μυς και τον λιπώδη ιστό.
- Μειώνουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων που προκαλείται από οιστρογόνα στον θετικό σε ορμονικούς υποδοχείς καρκίνο του μαστού. Τα καρκινικά κύτταρα του μαστού επιδεικνύουν δραστηριότητα αρωματάσης μια πιθανή πηγή τοπικού οιστρογόνου για τα καρκινικά κύτταρα.
- Προκαλούν ωορρηξία στη θεραπεία της υπογονιμότητας. Οι AI προκαλούν αύξηση της έκκρισης γοναδοτροπίνης δευτερογενώς στη μειωμένη αρνητική ανάδραση των οιστρογόνων στην υπόφυση, με αποτέλεσμα τη διέγερση των ωοθηκών.

Οι αναστολείς αρωματάσης στους άνδρες:

- Με χαμηλό ανάστημα και/ή φυσιολογική καθυστέρηση της εφηβείας μειώνουν τα οιστρογόνα αναστέλλοντας τη μετατροπή της τεστοστερόνης σε οιστρογόνο.
- Με υπογοναδισμό όψιμης έναρξης ή μερική ανεπάρκεια ανδρογόνων αυξάνουν την LH, την FSH και την τεστοστερόνη λόγω της μείωσης των επιπέδων οιστρογόνων.
- Με παχυσαρκία και ανδρική υπογονιμότητα προκαλούν αυξημένη τεστοστερόνη και FSH αφού υπάρχει αυξημένη μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα στον λιπώδη ιστό. [81] [82] [83]

Χρήση Στον Αθλητισμό

Η αναστολή της παραγωγής οιστρογόνων προκαλεί αύξηση της ωχρινοτρόπου ορμόνης στους άνδρες και στη συνέχεια παρατηρείται καθαρή αύξηση της παραγωγής τεστοστερόνης. Επιπλέον, η συνδυασμένη χορήγηση τεστοστερόνης και/ή προδρόμων ουσιών της (δηλαδή, ανδροστενεδιόνης) με AI μειώνει τις παρενέργειες που συνδέονται με την αρωματοποίηση των ανδρογόνων, όπως η γυναικομαστία. [84] [85] [86]

Παρενέργειες Αναστολέων της Αρωματάσης

Οι πιο συχνές παρενέργειες αυτών των φαρμάκων είναι συμπτώματα όπως εξάψεις και οι νυχτερινές εφιδρώσεις. Οι αναστολείς της αρωματάσης προκαλούν συχνά πόνο στους μύες και τις αρθρώσεις, καρδιακά προβλήματα και θα μπορούσαν επίσης να αυξήσουν τα επίπεδα χοληστερόλης.

Το σύνδρομο αρθραλγίας που σχετίζεται με τον αναστολέα της αρωματάσης είναι ο πιο συνηθισμένος λόγος για τη διακοπή της θεραπείας με αναστολείς αρωματάσης. Οι ασθενείς παρουσιάζουν πόνο στις αρθρώσεις και ήπιο οίδημα απουσία άλλων συστηματικών ασθενειών ή άλλων αιτιών. Η ανεπάρκεια οιστρογόνων προκαλεί μείωση της οστικής πυκνότητας, η οποία συμβάλλει στον πόνο στις αρθρώσεις. Τα οιστρογόνα συνδεονται με τη ρύθμιση της δραστηριότητας των κυτοκινών καθώς και τη ρύθμιση της αίσθησης του πόνου στο νευρικό σύστημα.

Επιπλέον, η μείωση των κυκλοφορούντων οιστρογόνων που προκαλούνται από τα AI και στη συνέχεια η μείωση των προστατευτικών επιδράσεων στο καρδιαγγειακό σύστημα με τη μεσολάβηση οιστρογόνων μπορεί ενδεχομένως να μεταφραστεί σε αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου εφόσον τα οιστρογόνα αυξάνουν την αγγειοδιαστολή και αναστέλλουν την απόκριση των αιμοφόρων αγγείων στον τραυματισμό και την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης. [87] [88] [89]

ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Η ινσουλίνη είναι μια αναβολική ορμόνη που παράγεται από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Η βασική έκκριση ινσουλίνης είναι η ποσότητα ινσουλίνης που εκκρίνεται σε κατάσταση νηστείας απουσία εξωγενούς διέγερσης και διατηρεί τον μεταβολισμό του σώματος σε αναβολική κατάσταση.

Μετά την πρόσληψη τροφής, τα β-κύτταρα, καθοδηγούμενα από την άμεση ανίχνευση γλυκόζης από τον μεταφορέα γλυκόζης τύπου 2 (Glucose Transporter 2, GLUT2) καθώς και από νευρωνικά σήματα και σηματοδότηση ινκρετίνης (πολυπεπτιδικές ουσίες-ορμόνες που παράγονται στο λεπτό έντερο), απελευθερώνουν ινσουλίνη στο αίμα για να προωθήσουν την απορρόφηση υδατανθράκων, πρωτεϊνών, πεπτιδίων και λιπίδια σε άλλα κύτταρα.

Η επίδραση της ινσουλίνης στην περιφερική πρόσληψη γλυκόζης στους μύες και η ταχεία αναστολή της γλυκονογένεσης και της γλυκογονόλυσης στο ήπαρ έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα, η οποία αναγκάζει τα β-

κύτταρα να σταματήσουν να συνθέτουν και να εκκρίνουν ινσουλίνη. Εκτός από τη βασική έκκριση, υπάρχει ένα κύμα απελευθέρωσης ινσουλίνης μετά από ένα γεύμα για την πρόληψη της υπεργλυκαιμίας.

Μηχανισμός Δράσης

Η ινσουλίνη συνδέεται με τον υποδοχέα ινσουλίνης (Insulin Reseptor, IR), μια ετεροτετραμερή πρωτεΐνη που αποτελείται από δύο εξωκυτταρικές μονάδες άλφα και δύο διαμεμβρανικές μονάδες βήτα. Η δέσμευση της ινσουλίνης στην άλφα υπομονάδα του IR διεγείρει τη δραστηριότητα της κινάσης τυροσίνης εγγενής στη βήτα υπομονάδα του υποδοχέα. Ο δεσμευμένος υποδοχέας είναι σε θέση να αυτοφωσφορυλιώνει και να φωσφορυλιώνει πολυάριθμα ενδοκυτταρικά υποστρώματα όπως πρωτεΐνες υποστρωμάτων υποδοχέα ινσουλίνης (Insulin Receptor Substrate, IRS), Cbl, APS, Shc και Gab 1. Αυτές οι ενεργοποιημένες πρωτεΐνες, με τη σειρά τους, οδηγούν στην ενεργοποίηση μορίων σηματοδότησης καθοδικά συμπεριλαμβανομένης της φωσφοϊνοσιτιδικής 3-κινάσης (Phosphoinositide 3-kinases, PI3Ks) και Akt. Το Akt ρυθμίζει τη δραστηριότητα του μεταφορέα γλυκόζης 4 (GLUT4) και της πρωτεϊνικής κινάσης C (protein kinase C, PKC) που παίζουν κρίσιμο ρόλο στο μεταβολισμό και τον καταβολισμό.

Η ινσουλίνη συνοπτικά προκαλεί τα ακόλουθα αποτελέσματα στα κύτταρα :

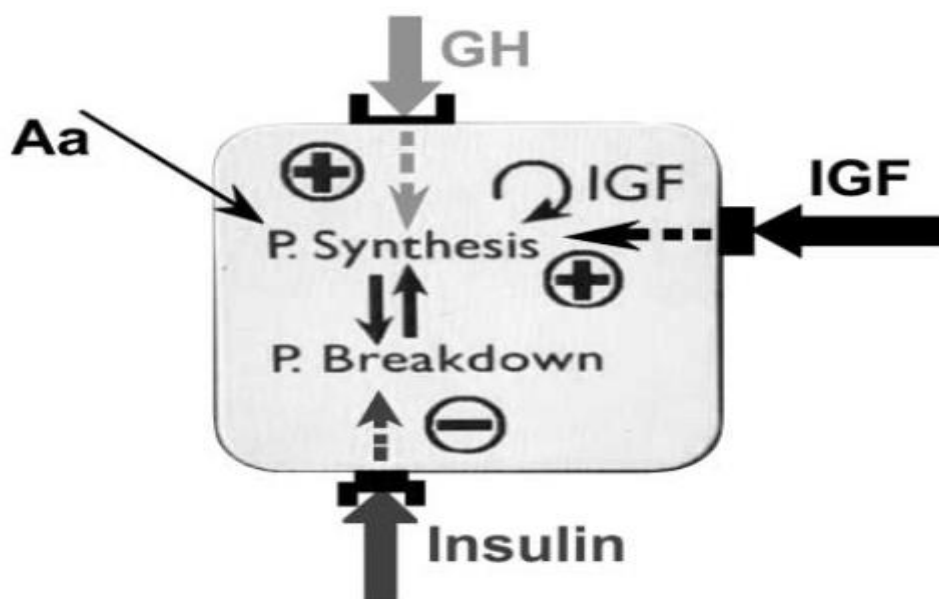
- Ηπατικά κύτταρα: Προάγει τη γλυκογένεση, αναστέλλει τη γλυκονεογένεση
- Λιποκύτταρα: Προάγει τη λιπογένεση, αναστέλλει τη λιπόλυση
- Μυϊκά κύτταρα: Προωθεί τη γλυκογένεση και τη σύνθεση πρωτεϊνών. Αναστέλλει τον καταβολισμό των πρωτεϊνών
- Παγκρεατικά βήτα κύτταρα: Αναστέλλει την απελευθέρωση γλυκαγόνης
- Εγκεφαλικά κύτταρα: Συμμετέχουν στη ρύθμιση της όρεξης [90] [91] [92]

Χρήση Στον Αθλητισμό

Η ινσουλίνη μέσω της διευκόλυνσης της εισόδου γλυκόζης στα κύτταρα σε ποσότητες μεγαλύτερες από αυτές που χρειάζονται για την κυτταρική λειτουργία, θα διεγείρει το σχηματισμό γλυκογόνου. Δεδομένου ότι η απόδοση σε πολλά αθλήματα είναι γνωστό ότι είναι συνάρτηση των αποθηκών μυϊκού γλυκογόνου, θα βελτιώσει την απόδοση. Για να γίνει αυτό, οι αθλητές θα πρέπει να λαμβάνουν ινσουλίνη και γλυκόζη ταυτόχρονα για μερικές ώρες, εγχύοντάς τα χρησιμοποιώντας μια τεχνική που ονομάζεται υπερινσουλιναιμικός σφιγκτήρας. Έτσι, οι υπερινσουλιναιμικοί σφιγκτήρες θα αυξήσουν τις συγκεντρώσεις του μυϊκού γλυκογόνου πριν από τον αγώνα και στη φάση της ανάρρωσης μετά τον αγώνα.

Στους bodybuilders, λειτουργεί παράλληλα με αναβολικά στεροειδή όπως η τεστοστερόνη ή η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη για τη σταθεροποίηση του μυϊκού ιστού. Τα στεροειδή γεννούν νέους μυς και η ινσουλίνη εμποδίζει τη διάσπασή τους. Αυτή η μεθοδος ντοπινγκ φέρεται να γίνεται με τακτικές ενέσεις ινσουλίνης βραχείας δράσης μαζί με δίαιτες πλούσιες σε υδατάνθρακες. Μέσω αυτής της μεθόδου είναι

δυνατό να αυξηθεί ο όγκος και η απόδοση των μυών όχι μόνο μέσω της αύξησης των αποθηκών μυϊκού γλυκογόνου σε μακροπρόθεσμη βάση αλλά και μέσω της αύξησης του μυϊκού όγκου μέσω της αναστολής της διάσπασης των μυϊκών πρωτεϊνών. [93] [94] [95]



Εικόνα 16

Συνεργιστική δράση μεταξύ ινσουλίνης, IGF-I και GH στη ρύθμιση της πρωτεϊνικής σύνθεσης (P). Αμεση διέγερση της πρωτεϊνοσύνθεσης από GH και IGF-I. Η ινσουλίνη είναι αναβολική μέσω της αναστολής της διάσπασης των πρωτεϊνών. Η αναβολική δράση τόσο της GH όσο και της IGF-I φαίνεται να προκαλείται μέσω της επαγωγής μεταφορέων αμινοξέων (Aa)

Παρενέργειες Ινσουλίνης

Οι χρήστες ουσιών ντόπινγκ τείνουν να είναι άτομα χωρίς διαβήτη και δεν χρησιμοποιούν γλυκόμετρο για μετρήσεις γλυκόζης οπότε η υπογλυκαιμία είναι η πιο συχνή επιπλοκή της χρήσης ινσουλίνης. Είναι επίσης πιο πιθανό να συμβεί με τη χρήση ινσουλίνης βραχείας δράσης. Η υπογλυκαιμία μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια συνείδησης, κώμα, επιληπτικές κρίσεις και ενδεχομένως θάνατο. Επαγόμενη από την ινσουλίνη υπογλυκαιμία, επιληπτικές κρίσεις και σοβαρή χρόνια εγκεφαλική βλάβη έχουν αναφερθεί μετά από παρατεταμένη νευρογλυκοπενία μετά από χρόνια χρήση ινσουλίνης για ντόπινγκ. Η χρόνια υπογλυκαιμία έχει συσχετιστεί με έλλειψη επίγνωσης της υπογλυκαιμίας λόγω μείωσης της αδρενεργικής απόκρισης και γνωστικών προβλημάτων. [96] [97]

3.8 S5 — Διουρητικά Και Άλλοι Παράγοντες Κάλυψης

Η κατηγορία ουσιών των παραγόντων κάλυψης περιλαμβάνει κυρίως διουρητικά, αλλά περιλαμβάνει επίσης προβενεσίδη και διαστολείς πλάσματος, καθώς και ουσίες με παρόμοια χημική δομή που μεταβάλλουν τα δείγματα ντόπινγκ, τροποποιούν την απέκκριση στα ούρα ή αποκρύπτουν την παρουσία άλλων παραγόντων ντόπινγκ.

ΔΙΟΥΡΗΤΙΚΑ

Τα διουρητικά επηρεάζουν τη λειτουργία των νεφρών και έτσι μεταβάλλουν την ισορροπία υγρών και αλάτων του σώματος (ηλεκτρολύτες: κάλιο, νάτριο και φώσφορο). Επηρεάζουν διάφορα συστήματα μεταφοράς στα νεφρά και έτσι αυξάνουν την απέκκριση των ούρων. Το σωματικό βάρος μειώνεται και τα ούρα αραιώνονται.

Μηχανισμός Δράσης

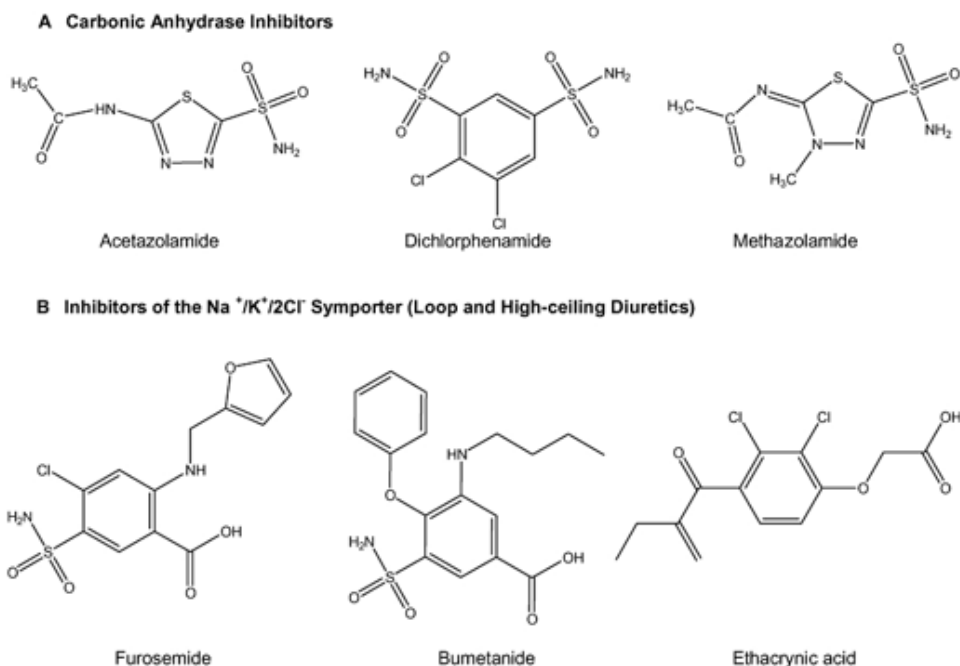
Τα διουρητικά είναι φάρμακα που κατευθύνουν φαρμακολογικά τη ρύθμιση του νεφρικού υγρού προς όφελος της απέκκρισης νερού και ηλεκτρολυτών. Έτσι, τα διουρητικά είναι ουσίες που αυξάνουν την παραγωγή και τον όγκο των ούρων.

Αυτή η κατηγορία φαρμάκων επιτυγχάνει αυτόν τον στόχο κυρίως καταστέλλοντας υποδοχείς που βοηθούν στην επαναρρόφηση του Na⁺, του πιο άφθονου εξωκυτταρικού κατιόντος, από τα νεφρικά σωληνάρια, αυξάνοντας έτσι την ωσμωτικότητα των νεφρικών σωληναρίων και κατά συνέπεια καταστέλλοντας την επαναρρόφηση του νερού.

Τα οσμωτικά διουρητικά προκαλούν άμεση αύξηση της υπερωσμωτικότητας του αυλού στα νεφρικά σωληνάρια χωρίς να επηρεάζουν την ισορροπία των ηλεκτρολυτών, ενώ τα υδρογονικά είναι ουσίες που δρουν άμεσα επηρεάζοντας μόνο την απέκκριση του νερού.

Τα διουρητικά δρουν στοχεύοντας τους υποδοχείς μεταφοράς ιόντων που υπάρχουν στην επιφάνεια του αυλού στα νεφρικά σωληνάρια, εκτός από τους ανταγωνιστές των υποδοχέων Αλδοστερόνης (ARA, Aldosterone receptor antagonists), τα οποία δρουν στους υποδοχείς στεροειδών κυτοσολίου. Όλα τα διουρητικά συνδέονται με τη λευκωματίνη και καθώς η σπειραματική διήθηση αποκλείει μακρομόρια όπως η λευκωματίνη, η ενεργή έκκριση διουρητικών παραγόντων στον αυλό είναι απαραίτητη προϋπόθεση για τη δράση τους.

Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων Αλδοστερόνης φτάνουν στο άπω σωληνάριο μέσω του αίματος και δρουν στον υποδοχέα των αλατοκορτικοειδών (mineralocorticoid receptor, MR) στο κυτταρόπλασμα των κύριων κυττάρων. Τα διουρητικά, τα οποία είναι όξινα (θειαζίδες και ακεταζολαμίδιο) ή βασικά (αναστολείς ENaC), εκκρίνονται αντίστοιχα μέσω των οργανικών μεταφορέων ανιόντων ή οργανικών κατιόντων (Organo Anion Transporter OAT, Organic cation transporters OCTs), που βρίσκονται στη βασηοπλάγια επιφάνεια των κυττάρων στο ευθύ τμήμα του εγγύς σωληναρίου. [98]



Εικόνα 17 Χημική δομή Διουρητικών και μηχανισμός δράσης τους.

Χρήση στον Αθλητισμό

Τα διουρητικά απαγορεύονται στον αθλητισμό επειδή μπορούν να χρησιμοποιηθούν:

(i). Σε αθλήματα με κατηγορίες βάρους (πυγμαχία, πάλη, τζούντο, άρση βαρών και άλλα, για να προκαλέσουν ταχεία απώλεια βάρους που μπορεί να είναι κρίσιμης σημασίας για την κάλυψη μιας κατηγορίας βάρους. Τα διουρητικά χρησιμοποιούνται επίσης σε κλάδους όπου το ιδιαίτερα χαμηλό σωματικό βάρος ενισχύει την απόδοση. Στο body building, όπου έχουν το παρατσούκλι «χάπια νερού» χρησιμοποιούνται πριν από αγώνες για να απομακρύνουν όσο το δυνατόν περισσότερο νερό από το σώμα ώστε οι μύες να φαίνονται πιο καθορισμένοι.

(ii) Για την αλλαγή του φυσιολογικού προφίλ μεταβολισμού/απέκκρισης άλλων απαγορευμένων ουσιών. Οι παράγοντες κάλυψης (όπως τα διουρητικά) χρησιμοποιούνται για την παραποίηση των αποτελεσμάτων των ελέγχων ντόπινγκ και για την απόκρυψη του ντόπινγκ.

Και στις δύο περιπτώσεις, η χορήγηση διουρητικών μπορεί να είναι σύντομη ή χρόνια με χορηγούμενες δόσεις που μπορεί να υπερβαίνουν σημαντικά τα θεραπευτικά επίπεδα. Σε γενικές γραμμές, οι αθλητές μπορούν να χρησιμοποιούν διουρητικά σε μία δόση μερικές ώρες πριν από έναν αγώνα (δηλαδή παλαιστές ή αθλητές για λόγους συγκάλυψης) ή να κάνουν χρόνια κατάχρηση για μήνες. Είναι σημαντικό να

σημειωθεί ότι τα διουρητικά που καταχρώνται περισσότερο από τους αθλητές (φουροσεμίδη, υδροχλωροθειαζίδη και τριαμετένη) έχουν βραχύ χρόνο ημιζωής και επομένως δεν μπορούν να ανιχνευθούν στα ούρα εάν τα δείγματα δεν συλλεχθούν εντός 24-48 ωρών μετά την τελευταία χορήγηση. [99] [100] [101] [102]

Παρενέργειες Διουρητικών

Τα διουρητικά αποβάλλουν μαζικά υγρά και μέταλλα από το σώμα. Αυτό διαταράσσει την ισορροπία νερού και ηλεκτρολυτών του σώματος. Ως αποτέλεσμα, μπορεί να συμβεί οξεία απώλεια αρτηριακής πίεσης, ανωμαλίες του καρδιακού ρυθμού και κυκλοφορικό σοκ. Επιπλέον, το πυκνό αίμα αυξάνει τον κίνδυνο θρόμβωσης. Ως περαιτέρω συνέπεια, η κατάχρηση διουρητικών μπορεί να οδηγήσει σε γαστρεντερικά προβλήματα και νεφρική βλάβη. Λόγω της αφυδατικής δράσης των διουρητικών και της απώλειας ηλεκτρολυτών, μπορεί να εμφανιστούν έντονες μυϊκές κράμπες. [103] [104] [105] [106]

ΠΡΟΒΕΝΕΣΙΔΗ

Η προβενεσίδη είναι ένα φάρμακο που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της ουρικής αρθρίτιδας και της υπερουριχαιμίας.

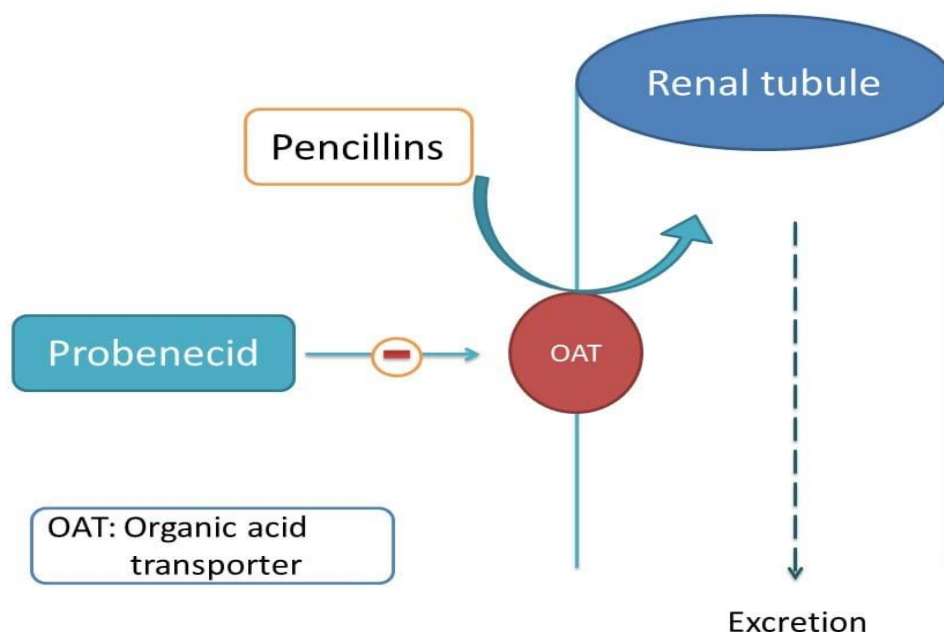
Ο πρωτότυπος ουρικοζουρικός παράγοντας αναστέλλει τη νεφρική απέκκριση οργανικών ανιόντων και μειώνει τη σωληναριακή επαναρρόφηση των ουρικών. Η προβενεσίδη έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία ασθενών με νεφρική δυσλειτουργία και, επειδή μειώνει τη νεφρική σωληναριακή απέκκριση άλλων φαρμάκων, έχει χρησιμοποιηθεί ως συμπλήρωμα στην αντιβακτηριακή θεραπεία.

Μηχανισμός Δράσης

Η προβενεσίδη:

- Αναστέλλει τη σωληναριακή επαναρρόφηση του ουρικού οξέος, αυξάνοντας έτσι την απέκκριση του ουρικού οξέος στα ούρα και μειώνοντας τα επίπεδα ουρικού ορού.
- Μπορεί να μειώσει τη δέσμευση του ουρικού οξέος στο πλάσμα και να αναστείλει την νεφρική έκκριση ουρικού οξέος σε υποθεραπευτικές συγκεντρώσεις.
- Μπορεί να αναστέλλει ένζυμα μεταφοράς που απαιτούν πηγή φωσφορικών δεσμών υψηλής ενέργειας και/ή παρεμποδίζουν μη ειδικά την πρόσβαση του υποστρώματος σε θέσεις υποδοχέα πρωτεΐνης στα νεφρικά σωληνάκια.
- Είναι ένας ανταγωνιστικός αναστολέας της ενεργού μεταφοράς οργανικών οξέων στο νεφρικό σωληνάριο και σε άλλα όργανα. Η δράση του προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης στα ούρα ορισμένων όξινων ενώσεων και, κατά συνέπεια, αύξηση της συγκέντρωσης τους στο πλάσμα. Αυτή η φαρμακολογική δράση χρησιμοποιείται στη θεραπεία με πενικιλίνες και

άλλα αντιβιοτικά για την αύξηση της συγκέντρωσης τους στον ανθρώπινο οργανισμό. [107] [108]



Εικόνα 18 Μηχανισμός δράσης Προβενεσίδης

Χρήση στον Αθλητισμό

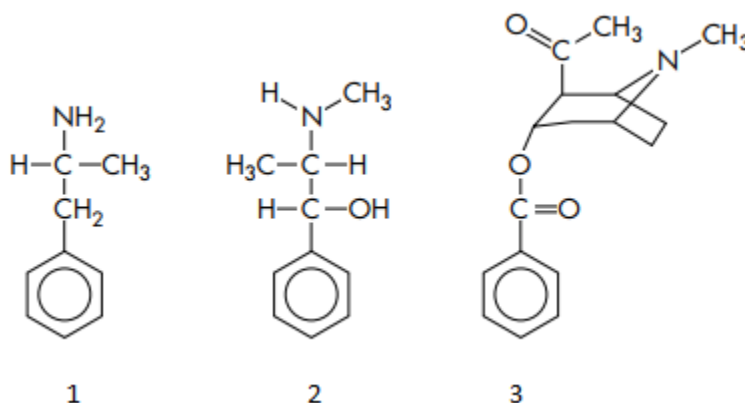
Η κακή χρήση της προβενεσίδης στον αθλητισμό εντοπίστηκε το 1987 σε ελέγχους ρουτίνας κατά του ντόπινγκ. Ανιχνεύθηκε σε δείγματα ούρων με ασυνήθιστα χαμηλές συγκεντρώσεις ενδογενών στεροειδών. Ελεγχόμενες μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση προβενεσίδης προκάλεσε σημαντική μείωση στην απέκκριση τόσο των ενδογενών στεροειδών (τεστοστερόνης, επιτεστοστερόνης, ανδροστερόνης, ετιοχολανολόνης και άλλων) όσο και των συνθετικών ανδρογόνων στεροειδών (νορανδροστερόνης, νορετιοχολανόλης) καθώς αυτές οι ενώσεις απεκκρίνονται κυρίως στα ούρα ως συζυγή γλυκουρονικού οξέος, η δράση που παράγεται από την προβενεσίδα πιθανότατα οφείλεται στην ανασταλτική της δράση στην ενεργό μεταφορά οργανικών οξέων. [109] [110] [111]

Παρενέργειες Προβενεσίδης

Αναφερόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες της θεραπείας με προβενεσίδα περιελάμβαναν κοιλιακές κράμπες, πυρετό, εξάνθημα, μυαλγία, δύσπνοια, πονοκεφάλους, ναυτία, έμετο και αγγειοκινητική κατάρρευση. Το πιο κοινό παράπονο μετά από χρόνια θεραπεία ήταν γαστρεντερικά συμπτώματα. [112] [113]

3.9 S6—Διεγερτικά

Η ομάδα των διεγερτικών περιλαμβάνει διεγερτικά όπως η αμφεταμίνη και η εφεδρίνη όπως επίσης και παράνομα ναρκωτικά όπως την κοκαΐνη και το έκσταση. Τα διεγερτικά απαγορεύονται στον αγώνα και είναι η δεύτερη πιο συχνή κατηγορία ουσιών που ανιχνεύεται από εργαστήρια αντιντόπινγκ παγκοσμίως. Η μεγαλύτερη κατάχρηση διεγερτικών εμφανίζεται στα αθλήματα αντοχής και δύναμης και σε μαχητικά αθλήματα. Αν και τα διεγερτικά είναι εύκολα ανιχνεύσιμα, συνεχίζουν να χρησιμοποιούνται για λόγους βελτίωσης της απόδοσης.



Εικόνα 19 Χημική δομή αμφεταμίνης (1) εφεδρίνης (2) και κοκαΐνης (3)

ΑΜΦΕΤΑΜΙΝΗ

Η αμφεταμίνη και τα παραγωγά της μεθαμφεταμίνη, διμεθαμφεταμίνη, μεθυλενοδιοξαμφεταμίνη (MDA), μεθυλενοδιοξυμεθαμφεταμίνη (MDMA, «έκσταση») και σελεγιλίνη απαγορεύονται την ημέρα των αγώνων.

Μηχανισμός Δράσης

Η αμφεταμίνη διαθέτει μια μακρά επίπεδη διαμόρφωση και ένα αρωματικό δακτυλίο με αζώτο στην πλευρική αλυσίδα του αρυλίου. Έχει μια παρόμοια δομή με τους νευροδιαβιβαστές κατεχολαμίνης. Η αμφεταμίνη, καθώς και άλλες κατεχολαμίνες, μεταφέρονται στα άκρα των προσυναπτικών νεύρων μέσω της σύνδεσης με δύο ιόντα νατρίου και ένα ιόν χλωρίου. Το σύμπλεγμα της αμφεταμίνης με τα ιόντα μεταφέρεται ενεργά από μεταφορείς επαναπρόσληψης μονοαμινών. Καθώς η αμφεταμίνη δρα ανταγωνιστικά με τις ενδογενείς μονοαμίνες, όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των αμφεταμινών τόσο περισσότερη εσωτερική αμφεταμίνη θα βρεθεί.

Μόλις εισέλθει στο προσυναπτικό τερματικό, η αμφεταμίνη εκτοπίζει άλλες μονοαμίνες που θα αποθηκευτούν από το κυστιδικό μεταφορέα μονοαμινο 2

(Vesicular Monoamine Transporter 2, VMAT2) το οποίο παράγει την άντληση των νευροδιαβιβαστών στη σύναψη με μια διαδικασία που ονομάζεται ρετρό-μεταφορά.

Ο μηχανισμός δράσης της αμφεταμίνης συμπληρώνεται από την αναστολή της επαναπρόσληψης και της μονοαμινοοξειδάσης που δρα συνεργικά παράγοντας σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης μονοαμίνης. [114] [115]

Χρήση Στον Αθλητισμό

Οι αμφεταμίνες μπορούν :

- να βελτιώσουν την αθλητική απόδοση με μια συμπληρωματική πνευματική διεγερτική δράση καθώς και με τις επιδράσεις στη σωματική δύναμη που προέρχεται και από τα τρία ανθρώπινα ενεργειακά συστήματα - τα συστήματα ενέργειας ATP-CP, γαλακτικού οξέος και οξυγόνου.
- να βελτιώσουν το χρόνο αντίδρασης, να αύξησουν την μυϊκή δύναμη και την επιτάχυνση.
- να αυξήσουν τα επίπεδα γαλακτικού οξέος στη μέγιστη άσκηση με αύξηση της ικανότητας αεροβικής αντοχής .
- να διεγείρουν το μεταβολισμό προκαλώντας απώλεια σωματικού λίπους.

Οι κύριοι μεταβολίτες της αμφεταμίνης είναι η π-υδροξυ εφεδρίνη και η π-υδροξυ αμφεταμίνη. Η αμφεταμίνη χάνεται από το σώμα με νεφρική διήθηση. Η εργαστηριακή ανάλυση είναι μόνο ποιοτική και η παρουσία της ουσίας στα ούρα αρκεί για να δηλωθεί η περίπτωση ως αντικανονικό αναλυτικό εύρημα (AAF). [116] [117]

Παρενέργειες Της Αμφεταμίνης

Οι αμφεταμίνες επιτρέπουν σε αθλητές να συνεχίσουν να αγωνίζονται και έτσι επιδείνουν τους τραυματισμούς τους αφού αυτές συγκαλύπτουν τον πόνο. Οι σοβαρότερες παρενέργειες της αμφεταμίνης είναι η θερμοπληξία που προκαλείται και η καρδιακή ανακοπή, που έχουν οδηγήσει σε αρκετούς θανάτους αθλητών κατά τη διάρκεια επίπονης προσπάθειας.

Οι παρενέργειες όσον αφορά τη συμπεριφορά είναι επίσης σημαντικές όπως άγχος, αδιαφορία, ανεύθυνη συμπεριφορά, ευερεθιστότητα, ξηροστομία, τρόμος, αϋπνία και, μετά από στέρηση, κατάθλιψη. Η ανοχή αναπτύσσεται γρήγορα σε πολλές από τις επιδράσεις των αμφεταμινών. Οι αλλαγές προσωπικότητας που προκαλούνται από χρόνιες χαμηλές δόσεις αμφεταμίνης αναστρέφονται σταδιακά μετά τη διακοπή του φαρμάκου.

Η «ψύχωση αμφεταμίνης» (Methamphetamine psychosis) είναι μια κατάσταση που προκαλείται από υψηλές χρόνιες δόσεις και μπορεί να οδηγήσει σε μια ποικιλία επίμονων αλλαγών της προσωπικότητας, σε παρανοϊκές παραληρητικές ιδέες και σε ψευδαισθήσεις . [118] [119] [120] [121]

ΕΦΕΔΡΙΝΗ

Οι ενώσεις εφεδρίνη, ψευδοεφεδρίνη, νορεφεδρίνη, μεθυλεφεδρίνη, νορψευδοεφεδρίνη και μεθυλψευδοεφεδρίνη είναι φυσικά διεγερτικά του ΚΝΣ που λαμβάνονται από διάφορα είδη της Ephedra. Η εφεδρίνη μπορεί επίσης να παρασκευαστεί με χημικές μεθόδους. Η φαινυλοπροπανολαμίνη είναι επίσης μια συνθετική ένωση λειτουργικά παρόμοια με τα αλκαλοειδή της εφέδρας σε ισχύ και χρήση. Η δράση της εφεδρίνης στο ΚΝΣ είναι λιγότερο ισχυρή από αυτή της αμφεταμίνης αλλά έχει μεγαλύτερη διάρκεια δράσης.

Μηχανισμός Δράσης

Η εφεδρίνη είναι το πιο ισχυρό θερμογόνο από τα αλκαλοειδή της Εφέδρας και δρα ως διεγερτικό του ΚΝΣ ενισχύοντας την απελευθέρωση νοραδρεναλίνης από τους συμπαθητικούς νευρώνες, διεγείροντας τους α και β υποδοχείς.

Διεγείρει τον καρδιακό ρυθμό και ως εκ τούτου αυξάνει την καρδιακή παροχή, αλλά προκαλεί επίσης περιφερική στένωση, με αποτέλεσμα την αύξηση της περιφερικής αντίστασης, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε συνεχή αύξηση της αρτηριακής πίεσης.

Έχει μέτρια ισχυρές ιδιότητες χαλάρωσης των λείων μυών των βρόγχων και χρησιμοποιείται ως αποσυμφορητικό και για προσωρινή ανακούφιση από τη δύσπνοια που προκαλείται από το άσθμα.

Τα παράγωγα της Ephedra, βρίσκονται σε διάφορα φαρμακευτικά προϊόντα, κυρίως ως αποσυμφορητικό, και σε πολλά συμπληρώματα διατροφής ως ενεργειακό διεγερτικό και ανορεξικό παράγοντα. Η ψευδοεφεδρίνη μπορεί να βρεθεί σε πολλά συνταγογραφούμενα και μη συνταγογραφούμενα σκευάσματα για λοιμώξεις του αναπνευστικού ή αλλεργίες. [122] [123]

Χρήση Στον Αθλητισμό

Τα αλκαλοειδή της εφέδρας μπορούν δυνητικά να χρησιμοποιηθούν για την ενίσχυση της αθλητικής απόδοσης. Το όφελος σχετικά με την δύναμη, αντοχή ή την ταχύτητα της χρήσης εφεδρίνης, ψευδοεφεδρίνης και φαινυλοπροπανολαμίνης σε συνήθεις δόσεις είναι ασήμαντο. Άλλες μελέτες που εξετάζουν τη χρήση εφεδρίνης σε συνδυασμό με βιταμίνες, μέταλλα ή καφεΐνη έχουν υποστηρίξει πιθανές ενισχυτικές επιδράσεις.

Συμπληρώματα διατροφής περιέχουν αλκαλοειδή της εφέδρας λόγω των αντιληπτών οφελών της αυξημένης ενέργειας, του μειωμένου χρόνου εξάντλησης και των πιθανών θερμογονικών ιδιοτήτων με αυξημένο μεταβολισμό, αυξημένη απώλεια λίπους και βελτιωμένη μυϊκή δύναμη. Η ιατρική χρήση της εφεδρίνης γίνεται ανεκτή από τον WADA και τη ΔΟΕ σε θεραπευτικά επίπεδα. Η απέκκριση της στα ούρα σε μεγάλο βαθμό είναι αμετάβλητη και ο συνήθης χρόνος ημιζωής αποβολής της είναι τρεις έως έξι ώρες. [124] [125] [126]

Παρενέργειες Εφεδρίνης

Οι κοινές παρενέργειες της εφεδρίνης είναι πονοκέφαλος, ζάλη, ευερεθιστότητα, άγχος, τρόμος και ψύχωση.

Τα πιο επικίνδυνα συμπτώματα υπερδοσολογίας είναι η ασυνήθιστα υψηλή αρτηριακή πίεση και ο γρήγορος, ακανόνιστος καρδιακός παλμός. Μια δόση εφεδρίνης μόνο δύο ή τρεις φορές μεγαλύτερη από τη θεραπευτική μέγιστη μπορεί να προκαλέσει σημαντική αύξηση της αρτηριακής πίεσης.

Τέλος, ορισμένες περιπτώσεις ψύχωσης, έχουν προκύψει από χρόνια χρήση υψηλών δόσεων. [127]

ΚΟΚΑΪΝΗ

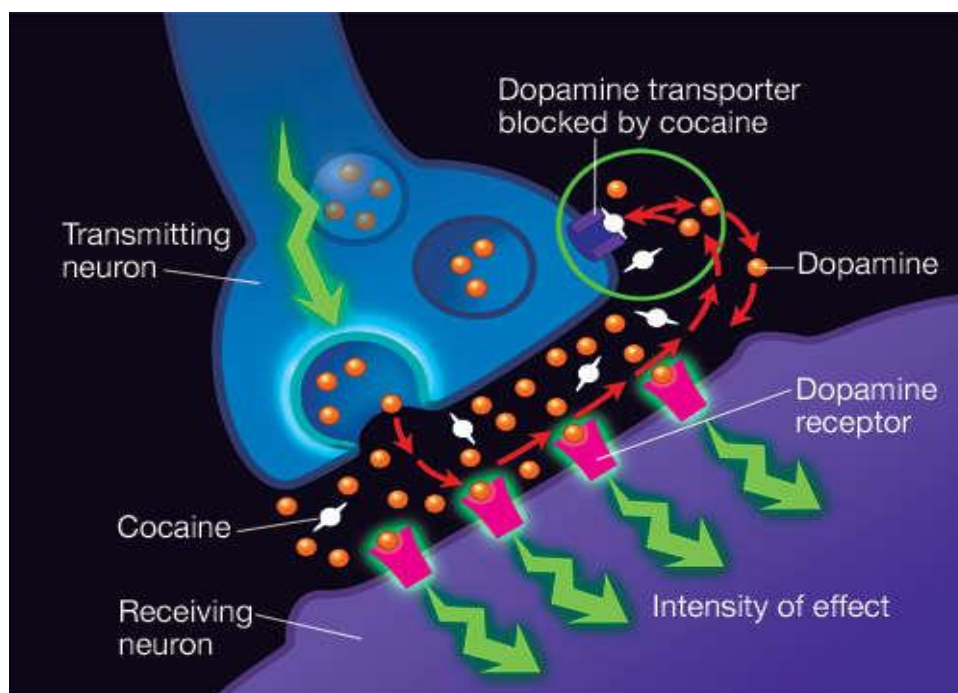
Η κοκαΐνη είναι το πιο ισχυρό διεγερτικό φυσικής προέλευσης που εξάγεται από τα φύλλα του φυτού κόκας της Νότιας Αμερικής σε αντίθεση με τις αμφεταμίνες, που είναι καθαρά συνθετικές ενώσεις. Η κοκαΐνη λαμβάνεται με ρινική *εισρόφηση*, μπορεί να καπνιστεί ή να χορηγηθεί με ένεση.

Μηχανισμός Δράσης

Η κοκαΐνη είναι ένα ισχυρό διεγερτικό του ΚΝΣ και είναι ίσως ο πιο εθιστικός παράγοντας που είναι γνωστός. Η χρήση της είναι ευρέως διαδεδομένη και είναι εξαιρετικά εθιστική με την επίδρασή της να προκαλείται μέσω της απελευθέρωσης ντοπαμίνης.

Το μεσομεταιχμιακό ντοπαμινεργικό σύστημα του εγκεφάλου είναι μια οδός που διεγείρεται από όλους τους τύπους ενισχυτικών ερεθισμάτων (π.χ τροφή) και απο πολλά ναρκωτικά κατάχρησης, συμπεριλαμβανομένης της κοκαΐνης. Στην κανονική διαδικασία επικοινωνίας των νευρώνων, η ντοπαμίνη απελευθερώνεται από έναν νευρώνα στη σύναψη, το μικρό κενό μεταξύ δύο νευρώνων, όπου συνδέεται με εξειδικευμένες πρωτεΐνες που ονομάζονται υποδοχείς ντοπαμίνης στον γειτονικό νευρώνα.

Με αυτή τη διαδικασία, η ντοπαμίνη δρα ως χημικός αγγελιοφόρος, μεταφέροντας ένα σήμα από νευρώνα σε νευρώνα. Μια άλλη εξειδικευμένη πρωτεΐνη που ονομάζεται μεταφορέας ντοπαμίνης αφαιρεί τη ντοπαμίνη από τη σύναψη για να ανακυκλωθεί για περαιτέρω χρήση. Η κοκαΐνη δρα δεσμεύοντας τον μεταφορέα ντοπαμίνης, εμποδίζοντας την απομάκρυνση της ντοπαμίνης από τη σύναψη. Στη συνέχεια, η ντοπαμίνη συσσωρεύεται στη σύναψη για να παράγει ένα ενισχυμένο σήμα στους νευρώνες λήψης. Αυτό είναι που προκαλεί την ευφορία που συνήθως βιώνεται αμέσως μετά τη λήψη της κοκαΐνης. [128] [129]



Εικόνα 20 Μηχανισμός δράσης Κοκαΐνης

Χρήση Στον Αθλητισμό

Η μακροχρόνια χρήση μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια συγκέντρωσης, ευερεθιστότητα, απώλεια μνήμης, παράνοια, απώλεια ενέργειας, άγχος ενώ δεν βελτιώνει πραγματικά την απόδοση.

Συγκεκριμένα, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η κοκαΐνη δεν έχει ευεργετική επίδραση στους χρόνους τρεξίματος και μειώνει την απόδοση αντοχής. Επιπλέον, σε όλες τις δόσεις, η κοκαΐνη αυξάνει σημαντικά την αποικοδόμηση του γλυκογόνου ενώ αυξάνει τη συγκέντρωση γαλακτικού χωρίς να προκαλεί σταθερές αλλαγές στα επίπεδα κατεχολαμινών στο πλάσμα.

Η κοκαΐνη μπορεί να επηρεάζει μόνο δραστηριότητες μικρής διάρκειας που απαιτούν έκρηξη υψηλής έντασης παραγωγής ενέργειας. λόγω των αποτελεσμάτων της αυξημένης διέγερσης και της εγρήγορσης, που επιτυγχάνονται κυρίως σε χαμηλές δόσεις. Η παρουσία κοκαΐνης και/ή των μεταβολιτών της, βενζοϋλεκγονίνη και μεθυλεκγονίνη, στα ούρα θεωρείται παράβαση κανονισμού αντιντόπινγκ.

Παρενέργειες Της Κοκαΐνης

Με την κατάχρηση κοκαΐνης παρατηρείται μείωσή της αθλητικής απόδοσης λόγω λανθασμένων αντιληπτικών εκτιμήσεων και χρονικού αποπροσανατολισμού. Η κοκαΐνη είναι πιο εθιστική από την αμφεταμίνη και επιπλέον, οι εθισμένοι στην κοκαΐνη συχνά στρέφονται σε άλλα ναρκωτικά για να ανακουφίσουν το αίσθημα στέρησης. Όταν χρησιμοποιούνται μαζί, αυτά τα ναρκωτικά και η κοκαΐνη μπορεί να αποδειχθούν ακόμη πιο θανατηφόρα από ό,τι όταν χρησιμοποιούνται μόνα τους.

Μερικοί θάνατοι έχουν επίσης σημειωθεί όταν η κατάχρηση κοκαΐνης έχει αναμιχθεί με αλκοόλ ή αναβολικά στεροειδή.

Ένας αριθμός θανάτων που σχετίζονται με στεφανιαία απόφραξη έχει συμβεί σε αθλητές που έκαναν κατάχρηση κοκαΐνης, συνήθως σε αυτούς που ασκούσαν εντατικά μετά τη χορήγηση φαρμάκων. Η από κοινού κατάχρηση αλκοόλ και κοκαΐνης είναι εξαιρετικά καρδιοτοξική.

Οι κλασικές φυσικές επιπτώσεις της χρήσης κοκαΐνης περιλαμβάνουν συσταλμένα αιμοφόρα αγγεία, διεσταλμένες κόρες και αυξημένη θερμοκρασία, καρδιακό ρυθμό και αρτηριακή πίεση. Αυξάνει επίσης την κινητική δραστηριότητα και την ομιλία και είναι ένας ισχυρός επαγωγέας ευφορίας. [130] [131]

3.10 S7—Ναρκωτικά

Τα ναρκωτικά δεν έχουν αναβολικές ιδιότητες ή ιδιότητες βελτίωσης της απόδοσης. Οι αθλητές χρησιμοποιούν ναρκωτικά για να καλύψουν τον πόνο που προκαλείται από μυοσκελετικό τραυματισμό, επιτρέποντάς τους να αγωνιστούν και είναι, για αυτόν τον λόγο, απαγορευμένες ουσίες στον αγώνα, αλλά επιτρέπονται εκτός αγώνων.

Τα ναρκωτικά αντιπροσωπεύουν μια κατηγορία ουσιών με συνέπειες για τη χρήση τους στον αθλητισμό και ως ουσίες κατάχρησης στην κοινωνία. Αυτά τα φάρμακα παρουσιάζουν σοβαρές παρενέργειες συμπεριλαμβανομένης της εξάρτησης που μπορεί να οδηγήσει σε εθισμό, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιούνται σε κοινωνικό πλαίσιο. Ο ετήσιος αριθμός των AAF για τα ναρκωτικά είναι χαμηλός.

Μηχανισμός Δράσης

Τα ναρκωτικά δρουν κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Με την πρόσδεση σε υποδοχείς οπιοειδών στα νευρικά κύτταρα, πυροδοτούν διεργασίες στα κύτταρα και ρυθμίζουν τα κανάλια ιόντων με τελικό αποτέλεσμα τη μείωση της απελευθέρωσης σηματοδότησης του πομπού. Με αυτόν τον μηχανισμό, καταστέλλουν τη διάδοση των ερεθισμάτων και μειώνουν την αντίληψη του πόνου. [132] [133]

Χρήση Στον Αθλητισμό

Τα ναρκωτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αθλήματα που προκαλούν πόνο, π.χ. πολεμικές τέχνες, για μείωση της αντίληψης του πόνου. Σήμερα, μόνο ένα μικρό ποσοστό θετικών δειγμάτων ντόπινγκ αποδίδεται σε ναρκωτικά, επειδή είναι εύκολα ανιχνεύσιμα και ως εκ τούτου γίνεται λιγότερο συχνά κατάχρηση. Επιπλέον, διατίθενται δημοφιλή μη οπιοειδή παυσίπονα που δεν περιλαμβάνονται στον Απαγορευμένο Κατάλογο. [134] [135]

Παρενέργειες Ναρκωτικών

Η κατάχρηση ναρκωτικών συνδέεται με υψηλό κίνδυνο εθισμού και οδηγεί σε σοβαρή σωματική και ψυχολογική εξάρτηση. Τα ναρκωτικά δρουν κυρίως στο

κεντρικό νευρικό σύστημα και βλάπτουν τη συγκέντρωση και τον συντονισμό. Προκαλούν μείωση της πνευματικής δραστηριότητας και της πνευματικής απόδοσης. Ως αποτέλεσμα, τα προβλήματα και τα άγχη καταπιέζονται – μια κατάσταση που γίνεται αντιληπτή ως ευχάριστη και οδηγεί γρήγορα σε εξοικείωση. Για το λόγο αυτό, τα ναρκωτικά έχουν μεγάλη πιθανότητα εθισμού. Επειδή το σώμα αναπτύσσει ανοχή (δηλαδή συνηθίζει στην εθιστική ουσία), οι δόσεις πρέπει να αυξάνονται συνεχώς. Συνοδά συμπτώματα είναι σπασμοί, ναυτία, ζάλη και πονοκέφαλοι.

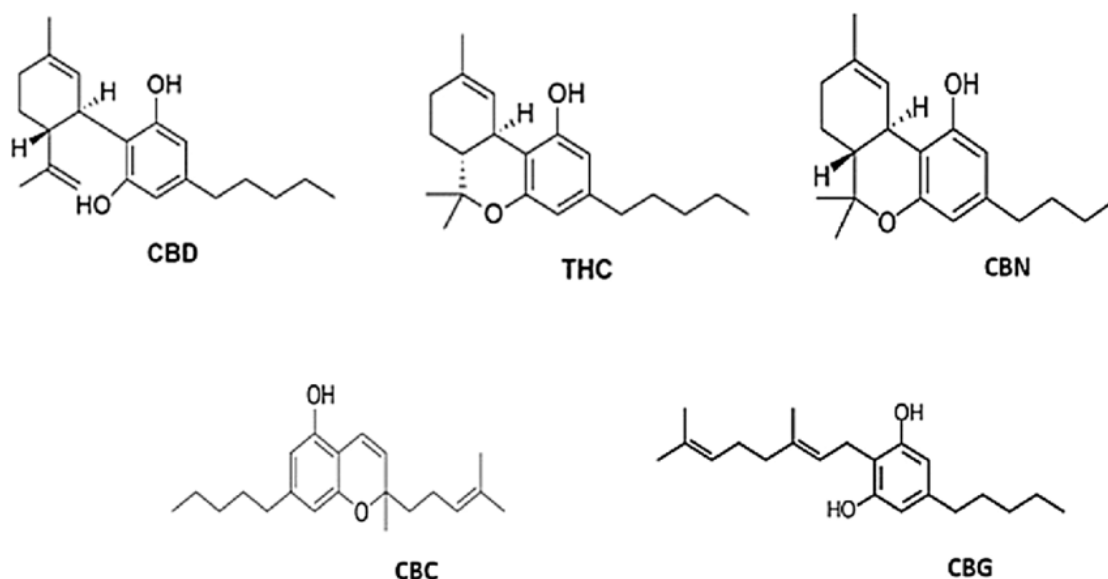
Οι ψυχολογικές συνέπειες της βαριάς κατάχρησης ναρκωτικών περιλαμβάνουν διαταραχές της συνείδησης, απάθεια (αδιαφορία) και απώλεια αυτοπεποίθησης. Μπορεί επίσης να εμφανιστεί κατάθλιψη, αυταπάτες και ψύχωση.

Η υπερδοσολογία μπορεί να οδηγήσει σε αναπνευστική παράλυση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ανεπάρκεια οξυγόνου και κυκλοφορική ανεπάρκεια και στον θάνατο. [136] [137] [138]

3.11 S8—Κανναβινοειδή

Τα κανναβινοειδή είναι φυσικές ουσίες που εξάγονται από την ινδική κάνναβη καθώς και από τα συνθετικά τους ανάλογα (παρόμοιες τεχνητά παραγόμενες ουσίες).

Αν και η τετραϋδροκανναβινόλη (Tetrahydrocannabinol, THC) και η κανναβιδιόλη (Cannabidiol, CBD) είναι τα πιο μελετημένα κανναβινοειδή, υπάρχουν πολλά άλλα που έχουν εντοπιστεί μέχρι σήμερα, όπως η κανναβινόλη (cannabinol, CBN), η κανναβιγερόλη (cannabigerol, CBG), η κανναβιδιβαρίνη (Cannabidivarin, CBDV) και η τετραϋδροκανναβιβαρίνη (Tetrahydrocannabivarin, THCV) που έχει αποδειχθεί ότι τροποποιούν τις φυσιολογικές επιδράσεις της κάνναβης.



Εικόνα 21 Χημική δομή των Κανναβινοειδών.

Μηχανισμός Δράσης

Οι πιθανές επιδράσεις της κάνναβης που αναιρούν τον πόνο παράγονται λόγω της φαρμακοκινητικής της κάνναβης στο σώμα και των επιπτώσεών της στους υποδοχείς κανναβinoειδούς 1 (cannabinoid receptors 1, CBR1) και κανναβinoειδούς 2 (cannabinoid receptors 2, CBR2). Οι υποδοχείς CBR1 βρίσκονται κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) και βρίσκονται επίσης σε περιφερειακά όργανα.

Διαδραματίζουν ρόλο στα κίνητρα, τη γνώση, τα συναισθήματα, τη ρύθμιση του πόνου, την επεξεργασία της μνήμης και τον κινητικό έλεγχο. Οι υποδοχείς CBR2 βρίσκονται κυρίως εντός του ανοσοποιητικού συστήματος και είναι παρόντες σε χαμηλότερο επίπεδο από το CBR1 στο ΚΝΣ. Οι υποδοχείς CB2 διαδραματίζουν ρόλο στον μετριασμό της φλεγμονής και την ανοσολογική μας απόκριση στα παθογόνα.

Και οι δύο υποδοχείς CBR1 και CBR2 σηματοδοτούν κυρίως μέσω ανασταλτικών πρωτεϊνών G και η ενεργοποίηση των ανασταλτικών πρωτεϊνών G είναι διέγερση των υποδοχέων CBR1. Αυτό οδηγεί στην αναστολή της αδενυλυλοκυκλάσης, στην ενεργοποίηση των ενεργοποιημένων από μιτογόνο πρωτεϊνικών κινασών και στην αναστολή ορισμένων διαύλων ασβεστίου και στην ενεργοποίηση των καναλιών καλίου που συνδέονται με την πρωτεΐνη G. Η ενεργοποίηση των οδών σηματοδότησης από τον υποδοχέα CBR1 και τα αυξημένα επίπεδα αυτών των υποδοχέων στα προσυναπτικά άκρα σημαίνει ότι η ενδοκανναβinoειδής διέγερση των υποδοχέων CBR1 καταστέλλει τη νευρωνική διεγερσιμότητα και αναστέλλει τη νευροδιαβίβαση.

Το κύριο ψυχοδραστικό συστατικό της Κάνναβης, η δέλτα 9-τετραϋδροκανναβινόλη (Δ9-THC), επιδεικνύει τα αποτελέσματά της μέσω της ασθενούς μερικής αγωνιστικής δραστηριότητας στους υποδοχείς CB1R και CB2R. Αυτή η δραστηριότητα έχει ως αποτέλεσμα τα γνωστά αποτελέσματα του καπνίσματος κάνναβης όπως αυξημένη όρεξη, μειωμένος πόνος και αλλαγές στις συναισθηματικές και γνωστικές διαδικασίες. [139] [140] [141]

Χρήση Στον Αθλητισμό

Τα κανναβinoειδή μπορούν να μειώσουν την ένταση και το άγχος πριν από τον αγώνα και να αυξήσουν την προθυμία ανάληψης κινδύνων, κάτι που μπορεί να βελτιώσει την απόδοση σε ορισμένες περιπτώσεις. Στα περισσότερα αθλήματα, ωστόσο, κυριαρχούν τα ανεπιθύμητα αποτελέσματα μείωσης της απόδοσης, π.χ. καθυστερημένη αντιδραστικότητα, μειωμένος συντονισμός και μειωμένο κίνητρο για σωματική απόδοση. Η κατάχρηση κανναβinoειδών εμφανίζεται κυρίως εκτός και άσχετα με το αθλητικό πλαίσιο. Ως αποτέλεσμα, έχουν εμφανιστεί κρούσματα ντόπινγκ σε όλα τα είδη αθλημάτων. Η κάνναβη απαγορεύεται σε αγώνες σε όλα τα αθλήματα αφενός, επειδή η χαλαρωτική και ήπια ανασταλτική της δράση μπορεί να επηρεάσει έμμεσα την απόδοση, και αφετέρου γιατί μπορεί να αποτελεί κίνδυνο για την ασφάλεια των αθλητών. [142] [143] [144]

Παρενέργειες Κανναβινοειδών

Τα κανναβινοειδή δρουν κυρίως στον εγκέφαλο και μπορεί να έχουν ένα ευρύ φάσμα ανεπιθύμητων ενεργειών. Βραχυπρόθεσμα, μειώνουν τα κίνητρα για σωματική απόδοση και βλάπτουν την αντίληψη και τη βραχυπρόθεσμη μνήμη. Σε υψηλές δόσεις, μπορεί να εμφανιστούν ψυχωτικές καταστάσεις, ανησυχία, άγχος, αντιδράσεις πανικού και αποπροσανατολισμός. Η μακροχρόνια κατάχρηση μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή ελλειμματικής προσοχής, απώλεια μνήμης και μειωμένη ικανότητα μάθησης, καθώς και αλλαγές στη δομή της προσωπικότητας και ψυχολογική εξάρτηση. [145] [146]

3.12 S9—Γλυκοκορτικοστεροειδή

Τα γλυκοκορτικοειδή ανήκουν στην ομάδα των κορτικοστεροειδών, μια κατηγορία στεροειδών ορμονών που παράγονται στον φλοιό των επινεφριδίων. Όπως όλα τα κορτικοστεροειδή, προέρχονται από την αρχική ουσία χοληστερόλη. Τα γλυκοκορτικοειδή έχουν αναλγητικά και αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα, γι' αυτό και γίνεται κατάχρηση για σκοπούς ντόπινγκ. Τα γλυκοκορτικοειδή είναι στεροειδείς ορμόνες που παράγονται από το σώμα ή παρασκευάζονται συνθετικά και επηρεάζουν τον μεταβολισμό του σώματος. Έχουν επίσης αναλγητικά και αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα.

Μηχανισμός Δράσης

Το σώμα παράγει με φυσικό τρόπο τα γλυκοκορτικοειδή από τη ζώνη fasciculata του φλοιού των επινεφριδίων.

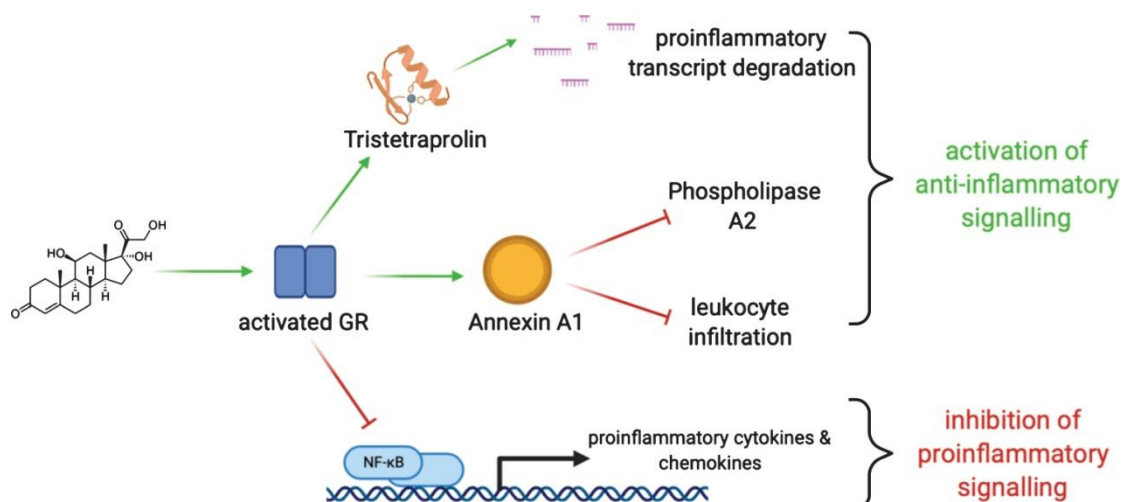
Η απελευθέρωσή τους ελέγχεται από την Αδρενοκορτικοτρόπο ορμόνη (Adrenocorticotrophic hormone, ACTH). Η δραστηριότητα του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA, hypothalamic-pituitary-adrenal) ελέγχεται από τον κιρκάδιο ρυθμό και μπορεί να προκληθεί από φυσιολογικό και συναισθηματικό στρες. Όταν ενεργοποιηθεί, η ορμόνη απελευθέρωσης κορτικοτροφίνης (corticotrophin-releasing hormone, CRH) και η αργινίνη αγγειοπιεσίνη (arginine vasopressin, AVP) απελευθερώνονται από τον υποθαλαμικό πυρήνα. Αυτό προκαλεί την απελευθέρωση της ACTH από την υπόφυση στη συστηματική κυκλοφορία.

Στη συνέχεια, η ACTH θα συνδεθεί με υποδοχείς που βρίσκονται στην πλασματική μεμβράνη των κυττάρων που βρίσκονται στη ζώνη fasciculata. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ενζύμου αδενυλική κυκλάση που αυξάνει τα επίπεδα της κυκλικής AMP (cAMP) στο κύτταρο. Αυτός ο καταρράκτης ενεργοποιεί ένζυμα που καταλύουν τη σύνθεση κορτιζόλης από την πρεγνεναλόνη.

Η καταστολή της έκκρισης κορτιζόλης ρυθμίζεται μέσω ενός βρόχου αρνητικής ανάδρασης όταν τα επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα είναι πολύ υψηλά. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις κορτιζόλης αναστέλλουν την έκκριση της CHR η οποία με τη σειρά της μειώνει την απελευθέρωση ACTH. [147] [148] [149]

Χρήση Στον Αθλητισμό

Τα γλυκοκορτικοειδή έχουν αρκετές σημαντικές λειτουργίες στη ρύθμιση του μεταβολισμού και εμπλέκονται στην απόκριση στο στρες αυξάνοντας τη συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα σε βάρος της αποθήκευσης πρωτεϊνών και λιπών. Αυτό το κάνουν επιταχύνοντας τη διάσπαση των πρωτεϊνών κυρίως στον μυϊκό ιστό, ελευθερώνοντας τα αμινοξέα για να εισέλθουν στην κυκλοφορία του αίματος. Αυτά τα αμινοξέα μπορούν να μετατραπούν σε γλυκόζη ή μπορεί να χρειαστούν για την επιδιόρθωση κατεστραμμένου ιστού ή για τη σύνθεση νέων κυτταρικών δομών. Τα γλυκοκορτικοειδή διεγείρουν τη διάσπαση των τριγλυκεριδίων για την απελευθέρωση λιπαρών οξέων από τις αποθήκες λίπους στον λιπώδη ιστό, διασφαλίζοντας ότι τα λιπαρά οξέα είναι διαθέσιμα ως εναλλακτική πηγή ενέργειας αντί της γλυκόζης. Επιπλέον, τα γλυκοκορτικοειδή έχουν αντιφλεγμονώδη και αναλγητικά αποτελέσματα. [150] [151] [152]



Εικόνα 22 Αντιφλεγμονώδη δράση των Γλυκοκορτικοστεροειδών. Τα γλυκοκορτικοειδή δρουν μέσω του υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών (GR). Η ενεργοποίηση του GR προάγει την αποδόμηση των μεταγραφών που μεσολαβούν σε προφλεγμονώδη σήματα μέσω, μεταξύ άλλων μηχανισμών, πρωτεϊνών που δεσμεύουν το RNA όπως η τριστετραπολίνη (Tristetraprolin). Η ενεργοποίηση του GR διεγείρει επίσης την έκφραση της αννεξίνης A1 (Annexin A1) η οποία χρησιμεύει για να ενορχηστρώσει τον τερματισμό της φλεγμονής και να αποφύγει την παρατεταμένη ενεργοποίηση. Η ενεργοποίηση GR δρα επίσης άμεσα στον περιορισμό της δράσης των βασικών προφλεγμονωδών μεσολαβητών.

Παρενέργειες Γλυκοκορτικοστεροειδών

Επειδή τα γλυκοκορτικοειδή επηρεάζουν πολλά συστήματα του σώματος, έχουν επίσης πολλές πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες. Από τη μία πλευρά, αναστέλλουν την παραγωγή γλυκοκορτικοειδών από τον ίδιο τον οργανισμό μέσω του άξονα

υποθαλάμου-υπόφυσης. Αυτή η επίδραση ονομάζεται αρνητική ανάδραση. Από την άλλη πλευρά, καταστέλλουν το ανοσοποιητικό σύστημα και έχουν καταβολική δράση (μείωση των ιστών) αποτέλεσμα που οδηγεί σε μείωση της οστικής πυκνότητας (οστεοπόρωση) και μυϊκή απώλεια. Άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες μετά από μακροχρόνια κατάχρηση περιλαμβάνουν διαβήτη, αυξημένο κίνδυνο έλκους στομάχου, κεντρική παχυσαρκία οφθαλμικές διαταραχές, διαταραχές ανάπτυξης και ψυχολογικές επιπτώσεις. [153] [154] [155]

Απαγορευμένη Ουσία	Φαρμακευτική Χρήση	Αναλυτική Τεχνική	MRPL (mL)
S1 Αναβολικές Ουσίες	<ul style="list-style-type: none"> Υπογοναδισμός Καρκίνος μαστού Ανεπαρκεία γοναδοτροπινών Οστεοπόρωση Αναιμία 	GC-MS/MS LC-MS/MS IRMS	0.2-0.5 ng
S2 Πεπτικές Ορμόνες, αυξητικοί παράγοντες και σχετικές ουσίες	<ul style="list-style-type: none"> Ανεπάρκεια LH και FSH Ανεπάρκεια GH Ασθένεια υπόφυσης Υπογονιμότητα 	LC-MS/MS Ανοχημικές Τεχνικές	1 – 2 ng 5 mLU
S3 β2 αγωνιστές	<ul style="list-style-type: none"> Ασθμα Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια 	GC-MS/MS LC-MS/MS	20 ng
S4 Ορμονικοί και μεταβολικοί τροποποιητές	<ul style="list-style-type: none"> Καρκίνος του μαστού Γυναικομαστία (Άνδρες) Υπογοναδισμός Υπογονιμότητα Διαβήτης 	GC-MS/MS LC-MS/MS	0.05 – 200 ng
S5 Διουρητικά και άλλοι παράγοντες απόκρυψης	<ul style="list-style-type: none"> Καρδιομυοπάθεια Υπέρταση Πνευμονικό οίδημα Νεφρική ανεπάρκεια Ουρική Αρθρίτιδα Υπερουριχαιμία 	LC-MS/MS	2 -200 ng
S6 Διεγερτικά	<ul style="list-style-type: none"> Διαταραχή ελλειμματικής προσοχής- υπερκινητικότητα Άσθμα Υπόταση 	GC-MS/MS LC-MS/MS	100 ng
S7 Ναρκωτικά	Αντιμετώπιση πόνου	GC-MS/MS LC-MS/MS	2 – 50 ng
S8 Κανναβινοειδή	Αντιμετώπιση πόνου	GC-MS/MS LC-MS/MS	1 ng
S9 Γλυκοκορτικοστεροειδή	<ul style="list-style-type: none"> Αντιφλεγμονώδη δράση Καταστολή ανοσολογικής απόκρισης 	LC-MS/MS	30 ng

*Πίνακας 2 Κατηγορίες Απαγορευμένων Ουσιών στον Αθλητισμό μαζί με τις
φαρμακευτικές ιδιότητες κάθε μιας, την αναλυτική τεχνική ανίχνευσης καθώς και το
εύρος Ελάχιστου Απαιτούμενου Επιπέδου Απόδοσης (MRPL).*

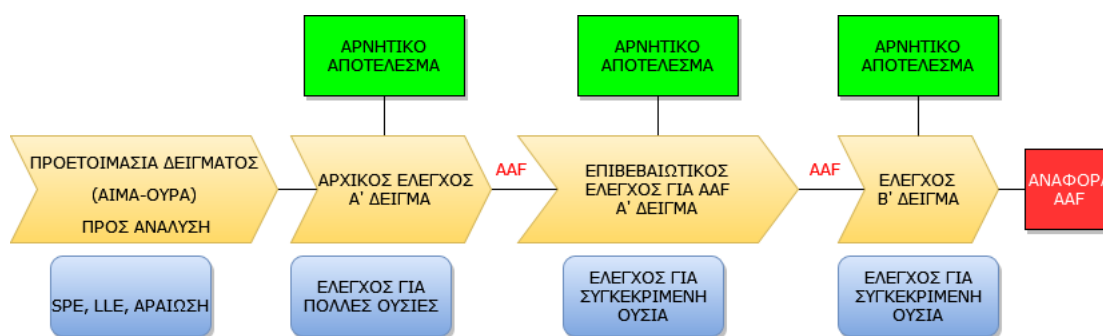
4 ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΝΤΟΠΙΓΚ

Οι προκλήσεις που αντιμετωπίζει η σύγχρονη αναλυτική επιστήμη κατά του ντόπινγκ συνοπτικά είναι οι εξής :

- Εισαγωγή νέων θεραπευτικών ενώσεων από την φαρμακοβιομηχανία και η προσφορά από το Διαδίκτυο συνθετικών στεροειδων για την βελτίωση της απόδοσης.
- Η ανάγκη για προηγμένα όργανα με μεγαλύτερη ταχύτητα αναλύσεων και αυξημένη ευαισθησία.
- Ειδικές τεχνικές ικανές να διακρίνουν μεταξύ ενδογενών και εξωγενών μεταβολιτών.
- Δοκιμασίες για την ανίχνευση πεπτιδικών ορμονών ή των δεικτών τους.
- Εφαρμογή αυστηρών απαιτήσεων που θέτει ο WADA.

4.1 Πιστοποίηση Διαδικασιών Και Λειτουργίας Του Εργαστηρίου στο Αντιντόπινγκ

Υπό την πίεση των νομικών μέσων για την αμφισβήτηση των αποτελεσμάτων απο τους αθλητές, είναι σημαντικό να εφαρμόζονται οι αυστηρές απαιτήσεις που θετει ο WADA. Ολα τα εργαστήρια για να θεωρούνται ικανά να εκτελέσουν αναλύσεις δειγμάτων αντιντόπινγκ θα πρέπει να πληρούν ένα σύνολο προϋποθέσεων. Τα εργαστήρια που είναι διαπιστευμένα από τον WADA πρέπει, ως προαπαιτούμενο, να ελεγχθούν και να διαπιστωθεί ότι συμμορφώνονται με τις γενικές απαιτήσεις ISO/IEC17025:2005 για την ικανότητα των εργαστηρίων δοκιμών και βαθμονόμησης που δημοσιεύονται από τον Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης (International Organization for Standardization,ISO) και επιπλέον συμμορφώνονται με τις απαιτήσεις του το διεθνές πρότυπο WADA για εργαστήρια (WADA international standard for laboratories, ISL) .



Εικόνα 23 Πιστοποιημένη αναλυτική διαδικασία κατά WADA

Τα εργαστήρια θα πρέπει :

- να αποδείξουν ότι οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι κατάλληλες για το σκοπό, επικυρωμένες και εγκεκριμένες για συμπερίληψη στο πεδίο εφαρμογής της διαπίστευσης ISO.
- να προσλαμβάνουν κατάλληλα καταρτισμένο και ικανό επιστημονικό προσωπικό και να είναι εξοπλισμένα με αναλυτικά όργανα τελευταίας τεχνολογίας για την εκτέλεση της πλήρους σειράς αναλύσεων που απαιτούνται.
- Οι διαδικασίες που εφαρμόζονται πρέπει να προσδιορίζουν κατηγορηματικά οποιαδήποτε από τις απαγορευμένες ουσίες ή μεθόδους, τους μεταβολίτες τους ή τους δείκτες χρήσης σε μια δεδομένη μήτρα, συνήθως ούρα αλλά και πλάσμα ή ορό για συγκεκριμένες αναλύσεις.
- να αναφέρουν ένα ανεπιθύμητο AAF όταν ανιχνεύεται απαγορευμένη ουσία ή/και μεταβολίτης της σε οποιαδήποτε συγκέντρωση.

Ο WADA παρακολουθεί τις επιδόσεις των διαπιστευμένων εργαστηρίων του με ένα εξωτερικό σύστημα αξιολόγησης ποιότητας σύμφωνα με τις παρακάτω προδιαγραφές :

- Κάθε τρίμηνο λαμβάνονται 5-6 τυφλά δείγματα για ανάλυση που περιέχουν απο μηδέν έως 3 απαγορευμένες ουσίες.
- Τα εργαστήρια λαμβάνουν επίσης διπλά τυφλά δείγματα μαζί με δείγματα ρουτίνας αθλητών.
- Τα αποτελέσματα αξιολογούνται και αφαιρούνται βαθμοί σε συνάρτηση με τη σοβαρότητα του λάθους που έγινε.
- Σε περίπτωση αναφοράς ψευδώς θετικού αποτελέσματος, αυτό μπορεί να οδηγήσει σε άμεση αναστολή λειτουργίας του εργαστηρίου και έναρξη πειθαρχικής διαδικασίας ελέγχου.
- Οι αναλυτικές διαδικασίες που χρησιμοποιούνται πρέπει να περιλαμβάνουν κατάλληλα αρνητικά και θετικά δείγματα ποιοτικού ελέγχου (υλικά

αναφοράς) ώστε να διασφαλίζεται η σαφής ανίχνευση, ταυτοποίηση και, όταν απαιτείται, ποσοτικός προσδιορισμός των απαγορευμένων ουσιών.

- Για ουσίες με επιτρεπτα ορια, το εργαστήριο πρέπει να εκτιμήσει την αβεβαιότητα της μεθόδου.
- Το σύστημα εξωτερικής αξιολόγησης ποιότητας διανέμει επίσης δείγματα για εκπαιδευτικούς σκοπούς στα εργαστήρια αντιντόπινγκ, όταν νέες αναλυτικές μέθοδοι/τεχνολογίες έχουν εγκριθεί από τον WADA και πρόκειται να εφαρμοστούν. [156] [157] [158]

4.2 Προσδιορισμός Ανδρογόνων Αναβολικών Στεροειδών (AAS)

Τα πλεονεκτήματα των ανδρογόνων αναβολικών στεροειδών (AAS) στα πρώτα χρόνια χρήσης τους ήταν ότι δεν μπορούσαν να ανιχνευθούν από τις αναλυτικές τεχνικές της εποχής αφού δεν ήταν επαρκώς επιλεκτικές και ευαίσθητες.

Η αξιόπιστη και σωστή αναγνώριση των ενώσεων αυτών εξασφαλίστηκε χάρη στην ανάπτυξη εξαιρετικά ειδικών μεθόδων, ικανών επίσης να διακρίνουν μεταξύ ενός συνθετικού στεροειδούς και ενός ενδογενούς στεροειδούς, που υπάρχει φυσικά στον οργανισμό.

Τα συστήματα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (Gas chromatography-mass spectrometry, GC/MS) ήταν στην πρώτη γραμμή ανάλυσης ελέγχου ντόπινγκ καθώς και η ανάπτυξη πιο περίπλοκων και αποτελεσματικών διαδικασιών προεπεξεργασίας του δείγματος (συμπεριλαμβανομένου επίσης ενός σταδίου υδρόλυσης, είτε χημικού είτε ενζυματικού, και την παραγωγοποίηση του τελικού εκχυλίσματος για να αποδώσει πιο θερμικά σταθερά και πτητικά παράγωγα) κατέστησε δυνατή την ανίχνευση των AAS στα ούρα.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ

Η επόμενη πρόκληση αποτέλεσε ο προσδιορισμός των ενδογενών στεροειδών δηλαδή αυτών που υπάρχουν φυσικά στον ανθρώπινο οργανισμό. Η κατάχρηση της τεστοστερόνης και ανάλογων της ήταν πολύ δύσκολο να αποδειχθεί αφού η χημική δομή τους ήταν πανομοιότυπη με αυτή της ενδογενούς τεστοστερόνης. Ένα άλλο πρόβλημα στην ανάλυση είναι ότι η θέσπιση κάποιου ορίου ανίχνευσης πάνω από το οποίο θα θεωρούνταν ο έλεγχος θετικός για ντόπινγκ ήταν μη ρεαλιστικό καθώς τα φυσιολογικά επίπεδα διαφέρουν από άτομο σε άτομο.

Μέτρηση Λόγου Τεστοστερόνης/Επιτεστοστερόνης

Η ανίχνευση της χρήσης ενδογενών στεροειδών καθιερώθηκε να βασίζεται στη μέτρηση έμμεσων παραμέτρων, κυρίως της αναλογίας συγκέντρωσης μεταξύ του T και του φυσικώς υπάρχοντος επιμερούς του, της επιτεστοστερόνης (E). Δεδομένου ότι η τεστοστερόνη είναι ένα ενδογενώς παραγόμενο αναβολικό στεροειδές, η διαφοροποίηση μεταξύ ενδογενούς και εξωγενούς τεστοστερόνης σε δείγμα ούρων

είναι απαραίτητη για τον έλεγχο του ντόπινγκ. Η τεστοστερόνη και η επιτεστοστερόνη υπάρχουν στα ανθρώπινα ούρα σε αναλογία περίπου 1:1. Ωστόσο, η χορήγηση εξωγενούς τεστοστερόνης έχει περιορισμένη επίδραση στα επίπεδα επιτεστοστερόνης κάποιου. Επομένως, η αναλογία τεστοστερόνης προς επιτεστοστερόνη θα αυξηθεί μετά τη χορήγηση εξωγενούς τεστοστερόνης.

Προκύπτουν προβλήματα, ωστόσο, επειδή οι αναλογίες T/E μπορεί να είναι υψηλές φυσικά σε ορισμένα άτομα, φτάνοντας ακόμη και το 10:1. Το πρόβλημα στη διαλογή του φυσικά υψηλού επιπέδου T/E από το τεχνητά υψηλού επιπέδου T/E μπορεί να αντιμετωπιστεί με δύο διαφορετικούς τρόπους.

Ένας τρόπος είναι να χρησιμοποιηθεί το γεγονός ότι το επίπεδο T/E παραμένει σταθερό σε ένα άτομο, ακόμα κι αν είναι φυσικά υψηλό. Επομένως, οι επαναλαμβανόμενες δοκιμές θα πρέπει να συνεχίσουν να δίνουν παρόμοια αποτελέσματα. Αν και αυτή η μέθοδος μπορεί να είναι αποτελεσματική, σίγουρα μπορεί να παρακαμφθεί από έναν αθλητή που παρακολουθεί προσεκτικά και διατηρεί σταθερό τον λόγο T/E του. Μια τιμή T/E μεγαλύτερη από το, εκείνη την χρονική στιγμή, καθιερωμένο όριο δεν αποτελεί από μόνο του μια απόδειξη ντόπινγκ, αλλά μια ένδειξη που θα πρέπει να προωθήσει την περαιτέρω διερεύνηση, συμπεριλαμβανομένης της επαναλαμβανόμενης επανεξέτασης χωρίς προειδοποίηση του αθλητή.

Τέλος υπάρχουν ουσίες που θα μπορούσαν να μειώσουν την αναλογία T/E όπως η Επιτεστοστερόνη και πεπτικές ορμόνες όπως οι γοναδοτροπίνες πρόβλημα που αντιμετωπίστηκε γρήγορα με την προσθήκη των πιθανών παραγόντων κάλυψης ή των ρυθμιστών τιμών του λόγου T/E στη λίστα των απαγορευμένων ουσιών. [159] [160] [161] [162]

Αέρια Χρωματογραφία με Καύση και Φασματογραφία Μάζας Λόγου Ισοτόπων

Ο λόγος T/E στην απόδειξη χρήσης ενδογενών παραγόμενων στεροειδών παρουσίαζε κάποιες αδυναμίες. Η λύση σε αυτό το πρόβλημα δόθηκε με την εισαγωγή της αέριας χρωματογραφίας με καύση και φασματογραφία μάζας λόγου ισοτόπων (Gas chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry, GC-C-IRMS).

Φασματογραφία Μάζας Σταθερών Ισοτόπων

Τα ισότοπα ορίζονται ως άτομα ενός στοιχείου που διαφέρουν ως προς τον αριθμό των νετρονίων που υπάρχουν στους πυρήνες τους, δηλαδή έχουν διαφορετικούς αριθμούς μάζας. Όλα τα στοιχεία εκτός από 12 υπάρχουν ως μείγματα ισοτόπων. Κάθε στοιχείο έχει ένα κυρίαρχο ισότοπο (π.χ. ^{12}C (άνθρακας), ^{14}N (άζωτο), ^{16}O (οξυγόνο), ^{32}S (θείο) και ^1H (υδρογόνο)) και ένα ή δύο βαρέα ισότοπα (π.χ. ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{33}S , ^{34}S και ^2H) με φυσική αφθονία μερικών τοις εκατό ή μικρότερη.

Οι αναλογίες αυτών των ισοτόπων μετρώνται πάντα σε σχέση με ένα ισοτοπικό πρότυπο προκειμένου να εξαλειφθεί κάθε προκατάληψη ή συστηματικό σφάλμα στις μετρήσεις. Αυτά τα διεθνώς αναγνωρισμένα πρότυπα είναι το Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB) για άνθρακα, Vienna Canyon Diablo Troilite (V-CDT) για θείο, Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW) για οξυγόνο και υδρογόνο και αέρας του εργαστηρίου για το άζωτο.

Μέτρηση Ισοτοπικής Αναλογίας - Τιμές δ

Οι λόγοι ισοτόπων των δειγμάτων ενδιαφέροντος μετρώνται σε σχέση με τα πρότυπα και αναφέρονται στον συμβολισμό δέλτα, δ:

$$\delta = \frac{(R(\text{Δείγματος}) - R(\text{Προτύπου}))}{R(\text{Προτύπου})} * 1000$$

Το $R_{\text{Δείγματος}}$ είναι η αναλογία του βαρέως προς το ελαφρύ ισότοπο που μετράται για το δείγμα και το $R_{\text{Προτύπου}}$ είναι η ισοδύναμη αναλογία για το πρότυπο. Είναι μια σχετική μέτρηση που γίνεται συνήθως σε σχέση με το υλικό αναφοράς ενός εργαστηρίου, που είναι γνωστό ως πρότυπο εργασίας. Το πρότυπο εργασίας, με τη σειρά του, βαθμονομείται έναντι ενός διεθνούς προτύπου.

Σε αναλύσεις ισοτόπων φυσικής αφθονίας, η έμφαση δίνεται στη σχετική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων που αναλύονται υπό τις ίδιες συνθήκες, σε αντίθεση με τις ακριβείς τιμές που λαμβάνονται. Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα της προσέγγισης σχετικής μέτρησης είναι η ακρίβεια. Τα σφάλματα είναι γενικά σημαντικά μικρότερα καθώς μια σχετική μέτρηση έχει λιγότερες πηγές σφάλματος από έναν απόλυτο προσδιορισμό.

Γενικά, οι τιμές δ αναφέρονται σε ένα διεθνώς αναγνωρισμένο πρότυπο που ορίζεται αυθαίρετα στο 0‰). Μια αρνητική τιμή δ υποδεικνύει ότι το δείγμα είναι ελαφρύ στο βαρύ ισότοπο σε σχέση με το πρότυπο. Μια θετική τιμή δείχνει ότι το δείγμα είναι ισοτοπικά βαρύ ή εμπλουτισμένο στο βαρύ ισότοπο σε σχέση με το πρότυπο.

Ισοτοπική Διαφοροποίηση

Φυσικές παραλλαγές εμφανίζονται στην ισοτοπική σύνθεση των ελαφρύτερων στοιχείων. Αυτές οι διακυμάνσεις οφείλονται σε φαινόμενα διαφοροποίησης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ειδικών τιμών αναλογίας ισοτόπων που είναι χαρακτηριστικές της προέλευσης, της καθαρότητας και των διαδικασιών παραγωγής των προϊόντων και των συστατικών τους.

Ένα παράδειγμα σημαντικού φαινομένου διαφοροποίησης είναι αυτό που οδηγεί σε επιλεκτική ενσωμάτωση ^{12}C στην οργανική ύλη κατά τη φωτοσύνθεση. Τα ζωντανά φυτά αφομοιώνουν το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) της ατμόσφαιρας κατά τη φωτοσύνθεση. Ο βαθμός διαφοροποίησης εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ειδικής φωτοσυνθετικής οδού που χρησιμοποιείται για την ενσωμάτωση του άνθρακα, του ρυθμού διάχυσης του διοξειδίου του άνθρακα στο φυτό και της ποσότητας μεταβολικού άνθρακα που είναι διαθέσιμος.

Η σύνθεση του CO_2 του περιβάλλοντος ποικίλλει ανάλογα με τις φωτοσυνθετικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα, είτε είναι πάνω από τη γη ή τον ωκεανό, καθώς και με τη θερμοκρασία. Τα φυτά μπορούν να αφομοιώσουν CO_2 μέσω ενός φωτοσυνθετικού κύκλου C3 (Calvin), C4 (HatchSlack) ή CAM (Crassulacean Acid Metabolism). Περίπου το 85% των φυτικών ειδών ακολουθεί το μονοπάτι C3. Τα φυτά C3 (σιτάρι, σίκαλη, βαμβάκι) έχουν γενικά ισοτοπικές τιμές στην περιοχή από 22 έως

30%. Τα φυτά C 4 (ζαχαροκάλαμο, ζάχαρη, τροπικά φυτά, φυτά της ερήμου και των θαλάσσιων φυτών) έχουν γενικά ισοτοπικές τιμές στην περιοχή από 10 έως 18 ‰. Τα φυτά C4 και CAM είναι εμπλουτισμένα σε ^{13}C σε σύγκριση με τα φυτά C3.

Αέρια Χρωματογραφία Στην IRMS (GC/C/IRMS)

Υπάρχουν πέντε κύρια τμήματα ενός οργάνου IRMS: ένα σύστημα εισαγωγής δειγμάτων, μια πηγή ιονισμού ηλεκτρονίων, ένας αναλυτής μαγνητικού τομέα, μια συστοιχία ανιχνευτών συλλέκτη Faraday και ένα σύστημα συλλογής δεδομένων ελεγχόμενο από υπολογιστή. Πραγματοποιώντας έναν διαχωρισμό πριν από την ανάλυση αναλογίας ισοτόπων, τεχνικές όπως η GC-IRMS μπορούν να παρέχουν ισοτοπική ανάλυση ενός πολύπλοκου μείγματος, παρέχοντας έτσι πρόσθετες πληροφορίες και μεγαλύτερη διακριτική ισχύ. Τα όργανα IRMS απαιτούν μια σταθερή ροή ενός σταθερού αερίου (όπως το CO_2) για ακριβή ανάλυση.

Αέριος χρωματογράφος (GC). Διαχωρίζει εκ των προτέρων τις οργανικές ενώσεις (μόρια) ανάλογα με την πτητικότητά τους (που καθορίζεται πρώτα από τη μοριακή μάζα και τις λειτουργικές ομάδες). Είναι σημαντικό η αναλυόμενη ουσία να είναι κατάλληλη για GC, δηλαδή να είναι επαρκώς πτητική και θερμικά σταθερή. Οι εξαιρετικά πολικές ενώσεις μπορεί να απαιτούν περαιτέρω χημική τροποποίηση (παραγωγοποίηση) και στη συνέχεια πρέπει να προσδιοριστεί και η σχετική σταθερή αναλογία ισοτόπων του παράγοντα παραγωγοποίησης. Οι διαχωρισμένες ενώσεις που μεταφέρονται από το φέρον αέριο (συνήθως He) εκκλύονται σε διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης, καθιστώντας έτσι τα μόρια και τα στοιχεία σε αυτά χωριστά αναλύσιμα.

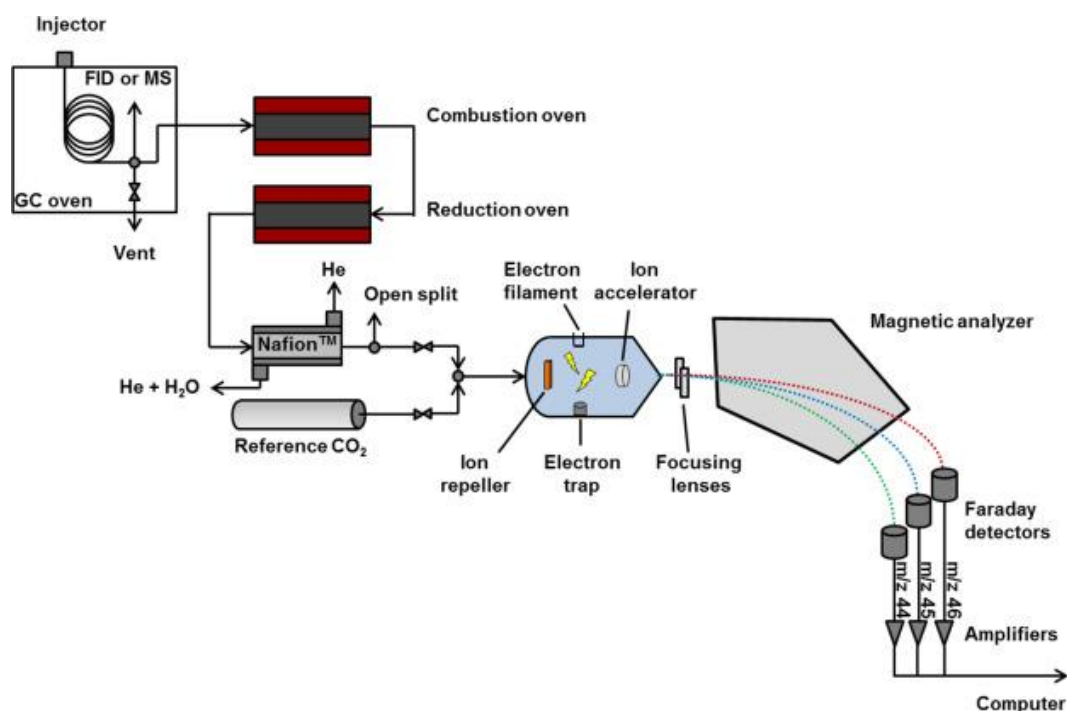
Θάλαμος Οξείδωσης (Καύσης). Το δείγμα εκλύεται πρώτα από τη στήλη GC σε ένα θάλαμο οξείδωσης, που συνήθως στεγάζεται στο πλάι του φούρνου GC. Ο θάλαμος οξείδωσης είναι συνήθως ένας μη πορώδης σωλήνας αλουμίνιας που περιέχει τρία ξεχωριστά στριμμένα σύρματα από χαλκό, νικέλιο και πλατίνα. Τα δείγματα καίγονται σε υψηλές θερμοκρασίες σε συνδυασμό αερίων όπως CO_2 , NO_x και H_2O .

Θάλαμος Αναγωγής. Για μετρήσεις $\delta^{13}\text{C}$, το δείγμα που καίγεται στη συνέχεια μεταφέρεται σε θάλαμο αναγωγής όπου τα οξείδια του αζώτου μετατρέπονται σε N_2 και τυχόν περίσσεια O_2 αφαιρείται. Δεδομένου ότι τα CO_2 , NO_x και H_2O δεν θα συμπυκνωθούν σε θερμοκρασία δωματίου, η γραμμή μεταφοράς από τον θάλαμο οξείδωσης στον θάλαμο αναγωγής δεν χρειάζεται να θερμανθεί. Η καύση οργανικών ειδών παράγει H_2O ως κύριο υποπροϊόν, και NO_x και SO_x ως δευτερεύοντα υποπροϊόντα εάν υπάρχουν οργανικά N και S. Τα NO_x και SO_x είναι διαβρωτικά στο φασματομέτρο μάζας, αλλά το πιο σημαντικό το NO_2^+ είναι μια ισοβαρική παρεμβολή με $^{12}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}^+$ σε m/z 46. Η εξάλειψη αυτών των ειδών με αναγωγή επιτυγχάνεται με τη διέλευση των αερίων της καύσης πάνω από το στοιχειακό Cu στους 500 – 700 °C. Αυτό το βήμα μερικές φορές παραλείπεται όταν οι αναλυτές περιέχουν λίγο ή καθόλου N και S.

Απομακρυνση Νερού. Για να αποφευχθεί η πρωτονιοποίηση του CO_2 από το H_2O στην πηγή MS – και η πρόκληση επιβλαβούς ισοβαρικής παρεμβολής $^{12}\text{CO}_2\text{H}^+$ με την κορυφή $^{13}\text{CO}_2^+$ σε m/z 45 – το ρεύμα της αναλυόμενης ουσίας διέρχεται από μια ημιπερατή μεμβράνη όπως το Nafion[®]. Χρησιμοποιείται μια αντίθετη ροή ξηρού ηλίου για την αφαίρεση του H_2O . Απενεργοποιημένα τριχοειδή τηγμένης πυριτιά χρησιμοποιούνται για να περιοριστεί η ροή της αναλυόμενης ουσίας στους απαιτούμενους ρυθμούς ροής.

Σύστημα διεπαφής. Χρησιμοποιεί ηλεκτρονικά ελεγχόμενους πνευματικούς ενεργοποιητές για εναλλαγή της ροής του ρεύματος εκροής μεταξύ αυτής της αναλυόμενης ουσίας και εκείνης ενός αερίου αναφοράς, όπως ένας κύλινδρος με αέριο CO_2 .

Ανιχνευτής IRMS. Τα αφυδατωμένα αέρια από το σύστημα καύσης ταξιδεύουν στον ανιχνευτή IRMS και υποβάλλονται σε ιονισμό κρούσης ηλεκτρονίων και σε έναν επόμενο μαγνητικό τομέα ή ηλεκτρομαγνητικό αναλυτή, εκτρέποντας τα παραγόμενα ιόντα κατά μοριακό βάρος για να ανιχνευθούν στη συνέχεια με ακριβή τοποθέτηση των κυπέλλων Faraday. Για τον άνθρακα, υπάρχουν 3 κύπελλα ανίχνευσης Faraday που παρακολουθούν τα διάφορα ισοτόπολογα του CO_2 , συγκεκριμένα, m/z 44 ($^{12}\text{C} \ ^{16}\text{O} \ ^{16}\text{O}$), m/z 45 ($^{13}\text{C} \ ^{16}\text{O} \ ^{16}\text{O}$ και $^{12}\text{C} \ ^{17}\text{O} \ ^{16}\text{O}$) και m/z 46 ($^{12}\text{C} \ ^{18}\text{O} \ ^{16}\text{O}$).



Εικόνα 24 Διάγραμμα λειτουργίας Αέριας Χρωματογραφίας με Φασματογραφία Μάζας Σταθερών Ισοτόπων.

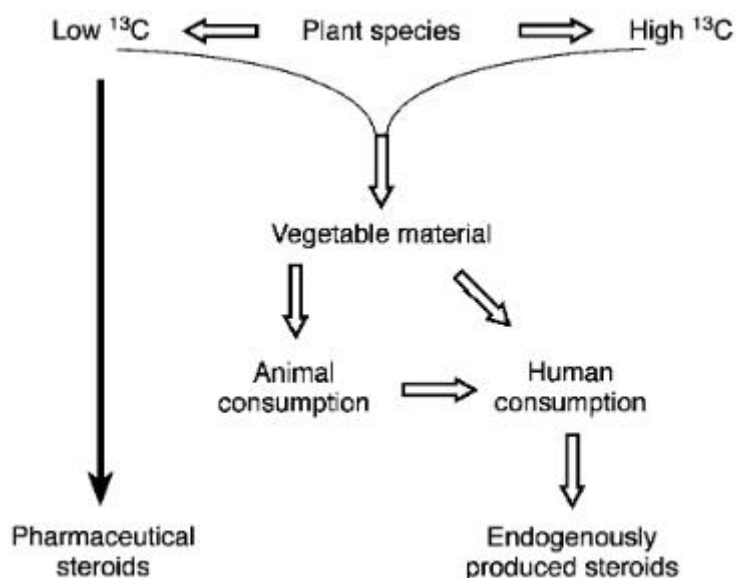
Χρήση IRMS στην ανίχνευση χορήγησης συνθετικής τεστοστερόνης

Με τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε ^{13}C των ανδρογόνων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ελέγχου αντιντόπινγκ, μπορεί να επιτευχθεί διαφοροποίηση μεταξύ ενδογενούς και συνθετικής τεστοστερόνης και επιτεστοστερόνης. Αυτή η διαδικασία θεωρείται η πιο αποτελεσματική προσέγγιση για τον εντοπισμό ντόπινγκ ανδρογόνων.

Η συνθετική τεστοστερόνη δεν παράγεται από την αρχή. Οι κατασκευαστές φαρμακευτικών προϊόντων εκτελούν μερική σύνθεση κατά την οποία μια πρόδρομη φυτική ένωση, συνήθως από σόγια (C_3 φυτό), μετατρέπεται σε τεστοστερόνη σε λίγα βήματα. Η φυτική ένωση έχει διαφορετική αναλογία ισοτόπων άνθρακα από την ανθρώπινη τεστοστερόνη.

Αυτό δημιουργεί μια φυσική ισοτοπική επισήμανση, μειώνοντας τις τιμές $\delta^{13}\text{C}$ του συνθετικού στεροειδούς (στην περιοχή από -26 έως -33%) σε σύγκριση με τα φυσικά παραγόμενα από τον άνθρωπο στεροειδή που εξαρτώνται κυρίως από τη διατροφή των ατόμων (που κυμαίνεται από -18 έως -25%). Για να γίνει πιο αντικειμενική η αξιολόγηση των δεδομένων, οι τιμές δέλτα των επιλεγμένων ενώσεων-στόχων δηλ. τεστοστερόνη και οι πρόδρομοι/μεταβολίτες της συγκρίνονται με αυτές των ενδογενών ενώσεων αναφοράς (πχ πρεγνανεδιόλη) σε υψηλότερα στάδια του ανθρώπινου μεταβολισμού, που δεν επηρεάζονται από εξωγενής χορήγηση ενδογενών στεροειδών.

Σύμφωνα με τις οδηγίες του WADA, μια διαφορά $\Delta \delta^{13}\text{C}$ $3,0\%$ ή περισσότερο μεταξύ των τιμών $\delta^{13}\text{C}$ των μεταβολιτών τεστοστερόνης και των ενδογενών ενώσεων αναφοράς είναι σύμφωνη με τη χορήγηση εξωγενών στεροειδών. [163] [164] [165] [166] [167]



Εικόνα 25 Ισοτοπική Διαφοροποίηση μεταξύ συνθετικής τεστοστερόνης και ενδογενούς παραγόμενης τεστοστερόνης.

Βιοδοκιμές Για Ανίχνευση Φυσικών Και Συνθετικών Ανδρογόνων

Στην αγορά αθλητικών συμπληρωμάτων διατροφής, υπάρχουν συμπληρώματα που περιέχουν ανδρογόνα, συνθετικά ανδρογόνα ή προανδρογόνα. Πολλά από αυτά δεν μπορούν να ανιχνευθούν με τις τυπικές μεθόδους διαλογής υψηλής ευαισθησίας, όπως η αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας, επειδή η χημική τους δομή είναι άγνωστη. Ωστόσο, οι *in vitro* βιοδοκιμασίες ανδρογόνων μπορούν να ανιχνεύσουν συνθετικά στεροειδή και προανδρογόνα, καθώς αυτές οι δοκιμασίες δεν βασίζονται στη γνώση της χημικής δομής, αλλά βασίζονται στην ενεργοποίηση υποδοχέα ανδρογόνων.

Γονίδια Αναφοράς (Reporter Genes)

Τα γονίδια αναφοράς έχουν γίνει ένα ανεκτίμητο εργαλείο στις μελέτες γονιδιακής έκφρασης. Η τεχνολογία γονιδίων αναφοράς χρησιμοποιείται ευρέως για την παρακολούθηση των κυτταρικών συμβάντων που σχετίζονται με τη μεταγωγή σήματος και την έκφραση γονιδίων. Με βάση το μάτισμα των μεταγραφικών στοιχείων ελέγχου σε μια ποικιλία γονιδίων αναφοράς (με εύκολα μετρήσιμους φαινότυπους), «αναφέρει» τα αποτελέσματα μιας σειράς γεγονότων σηματοδότησης στη γονιδιακή έκφραση μέσα στα κύτταρα.

Το κύριο πλεονέκτημα αυτών των δοκιμασιών είναι η υψηλή ευαισθησία, η αξιοπιστία, η ευκολία και η προσαρμοστικότητά τους σε μετρήσεις μεγάλης κλίμακας. Χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιοϊατρική και φαρμακευτική έρευνα, καθώς και στη μοριακή βιολογία και τη βιοχημεία.

Ένα γονίδιο αποτελείται από δύο λειτουργικά μέρη, το ένα είναι μια αλληλουχία DNA που δίνει τις πληροφορίες για την πρωτεΐνη που παράγεται (περιοχή κωδικοποίησης).

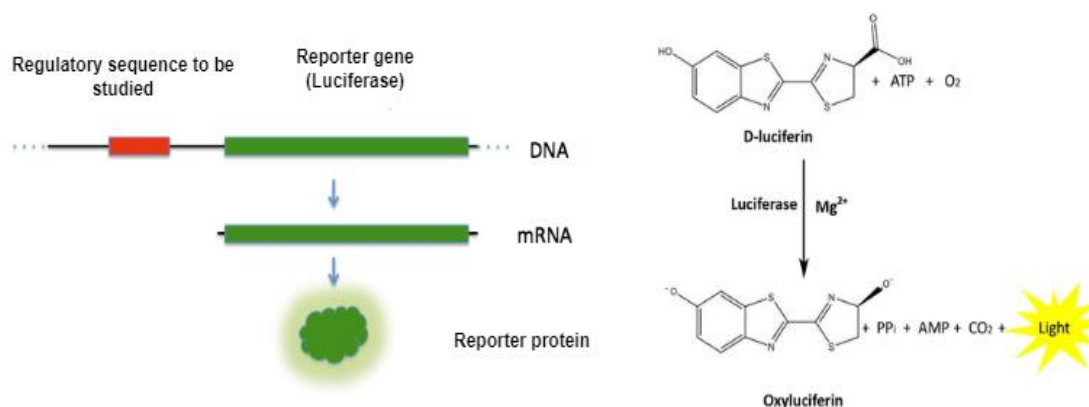
Το άλλο μέρος είναι μια συγκεκριμένη αλληλουχία DNA που συνδέεται με την κωδικεύουσα περιοχή και ρυθμίζει τη μεταγραφή του γονιδίου (προαγωγέας). Ο προαγωγέας είτε ενεργοποιεί είτε καταστέλλει την έκφραση του γονιδίου.

Ένα γονίδιο αναφοράς είναι αυτό που κωδικοποιεί ένα προϊόν που είναι εύκολο να μετρηθεί. Αυτά τα γονίδια χρησιμοποιούνται συχνά σε καταστάσεις στις οποίες το προϊόν κάποιου γονιδίου ενδιαφέροντος είναι δύσκολο να προσδιοριστεί ποσοτικά. Χρησιμοποιούνται για να αντικαταστήσουν άλλες κωδικοποιητικές περιοχές των οποίων τα πρωτεϊνικά προϊόντα είναι δύσκολο να προσδιοριστούν.

Η πιο τυπική χρήση ενός γονιδίου αναφοράς είναι η ανάλυση του τρόπου με τον οποίο ρυθμίζεται ένα γονίδιο. Ας θεωρήσουμε ότι ένα τυπικό γονίδιο αποτελείται από μια ρυθμιστική περιοχή, που βρίσκεται ανοδικά (upstream) του σημείου έναρξης της μεταγραφής, και μια δομική περιοχή, συμπεριλαμβανομένου του ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης και οποιωνδήποτε 5' ή 3' μη μεταφρασμένων περιοχών (UTR's)

Το γονίδιο αναφοράς θα συνδέεται τυπικά στη ρυθμιστική περιοχή, χρησιμοποιώντας μεθόδους ανασυνδυασμένου DNA, κάνοντας μια σύντηξη. Σε αυτή τη διάταξη, οτιδήποτε επηρεάζει συνήθως την έκφραση του φυσικού γονιδίου θα επηρεάσει επίσης την έκφραση του γονιδίου αναφοράς. Ο σκοπός της ανάλυσης γονιδίου αναφοράς είναι να μετρήσει το ρυθμιστικό δυναμικό μιας άγνωστης αλληλουχίας DNA.

Αυτό μπορεί να γίνει συνδέοντας μια αλληλουχία προαγωγέα με ένα εύκολα ανιχνεύσιμο γονίδιο αναφοράς όπως αυτό που κωδικοποιεί τη λουσιφεράση της πυγολαμπίδας. Εάν το σύστημα αναφοράς επιλεγεί σωστά, τότε το επίπεδο έκφρασης του γονιδίου αναφοράς θα συσχετιστεί με τη μεταγραφική δραστηριότητα των εισαγόμενων διαγονιδιακών παραγόντων. Προκειμένου να διασφαλιστεί ένας τέτοιος συσχετισμός, είναι σημαντικό το γονίδιο αναφοράς να μην διαταράσσει τον μεταβολισμό των μετασχηματισμένων κυττάρων και ότι το γονίδιο δεν εκφράζεται ενδογενώς από τα κύτταρα-στόχους δημιουργώντας σήματα υποβάθρου.



Εικόνα 26 Διάγραμμα τεχνικής με γονίδιο αναφοράς (Reporter Gene) μαζί με την χημική αντίδραση εκπομπής φωτός από την Λουσιφεράση με υπόστρωμα Λουσιφερίνης.

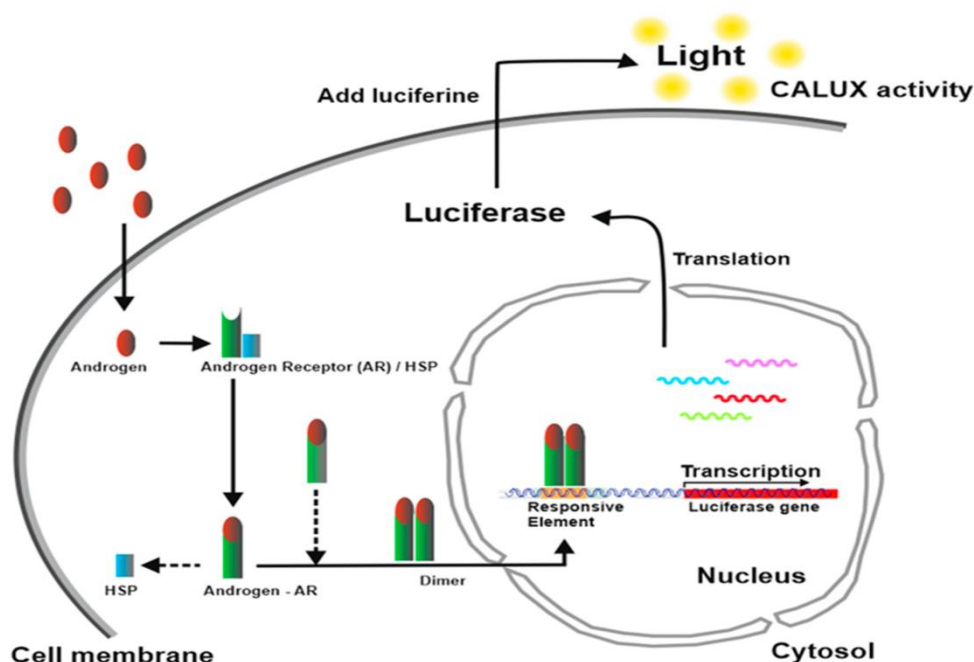
Η Μέθοδος AR-CALUX

Η μέθοδος AR-CALUX (Androgen Receptor-Chemically Activated LUciferase eXpression) in-vitro αναπτύχθηκε από την εταιρεία BioDetection Systems B.V. (BDS) για τον προσδιορισμό των αγωνιστικών ή ανταγωνιστικών ιδιοτήτων των χημικών ουσιών.

Η AR-CALUX είναι μια δοκιμασία in vitro βασισμένη σε ανθρώπινη κυτταρική σειρά (κυτταρική σειρά ανθρώπινου οστεοσάρκωματος U2-OS), η οποία παρέχει πληροφορίες σχετικά με την ικανότητα των χημικών ουσιών να ενεργοποιούν τον ανθρώπινο υποδοχέα ανδρογόνου, οδηγώντας σε μεταγραφή. Η κυτταρική σειρά εκφράζει συστατικά τον ανθρώπινο υποδοχέα ανδρογόνου (hAR, human androgen receptor).

Το ενεργοποιημένο hAR μετατοπίζεται στον πυρήνα, δεσμεύεται στα αποκρινόμενα στοιχεία μετά από τα οποία το κύτταρο παράγει λουσιφεράση ως απόκριση. Η ποσότητα της λουσιφεράσης μπορεί να προσδιοριστεί προσθέτοντας το υπόστρωμα λουσιφερίνη και μετρώντας την ποσότητα φωτός που παράγεται.

Η ποσότητα του φωτός είναι ευθέως ανάλογη με την ποσότητα δέσμευσης και ενεργοποίησης hAR. Αυτή η κυτταρική σειρά έχει αναφερθεί ότι εκφράζει σταθερά τον ανθρώπινο υποδοχέα ανδρογόνου και ότι είναι εξαιρετικά επιλεκτική στην απόκρισή της σε χαμηλά επίπεδα διαφορετικών ανδρογόνων. [168] [169] [170] [171] [172]



Εικόνα 27 Διάγραμμα των βιοαναλύσεων AR CALUX με ανθρώπινες κυτταρικές σειρές U2-OS με ενσωματωμένο ένα τεχνητό τμήμα DNA γονιδίου αναφοράς Λουσιφεράσης ελεγχόμενο από ανδρογόνο.

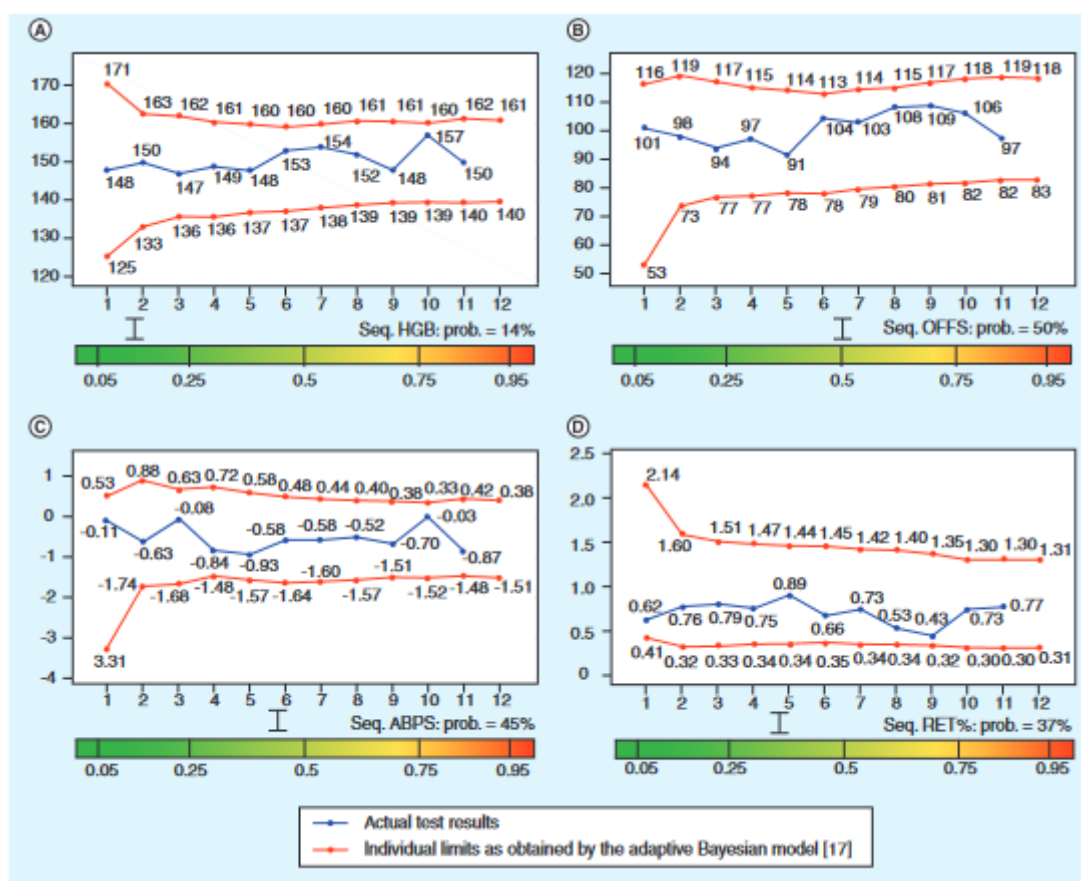
4.3 Ντόπινγκ Αίματος

Ντόπινγκ αίματος γίνεται συνήθως από τους αθλητές για την αύξηση της ικανότητας μεταφοράς οξυγόνου και κατά συνέπεια της αντοχής τους. Η ερυθροποιητίνη (EPO) είναι μια φυσική γλυκοπρωτεΐνη που είναι απαραίτητη για τη ρύθμιση της αιμοποίησης (σχηματισμός ερυθρών αιμοσφαιρίων). Η ανασυνδυασμένη ανθρώπινη EPO έγινε διαθέσιμη για τη θεραπεία της αναιμίας, αλλά γρήγορα έγινε κατάχρηση από ορισμένους αθλητές για να αυξήσουν τα επίπεδα στο αίμα τους. Η ανίχνευση της ανασυνδυασμένης EPO είναι εξαιρετικά δύσκολη λόγω της πολύ παρόμοιας δομής και σύστασής της με την φυσικώς απαντώμενη EPO και των πολύ χαμηλών επιπέδων που βρίσκονται στο αίμα και ιδιαίτερα στα ούρα.

Μια αναλυτική τεχνική για την διαφοροποίηση των ισόμορφων της ανθρώπινης EPO από αυτές της ανασυνδυασμένης EPO συνδυάζει υπερδιήθηση, ισοηλεκτρική εστίαση και διπλή κηλίδα με ανίχνευση χημειοφωταύγειας. Η εμφάνιση άλλων παραγόντων ερυθροποίησης (Erythropoiesis-stimulating agents, ESAs) που παρατείνουν τον βιολογικό χρόνο ημιζωής του φαρμάκου, οδήγησε την ανάπτυξη μιας συμπληρωματικής τεχνικής, συμπεριλαμβανομένων των SDS-PAGE και SAR-PAGE. Αυτές οι ηλεκτροφορητικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση μορφών EPO, συμπεριλαμβανομένων εκείνων όπου η πεπτιδική ραχοκοκαλιά της

ΕΡΟ έχει τροποποιηθεί και είναι υπεργλυκοσυλιωμένη ή έχει συζευχθεί με πολυαιθυλενογλυκόλη.

Το ποσοστό επιτυχίας στην ανίχνευση ντόπινγκ αίματος έχει θεωρηθεί μέτριο, καθώς έχει αναφερθεί σχετικά χαμηλός αριθμός περιπτώσεων ετησίως παρά τις προσπάθειες βελτίωσης των αναλυτικών μεθόδων. Τα προβλήματα ανίχνευσης αυτών των ουσιών είναι, οι μικρές δόσεις των ESA που χρησιμοποιείται τώρα συχνά από τους αθλητές, το σύντομο παράθυρο ανίχνευσης για ανασυνδυασμένη ΕΡΟ και η ανεπαρκής ευαισθησία των αναλυτικών μεθόδων που είναι διαθέσιμες. Επί του παρόντος, δεν υπάρχει επικυρωμένη μέθοδος για την ανίχνευση απευθείας αυτόλογων μεταγγίσεων αίματος. Ωστόσο, η εισαγωγή της ενότητας αίματος του βιολογικού διαβατηρίου του αθλητή βοηθάει πολύ στον εντοπισμό περιπτώσεων ντόπινγκ. [173] [174] [175]



Εικόνα 28 Καταγραφή τιμών διάφορων βιολογικών παραμέτρων ενός αθλητή κατά την διάρκεια των ελέγχων αντιντόπινγκ και υπολογισμός των προβλεπόμενων τιμών απο το λογισμικό του Βιολογικού Διαβατηρίου.

4.4 Προσδιορισμός Συνθετικής Αυξητικής Ορμόνης

Η ανίχνευση της κατάχρησης ανασυνδυασμένης ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης (rhGH, recombinant Growth Hormone) στον αθλητισμό παραμένει μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στον έλεγχο του ντόπινγκ.

Η ανίχνευση της rhGH είναι δύσκολη, ειδικά επειδή η αλληλουχία αμινοξέων της rhGH είναι πανομοιότυπη με την κύρια ισομορφή 22kDa της hGH που εκκρίνεται φυσιολογικά από την υπόφυση.

Επιπλέον, ορισμένες φυσιολογικές ιδιότητες της έκκρισης hGH εμποδίζουν επίσης την ανάπτυξη ενός τεστ ντόπινγκ: εκκρίνεται με παλμικό τρόπο, έχει πολύ μικρό χρόνο ημιζωής στην κυκλοφορία, γεγονός που οδηγεί σε εξαιρετικά μεταβλητά επίπεδα ορού.

Επομένως η συγκέντρωση από μόνη της δεν μπορεί να αποδείξει την εξωγενή χορήγηση hGH. Η ανάγκη για την επιβεβαίωση χρήσης της επομένως οδήγησε στην ανάπτυξη της τεχνικής προσδιορισμού των ισομορφών της αυξητικής Ορμόνης (Isoform Differential Immunoassays).

Ανοσοπροσδιορισμός ELISA

Ο Προσδιορισμός με Ανοσοπροσρόφηση Δεσμευμένου Ενζύμου ((Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA) είναι μια μοριακή τεχνική για την ανίχνευση της αλληλεπίδρασης αντιγόνου -αντισώματος με τη βοήθεια ενός ενζύμου.

Η ELISA χρησιμοποιεί ένα ενζυμικό σύστημα για την ποσοτικοποίησή ενός συγκεκριμένου συνδυασμού, ενός αντιγόνου με το αντίσωμά του. Το αντιγόνο ή το αντίσωμα επικαλύπτεται σε μια στερεή επιφάνεια όπως σε έναν πλαστικό σωλήνα ή φρεάτιο μιας πλάκας μικροτιτλοδότησης. Έτσι, αφού το αντιγόνο και το αντίσωμα έχουν συνδυαστεί (σχηματίζεται σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος) παραμένουν σταθερά προσκολλημένα σε μια στερεή επιφάνεια κατά τη διάρκεια των επόμενων σταδίων πλύσης.

Μετά την αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος, προστίθεται χρωμογόνο υπόστρωμα ειδικό για το ένζυμο (διυδροχλωρική ο-φαινυλοδιαμίνη για την υπεροξειδάση, φωσφορικός π-νιτροφαινυλεστέρας για την αλκαλική φωσφατάση, κ.λπ.). Το υπόστρωμα επιδρά (συνήθως υδρολύεται) από ένα ένζυμο συνδεδεμένο στο σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος για να δώσει αλλαγή χρώματος. Το χρώμα στην αντίδραση μπορεί να διαβαστεί οπτικά ή η αντίδραση ανιχνεύεται με ανάγνωση της οπτικής πυκνότητας (εκτιμώμενη χρωματομετρικά) χρησιμοποιώντας έναν αναγνώστη πλακών μικροανάλυσης.

Συνήθως, παρασκευάζεται μια τυπική καμπύλη που βασίζεται σε γνωστές συγκεντρώσεις αντιγόνου ή αντισώματος από την οποία υπολογίζονται οι άγνωστες ποσότητες. Οι κατηγορίες ELISA είναι κυρίως η Άμεση ELISA (Direct ELISA), Έμμεση ELISA (Indirect ELISA), Σάντουιτς ELISA (Sandwich ELISA) και η Ανταγωνιστική ELISA (Competitive ELISA)

ELISA (Sandwich)

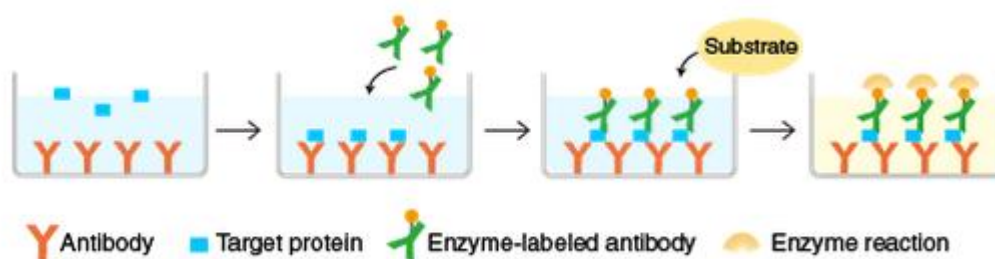
Η ELISA σάντουιτς ξεκινά με ένα αντίσωμα σύλληψης επικαλυμμένο στα φρεάτια της πλάκας. Ονομάζεται «σάντουιτς» επειδή τα αντιγόνα βρίσκονται ανάμεσα σε δύο στρώματα αντισωμάτων (αντισώματα σύλληψης και ανίχνευσης).

Μετά την προσθήκη του αντισώματος σύλληψης στις πλάκες, οι πλάκες στη συνέχεια καλύπτονται και επωάζονται όλη τη νύχτα στους 4°C. Μόλις ολοκληρωθεί το στάδιο επικάλυψης, οι πλάκες πλένονται με PBS (phosphate-buffered saline) και στη συνέχεια ρυθμίζονται/μπλοκάρονται με BSA (bovine serum albumin). Τέλος, η πλάκα πλένεται με PBS για άλλη μια φορά πριν προστεθεί το αντιγόνο.

Το αντιγόνο ενδιαφέροντος προστίθεται στις πλάκες για να συνδεθεί με το αντίσωμα σύλληψης και επωάζεται για 90 λεπτά στους 37°C. Η πλάκα πλένεται ξανά, και το πρωτογενές αντίσωμα ανίχνευσης προστίθεται στην πλάκα και επωάζεται για άλλες 1 έως 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, ακολουθούμενο από πλύση με ρυθμιστικό διάλυμα.

Στη συνέχεια προστίθεται το δευτερεύον συζευγμένο με ένζυμο αντίσωμα και επωάζεται για άλλες 1 έως 2 ώρες. Η πλάκα ξαναπλένεται και το υπόστρωμα προστίθεται για να προκαλέσει αλλαγή χρώματος.

Η σάντουιτς ELISA έχει την υψηλότερη ευαισθησία μεταξύ όλων των τύπων ELISA. Τα κύρια μειονεκτήματα αυτού του τύπου ELISA είναι ο χρόνος και το κόστος και η απαραίτητη χρήση ιδανικού ζεύγους (δισθενούς/πολυσθενούς αντιγόνου) και δευτερογενών αντισωμάτων. [176] [177]



Εικόνα 29 Στάδια ανοσοχημικής τεχνικής ELISA Sandwich

Διαφορικές Ανοσοδοκιμασίες Ισομορφών

Η ενδογενής hGH είναι στην πραγματικότητα μια ομάδα ισομορφών που εκφράζονται στην υπόφυση και απελευθερώνονται στην κυκλοφορία. Η ισομορφή των 22 kDa αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο μέρος της ανιχνεύσιμης κυκλοφορούσας αυξητικής ορμόνης (περίπου το 48% αντιστοιχεί στο μονομερές 22-kDa). Το δεύτερο πιο άφθονο (20 kDa, 9 %) είναι διαδοχικά πανομοιότυπο αλλά στερείται του τμήματος AA 32-46 και προέρχεται από εναλλακτικό μάτισμα. Άλλες λιγότερο άφθονες ισομορφές περιλαμβάνουν τροποποιήσεις όπως ακετυλίωση, αποαμίδωση, γλυκοζυλίωση, πρόσθετο μάτισμα, και μερικές μπορεί να παραχθούν επίσης μετά την έκκριση στην κυκλοφορία. Σε αντίθεση με την ενδογενή hGH, η οποία περιλαμβάνει

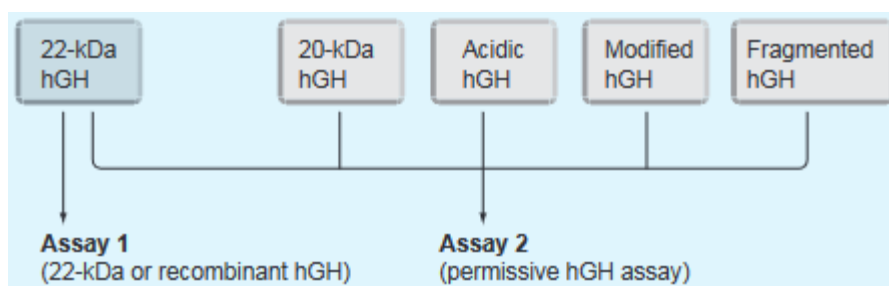
μια ποικιλία ισομορφών, η παραλλαγή rhGH αποτελείται από μόνο ένα μεμονωμένο είδος.

Ισομερή	%
Μονομερές 22 kDa	48
Μονομερές 20 kDa	9
Αποαμιδωμένες και ακυλιωμένες μορφές: μονομερη	5
Διμερή 22 kDa	20
Διμερή 20 kDa	7
Αποαμιδωμένες και ακυλιωμένες μορφές: διμερή	5
Ολιγομερή	13
Θραύσματα (17, 12, 5 και 30 kDa)	Μεταβλητό

Πίνακας 3 Σχετική αφθονία ισομορφών ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης σε κυκλοφορία.

Αυτό το γεγονός έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη διακριτών προσεγγίσεων στις οποίες ποσοτικοποιούνται διαφορετικές ισομορφές σε ένα μόνο δείγμα και η αναλογία τους χρησιμοποιείται στη συνέχεια για την αντιμετώπιση της παράβασης ντόπινγκ. Η βάση αυτής της τεχνικής είναι ότι κατά το ντόπινγκ με συνθετική αυξητική ορμόνη (ισομορφής 22 kDa) ο μηχανισμός ανάδρασης θα προκαλέσει εξάντληση όλων των ενδογενών ισομορφών, μεταβάλλοντας έτσι την αναλογία των ισομορφών σε ένα δεδομένο δείγμα. Από όλες τις παραλλαγές hGH που έχουν περιγραφεί, οι 2 που χαρακτηρίζονται καλύτερα είναι τα μόρια των 22 και 20 kDa, τα οποία μεταγράφονται με εκπληκτικά σταθερό ρυθμό περίπου 9 προς 1 (22 έναντι 20 kDa). Καθώς αυτό το φαινόμενο φαίνεται να είναι ανεξάρτητο από το φύλο, την ηλικία, την άσκηση, ακόμη και ορισμένες παθολογίες, έχει χρησιμοποιηθεί για σκοπούς κατά του ντόπινγκ.

Μια μεθοδολογία ανοσοδοκιμασίας ELISA τύπου Sandwich βασίζεται σε μια σχετική ποσοτικοποίηση της κύριας ισομορφής, δηλαδή της παραλλαγής των 22 kDa έναντι της συνολικής ποσότητας hGH. Αυτή η προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε για να αναπτύχθουν ανοσοπροσδιορισμοί που ονομάζεται rec για τα ειδικά αντισώματα hGH αντι-22-kDa και pit για τα επιτρεπτά μη ειδικά αντισώματα hGH. Η προσέγγιση rec αναμένεται να αναγνωρίσει κυρίως την αμετάβλητη ισομορφή των 22 kDa, ενώ η προσέγγιση pit πρέπει να περιλαμβάνει την επίδραση των άλλων ισομορφών χωρίς 22 kDa. Η αναλογία μεταξύ των δύο προσεγγίσεων αλλάζει ανάλογα με το αν ο αθλητής έχει λάβει rhGH (22 kDa) ή όχι (όλες οι ισομορφές υπάρχουν στις ενδογενείς συγκεντρώσεις τους). Τα εύρη με βάση τον πληθυσμό για κανονικές αναλογίες επιτρέπουν την ανίχνευση των ατόμων που τα υπερβαίνουν και έχουν κάνει κατάχρηση rhGH. [178] [179] [180]



Εικόνα 30 Τα Ισόμορφα Αυξητικής Ορμόνης που εντοπίζει κάθε Ανοσοδοκιμασία Ισομορφών.

Μεθοδολογία Εύρεσης Αναλογίας Ισομορφών (WADA)

Για την εξακρίβωση χρήσης συνθετικής αυξητικής ορμόνης από τους αθλητές, δύο ξεχωριστά κιτ (1 και 2, που παρέχονται από την CMZ-Assay GmbH, Γερμανία), χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση των ισομορφών της hGH για κάθε ανάλυση δείγματος. Οποιοδήποτε κιτ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διαδικασία αρχικής δοκιμής (Initial Testing Procedure, ITP), ενώ και το κιτ 1 και το κιτ 2 θα χρησιμοποιηθούν για τη διαδικασία επιβεβαίωσης (Confirmation Procedure, CP).

Κάθε κιτ περιέχει μία ανοσοδοκιμασία για την «συνθετική» αυξητική ορμονή και μία για αυτής της «υπόφυσης». Στην ανοσοδοκιμασία για την «συνθετική» (recGH), το επικαλυμμένο αντίσωμα σύλληψης συνδέεται κατά προτίμηση με τη μονομερή hGH 22-kDa που υπάρχει στα Δείγματα, ενώ στην ανοσοδοκιμασία «υπόφυσης» (pitGH) χρησιμοποιείται ένα αντίσωμα σύλληψης που αναγνωρίζει μια ποικιλία hGH ισομορφών που προέρχεται από την υπόφυση. Οι αντίστοιχες αναλύσεις αναφέρονται ως «rec1», «pit1», «rec2» και «pit2». Ένα πέμπτο μονοκλωνικό αντίσωμα χρησιμοποιείται σε όλα τα κιτ ως αντίσωμα ανίχνευσης. Το αποτέλεσμα της μεθόδου ελέγχου εκφράζεται ως η αναλογία των συγκεντρώσεων recGH / pitGH για κάθε συγκεκριμένο κιτ.

Η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων προτιμάται από την WADA ενώ, για κάθε πεπτιδική ορμόνη που μετράται, πρέπει να αναπτυχθούν τουλάχιστον δύο ανεξάρτητες αναλύσεις. Τουλάχιστον ένα αντίσωμα που συμβάλλει στην εξειδίκευση στις δοκιμασίες πρέπει να αντικατασταθεί από ένα άλλο αντίσωμα, το οποίο αναγνωρίζει το ίδιο μόριο αλλά συνδέεται με διαφορετικό επίτοπο.

Για τον προσδιορισμό του αναλυτικού αποτελέσματος, το Εργαστήριο συγκρίνει την αναλογία recGH/pitGH (εκφρασμένη σε δύο δεκαδικά ψηφία), που λαμβάνεται από τα μετρούμενα κλασμάτα των δειγμάτων και υπολογίζεται διαιρώντας τη μέση τιμή των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού recGH (συγκέντρωση recGH σε ng/mL, εκφρασμένη με τρία δεκαδικά ψηφία) με τη μέση τιμή των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας pitGH σε ng/mL, εκφρασμένη με τρία δεκαδικά ψηφία), με την αντίστοιχη οριακή τιμή για άνδρες και γυναίκες να έχει καθοριστεί για το κιτ δοκιμής που χρησιμοποιείται. Οι οριακές τιμές που θα χρησιμοποιηθούν είναι: Κιτ '1': Άνδρες (1,84); Γυναίκες (1,63) και Κιτ '2': Άνδρες (1,91); Γυναίκες (1,59).[181]

4.5 Επιμολύνσεις Συμπληρωμάτων Διατροφής Και Τροφίμων

Σύμφωνα με την πολιτική της WADA περί αυστηρής ευθύνης, ένας αθλητής είναι υπεύθυνος για τις ουσίες που βρίσκονται στα δείγματα ελέγχου ντόπινγκ του και οι παραβιάσεις των κανόνων αντιντόπινγκ συμβαίνουν ανεξάρτητα από την πρόθεσή του. Ωστόσο, οι διαδικασίες επιβολής ποινών είναι ευέλικτες για να ληφθούν υπόψη οι περιστάσεις, ώστε σαφείς αποδείξεις σχετικά με την προέλευση της ανιχνευόμενης απαγορευμένης ουσίας μπορούν ενδεχομένως να οδηγήσουν σε μειωμένες κυρώσεις.

Γενικά τα συμπληρώματα διατροφής ορίζονται ως μια τροφή, συστατικό τροφής, μια ένωση ή στοιχείο που προσλαμβάνεται σκόπιμα, επιπλέον της συνήθους διατροφής, με στόχο την επίτευξη διατήρησης της υγείας και/ή όφελος απόδοσης. Περιλαμβάνουν αθλητικές τροφές όπως αθλητικά ποτά και σκόνες πρωτεΐνης, μεμονωμένα θρεπτικά συστατικά με μέταλλα ή βιταμίνες και εργογονικά βοηθήματα (καφεΐνη, κρεατίνη) καθώς και υπερτροφές όπως διάφοροι σπόροι και εκχυλίσματα.

Ενώ η ασφάλεια, η καθαρότητα και η αποτελεσματικότητα των φαρμακευτικών προϊόντων ελέγχονται διεξοδικά και συνεχώς, δεν υπάρχουν ενιαίοι κανονισμοί και ποιοτικοί έλεγχοι για την παρασκευή συμπληρωμάτων διατροφής, με αποτέλεσμα μια εξαιρετικά μεταβλητή ποιότητα των διαθέσιμων σκευασμάτων. Επομένως, οι δοκιμές προϊόντων ή/και πρώτων υλών πρέπει να διεξάγονται με τεχνικές που έχουν όρια ανίχνευσης (LOD) στο εύρος χαμηλών ng/g ή μερών ανά δισεκατομμύριο (ppb). Τέτοιες ευαισθησίες είναι απαραίτητες για να ληφθούν υπόψη τα εξαιρετικά όρια ανίχνευσης των επί του παρόντος χρησιμοποιούμενων αναλυτικών μεθόδων σε ελέγχους αντιντόπινγκ αφού για πολλές ουσίες οποιαδήποτε ανιχνευόμενη ποσότητα συνιστά AAF με ορισμένα συμπληρώματα διατροφής να χορηγούνται σε σχετικά μεγάλες ποσότητες. Ακόμη και αν οι προκύπτουσες συγκεντρώσεις μιας απαγορευμένης ουσίας είναι πολύ χαμηλές για να έχουν οποιαδήποτε φυσιολογική επίδραση, μπορούν να προκαλέσουν AAF στον αθλητισμό

Αναβολικές Ουσίες Στα Συμπληρώματα Διατροφής

Στην μελέτη των Geyer H et al αγοράστηκαν 634 μη ορμονικά συμπληρώματα διατροφής από 215 εταιρείες που βρίσκονται σε 15 διαφορετικές χώρες. Συνολικά 57 από αυτούς τους κατασκευαστές πωλούσαν επίσης προορμόνες και το 45,6% των ελεγμένων προϊόντων προερχόταν από αυτούς τους προμηθευτές. Οι σκόνες, τα δισκία, τα υγρά και οι κάψουλες ομογενοποιήθηκαν, εκχυλίστηκαν, παραγωγοποιήθηκαν και τελικά αναλύθηκαν μέσω GC-MS. Από τα 634 προϊόντα που δοκιμάστηκαν, το 14,8% (94) βρέθηκε ότι περιέχει AAS που δεν δηλώθηκε στην ετικέτα σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0,01 και 190 μg/g. Ενώ το 21,1% των συμπληρωμάτων που αγοράστηκαν από εταιρείες που πωλούν επίσης προορμόνες βρέθηκαν θετικά, το 9,6% των προϊόντων που ελήφθησαν από τους υπόλοιπους προμηθευτές περιείχαν AAS. Η μελέτη επαναλήφθηκε αρκετά χρόνια αργότερα από τους Koehler K. et al και μόνο 4 (0,7%) από τα 597 συμπληρώματα διατροφής που

αναλύθηκαν μέσω GC-MS και LC-MS βρέθηκαν να περιέχουν μη επισημασμένο AAS, γεγονός που δείχνει ότι ο επιπολασμός των μολυσμένων προϊόντων έχει μειωθεί από το 2004. Αν και οι λόγοι για αυτό το φαινόμενο δεν έχουν αποδειχθεί, η αυξημένη ευαισθητοποίηση και, κατά συνέπεια, οι βελτιωμένες διαδικασίες παραγωγής ή/και οι έλεγχοι συμπληρωμάτων είναι πιθανές πτυχές που συνέβαλαν στην αλλαγή των εντοπισμένων μολύνσεων. [182][183]

Διεγερτικές Ουσίες Στα Συμπληρώματα Διατροφής

Τα διεγερτικά έχουν επίσης εντοπιστεί σε πολυάριθμα συμπληρώματα διατροφής και, παρόμοια με το AAS, έχουν περιγραφεί τόσο διασταυρούμενες μολύνσεις όσο και σκόπιμες προσμίξεις, οι τελευταίες ειδικά σε προϊόντα που προωθούνται για απώλεια βάρους και βελτίωση ενέργειας προκειμένου να επιτευχθούν γρήγορα αξιοσημείωτα αποτελέσματα. Επιπλέον, τα διεγερτικά που απαντώνται φυσικά σε φυτικό υλικό μπορεί να είναι προβληματικά για τους αθλητές, ιδίως καθώς το περιεχόμενο μπορεί να διαφέρει μεταξύ των ειδών και μπορεί να υπάρχουν διάφορες ονομασίες ουσίας και φυτών.

Πρόσφατα, ουσίες που μοιάζουν με αμφεταμίνη που προέρχονται από τη δομή της β-φαινυλαιθυλαμίνης (β-phenylethylamine) έχουν ανιχνευθεί σε συμπληρώματα διατροφής. Ειδικά, η β-μεθυλφαινυλαιθυλαμίνη (β-methylphenylethylamine, BMPEA), ένα ισομερές αμφεταμίνης, έχει βρεθεί σε συμπληρώματα διατροφής που φέρουν την ένδειξη ότι περιέχουν *Acacia rigidula*. Το *Acacia rigidula*, είναι ένα είδος μικρού δέντρου ιθαγενές στο νότιο και δυτικό Τέξας και ορισμένες περιοχές του Μεξικού. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α (Food and Drug Administration, FDA), διαπίστωσε ότι το BMPEA δεν υπάρχει φυσικά στα τρόφιμα και δεν πληροί τον θεσμικό ορισμό ενός διατροφικού συστατικού. Επιπλέον, το BMPEA έχει ταξινομηθεί ως ψυχοτρόπο φάρμακο στη Νότια Κορέα και ως ουσία ντόπινγκ από τον Παγκόσμιο Οργανισμό κατά του Ντόπινγκ. Ο στόχος της μελέτης των Yun J et al 2017 ήταν να προσδιοριστεί εάν τα συμπληρώματα διατροφής περιείχαν αμφεταμίνη και ουσία παρόμοια με την αμφεταμίνη, συμπεριλαμβανομένης της β-φαινυλαιθυλαμίνης (β-PEA) και του BMPEA χρησιμοποιώντας LC-PDA και LC-MS/MS. Σε 10 από τα 110 δείγματα, εντοπίστηκαν παράνομα προστιθέμενες ενώσεις με ευρος ανιχνεύσης: β-PEA 1,4–122,0 mg/g και BMPEA 4,7–37,6 mg/g. [184]

Το διεγερτικό N,N-διμεθυλ-2-φαινυλπροπαν-1-αμίνη (N,N-dimethyl-2-phenylpropan-1-amine, NN-DMPPA) εντοπίστηκε στα δείγματα ούρων ελέγχου ντόπινγκ τεσσάρων αθλητών καθώς και σε ένα συμπλήρωμα διατροφής που διαφημίστηκε ως ενισχυτικό και το οποίο βρέθηκε ότι περιέχει αδρενεργικές αμίνες από την *Acacia rigidula* και καφεΐνη. [185]

Δύο AAF με το διεγερτικό επταμινόλη θα μπορούσαν να αποδοθούν στη χρήση συμπληρωμάτων για την καύση λίπους ή ενισχυτικό της προπόνησης που φέρουν επισήμανση ότι περιέχουν 2-αμινοϊσοεπτάνιο, το οποίο είναι εσφαλμένο συνώνυμο για το octodrine, ένα ψυχοδραστικό διεγερτικό του ΚΝΣ. Μετά την από του στόματος χορήγηση, το φάρμακο μετατρέπεται μεταβολικά σε επταμινόλη, αλλά καθώς η

χρήση και των δύο διεγερτικών απαγορεύεται στον αθλητισμό, αυτά τα ευρήματα είναι αρκετά για την τεκμηρίωση θετικού αποτελέσματος ντόπινγκ. [186]

Διουρητικά Στα Συμπληρώματα Διατροφής

Σε μια μελέτη του 2015 δύο αθλητές βρέθηκαν θετικοί στο διουρητικό chlorazaniil ένα παλιό φάρμακο που δεν καταγράφηκε ποτέ στις στατιστικές αντιντόπινγκ από τότε που θεωρήθηκαν τα διουρητικά ως παράγοντες ντόπινγκ το 1988. Και οι δύο αθλητές αρνήθηκαν τη χορήγηση του φαρμάκου αλλά δήλωσαν τη χρήση του Malarone, ενός φαρμάκου κατα της ελονοσίας που περιέχει 100 mg υδροχλωρικής προγουανίλης και 250 mg ατοβακουόνης. Αν και η ανάλυση των δισκίων Malarone δεν αποκάλυψε καμία μόλυνση με chlorazaniil, πρόσθετα πειράματα που διερεύνησαν πιθανή μεταβολική μετατροπή της προγουανίλης σε δομικά σχετικό διουρητικό έδειξαν ότι η χλωραζανίλη μπορεί να παραχθεί από τον μεταβολίτη της προγουανίλης N-(4-χλωροφαινυλ)-διγουανίδιο εάν είναι αυξημένα τα επίπεδα φορμαλδεΐδης—Όπως μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια της λήψης συμπληρωμάτων κρεατίνης—που υπάρχουν στα ούρα. Κατά συνέπεια και οι δυο αθλητές δεν θεωρήθηκαν ένοχοι για παραβίαση κανονισμών αντιντόπινγκ. [187]

Κατανάλωση Προϊόντων Κρέατος

Η κατανάλωση προϊόντων κρέατος μπορεί να οδηγήσει στην απέκκριση της 19-νορανδροστερόνης (NorA) στα ούρα των ανθρώπων. Στην έρευνα των Hülsemann, F et al προκειμένου να διερευνηθεί η πιθανότητα εμφάνισης NorA στα ούρα μετά την κατανάλωση κρέατος αγριόχοιρου, εξετάστηκαν δείγματα ανθρώπινων ούρων μετά την κατανάλωσή θηραμάτων που διατίθενται στο εμπόριο. Στους ανθρώπους, το NorA που μπορεί να βρεθεί φυσικά στα ούρα σε μικρές ποσότητες (<2 ng/ml), σχηματίζεται, για παράδειγμα, με απομεθυλίωση της ανδροστερόνης (A) και, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Το NorA μπορεί επίσης να σχηματιστεί στα ούρα με in situ μικροβιακή αποδόμηση της A. Επιπλέον, το NorA είναι ο κύριος μεταβολίτης στα ούρα της θεραπευτικής νορτεστοστερόνης (NT, νανδρολόνη) καθώς και των προορμονών όπως η 4-νορανδροστενεδιόλη, 5-νορανδροστενεδιόλη ή 4-νορανδροστενεδιόνη (NAED), που απαγορεύονται όλα στον αθλητισμό.

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν εννέα άνδρες εθελοντές και τρεις γυναίκες εθελόντριες. Ζητήθηκε από τους συμμετέχοντες να συλλέξουν ένα δείγμα ούρων πριν από το γεύμα και όλα τα δείγματα ούρων για μια περίοδο 24 ωρών μετά την κατανάλωση κρέατος. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους +4°C μέχρι την ανάλυση. Τα γεύματα που καταναλωθήκαν από τους εθελοντές δεν ελέγχθηκαν για περιεκτικότητα σε NorA ή σύνθεση ισοτόπου άνθρακα. Τα γεύματα παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας ποικίλες ποσότητες προϊόντων κρέατος αγριόχοιρου, με βάρος που κυμαίνονταν από 187 έως 491 g. Τα προϊόντα επιλέχθηκαν τυχαία και ελήφθησαν από κρεοπωλεία ή διαδικτυακούς διανομείς. Κάθε εθελοντής κατανάλωνε ένα γεύμα, με τον χρόνο και τα συνοδευτικά να είναι αυθαίρετα.

Δεν ανιχνεύθηκε NorA στα δείγματα ούρων που ελήφθησαν πριν από την κατανάλωσή του κρέατος αγριόχοιρου. Επομένως, η ενδογενής παραγωγή NorA των εθελοντών μπορεί να αποκλειστεί. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ανιχνεύσιμες ποσότητες NorA μπορεί να εμφανιστούν στα ανθρώπινα ούρα μετά την κατάποση κρέατος αγριόχοιρου και μπορεί να οδηγήσει σε δείγμα ύποπτο για ντόπινγκ ή ακόμα και θετικό αποτέλεσμα του ελέγχου. Ένα επιπλέον συμπέρασμα από αυτή την έρευνα είναι ότι ακόμα και με την φασματομετρία μάζας αναλογίας ισοτόπων (IRMS) που χρησιμοποιείται για τη διάκριση μεταξύ μιας ενδογενούς ή εξωγενούς προέλευσης της NorA, οι τιμές $\delta^{13}\text{C}$ του NorA πληρούν τα κριτήρια ενός αντικανονικού αναλυτικού ευρήματος (AAF) λόγω διαφορετικών πηγών τροφής του αγριόχοιρου και του καταναλωτή. [188]

ΚΛΕΝΒΟΥΤΕΡΟΛΗ

Ο συμπαθομιμητικός και αναβολικός παράγοντας κλενβουτερόλη έχει χρησιμοποιηθεί παράνομα ως αυξητικός παράγοντας στη ζωική παραγωγή. Ως αποτέλεσμα, το βρώσιμο κρέας είναι ιδιαίτερα άπαχο, αλλά βρέθηκε επίσης ότι είναι μολυσμένο με υπολείμματα κλενβουτερόλης, τα οποία μπορεί να αποτελέσουν κίνδυνο για την υγεία του καταναλωτή. Περιπτώσεις δηλητηρίασης από κλενβουτερόλη μετά από κατανάλωση κρέατος έχουν αναφερθεί από όλο τον κόσμο με συμπτώματα που όπως τρόμο, ταχυκαρδία, αίσθημα παλμών, υποκαλιαιμία, περιφερική αγγειοδιαστολή και – σε οξείες περιπτώσεις – διακοπές της αναπνοής. Επίσης κρέας μολυσμένο με κλενβουτερόλη μπορεί οδηγήσουν σε AAF στον αθλητισμό. Λόγω των αναβολικών και λιπολυτικών της επιδράσεων, η κλενβουτερόλη περιλαμβάνεται μεταξύ των αναβολικών παραγόντων στον Απαγορευμένο Κατάλογο του WADA και ως εκ τούτου απαγορεύεται τόσο εντός όσο και εκτός αγώνων.

Για να για να διερευνηθεί εάν η κλενβουτερόλη μπορεί να βρεθεί στα ανθρώπινα ούρα, ξεκίνησε μια μελέτη που περιελάμβανε 28 εθελοντές αθλητές και την συλλογή δειγμάτων ούρων μετά την επιστροφή τους από την Κίνα.

Από την ομάδα αθλητών λήφθηκαν τακτικά δείγματα ελέγχου ντόπινγκ εντός των επόμενων δύο ημερών. Όλα τα δείγματα ούρων περιείχαν χαμηλές ποσότητες (pg/ml) κλενβουτερόλης, εφιστώντας την προσοχή στην πιθανότητα ακούσιας πρόσληψης κλενβουτερόλης με το φαγητό. Η πιθανότητα αυτή ήταν βάσιμη αφού κινέζοι αξιωματούχοι είχαν προειδοποιήσει για την πιθανή μόλυνση του κινεζικού κρέατος με κλενβουτερόλη πριν από τους Ολυμπιακούς Αγώνες του Πεκίνο το 2008.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της κλενβουτερόλης σε χαμηλό επίπεδο pg/ml, αναπτύχθηκε ένας πολύ ευαίσθητος και ειδικός προσδιορισμός αραίωσης ισοτόπων υγρής χρωματογραφίας-διαδοχικής φασματομετρίας μάζας (LC-MS/MS) με χρήση επαναεκχύλισης υγρού/υγρού για καθαρισμό. Η κλενβουτερόλη ήταν ανιχνεύσιμη σε 22 (79%) από τα δείγματα που αναλύθηκαν, υποδεικνύοντας ένα γενικό πρόβλημα μόλυνσης των τροφίμων παρά την επίσημη απαγόρευση της κλενβουτερόλης στην Κίνα για τα ζώα. [189]

Επιπλέον, η εμφάνιση πέντε AAF με αυτο τον αναβολικό παράγοντα μεταξύ αθλητών της εθνικής ομάδας ποδοσφαίρου του Μεξικού προκάλεσε μια ολοκληρωμένη έρευνα δειγμάτων ούρων και κρέατος/φαγητού που συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια του Παγκοσμίου Κυπέλλου FIFA U-17 που διεξήχθη το 2011 στο Μεξικό. Στο 30% (14 από 47) των δειγμάτων κρέατος/φαγητού που ελήφθη από τα εστιατόρια που τροφοδοτούν τις ομάδες ποδοσφαίρου, η κλενβουτερόλη εντοπίστηκε σε ποσότητες 0,06–11 μg/kg και 52% (109/208) του ελέγχου ντόπινγκ. Τα δείγματα ούρων βρέθηκαν να περιέχουν την ουσία σε συγκεντρώσεις 1–1556 pg/mL. Λόγω του προφανούς προβλήματος του μολυσμένου κρέατος, σε κανέναν από τους αθλητές που βρέθηκαν θετικοί δεν επιβλήθηκαν κυρώσεις. [190]

5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1]Hilal-Dandan R, Brunton LL. Goodman & Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics. Second Edition, McGraw-Hill Education, Medical, New York, 2014
- [2]Craig, Charles R., and Robert E. Stitzel. Modern Pharmacology with Clinical Applications. 5th ed., Little, Brown, 1997
- [3] Oldham, W. M., & Hamm, H. E. (2008). Heterotrimeric G protein activation by G-protein-coupled receptors. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 9(1), 60–71. doi:10.1038/nrm2299
- [4]Heldin CH, Lu B, Evans R, Gutkind JS. Signals and Receptors. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2016 Apr 1;8(4):a005900. doi: 10.1101/cshperspect.a005900. PMID: 27037414; PMCID: PMC4817805.
- [5]Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, et al., editors. Neuroscience. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. Receptor Types. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10989/>
- [6]Miller EJ, Lappin SL. Physiology, Cellular Receptor. [Updated 2022 Sep 14]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554403/>
- [7]Ayrton A & Morgan P. Role of transport proteins in drug absorption, distribution and excretion. Xenobiotica 31:469–497, 2001
- [8]King, R. S. (n.d.). Biotransformations in Drug Metabolism. Drug Metabolism Handbook, 17–40. doi:10.1002/9780470439265.ch
- [9]Bachmann, K., (2008). Drug Metabolism. Hacker, M., Messer, W., Bachmann, K. (Eds.) Pharmacology. Principles and practice. 8, 131-173
- [10]Phang-Lyn S, Llerena VA. Biochemistry, Biotransformation. [Updated 2022 Aug 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544353/>
- [11]Lai Y, Chu X, Di L, Gao W, Guo Y, Liu X, Lu C, Mao J, Shen H, Tang H, Xia CQ, Zhang L, Ding X. Recent advances in the translation of drug metabolism and pharmacokinetics science for drug discovery and development. Acta Pharm Sin B. 2022 Jun;12(6):2751-2777. doi: 10.1016/j.apsb.2022.03.009. Epub 2022 Mar 17. PMID: 35755285; PMCID: PMC9214059
- [12]Jancova, P., Siller, M. (2012). Phase II drug metabolism. Paxton, J. (Ed.) Topics on drug metabolism. 35-60

- [13] Bachmann, K., (2008). Drug Metabolism. Hacker, M., Messer, W., Bachmann, K. (Eds.) Pharmacology. Principles and practice. 8, 131-173.
- [14] Janov, P., & Iller, M. (2012). Phase II Drug Metabolism. InTech. doi: 10.5772/29996
Bachmann, K. (2009). Drug Metabolism. Pharmacology, 131–173. doi:10.1016/b978-0-12-369521-5.00008-7
- [15] Katzung, B.G. (ed.) Basic & Clinical Pharmacology (12th ed.). New York: McGraw-Hill, 2012.
- [16] Ritter, J., Lewis, L., Mant, T., & Ferro, A. (2008). A Textbook of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 5Ed (5th ed.). CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/b13234>
- [17] Lausanne Declaration on Doping in Sport - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/lausanne_declaration_on_doping_in_sport.pdf
- [18] Constitutive instrument of foundation of the agence mondiale antidopage - world anti-doping agency - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/english_translation_wada_statutes_12_april_2021.pdf
- [19] WADA governance regulations - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/governance_regulations_final_12apr2021.pdf
- [20] World Anti-Doping Code 2021, World Anti-Doping Agency
https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2021_wada_code.pdf
- [21] International Standard for Testing and Investigations (ISTI) - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/202212/isti_2023_w_annex_k_final_clean.pdf
- [22] International Standard for Laboratories (ISL)- World Anti-Doping Agency
https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/isl_2021.pdf
- [23] International Standard for Therapeutic Use Exemptions (ISTUE) - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/202209/international_standard_for_therapeutic_use_exemptions_istue_2023.pdf
- [24] International Standard for the Protection of Privacy and Personal Information (ISPPPI) - World Anti-Doping Agency
www.wada-ama.org/sites/default/files/2022-01/international_standard_ispppi_-_november_2021_0.pdf

- [25]International Standard for Education (ISE) - World Anti-Doping Agency
www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/international_standard_ise_2021.pdf
- [26]International Standard for Code Compliance by Stakeholders (ISCCS) - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/international_standard_isccs_2021.pdf
- [27]Athlete Biological Passport Operating Guidelines - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/guidelines_abp_v8_final.pdf
- [28]Doping Control Officer Report Form - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/202203/Doping_control_officer_report_v7.pdf
- [29]Doping control form - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/202211/doping_control_form_v13.pdf
- [30]ISTI Guidelines for Sample Collection - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/202303/isti_sample_collection_guidelines_dec_2022_final_en_clean-0.pdf
- [31]Anti-doping rule violations - World Anti-Doping Agency
https://www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/LEGAL_code_appendix.pdf
- [32] The 2023 Prohibited List https://www.wada-ama.org/sites/default/files/2022-09/2023list_en_final_9_september_2022.pdf
- [33] Kinahan, A., Budgett, R., & Mazzoni, I. (2017). Structure and Development of the List of Prohibited Substances and Methods. *Medicine and Sport Science*, 39–54. doi:10.1159/000460699
- [34]Καταλογος Απαγορευμενων Ουσιων 2023- Εθνικός Οργανισμός Καταπολέμησης Ντόπινγκ (EOKAN)
https://www.eokan.gr/assets/site/docs/The%20Prohibited%20List_Greek%20Version_2023.pdf
- [35]Lippi G, Franchini M, Banfi G. Biochemistry and physiology of anabolic androgenic steroids doping. *Mini Rev Med Chem*. 2011 May;11(5):362-73. doi: 10.2174/138955711795445952. PMID: 21443514.

- [36]Kadi F. Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. Br J Pharmacol. 2008 Jun;154(3):522-8. doi: 10.1038/bjp.2008.118. Epub 2008 Apr 14. PMID: 18414389; PMCID: PMC2439525.
- [37]Hiipakka, R. A., & Liao, S. (1998). Molecular Mechanism of Androgen Action. Trends in Endocrinology & Metabolism, 9(8), 317–324. doi:10.1016/s1043-2760(98)00081
- [38]Brinkmann AO. Molecular mechanisms of androgen action--a historical perspective. Methods Mol Biol. 2011;776:3-24. doi: 10.1007/978-1-61779-243-4_1. PMID: 21796517.
- [39]Kicman, A. T., & Gower, D. B. (2003). Anabolic steroids in sport: biochemical, clinical and analytical perspectives. Annals of Clinical Biochemistry, 40(4), 321–356. doi:10.1258/000456303766476977
- [40] Sagoe D, McVeigh J, Bjørnebekk A, Essilfie MS, Andreassen CS, Pallesen S. Polypharmacy among anabolic-androgenic steroid users: a descriptive metasynthesis. Subst Abuse Treat Prev Policy. 2015 Mar 15;10:12. doi: 10.1186/s13011-015-0006-5. PMID: 25888931; PMCID: PMC4377045.
- [41] de Ronde W, Smit DL. Anabolic androgenic steroid abuse in young males. Endocr Connect. 2020 Apr;9(4):R102-R111. doi: 10.1530/EC-19-0557. PMID: 32229704; PMCID: PMC7219134.
- [42]Albano GD, Amico F, Cocimano G, Liberto A, Maglietta F, Esposito M, Rosi GL, Di Nunno N, Salerno M, Montana A. Adverse Effects of Anabolic-Androgenic Steroids: A Literature Review. Healthcare (Basel). 2021 Jan 19;9(1):97. doi: 10.3390/healthcare9010097. PMID: 33477800; PMCID: PMC7832337
- [43]Turillazzi E, Perilli G, Di Paolo M, Neri M, Riezzo I, Fineschi V. Side effects of AAS abuse: an overview. Mini Rev Med Chem. 2011 May;11(5):374-89. doi: 10.2174/138955711795445925. PMID: 21443513.
- [44]Hackney, A. C. (2018). Hormone and Metabolic Modulators. Doping, Performance Enhancing Drugs, and Hormones in Sport, 77–89. doi:10.1016/b978-0-12-813442-9
- [45]Solomon ZJ, Mirabal JR, Mazur DJ, Kohn TP, Lipshultz LI, Pastuszak AW. Selective Androgen Receptor Modulators: Current Knowledge and Clinical Applications. Sex Med Rev. 2019 Jan;7(1):84-94. doi: 10.1016/j.sxmr.2018.09.006. Epub 2018 Nov 30. PMID: 30503797; PMCID: PMC6326857.
- [46]Bhasin S, Jasuja R. Selective androgen receptor modulators as function promoting therapies. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2009 May;12(3):232-40. doi: 10.1097/MCO.0b013e32832a3d79. PMID: 19357508; PMCID: PMC2907129.

- [47]Siebert DM, Rao AL. The Use and Abuse of Human Growth Hormone in Sports. Sports Health. 2018 Sep/Oct;10(5):419-426. doi: 10.1177/1941738118782688. Epub 2018 Jun 22. PMID: 29932857; PMCID: PMC6116101.
- [48]Holt RI, Sönksen PH. Growth hormone, IGF-I and insulin and their abuse in sport. Br J Pharmacol. 2008 Jun;154(3):542-56. doi: 10.1038/bjp.2008.99. Epub 2008 Mar 31. PMID: 18376417; PMCID:
- [49]Brooks AJ, Waters MJ. The growth hormone receptor: mechanism of activation and clinical implications. Nat Rev Endocrinol. 2010 Sep;6(9):515-25. doi: 10.1038/nrendo.2010.123. Epub 2010 Jul 27. PMID: 20664532.
- [50]Brooks AJ, Wooh JW, Tunny KA, Waters MJ. Growth hormone receptor; mechanism of action. Int J Biochem Cell Biol. 2008;40(10):1984-9. doi: 10.1016/j.biocel.2007.07.008. Epub 2007 Jul 25. PMID: 17888716.
- [51]Brinkman JE, Tariq MA, Leavitt L, et al. Physiology, Growth Hormone. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482141/>
- [52]Meinhardt U, Nelson AE, Hansen JL, Birzniece V, Clifford D, Leung KC, Graham K, Ho KK. The effects of growth hormone on body composition and physical performance in recreational athletes: a randomized trial. Ann Intern Med. 2010 May 4;152(9):568-77. doi: 10.7326/0003-4819-152-9-201005040-00007. PMID: 20439575.
- [53]Saugy M, Robinson N, Saudan C, Baume N, Avois L, Mangin P. Human growth hormone doping in sport. Br J Sports Med. 2006 Jul;40 Suppl 1(Suppl 1):i35-9. doi: 10.1136/bjism.2006.027573. PMID: 16799101; PMCID: PMC2657499.
- [54]Erotokritou-Mulligan I, Holt RI, Sönksen PH. Growth hormone doping: a review. Open Access J Sports Med. 2011 Jul 27;2:99-111. doi: 10.2147/OAJSM.S11626. PMID: 24198576; PMCID: PMC3781888
- [55]Birzniece V, Nelson AE, Ho KK. Growth hormone and physical performance. Trends Endocrinol Metab. 2011 May;22(5):171-8. doi: 10.1016/j.tem.2011.02.005. Epub 2011 Mar 17. PMID: 21420315.
- [56]Nishi Y, Tanaka T. Growth Hormone Treatment and Adverse Events. Pediatr Endocrinol Rev. 2017 Mar;14 Suppl 1(Suppl 1):235-239. doi: 10.17458/per.vol14.2017.nt.growthhormonetreatment. PMID: 28516752.
- [57]Souza FM, Collett-Solberg PF. Adverse effects of growth hormone replacement therapy in children. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2011 Nov;55(8):559-65. doi: 10.1590/s0004-27302011000800009. PMID: 22218437.

[58]Anderson LJ, Tamayose JM, Garcia JM. Use of growth hormone, IGF-I, and insulin for anabolic purpose: Pharmacological basis, methods of detection, and adverse effects. *Mol Cell Endocrinol*. 2018 Mar 15;464:65-74. doi: 10.1016/j.mce.2017.06.010. Epub 2017 Jun 9. PMID: 28606865; PMCID: PMC5723243.

[59]Nedresky D, Singh G. Physiology, Luteinizing Hormone. [Updated 2022 Sep 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539692/>

[60]Sardela, P. D. O., Sardela, V. F., Pereira, H. M. G., & Aquino Neto, F. R.. (2015). Urinary Excretion Profile of Luteinizing Hormone in Brazilian Athletes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26(8), 1599–1607. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150130>

[61]Lood, Y., Aardal, E., Gustavsson, S., Prasolov, I., Josefsson, M., & Ahlner, J. (2021). False negative results in testosterone doping in forensic cases: Sensitivity of the urinary detection

[62]Mäkelä, R., Leinonen, A., & Suominen, T. (2019). Analysis of luteinizing hormone (LH): Validation of a commercial ELISA kit for LH analysis and quantification in doping control samples. *Drug Testing and Analysis*. doi:10.1002/dta.2716

[63]Suresh, S., Rajvanshi, P. K., & Noguchi, C. T. (2020). The Many Facets of Erythropoietin Physiologic and Metabolic Response. *Frontiers in Physiology*, 10. doi:10.3389/fphys.2019.01534

[64]Jelkmann W. Physiology and pharmacology of erythropoietin. *Transfus Med Hemother*. 2013 Oct;40(5):302-9. doi: 10.1159/000356193. Epub 2013 Jul 19. PMID: 24273483; PMCID: PMC3822280.

[65]Elliott, S., Pham, E., & Macdougall, I. C. (2008). Erythropoietins: A common mechanism of action. *Experimental Hematology*, 36(12), 1573–1584. doi:10.1016/j.exphem.2008.08.003

[66]Tsiftoglou AS. Erythropoietin (EPO) as a Key Regulator of Erythropoiesis, Bone Remodeling and Endothelial Transdifferentiation of Multipotent Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Implications in Regenerative Medicine. *Cells*. 2021 Aug 20;10(8):2140. doi: 10.3390/cells10082140. PMID: 34440909; PMCID: PMC8391952.

[67]Elliott S. Erythropoiesis-stimulating agents and other methods to enhance oxygen transport. *Br J Pharmacol*. 2008 Jun;154(3):529-41. doi: 10.1038/bjp.2008.89. Epub 2008 Mar 24. PMID: 18362898; PMCID: PMC2439521.

[68]Robinson N, Giraud S, Saudan C, Baume N, Avois L, Mangin P, Saugy M. Erythropoietin and blood doping. *Br J Sports Med*. 2006 Jul;40 Suppl 1(Suppl 1):i30-4. doi: 10.1136/bjism.2006.027532. PMID: 16799100; PMCID: PMC2657498. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2657498/>

[69]Hackney, A. C. (2018). Peptide–Protein Hormones. Doping, Performance Enhancing Drugs, and Hormones in Sport, 49–63. doi: 10.1016/B978-0-12-813442-9.00005-5

[70]Schoener B, Borger J. Erythropoietin Stimulating Agents. [Updated 2023 Mar 11]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536997/>

[71]Heuberger JA, Cohen Tervaert JM, Schepers FM, Vliegthart AD, Rotmans JJ, Daniels JM, Burggraaf J, Cohen AF. Erythropoietin doping in cycling: lack of evidence for efficacy and a negative risk-benefit. Br J Clin Pharmacol. 2013 Jun;75(6):1406-21. doi: 10.1111/bcp.12034. PMID: 23216370; PMCID: PMC3690100.

[72]Hostrup, M., Jacobson, G. A., Jessen, S., & Lemminger, A. K. (2020). Anabolic and lipolytic actions of beta 2 -agonists in humans and antidoping challenges. Drug Testing and Analysis, 12(5), 597–609. doi:10.1002/dta.2728

[73]Hsu E, Bajaj T. Beta2-Agonists. [Updated 2022 Jun 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542249/>

[74]Abosamak NER, Shahin MH. Beta2 Receptor Agonists and Antagonists. [Updated 2023 Feb 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559069/>

[75]Billington CK, Penn RB, Hall IP. β 2 Agonists. Handb Exp Pharmacol. 2017;237:23-40. doi: 10.1007/164_2016_64. PMID: 27878470; PMCID: PMC5480238.

[76]KALSEN, A., HOSTRUP, M., SÖDERLUND, K., KARLSSON, S., BACKER, V., & BANGSBO, J. (2016). Inhaled Beta2-Agonist Increases Power Output and Glycolysis during Sprinting in Men. Medicine & Science in Sports & Exercise, 48(1), 39–48. doi:10.1249/mss.0000000000000732

[77]Heuberger JAAC, van Dijkman SC, Cohen AF. Futility of current urine salbutamol doping control. Br J Clin Pharmacol. 2018 Aug;84(8):1830-1838. doi: 10.1111/bcp.13619. Epub 2018 Jun 3. PMID: 29722428; PMCID: PMC6046493.

[78]LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Beta-2 Adrenergic Agonists. [Updated 2017 Sep 11]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548685/>

[79]Sears MR. Adverse effects of beta-agonists. J Allergy Clin Immunol. 2002 Dec;110(6 Suppl):S322-8. doi: 10.1067/mai.2002.129966. PMID: 12464943.

Dolen WK. The beta-2 adrenergic receptor and its agonists. Allergy Proc. 1994 Nov-Dec;15(6):283-90. doi: 10.2500/108854194778816454. PMID: 7721076.

[80]Milano, G., Chiappini, S., Mattioli, F., Martelli, A., & Schifano, F. (2018). β -2 Agonists as Misusing Drugs? Assessment of both Clenbuterol- and Salbutamol-related European Medicines Agency Pharmacovigilance Database Reports. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 123(2), 182–187. doi:10.1111/bcpt.12991

[81]Buzdar, A. U., Robertson, J. F. R., Eiermann, W., & Nabholz, J.-M. (2002). An overview of the pharmacology and pharmacokinetics of the newer generation aromatase inhibitors anastrozole, letrozole, and exemestane. Cancer, 95(9), 2006–2016. doi:10.1002/cncr.10908

[82]Forbes, J. F. (2006). The Use of Early Adjuvant Aromatase Inhibitor Therapy: Contributions From the BIG 1-98 Letrozole Trial. Seminars in Oncology, 33, 2–7. doi:10.1053/j.seminoncol.2006.03

[83]de Ronde W, de Jong FH. Aromatase inhibitors in men: effects and therapeutic options. Reprod Biol Endocrinol. 2011 Jun 21;9:93. doi: 10.1186/1477-7827-9-93. PMID: 21693046; PMCID: PMC3143915.

[84]Xing Y, Liu X, Yan M, Chen T, Lu F, Xu B, Gong Y, Chu F, Lei H. Impact of nonsteroidal aromatase inhibitors on steroid profile in a Chinese population. Medicine (Baltimore). 2017 Jul;96(28):e7411. doi: 10.1097/MD.0000000000007411. PMID: 28700478; PMCID: PMC5515750.

[85]De la Torre, X., Colamonici, C., Curcio, D., Jardines, D., Molaioni, F., Parr, M. K., & Botrè, F. (2014). Detection of formestane abuse by mass spectrometric techniques. Drug Testing and Analysis, 6(11-12), 1133–1140. doi:10.1002/dta.1759

[86]Ameline A, Gheddar L, Raul JS, Kintz P. Characterization of letrozole in human hair using LC-MS/MS and confirmation by LC-HRMS: Application to a doping case. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2021 Jan 1;1162:122495. doi: 10.1016/j.jchromb.2020.122495. Epub 2020 Dec 15. PMID: 33360417.

[87]Słopień R, Męczekalski B. Aromatase inhibitors in the treatment of endometriosis. Prz Menopauzalny. 2016 Mar;15(1):43-7. doi: 10.5114/pm.2016.58773. Epub 2016 Mar 29. PMID: 27095958; PMCID: PMC4828508.

[88]Burstein, H. J. (2007). Aromatase inhibitor-associated arthralgia syndrome. The Breast, 16(3), 223–234. doi:10.1016/j.breast.2007.01.01

[89]Foglietta, J., Inno, A., de Iuliis, F., Sini, V., Duranti, S., Turazza, M., ... Gori, S. (2017). Cardiotoxicity of Aromatase Inhibitors in Breast Cancer Patients. Clinical Breast Cancer, 17(1), 11–17. doi:10.1016/j.clbc.2016.07.003

[90]Posner BI. Insulin Signalling: The Inside Story. Can J Diabetes. 2017 Feb;41(1):108-113. doi: 10.1016/j.cjcd.2016.07.002. Epub 2016 Sep 7. PMID: 27614806; PMCID: PMC5272803.

[91]Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. Physiol Rev. 2018 Oct 1;98(4):2133-2223. doi: 10.1152/physrev.00063.2017. PMID: 30067154; PMCID: PMC6170977.

[92]Cruz-Pineda, W. D., Parra-Rojas, I., Rodríguez-Ruíz, H. A., Illades-Aguilar, B., Matia-García, I., & Garibay-Cerdenares, O. L. (2021). The regulatory role of insulin in energy metabolism and leukocyte functions. Journal of Leukocyte Biology. doi:10.1002/jlb.2ru1220-847r

[93]Richter EA, Sylow L, Hargreaves M. Interactions between insulin and exercise. Biochem J. 2021 Nov 12;478(21):3827-3846. doi: 10.1042/BCJ20210185. PMID: 34751700

[94]Thevis, M., Thomas, A., & Schänzer, W. (2009). Insulin. Doping in Sports, 209–226. doi:10.1007/978-3-540-79088-4_1

[95]Wilcox G. Insulin and insulin resistance. Clin Biochem Rev. 2005 May;26(2):19-39. PMID: 16278749; PMCID: PMC1204764.

[96]Ip, E. J., Barnett, M. J., Tenerowicz, M. J., & Perry, P. J. (2012). Weightlifting's Risky New Trend. Current Sports Medicine Reports, 11(4), 176–179. doi:10.1249/jsr.0b013e31825da97

[97]Rahman MS, Hossain KS, Das S, Kundu S, Adegoke EO, Rahman MA, Hannan MA, Uddin MJ, Pang MG. Role of Insulin in Health and Disease: An Update. Int J Mol Sci. 2021 Jun 15;22(12):6403. doi: 10.3390/ijms22126403. PMID: 34203830; PMCID: PMC8232639

[98]Wile, D. (2012). Diuretics: a review. Annals of Clinical Biochemistry, 49(5), 419–431. doi:10.1258/acb.2011.011281

[99]Cadwallader AB, de la Torre X, Tieri A, Botrè F. The abuse of diuretics as performance-enhancing drugs and masking agents in sport doping: pharmacology, toxicology and analysis. Br J Pharmacol. 2010 Sep;161(1):1-16. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.00789.x. PMID: 20718736; PMCID: PMC2962812.

[100]Fitch K. Proscribed drugs at the Olympic Games: permitted use and misuse (doping) by athletes. Clin Med (Lond). 2012 Jun;12(3):257-60. doi: 10.7861/clinmedicine.12-3-257. PMID: 22783779; PMCID: PMC4953490.

[101]Barley OR, Chapman DW, Abbiss CR. The Current State of Weight-Cutting in Combat Sports-Weight-Cutting in Combat Sports. Sports (Basel). 2019 May 21;7(5):123. doi: 10.3390/sports7050123. PMID: 31117325; PMCID: PMC6572325.

- [102]Franchini E, Brito CJ, Artioli GG. Weight loss in combat sports: physiological, psychological and performance effects. J Int Soc Sports Nutr. 2012 Dec 13;9(1):52. doi: 10.1186/1550-2783-9-52. PMID: 23237303; PMCID: PMC3607973.
- [103]Arumugham VB, Shahin MH. Therapeutic Uses of Diuretic Agents. [Updated 2023 May 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557838/>
- [104]Greenberg A. Diuretic complications. Am J Med Sci. 2000 Jan;319(1):10-24. PMID: 10653441.
- [105]Palmer BF. Metabolic complications associated with use of diuretics. Semin Nephrol. 2011 Nov;31(6):542-52. doi: 10.1016/j.semnephrol.2011.09.009. PMID: 22099511.
- [106]Qavi AH, Kamal R, Schrier RW. Clinical Use of Diuretics in Heart Failure, Cirrhosis, and Nephrotic Syndrome. Int J Nephrol. 2015;2015:975934. doi: 10.1155/2015/975934. Epub 2015 Jul 29. PMID: 26294976; PMCID: PMC4532861.
- [107]Cunningham, R. F., Israili, Z. H., & Dayton, P. G. (1981). Clinical Pharmacokinetics of Probenecid. Clinical Pharmacokinetics, 6(2), 135–151. doi:10.2165/00003088-198106020-00004
- [108]Britz H, Hanke N, Taub ME, Wang T, Prasad B, Fernandez É, Stopfer P, Nock V, Lehr T. Physiologically Based Pharmacokinetic Models of Probenecid and Furosemide to Predict Transporter Mediated Drug-Drug Interactions. Pharm Res. 2020 Nov 25;37(12):250. doi: 10.1007/s11095-020-02964-z. PMID: 33237382; PMCID: PMC7688195
- [109]Hemmersbach, P. The Probenecid-story – A success in the fight against doping through out-of-competition testing. Drug Test Anal. 2020; 12: 589– 594. <https://doi.org/10.1002/dta.2727>
- [110]Campíns-Falcó, P., Herráez-Hernández, R., & Sevillano-Cabeza, A. (1993). Sensitive determination of probenecid in urine samples by reversed-phase liquid chromatography and UV-visible detection using solid-phase extraction techniques for sample clean-up. Chromatographia, 35(5-6), 317–320. doi:10.1007/bf02277517
- [111]Campins-Falco, P., Herrauez-Hernandez, R., & Sevillano-Cabeza, A. (1994). Column-switching techniques for screening of diuretics and probenecid in urine samples. Analytical Chemistry, 66(2), 244–248. doi:10.1021/ac00074a011
- [112]Probenecid. (2016). Meyler's Side Effects of Drugs, 936–939. doi:10.1016/b978-0-444-53717-1.01337-8

- [113]Strilchuk, L., Fogacci, F., & Cicero, A. F. (2019). Safety and tolerability of available urate-lowering drugs: a critical review. *Expert Opinion on Drug Safety*, 1–11. doi:10.1080/14740338.2019.15947
- [114]Fleckenstein AE, Volz TJ, Riddle EL, Gibb JW, Hanson GR. New insights into the mechanism of action of amphetamines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007;47:681-98. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.47.120505.105140. PMID: 17209801.
- [115]Reith MEA, Gnegy ME. Molecular Mechanisms of Amphetamines. *Handb Exp Pharmacol*. 2020;258:265-297. doi: 10.1007/164_2019_251. PMID: 31286212.
- [116]Morozova E, Yoo Y, Behrouzvaziri A, Zaretskaia M, Rusyniak D, Zaretsky D, Molkov Y. Amphetamine enhances endurance by increasing heat dissipation. *Physiol Rep*. 2016 Sep;4(17):e12955. doi: 10.14814/phy2.12955. PMID: 27604402; PMCID: PMC5027360.
- [117]Avois, L. (2006). Central nervous system stimulants and sport practice. *British Journal of Sports Medicine*, 40(Supplement 1), i16–i20. doi:10.1136/bjism.2006.027557
- [118]Prakash MD, Tangalakis K, Antonipillai J, Stojanovska L, Nurgali K, Apostolopoulos V. Methamphetamine: Effects on the brain, gut and immune system. *Pharmacol Res*. 2017 Jun;120:60-67. doi: 10.1016/j.phrs.2017.03.009. Epub 2017 Mar 14. PMID: 28302577.
- [119]Carvalho, M., Carmo, H., Costa, V. M., Capela, J. P., Pontes, H., Remião, F., ... Bastos, M. de L. (2012). Toxicity of amphetamines: an update. *Archives of Toxicology*, 86(8), 1167–1231. doi:10.1007/s00204-012-0815-5
- [120]Heal DJ, Smith SL, Gosden J, Nutt DJ. Amphetamine, past and present--a pharmacological and clinical perspective. *J Psychopharmacol*. 2013 Jun;27(6):479-96. doi: 10.1177/0269881113482532. Epub 2013 Mar 28. PMID: 23539642; PMCID: PMC3666194.
- [121]Won S, Hong RA, Shohet RV, Seto TB, Parikh NI. Methamphetamine-associated cardiomyopathy. *Clin Cardiol*. 2013 Dec;36(12):737-42. doi: 10.1002/clc.22195. Epub 2013 Aug 27. PMID: 24037954; PMCID: PMC4319790.
- [122]Statler AK, Maani CV, Kohli A. Ephedrine. [Updated 2023 May 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547661/>
- [123]Limberger, R. P., Jacques, A. L. B., Schmitt, G. C., & Arbo, M. D. (2013). Pharmacological Effects of Ephedrine. *Natural Products*, 1217–1237. doi:10.1007/978-3-642-22144-6_4

- [124]Bents, R. T., & Marsh, E. (2006). Patterns of Ephedra and Other Stimulant Use in Collegiate Hockey Athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 16(6), 636–643. doi:10.1123/ijsnem.16.6.636
- [125]Calfee, R. (2006). Popular Ergogenic Drugs and Supplements in Young Athletes. *PEDIATRICS*, 117(3), e577–e589. doi:10.1542/peds.2005-1429
- [126]HODGES, K., HANCOCK, S., CURRELL, K., HAMILTON, B., & JEUKENDRUP, A. E. (2006). Pseudoephedrine Enhances Performance in 1500-m Runners. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38(2), 329–333. doi:10.1249/01.mss.0000183201.79330.9c
- [127]Dhar R, Stout CW, Link MS, Homoud MK, Weinstock J, Estes NA 3rd. Cardiovascular toxicities of performance-enhancing substances in sports. *Mayo Clin Proc*. 2005 Oct;80(10):1307-15. doi: 10.4065/80.10.1307. Erratum in: *Mayo Clin Proc*. 2006 Jan;81(1):133. PMID: 16212144
- [128]Roque Bravo R, Faria AC, Brito-da-Costa AM, Carmo H, Mladěnka P, Dias da Silva D, Remião F, on behalf of The OEMONOM Researchers. Cocaine: An Updated Overview on Chemistry, Detection, Biokinetics, and Pharmacotoxicological Aspects including Abuse Pattern. *Toxins*. 2022; 14(4):278. <https://doi.org/10.3390/toxins14040278>
- [129]Richards JR, Laurin EG. Cocaine. [Updated 2023 May 16]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430769/>
- [130]Docherty JR. Pharmacology of stimulants prohibited by the World Anti-Doping Agency (WADA). *Br J Pharmacol*. 2008 Jun;154(3):606-22. doi: 10.1038/bjp.2008.124. PMID: 18500382; PMCID: PMC2439527.
- [131]Mittleman MA, Mintzer D, Maclure M, Tofler GH, Sherwood JB, Muller JE. Triggering of myocardial infarction by cocaine. *Circulation*. 1999 Jun 1;99(21):2737-41. doi: 10.1161/01.cir.99.21.2737. PMID: 10351966.
- [132]Pellissier, L. P., Pujol, C. N., Becker, J. A. J., & Le Merrer, J. (2016). Delta Opioid Receptors: Learning and Motivation. *Handbook of Experimental Pharmacology*. doi:10.1007/164_2016_89
- [133]Mazzeo F, Meccariello R, Guatteo E. Molecular and Epigenetic Aspects of Opioid Receptors in Drug Addiction and Pain Management in Sport. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(9):7831. <https://doi.org/10.3390/ijms24097831>
- [134]Schaefer, B. P., & Petkovsek, M. A. (2017). Adolescent use of opioids and stimulants: testing the influence of peers, self-control, and sports participation. *Criminal Justice Studies*, 30(4), 365–380. doi:10.1080/1478601x.2017.132536

- [135]Ekhtiari S, Yusuf I, AlMakadma Y, MacDonald A, Leroux T, Khan M. Opioid Use in Athletes: A Systematic Review. Sports Health. 2020 Nov/Dec;12(6):534-539. doi: 10.1177/1941738120933542. Epub 2020 Aug 6. PMID: 32758077; PMCID: PMC7785905.
- [136]Vadivelu, N., Kai, A. M., Kodumudi, V., Sramcik, J., & Kaye, A. D. (2018). The Opioid Crisis: a Comprehensive Overview. Current Pain and Headache Reports, 22(3). doi:10.1007/s11916-018-0670-z
- [137]Volkow, N., Benveniste, H., & McLellan, A. T. (2018). Use and Misuse of Opioids in Chronic Pain. Annual Review of Medicine, 69(1), 451–465. doi:10.1146/annurev-med-011817-044739
- [138]Benyamin R, Trescot AM, Datta S, Buenaventura R, Adlaka R, Sehgal N, Glaser SE, Vallejo R. Opioid complications and side effects. Pain Physician. 2008 Mar;11(2 Suppl):S105-20. PMID: 18443635
- [139]Dume, R., & Lammers, E. (2020). Demystifying Cannabis. Orthopaedic Nursing, 39(4), 264–267. doi:10.1097/nor.000000000000067
- [140]Sheikh NK, Dua A. Cannabinoids. [Updated 2023 Feb 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556062/>
- [141]Chayasirisobhon S. Mechanisms of Action and Pharmacokinetics of Cannabis. Perm J. 2020 Dec;25:1-3. doi: 10.7812/TPP/19.200. PMID: 33635755; PMCID: PMC8803256
- [142]Huestis MA, Mazzoni I, Rabin O. Cannabis in sport: anti-doping perspective. Sports Med. 2011 Nov 1;41(11):949-66. doi: 10.2165/11591430-000000000-00000. PMID: 21985215; PMCID: PMC3717337.
- [143]Burr JF, Cheung CP, Kasper AM, Gillham SH, Close GL. Cannabis and Athletic Performance. Sports Med. 2021 Sep;51(Suppl 1):75-87. doi: 10.1007/s40279-021-01505-x. Epub 2021 Sep 13. PMID: 34515970; PMCID: PMC8566388.
- [144]Docter S, Khan M, Gohal C, Ravi B, Bhandari M, Gandhi R, Leroux T. Cannabis Use and Sport: A Systematic Review. Sports Health. 2020 Mar/Apr;12(2):189-199. doi: 10.1177/1941738120901670. Epub 2020 Feb 5. PMID: 32023171; PMCID: PMC7040945
- [145]Hall, W., & Degenhardt, L. (2009). Adverse health effects of non-medical cannabis use. The Lancet, 374(9698), 1383–1391. doi:10.1016/s0140-6736(09)61037
- [146]Lucas CJ, Galettis P, Schneider J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. Br J Clin Pharmacol. 2018 Nov;84(11):2477-2482. doi: 10.1111/bcp.13710. Epub 2018 Aug 7. PMID: 30001569; PMCID: PMC6177698.

- [147]Timmermans S, Souffriau J, Libert C. A General Introduction to Glucocorticoid Biology. *Front Immunol*. 2019 Jul 4;10:1545. doi: 10.3389/fimmu.2019.01545. PMID: 31333672; PMCID: PMC6621919.
- [148]Cain DW, Cidlowski JA. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat Rev Immunol*. 2017 Apr;17(4):233-247. doi: 10.1038/nri.2017.1. Epub 2017 Feb 13. PMID: 28192415; PMCID: PMC9761406
- [149]Sinniah A, Yazid S, Flower RJ. From NSAIDs to Glucocorticoids and Beyond. *Cells*. 2021 Dec 14;10(12):3524. doi: 10.3390/cells10123524. PMID: 34944032; PMCID: PMC8700685.
- [150]Ventura R, Daley-Yates P, Mazzoni I, Collomp K, Saugy M, Buttgerit F, Rabin O, Stuart M. A novel approach to improve detection of glucocorticoid doping in sport with new guidance for physicians prescribing for athletes. *Br J Sports Med*. 2021 Apr 20;bjsports-2020-103512. doi: 10.1136/bjsports-2020-103512. Epub ahead of print. PMID: 33879477.
- [151]Casuso, R. A., Melskens, L., Bruhn, T., Secher, N. H., & Nordsborg, N. B. (2013). Glucocorticoids improve high-intensity exercise performance in humans. *European Journal of Applied Physiology*, 114(2), 419–424. doi:10.1007/s00421-013-2784-7
- [152]Pokrywka A, Berezowska D, Lewandowska-Pachecka S, Krzywański J, Rynkowski M, Wicka M, Kwiatkowska D, Faiss R. Self-Declared and Measured Prevalence of Glucocorticoid Use in Polish Athletes. *Separations*. 2023; 10(3):204. <https://doi.org/10.3390/separations10030204>
- [153]Alan, I. S., & Alan, B. (2018). Side Effects of Glucocorticoids. *InTech*. doi: 10.5772/intechopen.72019
- [154]Pigozzi F, Di Gianfrancesco A, Zorzoli M, Bachl N, Mc Donagh D, Cumiskey J, Di Luigi L, Pitsiladis Y, Borriore P. Why glucocorticosteroids should remain in the list of prohibited substances: a sports medicine viewpoint. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012 Jan-Mar;25(1):19-24. doi: 10.1177/039463201202500103. PMID: 22507313.
- [155]Czock, D., Keller, F., Rasche, F. M., & H?ussler, U. (2005). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Systemically Administered Glucocorticoids. *Clinical Pharmacokinetics*, 44(1), 61–98. doi:10.2165/00003088-200544010-0
- [156]Boghossian, T., Barroso, O., Ivanova, V., & Rabin, O. (2012). Ensuring high quality in anti-doping laboratories. *Bioanalysis*, 4(13), 1591–1601. doi:10.4155/bio.12.136
- [157]Bowers, L. D. (2009). Science and the Rules Governing Anti-Doping Violations. *Doping in Sports*, 513–531. doi:10.1007/978-3-540-79088-4_

- [158] Botrè, F., Wu, M., & Boghosian, T. (2012). Preparation and accreditation of anti-doping laboratories for the Olympic Games. *Bioanalysis*, 4(13), 1623–1631. doi:10.4155/bio.12.155
- [159] Iquraini, H., & Auchus, R. J. (2018). Strategies that athletes use to avoid detection of androgenic-anabolic steroid doping and sanctions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 464, 28–33. doi:10.1016/j.mce.2017.01.028
- [160] Shehzad Basaria, Androgen Abuse in Athletes: Detection and Consequences, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 95, Issue 4, 1 April 2010, Pages 1533–1543, <https://doi.org/10.1210/jc.2009-1579>
- [161] van de Kerkhof, D. H., de Boer, D., Thijssen, J. H. H., & Maes, R. A. A. (2000). Evaluation of Testosterone/Epitestosterone Ratio Influential Factors as Determined in Doping Analysis. *Journal of Analytical Toxicology*, 24(2), 102–115. doi:10.1093/jat/24.2.102
- [162] Lood, Y., Aardal, E., Gustavsson, S., Prasolov, I., Josefsson, M., & Ahlner, J. (2021). False negative results in testosterone doping in forensic cases: Sensitivity of the urinary detection criteria T/E and T/LH. *Drug Testing and Analysis*. doi:10.1002/dta.3125
- [163] Cawley, A. T., & Flenker, U. (2008). The application of carbon isotope ratio mass spectrometry to doping control. *Journal of Mass Spectrometry*, 43(7), 854–864. doi:10.1002/jms.1437
- [164] De la Torre, X., Jardines, D., Curcio, D., Colamonici, C., & Botrè, F. (2018). Isotope ratio mass spectrometry in antidoping analysis: The use of endogenous reference compounds. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. doi:10.1002/rcm.8377
- [165] Zhang Y, Tobias HJ, Sacks GL, Brenna JT. Calibration and data processing in gas chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry. *Drug Test Anal*. 2012 Dec;4(12):912-22. doi: 10.1002/dta.394. Epub 2012 Feb 24. PMID: 22362612; PMCID: PMC3729038.
- [166] Augenstein, W. (1999). Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 842(1-2), 351–371. doi:10.1016/S0021-9673(98)01057-7
- [167] Benson, S. J. (2012). Forensic Applications of Isotope Ratio Mass Spectrometry. *Mass Spectrometry Handbook*, 339–372. doi:10.1002/9781118180730.ch15
- [168] Nair, A. K., & Baier, L. J. (2018). Using Luciferase Reporter Assays to Identify Functional Variants at Disease-Associated Loci. *Disease Gene Identification*, 303–319. doi:10.1007/978-1-4939-7471-9_17

- [169]Milcamps A, Liska R, Langezaal I, Casey W, Dent M, Odum J. Reliability of the AR-CALUX® In Vitro Method Used to Detect Chemicals with (Anti)Androgen Activity: Results of an International Ring Trial. *Toxicol Sci.* 2021 Oct 27;184(1):170-182. doi: 10.1093/toxsci/kfab078. PMID: 34165557; PMCID: PMC8557474.
- [170]Cooper ER, McGrath KC, Heather AK. In vitro androgen bioassays as a detection method for designer androgens. *Sensors (Basel).* 2013 Feb 6;13(2):2148-63. doi: 10.3390/s130202148. PMID: 23389345; PMCID: PMC3649408.
- [171]Lund, R. A., Cooper, E. R., Wang, H., Ashley, Z., Cawley, A. T., & Heather, A. K. (2021). Nontargeted detection of designer androgens: Underestimated role of in vitro bioassays. *Drug Testing and Analysis*, 13(5), 894–902. doi:10.1002/dta.3049
- [172]Martín-Escudero, P., Muñoz-Guerra, J. A., García-Tenorio, S. V., Serrano-Garde, E., Soldevilla-Navarro, A. B., Cortes-Carrillo, N., ... Brouwer, A. (2021). Bioanalytical]Detection of Steroid Abuse in Sports Based on the Androgenic Activity Measurement. *Chemosensors*, 9(4), 62. doi:10.3390/chemosensors9040062
- [173]Sottas, P.-E., Robinson, N., Rabin, O., & Saugy, M. (2011). The Athlete Biological Passport. *Clinical Chemistry*, 57(7), 969–976. doi:10.1373/clinchem.2011.162271
- [174]Morkeberg, J. (2013). Blood manipulation: current challenges from an anti-doping perspective. *Hematology*, 2013(1), 627–631. doi:10.1182/asheducation-2013.1.627
- [175]De Oliveira, C. D. R., de Bairros, A. V., & Yonamine, M. (2014). Blood Doping: Risks to Athletes' Health and Strategies for Detection. *Substance Use & Misuse*, 49(9), 1168–1181. doi:10.3109/10826084.2014.903754
- [176]Shah, K., & Maghsoudlou, P. (2016). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *British Journal of Hospital Medicine*, 77(7), C98–C101. doi:10.12968/hmed.2016.77.7.c98
- [177]Aydin, S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72, 4–15. doi:10.1016/j.peptides.2015.04.01
- [178]He, C., & Wu, M. (2009). Detection of doping with recombinant human growth hormone. *Bioanalysis*, 1(5), 953–965. doi:10.4155/bio.09.85
- [179]Bosch, J., Ueki, M., Such-Sanmartín, G., Segura, J., & Gutiérrez-Gallego, R. (2012). Tracking growth hormone abuse in sport: A comparison of distinct isoform-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 733, 56–63. doi:10.1016/j.aca.2012.04.028
- [180]Ribeiro de Oliveira Longo Schweizer J, Ribeiro-Oliveira A Jr, Bidlingmaier M. Growth hormone: isoforms, clinical aspects and assays interference. *Clin Diabetes*

Endocrinol. 2018 Aug 28;4:18. doi: 10.1186/s40842-018-0068-1. PMID: 30181896; PMCID: PMC6114276.

[181]Human Growth Hormone (Hgh) Isoform Differential Immunoassays For Doping Control Analyses.(td2021)-WADA

https://www.wada-ama.org/sites/default/files/2022-01/td2021gh_final_eng_0.pdf

[182]Geyer H, Parr MK, Mareck U, Reinhart U, Schrader Y, Schänzer W. Analysis of non-hormonal nutritional supplements for anabolic-androgenic steroids - results of an international study. Int J Sports Med. 2004 Feb;25(2):124-9. doi: 10.1055/s-2004-819955. PMID: 14986195.

[183]Geyer, H., Parr, M. K., Koehler, K., Mareck, U., Schänzer, W., & Thevis, M. (2008). Nutritional supplements cross-contaminated and faked with doping substances. Journal of Mass Spectrometry, 43(7), 892–902. doi:10.1002/jms.1452

[184]Yun J, Kwon K, Choi J, Jo CH. Monitoring of the amphetamine-like substances in dietary supplements by LC-PDA and LC-MS/MS. Food Sci Biotechnol. 2017 Sep 8;26(5):1185-1190. doi: 10.1007/s10068-017-0176-1. PMID: 30263651; PMCID: PMC6049786.

[185]Kwiatkowska, D., Wójtowicz, M., Jarek, A., Goebel, C., Chajewska, K., Turek-Lepa, E., ... Kazlauskas, R. (2014). N,N-dimethyl-2-phenylpropan-1-amine - new designer agent found in athlete urine and nutritional supplement. Drug Testing and Analysis, 7(4), 331–335. doi:10.1002/dta.1742

[186]Dib, J., Bosse, C., Tsiyou, M., Glatt, A. M., Geisendorfer, T., Geyer, H., ... Thevis, M. (2019). Is heptaminol a (major) metabolite of octodrine? Drug Testing and Analysis. doi:10.1002/dta.2737

[187]thevis M, Geyer H, Thomas A, Tretzel L, Bailloux I, Buisson C, Lasne F, Schaefer MS, Kienbaum P, Mueller-Stoeve I, Schänzer W. Formation of the diuretic chlorazaniol from the antimalarial drug proguanil--implications for sports drug testing. J Pharm Biomed Anal. 2015 Nov 10;115:208-13. doi: 10.1016/j.jpba.2015.07.017. Epub 2015 Jul 22. PMID: 26226108.

[188]Hülseman, F., Fusshoeller, G., Lehn, C., & Thevis, M. (2020). Excretion of 19-norandrosterone after consumption of boar meat. Drug Testing and Analysis. doi:10.1002/dta.2958

[189]Guddat S, Fußhöller G, Geyer H, Thomas A, Braun H, Haenelt N, Schwenke A, Klose C, Thevis M, Schänzer W. Clenbuterol - regional food contamination a possible source for inadvertent doping in sports. Drug Test Anal. 2012 Jun;4(6):534-8. doi: 10.1002/dta.1330. Epub 2012 Mar 22. PMID: 22447758.

[190]Thevis M, Geyer L, Geyer H, Guddat S, Dvorak J, Butch A, Sterk SS, Schänzer W. Adverse analytical findings with clenbuterol among U-17 soccer players attributed to

food contamination issues. Drug Test Anal. 2013 May;5(5):372-6. doi: 10.1002/dta.1471. Epub 2013 Apr 4. PMID: 23559541.

6 ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ / ΣΧΗΜΑΤΩΝ

[Εικόνα 1] Katzung, B.G. (ed.) Basic & Clinical Pharmacology (12th ed.). New York: McGraw-Hill, 2012.

[Εικόνα 3] “WADA Unveils Refreshed Brand via the Launch of Its New Website.” World Anti-Doping Agency, www.wada-ama.org/en/news/wada-unveils-refreshed-brand-launch-its-new-website.

[Εικόνα 4] Ruiz, Rebecca R. “Mystery in Sochi Doping Case Lies with Tamper-Proof Bottle.” The New York Times, 13 May 2016, www.nytimes.com/2016/05/14/sports/russia-doping-bottles-olympics-2014.html.

[Εικόνα 5] Donner, Daniel Giordano. “Therapeutic Effects of Selective Androgen Receptor Modulation in the Treatment of Cardiac, Metabolic and Bone Pathologies Associated with Androgen Decline and Obesity.” Research-Repository.griffith.edu.au, 2015, research-repository.griffith.edu.au/handle/10072/367789. Accessed 28 June 2023.

Εικόνα [6] Wikipedia Contributors. “Testosterone.” Wikipedia, Wikimedia Foundation, 6 May 2019, en.wikipedia.org/wiki/Testosterone.

[Εικόνα 7] Frontiersin.org, 2023, www.frontiersin.org/files/Articles/1059473/fendo-13-1059473-HTML-r2/image_m/fendo-13-1059473-g003.jpg. Accessed 28 June 2023.

[Εικόνα 8] Solomon, Zachary J., et al. “Selective Androgen Receptor Modulators: Current Knowledge and Clinical Applications.” Sexual Medicine Reviews, vol. 7, no. 1, Jan. 2019, pp. 84–94, <https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2018.09.006>.

[Εικόνα 9] “Selective Androgen Receptor Modulator.” Wikipedia, 19 June 2023, en.wikipedia.org/wiki/Selective_androgen_receptor_modulator#/media/File:Ostarine_e.svg. Accessed 28 June 2023.

Andarine.” Wikipedia, 26 June 2023, en.wikipedia.org/wiki/Andarine#/media/File:Andarine.svg. Accessed 28 June 2023.

[Εικόνα 10] Utiger, Robert D. "Growth Hormone | Definition, Function, Deficiency, & Excess." Encyclopædia Britannica, 4 Apr. 2018, www.britannica.com/science/growth-hormone.

[Εικόνα 13] Hackney, Anthony C. "Peptide–Protein Hormones." *Doping, Performance Enhancing Drugs, and Hormones in Sport*, 2018, pp. 49–63, <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813442-9.00005-5>.

[Εικόνα 14] Hostrup, Morten, et al. "Anabolic and Lipolytic Actions of Beta 2 -Agonists in Humans and Antidoping Challenges." *Drug Testing and Analysis*, vol. 12, no. 5, 20 Feb. 2020, pp. 597–609, <https://doi.org/10.1002/dta.2728>.

Εικόνα [15] Ghosh D, Lo J, Egbuta C. Recent Progress in the Discovery of Next Generation Inhibitors of Aromatase from the Structure-Function Perspective. *J Med Chem*. 2016 Jun 9;59(11):5131-48. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01281. Epub 2016 Jan 19. PMID: 26689671; PMCID: PMC4915572.

[Εικόνα 16] Sonksen, P. (2001). Insulin, growth hormone and sport. *Journal of Endocrinology*, 170(1), 13–25. doi:10.1677/joe.0.1700013

[Εικόνα 17] Cadwallader AB, de la Torre X, Tieri A, Botrè F. The abuse of diuretics as performance-enhancing drugs and masking agents in sport doping: pharmacology, toxicology and analysis. *Br J Pharmacol*. 2010 Sep;161(1):1-16. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.00789.x. PMID: 20718736; PMCID: PMC2962812.

[Εικόνα 18] Britz H, Hanke N, Taub ME, Wang T, Prasad B, Fernandez É, Stopfer P, Nock V, Lehr T. Physiologically Based Pharmacokinetic Models of Probenecid and Furosemide to Predict Transporter Mediated Drug-Drug Interactions. *Pharm Res*. 2020 Nov 25;37(12):250. doi: 10.1007/s11095-020-02964-z. PMID: 33237382; PMCID: PMC7688195.

[Εικόνα 20] National Institute on Drug Abuse. "How Does Cocaine Produce Its Effects?" National Institute on Drug Abuse, May 2016, nida.nih.gov/publications/research-reports/cocaine/how-does-cocaine-produce-its-effects.

Εικόνα [21] Patil, A. S., Mahajan, U. B., Agrawal, Y. O., Patil, K. R., Patil, C. R., Ojha, S., ... Goyal, S. N. (2020). Plant-derived natural therapeutics targeting cannabinoid receptors in metabolic syndrome and its complications: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 132, 110889. doi:10.1016/j.biopha.2020.110889

[Εικόνα 22] Van der Velden, V. H. J. (1998). Glucocorticoids: mechanisms of action and anti-inflammatory potential in asthma. *Mediators of Inflammation*, 7(4), 229–237. doi:10.1080/09629359890910

[Εικόνα 24]Blohm, Annika, et al. "Detection of Gas Molecules by Means of Spectrometric and Spectroscopic Methods." *Advanced Nanostructures for Environmental Health*, 2020, pp. 251–294, <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815882-1.00006-9>. Accessed 13 Oct. 2022.

[Εικόνα 25]Graham, M. R., Davies, B., Grace, F. M., Kicman, A., & Baker, J. S. (2008). Anabolic Steroid Use. *Sports Medicine*, 38(6), 505–525. doi:10.2165/00007256-200838060-00

[Εικόνα 26]Wikipedia Contributors. "Reporter Gene." Wikipedia, Wikimedia Foundation, 6 Mar. 2019, en.wikipedia.org/wiki/Reporter_gene.

[Εικόνα 27]Martín-Escudero, Pilar, et al. "Bioanalytical Detection of Steroid Abuse in Sports Based on the Androgenic Activity Measurement." *Chemosensors*, vol. 9, no. 4, 1 Apr. 2021, p. 62, www.mdpi.com/2227-9040/9/4/62/html, <https://doi.org/10.3390/chemosensors9040062>

[Εικόνα 28]Sottas, P.-E., Robinson, N., Rabin, O., & Saugy, M. (2011). The Athlete Biological Passport. *Clinical Chemistry*, 57(7), 969–976. doi:10.1373/clinchem.2011.162271

[Εικόνα 29]The Principle and Method of ELISA | MBL Life Science -ASIA-." Mblbio.com, 2017, www.mblbio.com/bio/g/support/method/elisa.html.

[Εικόνα 30]He, Chunji, and Moutian Wu. "Detection of Doping with Recombinant Human Growth Hormone." *Bioanalysis*, vol. 1, no. 5, Aug. 2009, pp. 953–965, <https://doi.org/10.4155/bio.09.85>. Accessed 12 Dec. 2019