

Pregledni prispevek/Review article

ENDOKRINOLOŠKO TESTIRANJE ŠPORTNIKA OB SUMU NA ZLORABO TESTOSTERONA OZIROMA NJEGOVIH ANALOGOV

ENDOCRINE EVALUATION OF ATHLETE FOR TESTOSTERONE OR ITS ANALOGUES ABUSE

Joško Osredkar

Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, Klinični center, Njegoševa 4, 1525 Ljubljana

Prispelo 2003-07-21, sprejeto 2003-09-29; ZDRAV VESTN 2003; 72: 681-93

Ključne besede: doping; T/E razmerje; ketokonazol; lista prepovedanih substanc

Izvleček – Izhodišča. Doping je uporaba snovi in postopkov, ki jih prepovedujejo mednarodne in nacionalne športne institucije. Uporaba določenih snovi in postopkov je škodljiva človeškemu organizmu in zato vse športne organizacije poskušajo zaščititi športnike pred škodljivimi stranskimi učinki teh snovi in postopkov.

Metode. Članek predstavlja poseben protokol, ki ga izvedemo pri športniku v primeru, ko je razmerje testosterona in epitestosterona povišano, in sicer v območju 6 do 10. Pri ugotavljanju prisotnosti eksogenega testosterona oziroma analogov se poslužujemo antimikotika ketokonazola. Če po aplikaciji ketokonazola ne pride do spremembe razmerja T/E, je doping dokazan. Kot priloga je članku dodan trenutno veljavni seznam prepovedanih snovi in postopkov.

Uvod

Kaj je doping?

Definicija dopinga – Doping je uporaba substanc ali postopkov, ki jih prepovedujejo mednarodna ali nacionalna športna združenja. Mnogo organizacij je uporabilo različne definicije za izraz doping. Leta 1967 je Svet Evrope predlagal naslednjo definicijo: »Doping je aplikacija telesu tujih substanc v organizmu, ali pa telesu lastnih substanc v nefizioloških količinah ali z neobičajnimi postopki z namenom izboljšati fizično sposobnost na tekmovanju.« Definicija zdravstvenega sveta (Health Council) je: »Doping je uporaba določenih zdravilnih učinkovin z namenom izboljšati fizično sposobnost in s tem pridobiti prednost pred drugimi tekmeci.« Mednarodni olimpijski komite (MOK) opredeljuje doping kot uporabo tistih substanc, ki so uvrščene na seznam »prepovedanih« substanc s strani Medicinske komisije MOK.

Key words: doping; T/E ratio; ketoconazol; list of prohibited substances

Abstract – Background. Doping involves the use of substances and methods prohibited by international and national sports institutions. The use of certain substances and methods is harmful to the human organism, so all sports organisations are trying to protect athletes from the harmful side effects of such substances and methods.

Methods. The article deals with special protocol, which is used in the case, when the testosterone/epitestosterone ratio in urine is higher than 6 and less than 10. When establishing the use of testosterone or analogues, ketoconazol is used. If after the application the presence of a testosterone (T) to epitestosterone (E) ratio is greater than six (6) to one (1), there is an evidence of doping offence.

Conclusions. In the case of T/E greater than 6, it is mandatory that the relevant medical authority conducts an investigation before the sample is declared positive. A full report should be written and should include a review of previous tests, subsequent tests and any results of endocrine investigations.

Zakaj je doping prepovedan?

Etični razlogi – Zelo pomemben razlog za neuporabo prepovedanih substanc in metod je dejstvo, da so prepovedane. Uporaba je proti pravilom zdravega tekmovanja. Tekmovanje brez pravil pa je nezanimivo tako za tekmovalce kot tudi za gledalce.

Zdravstveni razlogi – Uporaba določenih substanc in metod je škodljiva za organizem. Vse športne organizacije poskušajo zaščititi športnike pred škodljivimi stranskimi učinki uporabe teh substanc in metod.

Seznam prepovedanih substanc je do sedaj vsako leto sprejela Medicinska komisija Mednarodnega olimpijskega komiteja, od letos dalje pa jo le-ta predloži v potrditev na novo ustanovljeni svetovni agenciji za doping (World Anti Doping Agency – WADA), potrdi pa jo tudi Nadzorna skupina za izvajanje Konvencije o boju proti dopingu pri Svetu Evrope.

Trenutno veljavni seznam je v celoti dodan kot Priloga 1.

Razpr. 1. Število opravljenih dopińskih kontrol v Sloveniji od 1996 do 2002.

Table 1. Number of doping tests in Slovenia from 1996 to 2002.

Panoga Sport	1996			1997			1998			1999			2000			2001			2002			Skupaj Total	
	Na C	Izven Out	S T	Na C	Izven Out	S T	Na C	Izven Out	S T	Na C	Izven Out	S T	Na C	Izven Out	S T	Na C	Izven Out	S T	Na C	Izven Out	S T		
Alpsko smuĉanje Alp. skiing							3	3							10	10			11	11	24		
Atletika Athletics	8	9	17	39		39	14	19	33	44	8	52	36	17	53	33	11	44	41	4	45	283	
Badminton Badminton													1	1								1	
Balinanje Bowling															7		7					7	
Biatlon Biathlon															70	9	79					79	
Deskanje Surfing															2	2						2	
Galoperstvo Horse races										2		2	2		2							4	
Gimnastika Gymnastics													2	2								2	
Hokej Hockey							8		8													8	
Hokej na ledu Ice hockey													8		8	8		8				16	
Jadranje Sailing		5	5										5	5								10	
Judo Judo				28		28							1	1	4		4	38		38		71	
Kajak - kanu Kayak-canoe		5	5										4	4				3		3		12	
Karate Karate													18		18							18	
Kickboxing Kickboxing															5		5					5	
Kolesarstvo Cycling	31	1	32	19		19	41		41	47	1	48	28	7	35	45		45	44		44	264	
Kořarka Basketball							3		3									8	1	9		12	
Lokostrelstvo Arching		3	3							6		6	4	1	5							14	
Nord. komb. Nordic combination															1		1					1	
Plavanje Swimming		5	5							2		2	4	6	10	8	1	9		2		2	28
Rokomet Handball															17		17					17	
Smuĉarski skoki Ski jumping															1		1		5		5	6	
Smuĉar. teki Cross-country skiing										6		6			2		2		16		16	24	
Strelstvo Shooting		1	1												3		3					4	
řah Chess																		44		44		44	
Taekwon-do Taekwondo															1		1					1	
Vaterpolo Waterpolo				10		10																10	
Veslanje Rowing		7	7												10		10					17	
Olimpijci Olympics					29	29														2		2	31
Skupaj Total	39	36	75	96	29	125	63	25	88	105	11	116	100	79	179	180	38	218	194	20	214	1015	

Na - na tekmovanjih, Izven - izven tekmovanj, S - skupaj; C - competition, Out - out-of-competition, T - total

Statistični podatki za Slovenijo

Od leta 1994, ko so se v Sloveniji začele bolj organizirano izvajati kontrole dopinga, pa do konca leta 2002 je bilo opravljenih 1179 kontrol. Po aferi na kolesarski dirki po Franciji leta 1998 so se razmere v boju proti dopingju močno zaostrele, zato je prišlo do povečanja števila dopinških kontrol. Temu trendu je sledila tudi Slovenija, saj število kontrol dopinga vse od leta 1998 močno narašča do zadnjih dveh let, ko se je število ustalilo pri nekaj več kot 200 opravljenih kontrolah.

V tem obdobju je bilo zabeleženih 17 pozitivnih primerov (med njimi so tudi odklonitve testiranj), kar je nekaj manj kot 1,5% vseh kontrol.

Kljub temu da je bilo po letu 1998 opravljenih nekaj več kontrol dopinga in da je število pozitivnih primerov ostalo enako, še ne moremo reči, da se je uporaba dopinga v Sloveniji zmanjšala, saj je število opravljenih testiranj še vedno majhno, poleg tega pa vanj niso vključene vse športne panoge, kaj šele vsi športniki.

Zbrani so tudi podatki o opravljenih kontrolah v Sloveniji od leta 1996 do 2002 po posameznih športnih panogah. Skupno je bilo opravljenih 1015 kontrol, največ v atletiki (283) in kolesarstvu (264), ki sta edini panogi, kjer so se kontrole opravljale v vseh šestih letih, kar kaže na to, da sta ta dva športa najbolj na udaru in Slovenija tu prav nič ne odstopa od razmer v večini ostalih držav. Veliko število kontrol (79) je bilo leta 2001 v biatlonu, kar je posledica izvedbe SP v biatlonu na Pokljuki. Precej kontrol pa je bilo opravljenih tudi v borilnih športih (skupaj 94), predvsem pri judu. V letu 2001 je bilo opravljenih tudi 155 odvzemov krvi pred tekmovanjem, in sicer 130 pred SP v biatlonu in 25 pred DP v smučarskih tekih.

V obdobju od 1996 do 2002 je bilo izmed 1015 kontrol 777 opravljenih na tekmovanjih, le 238 oziroma slaba četrtina pa zunaj tekmovanj. Slovenija se v tem ne razlikuje kaj dosti od večine drugih držav, vendar pa je v državah, kjer je antidopinška aktivnost bolj razvita, vsaj v zadnjih letih opaziti velik porast testiranj zunaj tekmovanj, ki že predstavljajo več kot polovico vseh kontrol. Slovenija se je temu trendu najbolj približala v letih 1996 in 2000, vendar pa sta to olimpijski leti, kjer so s testiranjem želeli zagotoviti, da bi na OI nastopili le »čisti« športniki.

Zakaj športniki uporabljajo androgene anabolične steroide

Anabolične androgene steroide (AAS) uporabljajo športniki za povečanje telesnih sposobnosti. Mednarodni olimpijski komite in športne zveze smatrajo uporabo androgenih anaboličnih steroidov kot doping.

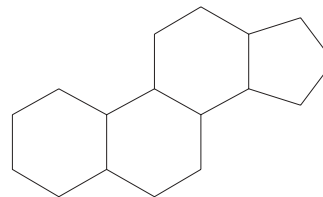
Uporabo AAS odkrivamo z zaznavanjem AAS oziroma metabolitov v urinu. Prve metode za določanje AAS so bile radioimunološke tehnike, s katerimi pa ni bilo mogoče pokriti vseh metabolitov. Od leta 1974, ko so bile te substance uvrščene med prepovedane substance, so se razvile občutljive tehnike za zaznavanje AAS in metabolitov na osnovi primerjav masnih spektrov ali izbranih ionskih profilov ali pa primerjave retenzijskih časov trimetilsilil (TMS) derivatov pri plinski kromatografiji. Naprave, s katerimi določamo te derivate, so plinski kromatografi z masno detekcijo (GC-MS).

Leta 1984 je bila tudi uporaba testosterona potrjena kot doping. Metodo za zaznavanje uporabe testosterona je določil M. Donike (1). Metoda sloni na ugotavljanju razmerja testosteron glukuronida in epitestosteron glukuronida v urinu.

Androgeni

Biosinteza androgenov

Androgeni so C-19-spojine (ciklopentanoperhidrofenantrenski derivati), ki se sintetizirajo v nadledvični žlezi in spolnih žlezah obeh spolov (sl. 1).



Sl. 1. Ciklopentanoperhidrofenantrenski obroč, ki je osnova vseh steroidnih hormonov.

Figure 1. Steroid base structure consisting of three cyclohexane rings and one cyclopentane.

Adrenalni androgeni so predvsem dehidroepiandrosteron (DHEA) in njegov sulfat (DHEA-S), androstendion in testosteron. Testikularne celice izločajo predvsem testosteron, v manjši meri pa androstendion, DHEA in dihidrotestosteron (DHT), medtem ko celice jajčnikov proizvajajo pomembne količine androstendiona in ostalih androgenov, ki v granuloznih celicah prehajajo v estrogene.

Biosinteza se odvija podobno v jajčniku, modih in skorji nadledvične žleze, kar je prikazano na sliki 2.

Holesterol je običajni predhodnik vseh steroidnih hormonov. Za biosintezo se lahko uporabi holesterol iz plazme, in sicer iz LDL-frakcije lipoproteinov, ali pa nastane preko mevalonata, skvalena in lanosterola iz acetata. Konverzija holesterola v pregnenolon je prva in odločujoča stopnja pri sintezi vseh steroidnih hormonov (2).

Testosteron in sintetični androgeni anabolični steroidi (AAS)

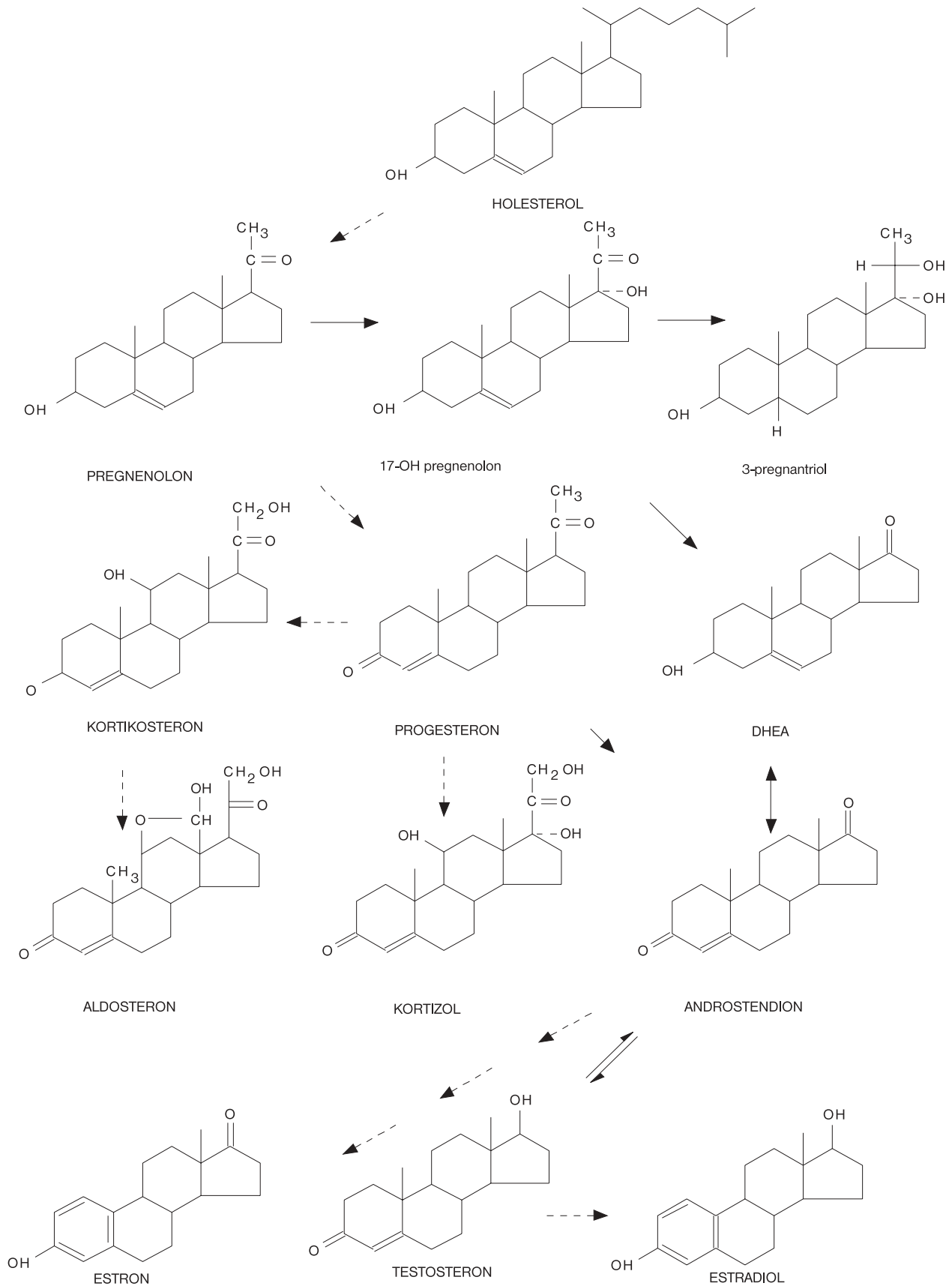
Testosteron je najpomembnejši androgeni steroid, ki primarno deluje na mišice, hipofizne gonadotrope in Wolffianovo izvodilo. Pod vplivom 5α -reduktaze iz testosterona nastaja prav tako biološko aktiven androgen DHT, ki primarno deluje lokalno na kožo ob spolovilih in lasne folikle (3).

Testosteron ima anabolične in androgene učinke. V organizmu stimulira anabolične procese, zato se za zdravljenje uporablja v primerih, ko želimo katabolične procese preusmeriti v anabolične. Že zelo kmalu so ugotovili, da testosteron nima nobenega učinka, če ga uporabljamo oralno ali parenteralno, ker se zelo hitro absorbira v portalni krvni otok in metabolizira v jetrih. Da bi zaobšli ta problem, so pripravili ester testosterona, oziroma modificirali molekulo. Pri pridobivanju sintetičnih AAS so želeli sintetizirati substance, ki bi imele bolj izražen anaboličen učinek in zmanjšan androgeni učinek v primerjavi s testosteronom.

Prvi sintetični anabolični steroidi so bili metiltestosteron, metanolon in metandriol, ki jih je sintetiziral Ruzicka leta 1935 (4). V vseh teh steroidih je v molekulo testosterona na položaju C-17 α uvedena metilna ($-CH_3$) skupina, kar nam daje 17 α -metil steroide, ki so oralno učinkoviti. V procesu metabolizma ne pride do odstranitve 17 α -metilne skupine, pač pa do sprememb v A-obroču molekule. Terapevtska uporabnost AAS je bila spoznana v petdesetih letih. Po tem času je bilo sintetiziranih in preizkušenih ogromno AAS. Metandienon (5, 6) in stanozolol, kot najbolj pogosto uporabljeni substanci v primerih dopinga, sta bila odkrita leta 1955 in 1959. V primeru metandienona je bila poleg 17 α -metilne skupine uvedena dvojna vez v A-obroč na mestu C-1,2; v primeru stanozolola pa je bil na A-obroč kondenziran pirazol, ki v veliki meri upočasni metabolično transformacijo.

Mehanizem delovanja androgenov in androgeni receptorji

Testosteron in njegov 5α -reduciran metabolit DHT sta glavna biološko aktivna androgena. Celice, ki se odzivajo na ta



Sl. 2. Biosinteza androgenov (polna črta predstavlja enostopenjsko konverzijo, prekinjena črta pa večstopenjsko konverzijo). DHEA – dehidroepiandrosteron.

Figure 2. Androgen biosynthesis (uninterrupted line stands for one-stage conversion and dotted line for multi-stage conversion). DHEA – dehydroepiandrosterone.

dva hormona, vsebujejo specifične receptorske proteine. Čeprav so učinki androgenov tkivno specifični, pa so prve stopnje delovanja enake kot pri drugih organih in podobne ostalim steroidnim hormonom. Dolgo časa je veljala teorija, da se proces začenja z vstopom androgena v celico, kjer se veže na specifične plazemske receptorske proteine, in da se nastali kompleks hormon-receptor v naslednji fazi aktivira in se prenese v jedro, kjer sproži sintezo DNK. Kasnejše raziskave pa so pokazale, da se steroidni receptorji nahajajo izključno samo v jedru (7). Kakorkoli že potekajo prve stopnje, se kompleks hormon-receptor v jedru veže na kromatin. Ta interakcija vodi do transkripcije specifične informacijske RNK. Translacija steroid specifične mRNK na poliribosome predstavlja sintezo genskih produktov, ki jo nadzorujejo androgeni.

Metabolizem AAS na primeru testosterona

Metabolizem testosterona služi kot osnova za vse sintetične AAS. Encimi, ki sodelujejo v procesu inaktivacije testosterona, so prav tako aktivni tudi pri ostalih AAS, seveda če gre za podobno strukturo.

Metabolizem testosterona so proučevali v različnih tkivih in in vivo in in vitro pogojih na živalskih modelih in kliničnih študijah na živalih in ljudeh (8-11). Pregled velikega števila metabolitov je bil prav tako objavljen (12, 13).

Glavni izločeni metaboliti testosterona so: 3α -hidroksi- 5α -androstan-17-on (androsteron), 3α -hidroksi- 5β -androstan-17-on (etiohanolon), 3β -hidroksi- 5α -androstan-17-on (epiandrosteron), 5α -androstan- 3α , 17β -diol, 5β -androstan- 3α , 17β -diol in 5α -androstan- 3β , 17β -diol, ki sestavljajo t. i. osnovni steroidni profil pri testiranju. Najpomembnejši metaboliti nastanejo po oksidoreduktivni reakciji na mestih C-3, C-4, C-5 in C-17, v manjši meri pa hidroksilirani metaboliti po reakciji z različnimi izoencimi citokroma p-450 (2). Shematski prikaz metabolizma testosterona je prikazan na sliki 3.

Epitestosteron

Epitestosteron (E), 17α epimer testosterona, je naravni steroid, ki se pojavlja v urinu v podobni koncentraciji kot testosteron. Fiziološka vloga še ni poznana, nastaja pa v testisih in po vsej verjetnosti tudi v ovarijih in nadledvični žlezi. E nima ali pa ima le malo androgene aktivnosti (14).

Ketokonazol

Zdravilno učinkovino ketokonazol uvrščamo med sintetične antimikotike. Kemijsko gledano gre za derivat imidazola. Spada med sorazmerno novejšo substance z visoko stopnjo učinkovitosti. Najpogosteje ga uporabljamo pri jemanju per os za zdravljenje sistemskih glivičnih okužb in zunanjih mikoz. Ketokonazol lahko dajemo tudi lokalno na kožo pri zdravljenju različnih oblik tinea-e (glivične okužbe kože).

Imidazolni derivati zavirajo biosintezo ergosterolov, ki je esencialna sestavina celičnih membran gliv. Blokirajo pretvorbo lanosterola v ergosterol na podlagi inhibicije lanosteroldemetilaze. Zaradi spremembe lipidne membrane gliv pride do povečane permeabilnosti celice. Delujejo fungistatično, in vitro pa fungicidno (15, 16). Ketokonazol vpliva na sintezo steroidov (holesterola), in sicer blokira citokrom P450 encimski sistem. Posledica je zmanjšana sinteza hormonov, ki nastajajo iz holesterola: kortizol, estradiol, testosteron. Učinek na mineralokortikoide je zanemarljiv.

Raziskave na morskem listu so pokazale, da ketokonazol inhibira encim citokrom P450 17,20-liazo (P450-17,201) ter citokrom P450 aromatazo (P450-arom), ki sodelujeta v procesu steroidogeneze. Posledica inhibicije je zmanjšano izločanje A

in E2 za 65% ter manjše izločanje T za 40%. Encim P450-17,201 omogoča pretvorbo C21 steroidov v C19 steroide (17). Na testiranjih za doping delamo test s ketokonazolom, ker le-ta inhibira steroidogenezo, ki jo opazujemo s padcem koncentracije testosterona v urinu, zmanjšanje razmerja T/E v urinu in manjše koncentracije testosterona v serumu.

Zloraba AAS

AAS jemljejo v velikih količinah športniki, kot so: dvigovalci uteži, bodibilderji, metalci krogle, tekači na dolge proge, kolezarji, igralci ameriškega nogometa... Poleg športnikov jih uporabljajo tudi nešportniki ter mladoletne osebe z namenom, da bi zaradi mišic boljše izgledali in se bolje počutili.

Zdravi moški tvorijo v povprečju manj kot 10 mg testosterona na dan, medtem ko nekateri športniki jemljejo stotine mg na dan, kar je več, kot je dovoljeno za uporabo v medicinske namene. AAS ne povečujejo spretnosti, gibčnosti in srčnožilne zmogljivosti (18).

Verjetni stranski učinki AAS

Učinke lahko delimo v splošne, moško specifične in žensko specifične.

- Splošni učinki: sivina kože, zabuhel obraz, aknavost, okvare reprodukcijskega sistema, visok krvni tlak, prezgodnji srčni napad, povišana raven holesterola v krvi, motnje v delovanju ledvic in jeter, agresivnost, povzročijo rast tumorjev.
- Moško specifični učinki: povečane prsi, atrofija testisa, zmanjšana tvorba spermijev, impotenca, izguba las, prostatični adenokarcinom.
- Žensko specifični učinki: poraščenost po mestih, kjer so običajno poraščeni moški (hirsutizem), menstruacijske motnje, zmanjšane prsi, znižan glas (19, 20).

Eden izmed stranskih učinkov je tudi sprememba v obnašanju. AAS povzročajo velika nihanja v razpoloženju posameznika. Iz trajajoče depresije ali ekstremne preobčutljivosti se lahko vse skupaj hitro sprevrže k občutku nepremagljivosti in popolni agresivnosti.

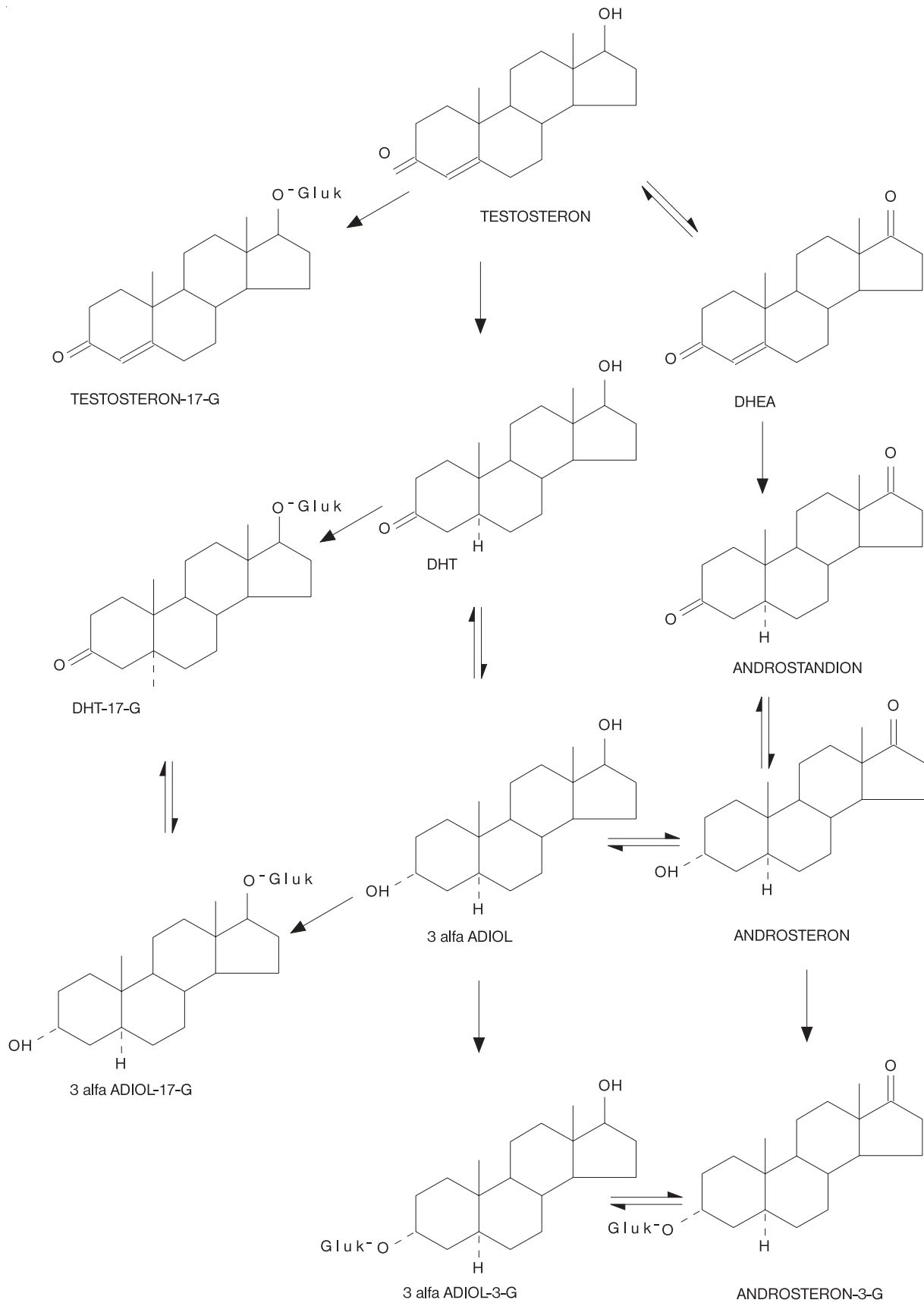
Dolgotrajna raba AAS lahko pelje k odvisnosti. Po prenehanju jemanja posameznik čuti bolečine, ki po ponovnem jemanju izginejo (21).

Detekcija AAS

Uporabo AAS odkrivamo z detekcijo AAS metabolitov v urinu. Prve metode za določanje AAS so bile radioimunološke tehnike, s katerimi ni bilo mogoče pokriti vseh metabolitov. Po letu 1974 so se razvile občutljivejše tehnike, ki slonijo na osnovi primerjav masnih spektrov ali izbranih ionskih profilov ali pa primerjave retenzijskih časov trimetilsilil (TMS) derivatov pri plinski kromatografiji. Naprave za določevanje derivatov so plinski kromatografi z masno detekcijo (GC-MS). Metoda za detekcijo uporabe testosterona sloni na ugotavljanju razmerja testosteron glukuronida in epitestosteron glukuronida v urinu (14).

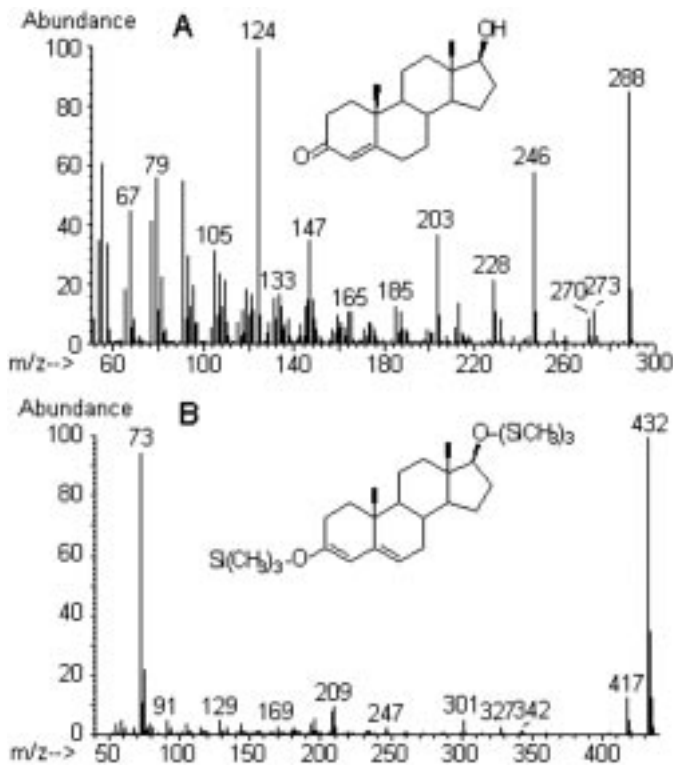
Dokaz testosterona v urinu

Prisotnost lastnega steroidnega hormona testosterona v urinu določimo s tehniko GC-MS. Testosteron je potrebno najprej derivatizirati, pri čemer mora biti trimetilsililni (TMS) derivat testosterona kvantitativno ohranjen. Spekter MS-GC (sl. 4) nam pokaže, da je derivatizirana snov dejansko testosteron, ni pa razvidno, ali se je testosteron sintetiziral v telesu ali je bil v telo vnesen.



Sl. 3. Metabolične poti androgenov. DHEA – dehidroepiandrosteron, DHT – dihidrotestosteron, Testosteron-17-G – testosteron glukuronid, 3 α -diol – 3 α -androstendion, 3 α -adiol-17-G – 3 α -androstendion glukuronid.

Figure 3. Androgen metabolic pathways. DHEA – dehydroepiandrosterone; DHT – dihydrotestosterone; Testosterone-17-G – testosterone glucuronide; 3 α -dio-3 α -androstendione; 3 α -adiol-17-G – 3 α -androstendione glucuronide.



Sl. 4. Masni spekter A) Testosterona ($M+ 288$) in B) Testosterona - TMS ($M+ 432$).

Figure 4. Mass spectrum A) Testosterone ($M+288$) and B) Testosterone - TMS ($M+432$).

Da bi lahko kontrolirali zlorabo testosterona, sta Donike in Zimmermann uvedla pojem razmerja testosteron/epitestosteron (T/E razmerje). Pokazalo se je, da je to razmerje pri ljudeh relativno konstantno in se poveča šele po vnosu testosterona v telo. Epitestosteron je stereoizomer testosterona in služi kot referenčni steroid pri določevanju povečane vsebnosti testosterona (22).

Pozitivni rezultat se potrdi kasneje z metodo izotopov. Določevanje razmerja T/E z GC/MS tehniko daje rezultate le (sl. 5):

- če se naravna porazdelitev razmerja T/E pri športniku giblje v ozkih mejah, lahko izračunamo zgornjo mejo statističnega referenčnega območja;
- če je količnik pod fiziološkimi in patološkimi pogoji pri osebi konstanten.

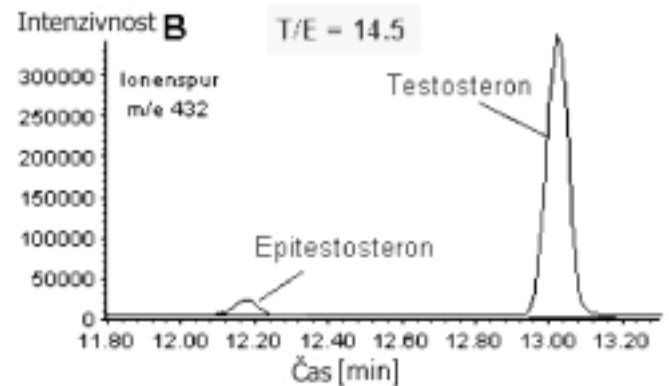
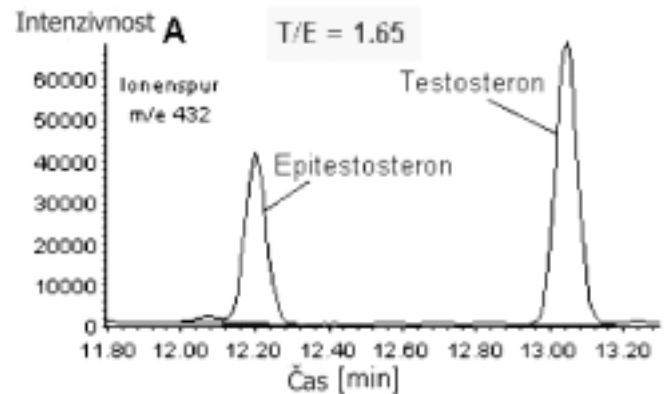
Če je vrednost T/E količnika višja od šest, se preiskava nadaljuje. Športnik je ocenjen pozitivno šele takrat, ko je vrednost T/E količnika neizpodbitno nad individualnim referenčnim območjem športnika.

Negativni rezultat je, če je razmerje T/E manjše od 6, mejni rezultat, če je razmerje med 6 in 10 (kjer MOK priporoča nadaljnje teste za potrditev pozitivnega ali negativnega rezultata), če pa je razmerje več kot 10, je rezultat pozitiven.

Materiali in metode

Obravnavali smo primer športnika, pri katerem je bila po športnem tekmovanju opravljena kontrola dopinga. Rezultati kontrole so pokazali razmerje T/E v urinu 9,9, kar je nad dovoljeno mejo 6,0.

Ker je bil rezultat količnika T/E v urinu 9,9 in spada v mejno območje rezultatov vrednosti od 6 do 10, smo se odločili, da bomo pri športniku naredili dodatne preiskave.



Sl. 5. Izračunavanje razmerja T/E iz spektra.

Figure 5. T/E ratio calculation from spectrum.

Namen našega dela je bil ugotoviti, ali je povišano razmerje T/E v urinu preiskovanca posledica vnosa prepovedanih snovi ali gre zgolj za naravno prirojeno povišano razmerje T/E, kar je lahko posledica motenega metabolizma.

Športnik je prišel na tridnevno endokrinološko preiskavo, kjer je bil ves čas pod nadzorom. Urin smo zbirali ves dan, trikrat dnevno smo mu vzeli kri. Drugi dan smo mu peroralno dali ketokonazol. Opravili smo potrebne analize v urinu in krvi. Vzorcem urina smo določili pH, gostoto in kreatinin. V urinu smo izmerili tudi koncentracijo T, E ter metabolitov T: DHT, DHEA-S, E2, A s pomočjo RIA metod. V serumu smo določili koncentracijo T in E2 z RIA metodo ter LH in FSH s pomočjo LIA metode.

1. dan
8 h 35 min odvzem krvi
11 h 50 min odvzem krvi
16 h 00 min odvzem krvi
preko celega dneva smo zbirali vzorce urina

2. dan
8 h 50 min odvzem krvi
8 h 55 min 400 mg ketokonazola
11 h 50 min odvzem krvi
16 h 30 min odvzem krvi
preko celega dneva smo zbirali vzorce urina

3. dan
8 h 45 min odvzem krvi
11 h 50 min odvzem krvi
preko celega dneva smo zbirali vzorce urina

Rezultati

Razpr. 2. Rezultati določitev posameznih hormonov v urinu (podani v ng/ml in nmol/l).

Table 2. Results of individual hormone detection in urine (given in ng/ml and nmol/l).

Steroid	Okrajšava	A-test	B-test	A-test (nmol/l)	B-test (nmol/l)
Steroid	Abbreviation	Test A	Test B	Test A (nmol/l)	Test B (nmol/l)
Testosteron	T	71,7	61,6	248,96	213,88
Testosterone		ng/ml Creat.	52,6	51,0	
Epitestosteron	E	7,2	5,7	25,00	19,79
Epitestosterone		ng/ml Creat.	5,3	4,8	
Androsteron	A	2906	2388	10005,4	8221,9
Androsterone		ng/ml Creat.	2134	1978	
Etioholanon	Etio	1637	1516	5636,2	5219,6
Etiocholanone		ng/ml Creat.	1202	1256	
Dihidrotestosteron	DHT	3,6	2,4	12,39	8,26
Dihydrotestosterone		ng/ml Creat.	2,6	2,0	
5 α -androstan-3 α ,17 β -diol	5 α	46,5	40,6	158,98	138,81
5 α -androstan-3 α ,17 β -diol		ng/ml Creat.	34,2	33,6	
5 β -androstan-3 α ,17 β -diol	5 β	65,5	56,2	223,94	192,14
5 β -androstan-3 α ,17 β -diol		ng/ml Creat.	48,1	46,6	
Kreatinin	Creat.	1,36	1,21	12,04	10,70
Creatinine		ng/ml			

Dva meseca po tekmovanju je bila v Ljubljani opravljena tudi nenapovedana kontrola dopinga. Rezultati so bili primerljivi s prejšnjimi (razpr. 4).

Razpr. 3. Posamezni izračuni, ki se nanašajo na rezultate iz razpredelnice 2.

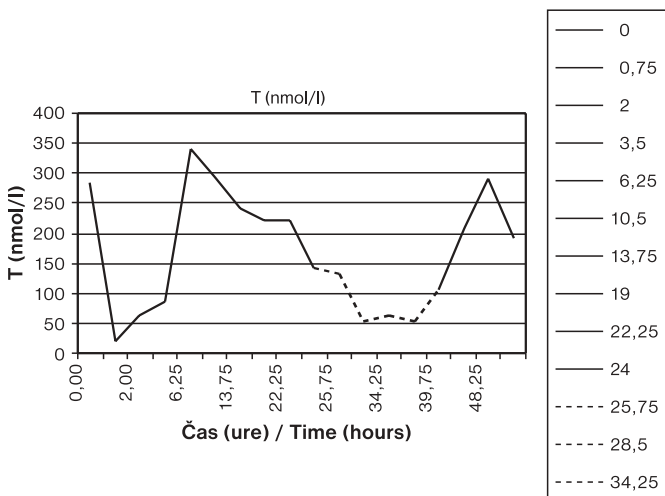
Table 3. Individual calculations related to the results in Table 2.

Izračuni	A-test	B-test
Calculations	Test A	Test B
T/E	9,9	10,7
A/T	40,6	38,8
A/Etio	1,8	1,6
DHT/E	0,5	0,4
DHT/Etio*1000	2,2	1,6
5 α /5 β	0,7	0,7

Razpr. 4. Primerjava dveh prejšnjih analiz z nenapovedano kontrolo dopinga.

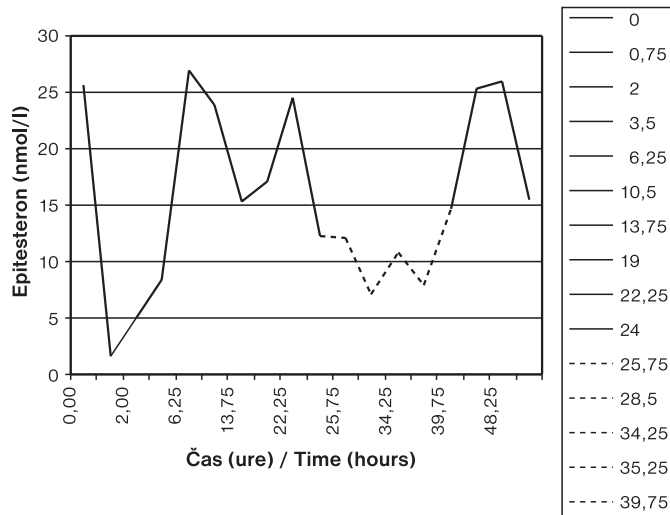
Table 4. Comparison between two previous analyses and unannounced doping test.

Preiskava	Tekmovanje	Tekmovanje	Nezapovedana kontrola
Test	Competition	Competition	Unannounced test
Vzorec	A	B	A
Sample			
Presejalni testi			
Screening tests			
Androsteron	2906	2338	2461
Androsterone			
Etioholanon	1637	1516	2006
Etiocholanone			
Testosteron	71,7	61,6	67,4
Testosterone			
Epitestosteron	7,2	5,7	6,4
Epitestosterone			
5 α -androstan-3 α ,17 β -diol	46,5	43,6	49,9
5 α -androstan-3 α ,17 β -diol			
5 β -androstan-3 α ,17 β -diol	65,5	56,2	60,4
5 β -androstan-3 α ,17 β -diol			
Izračuni			
Calculations			
T/E	9,9	10,7	10,5
A/T	40,6	38,8	36,5
A/Etio	1,8	1,6	1,1



Sl. 6. Krivulja sprememb koncentracije testosterona v urinu v odvisnosti od časa.

Figure 6. Graph showing testosterone concentration changes in urine in relation to time.



Sl. 7. Krivulja sprememb koncentracije epitestosterona v urinu v odvisnosti od časa.

Figure 7. Graph showing epitestosterone concentration changes in urine in relation to time.

Razpr. 5. Rezultati posameznih določitev v urinu med tridnevno testiranjem.

Table 5. Results of individual hormone detection in urine during 3-day testing (in nl/ml and nmol/l).

Vzorec Sample	t (h)	E2 (pmol/l)	T (nmol/l)	DHT (nmol/l)	DHEA-S (nmol/l)	E (nmol/l)	A (nmol/l)
1	0	765,5	285,81	12,666	176,3	25,693	9560,47
2	0,75	40,47	20,79	0,929	12,6	1,63	902,93
3	2	99,74	62,265	3,099	44,6	4,958	2262,43
4	3,5	170,74	85,12	4,751	77,4	8,426	3805,06
5	6,25	808,55	341,25	16,664	260,1	26,976	13715,19
6	10,5	860,2	293,475	15,666	259,8	23,856	14290,87
7	13,75	748,81	240,835	11,534	155,2	15,326	9126,96
8	19	488,84	220,185	10,191	137,1	17,025	7469,11
9	22,25	361,42	220,675	11,12	168	24,445	7741,8
10	24	183,27	143,185	6,71	87,9	12,309	4581,78
11	25,75	237,03	131,005	8,19	70,1	12,067	4787,71
12	28,5	152,7	52,115	5,509	60,8	7,039	4153,1
13	34,25	413,21	63,00	6,301	10,7	10,818	5627,37
14	35,25	152,26	51,31	3,064	47,5	7,906	3247,25
15	39,75	208,5	106,68	5,096	75,1	14,598	4885,64
16	46,5	365,98	207,585	9,813	134,3	25,277	7445,66
17	48,25	468,1	290,605	12,360	169,2	25,902	10021,35
18	49,75	199,92	193,305	8,711	99,3	15,43	6193,39

Razpr. 6. Rezultati posameznih določitev v krvi med tridnevno testiranjem.

Table 6. Results of individual hormone detection in blood during 3-day testing.

Vzorec Sample	Dan Day	Ura Time	Čas v urah Time (h)	T (nmol/l)	E2 (pmol/l)	LH (U/l)	FSH (U/l)
1	1. dan Day 1	8 h 35 min 8.35 a. m.	0,00	8,159722	40,51471	2,95	5,4
2	1. dan Day 1	11 h 50 min 11.50 a. m.	3,75	6,979167	45,80882	2,52	4,9
3	1. dan Day 1	16 h 00 min 4.00 p. m.	7,5	6,597222	44,33824	2,77	4,95
4	2. dan Day 2	8 h 50 min 8.50 a. m.	24,25	8,75	44,63235	5,67	6,22
5	2. dan Day 2	11 h 50 min 11.50 a. m.	27,25	3,75	46,58088	3,72	5,39
6	2. dan Day 2	16 h 30 min 4.30 p. m.	32	2,152778	41,54412	4,11	5,91
7	3. dan Day 3	8 h 45 min 8.45 a. m.	48,25	9,340278	62,94118	4,63	7,16
8	3. dan Day 3	11 h 50 min 11.50 a. m.	51,25	11,63194	63,86029	4,14	7,34

Razpr. 7. Rezultati posameznih izračunov za urin med tridnevno testiranjem.

Table 7. Results of individual calculations for urine during 3-day testing.

Vzorec Sample	t (h)	T/E	A/T	T/Creat.	DHT/E
1	0	11,12	33,45	20,31	0,493
2	0,75	12,75	43,43	25,83	0,57
3	2	12,49	36,33	19,87	0,625
4	3,5	10,10	44,7	17,81	0,564
5	6,25	12,65	40,19	17,54	0,618
6	10,5	12,30	48,7	15,39	0,657
7	13,75	15,71	37,9	16,27	0,753
8	19	12,93	33,92	17,31	0,599
9	22,25	9,03	34,92	21,13	0,455
10	24	11,63	32	27,33	0,545
11	25,75	10,86	36,55	20,25	0,679
12	28,5	7,4	79,69	9,09	0,783
13	34,25	5,82	89,32	5,68	0,582
14	35,25	6,49	63,28	5,93	0,388
15	39,75	7,31	45,8	8,03	0,349
16	46,5	8,21	35,87	14,57	0,388
17	48,25	11,21	34,48	18,73	0,477
18	49,75	12,53	32,04	20,74	0,564

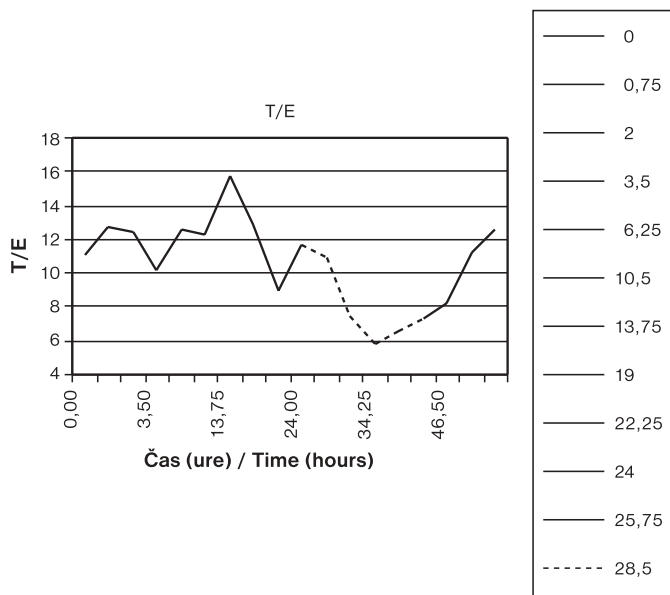
Razpravljanje

Preiskovancu smo urin zbirali tri dni. Prvi dan smo zbrali sedem vzorcev in zabeležili čas odvzema. Drugi dan smo po odvzetem 8., 9. in 10. vzorcu naredili test s ketokonazolom. Isti dan smo preiskovancu odvzeli še 11., 12., 13., 14. in 15. vzorec. Tretji dan smo spravili za analizo še tri vzorce, čas odvzema smo zabeležili.

Kri smo preiskovancu vzeli prvi dan trikrat, in sicer ob 8.35 1.vzorec, ob 11.50 drugi vzorec in ob 16.00 tretjega. Tudi drugi dan smo kri vzeli ob približno enakih urah kot prvi dan preiskave. Pet minut po odvzemu 4. vzorca krvi (prvega drugi dan) smo športniku dali ketokonazol. Nato smo drugi dan vzeli še dvakrat kri (5. in 6. vzorec). Tretji dan smo preiskovancu vzeli še dva vzorca, spet ob približno enakih urah kot prva dva vzorca prvi in drugi dan (7. in 8. vzorec). Če je povišano razmerje T/E športnika naravno prirojena motnja, se koncentracija testosterona v urinu in krvi po zaužitju ketokonazola zniža (drugi dan), hkrati se zniža razmerje T/E. Tretji dan se koncentracije T v serumu ter urinu in razmerje T/E vrnejo na fiziološke vrednosti športnika. Če koncentracije T v urinu in serumu po zaužitju ketokonazola ostanejo povišane in s tem tudi razmerje T/E, se primer športnika potrди kot primer jemanja nedovoljenih poživil.

Testosteron (ref. vrednosti: 138,8–208,2 nmol/l)

Rezultati dopiške kontrole vzorca, odvzetega po tekmovanju, so pokazali, da je koncentracija T v urinu športnika nekaj nad zgornjo mejo referenčnega ob-



Sl. 8. Krivulja sprememb razmerja testosteron/epitestosteron v urinu v odvisnosti od časa.

Figure 8. Graph showing testosterone/epitestosterone ratio changes in relation to time.

močja (248,96 oz. 213,88). Ko je bila dva meseca po tekmovanju opravljena nenapovedana dopinška kontrola v Ljubljani, je bila koncentracija T v urinu primerljiva z rezultati predhodnega testiranja (234,03 nmol/l). Rezultati naše preiskave so pokazali pri 1., 6., 7., 8. in 9. vzorcu podobne rezultate. Kmalu po odvzetem 10. vzorcu smo izvedli test s ketokonazolom. Približno tri ure po zaužitju ketokonazola smo pri 12. ter nato še pri 13. in 14. vzorcu zabeležili občuten padec koncentracije T v urinu. Ketokonazol je preko inhibicije citokrom P450 encimskega sistema povzročil zmanjšano sintezo T, kar smo v urinu zaznali čez tri ure. Tretji dan so se vrednosti zopet začele dvigovati in pri analizi 16., 17. in 18. vzorca smo dobili rezultate, primerljive z rezultati preiskave takoj po tekmovanju. Učinek zdravilne učinkovine je upadel in sinteza T je zopet potekala nemoteno.

Pri analizi seruma smo ugotovili, da so koncentracije T, ki smo jih izmerili v vzorcih, odvzetih prvi dan preiskave, celo nekoliko nižje od spodnje meje referenčnega območja (13,8 nmol/l). Po opravljenem testu s ketokonazolom se je koncentracija T v serumu tri ure po zaužitju zdravilne učinkovine občutno zmanjšala (5. vzorec). Najnižjo vrednost smo izmerili 8 ur po zaužitju ketokonazola (6. vzorec). Tretji dan, ko zdravilna učinkovina ni več delovala, so se vrednosti bistveno povečale, kar je dokaz, da je sinteza T spet potekala nemoteno.

Epitestosteron

Pri analizi rezultatov E v urinu smo ugotovili, da so rezultati, dobljeni v vzorcu, odvzetem po tekmovanju, podobni rezultatu nenapovedane kontrole. Vrednosti, ki smo jih dobili v naši preiskavi, zelo nihajo. Tudi tukaj je koncentracija E v urinu tri ure po testu s ketokonazolom nekoliko padla (12. vzorec) in se vrnila na višje vrednosti dan kasneje. Vendar pa tukaj padec ni bil tako izrazit kot pri T. Iz tega lahko sklepamo, da ketokonazol učinkuje mnogo močnejše na sintezo T kot na koncentracijo njegovega stereoizomera v urinu. Na splošno je koncentracija E v urinu precej nizka.

Tako v vzorcih urina kot v vzorcih seruma smo naredili posamezne izračune, ki nam pomagajo pri končni odločitvi o tem, ali je bil športnik na tekmovanju pod vplivom dopinga ali gre

zgolj za prirojeno endokrinološko motnjo v njegovem organizmu.

Za nas je bil predvsem pomemben izračun razmerja T/E v urinu, saj je le-ta bistvenega pomena pri izvedbi našega testiranja. Ugotovili smo, da je bilo razmerje T/E takoj po tekmovanju in po nenapovedani kontroli v Ljubljani vedno nad 9,0. Tudi v naši raziskavi smo v prvih enajstih vzorcih ugotovili razmerje, ki je bilo vedno večje od 9,0, kar je nad dovoljeno mejo 6,0. V 12. vzorcu (4 ure po jemanju ketokonazola) se je razmerje občutno zmanjšalo, še manjše smo izmerili v 13. vzorcu (10 ur po jemanju). V 14. vzorcu (11 ur po jemanju) se je razmerje T/E glede na predhodni vzorec minimalno povečalo. Tretji dan so se vrednosti počasi začele približevati prvim enajstim vrednostim naših vzorcev. Tako smo pokazali, da je ketokonazol dejansko inhibiral sintezo testosterona. Je mnogo močnejše deloval na testosteron kot na epitestosteron. Šele pri 13. vzorcu, ko je vrednost T/E dosegla svoj minimum, je bil rezultat pod dovoljeno mejo 6,0 (5,82). Po prenehanju delovanja ketokonazola se je sinteza testosterona zopet normalizirala in vrednosti so se zopet vrnila na začetno raven. Glede na to, da smo zabeležili padec testosterona tako v urinu kot v krvi ter s tem tudi občuten padec razmerja T/E v urinu ter takoj po normaliziranju steroidogeneze vrnitev vseh treh vrednosti na začetne vrednosti, lahko trdimo, da preiskovanec ni jemal nedovoljenih anabolikov. V našem primeru gre za naravno povišano razmerje T/E. Bi pa povišano razmerje T/E prej pripisali zmanjšani koncentraciji E v urinu kot pa zvišani koncentraciji T v urinu.

Da bi našo ugotovitev še podkrepili, smo naredili še nekatere druge izračune. Pri izračunu razmerja A/T v urinu smo ugotovili primerljivost rezultatov tako na vzorcu, odvzetem takoj po tekmovanju, kot na nenapovedani kontroli malo kasneje. Primerljive rezultate smo dobili tudi pri naši raziskavi, in sicer za prvih enajst vzorcev. Glede na to, da je ketokonazol mnogo močnejše deloval na T kot na A, smo pri 12. vzorcu (4 ure po testu) pričakovano dobili približno dvakrat višje vrednosti. Maksimum smo pričakovano (glede na rezultate T/E) dobili pri 13. vzorcu. Vrednosti so se vrnila na začetne vrednosti šele 3. dan (zadnja dva vzorca). Naredili smo še izračune T/Creat v urinu. Tudi tukaj so si bili količniki v prvih enajstih izmerjenih vzorcih zelo podobni. Sledil je pričakovani padec v 12. vzorcu (za polovico) ter minimum v 13. vzorcu (skoraj 4-kratni padec) ter nato vrnitev izračunov tretji dan na vrednosti iz prvega dne. Glede na to, da ketokonazol na koncentracijo kreatinina ne vpliva, so rezultati pričakovani. Rezultati razmerij A/T ter T/Creat sovpadajo z rezultati razmerij T/E, s čimer smo še dodatno potrdili ugotovitev, da športnik v času tekmovanja ni bil pod vplivom nedovoljenih sredstev.

Naredili smo še izračune DHT/E v urinu. Posamezne vrednosti tukaj precej nihajo, kar bi lahko pripisali nihanju koncentracije tako E kot DHT.

Izračune smo naredili tudi v serumu. Pri pregledu izračunov T/LH smo ugotovili, da so si vrednosti, izmerjene v posameznih vzorcih prvi in tretji dan, zelo podobne. Pri 5. vzorcu (3 ure po aplikaciji) se je vrednost znižala za več kot polovico, pri 6. vzorcu (8 ur po jemanju) pa se je vrednost znižala za približno 5-krat. Še en dokaz več, da je ketokonazol občutno zavrl sintezo T. Skoraj identične rezultate smo po pričakovanih dobili pri analizi izračunov T/E2 ter T/FSH. Pri 5. vzorcu smo zabeležili v obeh primerih približno 2-krat nižji rezultat, pri 6. odvzetem vzorcu pa približno 4-krat nižji rezultat. Vrednosti iz prvega in tretjega dne so si zelo podobne.

Zaključki

Glede na to, da so vrednosti T v urinu in krvi ter vrednosti T/E po vnosu ketokonazola padle in so se po prenehanju delovanja zdravila vrnila na vrednosti pred vnosom ketokonazola,

menimo, da ne gre za jemanje nedovoljenih sredstev. Poleg tega so se koncentracije v vseh ostalih izmerjenih vzorcih ujemale s prej omenjenimi koncentracijami. Tudi posamezni izračuni so se spreminjali v skladu z izračunom T/E. V našem primeru lahko govorimo o prirojeni endokrinološki motnji posameznika. Napako morda lahko najdemo v delovanju skorje nadledvične žleze, ki med drugim izloča tudi androgene ali morda v delovanju Leydigovih celic v testisih, ki izločajo več kot 95% T. Ker so koncentracije T v urinu le malo nad zgornjo mejo referenčnega območja (v krvi so celo malo pod spodnjo mejo), vrednosti T/E pa precej previsoke, pripisujemo previsoko razmerje T/E bolj nižji koncentraciji E kot pa previsoki koncentraciji T.

Literatura

- Donike M, Barwald KR, Klostermann K, Schanzer W, Zimmermann J. Nachweis von exogenem Testosteron. In: Heck H, Hollmann W, Liesen H eds. Sport: Leistung und Gesundheit. Köln, Germany, 1983: 293-8.
- Johnson MD. Steroids. Adolescent Med 1991 Feb; 2: 79-93.
- Goldfien A. The gonadal hormones & inhibitors. In: ed. Basic and clinical pharmacology. Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1987: 461-83.
- Ruzicka L, Goldberg MW, Rosenberg HR. Sexualhormone X. Herstellung des 17-Methyltestosteron und anderer Androsten und Androstenderivate. Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und männlicher Hormonwirkung. Helv Chim Acta 1935; 18: 1487-98.
- Vischer E, Meystre C, Wettstein A. Herstellung weiterer 1-Dehydrosteroid auf mikrobiologischen Wege. Helv Chim Acta 1955; 38: 1502-6.
- Meystre C, Frey H, Voser W, Wettstein A. Gewinnung von 1,4-Bisdehydro-3-oxo-steroiden. Helv Chim Acta 1956; 39: 734-42.
- Brown TR, Spinola-Castro A, Berkovitz GD. Androgen receptor in cultured human testicular fibroblasts. J Clin Endocrinol Metab 1985; 61: 134-41.
- Slaunwhite WR, Sandberg AA. Metabolism of 4-¹⁴C-testosterone in human subjects. III. Fate of androsterone and etiocholanolone. J Clin Endocrinol Metab 1958; 18: 1056-66.
- Baulieu EE, Mauvais-Jarvis F. II. Metabolism of testosterone-4-¹⁴C and androst-4-ene-3,17-dione-1,2-³H. J Biol Chem 1964; 239: 1083-9.
- Mauvais-Jarvis F, Floch HH, Bercovici JP. Studies on testosterone metabolism in human subjects with normal and pathological sexual differentiation. J Clin Endocrinol Metab 1968; 28: 460-71.
- Zumoff B, Bradlow HL, Finkelstein J, Boyar RM, Hellman L. The influence of age and sex on the metabolism of testosterone. J Clin Endocrinol Metab 1976; 42: 703-6.
- Kochakian CD. A steroid review. Metabolite of testosterone: significance in the vital economy. Steroids 1990; 55: 92-7.
- Rendic S. Metabolism of testosterone. In: Donike M ed. Proceedings of the 10th Cologne workshop on dope analysis, 1992. Cologne: Sport und Buch Strauss, 1993: 27-47.
- Agiulera R, Hatton CK, Catlin DH. Detection of epitestosteron doping by isotope ratio mass spectrometry. Clin Chem 2002; 48: 629-36.
- Auterhoff, Knabe, Holtje. Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 1994: 793-4.
- Dorland's Illustrated Medical Dictionary.
- Rocha-Monteiro P, Reis-Henriques M, Coimbra J. Polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit in vitro ovarian steroidogenesis in the flounder (*Platichthys flesus* L.). Aquatic Toxicol 2000; 48: 549-59.
- Strauss RH. Anabolic steroids. In: ed. Drugs and performance in sports. Philadelphia: W. B. Saunders, 1987: 5: 59-67.
- Yesalis CE, Wright JE, Bahrke MS. Epidemiological and policy issues in the measurement of the long term health effects of anabolic-androgenic steroids. Sports Medicine 1989; 8: 129-38.
- Kibble MW, Ross MB. Adverse effects of anabolic steroids in athletes. Clinical Pharmacy 1987; 6: 686-92.
- Brower KJ, Catlin DH, Blow FC, Eliopoulos GA, Beresford TP. Clinical assessment and urine testing for anabolic-androgenic steroid abuse and dependence. American Journal Of Drug And Alcohol Abuse 1991; 17: 161-71.
- Dehennin L, Matsumoto AM. Long-term administration of testosterone enanthate to normal men: alterations of the urinary profile of androgen metabolites potentially useful for detection of testosterone misuse in sport. J Steroid Biochem Mol Biol 1993; 44: 179-89.

Priloga 1

Seznam prepovedanih snovi in tehnik

(Veljaven od 1. januarja 2003)

Razvrstitev snovi v razrede in metode

- Farmakološki razredi prepovedanih substanc**
 - Poživila
 - Narkotiki
 - Anabolični agensi
 - Diuretiki
 - Peptidni hormoni, mimetiki in sorodne spojine
 - Dejavniki z antiestrogeno aktivnostjo
 - Maskirni agensi
- Prepovedane tehnike**
 - Povečevanje prenosa kisika
 - Farmakološke, kemične in fizične manipulacije
 - Genski doping
- Farmakološki razredi, pri katerih so določene omejitve**
 - Alkohol
 - Kanabinoidi
 - Lokalni anestetiki
 - Glukokortikosteroidi
 - Beta zaviralci
- Povzetek mejnih koncentracij določenih snovi, nad katerimi nastopi razlog za postopek kaznovanja**

efedrin	> 10 µg/ml	(> 10 mg/L)
epitestosteron	> 200 ng/ml	(> 200 µg/L)
fenilpropanolamin	> 25 µg/ml	(> 25 mg/L)
karboks-THC	> 15 ng/ml	(15 µg/L)
katin	> 5 µg/ml	(> 5 mg/L)
kofein	> 12 µg/ml	(> 12 mg/L)
metilefedrin	> 10 µg/ml	(> 10 mg/L)
morfin	> 1 µg/ml	(> 1 mg/L)
19-norandrosteron	> 2 ng/ml	(> 2 µg/L)
		pri moških
19-norandrosteron	> 5 ng/ml	(> 5 µg/L)
		pri ženskah
psevdoefedrin	> 25 µg/ml	(> 25 mg/L)
salbutamol (stimulans)	> 100 ng/ml	(> 100 µg/L)
salbutamol (anabolični)	> 1000 ng/ml	(> 1000 µg/L)
T/E razmerje	> 6	
- Snovi oziroma metode, ki so prepovedane zunaj tekmovanja**
 - Anabolični agensi
 - Diuretiki
 - Peptidni hormoni, mimetiki in analogi
 - Maskirni agensi
 - Prepovedane tehnike

I. Farmakološki razredi prepovedanih substanc

A. Poživila

a) Prepovedane snovi iz razreda A.a so naslednje spodaj citirane, in sicer izomere L- in D-:

amifenazol	amfetamini
bromantan	karfedon
kofein*	kokain
efedrini**	fencamfamin
mesocarb	pentilentetrazol
pipradol	in sorodne snovi

* Pozitiven rezultat je v primeru kofeina odvisen od koncentracije kofeina v urinu. Koncentracija kofeina ne sme presežati 12 µg/ml oziroma 12 mg/l.

** Za katin velja, da je rezultat pozitiven, če v urinu najdemo več kot 5 µg/ml oziroma 5 mg/L. Za efedrin in metilefedrin velja, da je rezultat

pozitiven, če v urinu najdemo več kot 10 µg/ml oziroma 10 mg/L. Za fenilpropanolamin in psevdofedrin velja, da je rezultat pozitiven, če v urinu najdemo 25 µg/ml oziroma 25 mg/L.

b) Prepovedane snovi iz razreda A.b so naslednje spodaj citirane, in sicer izomere L- in D-:

formetrol*** salbutamol***
salmeterol*** terbutalin*** in sorodne substance

*** Uporaba teh substanc je dovoljena samo z inhalacijo, in sicer za zdravljenje astme ali nastale astme zaradi povečane fizične aktivnosti. V primeru uporabe teh substanc mora zdravnik pred tekmovanjem v pisni obliki predložiti dokument pristojnemu medicinskemu strokovnemu telesu.

Opozorilo: Vsi imidazolski pripravki se lahko nanašajo lokalno, vazokonstriktorji se lahko uporabijo z lokalnimi anestetiki; lokalni pripravki (nazalni, oftalmologi, rektalni) adrenalina so dovoljeni. Bupropion, sinefrin in fenilefrin so dovoljeni.

B. Narkotiki

Buprenorfin	dekstromoramid
diamorfin (heroin)	metadon
morfin	pentazocin
petidin in sorodne substance	

Opozorilo: kodein, dekstrometorfan, dekstropropoksifen, dihidrokodein, difenoksilat, etilmorfin, folkodin in propoksifen in tramadol so dovoljeni.

C. Anabolični agensi

1. Anabolični androgeni steroidi

a) clostebol	fluoksimesteron
metandienon	metenolon
nandrolon	19-norandrostendiol
19-norandrostendion	oksandrolon
stanozolol in sorodne substance	
b) androstendiol	androstendion
dehidroepiandrosteron (DHEA)	dihidrottestosteron
testosteron* in sorodne substance	

Dokaz, ki ga dobimo iz metaboličnih profilov in/ali z meritvami izotopnega razmerja, se lahko uporabi kot končni dokaz.

* Prisotnost testosterona (T) do epitestosterona (E) v razmerju, večjem kot šest (6) proti ena (1) v urinu tekmovalca, je lahko znamenje za jemanje anaboličnih agensov in je prekršek, če se ne dokaže, da je to razmerje posledica fizioloških ali patofizioloških stanj, npr. premajhnega izločanja epitestosterona, androgenizirajočega tumorja ali pomanjkanja ustreznih encimov.

V primeru, da je razmerje T/E višje od 6, lahko pooblaščen oseba izvede preiskave, preden razglasi vzorec za pozitiven. Potrebno je sestaviti popolno poročilo, ki vsebuje rezultate prejšnjih testov, dodatnih testov in rezultate endokrinoloških raziskovanj. V primeru, ko predhodni rezultati niso dosegljivi, moramo športnika nenapovedano testirati najmanj enkrat mesečno tri mesece. Rezultate teh preiskav moramo vnesti v poročilo. Če športnik noče sodelovati v raziskavah, tak rezultat razglasimo kot pozitiven.

2. Beta-2 agonisti

clenbuterol salbutamol*

* Koncentracija salbutamola v urinu, ki je večja kot 1000 ng/ml prostega (nesulfatnega), je doping.

D. Diuretiki

acetazolamid	bumetanid
etakrinska kislina	furosemid

hidroklortiazid	klortalidon
manitol*	mersalil
spironolakton	triametren in sorodne substance

* orepovedan z intravensko aplikacijo.

E. Peptidni hormoni, mimetiki in analogi

1. Humani horionski gonadotropin - HCG prepovedan samo pri moških
2. Hipofizni in sintetični gonadotropini - LH - prepovedan samo pri moških
3. Kortikotropini - ACTH, tetracosactide
4. Rastni hormon - Somatotropin - GH
5. Inzulinu podobni rastni dejavniki - IGF-1 in vsi sorodni sproščajoči dejavniki in analogi
6. Eritropoetin - EPO
7. Inzulin*

* Inzulin je dovoljen samo za zdravljenje od inzulina odvisne sladkorne bolezni. Endokrinolog ali klubski zdravnik mora v takem primeru podati pisno potrdilo.

Prisotnost nenormalne koncentracije endogenega hormona ali njegovega diagnostičnega označevalca v urinu športnika je prestopok, dokler se jasno ne dokaže, da je posledica fiziološkega ali patofiziološkega stanja.

F. Agensi z antiestrogeno aktivnostjo

aromatazni inhibitorji	ciklofenil
klomifen	tamoksifen
so prepovedani samo pri moških	

G. Maskirni agensi

diuretiki	epitestosteron
plazemski ekspanderji	probenecid

II. Prepovedane tehnike

A. Pospeševanje prenosa kisika

- a) Krvni doping: Krvni doping je transfuzija krvi, rdečih krvnih celic, umetnih prenašalcev kisika ali sorodnih krvnih pripravkov športniku v primeru, ko to iz zdravstvenih razlogov ni potrebno.
- b) Dajanje pripravkov, ki povečujejo vnos, transport in oddajo kisika, kot npr. modificirani hemoglobini, mikroinkapsulirani hemoglobinski proizvodi, perfluorne kemikalije in RSR 13.

B. Farmakološka, kemična in fizična manipulacija

V to skupino dopinga spadajo tiste substance in/ali tehnike, ki vplivajo na urinski vzorec, ki ga uporabljamo za kontrolo dopinga. Primeri nedovoljenih metod so kateterizacija, zamenjava urinskega vzorca, inhibicija ledvičnega izločanja, npr. z uporabo prebenecida in analogov, in jemanje epitestosterona.

C. Genski doping

Genski oziroma celični doping je definiran kot neterapevtska uporaba genov, genskih elementov in/ali celic z namenom povečati športnikovo sposobnost.

III. Farmakološki razredi, pri katerih so določene omejitve

A. Alkohol

V dogovoru z mednarodnimi športnimi zvezami in odgovornimi strokovnimi telesi se lahko izvajajo testi na etanol. Rezultati lahko sprožijo sankcije.

B. Kanabinoidi

Kjer pravila predvidevajo, se opravi test na prisotnost kanabinoidov (marihuane in hašiša). Na olimpijskih igrah se ti testi izvajajo. V primeru, da je koncentracija 11-nor-delta-9-tetrahidroksikanabinol-9-karboksilne kisline v urinu večja kot 15 ng/ml (15 µg/l), je rezultat pozitiven.

C. Lokalni anestetiki

Injekcije lokalnih anestetikov so dovoljene pod naslednjimi pogoji:

- da se ne uporabi kokain, lahko pa se uporablja bupivakain, lidokain, mepivakain, prokain itd. Vazokonstriktorji (npr. adrenalin) se lahko uporabljajo v kombinaciji z lokalnimi anestetiki;
- dovoljene so le lokalne ali intraartikularne injekcije;
- le kadar je medicinsko upravičeno (podrobnosti z diagnozo – pred tekmovanjem oziroma takoj po njem, če je bila injekcija dana med tekmovanjem), v pisni obliki predložiti odmerek in način dajanja pristojnemu medicinskemu strokovnemu telesu.

D. Glukokortikosteroidi

Sistemska raba glukokortikosteroidov je prepovedana. Dovoljeno je:

- za lokalno rabo (analno, nazalno, ušesa, koža, oči), ne pa rektalno
- z inhalacijo
- z intraartikularno ali lokalno injekcijo

E. Blokatorji beta receptorjev

Nekaj primerov blokatorjev beta receptorjev:

acebutolol alprenolol
atenolol labetalol
metoprolol nadolol
oksprenolol propranolol

sotalol in sorodne substance
V skladu s pravili mednarodnih športnih zvez se bodo izvajali testi v nekaterih športih po presoji odgovornih strokovnih teles. Pozitiven rezultat lahko vodi do sankcij.

Razširjeni seznam prepovedanih substanc

Pozor: To ni popoln seznam prepovedanih substanc. Veliko substanc, ki se ne pojavijo na seznamu, je prepovedanih in se skrivajo pod pojmom »in sorodne substance«. Ta pojem predstavlja substance, ki so navedenim sorodne po kemijski obliki ali po farmakološkem delovanju.

Vsem športnikom svetujemo, da jemljejo le zdravila, ki jih predpiše zdravnik, in da se prepričajo, da ne vsebujejo substanc, ki so prepovedane.

Kadarkoli mora športnik na kontrolo dopinga, je nujno, da prijavi vsa zdravila, ki jih je v zadnjem času jemal (3 do 10 dni).

STIMULANSI

Amineptin
Amfepramon
Amfetamin
Amifenazol
Bambuterol
Bromantan
Bupropion
Karfedon
Kofein
Katin
Kokain
Kropropamid
Krotetamid
Efedrin
Etamivan
Etilamfetamin
Etilefrin
Fencamfamin
Fenitilin
Fendimetrazin
Fenfluramin
Fenilefrin
Fenilpropanolamin
Fentermin
Foledrin
Formoterol
Heptaminol
Mdea
Mefenoreks
Mefentermin
Mesocarb
Metamfetamin
Metoksifenamin
Metilefedrin
Metilendioksiamfetamin
Metilfenidat
Niketamid
Norfenfluramin
Parahidroksiamfetamin

Pemolin
Pentilentetrazol
Pipradol
Prolintan
Propilheksedrin
Psevdoefedrin
Reproterol
Salbutamol
Salmeterol
Selegilin
Strihnin
Terbutalin

NARKOTIKI

Buprenorfin
Dekstromoramid
Diamorfin
Hidrokodeon
Metadon
Morfin
Pentazocin
Petidin

**ANABOLIKI
β,2-AGONISTI**

Androstendiol
Androstendion
Bambuterol
Boldenon
Clenbuterol
Clostebol
Danazol
Dehidrokloretiltestost.
Dehidroepiandrosteron
Dihidrotestosteron
Drostanolon
Fenetrol
Fluoksimestron
Formebolon
Formoterol

Gestrinon
Mesterolone
Metandion
Metenolon
Metandriol
Metiltestosteron
Miboleron
Nandrolon
19-Norandrostendiol
19-Norandrostendion
Noretandrolon
Oksandrolon
Oksimestron
Oksimetolon
Reproterol
Salbutamol
Salmeterol
Stanazolol
Terbutalin
Testosteron
Trenbolon

β BLOKATORJI

Acebutolol
Alprenolol
Atenolol
Betaksolol
Bisoprolol
Bunolol
Carteolol
Celiprolol
Esmolol
Labetol
Levobunolol
Metipranolol
Metoprolol
Nadolol
Oksprenobol
Pindolol
Propranolol

Sotalol
Timolol
Karvedilol

DIURETIKI

Acetazolamid
Bendroflumetiazid
Bumetanid
Canrenon
Clortalidon
Etakrinska kislina
Furosemid
Hidroklortiazid
Indapamid
Manitol
Mersalil
Spironolakton
Triamteren

MASKIRNI AGENSI

Hidroksietil škrob
Epitestosteron
Probenecid
Diuretiki

PEPTIDNI HORMONI

ACTH
EPO
hGH
Inzulini
IGF in rastni dejavniki
LH*
hCG*
Aromatazni inhibitorji
Ciklofenil*
Klomifen*
Tamoksifen*

* Prepovedani samo pri moških