



Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής
Σχολή Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΉ:
ΈΛΕΓΧΟΣ ΑΘΛΗΤΙΚΩΝ
ΕΠΙΔΟΣΕΩΝ

Πτυχιακή Εργασία

Αιγάλεω 3/2/2022

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΤΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ: ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΘΛΗΤΙΚΩΝ
ΕΠΙΔΟΣΕΩΝ**

ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΜΟΥΖΑΚΗ ΑΓΑΘΗ 71616064

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΧΟΥΧΟΥΛΑ ΔΗΜΗΤΡΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ	ΚΑΝΕΛΛΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ	ΧΟΥΧΟΥΛΑ ΔΗΜΗΤΡΑ


ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο/η κάτωθι υπογεγραμμένος/η Μουζάκη Αγαθή του Γεωργίου, με αριθμό μητρώου 71616064 φοιτητής/τρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο/Η Δηλών/ούσα



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Τα χρόνια των σπουδών μου ήταν ένα υπέροχο ταξίδι με σκοπό τη γνώση και τις εμπειρίες. Τα εμπόδια ήταν αρκετά όχι όμως αζεπέραστα, όταν ο νους και η ψυχή παραμένουν στο στόχο και όταν έχεις την ευκαιρία να γνωρίζεις εξαιρετικούς ανθρώπους.

Θα ήθελα να αφιερώσω την παρούσα εργασία στην οικογένειά μου, η οποία με στήριξε και ψυχικά και οικονομικά. Με την υπομονή της μητέρας μου, όλα αυτά τα χρόνια να με βοηθά να αντιμετωπίσω τις δυσκολίες μου, και με τη σκληρή δουλειά των γονέων μου, ώστε να μου εξασφαλίσουν τη σωστή εκπαίδευση, κατάφερα να περάσω στο πανεπιστήμιο, όταν οι περισσότεροι πίστευαν ότι δεν θα τα κατάφερα. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον αδελφό μου Παναγιώτη, ο οποίος με τον δικό του τρόπο συνέβαλε σημαντικά στο να καταφέρω να ολοκληρώσω τις σπουδές μου σε μία άλλη πόλη.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω την απεριόριστη εκτίμηση και ευγνωμοσύνη μου σε όλες τις φίλες και φίλους που ήταν δίπλα μου στις δύσκολες εξεταστικές, τα άγχη και την κούραση. Θέλω να ευχαριστήσω την Ελισάβετ, με την οποία κάναμε το ίδιο ταξίδι, για τις πολύτιμες συμβουλές της και τις εμπνευστικές συζητήσεις μας. Τις φίλες μου Γεωργία και Χρύσα, που παρά την απόσταση ήταν δίπλα μου σε όλες τις περιπέτειες και τις προκλήσεις, χαρίζοντάς μου ανεκτίμητες στιγμές. Τον φίλο μου Duard, για την υπομονή του και τη στήριξή του. Είμαι ευγνώμων για τον φίλο μου Σπύρο, για τα γερά εφόδια που μου παρήχε και τις πολύτιμες συμβουλές του.

Σε αυτές τις στιγμές είχα την τύχη να συναντήσω και να εκπαιδευτώ δίπλα σε εξαιρετικούς επιστήμονες μα πάνω από όλα ανθρώπους. Θα ήθελα να εκφράσω την βαθιά εκτίμησή μου σε όλους τους καθηγητές του τμήματός μας, των οποίων οι γνώσεις και η διάθεσή τους να μας τις μεταδώσουν, χάραξαν το δρόμο ώστε να γίνουμε ολοκληρωμένοι επιστήμονες. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια Δ. Χούχουλα, η οποία με δέχτηκε να πραγματοποιήσω την διπλωματική μου εργασία, για όλα τα εφόδια που μας έδωσε.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT.....	8
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1.Φάρμακα	9
1.1.1.Ορισμός φαρμάκου	9
1.1.2.Δράσεις φαρμάκων	9
1.1.3.Λήψη φαρμάκων.....	10
1.2.Ντόπινγκ.	10
1.2.1.Φάρμακο ντοπαρίσματος.	10
1.2.2.Χρήση φαρμάκων από αθλητές και αθλούμενους.....	10
1.2.3.Ντόπινγκ ή Φαρμακοδιέγερση.....	10
1.3.Απαγορευμένες Ουσίες και Μέθοδοι.....	11
1.3.1.Μη εγκεκριμένες ουσίες.	12
1.3.2.Αναβολικοί παράγοντες.	13
1.3.3.Πεπτιδικές Ορμόνες, Αυξητικοί Παράγοντες και σχετικές ουσίες και Μιμητές.	13
1.3.4.B2 αγωνιστές.....	14
1.3.5.Ορμονικοί και μεταβολικοί ρυθμιστές.....	14
1.3.6.Διουρητικά και Παράγοντες Κάλυψης.	14
1.3.7.Χειρισμός αίματος και συστατικών του.....	14
1.3.8.Χημικός και φυσικός χειρισμός.	15
1.3.9.Γονιδιακό ντόπινγκ.	15
1.4.Έλεγχος Ντόπινγκ.....	16
1.4.1.Διαδικασία ελέγχου ντόπινγκ.....	16
2.ΑΝΔΡΟΓΟΝΑ ΑΝΑΒΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ (ΑΑΣ).....	17
2.1.Ορισμος και φυσιολογια	17
2.2.Βιοσύνθεση και μεταβολισμός ενδογενών ΑΑΣ	18
2.2.1.Βιοσύνθεση	18
2.2.2.Μεταβολισμός.....	19
2.3.Εξωγενή ΑΑΣ: Απορρόφηση, Μεταβολισμός, Απέκκριση	20
2.3.1.Απορρόφηση.....	22
2.3.2.Μηχανισμός δράσης.....	22
2.4.Τεστοστερόνη	23
2.5.Παράγωγα Τεστοστερόνη: Μεθυλτεστοστερόνη.....	24
2.6.Νανδρολόνη.....	25

2.7.Παράγωγα Νανδρολόνης: Δεκανοική Νανδρολόνη	25
2.8.Ανδροστενεδιόνη-Ανδροστενεδιόλη	26
3.ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ	27
3.1.Ορισμός και Φυσιολογία.....	27
3.2.Βιοσύνθεση πρωτεϊνικών ορμονών	29
3.3.Έκκριση Πρωτεϊνικών Ορμονών	30
3.4.Κυκλοφορία Πρωτεϊνικών Ορμονών	31
3.5.Μηχανισμός Δράσης – Υποδοχείς.....	31
3.6.Αυξητική Ορμόνη (GH) ή Σωματοτρόπος ορμόνη.....	32
3.6.1.Ορισμός και Φυσιολογία.....	32
3.6.2.GH και Ινσουλινοτρόποι Αυξητικοί Παράγοντες IGF.....	34
3.6.3.Δράσεις Αυξητικής Ορμόνης GH	34
3.6.4.Απορρόφηση- Μεταβολισμός- Απέκκριση.....	35
3.7.Ερυθροποιητίνη (EPO)	35
3.7.1.Ορισμός και Φυσιολογία.....	35
3.7.2.Βιοσύνθεση Ερυθροποιητίνης (EPO)	36
3.7.3.Υποδοχέας Ερυθροποιητίνης (EPO) – EPOR.....	37
3.7.4.Μηχανισμός Δράσης Ερυθροποιητίνης (EPO)	37
3.7.5.Παράγωγα Ερυθροποιητίνης EPO	38
3.8.Ινσουλίνη	39
3.8.1.Ορισμός – Φυσιολογία και Βιοσύνθεση	39
3.8.3.Ινσουλινικοί Υποδοχείς	41
3.8.4.Μηχανισμός Δράσεις Ινσουλίνης – Αναβολικές Ιδιότητες.....	42
3.8.5.Εξωγενής Ινσουλίνη.....	45
4.ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΑΝΑΒΟΛΙΚΩΝ.....	48
4.1.Εισαγωγή	48
4.2.Ενδοκρινολογικές Διαταραχές.....	49
4.3.Αύξηση Κορτιζόλης.....	49
4.4.Παρενέργειες Στο Καρδιαγγειακό Σύστημα.....	50
4.5.Παρενέργειες Στο Ήπαρ.....	51
4.6.Αναβολικά και Καρκίνος	52
4.6.1.DHEA και καρκίνος του προστάτη.....	52
4.6.2.Τεστοστερόνη και καρκίνος του παχέος εντέρου	53
4.6.3.ΑΑΣ και καρκίνος του μαστού	53
4.6.4.Πεπτιδικές ορμόνες και επιθηλιακοί καρκίνοι.....	53
4.7.Αναφυλακτικό Σοκ	54

5.ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ.....	55
5.1.Εισαγωγή	55
5.2.Διαδικασίες Προετοιμασίας των Δειγμάτων.....	56
5.2.1.Στάδιο υδρόλυσης.....	57
5.2.2.Στάδιο εκχύλισης.....	57
5.2.3.Στάδιο παραγωγοποίησης.....	59
5.3.Φασματομετρία Μαζών (MS).....	62
5.3.1.Εισαγωγή.....	62
5.3.2.Οργανολογία φασματομετρίας μαζών.....	63
5.4.Χρωματογραφία.....	70
5.4.1.Εισαγωγή.....	70
5.4.2.Αεροχρωματογραφία (GC).....	71
5.4.3.Οργανολογία αεροχρωματογραφίας.....	72
5.4.4.Υγροχρωματογραφία (LC).....	76
5.5.Αεροχρωματογραφία – Φασματομετρία Μαζών με Τετραπλό Αναλυτή (GC-MS-QqQ).....	78
5.6.Αεροχρωματογραφία-Φασματομετρία Μαζών Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας (GC-HRMS).....	79
5.7.Υγροχρωματογραφία-Φασματομετρία Μαζών Χρόνου Πτήσης (LC/TOF-MS).	80
5.8.Τεχνική ELISA.....	82
5.9.Ανάλυση Τρίχας.....	83
5.10.Αναλυτής Αίματος και Κυτταρομετρία Ροής.....	84
5.10.1.Εισαγωγή.....	85
5.10.2.Αναλυτής αίματος.....	85
5.10.3.Κυτταρομετρία ροής με τη χρήση φθορίζουσών χρωστικών.....	86
6.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	89
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	90

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η χρήση απαγορευμένων ουσιών και μεθόδων, για την αύξηση της αθλητικής απόδοσης ή/και τη βελτίωση της εμφάνισης, είναι αυξημένη τα τελευταία χρόνια. Στα πλαίσια αυτά, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Αντιντόπινγκ, WADA, ανανεώνει και ανακοινώνει κάθε χρόνο την Λίστα Απαγορευμένων Ουσιών και Μεθόδων. Σκοπός της παρούσας βιβλιογραφικής πτυχιακής εργασίας, είναι η ενημέρωση σχετικά με τη φυσιολογία και τον τρόπο δράσης των αναβολικών, η εξήγηση του τρόπου ανίχνευσής τους, κατά τον έλεγχο ντόπινγκ, αλλά και η προειδοποίηση σχετικά με τους κινδύνους των σκευασμάτων αυτών. Στην παρούσα ανασκόπηση γίνεται εκτενέστερη αναφορά των πιο διαδεδομένων απαγορευμένων ουσιών και συγκεκριμένα των Ανδρογόνων Αναβολικών Στεροειδών και των Πρωτεϊνικών Ορμονών. Πιο αναλυτικά, μελετάται η φυσιολογία τους, ο τρόπος με τον οποίο μεταφέρονται και συνδέονται με τα κύτταρα, για την εκτέλεση της δράσης τους, καθώς επίσης και ο μεταβολισμός και η απέκκριση τους. Η χρήση αυτών των ουσιών, αλλά και οι πρακτικές που ακολουθούν οι αθλητές και οι αθλούμενοι, εμφανίζουν πολλές παρενέργειες, μερικές από τις οποίες είναι πολύ σοβαρές και μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και στο θάνατο. Οι βασικότερες διαταραχές, που θα αναλυθούν παρακάτω, αφορούν το ενδοκρινολογικό και το καρδιαγγειακό σύστημα, το ήπαρ, την εμφάνιση διαφόρων τύπων καρκίνου και πολλά άλλα. Τέλος, γίνεται εκτενής αναφορά των μεθόδων ανίχνευσης απαγορευμένων ουσιών, κατά τον έλεγχο ντόπινγκ, οι οποίες βασίζονται σε τεχνικές φασματομετρίας και χρωματογραφίας.

ABSTRACT

The use of banned substances and methods to increase athletic performance and / or improve appearance has increased in recent years. In this context, the World Anti-Doping Agency WADA renews and announces the List of Prohibited Substances and Methods every year. The purposes of this thesis are to inform about the physiology and mode of action of anabolic steroids, to explain how to detect them during doping control, and to warn about the dangers of these drugs. In the present review, a more detailed report is made of the most common banned substances, namely Androgenic Anabolic Steroids and Protein Hormones. In more detail, their physiology is studied, the way in which they are transported and connected to cells, to perform their action, as well as their metabolism and response. The use of these substances, as well as the practises followed by athletes, show many side effects, some of which are very serious and can even be fatal. The main disorders, which will be analysed below, concern the endocrine and cardiovascular system, the liver, the appearance of various types of cancer, and much more. Finally, there is an extensive reference to the methods of detection of prohibited substances in doping control, which are based on spectrometry and chromatography techniques.

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρήση ουσιών ή μεθόδων για την αύξηση της αθλητικής απόδοσης ή τη βελτίωση της εμφάνισης, είναι πλέον γεγονός. Ολοένα και περισσότεροι είναι οι άνθρωποι που επιλέγουν την κατανάλωση κάποιου χημικού σκευάσματος, αγνοώντας το αντίκτυπο που μπορεί να έχει στην υγεία τους. Στις μέρες μας παρατηρείται η προτίμηση της χρήσης φαρμάκων παρά τη σκληρή δουλειά και αφοσίωση, για την επίτευξη των στόχων. Όμως η αυθαίρετη χρήση φαρμάκων αναστέλλει τις θεραπευτικές ιδιότητες, παρουσιάζοντας πληθώρα παρενεργειών, βραχυπρόθεσμα ή/και μακροπρόθεσμα. Δυστυχώς, οι σύγχρονες τάσεις, τα πρότυπα και τα ιδανικά της κοινωνίας ωθούν προς αυτή τη κατεύθυνση, βάζοντας την υγεία σε δεύτερη θέση. (Δρογγίτης, 2003)

1.1.Φάρμακα

1.1.1.Ορισμός φαρμάκου

***Φάρμακα** είναι οι χημικές ουσίες που χορηγούνται σε ένα άτομο με σκοπό τη θεραπεία, ή την πρόληψη, ή την διάγνωση μίας νοσηρής κατάστασης ή με σκοπό την υποκατάσταση ουσιών του οργανισμού, καθώς και οι ουσίες που μεταβάλλουν τις βιολογικές λειτουργίες του οργανισμού προς μία επιθυμητή κατεύθυνση. (Τόνγκα, 2012)*

1.1.2.Δράσεις φαρμάκων

Οι δράσεις ενός φαρμάκου μπορεί να είναι πολλές και ο τρόπος που λειτουργεί μέσα στον οργανισμό ποικίλει. Μία ταξινόμηση των δράσεων, με βάση τα αποτελέσματα ως προς τον οργανισμό, τις διακρίνει σε:

- Ωφέλιμες δράσεις, δηλαδή η έκφραση των θεραπευτικών ιδιοτήτων του φαρμάκου.
- Ανεπιθύμητες δράσεις, δηλαδή οι παρενέργειες που μπορεί να υπάρξουν.

Με τον όρο **παρενέργειες**, αναφερόμαστε στη δευτερογενή δράση που εκδηλώνει μία ουσία και μπορούν να ταξινομηθούν σε (Τόνγκα, 2012):

- 1) Ανεπιθύμητες ενέργειες.
- 2) Τοξικές ενέργειες.
- 3) Δράσεις υπερευαισθησίας.
- 4) Δράσεις ιδιοσυγκρασίας.

1.1.3.Λήψη φαρμάκων.

Οι συνηθέστεροι τρόποι λήψης φαρμάκων είναι από το στόμα, που το συναντάμε κυρίως στην περίπτωση των ανδρογονικών αναβολικών στεροειδών (ΑΑΣ) (π.χ. 17α –αλκυλιωμένα), και ως ενέσιμα, που είναι πιο συνηθισμένο στην περίπτωση των πρωτεϊνικών ορμονών (π.χ. ινσουλίνη). Ωστόσο υπάρχουν και ορισμένοι ακόμα τρόποι λήψης φαρμάκων, τους οποίους συναντάμε στο ντόπινγκ σπανιότερα και αφορούν την λήψη υπόθετων, ρινικών σταγόνων κ.α. . Τέλος, ένας σύγχρονος τρόπος λήψης φαρμάκων αποτελεί και η μέθοδος της εμφυτευμένης στο δέρμα αντλίας. (Τόνγκα, 2012) (Μιχαλάκη, 2018)

1.2.Ντόπινγκ.

1.2.1.Φάρμακο ντοπαρίσματος.

Φάρμακο ντοπαρίσματος είναι μία χημική ουσία ή συνδυασμός ουσιών με έντονη φαρμακολογική δράση, που λαμβάνεται ή χορηγείται σε ένα άτομο, με σκοπό την υποκατάσταση ή την ενίσχυση της παραγωγής ουσιών του οργανισμού με ουσίες που μπορούν να μεταβάλλουν τις βιολογικές του λειτουργίες προς μία επιθυμητή κατεύθυνση, όπως για παράδειγμα η ανάπτυξη δύναμης ή στην αύξηση αντοχής. (Τόνγκα, 2012)

1.2.2.Χρήση φαρμάκων από αθλητές και αθλούμενους.

Η χρήση φαρμάκων από αθλητές και αθλούμενους με στόχο την παρέμβαση σε βιολογικές λειτουργίες του οργανισμού ή την αξιοποίηση μίας ορισμένης δράσης, είναι αρκετά συνηθισμένη στις μέρες μας. Η θεραπευτική δράση των φαρμάκων είναι η διόρθωση ανισορροπιών σε βιοχημικά συστήματα. Επομένως, στην περίπτωση των υγιών ατόμων η χρήση ουσιών, όπως τα στεροειδή και οι πεπτιδικές ορμόνες, διαταράζουν την ορμονική ισορροπία, γεγονός που συνοδεύεται τόσο από τις επιθυμητές αναβολικές ιδιότητες όσο και από τις παρενέργειες. Οι λόγοι για τους οποίους ένας αθλητής ή αθλούμενος επιλέγει τη χρήση χημικών σκευασμάτων είναι πολλοί και ποικίλουν από οικονομικούς, κοινωνικούς κ.α.. Στην περίπτωση των φαρμάκων που βελτιώνουν την απόδοση, ο τύπος που επιλέγεται εξαρτάται από τη φαρμακολογική δράση του και από το άθλημα. (Τόνγκα, 2012)

1.2.3.Ντόπινγκ ή Φαρμακοδιέγερση.

Η **φαρμακοδιέγερση** αφορά την χρήση ουσιών που χρησιμοποιούνται για τις αναβολικές τους ιδιότητες. Το ντόπινγκ πέρα από την κατανάλωση φαρμάκων αφορά επίσης και απαγορευμένες μεθόδους, οι οποίες στοχεύουν στην αύξηση της αθλητικής απόδοσης. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Αντιντόπινγκ, WADA, στο άρθρο 1 του 2021, **ντόπινγκ ορίζεται ως η**

εκδήλωση μίας ή περισσότερων παραβιάσεων κανόνων αντι-ντόπινγκ, όπως αυτές ορίζονται στα άρθρα 2.1 έως 2.11 του κώδικα. (Μιχαλάκη, 2018) (WADA, WORLD ANTI-DOPING CODE, 2021)Επιγραμματικά, οι παραβιάσεις αυτές όπως αναφέρονται στον WADA του 2021 είναι οι εξής:

- 1) Παρουσία Απαγορευμένης Ουσίας ή Μεταβολιτών ή Δεικτών της σε Δείγμα Αθλητή.
- 2) Χρήση ή Απόπειρα Χρήσης Απαγορευμένης Ουσίας ή Απαγορευμένης Μεθόδου από Αθλητή.
- 3) Αποφυγή, Άρνηση ή Μη Υποβολή σε Δειγματοληψία.
- 4) Μη Παροχή Πληροφοριών Εντοπισμού.
- 5) Παραποίηση ή Απόπειρα Παραποίησης οποιουδήποτε μέρους του Ελέγχου Ντόπινγκ από Αθλητή ή Άλλο Άτομο.
- 6) Κατοχή Απαγορευμένης Ουσίας ή Απαγορευμένης Μεθόδου από Αθλητή ή Άτομο Υποστήριξής του.
- 7) Διακίνηση ή Απόπειρα Διακίνησης οποιασδήποτε Απαγορευμένης Ουσίας ή Απαγορευμένης Μεθόδου.
- 8) Η Εντός Αγώνα Χορήγηση ή η Απόπειρα Χορήγησης προς Αθλητή οποιασδήποτε Απαγορευμένης Ουσίας ή Απαγορευμένης Μεθόδου ή η Εκτός Αγώνα Χορήγηση ή Απόπειρα Χορήγησης προς Αθλητή οποιασδήποτε Απαγορευμένης Ουσίας ή Απαγορευμένης Μεθόδου που Απαγορεύεται Εκτός Αγώνα.
- 9) Συνενοχή ή Απόπειρα Συνενοχής από Αθλητή ή Άλλο Άτομο.
- 10) Απαγορευμένη Σύμπραξη.
- 11) Ενέργειες Από έναν Αθλητή ή Άλλο Άτομο για να Αποθαρρύνουν ή Αντίποινα κατά της Αναφοράς στις Αρχές.

1.3.Απαγορευμένες Ουσίες και Μέθοδοι.

Ο Παγκόσμιος Κώδικας Αντιντόπινγκ, αναφέρει ότι μία ουσία θα πρέπει να περιληφθεί στον Κατάλογο Απαγορευμένων Ουσιών, εάν ο WADA καθορίσει ότι η ουσία ή η μέθοδος πληρεί δύο από τα τρία παρακάτω κριτήρια (WADA, WORLD ANTI-DOPING CODE, 2021):

1. Ύπαρξη οποιασδήποτε ιατρικής ή άλλης επιστημονικής απόδειξης φαρμακολογικής επίδρασης ή εμπειρίας, ότι η ουσία ή η μέθοδος, έχει τη δυνατότητα να βελτιώσει ή βελτιώνει την αθλητική απόδοση.

2. Ύπαρξη οποιασδήποτε ιατρικής ή άλλης επιστημονικής απόδειξης φαρμακολογικής επίδρασης ή εμπειρίας, ότι η χρήση της ουσίας ή της μεθόδου αποτελεί πραγματικό ή ενδεχόμενο κίνδυνο για την υγεία του αθλητή.
3. Η χρήση της ουσίας ή της μεθόδου παραβιάζει το πνεύμα του αθλητισμού που περιγράφεται στην εισαγωγή του Κώδικα.

Ο νέος κατάλογος απαγορευμένων ουσιών του Παγκόσμιου Κώδικα Αντιντόπινγκ του 2021 τις ταξινομεί ως εξής (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021):

1. Ουσίες και Μέθοδοι που απαγορεύονται Πάντα.

ΟΥΣΙΕΣ

- a. Μη Εγκεκριμένες Ουσίες.
- b. Αναβολικοί Παράγοντες.
- c. Πεπτιδικές Ορμόνες, Αυξητικοί Παράγοντες, Συγγενείς Ουσίες και Μιμητές.
- d. Β2 αγωνιστές.
- e. Ορμονικοί Μεταβολικοί Τροποποιητές.
- f. Διουρητικά και άλλοι Παράγοντες Απόκρυψης.

ΜΕΘΟΔΟΙ

- a. Χειρισμό Αίματος και Συστατικών του.
 - b. Χημικοί και Φυσικοί Χειρισμοί.
 - c. Γονιδιακό Ντόπινγκ.
2. Ουσίες και Μέθοδοι στους Αγώνες.
 - a. Διεγερτικά.
 - b. Ναρκωτικά.
 - c. Γλυκοκορτικοστεροειδή.
 3. Ουσίες και Μέθοδοι που απαγορεύονται σε Συγκεκριμένα Αθλήματα.
 - a. Βήτα Αγωνιστές.

1.3.1.Μη εγκεκριμένες ουσίες.

Ως μη εγκεκριμένη ουσία ορίζεται, κάθε φαρμακολογική ουσία, η οποία δεν καλύπτεται από καμία από τις επόμενες κατηγορίες του Καταλόγου και χωρίς ισχύουσα έγκριση από οποιαδήποτε κυβερνητική ρυθμιστική υγειονομική αρχή για ανθρώπινη θεραπευτική χρήση, απαγορεύεται σε όλες τις περιπτώσεις (π.χ. φάρμακα ύπο προ-κλινική ή κλινική μελέτη ή μελέτη που διακόπει,

σχεδιαζόμενα φάρμακα, ουσίες που έχουν εγκριθεί μόνο για κτηνιατρική χρήση κ.α.) (Μιχαλάκη, 2018).

1.3.2. Αναβολικοί παράγοντες.

Ως **αναβολικοί παράγοντες** ορίζονται, τα χημικά συστατικά ικανά να ενισχύσουν την αναβολική διεργασία στον οργανισμό. Επηρεάζουν, τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών, διεγείροντας την πρωτεϊνοσύνθεση (αναβολική δράση) και αναστέλλοντας τη διάσπαση των πρωτεϊνών (καταβολική δράση) (Μιχαλάκη, 2018). Οι αναβολικοί παράγοντες που περιλαμβάνονται στον Απαγορευμένο Κατάλογο του 2021 υποδιαιρούνται σε (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021):

1. Αναβολικά Ανδρογόνα Στεροειδή (ΑΑΣ), μερικά από τα οποία θα αναλυθούν περαιτέρω στην παρούσα εργασία, όπως η τεστοστερόνη, η μεθυλτεστοστερόνη, νανδρολόνη, ανδροστενδιόνη και ανδροστενεδιόνη.
2. Άλλοι Αναβολικοί Παράγοντες, δηλαδή εξωγενείς ουσίες με αναβολικές δράσεις όπως:
 - Εκλεκτικοί Τροποποιητές.
 - Ζερανόλη.
 - Ζιλπατερόλη.
 - Κλενβουτερόλη.
 - Τιμπολόνη.

1.3.3. Πεπτιδικές Ορμόνες, Αυξητικοί Παράγοντες και σχετικές ουσίες και Μιμητές.

Οι **πεπτιδικές και γλυκοπρωτεϊνικές ορμόνες** είναι ουσίες που παράγονται από ειδικούς αδένες στο σώμα για να ελέγξουν συγκεκριμένες οργανικές λειτουργίες. Τα ανάλογα είναι συνθετικά φάρμακα, που έχουν τις ίδιες δράσεις με τις φυσικές ορμόνες (Δρογγίτης, 2003). Ορισμένες κατηγορίες απαγορευμένων πεπτιδικών ορμονών, μιμητικών και ανάλογων, σύμφωνα με τον Απαγορευμένο Κατάλογο του 2021, που θα αναλυθούν στην παρούσα εργασία είναι οι ερυθροποιητίνες (EPO), η αυξητική ορμόνη (GH) και ο αυξητικός παράγων τύπου Ινσουλίνης-1 (IGF-1) (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021).

1.3.4.B2 αγωνιστές.

Οι **B2 αγωνιστές** είναι ισχυροί βρογχοδιαστολείς και προκαλούν την χάλαση στους βρόγχους, στους πνεύμονες. Είναι εισπνεόμενα φάρμακα για το ήπιο άσθμα, ωστόσο μπορεί να χρησιμοποιηθούν και από υγιείς αθλητές για καλύτερη αντοχή κατά τη διάρκεια του αγωνίσματος. Ορισμένες από τις ουσίες που απαγορεύονται σύμφωνα με τον Κατάλογο του 2021 είναι η αρφομοτερόλη, η φορμοτερόλη, ή ιγεναμίνη κ.α. (Δρογγίτης, 2003) (Μιχαλάκη, 2018) (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021)

1.3.5.Ορμονικοί και μεταβολικοί ρυθμιστές.

Οι **ορμονικοί και μεταβολικοί ρυθμιστές** είναι ουσίες που επηρεάζουν την ρύθμιση (από τις ενδογενείς ορμόνες) συγκεκριμένων σωματικών λειτουργιών, όπως η μυική ανάπτυξη. Ορισμένες από τις ουσίες που απαγορεύονται, σύμφωνα με τον Κατάλογο του 2021, είναι οι αναστολείς της αρωματάσης (π.χ. 2-ανδροστενόλη), αντι-οιστρογόνες ουσίες (π.χ. βαζεδοξοφαίνη) και παράγοντες παρεμπόδισης του υποδοχέα ΠΒ ακτιβίνης (π.χ. αντισώματα ουδετεροποίησης ακτιβίνης). (Μιχαλάκη, 2018) (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021)

1.3.6.Διουρητικά και Παράγοντες Κάλυψης.

Παράγοντες συγκάλυψης είναι ουσίες που λαμβάνονται με σκοπό να κρύψουν ή να καλύψουν την παρουσία συγκεκριμένων παράνομων φαρμάκων που εξετάζονται στον έλεγχο ντόπινγκ (Μιχαλάκη, 2018). **Διουρητικά** είναι ουσίες που αυξάνουν τον ρυθμό ούρησης, βοηθώντας έτσι στην αποβολή υγρών από το σώμα. Οι αθλητές χρησιμοποιούν τα διουρητικά ως παράγοντες συγκάλυψης, καθώς αραιώνουν τα ούρα με αποτέλεσμα τα χαμηλότερα επίπεδα απαγορευμένων ουσιών στο σώμα (Μιχαλάκη, 2018) (Δρογγίτης, 2003). Ορισμένες από τις ουσίες που απαγορεύονται σύμφωνα με τον Κατάλογο του 2021 είναι, διογκωτές πλάσματος (π.χ. γλυκερόλη, αλβουμίνη), ανθρακικό οξύ, μετολανόζη, αμιλορίδιο κ.α. (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021).

1.3.7.Χειρισμός αίματος και συστατικών του.

Ουσιαστικά, **ο χειρισμός αίματος ή των συστατικών** του είναι μία μέθοδος που στόχο έχει την αύξηση μεταφοράς οξυγόνου και κατ' επέκταση την μεγαλύτερη αντοχή κατά τη διάρκεια του αγωνίσματος. Σύμφωνα με τον Κατάλογο του 2021 χειρισμός αίματος και των συστατικών

του θεωρείται (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021):

- Η χορήγηση ή επανα-εισαγωγή οποιασδήποτε ποσότητας αίματος ή προϊόντων ερυθρών αιμοσφαιρίων οποιασδήποτε προέλευσης.
- Η τεχνική αύξησης πρόσληψης, μεταφοράς ή απόδοσης οξυγόνου, συμπεριλαμβανομένης αλλά όχι περιορισμένης, τη χρήση υπερφθοριωμένων-χημικών ενώσεων και τροποποιημένων προϊόντων αιμοσφαιρίνης, με εξαίρεση του συμπληρωματικού οξυγόνου δι' εισπνοής.
- Κάθε μορφή ενδοαγγειακού χειρισμού του αίματος ή των συστατικών του, με φυσικά ή χημικά μέσα.

(Μιχαλάκη, 2018) (Πετρακόπουλος, 2015) (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021)

1.3.8.Χημικός και φυσικός χειρισμός.

Ο **χημικός και φυσικός χειρισμός**, συνίσταται στη χρήση ουσιών ή/και μεθόδων, οι οποίες πιθανόν να τροποποιούν ή να προσπαθούν να τροποποιήσουν τα δείγματα που συλλέγονται κατά τη διάρκεια των ελέγχων ντόπινγκ, έτσι ώστε να μεταβάλλουν την ακεραιότητα και την εγκυρότητα τους (Μιχαλάκη, 2018). Σε αυτούς τους χειρισμούς περιλαμβάνονται, ο καθετηριασμός, η αντικατάσταση ούρων ή/και η μεταβολή τους καθώς και η χρήση παραγόντων συγκάλυψης (Μιχαλάκη, 2018).

1.3.9.Γονιδιακό ντόπινγκ.

Γονιδιακό ντόπινγκ ορίζεται ως, η μη θεραπευτική χρήση κυττάρων, γονιδίων ή γενετικών στοιχείων ή η ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων που έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν την αθλητική απόδοση (Μιχαλάκη, 2018). Σύμφωνα με τον Κατάλογο Απαγορευμένων Ουσιών του 2021, απαγορεύεται η χρήση νουκλεϊκών οξέων ή αναλογών τους, περιλαμβάνοντας τεχνολογίες επεξεργασίας, σίγασης και μεταφοράς γονιδίων, και η χρήση φυσιολογικών ή γενετικά τροποποιημένων κυττάρων (WADA, ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, 2021).

1.4. Έλεγχος Ντόπινγκ.

1.4.1. Διαδικασία ελέγχου ντόπινγκ.

Τα στάδια για τη διαδικασία ελέγχου ντόπινγκ είναι τα εξής (Τόνγκα, 2012):

1. Δειγματοληψία.
2. Διαχείριση δειγμάτων.
3. Εργαστηριακή ανάλυση.
4. Διαχείριση αποτελεσμάτων.
5. Ακροάσεις.
6. Προσφυγές.

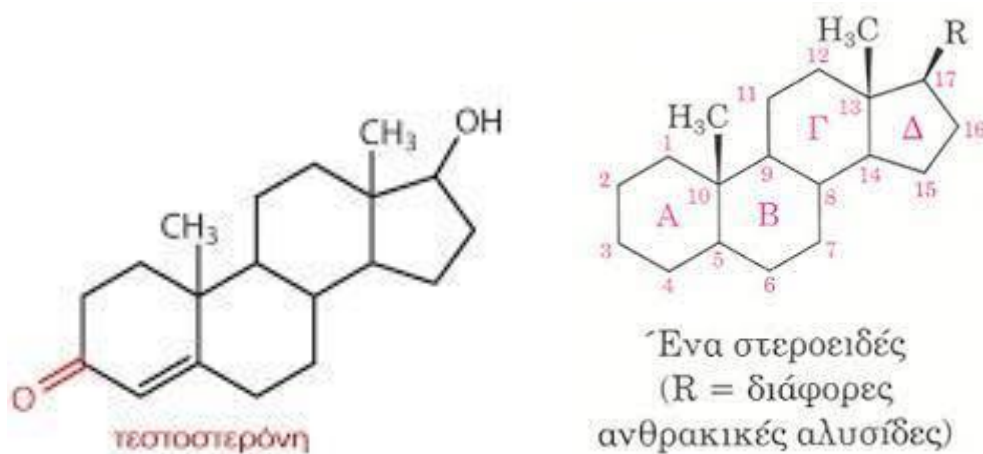
Αναλυτικότερα, πρώτο στάδιο της διαδικασίας ελέγχου ντόπινγκ αποτελεί η συλλογή δείγματος από τον αθλητή, συνήθως ούρα ή αίμα, ωστόσο υπάρχουν ορισμένες μελέτες για την ανάλυση τρίχας. Η δειγματοληψία γίνεται από εξειδικευμένα άτομα, σύμφωνα με τις διαδικασίες που περιγράφονται στον κανονισμό, ενώ ο αθλητής είναι υπό συνεχή παρακολούθηση μέχρι την ολοκλήρωση της διαδικασίας. Ύστερα, ακολουθεί η μεταφορά των δειγμάτων με τα απαραίτητα έγγραφα σε αναγνωρισμένα, από το WADA, εργαστήρια. Αφού διασφαλιστεί η ακεραιότητα των δειγμάτων, αυτά εισάγονται σε ηλεκτρονική βάση δεδομένων, όπου αναγράφονται όλες οι πληροφορίες και χειρισμοί του δείγματος και ακολουθεί η ομαδοποίηση τους σε παρτίδες. Εκτελούνται ορισμένες προαναλυτικές διαδικασίες όπως η μέτρηση όγκου, pH και ειδικού βάρους καθώς και προσανατολιστικές διαδικασίες αναλύσεων σάρωσης, για τη διάκριση ύποπτων δειγμάτων. Τέλος, λαμβάνει χώρα η διεξαγωγή επιβεβαιωτικών διαδικασιών για τα θετικά δείγματα και η αναφορά των αποτελεσμάτων. Οι επιβεβαιωτικές αναλύσεις διαφέρουν ανάλογα το εργαστήριο, όμως βασίζονται στη φασματομετρία και τη χρωματογραφία (Βοναπάρτη, 2011) Στην παρούσα εργασία θα γίνει εκτενέστερη αναφορά για τις τεχνικές:

- Αεροχρωματογραφία – Φασματομετρία Μαζών με τετραπλό αναλυτή GC – MS – QqQ.
- Αεροχρωματογραφία – Φασματομετρία Μαζών Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας GC – HRMS.
- Υγροχρωματογραφία – Φασματομετρία Μαζών – Χρόνου Πτήσης LC/TOF- MS.
- Τεχνική ELISA.
- Ανάλυση Τρίχας.
- Αιματολογικός Αναλυτής και Κυτταρομετρία Ροής με τη χρήση Φθορίζουσών Χρωστικών.

2.ΑΝΔΡΟΓΟΝΑ ΑΝΑΒΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ (ΑΑΣ)

2.1.Ορισμος και φυσιολογια

Οι ορμόνες ανδροστανίου ή αλλιώς ανδρογόνα χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός στεροειδούς σκελετού, που διαθέτει 19 άτομα άνθρακα και φέρουν οξυγονομάδες, συγκεκριμένα μία οξομάδα στη θέση C3 και μία υδροξυλομάδα στη θέση C17. (Μιχαλάκη, 2018) (Παπαδοπούλου, 2007)



Εικόνα: Δομή στεροειδών

<https://www.alamy.it/foto-immagine-boldenone-steroidi-anabolizzanti-struttura-chimica-formula-scheletrico-162035121.html>

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Steroid-general.svg>

Τα ανδρογόνα αναβολικά στεροειδή είναι ανάλογα της τεστοστερόνης και έχουν αναβολικές (αύξηση πρωτεϊνοσύνθεσης και κατ' επέκταση της μυϊκής μάζας) και ανδρογόνες (υπεύθυνες για τα χαρακτηριστικά του φύλου) δράσεις. (Ελληνικό Μεσογειακό Πανεπιστήμιο, No Date)

Τα ΑΑΣ μπορεί να είναι ενδογενή, που παράγονται από τον ανθρώπινο οργανισμό, και συνθετικά, που λαμβάνονται εξωγενώς, είτε από το στόμα είτε παρεντερικά (ενέσιμα, ενδομυϊκά, υποδόρια) (Μιχαλάκη, 2018) (Δήμου, 2002) (Παγώνης, ΑΝΑΒΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002)

2.2.Βιοσύνθεση και μεταβολισμός ενδογενών ΑΑΣ

Τα ανδρογόνα παράγονται από τα κύτταρα Leydig του όρχι και από τα κύτταρα του φλοιού των επινεφριδίων. Το κυριότερο ανδρογόνο στην πρώτη περίπτωση είναι η τεστοστερόνη (T) ενώ στη δεύτερη είναι πρόδρομα στεροειδή αυτής, όπως η ανδροστενδιόνη (A), δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) και η θειική δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA-S) (Κατσίκης και συν., 2009)

2.2.1.Βιοσύνθεση

Για τη βιοσύνθεση των ανδρογόνων στεροειδών σπουδαίο ρόλο έχει το μεβαλονικό οξύ, το οποίο όταν σχηματιστεί, με πολύπλοκους μηχανισμούς, ξεκινά και η διαδικασία. Αναλυτικότερα, μέσω αυτού, βιοσυντίθεται το σκουαλένιο. Κατόπιν, μέσω μίας ενζυμικά καταλυόμενης εποξειδωσης, σχηματίζεται το εποξείδιο του σκουαλενίου. Ακολουθεί μία όξινα καταλυόμενη κυκλοποίηση και με διάφορες αναδιατάξεις σχηματίζεται η λανοστερόλη. Αυτή, έπειτα, με τη βοήθεια ενζύμων, μετατρέπεται σε χοληστερόλη, η οποία μεταφέρεται σε ιστούς μέσω λιποπρωτεϊνών (STAR, SCP2, PBR κ.α.). Συγκεκριμένα, από το κυτταρόπλασμα μεταφέρεται στην μεμβράνη του μιτοχονδρίου, όπου βρίσκεται το ενζυμικό σύμπλεγμα CSCC (Side Chain Cleavage Enzyme Complex) αποτελούμενο από φλαβοπρωτεΐνες και από τη 20-22-δεσμολάση της χοληστερόλης (P450 SCC). Αυτό το σύμπλεγμα μετατρέπει τη χοληστερόλη σε πρεγνενολόνη, η οποία μεταφέρεται στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο. Εκεί ολοκληρώνεται η βιοσύνθεση των ανδρογόνων με τη βοήθεια οξειδωτικών ενζύμων. Από την πρεγνενολόνη μπορεί να σχηματιστεί τεστοστερόνη με διάφορες διαδρομές και κυριότερες τις (Μιχαλάκη, 2018) (Κατσίκης και συν., 2009) (Παπαδοπούλου, 2007):

1. Δ4-ανδροστενδιόνη.

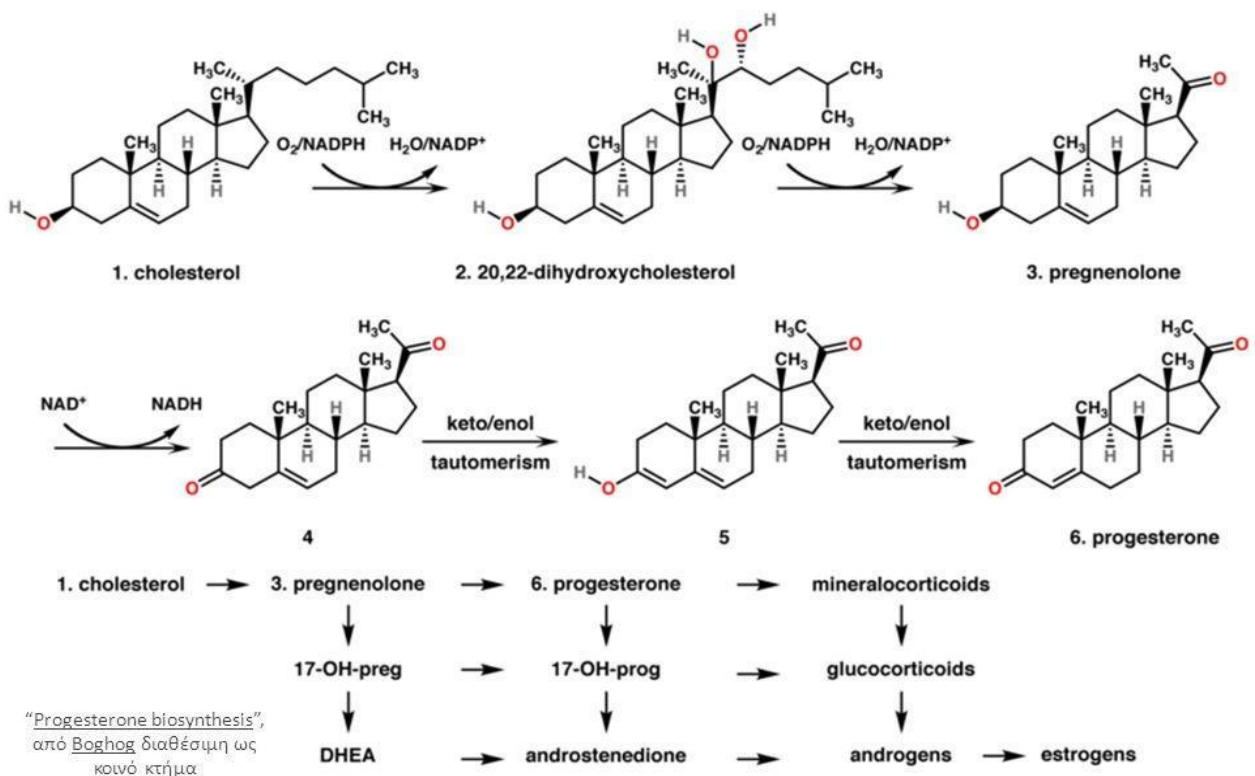
Πρεγνενολόνη → προγεστερόνη → 17α-OH-προγεστερόνη →

Δ4-ανδροστενδιόνη → τεστοστερόνη

2. Δ5-ανδροστενδιόνη.

Πρεγνενολόνη → 17α-OH-πρεγνενολόνη → δεϋδροεπιανδροστερόνη →

Δ5-ανδροστενδιόνη → τεστοστερόνη



Εικόνα: Βιοσύνθεση στεροειδών

<https://slideplayer.gr/slide/2895692/>

2.2.2. Μεταβολισμός

Ο μεταβολισμός τόσο των ενδογενών όσο και των εξωγενών ανδρογόνων αναβολικών στεροειδών χωρίζεται σε 2 φάσεις:

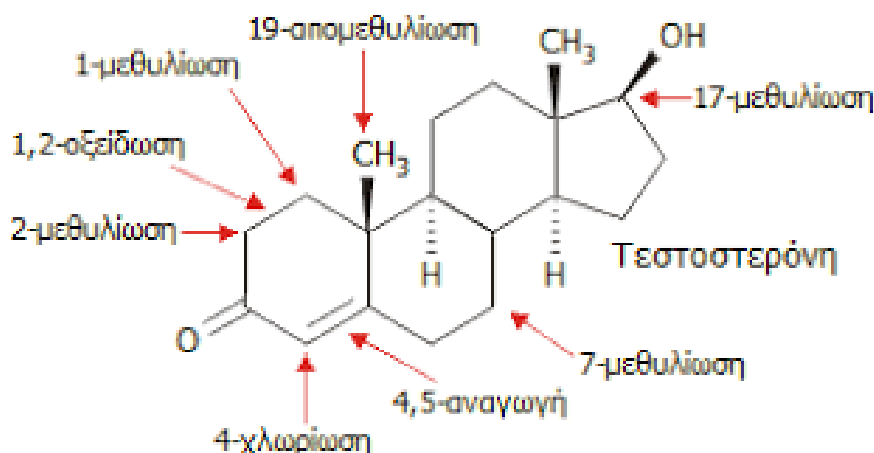
ΠΡΩΤΗ ΦΑΣΗ

Οι κυριότεροι στόχοι σε αυτή τη φάση του μεταβολισμού είναι οι δακτύλιοι Α, Β και Δ. Είναι γνωστό ότι η βιολογική λειτουργία των στεροειδών απενεργοποιείται με κορεσμό των διπλών δεσμών. Ο διπλός δεσμός μεταξύ των C4-C5 ανάγεται προς 5α- και 5β- ισομερή. Επιπροσθέτως, η κετονομάδα του C3 ανάγεται, δίνοντας 3α-υδροξυ-ισομερή. Όσον αφορά τα στεροειδή με δομή 1,4-διένιο η μεταβολική αλλαγή τους είναι στο Β δακτύλιο και συνηθέστερα προς 6β-υδροξυλίωση. Τέλος, στο δακτύλιο Δ, το άτομο του οξυγόνου στη θέση

C17 είναι ευαίσθητο σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με αποτέλεσμα πολλά 17β-υδροξυ-στεροειδή να οξειδώνονται προς 17-κετονο-στεροειδή (Μιχαλάκη, 2018).

ΔΕΥΤΕΡΗ ΦΑΣΗ

Σε αυτή τη φάση λαμβάνουν χώρα αντιδράσεις σύζευξης και συγκεκριμένα η γλυκουρονίωση και η σουφλονίωση. Αυτές οι αντιδράσεις γίνονται στους δακτυλίους Α και Δ. Στα 3α-υδροξυ-στεροειδή επικρατεί η σύζευξη με γλυκουρονικό οξύ, ενώ στα 3β-υδροξυ-στεροειδή με θειικά. Ωστόσο, στα 17β-υδροξυ-στεροειδή μπορούν να γίνουν και οι δύο αντιδράσεις σύζευξης. (Μιχαλάκη, 2018)



Εικόνα: Λειτουργικές ομάδες τεστοστερόνης και οι χημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν.

http://195.134.76.37/chemicals/chem_trenbolone.htm

2.3. Εξωγενή ΑΑΣ: Απορρόφηση, Μεταβολισμός, Απέκκριση

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, εκτός από τα ενδογενή αναβολικά στεροειδή, με κυριότερη τη τεστοστερόνη, υπάρχουν και τα αντίστοιχα συνθετικά. Παρακάτω, παρατίθενται τα συνηθέστερα χορηγούμενα ΑΑΣ με τους αντίστοιχους συζευγμένους μεταβολίτες τους στα ούρα, ως γλυκουρονίδια (γ) ή φωσφορικά (φ). (Μιχαλάκη, 2018)

Χορηγούμενα ΑΑΣ	Μεταβολίτες
Τεστοστερόνη, ανδροστενεδιόνη, δεϋδροεπιανδροστερόνη	Τεστοστερόνη (γ)
Επιτεστοστερόνη	Επιτεστοστερόνη (γ)
Τεστοστερόνη, ανδροστενεδιόνη, Δεϋδροεπιανδροστερόνη, ανδροστενοδιόλη διυδροτεστοστερόνη	Ανδροστερόνη (γ)
Τεστοστερόνη, ανδροστενεδιόνη, Δεϋδροεπιανδροστερόνη, ανδροστενοδιόλη	Ετιοχολανολόνη (γ)
Δεϋδροεπιανδροστερόνη	Δεϋδροεπιανδροστερόνη (γ),(φ)
Ανδροστενεδιόνη	6α-υδροξυ-ανδροστενοδιόνη (γ), 6β-υδροξυ-ανδροστερόνη (γ), 6β-υδροξυ-ετιοχολανολόνη (γ), 6β-υδροξυ-επιανδροστερόνη (φ)

Πίνακας: Τα συνηθέστερα ΑΑΣ με τους μεταβολίτες τους.

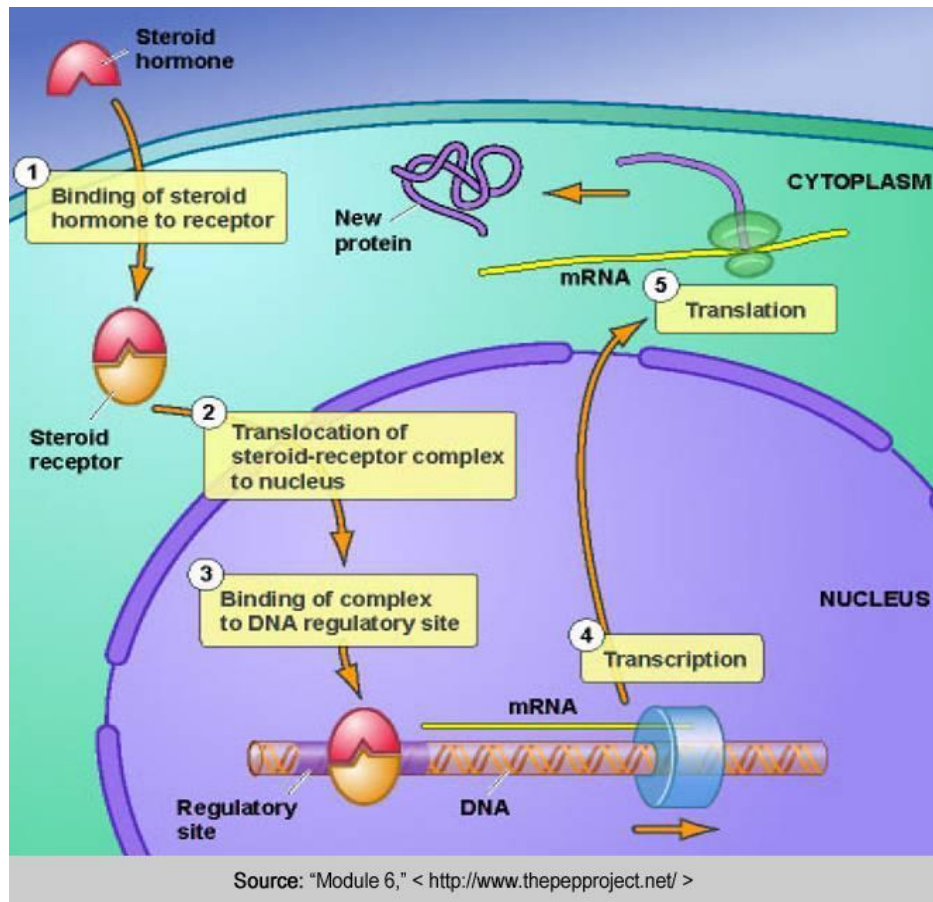
Η λήψη των συγκεκριμένων ουσιών μπορεί να γίνει από το στόμα, με ένεση απευθείας στον μυ ή με τη μορφή αλοιφών που εφαρμόζονται στο δέρμα. Τα συνθετικά ΑΑΣ προκύπτουν από τη χημική τροποποίηση του πρόδρομου μορίου της τεστοστερόνης. Αποτέλεσμα αυτού είναι η αλλαγή της φαρμακολογικής συμπεριφοράς, με σκοπό την αύξηση της αναβολικής και ταυτόχρονη μείωση της ανδρογόνου δράσης. Αυτή η διαδικασία επιτυγχάνεται με διάφορες χημικές αντιδράσεις, οι κυριότερες από τις οποίες είναι η 17α-αλκυλίωση και η εστεροποίηση της 17β-ομάδας. Με τη πρώτη αντίδραση παράγονται αναβολικά για τη χρήση από το στόμα, ενώ με τη δεύτερη για τη χορήγηση τους ως ενέσιμα (Μιχαλάκη, 2018) (Σ. Τσιτσιλώνης, Δ.Περρέα, 2009)

2.3.1. Απορρόφηση

Στην περίπτωση λήψης της αναβολικής ουσίας από το στόμα, αυτή θα πρέπει να διασχίσει ένα σύνολο μεμβρανών και ιστών, ώστε να περάσει στη γενική κυκλοφορία και έπειτα, με τη πρόσδεση στους κατάλληλους υποδοχείς, να εκτελέσει το έργο της. Έτσι λοιπόν, σε πρώτη φάση η ουσία παρέχεται στα γαστρεντερικά υγρά. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι το σκεύασμα να είναι σε διαλυμένη μορφή, για την ευκολότερη μετακίνηση και την καλύτερη απορρόφηση. Ακολουθεί η μετακίνησή του στο γαστρεντερικό σωλήνα, όπου παραμένει εκεί για κάποιο χρονικό διάστημα, ώστε να μεγιστοποιηθεί η πιθανότητα απορρόφησής του από το γαστρεντερικό επιθήλιο και ύστερα να περάσει στη βλεννογόνο στοιβάδα. Για την ολοκλήρωση της διαδικασίας, απαιτείται η υπερπήδηση ορισμένων φραγμών. Των φυσικών, οι οποίοι εμποδίζουν την άμεση πρόσβαση του ξενοβιοτικού στα αγγεία, και των μεταβολικών, που οδηγούν στη βιομετατροπή του φαρμάκου κατά τη διαπέραση. Η τροποποιημένη πλέον ουσία περνά στην κυκλοφορία του αίματος, μέσω των αιμοφόρων αγγείων, που βρίσκονται στο γαστρεντερικό σωλήνα. Μόλις συμβεί αυτό, συνδέονται με τις πρωτεΐνες του πλάσματος και οδηγούνται στους ιστούς-στόχους, όπου εισέρχονται στα κύτταρα, συνδέονται με τους κατάλληλους υποδοχείς και εκτελούν έτσι τις δράσεις τους. Όταν η φαρμακευτική ουσία λαμβάνεται ενδομυϊκά ή παρεντερικά, τότε περνά κατευθείαν στην κυκλοφορία του αίματος με αποτέλεσμα την άμεση δράση της (Μιχαλάκη, 2018).

2.3.2. Μηχανισμός δράσης

Οι στεροειδείς ορμόνες ρυθμίζουν την κυτταρική λειτουργία συνδεδεμένες, κυρίως, με ενδοκυτταρικούς πεπτιδικούς υποδοχείς και λιγότερο με εξωκυτταρικούς, οι οποίοι θα αναλυθούν σε παρακάτω ενότητα. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, η ορμόνη εισέρχεται στο κύτταρο-στόχο, λόγω της λιπόφιλης φύσης της, και συνδέεται με έναν ειδικό κυτταροπλασματικό υποδοχέα. Το σύμπλοκο που προκύπτει (ορμόνη-υποδοχέας), μεταφέρεται στον πυρήνα, όπου δρα ως μεταγραφικός παράγοντας, ρυθμίζοντας, μέσω του mRNA, τη μεταγραφή, των ευαίσθητων σε στεροειδείς ορμόνες, γονιδίων. Εν συνεχεία, το σύμπλοκο μεταφέρεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα και συγκεκριμένα στα ριβοσώματα. Εκεί πραγματοποιείται η μετάφραση και άρα η σύνθεση των ειδικών πρωτεϊνών, σύμφωνα με τις οδηγίες τους κώδικα, με αποτέλεσμα την εμφάνιση της μεταβολικής δράσης της ορμόνης (Μιχαλάκη, 2018) (Παπαδοπούλου, 2007) (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007)



Εικόνα: Μηχανισμός δράσης των στεροειδών στα κύτταρα-στόχους.

<https://docplayer.gr/9494008-Steroideis-ormones-apo-ti-viosynthesi-sto-mihanismo-drasis.html>

2.4. Τεστοστερόνη

Το πιο ισχυρό αλλά και πολυχρησιμοποιημένο ΑΑΣ είναι η τεστοστερόνη, είτε αυτούσια (Andriol, Androderm) είτε παράγωγα αυτής, όπως η προπιονική τεστοστερόνη (Arenorm), μεθυλτεστοστερόνη (Enoltestovis), διυδροτεστοστερόνη (Denistenil) και πολλά άλλα. Είναι ένα ανδρογόνο με 19 άτομα C, διπλό δεσμό στη θέση C4-5, κετονική ομάδα στη C3 και ένα υδροξύλιο στη C17. Αυτή, αφού απορροφηθεί κυκλοφορεί στο αίμα, κυρίως συνδεδεμένη με τις πρωτεΐνες του πλάσματος. Συγκεκριμένα το 60% αυτής συνδέεται με αλβουμίνη, το 40% με γλοβουλίνη, ενώ ένα 2% παραμένει ελεύθερο. Στους περιφερειακούς ιστούς, η τεστοστερόνη μετατρέπεται σε τρεις βιολογικά δραστικές ορμόνες, την διυδροτεστοστερόνη, την ανδροστανδιόλη και την οιστραδιόλη. Η διυδροτεστοστερόνη (DHT), σε πολλά κύτταρα-στόχους, αποτελεί το κυριότερο ανδρογόνο και θεωρείται ισχυρότερη από την τεστοστερόνη,

ενώ προκύπτει από την αναγωγή της (T) με το ένζυμο 5α-ρεδουκτάση. Η τεστοστερόνη, προκειμένου να ασκήσει τη δράση της, δεσμεύεται με εξειδικευμένο ορμονικό ανδρογονικό υποδοχέα στο κυτταρόπλασμα του στόχου και ακολουθείται η πορεία που αναλύθηκε παραπάνω. Όταν η διαδικασία ολοκληρωθεί, τότε το σύμπλοκο απελευθερώνεται και ο υποδοχέας με την ορμόνη αποδεσμεύονται. Τότε τα δύο στοιχεία είναι ελεύθερα να μεταναστεύσουν στο κυτταρόπλασμα για επιπλέον δράση. Η τεστοστερόνη, έχει την επιπρόσθετη ικανότητα να επιστρέψει στην αιματική κυκλοφορία και να αλληλεπιδράσει με άλλα κύτταρα-στόχους. Τελικά, η (T) μεταβολίζεται κυρίως στο ήπαρ και μικρότερο ποσοστό στο νεφρό, το λιπώδη ιστό και τους μύες, προς ανενεργούς μεταβολίτες, με τη βοήθεια οξειδωτικών ενζύμων. Αναλυτικότερα, με 5α-αναγωγή του δακτυλίου A στη θέση C5 η τεστοστερόνη μετατρέπεται σε ανδροστενδιόνη. Αυτή με τη σειρά της, κατόπιν αναγωγής της κετονομάδας στη θέση C3, μετατρέπεται σε ανδροστερόνη. Εναλλακτικά, η ανδροστενδιόνη μπορεί να μετατραπεί σε ετιοχολανολόνη με αναγωγή της κετονομάδας στη θέση C3 και του διπλού δεσμού στο δακτύλιο A. Τα 17-κετοστεροειδή που προκύπτουν γίνονται υδατοδιαλυτά, όταν συνδέονται με γλυκουρονικό και θειικό οξύ στις θέσεις C17 και C3, και έτσι απεκκρίνεται στα ούρα (Μιχαλάκη, 2018) (Κατσίκης και συν., 2009) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002) (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007)

2.5.Παράγωγα Τεστοστερόνη: Μεθυλτεστοστερόνη

Δεδομένου ότι όταν η τεστοστερόνη χορηγείται αυτούσια από το στόμα, μόνο το 1/6 παραμένει ενεργό, οδήγησε τους ερευνητές στην παρασκευή σκευασμάτων με παρόμοια χημική δομή για την καλύτερη απορρόφηση, τη γρηγορότερη αναβολική δράση αλλά και τη μείωση της ανδρογονικής. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η δημιουργία της μεθυλτεστοστερόνης, η οποία όταν χορηγείται από το στόμα, είναι ενεργή, λόγω της 17α-μεθυλίωσης που έχει υποστεί. Αναλυτικότερα, στη θέση C17 προστίθενται ένα άτομο C με τη μορφή μεθυλομάδας (CH₃), η οποία δεν αφαιρείται μέσω την μεταβολικής οδού και έτσι εμποδίζεται η αναγωγή του στεροειδούς στην ανενεργή 17-κετοστεροειδή μορφή. Η τροποποίηση αυτή αυξάνει το χρόνο ημιζώης του ΑΣ και τη τάση του να υπάρχει σε αδεύσμευτη μορφή, κάνοντας το αναβολικό πιο δραστικό. Αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίο η μεθυλτεστοστερόνη είναι τόσο δημοφιλής και κυκλοφορεί σε πολλά σκευάσματα όπως το (Enoltestovis) και

(Metandren). Με την ίδια λογική και παρόμοια χημική τροποποίηση κατασκευάζονται και άλλα παράγωγα της τεστοστερόνης που χρησιμοποιούνται ως αναβολικά, όπως η μεθανδροστερόνη (Dianabol), σταναλόζη (Anaprotina), οξυμεθολόνη (Anadrol) και πολλά άλλα (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002) (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007)

2.6.Νανδρολόνη

Η νανδρολόνη ή αλλιώς 19-νορτεστοστερόνη είναι συνθετικό ανδρογόνο αναβολικό στεροειδές, που προκύπτει από την τροποποίηση του μορίου της τεστοστερόνης στο 19^ο άτομο C, όπου και σε αυτό πιστεύεται ότι οφείλεται και η ικανοποιητικότερη αναβολική της δράση. Η νανδρολόνη, χορηγείται παρεντερικά, συνήθως υπό τη μορφή ελαιωδών σκευασμάτων, και αποθηκεύεται στο λιπώδη ιστό, από όπου απελευθερώνεται με αργό ρυθμό, με αποτέλεσμα την ομαλότερη ανδρογονική δράση. Στους ιστούς-στόχους των ανδρογόνων με υψηλή συγκέντρωση του ενζύμου 5α-αναγωγάση, μεταβολίζεται σε διυδροτεστοστερόνη, που είναι μία λιγότερο ισχυρή μορφή. Η αφαίρεση του διπλού δεσμού στη θέση C4-5, έχει σαν αποτέλεσμα την ελάττωση της δεσμευτικής ικανότητας υποδοχέα-ανδρογόνου για την νανδρολόνη. Αυτό, συνεπάγεται την μεγαλύτερη αναβολικότητα και τη μικρότερη ανδρογονικότητα. Μετά την ολοκλήρωση του έργου της, μεταβολίζεται και αυτή στο ήπαρ προς 19-νορανδροστερόνη και 19-νορετιοχολανολόνη, τα οποία εμφανίζονται ως γλυκουρονίδια και αποβάλλονται με τα ούρα. Η νανδρολόνη μεταβολίζεται και σε ένα τρίτο ισομερές, τη 19-νορεπιανδροστερόνη, που εμφανίζεται ως θειικό άλας. Αυτό το ξενοβιοτικό είναι ένα πολύ δημοφιλές συνθετικό αναβολικό και χρησιμοποιείται αυτούσιο (Deca-Durabolin) ή σε παράγωγά του όπως η φαινυλοπροπιονική νανδρολόνη (Anabosan), η νορτεστοστερόνη (Fherbolic), η τρενμπολόνη (Parabolan) και πολλά ακόμα (Μιχαλάκη, 2018) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002) (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007) (Δρογγίτης, 2003)

2.7.Παράγωγα Νανδρολόνης: Δεκανοϊκή Νανδρολόνη

Η δεκανοϊκή νανδρολόνη είναι η εστεροποιημένη μορφή της νανδρολόνης. Για την παρασκευή της προστέθηκε δεκανοϊκός εστέρας στη 17β-υδροξυλομάδα του μορίου της νανδρολόνης,

αυξάνοντας έτσι το χρόνο ημιζωής του αναβολικού στεροειδούς. Με αυτή τη τροποποίηση, αυξάνεται η λιποδιαλυτότητα του ξενοβιοτικού, και έτσι όταν αυτό εισέρχεται, με τη μορφή ένεσης, στον οργανισμό, αποθηκεύεται στον μυϊκό ιστό. Το αναβολικό απελευθερώνεται σταδιακά από αυτόν στην κυκλοφορία του αίματος. Όταν περάσει όλη η ουσία στο αίμα, τότε ένζυμα θα απομακρύνουν την αλυσίδα του εστέρα και το αρχικό μόριο, η νανδρολόνη, θα ασκήσει τη δράση της. Η χρήση ενός εστέρα επιτρέπει την εφαρμογή λιγότερο συχνής δοσολογίας, συγκριτικά με τα υδατοδιαλυτά στεροειδή, κάνοντάς τα πιο ανεκτά από τον χρήστη. Πολλοί αθλητές κάνουν την ένεση στους δελτοειδής δικέφαλους και τρικέφαλους καθώς πιστεύεται ότι αυτή η πρακτική φέρει καλύτερα αποτελέσματα. Αυτή η αντίληψη είναι δικαιολογημένη, εν μέρη, καθώς παρατηρείται ότι ένα ποσοστό του εστέρα, υδρολύεται στην περιοχή της ένεσης με αποτέλεσμα μία μικρή αύξηση της συγκέντρωσης του αναβολικού σε εκείνο το σημείο. Η δεκανοϊκή νανδρολόνη βρίσκεται στο εμπόριο από πολλές εταιρίες και με διάφορες ονομασίες μερικές από τις οποίες είναι Anaboline depot, Anabosan depot, Nandrolone (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002)

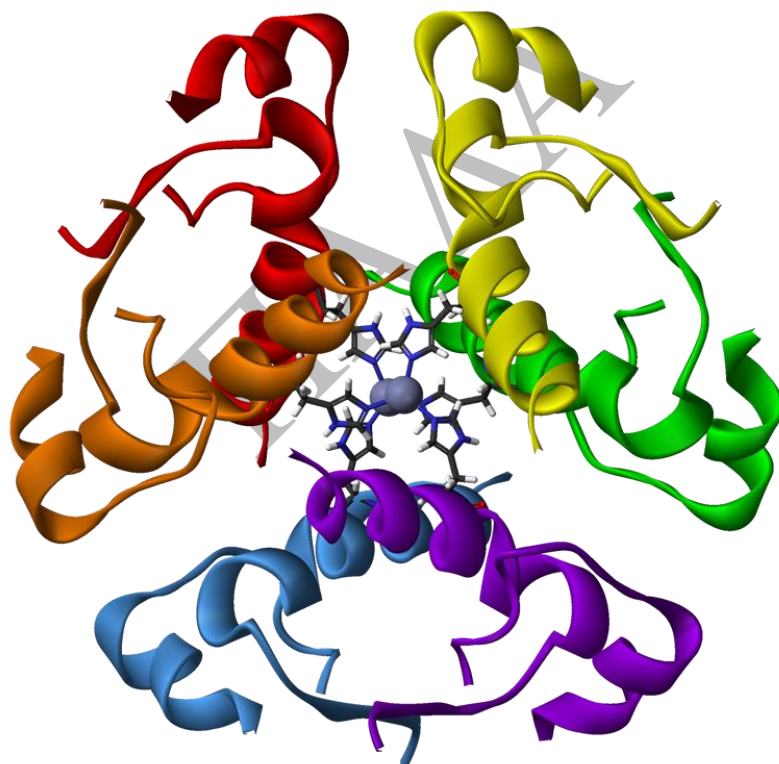
2.8. Ανδροστενεδιόνη-Ανδροστενεδιόλη

Η ανδροστενεδιόνη και η ανδροστενεδιόλη είναι στεροειδής ορμόνες πρόδρομες της τεστοστερόνης. Φυσιολογικά, παράγονται από τα επινεφρίδια, τους όρχεις και τις ωοθήκες και μετατρέπονται σε (T) από τις οδούς Δ4-ανδροστενεδιόνη και Δ5-ανδροστενεδιόνη. Κυκλοφορούν αρκετά σκευάσματα με αυτές τις ουσίες και προτιμούνται από τους χρήστες, καθώς πιστεύεται ότι το σώμα τις μετατρέπει πιο αποτελεσματικά σε τεστοστερόνη και καθόλου σε οιστρογόνα. Η αναβολική τους δράση ακολουθεί ακριβώς την ίδια πορεία με την (T), ενώ μεταβολίζονται στο ήπαρ προς 6α-υδροξυ-ανδροστενοδιόνη, 6β-υδροξυ-ανδροστερόνη, 6β-υδροξυ-ετιοχολανολόνη και 6β-υδροξυ-επιανδροστερόνη που αποκρίνονται στα ούρα (Μιχαλάκη, 2018) (Παπαδοπούλου, 2007) (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007) (Δρογγίτης, 2003) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002)

3. ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ

3.1. Ορισμός και Φυσιολογία

Με τον όρο πρωτεϊνικές ορμόνες, εννοούνται οι πεπτιδικές και οι γλυκοπρωτεϊνικές. Οι πεπτιδικές ορμόνες είναι αζωτούχες οργανικές ενώσεις αποτελούμενες από δύο ή περισσότερα αμινοξέα, συνδεδεμένα με πεπτιδικό δεσμό. Ενώ οι γλυκοπρωτεϊνικές, είναι πρωτεΐνες που περιέχουν ολιγοσακχαρίτες, ομοιοπολικά συνδεδεμένους με τις πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων. Αυτές, αποτελούνται από δύο υπομονάδες, την α και την β. Η πρώτη είναι κοινή σε όλες τις γλυκοπρωτεΐνες ενώ η δεύτερη καθορίζει την βιολογική δράση της κάθε μίας. Οι πρωτεϊνικές ορμόνες αναδιπλώνονται στον χώρο, μέσω ενδομοριακών πόλων έλξης, δημιουργώντας, έτσι, την τριτοταγή δομή τους, που καθορίζεται από την ύπαρξη θειικών δεσμών. (Βενετίκου, 2020)



Εικόνα: Γενική διάταξη πρωτεϊνικής ορμόνης (ινσουλίνης).

<https://dstef.weebly.com/tauiota-epsilon943nualphaiota-eta-iotanusigmaomicronupsilonlambda943nueta.html>

Αυτή η κατηγορία ορμονών έχει σημαντικό ρόλο, διότι είναι υπεύθυνες για τη μεταφορά μηνυμάτων σε όλο το σώμα, με σκοπό τη διέγερση ορισμένων λειτουργιών, όπως η ανάπτυξη του σώματος. Οι πρωτεϊνικές ορμόνες, είναι δυνατόν να παράγονται σε πληθώρα όργανα, ενώ μέσω της υδατοδιαλυτής τους φύσης, μεταφέρονται στα κύτταρα-στόχους, όπου συνδέονται με μεμβρανικούς υποδοχείς και ενεργοποιείται η δράση τους. Μία επιπλέον κατηγοριοποίηση, είναι με βάση τους αδένες στους οποίους παράγονται και ταξινομούνται σε ορμόνες της υπόφυσης (αυξητική ορμόνη), του θυρεοειδούς (T2,T3,T4), της επίφυσης κ.α. Αυτές χρησιμοποιούνται από τους αθλητές και τους αθλούμενους, για:

1. Αύξηση μεγέθους και δύναμης μυϊκής μάζας.
2. Επιδιόρθωση ιστών, σε περίπτωση τραυματισμού.
3. Καλύτερη μεταφορά O₂ και κατ' επέκταση μεγαλύτερη αντοχή.
4. Διέγερση παραγωγής άλλων ορμονών που υπάρχουν στο σώμα και βοηθούν στα παραπάνω.

(Πετρακόπουλος, 2015), (Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, No Date)

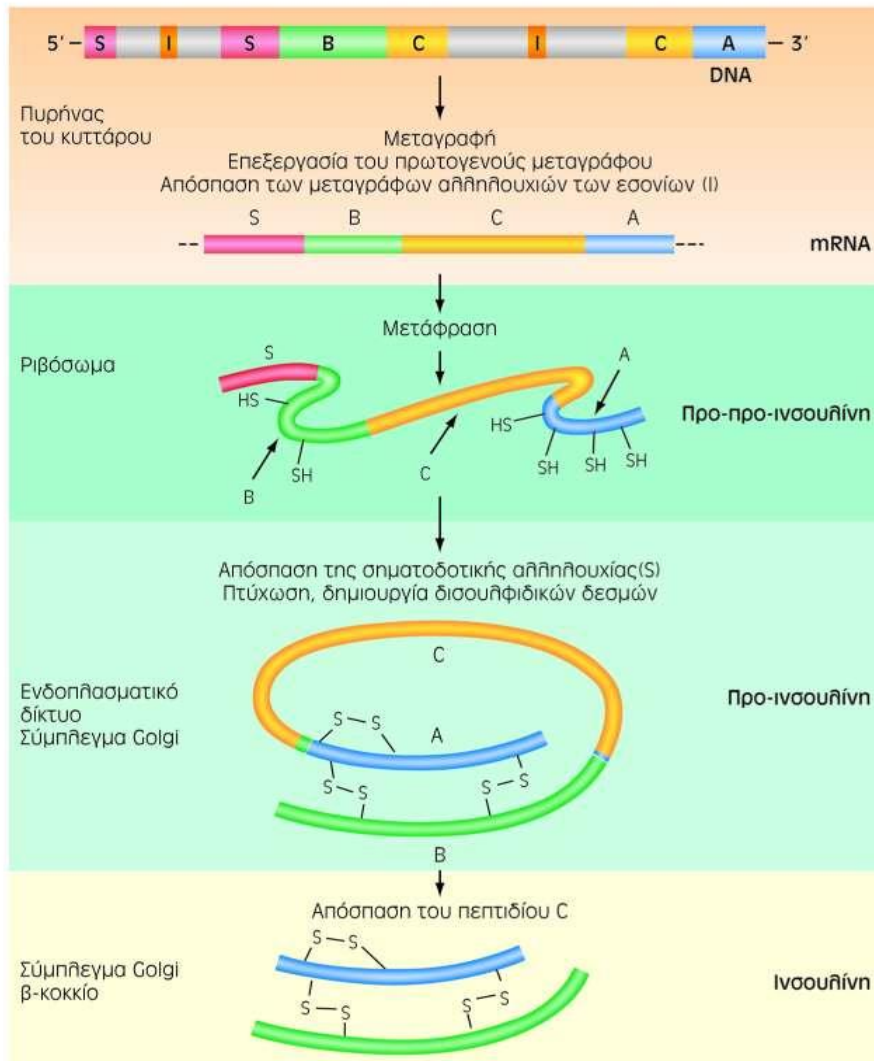
Αδένας / Ορμόνη	Δομή	Λειτουργία
1. ΥΠΟΘΑΛΑΜΟΣ	αμινοξέα	
Παράγοντας έκλυσης γοναδοτροπινών GnRH	10	Διέγερση έκκρισης LH, FSH
Παράγοντας έκλυσης αυξητικής ορμόνης GRH	40-44	Διέγερση έκκρισης GH
Σωματοστατίνη SIF	14-28	Διέγερση έκκρισης GH, TSH
Παράγοντας έκλυσης θυρεοτροπίνης TRH	3	Διέγερση έκκρισης προλακτίνης
2. ΥΠΟΦΥΣΗ		
Αυξητική ορμόνη GH	191	Γενική αναβολική δράση
Θυρεοτροπίνη TSH	A:96, B:112	Διέγερση θυροειδών
Ωχρινοτροπίνη	A:96, B:121	Διέγερση προγεστερόνης και τεστοστερόνης

3. ΠΑΓΚΡΕΑΣ		
Ινσουλίνη	A:21, B:30	Γενική αναβολική δράση, λιπογένεση

Πίνακας: Πρωτεϊνικές ορμόνες που χρησιμοποιούνται ως αναβολικά. (Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, No Date)

3.2.Βιοσύνθεση πρωτεϊνικών ορμονών

Οι πρωτεϊνικές ορμόνες συντίθενται, στα αρχικά ενδοκρινή κύτταρα, ως πρόδρομα μόρια, που αποθηκεύονται σε εκκριτικά κοκκία και απελευθερώνονται όταν δοθεί το ανάλογο σήμα. Αναλυτικότερα, από τα υπεύθυνα γονίδια, με τη διαδικασία της μετάφρασης, συντίθενται στα ριβοσώματα οι ανάλογες πρώιμες-προορμόνες. Στο αμινοτελικό άκρο αυτών βρίσκεται η αλληλουχία-σήμα (συνήθως 20-30 αμινοξέα). Αυτές μεταφέρονται, εν συνεχεία, στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου με την επίδραση μίας ειδικής πεπτιδάσης, απομακρύνεται η αλληλουχία-σήμα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία των προορμονών. Αυτές με τη σειρά τους, υφίσταται τις απαραίτητες μεταφραστικές τροποποιήσεις και κατόπιν, μέσω του συστήματος Golgi, αποθηκεύονται σε εκκριτικά κοκκία, ως αδρανή μορφή. Όταν το κύτταρο λάβει την κατάλληλη εντολή, σχηματίζεται η ορμόνη από την προορμόνη, με ειδικές πρωτεάσες, που συνήθως δρουν ανά ζεύγη βασικών αμινοξέων (αργινίνη, λυσίνη). (Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, No Date) (Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 2011) (Χατζηπαύλου - Λιτίνα, 2017)



Εικόνα: Σύνθεση ινσουλίνης από την πρόιμνη προΐνσουλίνη.

<http://www.aiavramidis.gr/wp-content/uploads/DM-179.pdf>

3.3. Έκκριση Πρωτεϊνικών Ορμονών

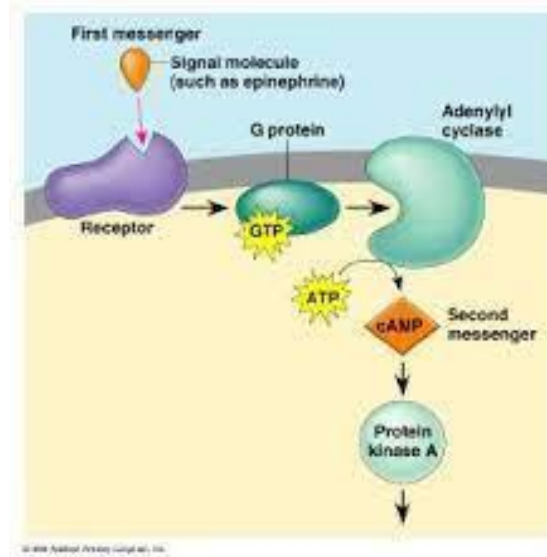
Πολλές πρωτεϊνικές ορμόνες εκκρίνονται με εξωκύτωση. Πιο συγκεκριμένα, ως απόκριση στο κατάλληλο σήμα, τα κοκκία που τις περιέχουν μεταναστεύουν στην κυτταρική μεμβράνη με τη βοήθεια πολύπλοκου μηχανισμού κυκλοφορίας μεμβρανικών δομών, συντήκονται με την πλασματική μεμβράνη και ελευθερώνονται προς τα έξω οι ορμόνες. (Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, No Date)

3.4.Κυκλοφορία Πρωτεϊνικών Ορμονών

Οι πρωτεϊνικές ορμόνες είναι υδατοδιαλυτές ουσίες με αποτέλεσμα να μεταφέρονται εύκολα και να κυκλοφορούν ελεύθερες στο αίμα σε μικρές συγκεντρώσεις. Λόγω αυτής τους της ικανότητας, ο χρόνος δράσης τους είναι αρκετά μικρός, της τάξης των λίγων λεπτών. (Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, No Date) (Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 2011) (Χατζηπαύλου - Λιτίνα, 2017)

3.5.Μηχανισμός Δράσης – Υποδοχείς

Οι πρωτεϊνικές ορμόνες ρυθμίζουν την κυτταρική λειτουργία, κυρίως, με τους μεμβρανικούς υποδοχείς, στα κύτταρα-στόχους, δίνοντας έτσι την εντολή για την μεταβολή ενδοκυτταρικών βιοχημικών διεργασιών. Ο μηχανισμός, αυτός, στηρίζεται στη θεωρία των δύο υποδοχέων. Πιο επεξηγηματικά, η ορμόνη, που έχει το ρόλο του πρώτου αγγελιοφόρου, συνδέεται με την αναγνωριστική υπομονάδα (R), του υποδοχέα, με τη βοήθεια των πρωτεϊνών του συμπλέγματος G. Ύστερα, το σύμπλοκο αυτό, ενεργοποιεί την καταλυτική υπομονάδα (T) του υποδοχέα, προκαλώντας τη στροφή της στο χώρο. Αυτή η μετατροπή, επιστρατεύει το ένζυμο, αδενυλκυκλάση (A), της μεμβράνης, το οποίο μετατρέπει το ενδοκυττάριο ATP σε κυκλικό AMP (cAMP), με απόδοση δύο μονάδων φωσφόρου (2P) ανά μόριο ATP. Το c AMP, διαδραματίζει το ρόλο του δεύτερου αγγελιοφόρου και είναι υπεύθυνο για τη μεταβίβαση της πληροφορίας από το εξωτερικό περιβάλλον μέσα στο κύτταρο. Πιο συγκεκριμένα, το κυκλικό AMP συνδέεται με ενδοκυττάριο υποδοχέα, ενεργοποιώντας έτσι τις ενδοκυτταρικές μεταφορικές κινάσες. Αυτές με τη σειρά τους, παραλαμβάνουν τους αποδιδόμενους φωσφόρους και έτσι ενεργοποιείται η φωσφορυλίωση και άρα η ενεργοποίηση των ενδοκυττάρων πρωτεϊνών. Η δράση αυτών των ορμονών είναι ταχύτερη από αυτή των στεροειδών, που δρουν μέσω ενδοκυττάρων υποδοχέων. (Βενετικού, 2020) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002)



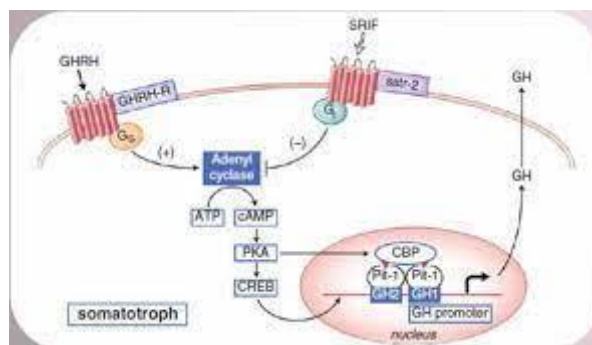
Εικόνα: μηχανισμός μεταφοράς μηνυμάτων πρωτεϊνικών ορμονών μέσω των μεμβρανικών υποδοχέων.

http://www.biology.uoc.gr/courses/BIO316_Moriaki_Fisiologia/PDF/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%9B%CE%95%CE%9E%CE%97%202.pdf

3.6.Αυξητική Ορμόνη (GH) ή Σωματοτρόπος ορμόνη

3.6.1.Ορισμός και Φυσιολογία

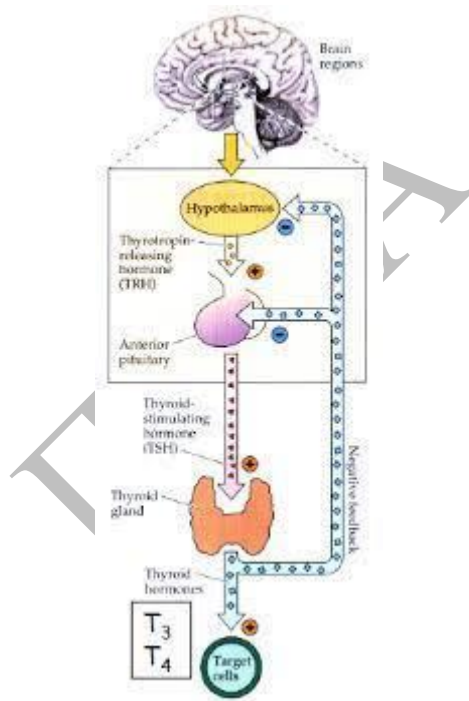
Η αυξητική ή σωματοτρόπος ορμόνη (GH), είναι πρωτεΐνη που αποτελείται από μία πολυπεπτιδική αλυσίδα 191 αμινοξέων. Αυτή, εκκρίνεται από τα σωματότροπα κύτταρα του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης και είναι γνωστή για τις αναβολικές και λιποτροπικές (καταβολισμός και αξιοποίηση λίπους) δράσεις της. Αυτές οι δράσεις της αλλά και το γεγονός ότι ανιχνεύεται δύσκολα και δεν παρουσιάζει τις ανδρογόνες παρενέργειες, των στεροειδών ορμονών, την έκαναν ευρέως διαδεδομένη στο χώρο του αθλητισμού (Ιωαννίδης, 2005).



Εικόνα: Δράση της αυξητικής ορμόνης εντός του κυττάρου.

<http://clinicalpharmacology.med.duth.gr/pres1314/Georeli.pdf>

Η συνθετική αυξητική ορμόνη (rhGH) είναι προϊόν ανθρώπινης ανασυνδυασμένης GH. Αυτή, συντίθεται με εισαγωγή πλασμιδίων, που περιέχουν το γονίδιο της GH, σε στελέχη μικροοργανισμών. Αυτοί με τη σειρά τους, παράγουν την ανασυνδυασμένη ορμόνη rhGH, η οποία στην συνέχεια απομακρύνεται και καθαρίζεται για φαρμακολογική χρήση. (Ιωαννίδης, 2005) (Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, No Date) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002) (ΠΟΛΥΚΑΡΠΟΥ, 2007)



Εικόνα: Σύνθεση της ενδογενούς αυξητικής ορμόνης.

<https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/PHS191/presentations/Hypothalamus.pdf>

3.6.2. GH και Ινσουλινοτρόποι Αυξητικοί Παράγοντες IGF

Για να εκτελέσει με επιτυχία το έργο της η GH, θεωρείται απαραίτητη η ύπαρξη των σωματοδιαμεσινών. Αυτά είναι πεπτίδια, η δομή των οποίων μοιάζει με της προινσουλίνης, εξού και η ονομασία τους, ινσουλινοτρόποι αυξητικοί παράγοντες (IGF). Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί παράγοντες και συντίθενται κυρίως στο ήπαρ και στους νεφρούς, ενώ κυκλοφορούν συνδεδεμένοι με ειδικές πρωτεΐνες, που είναι υπεύθυνες για τη διαθεσιμότητα και τη δραστηριότητα τους. Οι IGF μεσολαβούν στις χαρακτηριστικές αποκρίσεις της GH, σε κάθε ιστό και όργανο, όπως, για παράδειγμα, ο παράγοντας θειώσεως, που προωθεί τη πρόσληψη των θεικών ριζών από τον χόνδρο, διευκολύνοντας έτσι τη δράση της GH (ΠΟΛΥΚΑΡΠΟΥ, 2007) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002).

3.6.3. Δράσεις Αυξητικής Ορμόνης GH

Η GH είναι μία αναβολική ουσία που παρουσιάζει πολλαπλές δράσεις και που επενεργεί στην αύξηση του σώματος και στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών, των λιπών και των υδατανθράκων (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002).

1. Η σωματική ανάπτυξη θεωρείται η πιο σημαντική δράση της αυξητικής ορμόνης. Αναλυτικότερα, η GH επιδρά στον χονδρικό ιστό των οστών, αυξάνοντας την πρωτεϊνοσύνθεση, κυρίως του κολλαγόνου. Με αυτόν τον τρόπο διεγείρεται η αύξηση των μυών και των οστών καθώς επίσης και των υπόλοιπων οργάνων, όπως η καρδιά, το ήπαρ κλπ.
2. Η GH παρουσιάζει ισχυρή αναβολική δράση στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών. Συγκεκριμένα, επιτείνει την πρωτεϊνοσύνθεση, μέσω της ενεργοποίησης των μεταφορέων των αμινοξέων στην κυτταρική μεμβράνη. Αυτό, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία θετικού ισοζυγίου του αζώτου N και πτώση της στάθμης των αμινοξέων και της ουρίας στο αίμα. Άλλος ένας τρόπος με τον οποίο μπορεί να το επιτύχει αυτό, είναι μέσω της επαγωγής της έκφρασης των γονιδίων IGF σε όλους τους ιστούς. Τέλος, η GH συνεργάζεται με την ινσουλίνη, η οποία εμποδίζει τον καταβολισμό των πρωτεϊνών.
3. Η GH παρουσιάζει, επιπροσθέτως, λιπολυτική δράση και επιδρά στον μεταβολισμό των λιπιδίων. Πιο επεξηγηματικά, η GH σε συνεργασία με την ινσουλίνη, αυξάνει την λιπόλυση και ανταγωνίζεται την λιπογένεση. Αυτό

συνεπάγεται, την αύξηση των επιπέδων των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο πλάσμα και την ελάττωση του λιπώδη ιστού. Τέλος, πειραματικά δεδομένα από μελέτες ζώων δείχνουν, ότι η GH, πιθανότατα, να δρα προληπτικά έναντι τραυματισμών καθώς επίσης και ότι βοηθά στην γρήγορη επούλωσή τους (Δρογγίτης, 2003) (Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 2011) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002) (ΠΟΛΥΚΑΡΠΟΥ, 2007).

3.6.4. Απορρόφηση- Μεταβολισμός- Απέκκριση

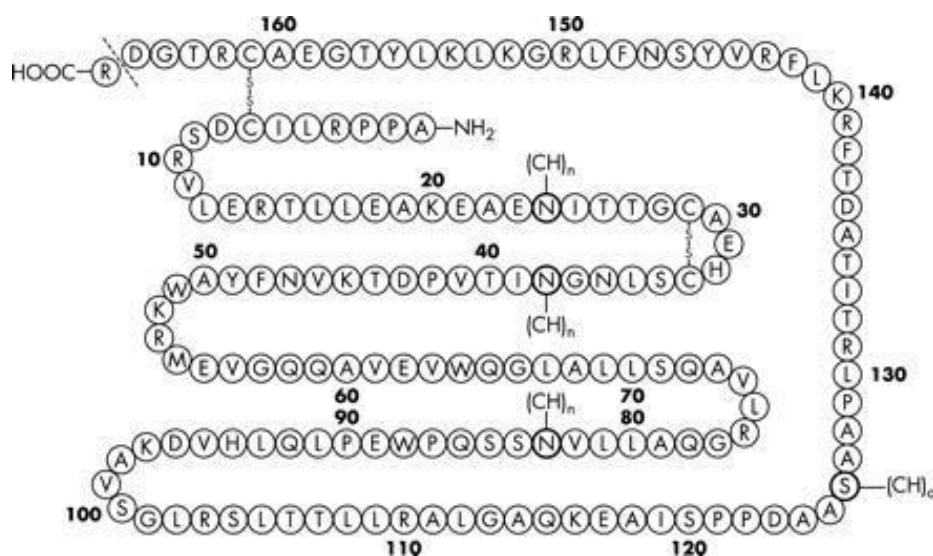
Η αυξητική ορμόνη έχει χρόνο ημιζωής στο πλάσμα, 20-25 λεπτά μετά την έκκρισή της ή μετά από την ενδοφλέβια έγχυσή της. Όταν χορηγείται υποδόρια ή ενδομυϊκά, η συγκέντρωσή της στο αίμα, μειοδοποιείται μετά από 2-4 ώρες, ενώ μετά από 24 ώρες τα επίπεδα της είναι τόσο χαμηλά που δεν ανιχνεύονται. Όταν, η GH περάσει στον οργανισμό, μεταφέρεται εύκολα, λόγω της υδατοδιαλυτής της μορφής, μέσω του αίματος στα κύτταρα στόχους. Η μεταβολική δράση μίας φαρμακολογικής δόσης GH είναι η αύξηση της πρόσληψης γλυκόζης και αμινοξέων και η μείωση της λιπόλυσης. Η GH, διεγείρει τη σύνθεση σωματομεδινών IGF-1 και IGF-2, οι οποίες επάγουν την πρόσληψη θείου στους χόνδρους και αποτελούν τους κύριους μεταβολήτες των κυτταρικών διαδικασιών που συνδέονται με την αύξηση των οστών. Η κυκλοφορούσα GH εξαφανίζεται από την κυκλοφορία αποικοδομούμενη διαμέσου υποδοχέων, κυρίως στο ήπαρ και στα νεφρά. Το ήπαρ και τα νεφρά προσλαμβάνουν το σύμπλοκο GH-υποδοχέα και το αποδομούν πλήρως στα βασικά αμινοξέα. Μόνο ελάχιστες ποσότητες αυξητικής ορμόνης εμφανίζονται στα ούρα (Δρογγίτης, 2003) (ΠΟΛΥΚΑΡΠΟΥ, 2007) (Παγώνης, ANABΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε, 2002).

3.7. Ερυθροποιητίνη (EPO)

3.7.1. Ορισμός και Φυσιολογία

Η ερυθροποιητίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη ορμόνη, υπεύθυνη για τη διαδικασία της ερυθροποίησης. Αποτελείται από 165 αμινοξέα και 4 ολισακχαρικές αλυσίδες, οι οποίες συνδέονται με τα αμινοξέα με N- και O-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Αναλυτικότερα, οι τρεις από αυτές προσδέονται στις αμινομάδες των αμινοξέων στις θέσεις 24, 38 και 83, ενώ η τέταρτη αλυσίδα ενώνεται με την υδροξυλική ομάδα της

αμινοξικής θέσης 126. Τα σακχαρικά τμήματα που συνδέονται με N-γλυκοζιτικούς δεσμούς με την πολυπεπτιδική αλυσίδα, είναι υπεύθυνα για τη σταθερότητα του μορίου στην κυκλοφορία και καθορίζουν τη συγγένεια του μορίου με τον υποδοχέα της (Βασιλείου, 2014). Η παρουσία δύο δισουλφιδικών δεσμών, μεταξύ των αμινοξέων κυστεΐνης στις θέσεις 7-161 και 29-33, είναι υπεύθυνη για την αναδίπλωση της γλυκοπρωτεΐνης στο χώρο, σχηματίζοντας τέσσερις αντιπαράλληλες α-πεπτιδικές αλυσίδες και δύο αγκύλες (β-πτυχές) (Πελεκάνου, 2008) (Δρογγίτης, 2003) (Βασιλείου, 2014).



Εικόνα: Δομή ερυθροποιητίνης.

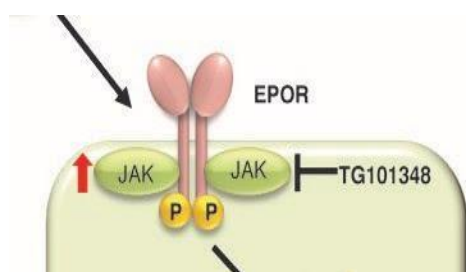
<https://docplayer.gr/47676067-Horigisi-erythropoiitinis-se-aimatologikes-pathiseis-provlepsi-tis-apantisis-kai-meleti-tis-leitoyrgekis-sidiropenias.html>

3.7.2.Βιοσύνθεση Ερυθροποιητίνης (EPO)

Όπως όλες οι πεπτιδικές ορμόνες έτσι και η ερυθροποιητίνη προκύπτει από μία προ-ορμόνη. Αναλυτικότερα, στον άνθρωπο, στο χρωμόσωμα 7, στο τμήμα q11-22, εντοπίζεται το γονίδιο της EPO. Κατά τη μεταγραφή του γονιδίου αυτού, παράγεται η προ-ορμόνη, η οποία αποτελείται από 193 αμινοξέα. Στη συνέχεια, από το αμινοτελικό άκρο της αλυσίδας, αποσπάται ένα υδρόφοβο πεπτίδιο μεγέθους 27 αμινοξέων. Η αλυσίδα που προκύπτει, διαθέτει 166 αμινοξέα, από τα οποία αποσπάται το αμινοξύ αργινίνη από το καρβοξυτελικό άκρο αυτής, οπότε προκύπτει το τελικό μόριο της ερυθροποιητίνης (Δρογγίτης, 2003) (Βασιλείου, 2014)

3.7.3. Υποδοχέας Ερυθροποιητίνης (EPO) – EPOR

Όπως όλες οι πεπτιδικές ορμόνες, έτσι και η ερυθροποιητίνη ρυθμίζει την κυτταρική λειτουργία, μέσω του μεμβρανικού υποδοχέα της EPOR. Το γονίδιο του εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 19. Στην πρόδρομη μορφή του αποτελείται από 508 αμινοξέα, ενώ στην τελική, από 225 στο εξωκυττάριο τμήμα του, 22 στο διαμεμβρανικό και 236 αμινοξέα στο κυτταροπλασματικό τμήμα του. Ο λειτουργικός EPOR εντοπίζεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη υπό τη μορφή διμερούς. Η πρόσδεση του μορίου της EPO, προκαλεί αλλαγές στη χωροδιάταξη των δύο υπομονάδων του υποδοχέα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίησή του, μέσω φωσφορύλιωσης, και τη μετάδοση του σήματος (Πελεκάνου, 2008) (Βασιλείου, 2014).



Εικόνα: Μεμβρανικός υποδοχέας ερυθροποιητίνης, EPOR.

<https://www.jci.org/articles/view/69804/figure/7>

3.7.4. Μηχανισμός Δράσης Ερυθροποιητίνης (EPO)

Η ερυθροποιητίνη είναι μία ορμόνη με ενδοκρινή ρόλο, η οποία εκκρίνεται κατά 90% από τα περισωληνιαρικά κύτταρα του νεφρού και κατά 10% από τα ηπατικά κύτταρα. Η EPO είναι υπεύθυνη για την ερυθροποίηση στον μυελό των οστών, καθώς προάγει τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την επιβίωση των προγονικών κυττάρων της ερυθράς σειράς. Σε καταστάσεις μειωμένης παροχής οξυγόνου, δηλαδή ιστικής υποξίας ή/και αναιμίας, διεγείρεται η παραγωγή της EPO και κατ' επέκταση η παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων. Αυτή η διαδικασία, οδηγεί σε αύξηση της μάζας των ερυθροκυττάρων, σε αύξηση της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη. Με την αύξηση του αριθμού των ερυθροκυττάρων, αυξάνεται και το ποσό του αποθηκευμένου οξυγόνου ανά δείγμα όγκου αίματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, την καλύτερη μεταφορά του οξυγόνου και κατά συνέπεια, τη μεγαλύτερη αντοχή του οργανισμού.

Αυτός είναι και ο κυριότερος λόγος για τον οποίο αθλητές χρησιμοποιούν παράγωγα ερυθροποιητίνης.

Η ρύθμιση της διαδικασίας της παραγωγής ερυθροποιητίνης, ελέγχεται από ένα μεταγραφικό παράγοντα, HIF-1, ο οποίος εξαρτάται από τα επίπεδα οξυγόνωσης του αίματος. Ο HIF-1, είναι ένα ετεροδιμερές, αποτελούμενο από τις υπομονάδες HIF-1α και HIF-1β, οι οποίες ανήκουν στην οικογένεια PAS των μεταγραφικών παραγόντων. Πιθανότατα, η παραγωγή της EPO από τον HIF, οφείλεται σε μία πολυδροξυλάση, η οποία σε χαμηλά επίπεδα οξυγόνου (21% O₂), υδροξυλιώνει τις α-υπομονάδες του παράγοντα HIF-1 (Δρογγίτης, 2003) (Βασιλείου, 2014) (Πελεκάνου, 2008).



Εικόνα: Ρύθμιση ερυθροποιητίνης από τον μεταγραφικό παράγοντα HIF-1.

https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3080/1/Chapter_02_Loukopoulos.pdf

3.7.5. Παράγωγα Ερυθροποιητίνης EPO

Το 1977 απομονώθηκε καθαρή ερυθροποιητίνη από ανθρώπινα ούρα, το 1985 κλωνοποιήθηκε το γονίδιο της και το 1987 διατέθηκε στο εμπόριο ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη rh-EPO. Τα προϊόντα της rh-EPO, ονομάζονται παράγοντες διέγερσης ερυθροποιητίνης (ESAs), ανάλογα ερυθροποιητίνης ή απλα ερυθροποιητίνες. (Δρογγίτης, 2003) (Βασιλείου, 2014)

3.7.5.1. Ερυθροποιητίνες

Οι ερυθροποιητίνες, περιλαμβάνουν διάφορα μόρια όπως την εποετινη-α, την εποετινη-β, την εποετινη-ω κ.α. Οι εποετίνες α και β, αποτελούνται από 165 αμινοξέα, σχεδόν όμοια με την φυσική EPO, και οι διαφορές τους εντοπίζονται κυρίως στις ομάδες των υδατανθράκων. Οι εποετίνες αυτές, προέρχονται από κυτταρικές σειρές

ωοθηκών κινεζικών κρικητών (CHO). Η εποετίνη-ω, παράγεται από κύτταρα νεφρού μικρών ποντικών και διαφέρει από τις παραπάνω, ως προς τη γλυκοζυλίωση. Η εποετίνη-δ παράγεται από καλλιέργειες κυττάρων ανθρώπινου ινοσαρκώματος, στο οποίο έχει ενσωματωθεί επαγωγέας του κυτταρομεγαλοϊού. Οι εποετίνες θ και ζ, αντιπροσωπεύουν βιο-ισοδύναμα των κλασικών παράγωγων της ερυθροποιητίνης. Συγκεκριμένα, η ζ παράγεται με τεχνητή ανασυνδυασμένου DNA από κύτταρα CHO, είναι πανομοιότυπη στην αλληλουχία των αμινοξέων και στην σύνθεση των υδατανθράκων, με την ενδογενή EPO. (Βασιλείου, 2014)

3.7.5.2. Δαρβεποετίνη

Η δαρβεποετίνη-α είναι ένα υπεργλυκοζυλιωμένο παράγωγο της EPO, μεγαλύτερου μοριακού βάρους, λόγω των δύο επιπρόσθετων σακχαρικών αλυσίδων στις θέσεις 30 και 88, οι οποίες έχουν αντικαταστήσει 5 αμινοξέα. Η δαρβεποετίνη, επιδεικνύει μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής, σχετικά με τις εποετίνες α και β, μετά από ενδοφλέβια ένεση. Ταυτόχρονα, χαρακτηρίζεται από μειωμένη συγγένεια με τον EPOR, αλλά αυξημένη βιολογική δραστηριότητα *in vivo*, κάτι που εξηγείται από την αρνητική επίδραση των υδατανθρακικών ομάδων στην κάθαρση του μορίου. (Βασιλείου, 2014)

3.7.5.3. Πεγκυλιωμένα Παράγωγα

Τα πεγκυλιωμένα παράγωγα προκύπτουν με την προσθήκη πολυαιθυλενογλυκόλης στις δραστικές πρωτεϊνικές ή υδατανθρακικές ομάδες της EPO. Αυτή η τροποποίηση, έχει ως αποτέλεσμα την παράταση του χρόνου ημίσειας ζωής διαφόρων ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών. Αυτού του είδους μόρια, επιδεικνύουν περιορισμένη ανοσογονικότητα και μειωμένη κάθαρση, λόγω αύξησης του υδροδυναμικού μεγέθους τους, η οποία καθυστερεί τη μεταφορά τους, από το αίμα στον έξω-αγγειακό χώρο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα πεγκυλιωμένου μορίου είναι η μακράς δράσης εποετίνη-β. (Βασιλείου, 2014)

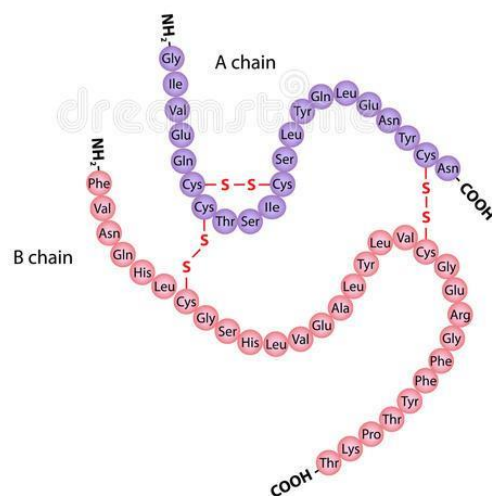
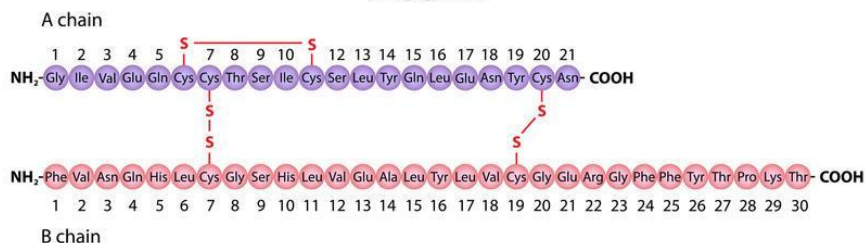
3.8. Ινσουλίνη

3.8.1. Ορισμός – Φυσιολογία και Βιοσύνθεση

Η ινσουλίνη είναι μία πρωτεϊνική ορμόνη, της οποίας το γονίδιο εντοπίστηκε στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 11, στο οποίο γίνεται η κωδικοποίηση της προ-προινσουλίνης. Η προ-προινσουλίνη, είναι ένα πρόδρομο πολυπεπτίδιο με 114 αμινοξέα, από το οποίο προκύπτει η προινσουλίνη. Συγκεκριμένα, με τη βοήθεια

πρωτεολυτικών ενζύμων (θρυψίνη, καρβοξυπεπτιδάση Β), γίνεται απόσπαση ενός αμινοτελικού πεπτιδίου και δημιουργείται η προϊνσουλίνη με 84 αμινοξέα. Αυτή η διαδικασία, συμβαίνει στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο των β-κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος. Από την προϊνσουλίνη, προκύπτει η δραστική ινσουλίνη, με ενζυμική διάσπαση, στο σύμπλεγμα Golgi. Αναλυτικότερα, πρωτεάσες με δραστηριότητα θρυψίνης και καρβοξυπεπτιδάσης Β, αποσπούν το C-πεπτίδιο, από το μόριο της προϊνσουλίνης, και προκύπτει η ενεργός ινσουλίνη με 51 αμινοξέα. Το μόριο αυτής, αποτελείται από 2 αλυσίδες αμινοξέων, η Α-αλυσίδα αποτελείται από 21 αμινοξέα και η Β από 30. Αυτές, ενώνονται μεταξύ τους με δύο δισουλφιδικούς δεσμούς, μεταξύ των κυστεινών της θέσης 7 των δύο αλυσίδων και των κυστεινών της θέσης 20 και 19 στις αλυσίδες Α και Β αντίστοιχα. Στην αλυσίδα Α, υπάρχει ακόμα μία δισουλφιδική γέφυρα μεταξύ των κυστεινών της θέσης 6 και 11. Η ινσουλίνη, εξέρχεται στο μεσοκυττάριο χώρο με εξωκυττάρωση και, μέσω της πυλαιάς οδού, μεταφέρεται με τη κυκλοφορία του αίματος, αρχικά στο ήπαρ και έπειτα στους περιφερειακούς ιστούς για μεταβολισμό. Η ινσουλίνη αποθηκεύεται σε εκκριτικά κοκκία τα οποία εισέρχονται και αποθηκεύονται σε μεγαλύτερα κοκκία του πρωτοπλάσματος, από όπου εκκρίνεται σε μικρές ποσότητες ανά ώρα. (Βενετίκου, 2020) (Σπανούδη, 2016) (Σκορίλας, No Date)

Insulin



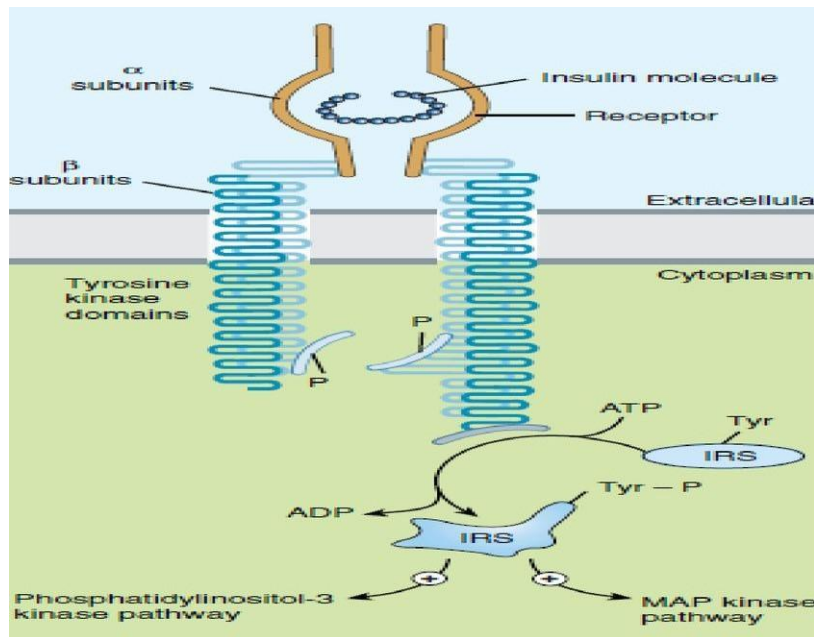
Insulin

Εικόνα: Μορφή Αλυσίδων Ινσουλίνης.

<https://gr.dreamstime.com/%CF%83%CF%84%CE%BF%CE%BA-%CE%B5%CE%B9%CE%BA%CF%8C%CE%BD%CE%B5%CF%82-%CE%B4%CE%BF%CE%BC%CE%AE-%CF%84%CE%B7%CF%82-%CE%B1%CE%BD%CE%B8%CF%81%CF%8E%CF%80%CE%B9%CE%BD%CE%B7%CF%82-%CE%B9%CE%BD%CF%83%CE%BF%CF%85%CE%BB%CE%AF%CE%BD%CE%B7%CF%82-image27081204>

3.8.3. Ινσουλινικοί Υποδοχείς

Όπως αναφέραμε νωρίτερα, οι πεπτιδικές ορμόνες, όπως η ινσουλίνη, συνδέονται με μεμβρανικούς υποδοχείς στους ιστούς-στόχους, ώστε να ολοκληρωθεί η δράση της. Οι ινσουλινικοί υποδοχείς είναι σύνθετες πρωτεΐνες, που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη. Αυτοί, είναι υπεύθυνοι για την αναγνώριση της ορμόνης από τον ιστό-στόχο καθώς και για την ενεργοποίηση των διαδικασιών που οδηγούν στην έκφραση της δράσης της ορμόνης. Η ποσότητα των υποδοχέων και ο βαθμός σύνδεσής τους με το μόριο της ινσουλίνης, επηρεάζονται από την υπερινσουλιναιμία, την άσκηση κ.α. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της υψηλής συγκέντρωσης της ορμόνης, η σύνδεσή της με τον υποδοχέα μειώνεται, ενώ η άσκηση φαίνεται να συμβάλει στην σύνδεση αυτή. Στο κύτταρο-στόχο, αρχικά η ινσουλίνη συνδέεται με το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα, ενεργοποιώντας την φωσφορυλίωση μίας ειδικής τυροσίνης, στο κυτταροπλασματικό τμήμα του. Έπειτα, ο υποδοχέας φωσφορυλιώνει ειδικά υποστρώματα (IRS μόρια) και την πρωτεΐνη Shc. Τα IRS μόρια, αλληλεπιδρούν με την SH2 περιοχή των πρωτεϊνών, όπως την p85 υπομονάδα της PI3-κινάσης. Αυτή η αλληλεπίδραση είναι υπεύθυνη για την ολοκλήρωση της έκφρασης της δράσης της ινσουλίνης, δηλαδή την μεταφορά μορίων στο κύτταρο, όπως γλυκόζη και αμινοξέα, και την επίδραση στον ενδοκυττάριο μεταβολισμό των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπών. (Σπανούδη, 2016)



Εικόνα: Ινσουλινικός Υποδοχέας - διαδικασία σύνδεσης ινσουλίνης- υποδοχέα.

<https://slideplayer.gr/slide/16205799/>

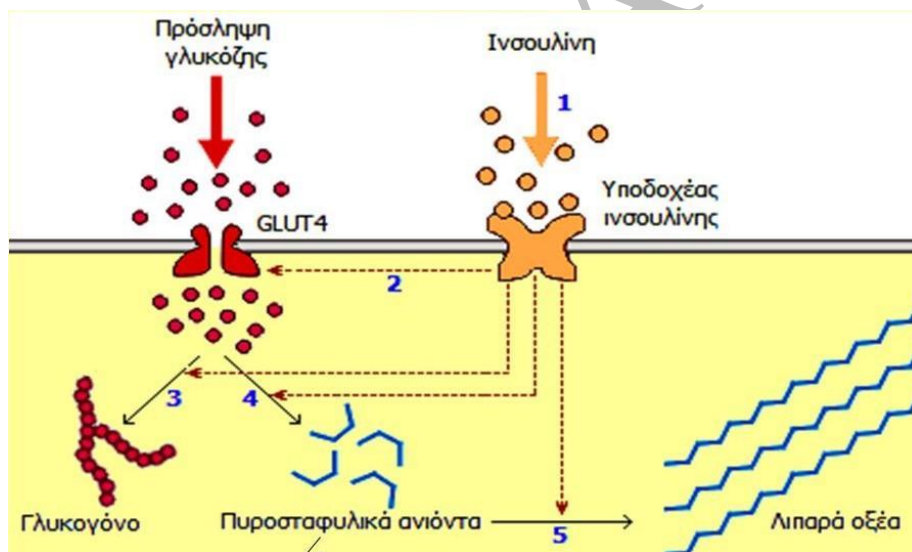
3.8.4.Μηχανισμός Δράσεις Ινσουλίνης – Αναβολικές Ιδιότητες

Η ινσουλίνη μπορεί να αποτελέσει παράγοντα αύξησης της αθλητικής απόδοσης με πολλούς τρόπους, οι κυριότεροι από τους οποίους είναι η παραγωγή γλυκογόνου και ο έλεγχος του μεταβολισμού των πρωτεϊνών. Ο πρώτος τρόπος, αφορά την είσοδο της γλυκόζης στα κύτταρα, σε ποσά μεγαλύτερα από τις ανάγκες της κυτταρικής αναπνοής, διεγείροντας έτσι το σχηματισμό γλυκογόνου, του καυσίμου των μυών, και αυξάνοντας την αθλητική απόδοση. (Δρογγίτης, 2003) (Πετρακόπουλος, 2015) (Σπανούδη, 2016)

3.8.4.1.Σχηματισμός Γλυκογόνου Στους Μύες

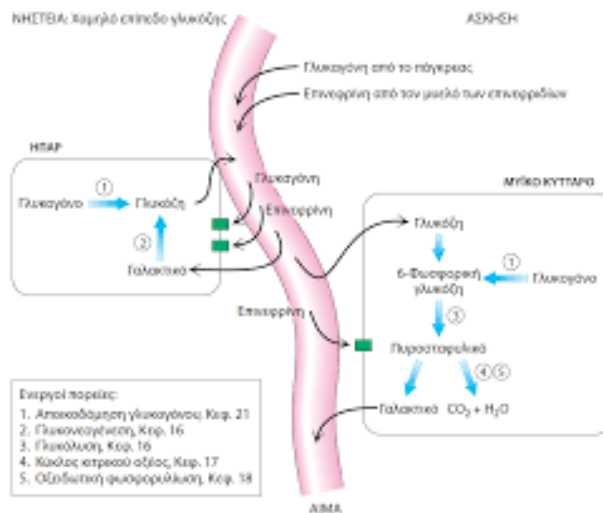
Η γλυκόζη αποτελεί το σημαντικότερο καύσιμο του οργανισμού και αποθηκεύεται στους ιστούς με τη μορφή γλυκογόνου. Όσον αφορά τον μυϊκό ιστό, μετά την άσκηση, χρησιμοποιεί την γλυκόζη από το γλυκογόνο, που είναι αποθηκευμένο στον μυ, με αποτέλεσμα την μείωση των αποθεμάτων. Η σύνθεση του γλυκογόνου, αρχίζει με το σχηματισμό του γλυκοζο-6-φωσφορικού, που προέρχεται από τη φωσφορυλίωση της γλυκόζης με τη βοήθεια της εξοκινάσης. Το γλυκοζο-6-φωσφορικό, μέσα από μία σειρά αντιδράσεων, προσκολλάται στην αλυσίδα του γλυκογόνου με τη βοήθεια του ενζύμου, συνθετάση του γλυκογόνου. Το ένζυμο αυτό, επηρεάζεται από την ινσουλίνη και το υπάρχον γλυκογόνο στα μυϊκά κύτταρα, συγκεκριμένα, τα αυξημένα επίπεδα

ινσουλίνης και τα μειωμένα επίπεδα γλυκογόνου, αυξάνουν την συγκέντρωση του ενζύμου. Η παραπάνω δράση της ινσουλίνης, δεν οδηγεί σε αυξημένη γλυκογονοσύνθεση αν δεν αυξηθεί αντίστοιχα η μεταφορά γλυκόζης και η δραστηριότητα της εξοκινάσης. Η μεταφορά της γλυκόζης, περιλαμβάνει την σύνδεση της στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης με ειδικές πρωτεΐνες-μεταφορείς, στην περίπτωση του μυϊκού ιστού, τον GLUT-4 και λιγότερο τον GLUT-1, και την απελευθέρωσή της, μόλις εισέλθει στο κύτταρο, με μηχανισμό διάχυσης. Οι μεταφορείς αυτοί, βρίσκονται αποθηκευμένοι σε μικροσωματικό σύστημα στο κύτταρο και μετακινούνται στην επιφάνεια του, παρουσία ινσουλίνης. Τέλος, η ινσουλίνη έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει το βασικό ένζυμο για τη διάσπαση του γλυκογόνου, τη φωσφορυλάση του γλυκογόνου, με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα επίπεδα του στους μύες. Διαπιστώνουμε λοιπόν, πως η ινσουλίνη επηρεάζει τα επίπεδα γλυκογόνου με δύο μηχανισμούς, ενεργοποιώντας τον ρυθμό γλυκογονοσύνθεσης και αναστέλλοντας την γλυκογονόλυση. (Σπανούδη, 2016)



Εικόνα: Μεταφορά γλυκόζης στο κύτταρο σε αυξημένη συγκέντρωση ινσουλίνης μέσω των πρωτεϊνών-μεταφορέων.

http://195.134.76.37/chemicals/chem_insulin.htm



Εικόνα: Παρασκευή γλυκογόνου στους μύες.

https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/VET_U_215/8_9_%CE%9C%CE%B5%CF%84%CE%B1%CE%B2%CE%BF%CE%BB%CE%B9%CF%83%CE%BC%CF%8C%CF%82_%CE%93%CE%BB%CF%85%CE%BA%CE%BF%CE%B3%CF%8C%CE%BD%CE%BF%CF%85.pdf

3.8.4.2. Μεταβολισμός Πρωτεϊνών

Οι δράσεις της ινσουλίνης στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών είναι:

1. Αύξηση μεταφοράς αμινοξέων στους περιφερειακούς ιστούς.
2. Αύξηση πρωτεϊνοσύνθεσης στους περιφερειακούς ιστούς και στο ήπαρ.
3. Ελάττωση της αποδόμησης των πρωτεϊνών, κυρίως στον μυϊκό ιστό.
4. Ελάττωση του σχηματισμού ουρίας.

Προκειμένου να μεταφερθούν τα αμινοξέα, μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, χρειάζεται το κύτταρο να διαθέτει κάποια ενέργεια. Η ινσουλίνη συμβάλλει στην είσοδο των αμινοξέων στα κύτταρα και στην ενσωμάτωση τους στις κυτταρικές πρωτεΐνες, αναστέλλοντας ταυτόχρονα τη διάσπαση των πρωτεϊνών. Οι δράσεις αυτές έχουν σαν αποτέλεσμα την αύξηση της σύνθεσης πρωτεϊνών, που είναι η βασικότερη αναβολική δράση της ινσουλίνης. Οι διεργασίες που αφορούν την πρωτεϊνοσύνθεση, λαμβάνουν χώρα σε διάφορους ιστούς του οργανισμού. Η άμεση παρέμβαση της ινσουλίνης, φαίνεται να ασκείται στην αρχική της φάση, κατά την οποία γίνεται η μετάφραση του mRNA από τα ριβοσώματα. Η ινσουλίνη, προκαλεί μεταβολές στο επίπεδο του mRNA με άμεσο τρόπο. Υπεύθυνος για αυτή τη δράση είναι ένας σύνθετος μηχανισμός, που είναι περισσότερο ευαίσθητος σε παρατεταμένες επιδράσεις της ινσουλίνης. Η

ινσουλίνη είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση τόσο της σύνθεσης όσο και της δραστηριοποίησης ειδικών πρωτεϊνών, όπως τα ένζυμα, τα οποία διαδραματίζουν βασικό ρόλο στο μεταβολισμό των λιπών και των υδατανθράκων. Αυτή η παρατεταμένη επίδραση της ινσουλίνης πιθανώς προέρχεται, από τις μεταβολές των ίδιων των επιπέδων του mRNA, οι οποίες οφείλονται στις αλλαγές του ρυθμού μεταγραφής των αντίστοιχων γονιδίων. (Σπανούδη, 2016)

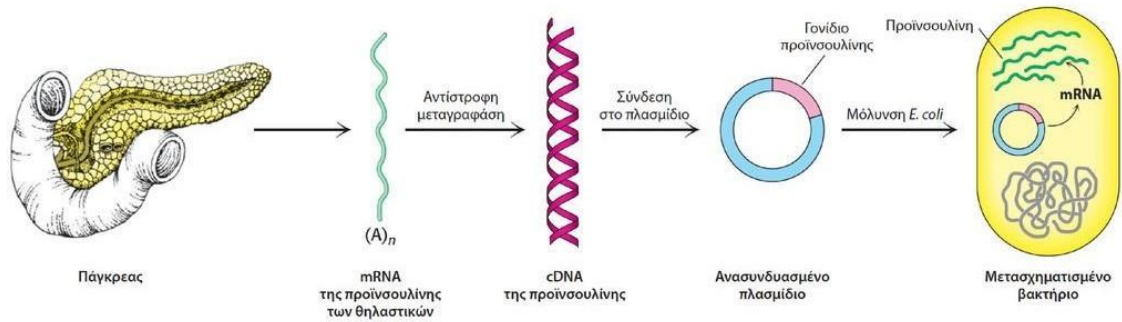
3.8.5.Εξωγενής Ινσουλίνη

Αρχικά η ινσουλίνη εξάγονταν από τους αδένες του παγκρέατος των βοοειδών, των χοίρων και άλλων ζώων. Αυτή η διαδικασία παρασκευής ινσουλίνης, λόγω της μικρής συγγένειας με την ανθρώπινη, παρουσίαζε αλλεργίες σε ένα μέρος του πληθυσμού και σε συνδυασμό με το υψηλό κόστος της, κρίθηκε αναγκαία η αναζήτηση εναλλακτικών τρόπων παραγωγής ινσουλίνης. Στις μέρες μας λοιπόν, έχουμε τη δυνατότητα παρασκευής συνθετικής ινσουλίνης με δύο τρόπους, είτε με τη τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, είτε με χημικό τρόπο. (Περδικάκη, 2017)

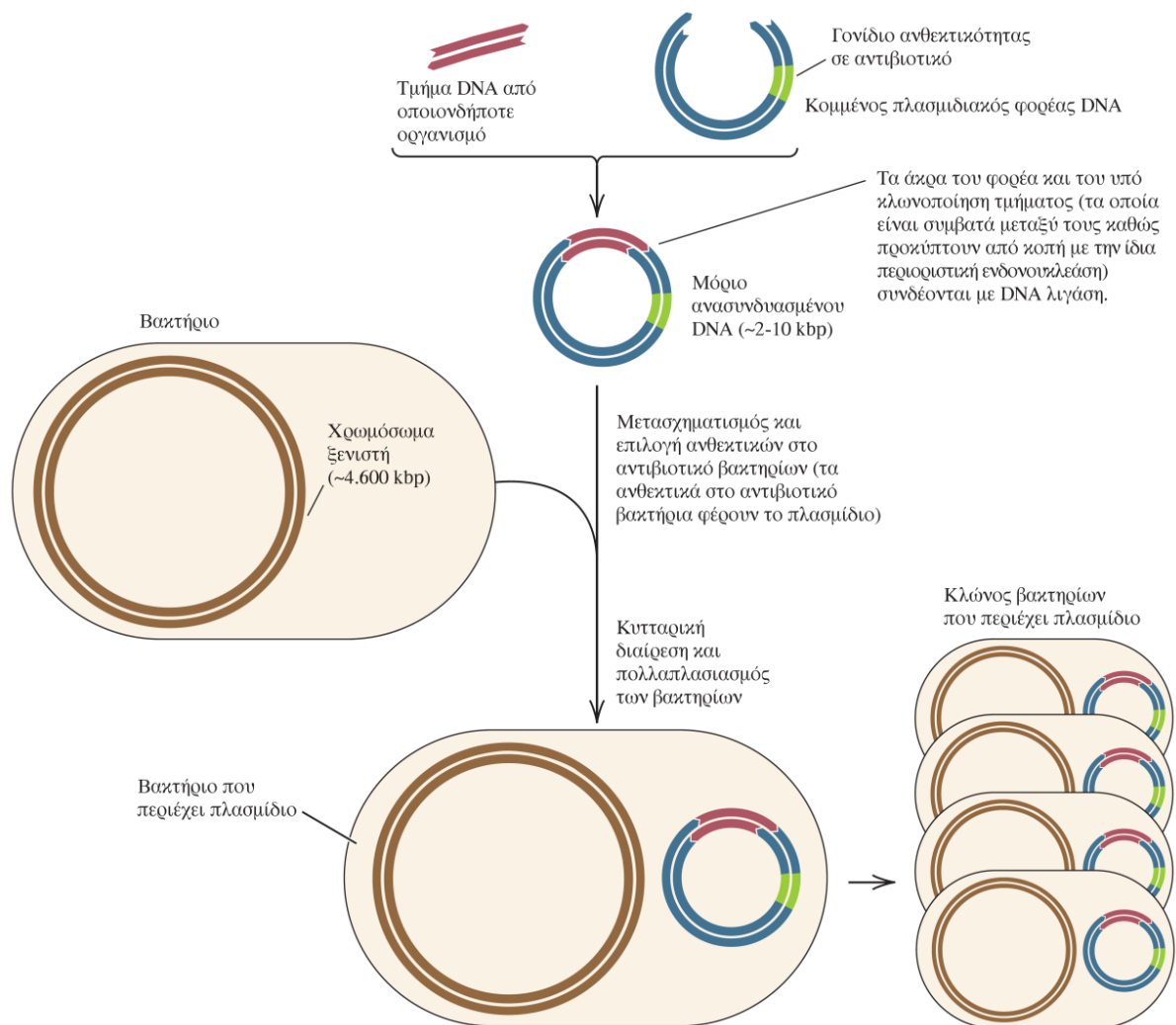
1. Μέθοδος Ανασυνδυασμένου DNA

Ανασυνδυασμένο DNA είναι, ένα μόριο που κατασκευάζεται από τη συνένωση δύο ή περισσότερων τμημάτων DNA διαφορετικής προέλευσης. Στις περισσότερες περιπτώσεις αποτελείται από ένα τμήμα DNA, που έχει απομονωθεί από έναν οργανισμό-δότη, με βοήθεια **περιοριστικών ενδονουκλεασών** (ένζυμα που αναγνωρίζουν αλληλουχίες DNA, και κόβουν σε καθορισμένα σημεία), και έχει ενσωματωθεί σε ένα ειδικό μόριο DNA, τον φορέα κλωνοποίησης. **Φορέας κλωνοποίησης** είναι, ένα μόριο DNA, συνήθως πλασμίδιο, που έχει την ικανότητα να αυτοδιπλασιάζεται ανεξάρτητα μέσα σε ένα κύτταρο-ξενιστή. **Πλασμίδιο** είναι, κυκλικό αυτοαναπαραγόμενο μόριο DNA, που λειτουργεί ως βοηθητικό χρωμόσωμα, το οποίο το συναντάμε σε βακτήρια ή ζύμες. Αυτό, μεταφέρεται εύκολα σε βακτήρια μέσω της κυτταρικής μεμβράνης (μετασχηματισμός) και αντιγράφεται μέσα σε αυτά, με γρήγορους ρυθμούς. Με τη βοήθεια των πλασμιδίων, ένα τμήμα DNA του οργανισμού-δότη εισάγεται σε ένα κύτταρο-ξενιστή και αυτοδιπλασιάζεται. Από το κύτταρο-ξενιστή, προκύπτει μία ομάδα θυγατρικών κυττάρων, τα οποία φέρουν τις νέες ιδιότητες, που τους προσδίδει το τμήμα DNA του οργανισμού-δότη (Μπατρίνου, 2011)

Η παραγωγή ινσουλίνης με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA ξεκίνησε το 1978 από την εταιρία Genetech, χρησιμοποιώντας το βακτήριο *Escherichia coli*. Οι ερευνητές παρήγαγαν τεχνητά γονίδια για κάθε μία από τις πρωτεϊνικές αλυσίδες του μορίου της ινσουλίνης, τα οποία τα εισήγαγαν σε πλασμίδια και τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια, στην συνέχεια, τα εισήγαγαν σε βακτήρια *E-coli*. Η *Escherichia coli* παρήγαγε μεγάλες ποσότητες μορίων είτε της αλυσίδας A είτε της B, οι οποίες στη συνέχεια συνδυάζονταν ώστε να παράγουν μόρια ινσουλίνης. Σήμερα, τα βήματα που ακολουθούνται για την παραγωγή συνθετικής ινσουλίνης με την τεχνική αυτή είναι τα παρακάτω. Αρχικά, απομονώνεται mRNA, από ειδικά κύτταρα του ανθρώπινου παγκρέατος, στα οποία εκφράζεται το γονίδιο παραγωγής προινσουλίνης. Το mRNA, χρησιμοποιείται ως “καλούπι”, για τη σύνθεση συμπληρωματικού DNA (cDNA), με τη βοήθεια του ενζύμου αντίστροφης μεταγραφάσης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία υβριδικών μορίων, cDNA-mRNA. Έπειτα, το mRNA, διασπάται με κατάλληλες χημικές ουσίες ή αποδιατάσσεται με θέρμανση. Το cDNA, χρησιμοποιείται ως καλούπι για τη σύνθεση μίας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA, με αποτέλεσμα τη δημιουργία δίκλωνου μορίου DNA, το οποίο εισάγεται σε πλασμίδια. Ακολουθεί ο μετασχηματισμός των ανασυνδυασμένων πλασμιδίων σε βακτήρια, *Escherichia coli*. Τα πλασμίδια, εκτός από το επιθυμητό γονίδιο της κάθε αλυσίδας, διαθέτουν και γονίδιο ανθεκτικότητας σε συγκεκριμένο αντιβιοτικό. Κατά συνέπεια, μετά από καλλιέργεια των βακτηρίων σε θρεπτικό υλικό, που περιέχεται το αντιβιοτικό, αναπτύσσονται μόνο τα αυτά με το ανασυνδυασμένο DNA. Από αυτά, επιλέγονται τα βακτήρια που διαθέτουν το γονίδιο παραγωγής προινσουλίνης, χρησιμοποιώντας ειδικούς ανιχνευτές. Ύστερα, ακολουθεί ανάπτυξη βακτηρίων σε βιοαντιδραστήρα για παραγωγή του πρόδρομου μορίου της ινσουλίνης. Μετά τη συλλογή του, αφαιρείται, με κατάλληλο ένζυμο, το ενδιάμεσο πεπτίδιο και παραλαμβάνεται το μόριο της ινσουλίνης. Αυτή η μορφή συνθετικής ινσουλίνης, απορροφάται ταχύτερα από αυτή της ζωικής προέλευσης και είναι μόριο υψηλής καθαρότητας (Περδικάκη, 2017) (Μπατρίνου, 2011).



Εικόνα: Διαδικασία παρασκευής ανασυνδυασμένου DNA, από κύτταρα ανθρώπινου παγκρέατος, και εισαγωγή του σε βακτήριο για την παραγωγή προΐνσουλίνης.



Εικόνα: Τα στάδια για την παραγωγή του ανασυνδυασμένου DNA, ο μετασηματισμό του σε βακτήριο και κλωνοποίηση των βακτηρίων με το ανασυνδυασμένο DNA και κατ' επέκταση τις επιθυμητές ιδιότητες.

<https://mde.biologia.gr/koupa/2018/04/14/%CE%BA%CE%BB%CF%89%CE%BD%CE%BF%CF%80%CE%BF%CE%AF%CE%B7%CF%83%CE%B7-%CE%B3%CE%BF%CE%BD%CE%B9%CE%B4%CE%AF%CE%BF%CF%85-%CF%83%CE%B5-%CF%80%CE%BB%CE%B1%CF%83%CE%BC%CE%AF%CE%B4%CE%B9%CE%BF-%CF%80%CF%89/>

2. Χημική Μέθοδος

Η χημική μέθοδος δίνει τη δυνατότητα, αλλαγής της πεπτιδικής αλυσίδας με τη χρήση ρυθμιστικών μέσων καθώς και την εισαγωγή μη φυσικών αμινοξέων. Τα βασικότερα πλεονεκτήματά της είναι το μικρό της κόστος και η χρήση απλών χημικών μεθόδων και μηχανημάτων. Τα βασικότερα μειονεκτήματα της χημικής σύνθεσης αποτελούν, η χαμηλή απόδοση του συνδυασμού των δύο αλυσίδων της ινσουλίνης καθώς και η δυσδιαλυτοτητα της αλυσίδας Α. (Περδικάκη, 2017)

4. ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΑΝΑΒΟΛΙΚΩΝ

4.1. Εισαγωγή

Είναι αδιαμφισβήτητο ότι η χρήση αναβολικών και κυρίως των ανδρογόνων στεροειδών, έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια. Επιπροσθέτως, είναι φανερό πως η πλειοψηφία των χρηστών δεν είναι επαγγελματίες αθλητές και η κατανάλωση των αναβολικών είναι περισσότερο για κοινωνικούς παρά για αθλητικούς λόγους. Πρόβλημα επίσης, αποτελεί και το γεγονός ότι οι δόσεις αυξάνονται διαρκώς, με αποτέλεσμα να φτάνουν από 10 έως και 40 φορές μεγαλύτερες από τις αποδεκτές για θεραπευτικούς σκοπούς, φθάνοντας σε δόσεις 1000 ή/και 2000 μg την εβδομάδα. Τέλος, αρκετά ανησυχητικό είναι το γεγονός ότι, οι χρήστες φαίνεται να καταναλώνουν διαφορετικούς τύπους αναβολικών την ίδια περίοδο καθώς και διαφορετικά σκευάσματα παράλληλα με αυτά, με στόχο τη βελτίωση της αθλητικής απόδοσης και την καταπολέμηση των παρενεργειών, κυρίων των ΑΑΣ (Τσιτσιλιώνης, 2012) Η χρήση των συνθετικών αναβολικών καθώς και οι πρακτικές που ακολουθούν οι χρήστες είναι πολύ πιθανό να εμφανίσουν παρενέργειες, μερικές από τις οποίες είναι πολύ σοβαρές και μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και στο θάνατο. (Βασιλάκη, 2016)

4.2.Ενδοκρινολογικές Διαταραχές

Έχει παρατηρηθεί πως ουσίες που χρησιμοποιούνται για ντόπινγκ, έχουν άμεση επίδραση στην ορμονική ισορροπία, προκαλώντας ενδοκρινολογικές διαταραχές. Τα ΑΑΣ, είναι αυτά που επηρεάζουν σε μεγαλύτερο βαθμό τον υποθάλαμο, την υπόφυση και τις γονάδες, προκαλώντας διάφορες παρενέργειες που διαφέρουν ανάλογα το φύλο και την ηλικία.

Στους άνδρες η χρήση ΑΑΣ μειώνει τα επίπεδα της ωχρινοτρόπου (LH) και της θυλακοτρόπου (FSH) ορμόνη με αποτέλεσμα την μείωση παραγωγής ενδογενούς τεστοστερόνης και κατ' επέκταση την ατροφία των όρχεων και την μειωμένη σπερματογένεση. Επιπροσθέτως, άλλη μία διαταραχή είναι η εμφάνιση γυναικομαστίας λόγω της μετατροπής των συνθετικών ανδρογόνων στεροειδών σε οιστρογόνα, όπως οιστραδιόλη και οιστρόνη. Συνήθως, με τη διακοπή των στεροειδών οι παρενέργειες υποχωρούν.

Οι γυναίκες αντιμετωπίζουν μεγαλύτερα προβλήματα από την άποψη ότι συνήθως οι παρενέργειες είναι μη αναστρέψιμες. Η χρήση των ΑΑΣ προκαλεί διαταραχές της εμμήνου ρύσης και φαινόμενα αρρενοποίησης. Ορισμένες από τις ανδρογόνες επιδράσεις είναι η έντονη τριχοφυΐα, αλλαγές στη χροιά της φωνής, ανάπτυξη ανδρικού τύπου αλωπεκία κ.α.

Μία κοινή ενδοκρινική διαταραχή αποτελεί η ευαισθησία στην ινσουλίνη. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε δυσανεξία στην γλυκόζη (διαβήτης τύπου II) και σε μεταβολές στις θυρεοειδικές ορμόνες. (Βασιλάκη, 2016) (Τσιτσιλιώνης, 2012)

4.3.Αύξηση Κορτιζόλης

Έρευνες υποδεικνύουν πως τα αναβολικά στεροειδή αυξάνουν τα επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα. Αυτό οφείλεται, κυρίως στην ελάττωση της διάσπασης κορτιζόλης στο ήπαρ. Αναλυτικότερα, τα ΑΑΣ παρουσιάζουν ομοιότητα στη δομή της, με αποτέλεσμα να δρουν ανταγωνιστικά για τη σύνδεση με ειδική δεσμευτική αλβουμίνη, υπεύθυνη για το μεταβολισμό κορτιζόλης, την τρανσκορτίνη. Η κορτιζόλη επηρεάζει σημαντικά τον οργανισμό με διάφορους μηχανισμούς, δημιουργώντας ανεπιθύμητες ενέργειες. Ορισμένες από αυτές είναι η αύξηση της αρτηριακής πίεσης και το οίδημα, μέσω της κατακράτησης νερού στα νεφρά. Επιπλέον, επηρεάζει το κεντρικό νευρικό σύστημα προκαλώντας διαταραχές του θυμικού με διακυμάνσεις από κατάθλιψη μέχρι και

ψύχωση. Σημαντικές επίσης, είναι οι μεταβολές στο υποδόριο λίπος και στο κολλαγόνο του δέρματος (ΠΟΛΥΚΑΡΠΟΥ, 2007) (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών η/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007).

4.4.Παρενέργειες Στο Καρδιαγγειακό Σύστημα

Τα τελευταία χρόνια, μελέτες έχουν αναδείξει τη σχέση ανάμεσα στη χρήση αναβολικών και την εμφάνιση σοβαρών καρδιαγγειακών διαταραχών. Οι επιπτώσεις των αναβολικών μπορούν να χωριστούν σε άμεσες, στο μυοκάρδιο και την αγγείωση, και σε έμμεσες, μέσω της μεταβολής των λιπιδίων και των αιμορραγικών ιδιοτήτων του αίματος.

Μία από τις συχνότερες παρενέργειες της κατάχρησης στεροειδών αλλά και της αυξητικής ορμόνης, είναι η υπερτροφία της αριστερής κοιλίας και κατ' επέκταση οι καρδιακές αρρυθμίες. Μελέτες σε απομονωμένα ανθρώπινα μυοκύτταρα έχουν δείξει ότι τα ΑΑΣ δεσμεύονται με τους ανδρογονικούς υποδοχείς και μπορεί άμεσα να προκληθεί υπερτροφία, πιθανώς μέσω αυξημένης δράσης του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης. Μελέτη της δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας, με τη χρήση υπερηχογραφήματος, μετά από χρόνια κατάχρηση ΑΑΣ σε αθλητές, έδειξε ότι αυτοί είχαν υποκλινική αλλοίωση της διαστολικής και συστολικής λειτουργίας. Άλλη επιστημονική ομάδα έδειξε ότι οι χρήστες ΑΑΣ είχαν διευρυμένο μεσοκοιλιακό διαφραγματικό τοίχωμα συγκριτικά με τους μη χρήστες, με το οπίσθιο τμήμα να είναι ελαφρώς μεγαλύτερο (Βασιλάκη, 2016). Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν ορισμένες μελέτες που υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει μεγάλη συσχέτιση της χρήσης στεροειδών με την υπερτροφία. Ωστόσο, άλλες μελέτες έχουν δείξει πως με τη διακοπή των απαγορευμένων ουσιών, η υπερτροφία αναστρέφεται, αν και οι παρενέργειες παραμένουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Άλλη μία από τις συνηθέστερες επιπτώσεις των αναβολικών και κυρίως των στεροειδών, είναι η μεταβολή του λιπιδαιμικού προφίλ. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα συνθετικά στεροειδή, αυξάνουν τα επίπεδα της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) και μειώνουν τα επίπεδα της υψηλής πυκνότητας (HDL). Γενικότερα, οι στεροειδής ορμόνες μεταβάλλουν τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών στον ορό, μέσω της λιπολυτικής υποβάθμισης των λιποπρωτεϊνών και της απομάκρυνσής τους από τους υποδοχείς, μέσω βιοχημικής τροποποίησης (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών

παρενεργείων η/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007). Ένας πιθανός μηχανισμός αύξησης των επιπέδων LDL και μείωση της HDL είναι μέσω της επαγωγής της ηπατικής λιπάσης τριγλυκεριδίων. Αναλυτικότερα, η επαγωγή αυτή, προκαλεί τον καταβολισμό της HDL με αποτέλεσμα να μειώνονται τα επίπεδα της στον ορό. Αυτές οι μεταβολές στα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών, αυξάνουν τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου από 3-6 φορές. Οι διαταραχές αυτές μπορεί να εμφανιστούν μετά από 9 εβδομάδες από την έναρξη της λήψης ΑΑΣ, ενώ φαίνεται να είναι αναστρέψιμες με τη διακοπή τους μετά από 5 μήνες. Τα ανδρογόνα που δεν αρωματοποιούνται, όπως τα 17α-αλκυλιωμένα (π.χ. σταναλόζη) προκαλούν μείωση της HDL μεγαλύτερη από 30%.

Τέλος, σημαντική είναι επίσης η δράση των αναβολικών στεροειδών επί της αιμόστασης, καθώς οι χρήστες αντιμετωπίζουν αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης (Τσιτσιλιώνης, 2012). Πιο συγκεκριμένα, τα ΑΑΣ φαίνεται να ενισχύουν την συσσώρευση των αιμοπεταλίων και το σχηματισμό θρόμβων, μέσω της αυξημένης παραγωγής αιμοπεταλίων της θρομβοξάνης A₂, μειώνοντας την παραγωγή προστακυκλίνης και αυξάνοντας τα επίπεδα ινωδογόνου (Βασιλάκη, 2016).

(Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργείων η/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007) (Βασιλάκη, 2016) (Τσιτσιλιώνης, 2012)

4.5.Παρενέργειες Στο Ήπαρ

Μελέτες έχουν αναδείξει την σχέση απαγορευμένων ουσιών, και κυρίως των ΑΑΣ, με την ανάπτυξη ηπατικής παθολογίας.

Η ηπατική δυσλειτουργία συνδέεται συνήθως, με από του στόματος 17α-αλκυλιωμένα στεροειδή, όπως η μεθυλτεστοστερόνη, η οξανδρολόνη κ.α. και αυτό διότι, η χημική μετατροπή της C-17 αλκυλίωσης, κατά την παραγωγή τους, τα καθιστά ανθεκτικά στον ηπατικό καταβολισμό. Όπως έχει αναφερθεί, τα ΑΑΣ μεταβολίζονται στο ήπαρ και συγκεκριμένα στο μικροσωματικό κλάσμα του λείου ενδοπλασματικού δικτύου. Τα κυριότερα ένζυμα που εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία είναι, η αναγωγή του c-κυτοχρώματος και το κυτόχρωμα P450. Κατά τη χρήση ΑΑΣ παρατηρείται ελάττωση αυτών των ενζύμων και κατ' επέκταση μείωση της ικανότητας μεταβολισμού τοξινών από το ήπαρ. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση φλεγμονών και εκφυλιστικών αλλοιώσεων στα κεντρολοβιακά ηπατοκύτταρα καθώς και ελάττωση του ποσοστού

των S-phase cells, αυξάνοντας την καρκινική προδιάθεση (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007). Μία από τις σοβαρότερες παρενέργειες της κατάχρησης των ΑΑΣ αποτελεί η οξεία παγκρεατίτιδα ΟΠ, δηλαδή η οξεία φλεγμονώδης διεργασία κυμαινόμενης βαρύτητας του παγκρεατικού ιστού, που χαρακτηρίζεται από βλάβες στον παγκρεατικό και περίπαγκρεατικό ιστό όπως και σε απομακρυσμένα όργανα και συνοδεύεται από σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα (Καραμανλής, 2008). Τα ΑΑΣ είναι έμμεσα υπεύθυνα για την ΟΠ προκαλώντας υπερασβεστιαμία. Αναλυτικότερα, φαίνεται πως τα συνθετικά στεροειδή διαταράσσουν τα ποσοστά ασβεστίου στον οργανισμό, αυξάνοντας την απελευθέρωση του από τα οστά και αναστέλλοντας την απέκρισή του μέσω των ούρων, αυξάνοντας έτσι τη συγκέντρωσή του (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007). Η υπερασβεστιαμία, είναι πιθανό ότι προκαλεί αύξηση του ενδοκυττάριου ιονισμένου ασβεστίου, το οποίο θα μπορούσε να ενεργοποιήσει την παραγωγή ενδοκυττάριων πεπτικών ενζύμων, ως τοξικούς μεταβολίτες στα κυψελιδικά παγκρεατικά κύτταρα (Καραμανλής, 2008).

Γενικότερα, η χρήση ΑΑΣ, έχει συνδεθεί με πολλές ακόμα παρενέργειες ως προς το ήπαρ όπως η λιπώδης διήθηση και ο ίκτερος. Τέλος, παρατηρείται επίσης, αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης ηπατικής πελίωσης, δηλαδή ο σχηματισμός κύστεων γεμάτων αίμα στο ηπατικό παρέγχυμα (Βασιλάκη, 2016) (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007) (Καραμανλής, 2008) (Τσιτσιλιώνης, 2012).

4.6. Αναβολικά και Καρκίνος

4.6.1. DHEA και καρκίνος του προστάτη

Όπως έχει αναφερθεί η DHEA είναι πρόδρομο μόριο οιστρογονικών και ανδρογονικών ορμονών, οι οποίες φαίνεται ότι είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη νεοπλασμάτων, όπως αυτών του μαστού, της μήτρας και του προστάτη. Έτσι λοιπόν, ο μεταβολισμός της DHEA σε αυτές τις ορμόνες με την βοήθεια των ενζύμων, υδροξυστεροειδοδευδρογενασών, 3β-HSD και 17β-HSD, έχει ογκοκατασταλτική

δράση ή/και μιτογόνο αποτέλεσμα. Η εξωγενής DHEA, που χρησιμοποιείται ως αναβολικό, μπορεί να επηρεάσει την παθοφυσιολογία του προστάτη, μέσω του μεταβολισμού της στις ορμόνες του φύλου. Συγκεκριμένα, μελέτες δείχνουν ότι αυξάνει την έκφραση του ειδικού προστατικού αντιγόνου (PSA) σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του προστάτη LAPC-4 ή σε συγκαλλιέργεια με στρωματικά κύτταρα, που προέρχονται από καρκίνο του προστάτη. Τέλος, η DHEA ή οι μεταβολίτες της εκφράζουν τον παράγοντα IGF-I ή/και την ανάπτυξη στα 6s ή LNCaP κύτταρα, με σύνδεση με τον ενδοκυττάριο ανδρογονικό υποδοχέα (AR). (Αναγνωστοπούλου, 2014)

4.6.2. Τεστοστερόνη και καρκίνος του παχέος εντέρου

Μελέτες υποστηρίζουν ότι η τεστοστερόνη είναι ο κύριος ρυθμιστής του κυτταρικού θανάτου στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Αναλυτικότερα, φαίνεται πως η τεστοστερόνη έχει την ικανότητα να ρυθμίζει τις προ-επιβιωτικές κινάσες PI3K/Akt καθώς και τις GTP-ασες και κατ' επέκταση την αναδιοργάνωση της δομής του κυττάρου. Επιπροσθέτως, η τεστοστερόνη είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση των πρωτεϊνών Bad και caspase-3, οι οποίες έχουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία του κυτταρικού θανάτου, μέσω της αναδιοργάνωσης της δομής της ακτίνης και του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB. (Αναγνωστοπούλου, 2014)

4.6.3. ΑΑΣ και καρκίνος του μαστού

Τα αναβολικά ανδρογόνα στεροειδή (ΑΑΣ), φαίνεται να αυξάνουν τις πιθανότητες εμφανίσεις του καρκίνου του μαστού, προάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή/και μέσω της μετατροπής τους σε οιστρογόνα. Συγκεκριμένα, στο παράδειγμα της τεστοστερόνης, αυτή συνδέεται με την υψηλής συγγένειας δεσμευτική των φυλετικών ορμονών, σφαιρίνη SHBG. Με αυτό τον τρόπο εμποδίζεται η σύνδεση της οιστραδιόλης με αποτέλεσμα να αυξηθεί το ελεύθερο κλάσμα της, το οποίο είναι υπεύθυνο για την εκδήλωση του καρκίνου του μαστού. (Ζουρνά, 2011)

4.6.4. Πεπτιδικές ορμόνες και επιθηλιακοί καρκίνοι

Μελέτες έχουν δείξει ότι η αυξητική ορμόνη GH επηρεάζει έμμεσα την κυτταρική διαδικασία (πολλαπλασιασμό, θάνατο), μέσω του συστήματος των σωματομεδινών IGFs. Το σύστημα αυτό, δρα ως μεσολαβητής για την GH και η σύνδεσή του ή μη με ειδικές πρωτεΐνες έχει καθοριστικό ρόλο για την πορεία του κυττάρου. Η αυξητική

ορμόνη έχει συσχετιστεί με επιθηλιακούς καρκίνους, καθώς φαίνεται πως ο πολλαπλασιασμός καρκινικών κυττάρων είναι εντονότερος παρουσία εξωγενούς GH, ενώ η ίδια αποκρούεται από ανταγωνιστές και ειδικά αντισώματα. Τέλος, σημαντική ένδειξη αποτελεί το γεγονός πως πολλά καρκινικά κύτταρα που προέρχονται από ενδομήτριο, πάγκρεας, πνεύμονα, νεφρά κ.α. εκφράζουν τη συγκεκριμένη ορμόνη.

Τα υψηλά επίπεδα ισουλινοειδικών αυξητικών παραγόντων IGF-1 και IGF-2 έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης επιθηλιακών καρκίνων καθώς είναι από τους βασικότερους παράγοντες στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Ειδικότερα, ο παράγοντας IGF-1 είναι υπεύθυνος για την μίτωση των κυττάρων, ενώ αναστέλλει την απόπτωσή τους. Ακόμη, ο IGF-1 έχει τη δυνατότητα να συνεργάζεται με άλλους αυξητικούς παράγοντες, όπως αυτός του αγγειακού ενδοθηλίου. Πειραματικές μελέτες, υποστηρίζουν ότι οι συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, που ενέχονται στο μονοπάτι σηματοδότησης IGFs, σχετίζονται με κυμαινόμενο κίνδυνο ανάπτυξης καρκινογένεσης (Σπυριδόπουλος, 2012). Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι ποντίκια με έλλειψη της GH και του IGF-1 είχαν μικρότερο κίνδυνο για καρκινογένεση. (Σπυριδόπουλος, 2012) (Ζουρνά, 2011) (Μπαραμπούτης, 2008).

4.7. Αναφυλακτικό Σοκ

Το αναφυλακτικό σοκ ή αλλιώς αναφυλαξία είναι από τις πιο σοβαρές αλλεργικές αντιδράσεις, που μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο. Το σοκ συμβαίνει όταν ο οργανισμός ευαισθητοποιείται σε μία ξένη ουσία, κυρίως πρωτεΐνη, όπως για παράδειγμα οι πεπτιδικές ορμόνες. Η αναφυλαξία δεν σχετίζεται άμεσα με τα αναβολικά στεροειδή, ωστόσο μπορεί να προκληθεί σε περίπτωση αμφιλεγόμενης προέλευσης και νοθευμένων σκευασμάτων που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Πιο αναλυτικά κατά το αναφυλακτικό σοκ, το ανοσοποιητικό σύστημα αναπτύσσει ένα συγκεκριμένο αντίσωμα που πολεμά τα αλλεργιογόνα, που ονομάζεται ανοσοσφαιρίνη, και προκαλεί μια υπερβολική αντίδραση σε κάποια ουσία (Διάκος, 2015) Η αναφυλαξία προκαλείται από την απελευθέρωση των συστατικών των οξέων φλεγμονωδών κυττάρων, συνήθως ως αποτέλεσμα της δράσης των αντιγόνων IGE στα μαστικά κύτταρα και στα βασεόφιλα (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007). Πολλές φορές η αναφυλαξία δεν εκδηλώνεται

απευθείας, για παράδειγμα ένας χρήστης μπορεί να καταναλώνει το σκεύασμα κάποιες φορές μέχρι να ευαισθητοποιηθεί ο οργανισμός του και να προκληθεί η αντίδραση. Ωστόσο υπάρχουν και ορισμένα προειδοποιητικά σημάδια, όπως φαγούρα, εξανθήματα ή σε περίπτωση ένεσης, πόνος στο σημείο αυτό. Τα συμπτώματα σταδιακά γίνονται εντονότερα και σε αυτά περιλαμβάνεται ο πυρετός, δυσκολία στην αναπνοή, πόνος στις αρθρώσεις κ.α. Σε περίπτωση όπου ο χρήστης αγνοήσει τα συμπτώματα και συνεχίζει τον κύκλο του με το συγκεκριμένο σκεύασμα, στις επόμενες χρήσεις μπορεί να υποστεί σοκ, το οποίο μπορεί να οδηγήσει και στο θάνατο. (Παγώνης, Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες, 2007) (Διάκος, 2015)

5.ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ.

5.1.Εισαγωγή

Ο έλεγχος φαρμακοδιέγερσης των αθλητών βασίζεται στην ανάλυση βιολογικών υγρών (ούρα, αίμα) για τον εντοπισμό, την ταυτοποίηση ή/και τον ποσοτικό προσδιορισμό απαγορευμένων ουσιών (Βοναπάρτη , 2011).

Σύμφωνα με τον WADA οι έλεγχοι ντόπινγκ χωρίζονται στους εντός και εκτός αγώνων. Στην πρώτη περίπτωση εξετάζονται όλες οι κατηγορίες απαγορευμένων ουσιών, που αναφέρθηκαν στην εισαγωγή, ενώ στη δεύτερη περίπτωση τα δείγματα ελέγχονται για την ανίχνευση αναβολικών, διουρητικών και ερυθροποιητινών. Οι έλεγχοι διεξάγονται από διαπιστευμένα εργαστήρια, από τον Εθνικό Φορέα Διαπίστευσης σύμφωνα με το πρότυπο ISO 17025, και από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Αντιντόπινγκ WADA (Λυμπούση, 2016)

Κατά τη διαδικασία της δειγματοληψίας ο αθλητής μεταφέρει μία ποσότητα ούρων στην φιάλη Α και μία μικρότερη στη φιάλη Β. Μετά τη μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο, η φιάλη Β αποθηκεύεται, σύμφωνα με τις αναγραφόμενες στον κανονισμό οδηγίες και αναλύεται εάν ζητηθεί από τον αθλητή ή την ομοσπονδία του, ενώ για τη φιάλη Α διεξάγονται αναλύσεις σάρωσης.

Οι αναλυτικές διαδικασίες σάρωσης, που εφαρμόζονται από τα εργαστήρια για τον έλεγχο φαρμακοδιέγερσης, διαχωρίζονται ανάλογα με την χημική δομή των

εξεταζόμενων μορίων, τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες και ανάλογα με την έκταση του μεταβολισμού τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Στις διαδικασίες σάρωσης, περιλαμβάνονται οι διαδικασίες προκατεργασίας των δειγμάτων, δηλαδή η υδρόλυση, η εκχύλιση και σε ορισμένες περιπτώσεις η παραγωγοποίηση. Έπεται η ανάλυση των κατεργασμένων δειγμάτων, με μεθόδους που στηρίζονται κυρίως στην χρήση τεχνικών φασματομετρίας και χρωματογραφίας (Βοναπάρτη , 2011) (Λυμπούση, 2016) (Φραγκάκη, 2009). Οι κυριότερες αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής (Βοναπάρτη , 2011) (Λυμπούση, 2016):

- Αεροχρωματογραφία με Φασματομετρία Μαζών (GC-MS), για την ανίχνευση διεγερτικών, ναρκωτικών, διουρητικών, στεροειδών, β αναστολέων κα.
- Αεροχρωματογραφία με καύση και Φασματομετρία Μάζας λόγω ισοτόπων (GC/C/IRMS) για τη διάκριση των ενδογενών από τα εξωγενή στεροειδή.
- Αεροχρωματογραφία με ανιχνευτή αζώτου-φωσφόρου (GC/NPD), για την ανίχνευση β-αγωνιστών, διεγερτικών και ναρκωτικών ουσιών, που εκκρίνονται μη συζευγμένα στα ούρα, και για ημιποσοτικοποίηση της εφεδρίνης και της νορψευδοεφεδρίνης.
- Υγροχρωματογραφία με ανιχνευτή UV/Vis ή Φασματομετρία Μαζών και Διαδοχική Φασματομετρία Μαζών (MS/MS), για την ανίχνευση των γλυκοκορτικοστεροειδών, των διεγερτικών, των ναρκωτικών, των διουρητικών κα.
- Ισοηλεκτρική Εστίαση, Ανοσοχημικός Προσδιορισμός και προσδιορισμός με Χημειοφωταύγεια, για την ανάλυση ερυθροποιητίνης.
- Αιματολογικός Αναλυτής και Κυτταρομετρία Ροής, για τις αιματολογικές παραμέτρους για την ανίχνευση της μετάγγισης αίματος.
- Ανοσοφωτοχημικός προσδιορισμός, για να διακρίνει την υποφυσιακή από την ανασυνδυασμένη αυξητική ορμόνη.
- Μέθοδος Φθορισμομετρίας, για την ανίχνευση πεπτιδικών ορμονών.
- Ταυτοποίηση ανασυνδυασμένης ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης σε ούρα ή πλάσμα αίματος αθλητών με τη μέθοδο ELISA.

5.2. Διαδικασίες Προετοιμασίας των Δειγμάτων.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, στις διαδικασίες προετοιμασίας των δειγμάτων ούρων αθλητών για τον έλεγχο ντόπινγκ, περιλαμβάνεται το στάδιο της υδρόλυσης και της

εκχύλισης. Επιπροσθέτως, στις τεχνικές Αεροχρωματογραφίας με Φασματομετρία Μαζών, διεξάγεται ένα επιπλέον στάδιο, αυτό της παραγωγοποίησης (Κιούση, 2016)

5.2.1.Στάδιο υδρόλυσης.

Το στάδιο της υδρόλυσης ανάγεται στις ουσίες που μεταβολίζονται κατά τη δεύτερη φάση του μεταβολισμού και εκκρίνονται στα ούρα ως υδατοδιαλυτοί εστέρες του γλυκουρονικού και θεικού οξέος (Κιούση, 2016). Ουσιαστικά είναι μία διαδικασία δημιουργίας ασύζευκτων μεταβολιτών. Κατά τον έλεγχο ντόπινγκ, εξετάζεται μεγάλος αριθμός απαγορευμένων ουσιών, για τις οποίες είναι απαραίτητη η ύπαρξη των αντίστοιχων πρότυπων ουσιών αναφοράς. Στην περίπτωση των συζευγμένων ουσιών, υπάρχει μικρή διαθεσιμότητα και υψηλό κόστος, γι' αυτό το λόγο επιλέγεται να αποδεσμεύονται οι μεταβολίτες με το στάδιο της υδρόλυσης και οι ουσίες ανιχνεύονται ασύζευκτες. Υπάρχουν δύο είδη υδρόλυσης που διεξάγονται στις μεθόδους προκατεργασίας για τον έλεγχο ντόπινγκ (Κιούση, 2016).

1. Ενζυμική Υδρόλυση.

Με αυτή τη μέθοδο μπορούν να ανιχνευτούν πληθώρα απαγορευμένων ουσιών. Τα συνηθέστερα ένζυμα που χρησιμοποιούνται σε αυτό το είδος υδρόλυσης είναι η β-γλυκουρονιδάση, η πρωτεάση και η αρυλοσουλφατάση. Οι συνθήκες της διαδικασίας πρέπει να ρυθμίζονται στις ορθές για την δράση του ενζύμου (π.χ. ΡΗ, θερμοκρασία, χρόνος επώασης). Μειονέκτημα της ενζυμικής υδρόλυσης είναι ότι δεν υδρολύονται αποτελεσματικά οι θεικοί εστέρες (Κιούση, 2016).

2. Χημική Υδρόλυση.

Στις προκατεργασίες για τον έλεγχο ντόπινγκ με τον όρο χημική υδρόλυση αναφερόμαστε στη μεθανόλυση και την σολβόλυση, μεθόδους που αξιοποιούνται για την ανίχνευση αναβολικών στεροειδών. Στην πρώτη περίπτωση χρησιμοποιείται το αντιδραστήριο μεθανολικό υδροχλώριο και στη δεύτερη μίγμα οξικού αιθυλεστέρα-μεθανόλης-θεικού οξέος. Σε ορισμένες περιπτώσεις, για μεγαλύτερη απόδοση, συνδυάζεται η χημική με την ενζυμική υδρόλυση (Κιούση, 2016).

5.2.2.Στάδιο εκχύλισης.

Η εκχύλιση είναι μία μέθοδος διαχωρισμού μίας ή περισσότερων ουσιών ενός μίγματος, με τη βοήθεια διαλύτη. Βασίζεται στη διαλυτότητα της εκχυλιζόμενης

ουσίας στον διαλύτη. Υπάρχουν δύο τεχνικές εκχύλισης, η υγρό-υγρό εκχύλιση και η εκχύλιση στερεάς φάσης. Στην πρώτη περίπτωση, η διαλυμένη ουσία μεταφέρεται από μία υγρή φάση σε μία άλλη υγρή φάση, ενώ στη δεύτερη μεταφέρεται από μία στερεή σε μία υγρή. Κατά την εκπόνηση της προκατεργασίας των δειγμάτων στην διεξαγωγή ελέγχου απαγορευμένων ουσιών πραγματοποιούνται και οι δύο μέθοδοι, με συνηθέστερη αυτή της στερεάς φάσης λόγω της δυνατότητας ανίχνευσης μεγάλου εύρους ουσιών (Κιούση, 2016).

Η αρχή στην τεχνική εκχύλισης στερεάς φάσης, βασίζεται στην προσρόφηση της επιθυμητής ουσίας στις στήλες (φυσίγγια), που περιέχουν κατάλληλο προσροφητικό υλικό, και ύστερα στη έκλουσή τους με κατάλληλο διαλύτη. Όταν το δείγμα έχει αιωρούμενα σωματίδια ή αυξημένο ιζώδες, τότε εμποδίζεται η ομαλή διέλευσή του, μέσω του προσροφητικού υλικού (Κιούση, 2016). Σε αυτή τη περίπτωση, πριν εκχυλίσουμε το δείγμα, το αραιώνουμε με ρυθμιστικό διάλυμα ή/και το φυγοκεντρούμε. Το προσροφητικό υλικό που χρησιμοποιείται συνήθως είναι το διοξείδιο του πυριτίου (SiO_2) με χημικά συνδεδεμένες δραστικές ομάδες (π.χ. μη πολικές, πολικές, ιονανταλλακτικές κ.α) προκειμένου να αποκτά συγκεκριμένες προσροφητικές ιδιότητες. Τα στάδια εκτέλεσης της εκχύλισης στερεάς φάσης είναι (Κιούση, 2016):

1. Προετοιμασία και εξισορρόπηση της στερεάς φάσης (φυσίγγιου). Αρχικά, καθαρίζονται οι στήλες με τη διέλευση οργανικού διαλύτη, συνήθως μεθανόλης. Έπειτα, χρησιμοποιείται ένας άλλος διαλύτης, παρόμοιας πολικότητας, ιοντικής ισχύος και pH, με το δείγμα, για την ενεργοποίηση των δραστικών ομάδων του προσροφητικού υλικού.
2. Διέλευση του δείγματος. Σε αυτό το στάδιο κατακρατούνται οι επιθυμητές ενώσεις στο προσροφητικό μέσο, ενώ οι υπόλοιπες το διαπερνούν.
3. Ξήρανση του στερεού προσροφητή με αέρα ή ρεύμα αζώτου N.
4. Έκπλυση με διαλύτη. Με αυτό τον τρόπο απομακρύνονται τυχόν ανεπιθύμητες ενώσεις που κατακρατήθηκαν στο υλικό προσρόφησης.
5. Εκλεκτική έκλυση και παραλαβή των εξεταζόμενων ουσιών. Για αυτό το στάδιο χρησιμοποιείται ένα δεύτερος διαλύτης, παρόμοιας πολικότητας. Ο διαλύτης έκλυσης μπορεί να είναι μίγμα δύο ή τριών οργανικών διαλυτών. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται εξαρτώνται από το είδος του προσροφητικού υλικού και των συστατικών που θα απομονωθούν. Μία γενική τάση που παρατηρείται στις μεθόδους που καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα απαγορευμένων

ουσιών είναι, οι ουσίες αυτές να παραλαμβάνονται από το υπόστρωμα ούρων μέσω εκχύλισης στερεάς φάσης, είτε σε ένα γενικό συνολικό εκχύλισμα, είτε σε ξεχωριστά κλάσματα, στα οποία διαχωρίζονται οι βασικές από τις όξινες και τις ουδέτερες ουσίες. Στην τελευταία περίπτωση χρησιμοποιούνται φυσίγγια “mixed mode”, στα οποία είναι δυνατή η ανάπτυξη πολλαπλών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του προσροφητή και του αναλυτή. Επιπρόσθετα, έχει αναπτυχθεί μία μεθοδολογία, στην οποία διενεργούνται δύο διαφορετικές ανεξάρτητες εκχυλίσεις στερεάς φάσης σε ισάριθμα κλάσματα ενός δείγματος ούρων, από όπου προκύπτουν ένα συνολικό και ένα βασικό εκχύλισμα. Στην προκειμένη περίπτωση το όξινο κλάσμα απορρίπτεται.

5.2.3.Στάδιο παραγωγοποίησης.

Στην περίπτωση της Αεροχρωματογραφίας οι εξεταζόμενες ουσίες πρέπει να πληρούν ορισμένες προϋποθέσεις, ώστε τα αποτελέσματα να είναι ευανάγνωστα και ορθά. Συγκεκριμένα, οι ουσίες είναι αναγκαίο να είναι πτητικές ή να καθίστανται πτητικές, ώστε να περνούν στην αέρια φάση και να διέρχονται από τη χρωματογραφική στήλη, διαφορετικά οι ουσίες κατακρατούνται και δεν εκλούνται είτε αργούν να εκλουσθούν. Άλλη μία προϋπόθεση είναι οι ουσίες να είναι θερμικά σταθερές, καθώς σε ορισμένα σημεία του συστήματος η θερμοκρασία διατηρείται υψηλή, διαφορετικά προκύπτουν προϊόντα θερμικής διάσπασης ή αναδιάταξης της δομής του μορίου, δίνοντας διαφορετικές κορυφές στο χρωματογράφημα (Κιούση, 2016). Οι ουσίες που δεν πληρούν τις συγκεκριμένες προϋποθέσεις υποβάλλονται στη προκατεργασία της παραγωγοποίησης, που είναι υπεύθυνη για το σχηματισμό πτητικών και θερμικά σταθερών χημικών παραγώγων. Η χαμηλή πτητικότητα μίας ουσίας οφείλεται στη μεγάλη σχετική μοριακή μάζα της, στην παρουσία πολικών ομάδων στο μόριό της και στις ισχυρές ενδομοριακές δυνάμεις που τυχόν αναπτύσσονται, όπως οι δεσμοί υδρογόνου H. Η ανάπτυξη των δεσμών H είναι δυνατόν να ανατραπεί με απομάκρυνση των ενεργών ατόμων υδρογόνου, το οποίο επιτυγχάνεται μέσω της αντίδρασης της παραγωγοποίησης. Τα ενεργά υδρογόνα είναι επίσης υπεύθυνα και για την θερμική αστάθεια. Μία ακόμα χρήσιμη εφαρμογή της προκατεργασίας αυτής είναι για το διαχωρισμό ουσιών με παρόμοια δομή, όπως τα ισομερή (π.χ. τεστοστερόνη-επιτεστοστερόνη). Τέλος, ο σχηματισμός παραγώγων με σταθερό μοριακό ιόν, το οποίο είναι εμφανές στο φάσμα μαζών, μαζί με τα χαρακτηριστικά θραύσματα της

ουσίας, συμβάλει στη ταυτοποίηση της δομής των εξεταζόμενων ενώσεων (Κιούση, 2016). Οι χημικές αντιδράσεις παραγωγοποίησης ταξινομούνται σε:

1. Αλκυλίωση.
2. Ακυλίωση.
3. Σιλανοποίηση.
4. Σχηματισμός Οξιμών.

5.2.3.1. Αλκυλίωση.

Η αλκυλίωση είναι μέθοδος παραγωγοποίησης που εφαρμόζεται στις απαγορευμένες ουσίες που διαθέτουν στο μόριό τους τις λειτουργικές ομάδες του καρβονυλίου, καρβοξυλίου, του υδροξυλίου και αμινομάδες, και με αντικατάσταση του ενεργού υδρογόνου τους σχηματίζουν ενολοαιθέρες, εστέρες, αιθέρες και αλκυλαμίνες αντίστοιχα. Κατά τον έλεγχο ντόπινγκ, για την ανίχνευση ουσιών με τη μέθοδο της Αεροχρωματογραφίας-Φασματομετρίας Μαζών, κατά το στάδιο της παραγωγοποίησης η συνηθέστερη μέθοδος αλκυλίωσης είναι η μεθυλίωση (π.χ. μεθυλίωση του καρβονυλίου) (Κιούση, 2016). Οι συνηθέστεροι μέθοδοι μεθυλίωσης στον έλεγχο ντόπινγκ είναι:

1. Μέθοδος Διαζωμεθανίου.



2. Εκχυλιστική Μεθυλίωση.



3. Ταχεία Μεθυλίωση.



4. Μεθυλίωση με Ιωδομεθάνιο σε Ακετόνη.



5.2.3.2. Ακυλίωση.

Η ακυλίωση είναι μέθοδος παραγωγοποίησης που εφαρμόζεται στις απαγορευμένες ουσίες που διαθέτουν στο μόριό τους υδροξυ-, αμινο- και θεολό-ομάδες και σχηματίζονται σύμφωνα με τις αντιδράσεις :

- $R-CH + (R'-CO)_2O \rightarrow R'CO-OR + R-COOH$
- $R-NH_2 + (R'-CO)_2O \rightarrow R'CO-NH-R + R'-COOH$
- $R-SH + (R'-CO)_2O \rightarrow R'CO-S-R + R'-COOH$

Η διαδικασία της ακυλίωσης περιλαμβάνει την αντίδραση της ουσίας με τον ανυδρίτη του αντίστοιχου οξέος, που βρίσκεται σε περίσσεια. Η αντίδραση πραγματοποιείται παρουσία διαλύτη, ο οποίος δεσμεύει το παραγόμενο οξύ (π.χ. πυριδίνη, τετραυδροφουράνιο). Τα συγκεκριμένα παράγωγα είναι ευαίσθητα στην υγρασία και συνεπώς, είναι απαραίτητο να διατηρούνται άνυδρες συνθήκες (Κιούση, 2016).

5.2.3.3. Σιλανοποίηση.

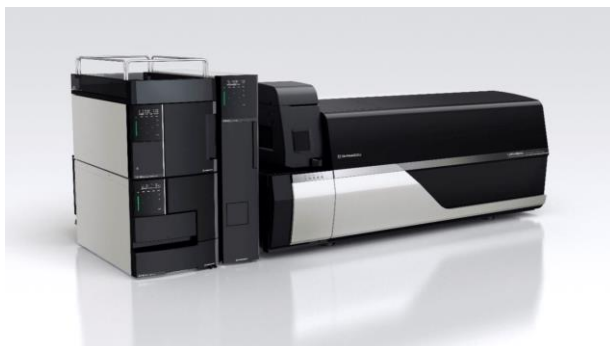
Η σιλανοποίηση είναι η συνηθέστερη μέθοδος παραγωγοποίησης για μεγάλο εύρος απαγορευμένων ουσιών. Εξαιρέση αποτελεί η κατηγορία των διουρητικών, λόγω της αστάθειας των τριμέθυλοσιλυλο-παραγώγων, εξαιτίας της παρουσίας της ομάδας $-SO_2NH_2$ στο μόριό τους. Το συνηθέστερο είδος σιλανοποίησης είναι ο σχηματισμός των τριμέθυλοσιλυλο-[(CH₃)₃Si-, TMS] παραγώγων, με αντιδραστήριο τα αμινο-TMS-αμίδια, στα οποία συχνά προστίθεται καταλύτης. Η διαδικασία της σιλανοποίησης περιλαμβάνει την αντίδραση του αντιδραστήριου με το ενεργό υδρογόνο των λειτουργικών ομάδων των ελεγχόμενων ουσιών, η οποία πραγματοποιείται κάτω από άνυδρες συνθήκες (π.χ. οξέα \square TMS-εστέρες, αμίνες \square TMS-αμίδια κοκ). Για την αποτελεσματικότερη ανίχνευση των αναβολικών στεροειδών, προτείνεται ως αντιδραστήριο παραγωγοποίησης το μίγμα MSTFA/NH₄I/DTE σε (1/2/4 v/w/w) με επώαση στους 60°C ή στους 80°C για 15 λεπτά (Κιούση, 2016).

5.2.3.4. Σχηματισμός οξιμών.

Ο σχηματισμός οξιμών είναι μέθοδος παραγωγοποίησης που εφαρμόζεται στις απαγορευμένες ουσίες που διαθέτουν στο μόριό τους καρβονυλικές κετονομάδες. Οι οξίμες προκύπτουν από την αντίδραση προσθήκης της υδροξυλαμίνης σε καρβονυλικές ενώσεις. Η διαδικασία σχηματισμού οξιμών περιλαμβάνει την κατεργασία του εκχυλίσματος του δείγματος με διάλυμα υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης σε πυριδίνη και επώαση σε συνθήκες που διαφέρουν ανάλογα με τη μέθοδο ανάλυσης. Μετά το πέρας της αντίδρασης, απομακρύνεται η πυριδίνη με θέρμανση σε ρεύμα αζώτου και ακολουθεί η ανάλυση. Εναλλακτικά, μπορεί να συνεχίσει η παραγωγοποίηση, δεσμεύοντας και άλλες ομάδες του μορίου, μέσω σιλανοποίησης (Κιούση, 2016).

5.3.Φασματομετρία Μαζών (MS).

5.3.1.Εισαγωγή.



Εικόνα: Φασματογράφος Μάζας.

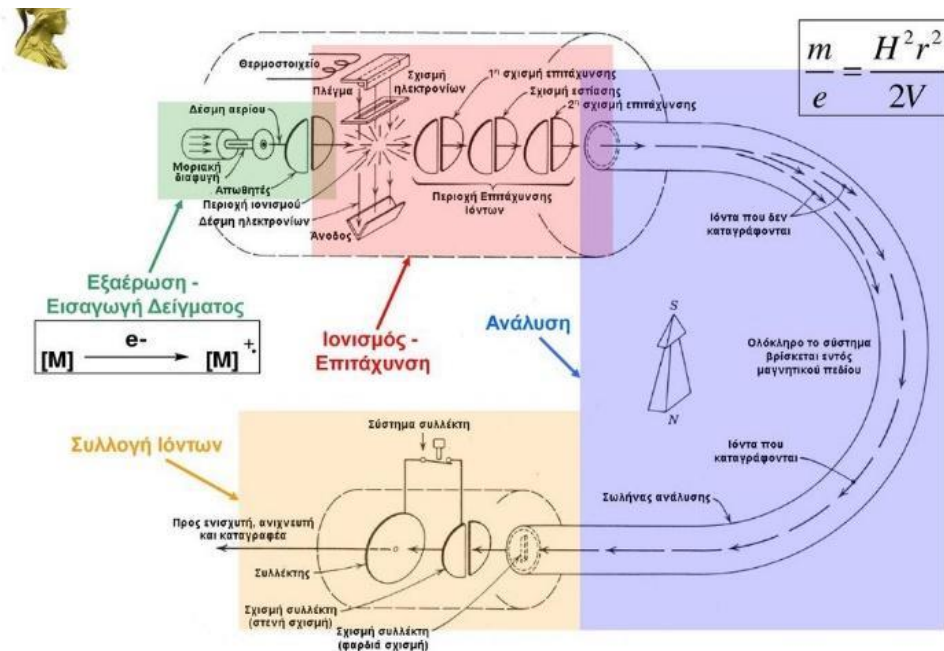
<https://asteriadis.gr/product/epistimonikos-exoplismos/analytika-organa/systimata-lc-ms/lcms-8060nx/>

Η **Φασματομετρία Μαζών** ορίζεται ως, η αναλυτική τεχνική κατά την οποία τα μόρια (συστατικά) ενός δείγματος μετατρέπονται σε ταχύτατα κινούμενα ιόντα και στη συνέχεια διαχωρίζονται σε σχέση με το λόγο της μάζας προς το φορτίο τους (m/z) (Θεοδωρίδης, Φασματομετρία Μάζας, 2015)

Τα ιόντα που δημιουργούνται διαθέτουν ένα φορτίο, ενώ ο λόγος m/z αντιστοιχεί στο μοριακό βάρος του ιόντος. Με τη χρήση κατάλληλου ανιχνευτή μετρείται το ηλεκτρικό ρεύμα των ιόντων αυτών, το οποίο απεικονίζεται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή ως διάγραμμα της έντασης συναρτήσεως του λόγου m/z . Το διάγραμμα αυτό αποτελεί το φάσμα μαζών, το οποίο λαμβανόμενο κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες είναι χαρακτηριστικό για κάθε ουσία και αντιστοιχεί στο δακτυλικό αποτύπωμά της και χρησιμοποιείται για την τακτοποίησή της. (Βοναπάρτη , 2011) (Κακλαμάνος, 2009) (Γιανναδάκη, 2013)

Η Φασματομετρία Μαζών (MS), είναι μία σύγχρονη αναλυτική τεχνική με μεγάλο εύρος εφαρμογών. Είναι ευρέως διαδεδομένη καθώς παρέχει πληθώρα πληροφοριών, όπως για την ποιοτική και ποσοτική σύσταση μιγμάτων, την χημική δομή ενώσεων, την αναλογία ισοτόπων κ.α. Επιπρόσθετα, η μέθοδος αυτή παρουσιάζει αυξημένη ευαισθησία, υψηλή εκλεκτικότητα και δυνατότητα συνδυασμού με άλλες αναλυτικές τεχνικές, όπως η Αεροχρωματογραφία και η Υγροχρωματογραφία. Το μοναδικό της

μειονέκτημα είναι το υψηλό κόστος αγοράς και συντήρησής της, το οποίο σε σχέση με τις παροχές της είναι αμελητέο. (Βοναπάρτη , 2011) (Λυμπούση, 2016) (Κακλαμάνος, 2009) (Θεοδωρίδης, Φασματομετρία Μάζας, 2015)



Εικόνα: Λειτουργία φασματομετρίας μάζας (Δ.Γεωργιάδης Επίκουρος Καθηγητής).

<https://slideplayer.gr/slide/11974535/>

5.3.2.Οργανολογία φασματομετρίας μαζών.

Ένα φασματόμετρο μαζών αποτελείται από το σύστημα εισαγωγής δείγματος, την πηγή ιοντισμού, τον αναλυτή μαζών και τον ανιχνευτή ιόντων. Τα φασματόμετρα διαθέτουν επίσης, αντλίες παροχής υψηλού κενού και σύστημα παρουσίασης και καταγραφής των λαμβανόμενων φασμάτων (Βοναπάρτη , 2011).

5.3.2.1.Σύστημα εισαγωγής δείγματος.

Ο σκοπός αυτού του τμήματος είναι η εισαγωγή του δείγματος, συνήθως στην αέρια ή υγρή μορφή του, χωρίς να μεταβληθεί το κενό. Το σύστημα εισαγωγής δείγματος διαφέρει ανάλογα την μορφή του προς εξέταση υλικού (αέριο, υγρό, στερεό). Σε περίπτωση όπου η μέθοδος συνδιάζεται με χρωματογραφική ανάλυση, τότε η εισαγωγή γίνεται μέσω μίας διάταξης σύζευξης. Συγκεκριμένα, στις τεχνικές αεροχρωματογραφίας το εξεταζόμενο δείγμα εισάγεται μέσω θερμαινόμενου σωλήνα, που συνδέει την άκρη της στήλης με την πηγή ιόντων, ενώ στις υγροχρωματογραφίες,

χρησιμοποιείται ειδική διάταξη που θα αναλυθεί παρακάτω. (Κακλαμάνος, 2009) (Θεοδωρίδης, Φασματομετρία Μάζας, 2015) (Γιανναδάκη, 2013)

5.3.2.2. Πηγή ιόντων.

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, τα μόρια του εξεταζόμενου δείγματος πρέπει να ιοντιστούν προκειμένου να αναλυθούν, επομένως η πηγή ιόντων είναι ο χώρος στον οποίο πραγματοποιείται αυτή τη διαδικασία. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι ιοντισμού, που χρησιμοποιούνται ανάλογα τα χαρακτηριστικά της προσδιοριζόμενης ουσίας. Μία ταξινόμηση είναι με βάση την ενέργεια που χρησιμοποιείται, σε μαλακές και σκληρές. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι τεχνικές που ιοντίζουν τα μόρια με ήπιες συνθήκες, με μικρή ή μηδαμινή θραύση, ενώ στη δεύτερη ανήκουν αυτές όπου χρησιμοποιείται υψηλή ενέργεια, προκαλώντας διάσπαση των μορίων σε θυγατρικά ιόντα. Επίσης, οι πηγές ιοντισμού διαχωρίζονται με βάση τη μορφή του δείγματος σε πηγές αέριας φάσης και σε τις πηγές εκρόφησης. Στην πρώτη περίπτωση το δείγμα εξαερώνεται και έπειτα ιοντίζεται, ενώ στη δεύτερη το δείγμα σε στερεά ή υγρή κατάσταση, μετατρέπεται απευθείας σε ιόντα στην αέρια φάση. Η πιο συνηθισμένη πρακτική είναι αυτή του ιοντισμού σε αέρια φάση. Αυτή η μέθοδος είναι κατάλληλη για ενώσεις σταθερές στην θέρμανση, με σημείο ζέσεως μικρότερο των 500°C και με σχετική μοριακή μάζα κάτω από 1000 dalton. Διαχωρίζονται σε αυτές που εφαρμόζονται σε συνθήκες κενού και συνδυάζονται κυρίως με την αέρια χρωματογραφία (ιονισμός με ηλεκτρόνια) και στις τεχνικές ατμοσφαιρικής πίεσης, οι οποίες έχουν κυριαρχήσει στη φασματομετρία μάζας με σύζευξη με τεχνικές διαχωρισμού στην υγρή φάση και αντιπροσωπεύουν το μεγαλύτερο τμήμα των εφαρμογών και της αγοράς οργάνων (Θεοδωρίδης, Φασματομετρία Μάζας, 2015).

Τεχνική Ιοντισμού	Αναλυτής Μαζών	Ενώσεις
Ιοντισμός με Ηλεκτρόνια	B, Q, TRAP	Μη πολικές και κάποιες πολικές
Χημικός Ιοντισμός	B, Q, TRAP	Μη πολικές και κάποιες πολικές
Βομβαρδισμός Με Άτομα	B, Q	Πολικές οργανικές, πρωτεΐνες, οργανομεταλλικές
Thermospray	B, Q	Πολικές, κάποιες μη πολικές, οργανικές

MALDI	TOF	Πολικές, κάποιες μη πολικές, βιοπολυμερή, συνθετικά πολυμερή
Electrospray	B, Q, TOF, TRAP, FTMS, QTOF, ORBITRAP	Πολικές, κάποιες μη πολικές, οργανικές, πρωτεΐνες.

Πίνακας: Οι κυριότερες τεχνικές ιοντισμού με τον αναλυτή μαζών που συνδυάζονται και τις ενώσεις στις οποίες εφαρμόζονται καλύτερα. (Λυμπούση, 2016) (Κακλαμάνος, 2009) (Θεοδορίδης, Φασματομετρία Μάζας, 2015) (Γιανναδάκη, 2013)

Ιοντισμος με Ηλεκτρόνια

Ο ιοντισμός με ηλεκτρόνια είναι από τις πιο συνηθισμένες τεχνικές, λόγω της επαναληψιμότητας και της απλότητας της. Σε αυτή τη μέθοδο, η προσδιοριζόμενη ουσία εισάγεται στην πηγή ιοντισμού και τα μόριά της εστιάζονται διαπερνώντας από φορτισμένες μεταλλικές πλάκες απόθησης. Έπειτα, βομβαρδίζονται με ηλεκτρόνια που εκλύονται από θερμαινόμενο νήμα βολφραμίου ή ρηνίου. Κατά την πορεία τους, τα ηλεκτρόνια και τα μόρια της προσδιοριζόμενης ένωσης, προσκρούονται, με αποτέλεσμα τη δημιουργία θετικών μοριακών ιόντων, σύμφωνα με την εξίσωση:



Όπου A, η προσδιοριζόμενη ουσία.

Αρχικά, τα παραγόμενα ιόντα έχουν τυχαίες κατευθύνσεις, με τη χρήση όμως ισχυρού ηλεκτρικού πεδίου τα ιόντα συντήκονται, δημιουργώντας μία λεπτή ταινιωτή δέσμη με ελάχιστη απόκλιση, η οποία οδηγείται στον αναλυτή μαζών. (Κακλαμάνος, 2009) (Γιανναδάκη, 2013)

5.3.2.3. Αναλυτής μαζών.

Στον αναλυτή μαζών διαχωρίζονται τα ιόντα που παρήχθησαν στην πηγή ιοντισμού, σύμφωνα με τις διαφορετικές τιμές των κλασμάτων m/z. Αυτό το στάδιο είναι αναγκαίο, προκειμένου το μετρούμενο ιοντικό ρεύμα να αντιστοιχηθεί σε ιόντα με συγκεκριμένο λόγο m/z στο επόμενο στάδιο, του ανιχνευτή ιόντων. Από τον τύπο του αναλυτή μαζών, εξαρτάται η **διαχωριστική ικανότητα του οργάνου (R)**, η οποία

ορίζεται ως ο λόγος της μάζας της πρώτης κορυφής προς τη διαφορά μαζών δύο διαδοχικών κορυφών. (Κακλαμάνος, 2009)

$$R = M / \Delta M$$

Ικανοποιητικός διαχωρισμός θεωρείται ότι επιτυγχάνεται, όταν δύο, περίπου ισοϋψείς, κορυφές επικαλύπτονται σε ύψος που δεν υπερβαίνει το 10% του ύψους των κορυφών (Γιανναδάκη, 2013).

Τα φασματόμετρα μαζών διακρίνονται σε χαμηλής και υψηλής διαχωριστικής ικανότητας, όπου στα πρώτα η R κυμαίνεται από 10^2 έως 10^3 , ενώ στα δεύτερα η R κυμαίνεται από 10^4 έως 10^6 . Η κυριότερη διαφορά των φασματόμετρων μαζών εντοπίζεται στα διάφορα είδη αναλυτών, όπου χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό των ιόντων. Μερικοί από τους αναλυτές μαζών είναι οι εξείς:

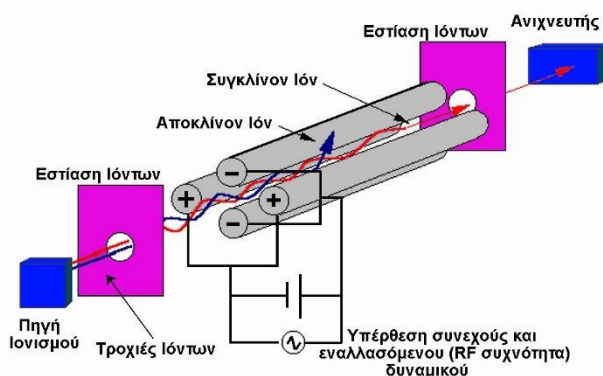
- Αναλυτής Απλής Εστίασης (M-ES).
- Αναλυτής Διπλής Εστίασης (DF).
- Αναλυτής Χρόνου πτήσης (TOF).
- Τετραπολικός Αναλυτής (QqQ).
- Παγιδευτής Ιόντων (IT).

Οι αναλυτές διαχωρίζονται σε συνεχείς αναλυτές μαζών και σε παλμικούς αναλυτές μαζών. Οι πρώτοι μεταφέρουν επιλεγμένο m/z προς τον ανιχνευτή και το φάσμα μαζών λαμβάνεται με σάρωση του αναλυτή, οπότε τα ιόντα διαφορετικού m/z ανιχνεύονται σε κάθε χρονική στιγμή. Οι δεύτεροι, συλλέγουν ολόκληρο το φάσμα από παλμό ιόντων. (Λυμπούση, 2016)

Τετραπολικός αναλυτής.

Οι τετραπολικοί αναλυτές μαζών διαθέτουν τέσσερις παράλληλες μεταλλικές ράβδους (πόλους), που είναι συμμετρικά τοποθετημένες ως προς τη δέσμη των ιόντων και διαγωνίως συνδέονται ηλεκτρικά μεταξύ τους. Κάθε ζεύγος ράβδων συνδέεται με τον πόλο πηγής τάσεως, που περιέχει μία συνεχή και μία εναλλασσόμενη υψίσυχη, στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων (Γιανναδάκη, 2013). Ο αναλυτής λειτουργεί ως φίλτρο επιτρέποντας την διόδο ιόντων με συγκεκριμένη τιμή m/z, που φτάνουν στον ανιχνευτή. Ο τετραπολικός αναλυτής είναι ο πιο διαδεδομένος, κυρίως λόγω της δυνατότητας λήψης φάσματος σε λίγα δευτερόλεπτα και της επαναληψιμότητάς του. Αυτά, σε συνδυασμό με το ότι είναι συμβατός και με χρωματογραφικές τεχνικές, αλλά

και το χαμηλό του κόστος και η λειτουργική κατασκευή του, τον καθιστούν ως πρώτη επιλογή (Λυμπούση, 2016) (Κακλαμάνος, 2009) (Γιανναδάκη, 2013).

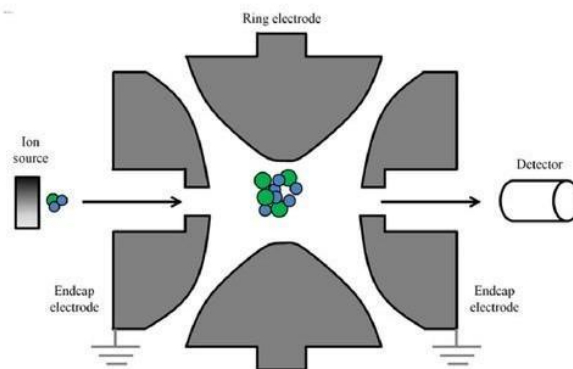


Εικόνα: Τετραπολικός αναλυτής.

https://tccc.iesl.forth.gr/AMS_EPEAEK/courses/LazPap/MSLab_AMS.htm

Παγίδα ιόντων.

Η παγίδα ιόντων λειτουργεί με τη δημιουργία τρισδιάστατου πεδίου, στο οποίο παγιδεύονται τα προσδιοριζόμενα ιόντα και εστιάζονται σε ένα επίπεδο. Συγκεκριμένα, τα εισερχόμενα ιόντα κυκλοφορούν στον τρισδιάστατο χώρο, στον οποίο υπάρχουν τέσσερα ηλεκτρόδια, τα οποία εστιάζουν τα ιόντα στο επίπεδο που ορίζεται από τον ανιχνευτή, και το πλέγμα ιοντισμού. Ύστερα εφαρμόζεται δυναμικό ραδιοσυχνότητας, που αυξάνεται γραμμικά, προσφέροντας αυξανόμενη κινητική ενέργεια στα ιόντα. Όλα τα ιόντα του ίδιου φορτίου λαμβάνουν την ίδια ενέργεια, αλλά ιόντα μικρού m/z επιταχύνονται περισσότερο σε σχέση με τα βαρύτερα ιόντα. Ως αποτέλεσμα, τα μικρότερα ιόντα αρχίζουν να ξεφεύγουν από την παγίδα και οδηγούνται στον ανιχνευτή και ακολουθούν τα μεγαλύτερα, ανάλογα με τη μάζα τους (Κακλαμάνος, 2009). Οι παγίδες ιόντων είναι μικρά συμπαγή όργανα που μπορούν να εφαρμοστούν άμεσα και να δώσουν ικανοποιητικά αποτελέσματα για αναλύσεις μορίων έως 1000 dalton. Είναι οικονομικά και αξιόπιστα όργανα που λειτουργούν πολύ ικανοποιητικά ως ανιχνευτές υγρής και αέριας χρωματογραφίας. Η παγίδα ιόντων προσφέρει πολύ μεγάλες δυνατότητες λειτουργίας MS/MS και γι' αυτό βρίσκει μεγάλη εφαρμογή στην βιοανάλυση πεπτιδίων-νουκλεοτιδίων (Κακλαμάνος, 2009).



Εικόνα: Παγίδα ιόντων.

<https://slideplayer.gr/slide/17005250/>

Αναλυτής χρόνου πτήσης.

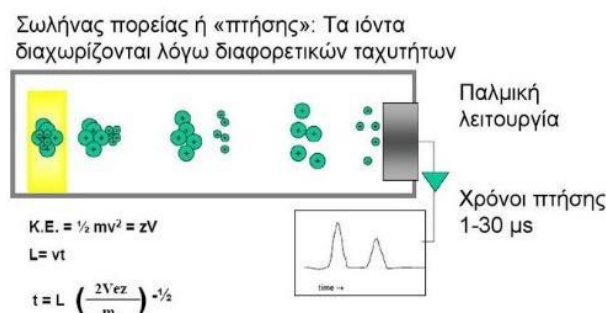
Στον αναλυτή χρόνου πτήσης, ο λόγος m/z ενός ιόντος προσδιορίζεται με μέτρηση του χρόνου πτήσης. Ύστερα από το στάδιο σχηματισμού ιόντων, αυτά επιταχύνονται προς γειωμένο μεταλλικό πλέγμα και, διαπερνώντας από διατάξεις εστίασης, εισέρχονται σε ευθύγραμμο σωλήνα, ελεύθερου πεδίου, με διάμετρο D . Τα ιόντα κινούνται με ξεχωριστή ταχύτητα, ανάλογη του κλάσματος m/z , με αποτέλεσμα να φτάνουν σε διαφορετικό χρόνο στον ανιχνευτή, στο τέλος της διαδρομής. Ο χρόνος πτήσης είναι η διαφορά του χρόνου, από τη στιγμή του ιοντισμού έως την ανίχνευση του πρώτου ιόντος, και μετράται για τον προσδιορισμό του m/z από τις εξισώσεις:

$$t = (m / 2 z E)^{1/2} * D \Rightarrow m/z = 2 E (t/D)^2$$

όπου E η κινητική ενέργεια των ιόντων.

Επειδή οι χρόνοι είναι της κλίμακας των μs , είναι αναγκαία η χρήση ηλεκτρονικών συστημάτων μέτρησης χρόνου και συλλογής πληροφοριών. Η διαχωριστική ικανότητα των αναλυτών χρόνου πτήσης είναι σχετικά περιορισμένη, υπάρχει όμως η δυνατότητα να αυξηθεί στα όργανα ανάκλησης. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημά τους είναι ότι δίνουν

την δυνατότητα ανάλυσης ευαίσθητων μορίων και δεν υπάρχει περιορισμός λόγω του μεγέθους των ενώσεων (Κακλαμάνος, 2009).



Εικόνα: αναλυτής χρόνου πτήσης.

https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM165/07-SAT_02_Mass_Spectrometry_pt1.pdf

5.3.2.4. Ανιχνευτής ιόντων.

Ο ανιχνευτής ιόντων παράγει στην έξοδό του ηλεκτρικό σήμα (συνήθως ηλεκτρικό ρεύμα), ανάλογο του αριθμού ιόντων και του φορτίου τους που δέχεται στην είσοδό του και στην μονάδα χρόνου (Γιανναδάκη, 2013). Υπάρχουν πολλά είδη ανιχνευτών, όπως ο ηλεκτρονιο πολλαπλασιαστής, η φωτογραφική πλάκα, το φαρανταικό κύπελλο κ.α. Ο πιο διαδεδομένος είναι ο ηλεκτρονιο πολλαπλασιαστής. Η δέσμη των ιόντων προσπίπτει στην απέναντι εσωτερική πλευρά του σωλήνα και εκπέμπει περισσότερα ηλεκτρόνια με κάθε κρούση (Κακλαμάνος, 2009) (Γιανναδάκη, 2013).

5.3.2.5. Συστημα κενού.

Απαραίτητη προϋπόθεση κατά τη φασματομετρία μαζών είναι να διατηρούνται συνθήκες υψηλού κενού, με πίεση της τάξεως $10^{-4} - 10^{-8}$ Torr. Η διατήρηση του κενού εξυπηρετεί πολλές λειτουργίες, όπως την εξασφάλιση ότι τα ιόντα, κατά τη μεταφορά τους στον ανιχνευτή, δεν αναμιγνύονται με άλλα μόρια, γεγονός που θα επηρεάζει τα αποτελέσματα. Άλλο ένα χαρακτηριστικό του υψηλού κενού είναι ότι εμποδίζει τη διάβρωση, λόγω ατμών, στις επιφάνειες της πηγής ιοντισμού, του αναλυτή και του ανιχνευτή. Για τη δημιουργία επαρκούς κενού χρησιμοποιείται συνδυασμός αντλιών, όπως περιστροφικές, και στα πιο σύγχρονα, οι στροβιλομοριακές αντλίες (Λυμπούση, 2016) (Κακλαμάνος, 2009).

5.3.2.6. Ηλεκτρονικός υπολογιστής.

Οι χρήσεις των ηλεκτρονικών υπολογιστών είναι πολλές, η κυριότερη από τις οποίες είναι η καταχώρηση και παρουσίαση των δεδομένων. Ένας Η/Υ χρησιμεύει επίσης στην γρήγορη επίλυση πολλών πολύπλοκων εξισώσεων, για τον ποσοτικό προσδιορισμό ουσιών. Επιπροσθέτως, με την εγκατάσταση κατάλληλου λογισμικού, ο υπολογιστής έχει τη δυνατότητα προκαταρκτικών υποδείξεων για την ταυτοποίηση της προσδιοριζόμενης ουσίας, αξιοποιώντας τα φασματικά δεδομένα κ.α. (Κακλαμάνος, 2009).

5.4. Χρωματογραφία.

5.4.1. Εισαγωγή.

Με τον όρο **χρωματογραφία** αναφερόμαστε στις *τεχνικές φυσικού διαχωρισμού και προσδιορισμού των συστατικών ενός μίγματος ανόργανων ή οργανικών ενώσεων* (Λυμπούση, 2016). Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με την κατανομή των συστατικών μεταξύ δύο φάσεων, μίας στατικής και μίας κινητής. Αυτός στηρίζεται στις διαφορές φυσικών ιδιοτήτων των συστατικών που διαχωρίζονται. Κατά τη χρωματογραφία η κινητή φάση, καθώς διαπερνά την στατική, μετακινεί τις ουσίες με διαφορετικές ταχύτητες (Λυμπούση, 2016) (Σινάνογλου, 2013)

Ένας διαχωρισμός των χρωματογραφικών τεχνικών είναι με βάση τη φύση της κινητής φάσης, που τις διακρίνει σε Υγρή Χρωματογραφία (LC) και Αέρια Χρωματογραφία (GC). Στην πρώτη περίπτωση η κινητή φάση είναι υγρή, ενώ στη δεύτερη είναι αέρια. Η χρωματογραφία μπορεί να ταξινομηθεί σε πολλές κατηγορίες με διάφορα κριτήρια (Σινάνογλου, 2013).

- Διαχωρισμός με βάση τη Στατική Φάση.
 1. Χρωματογραφία Στήλης, στην οποία η στατική φάση συγκρατείται σε μία στήλη μέσω της οποίας διαπερνά η κινητή φάση με πίεση ή ρέει λόγω βαρύτητας.
 2. Επίπεδη Χρωματογραφία, στην οποία η κινητή φάση διαπερνά τη στατική μέσω τριχοειδών δυνάμεων ή βαρύτητας.
- Διαχωρισμός με βάση τον μηχανισμό διαχωρισμού.
 1. Χρωματογραφία Προσρόφησης.
 2. Χρωματογραφία Ιονανταλλαγής.
 3. Χρωματογραφία Κατανομής.

4. Χρωματογραφία Συγγένειας
 5. Χρωματογραφία Μοριακού Αποκλεισμού ή Διαπερατότητας Πηκτής.
- Διαχωρισμός με βάση τη μέθοδο εισαγωγής δείγματος.
 1. Χρωματογραφία Εκλούσεως.
 2. Χρωματογραφία Εκτοπίσεως.
 3. Μετωπική Χρωματογραφία.

Χρωματογραφία Εκλούσεως.

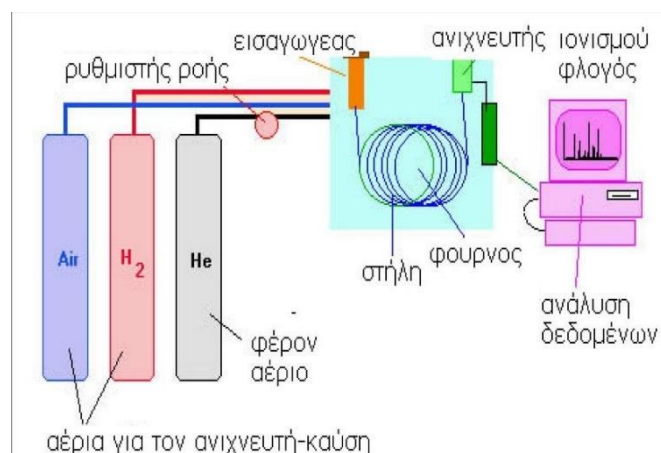
Με αυτή τη μέθοδο εισαγωγής του δείγματος το κλάσμα του κάθε συστατικού στην κινητή φάση μετακινείται από αυτή, ερχόμενο σε επαφή με νέο τμήμα της στατικής φάσης, οπότε συμβαίνει νέα κατανομή. Ταυτόχρονα, το κλάσμα του συστατικού, που έμεινε στο αρχικό τμήμα της στατικής φάσης, κατανέμεται σε νέα ποσότητα κινητής φάσης. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται πολλές φορές με τη συνεχή διαβίβαση κινητής φάσης (Σινάνογλου, 2013).

5.4.2. Αεροχρωματογραφία (GC).

Στην αέρια χρωματογραφία, η κινητή φάση είναι αέρια ενώ η στατική είναι είτε στερεή (GSC) είτε υγρή (GLC). Στην πρώτη κατηγορία, ο διαχωρισμός των συστατικών οφείλεται σε προσρόφηση ή μοριακό αποκλεισμό των εξεταζόμενων συστατικών της στατικής φάσης. Στη δεύτερη κατηγορία, ο διαχωρισμός των συστατικών βασίζεται στην κίνηση των συστατικών μέσα από τη στήλη με διαφορετικές ταχύτητες (Γιανναδάκη, 2013).

Αυτή η μέθοδος είναι ιδανική για το διαχωρισμό πτητικών και θερμικά σταθερών ουσιών. Αρχικά το υγρό δείγμα τοποθετείται στο σύστημα εισαγωγής, το οποίο βρίσκεται σε θερμοκρασία υψηλότερη από αυτή της στήλης, και μεταπίπτει στην αέρια φάση. Στη συνέχεια, διαπερνά την χρωματογραφική στήλη, στην οποία διαχωρίζεται στα συστατικά του, με τη βοήθεια αδρανούς αερίου. Ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος βασίζεται στο σημείο βρασμού τους και στη χημική τους συγγένεια με τη στατική φάση. Όταν η στατική φάση και οι διαχωριζόμενες ουσίες είναι της ίδιας πολικότητας, τότε ο διαχωρισμός τους επηρεάζεται μόνο από το σημείο βρασμού. Συγκεκριμένα, όταν το Σ.Β. των ουσιών είναι μεγαλύτερο από τη θερμοκρασία της στήλης, αυτές έχουν την τάση να συμπυκνώνονται στην αρχή της στήλης. Ο χρόνος έκλουσης των ουσιών εξαρτάται από την θερμοκρασία της στήλης. Αναλυτικότερα,

όσο αυξάνεται η θερμοκρασία της, ο χρόνος μειώνεται, όμως δεν επιτυγχάνεται ικανοποιητικός διαχωρισμός, και αντίθετα (Κιούση, 2016).



Εικόνα: Διάταξη αεροχρωματογράφου.

<https://slideplayer.gr/slide/12053868/>

5.4.3. Οργανολογία αεροχρωματογραφίας.

Τα βασικότερα τμήματα ενός αεροχρωματογράφου είναι τα εξής:

1. Φέρον Αέριο.
2. Ρυθμιστής Πίεσεως (Ροόμετρο).
3. Σύστημα Εισαγωγής Δείγματος.
4. Θερμοστατούμενος Φούρνος.
5. Χρωματογραφική Στήλη.
6. Σύστημα Λήψεως και Επεξεργασίας Δεδομένων.
7. Παγίδες Καθαρισμού Αερίων.

5.4.3.1. Φέρον αέριο.

Το φέρον αέριο λειτουργεί ως η κινητή φάση και είναι απαραίτητο να είναι αδρανές με το υλικό κατασκευής του χρωματογράφου, του πληρωτικού υλικού, της στήλης και με τις διαχωριζόμενες ουσίες. Αναγκαίο επίσης θεωρείται το φέρον αέριο να είναι ξηρό, διότι η υγρασία μπορεί να απενεργοποιήσει τη στατική φάση, απαλλαγμένο από οξυγόνο, ώστε να μην οξειδώνει τη στατική φάση και κατ'έπекταση να καταστρέφεται η στήλη, και τέλος να μην περιέχει οργανικές προσμίξεις, που θα προκαλέσουν μείωση της ευαισθησίας του ανιχνευτή. Το φέρον αέριο επιλέγεται με βάση τον ανιχνευτή που θα χρησιμοποιηθεί, διότι η κινητή φάση θα πρέπει να διαφέρει από τις διαχωριζόμενες

ουσίες ως προς την ιδιότητα, στην οποία βασίζεται ο χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής (π.χ. πυκνότητα, θερμική αγωγιμότητα). Τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα αέρια είναι το ήλιο (He), το άζωτο (N), το αργό (Ar) και σπανιότερα το υδρογόνο (H) και το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂). Από αυτά, το ιδανικότερο αέριο είναι το , λόγω της υψηλής του θερμική αγωγιμότητας και της μικρής του πυκνότητας, που συνεπάγεται μικρότερο χρόνο αναλύσεως (Λυμπούση, 2016) (Κιούση, 2016) (Γιανναδάκη, 2013).

5.4.3.2. Ρυθμιστής πίεσεως.

Το φέρον αέριο αποθηκεύεται σε φιάλες σε υψηλή πίεση 100-200 atm. Για τη μεταφορά του στο χρωματογραφικό σύστημα, μειώνεται η πίεσή του με τον ρυθμιστή πίεσεως, μέσω του συστήματος βαλβίδων που διαθέτει, σε 1-2 atm πάνω από την ατμοσφαιρική. Κατόπιν, το αέριο διαπερνά από ροόμετρο, για τον ακριβή προσδιορισμό της ταχύτητας του, η οποία είναι απαραίτητη καθώς οι χρόνοι συγκρατήσεως των ουσιών εξαρτώνται από αυτή (Λυμπούση, 2016) (Γιανναδάκη, 2013).

5.4.3.3. Παγίδες καθαρισμού αερίων.

Η χρήση παγίδων καθαρισμού αερίων στην έξοδο της φιάλης αποθήκευσης, διασφαλίζει ότι το φέρον αέριο είναι απαλλαγμένο από προσμίξεις και υγρασία. Οι παγίδες αναγεννιούνται περίπου δύο φορές τον χρόνο, με θέρμανση στους 300°C για 4 έως 8 ώρες με διαβίβαση ενός ρεύματος αερίου ή με την τοποθέτησή τους σε φούρνου κενού (Λυμπούση, 2016).

5.4.3.4. Σύστημα εισαγωγής δείγματος.

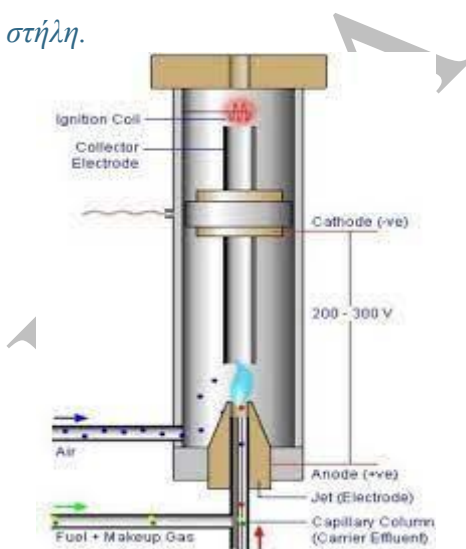
Ο συνηθέστερος τρόπος εισαγωγής του δείγματος είναι με μικροσύριγγα στην αρχή της στήλης μέσα από ειδικό στόμιο, το οποίο διαθέτει ένα ελαστικό θερμοανθεκτικό φιλμ, το οποίο λειτουργεί ως φραγμός που αποτρέπει την έξοδο της ουσίας ή του φέροντος αερίου. Στην περίπτωση αερίου δείγματος η σύριγγα είναι αεροστεγής, εναλλακτικά χρησιμοποιείται ειδικό σύστημα περιστρεφόμενης βαλβίδας με βρόγχο. Η θερμοκρασία στο σύστημα εισαγωγής δείγματος είναι κατά 50°C υψηλότερη από το σημείο ζέσεως του λιγότερου πτητικού συστατικού του δείγματος, εξασφαλίζοντας έτσι την εξαέρωση του δείγματος και την παραλαβή του διαμέσω του φέροντος αερίου, που οδηγεί το δείγμα στη χρωματογραφική στήλη. Ο θάλαμος εξάτμισης είναι ένας θερμαινόμενος υάλινος σωλήνας με υαλοβάμβακα στο κάτω μέρος, μέσω του οποίου διαφεύγουν τα μη πτητικά συστατικά και τα προϊόντα διάσπασης του δείγματος. Το μέγεθος του δείγματος που εισάγεται διαφέρει και εξαρτάται από το είδος της

χρησιμοποιούμενης στήλης. Για τον ικανοποιητικό διαχωρισμό, είναι αναγκαίο το δείγμα να εισάγεται ακαριαία, ώστε να υπάρχει μικρή διασπορά της ζώνης δείγματος και ο χρησιμοποιούμενος όγκος του δείγματος να είναι όσο το δυνατόν μικρότερος (Λυμπούση, 2016) (Κιούση, 2016) (Γιανναδάκη, 2013).

5.4.3.5. Θερμοστατούμενος κλίβανος

Στην χρωματογραφική ανάλυση συνηθίζεται να θερμοστατούνται το σύστημα εισαγωγής δείγματος, η στήλη και ο ανιχνευτής, είτε όλα μαζί είτε ξεχωριστά, σε μία περιοχή 50 – 300°C. Ειδικότερα, για τη στήλη η ιδανική θερμοκρασία εξαρτάται από το σημείο ζέσεως των συστατικών του δείγματος και από το επιθυμητό επίπεδο διαχωρισμού. Γενικότερα ισχύει ότι, όσο ελαττώνεται η θερμοκρασία τόσο αυξάνεται η διαχωριστική ικανότητα, όμως ταυτόχρονα αυξάνεται και η διάρκεια της ανάλυσης. Γι' αυτό το λόγο συνήθως επιλέγεται μία θερμοκρασία ίση ή λιγότερο υψηλότερη του σημείου ζέσεως του δείγματος (Λυμπούση, 2016) (Γιανναδάκη, 2013).

5.4.3.6. Χρωματογραφική στήλη.



Εικόνα: Παράδειγμα χρωματογραφικής στήλης στην αεροχρωματογραφία.

<http://www.chemistry.uoc.gr/eclass/modules/document/file.php/CHEM-UNDER115/%CE%91%CE%95%CE%A1%CE%99%CE%91%20%CE%A7%CE%A1%CE%A9%CE%9C%CE%91%CE%A4%CE%9F%CE%93%CE%A1%CE%91%CE%A6%CE%99%CE%91%20%28GC-%TCD%29/%CE%95%CE%99%CE%A3%CE%97%CE%93%CE%97%CE%A3%CE%97-%CE%93%CE%B5%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CE%AC%20%CE%B3%CE%B9%CE%B1%20%CE%91%CE%AD%CF%81%CE%B9%CE%B5%CF%82%20%CE%A7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B5%CF%82%28FID%2CTCD%29.pdf>

Η χρωματογραφική στήλη διαθέτει έναν επιμήκη σωλήνα κατασκευασμένο από ανοξείδωτο χάλυβα, χαλκό, αργίλιο, υαλό ή πλαστικό, σε μορφή σπειρώματος ή

πετάλου (U), ώστε να καταλαμβάνει το μικρότερο δυνατό χώρο. Η στατική φάση μπορεί να είναι στερεή ή υγρή, ή πορώδες υλικό ή γενικότερα ένα υλικό με μεγάλη προσροφητική ικανότητα. Οι χρωματογραφικές στήλες ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες.

1. Πληρωμένες στήλες.

Αυτή η κατηγορία διαθέτει στερεό υπόστρωμα (π.χ. γη διατομών) διαποτισμένο με κατάλληλο υγρό, το οποίο αποτελεί την υγρή στατική φάση. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι, το στερεό υπόστρωμα να είναι χημικά αδρανές, κάτι που επιτυγχάνεται με τη διαδικασία της σιλανοποίησης.

2. Τριχοειδής στήλες.

Η στατική φάση μπορεί να είναι υγρή ή στερεή, που συγκρατείται από τα εσωτερικά τοιχώματα της στήλης, ή υγρή, που προσδένεται σε στερεό υπόστρωμα το οποίο καλύπτει τα εσωτερικά τοιχώματα της στήλης. Οι τριχοειδής στήλες επιτυγχάνουν πολύ καλούς διαχωρισμούς ακόμα και με πολύ μικρή ποσότητα δείγματος (π.χ. 1 μg).

Τα βασικά χαρακτηριστικά της ποιότητας μίας χρωματογραφικής στήλης είναι:

1. Ο αριθμός των θεωρητικών πλακών.
2. Το ύψος ισοδύναμο προς μία θεωρητική πλάκα.
3. Η διαχωριστικότητα.
4. Η χωρητικότητα.
5. Ο απαιτούμενος χρόνος ανάλυσης.

(Γιανναδάκη, 2013) (Σινάνογλου, 2013)

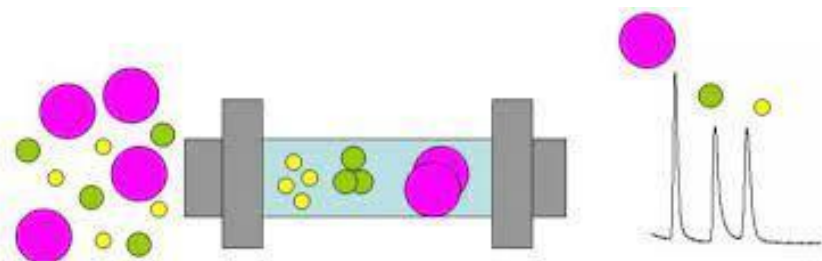
5.4.3.7. Ανιχνευτής.

Ο ανιχνευτής είναι υπεύθυνος για τον εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των εξεταζόμενων ουσιών του δείγματος. Με βάση την απόκρισή τους μπορούν να ταξινομηθούν σε αυτούς που αποκρίνονται στη συγκέντρωση της εκλουόμενης ουσίας μέσα στο φέρον αέριο και σε αυτούς που αποκρίνονται στην ταχύτητα ροής μάζας της εκλουόμενης ουσίας. Τα βασικότερα ποιοτικά χαρακτηριστικά ενός ανιχνευτή είναι τα εξής (Γιανναδάκη, 2013) (Σινάνογλου, 2013):

1. Υψηλή ευαισθησία.
2. Σταθερότητα.
3. Μεγάλη γραμμική δυναμική περιοχή.

4. Αξιοπιστία.
5. Ευκολία στη χρήση.

5.4.4. Υγροχρωματογραφία (LC).



Εικόνα: Διαχωρισμός μορίων διαφορετικού μεγέθους στην υγροχρωματογραφία.

https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3676/1/02_chapter_11.pdf

Η υγρή χρωματογραφία στηρίζεται στον διαφορετικό βαθμό που αλληλεπιδρούν οι εξεταζόμενες ουσίες με τη στατική και την κινητή φάση, που οφείλεται στα διαφορετικά χημικά χαρακτηριστικά των ουσιών (Γιανναδάκη, 2013). Μια τυπική διάταξη Υγροχρωματογράφου αποτελείται από:

1. Κινητή Φάση.
2. Σύστημα Αντλησης.
3. Σύστημα Έγχυσης Δείγματος.
4. Χρωματογραφική Στήλη.

5.4.4.1. Κινητή φάση.

Η κινητή φάση είναι σε υγρή μορφή, στην οποία διαλύονται πλήρως τα συστατικά του δείγματος. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι να μην αντιδρά με τις εξεταζόμενες ουσίες και το ΡΗ της να μην επηρεάζει τη στατική φάση της στήλης. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται ως κινητή φάση πρέπει να είναι υψηλής καθαρότητας και να αποθηκεύονται σε υάλινα δοχεία, τα οποία είναι εφοδιασμένα με μέσα απομάκρυνσης διαλυμένων αερίων (Γιανναδάκη, 2013).

5.4.4.2. Σύστημα άντλησης.

Η αντλία θα πρέπει να εξασφαλίζει σταθερή ταχύτητα ροής της κινητής φάσης, χωρίς παλμούς. Η ρύθμιση της ροής εξαρτάται από τη διάμετρο της στήλης και το είδος της μεσεπιφάνειας. Στην περίπτωση που η διάταξη LC-MS αποτελείται από μικροπορώδη

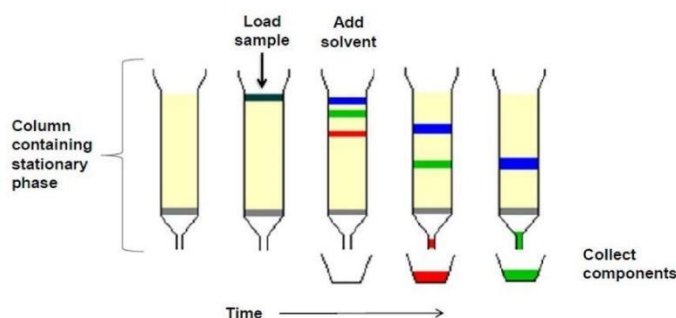
στήλη και μεσεπιφάνεια ηλεκτρονεκασμού, τότε η ροή της κινητής φάσης είναι χαμηλή (Γιανναδάκη, 2013).

5.4.4.3. Σύστημα έγχυσης δείγματος.

Το συνηθέστερο σύστημα έγχυσης δείγματος είναι ο βρόχος δειγματοληψίας. Το δείγμα μεταφέρεται στο βρόχο με τη βοήθεια σύριγγας, ενώ παράλληλα η κινητή φάση κατευθύνεται από την αντλία εισόδου προς τη χρωματογραφική στήλη. Κατά την εισαγωγή του δείγματος, μία περιστροφική βαλβίδα μετακινείται και ο βρόχος παρεμβάλλεται μεταξύ αντλίας και στήλης, οπότε η ροή επιτρέπεται στον βρόχο και έτσι το περιεχόμενο μεταφέρεται στη στήλη (Γιανναδάκη, 2013).

5.4.4.4. Χρωματογραφική στήλη υγροχρωματογραφίας.

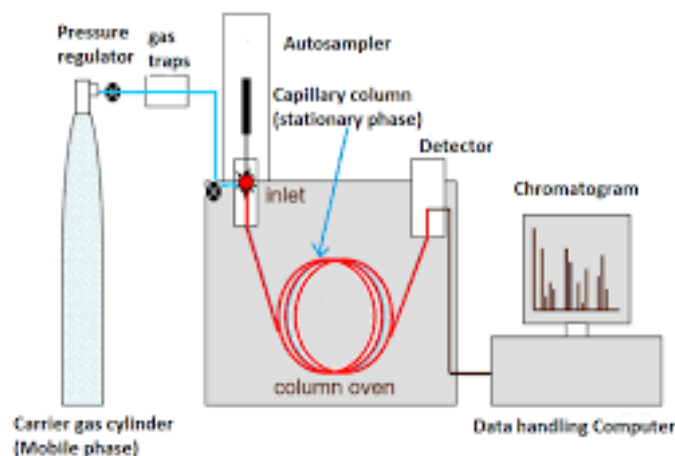
Στις τεχνικές της υγρής χρωματογραφίας, συνηθέστερα χρησιμοποιούνται πληρωμένες στήλες, οι οποίες διαθέτουν στερεό υπόστρωμα αποτελούμενο από μικροπορώδη σωματίδια. Η στήλη πρέπει να διατηρείται σε σταθερή θερμοκρασία, απαλλαγμένη από προσμίξεις και ακαθαρσίες (Γιανναδάκη, 2013).



Εικόνα: Παράδειγμα λειτουργίας χρωματογραφικής στήλης στην υγρή χρωματογραφία.

<https://slideplayer.gr/slide/11974596/>

5.5.Αεροχρωματογραφία – Φασματομετρία Μαζών με Τετραπλό Αναλυτή (GC-MS-QqQ).



Εικόνα:Τυπική διάταξη GC-MS.

<https://eclass.hua.gr/modules/document/file.php/DIET162/%CE%91%CE%95%CE%A1%CE%99%CE%91%20%CE%A7%CE%A1%CE%A9%CE%9C%CE%91%CE%A4%CE%9F%CE%93%CE%A1%CE%91%CE%A6%CE%99%CE%91/GC%20LAB%20Greek.pdf>

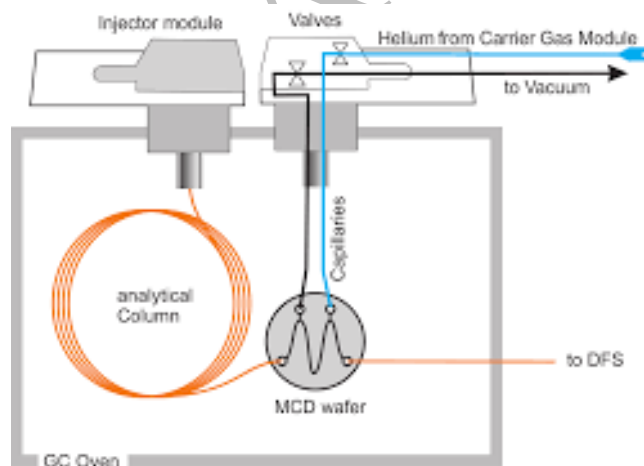
Με τον συνδυασμό αυτών των δύο τεχνικών το φασματόμετρο μαζών λειτουργεί ως ανιχνευτής, με μεγάλη εκλεκτικότητα, για τον χρωματογράφο. Το πλεονέκτημα του συνδυασμού αυτού, στηρίζεται στο γεγονός ότι ο ανιχνευτής του φασματόμετρου ανιχνεύει ιόντα με συγκεκριμένο m/z , και έτσι το χρωματογράφημα δίνει κορυφές μόνο για τις ουσίες που περιέχουν το συγκεκριμένο ιόν. Αυτή η τεχνική είναι κατάλληλη για τον εντοπισμό ορμονών σε βιολογικά δείγματα και γι'αυτό χρησιμοποιείται ευρέως στον έλεγχο ντόπινγκ (Γιανναδάκη, 2013).

Τα δύο συστήματα συνδέονται μέσω ενός θερμαινόμενου σωλήνα, που θεωρείται η μεσεπιφάνεια του συστήματος. Ο συνηθέστερος τρόπος σύζευξης, είναι το ελεύθερο άκρο της χρωματογραφικής στήλης να τοποθετείται μέσα στο χώρο της πηγής ιοντισμού. Ο θερμαινόμενος σωλήνας περιβάλλει το τελευταίο τμήμα της στήλης και η θερμοκρασία του είναι σταθερή και μεγαλύτερη από το σημείο ζέσεως του πτητικότερου συστατικού του δείγματος. Με αυτό τον τρόπο το έκλουσμα, από τον αεροχρωματογράφο, μεταβαίνει στην πηγή ιοντισμού του φασματογράφου, χωρίς να έχει συμπυκνωθεί ή διασπαστεί (Κιούση, 2016). Ως πηγή ιοντισμού συνήθως

επιλέγεται ο ιοντισμός με ηλεκτρόνια, ωστόσο υπάρχουν και περιπτώσεις όπου εφαρμόζεται ο χημικός ιοντισμός. Στην τεχνική GC-MS, στα στάδια της προκατεργασίας, προτιμάται ενζυμική υδρόλυση με β-γλυκουρονιδάση και σουλφατάση, ή μόνο β-γλυκουρονιδάση. Για τη διαδικασία της παραγωγοποίησης χρησιμοποιείται μίγμα MSTFA+TMIS+Ethanethiol (Κακλαμάνος, 2009).

Η σύζευξη αυτή με τη χρήση τετραπολικού αναλυτή, δίνει τη δυνατότητα ανίχνευσης απαγορευμένων ουσιών σε ανθρώπινα ούρα με όριο ανίχνευσης 0,5 ng/ml (Κακλαμάνος, 2009). Ένα βασικό μειονέκτημα, που συναντάται στο συνδυασμό GC-MS, είναι ότι οι συνθήκες άριστου χρωματογραφικού διαχωρισμού μπορεί να μην συμβιβάζονται με τις απαιτούμενες συνθήκες ικανοποιητικού ιοντισμού των ενώσεων, που εκλύονται από τη στήλη. Χαρακτηριστική περίπτωση είναι η παρουσία περίσσειας φέροντος αερίου ή διαλύτη, στο έκλουσμα, που εμποδίζει την είσοδό του στην πηγή ιοντισμού. Αυτό αντιμετωπίζεται με τη χρήση μοριακών διαχωριστών, στο έκλουσμα, πριν την διαβίβασή του στην πηγή ιοντισμού, οι οποίοι εκδιώκουν το έκλουσμα (Γιανναδάκη, 2013).

5.6. Αεροχρωματογραφία-Φασματομετρία Μαζών Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας (GC-HRMS).



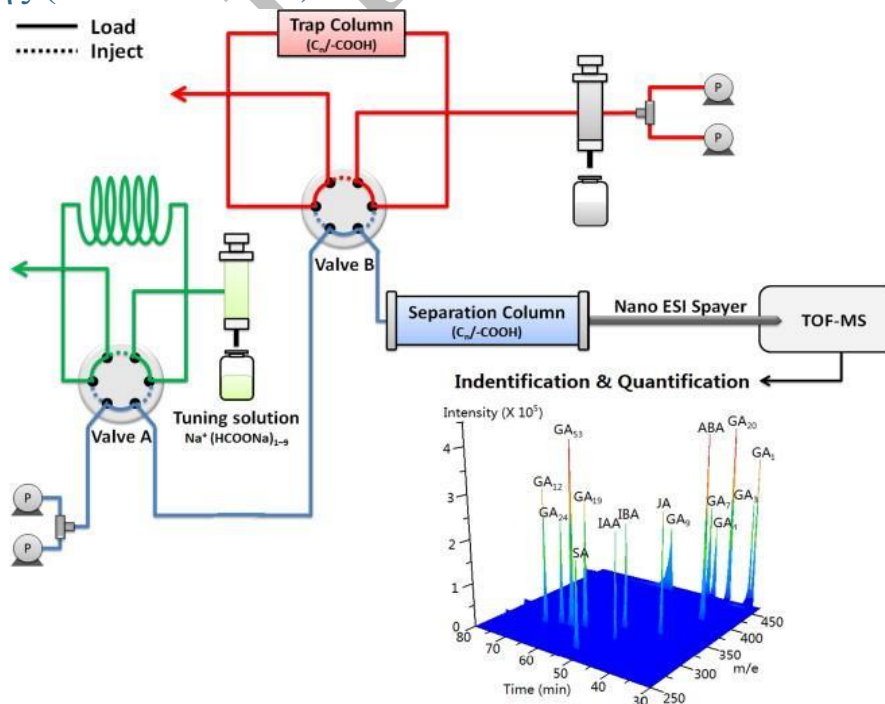
Εικόνα: Τυπική διάταξη GC-HRMS.

<https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/TN-30174-GC-HRMS-DualData-XL-DFS-Magnetic-Sector-TN30174-EN.pdf>

Η υψηλή διακριτική ικανότητα του φασματογράφου, οφείλεται στον ακριβή γεωμετρικό σχεδιασμό του αναλυτή και στην υψηλού μηχανικού επιπέδου κατασκευής του. Στον υπολογισμό της μάζας, συμβάλει σημαντικά η εφαρμογή ειδικά σχεδιασμένων φακών εστίασης, που βρίσκονται κατά μήκος του οπτικού άξονα τοποθετημένοι με τέτοιο τρόπο, για μέγιστη απόδοση (Κιούση, 2016).

Στη συγκεκριμένη τεχνική, επιλέγεται αναλυτής διπλής εστίασης, που διαθέτει δύο ηλεκτροστατικούς τομείς και έναν μαγνητικό, των οποίων οι εντάσεις διατηρούνται σταθερές. Ο θάλαμος πτήσης ιόντων είναι έτσι σχεδιασμένος, ώστε τα παραγόμενα ιόντα να διαγράφουν συγκεκριμένη τροχιά μέχρι τον ανιχνευτή. Όταν τα ιόντα εξέρχονται από την πηγή ιοντισμού, εφαρμόζεται σε αυτά ένα δυναμικό επιτάχυνσης, προκειμένου να αποκτήσουν την απαραίτητη κινητική ενέργεια, ώστε να φτάσουν στον ανιχνευτή. Το δυναμικό επιτάχυνσης εξαρτάται από τη μάζα των ιόντων στα οποία εφαρμόζεται. Η συγκεκριμένη αναλυτική τεχνική, πραγματοποιείται με παρακολούθηση επιλεγμένων ιόντων (Κιούση, 2016). Στις διαδικασίες προκατεργασίας, για την υδρόλυση χρησιμοποιείται β-γλυκουρονιδάση, ενώ για την παραγωγοποίηση το μίγμα MSTFA+TMIS+DTE. Η αναλυτική τεχνική GC-HRMS έχει όριο ανίχνευσης 1ng/ml (Κακλαμάνος, 2009).

5.7.Υγροχρωματογραφία-Φασματομετρία Μαζών Χρόνου Πτήσης (LC/TOF-MS).



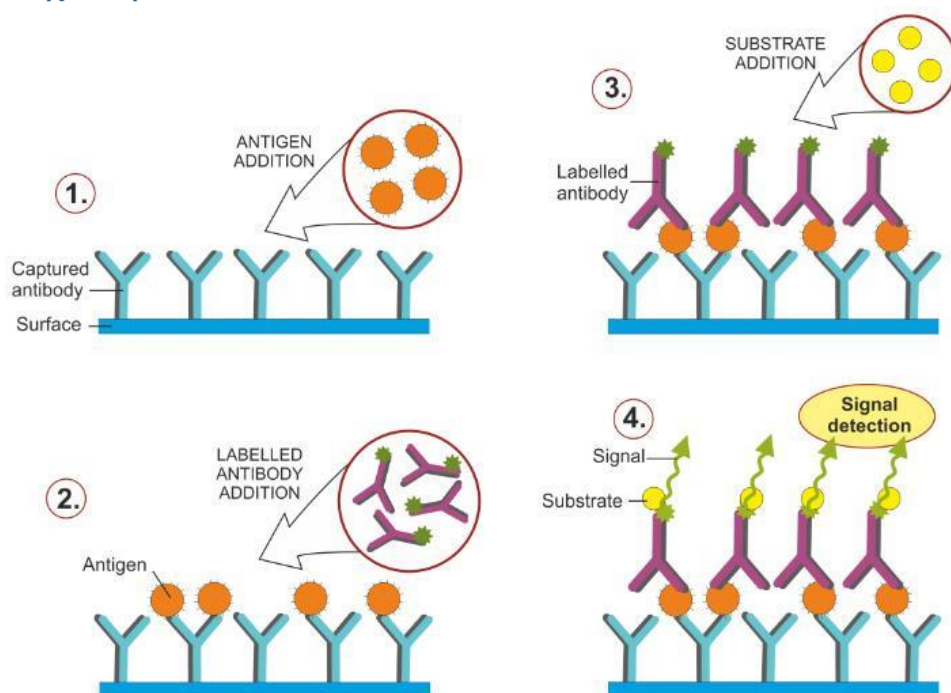
Εικόνα:Τυπική διάταξη LC/TOF-MS.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570023212004667>

Η αρχή λειτουργίας του φασματομέτρου μαζών με αναλυτή χρόνου πτήσης, βασίζεται στο γεγονός ότι ένα πλήθος ιόντων με διαφορετική τιμή λόγου m/z , που κινούνται προς την ίδια κατεύθυνση, με την ίδια κινητική ενέργεια, θα έχουν αντίστοιχα και διαφορετική ταχύτητα, η οποία είναι αντιστρόφως ανάλογη της τετραγωνικής ρίζας του λόγου m/z (Βοναπάρτη , 2011). Αναλυτικότερα, στα παραγόμενα, από την πηγή ιοντισμού, ιόντα, εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο, ώστε να επιταχυνθούν, προκειμένου να αποκτήσουν την επιθυμητή κινητική ενέργεια, ώστε να φτάσουν στον χώρο πτήσης. Η στήλη είναι απαλλαγμένη από εφαρμοσμένα πεδία, οπότε τα ιόντα, λόγω της διαφορετικής τους μάζας, κινούνται με διαφορετικές ταχύτητες και έτσι διαχωρίζονται. Τέλος, υπολογίζεται ο χρόνος πτήσης του κάθε ιόντος και μέσω αυτού βρίσκεται και ο λόγος m/z . Η σύζευξη του υδροχρωματογράφου και του φασματογράφου, δεν μπορεί να είναι άμεση, διότι στον πρώτο απαιτείται ατμοσφαιρική πίεση, ενώ στον δεύτερο υψηλό κενό. Μία λύση, για την αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού είναι, ανάμεσα στα δύο συστήματα να παρεμβάλλεται μεσεπιφάνεια ηλεκτροψεκασμού (Κιούση, 2016).

Αυτή η αναλυτική τεχνική είναι ευρέως διαδεδομένη, καθώς παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα, όπως η μεγάλη ταχύτητα σάρωσης, η υψηλή διακριτική ικανότητα και η δυνατότητα μέτρησης ακριβούς μάζας. Ωστόσο υπάρχουν και ορισμένα μειονεκτήματα, με κυριότερο το μικρό δυναμικό εύρος σε ποσοτική ανάλυση (Βοναπάρτη , 2011) (Κιούση, 2016).

5.8.Τεχνική ELISA.



Εικόνα: Αρχή λειτουργίας τεχνικής ELISA.

<https://www.biotek.com/applications/elisa-and-related-immunoassays.html>

Η τεχνική ELISA είναι μία βιοχημική τεχνική, που χρησιμοποιείται κυρίως στην ανοσολογία για την ανίχνευση της παρουσίας ενός αντισώματος ή μίας πρωτεΐνης σε ένα δείγμα (Κουλοχέρη, No Date). Αυτή ταξινομείται σε:

1. Συναγωνιστική.
2. Άμεση (sandwich).
3. Έμμεση.

Κατά τον έλεγχο ντόπινγκ, για την ταυτοποίηση ανασυνδυασμένης ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης σε ούρα ή αίμα αθλητών, χρησιμοποιείται η Άμεση ELISA. Η αρχή λειτουργίας της συγκεκριμένης τεχνικής, στηρίζεται στην προσρόφιση αντισωμάτων ή αντιγόνων σε τοιχώματα πλαστικών σωλήνων, πλακών 96 θέσεων ή σφαιρίδια (Θεοδωρίδης, Ανοσοχημικές Τεχνικές Ανάλυσης, 2015). Μετά την αναγνώριση του αντιγόνου και τη σύνδεσή του με την εξεταζόμενη ουσία, έπεται ενζυμική αντίδραση για τον υπολογισμό του. Πιο συγκεκριμένα, για τον εντοπισμό της *heg*, χρησιμοποιείται πλάκα μικροανάλυσης, τα φρεάτια της οποίας είναι επικαλυμμένα με στρεπταβιδίνη και σε αυτά εναποτίθεται καθορισμένη ποσότητα

ούρων. Σε αυτά προστίθεται το πρώτο αντίσωμα και, αφού ακινητοποιηθεί, προστίθεται το αντιγόνο, που ενώνεται με το αντίσωμα, δημιουργώντας ένα σύμπλοκο, και ακολουθεί πλύση, για την απομάκρυνση των μη δεσμευμένων ενώσεων. Ύστερα, προστίθεται το δεύτερο αντίσωμα, στη συγκεκριμένη περίπτωση βιοτινυλομένα μονοκλωνικά αντισώματα, που παρουσιάζουν υψηλή εξειδίκευση, και αφού αναγνωρίσει την αναλυόμενη ένωση, δεσμεύεται με ακινητοποιημένο σύμπλοκό της. Το δεύτερο αντίσωμα είναι ενζυμικά επισημασμένο και με την προσθήκη υποστρώματος παράγεται χρωματισμένο προϊόν, του οποίου η ένταση είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της εξεταζόμενης ουσίας (Θεοδωρίδης, Ανοσοχημικές Τεχνικές Ανάλυσης, 2015). Χρησιμοποιώντας, πολλά διαφορετικά δείγματα αναφοράς γνωστής συγκέντρωσης αντιγόνου, δημιουργείται καμπύλη αναφοράς από την οποία υπολογίζεται η συγκέντρωση αντιγόνου του δείγματος (Γιανναδάκη, 2013).

Η άμεση ELISA, είναι ιδανική μόνο για μεγαλομόρια, όπως οι πρωτεΐνες, διότι είναι απαραίτητη προϋπόθεση το εξεταζόμενο μόριο να έχει μεγάλο όγκο. (Γιανναδάκη, 2013) (Κουλοχέρη, No Date) (Θεοδωρίδης, Ανοσοχημικές Τεχνικές Ανάλυσης, 2015)

5.9.Ανάλυση Τρίχας.

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει μελέτες σε ζώα, για την ανίχνευση αναβολικών στεροειδών και β-αγωνιστών, μέσω της ανάλυσης τρίχας. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στην πιθανότητα, ότι εάν τα ενεργά συστατικά της αναβολικής ουσίας μπορούν να ενσωματωθούν στη δομή της τρίχας, τότε συγκρατούνται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σχετικά με τα βιολογικά υγρά, λόγω της χαμηλής μεταβολικής δραστηριότητας στην τρίχα. Ωστόσο, σαν μέθοδος δεν είναι τόσο διαδεδομένη, διότι τα δεδομένα για την επεξεργασία του δείγματος δεν είναι επαρκή. Ορισμένες διαδικασίες για την παραλαβή των ουσιών από την τρίχα είναι οι εξής:

1. Αλκαλική υδρόλυση.

Στο δείγμα προστίθεται υδροξείδιο του νατρίου σε 0,1-5 M και ακολουθεί πέψη στους 45-100°C για καθορισμένο χρονικό διάστημα.

2. Ενζυμική υδρόλυση.

Σε αυτήν χρησιμοποιούνται ένζυμα όπως η β-γλυκουρονιδάση και η σουλφατάση.

3. Ώξινη υδρόλυση.

Στο δείγμα προστίθεται διάλυμα υδροχλωρικού οξέος σε 0,1-0,6 Μ στους 47-70°C για αρκετές ώρες.

4. Εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες.

Οι συνηθέστεροι διαλύτες είναι η μεθανόλη, ή η ακετόνη, ή υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα.

Σε γενικές γραμμές, με τη μέθοδο της εκχύλισης λαμβάνεται καθαρότερο εκχύλισμα, ωστόσο υπάρχουν προβληματισμοί ως προς την ικανότητα των οργανικών διαλυτών να διεισδύουν αποτελεσματικά στην τρίχα (Κακλαμάνος, 2009).

5.10. Αναλυτής Αίματος και Κυτταρομετρία Ροής.



Εικόνα: Αναλυτής Αίματος [URIT-5380 (5-Part Diff Hematology Analyzer)].

<https://medtek.com.ph/product/urit-5380-5-part-diff-hematology-analyzer/>

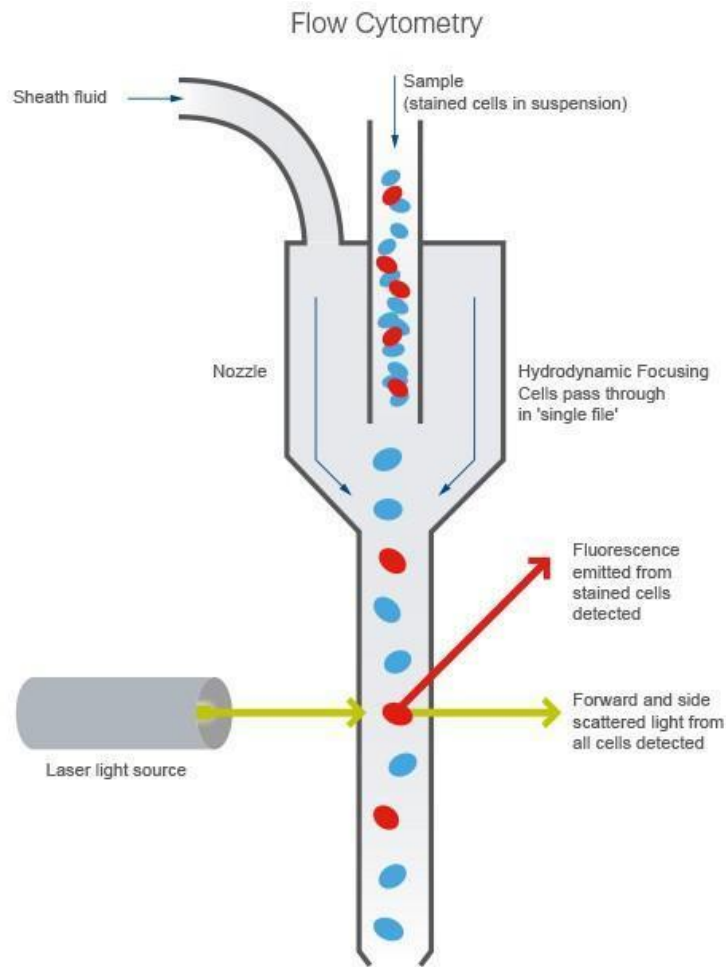
5.10.1.Εισαγωγή.

Ο χειρισμός αίματος και των συστατικών του, κυρίως με τη χρήση ερυθροποιητινών και μετάγγισης αίματος, γίνεται για τη αύξηση της αντοχής κατά τη διάρκεια του αγώνα. Το **βιολογικό διαβατήριο του αθλητή (ABP)**, αποτελεί στρατηγική για τη έμμεση ανίχνευση ντόπινγκ αίματος, μέσω της διαχρονικής παρακολούθησης των επιπέδων των αιματολογικών παραμέτρων και των ενδογενών στεροειδών σε ατομικό επίπεδο (Σακελλαρίου, 2020). Για τον εντοπισμό ντόπινγκ αίματος μία χρήσιμη πρακτική είναι ο συνδυασμός του ABP με άλλους έμμεσους βιοδείκτες όπως το προφίλ σιδήρου. Άλλη μία σύγχρονη τεχνική, για την ανίχνευση μετάγγισης αίματος, είναι με τη χρήση αναλυτή αίματος και κυτταρομετρίας ροής.

5.10.2.Αναλυτής αίματος.

Αιματολογικός αναλυτής είναι ένα αυτοματοποιημένο μηχάνημα μέτρησης του αριθμού διαφορετικών ειδών λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων σε ένα δείγμα αίματος (Αναγνωστόπουλος , 2020). Τα αποτελέσματά του εκφράζονται ως αιματολογικές μετρήσεις (CBC) ή αιματολογική εξέταση με διαφοροποίηση κυττάρων (CBC με diff). Οι αιματολογικοί αναλυτές συνδυάζονται με τεχνικές κυτταρομετρίας για την εξέταση του δείγματος και τη λήψη αποτελεσμάτων. Οι συνηθέστερες μέθοδοι κυτταρομετρίας είναι της ηλεκτρικής σύνθετης αντίστασης, της σκέδασης φωτός και των φθορίζοντων χρωστικών για τη διαφοροποίηση των κυτταρικών τύπων. Στην παρούσα εργασία θα γίνει εκτενέστερη αναφορά στην τελευταία τεχνική, καθώς είναι πιο διαδεδομένη στη διαδικασία ελέγχου ντόπινγκ αίματος. Στη μέθοδο αιματολογικού αναλυτή και κυτταρομετρίας ροής, χρησιμοποιούνται, επιπροσθέτως, χημικά αντιδραστήρια, προκειμένου να μεταβάλλουν τα κύτταρα αίματος, επεκτείνοντας έτσι τις μετρήσιμες παραμέτρους (Αναγνωστόπουλος , 2020).

5.10.3.Κυτταρομετρία ροής με τη χρήση φθορίζουσών χρωστικών.



Εικόνα: Αρχή λειτουργίας της Κυτταρομετρίας Ροής.

<https://docplayer.gr/48906939-Kyttarometria-rois-metrisi-epipedon-cd20-se-astheneis-me-reymatoeidi-arthritida-poy-lamvanoy-n-therapeia-me-horigisi-ritoxyimampis.html>

Η κυτταρομετρία ροής είναι μία τεχνική με την οποία μετράται και χαρακτηρίζονται τα μικροσκοπικά σωματίδια που ρέουν σε υγρό (Αναγνωστόπουλος , 2020). Η αρχή λειτουργίας της τεχνική περιλαμβάνει το πέρασμα των κυττάρων, ένα-ένα, από μία δέσμη laser, καθορισμένου μήκους κύματος, και από ανιχνευτές, προκειμένου να αναλυθούν, να διαχωριστούν και να ταξινομηθούν. Η εφαρμογή φθορίζοντων χρωστικών, συμβάλλει στην ανίχνευση συγκεκριμένων κυττάρων. Πιο αναλυτικά, τα σωματίδια που αιωρούνται στο υγρό δείγμα, διαπερνούν μέσω της δέσμης laser και σκεδάζουν το φως προς συγκεκριμένη κατεύθυνση, ενώ ταυτόχρονα, οι φθορίζουσες χρωστικές, διεγείρουν και εκπέμπουν φως διαφορετικού μήκους κύματος από αυτό της πηγής. Ο συνδυασμός των παραπάνω εκπεμπόμενων φωτών, περνά από τους ανιχνευτές και τα αποτελέσματα παραλαμβάνονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή. Οι

συσκευές κυτταρομετρίας ροής αναλύουν χιλιάδες σωματίδια το δευτερόλεπτο, ενώ κάποια έχουν την δυνατότητα διαχωρισμού και απομόνωσης σωματιδίων με καθορισμένες ιδιότητες. Μία τυπική διάταξη αποτελείται από (Μπουρνάκας, 2021) (Αναγνωστόπουλος, 2020):

1. Υδροδυναμικό Σύστημα Ροής.
2. Οπτικό Σύστημα.
3. Ηλεκτρονικό Σύστημα.
4. Σύστημα Ενίσχυσης.
5. Η/Υ.

5.10.3.1. Υδροδυναμικό σύστημα ροής.

Το σύστημα ροής είναι υπεύθυνο για τη μεταφορά και τη διάθεση των κυττάρων, ένα προς ένα, προς τη δέσμη laser. Το υδροδυναμικό σύστημα βασίζεται στην είσοδο μεγάλου όγκου υγρού σε μικρότερο, με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτυγχάνεται εστίαση κατά μήκος του άξονα. Για την ανάλυση των κυττάρων, το δείγμα θα πρέπει να είναι σε μορφή εναιωρήματος και η ροή να είναι ομοιόμορφη, χωρίς να αλλοιώνει τα χαρακτηριστικά των κυττάρων. Με τη διέλευση του δείγματος από το θάλαμο ροής, η ροή του γίνεται νηματοειδής, έτσι ώστε τα κύτταρα να διέρχονται, κατά μόνας, από το σημείο που προσπίπτει η ακτίνα laser (Αναγνωστόπουλος, 2020) (Μπουρνάκας, 2021)

5.10.3.2. Οπτικό σύστημα.

Αυτό το σύστημα είναι υπεύθυνο για την επίτευξη υψηλού δυναμικού έργου, ώστε να ανιχνευτούν τα φωτόνια διαφορετικού μήκους κύματος. Ένα οπτικό σύστημα διακρίνεται στο σύστημα της διέγερσης και στο σύστημα της συλλογής. Η αρχή λειτουργίας του οπτικού συστήματος βασίζεται στο γεγονός ότι η προσπίπτουσα ακτινοβολία, από το laser, απορροφάται από τα σωματίδια και σκεδάζεται προς όλες τις κατευθύνσεις, ενώ, λόγω της χρήσης των φθορίζουσων χρωστικών, εκπέμπεται φθορισμός. Το σκεδασμένο φως, ανάλογα με τη φορά της κατεύθυνσής του, δίνει πληροφορίες για τα εξεταζόμενα κύτταρα. (Αναγνωστόπουλος, 2020) (Μπουρνάκας, 2021)

5.10.3.3. Ηλεκτρικό σύστημα.

Το ηλεκτρικό σύστημα αναφέρεται στους ανιχνευτές και σε ένα σύστημα τροποποίησης σήματος, από αναλογικό σε ψηφιακό. Αρχικά, τα φωτεινά σήματα μετατρέπονται σε ηλεκτρονικά, με τη χρήση φωτοανιχνευτών, και έπειτα ακολουθεί η

ανάλυση των δεδομένων. Ύστερα, τα δεδομένα μεταφέρονται στον υπολογιστή, όπου αποθηκεύονται και αναλύονται παραπάνω. (Αναγνωστόπουλος , 2020) (Μπουρνάκας, 2021)

5.10.3.4. Σύστημα ενίσχυσης.

Το σύστημα αυτό είναι υπεύθυνο για την αύξηση της έντασης του σήματος, που λαμβάνεται από τους ανιχνευτές. Οι ενισχυτές μπορεί να είναι γραμμικοί ή λογαριθμικοί. Μετά την ενίσχυσή του, το σήμα αναλύεται και καταγράφεται από τον μετατροπέα αναλογικού σε ψηφιακό σήμα (ADC). (Αναγνωστόπουλος , 2020) (Μπουρνάκας, 2021)

ΠΑΔΔΑ

6.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.

Οι απαγορευμένες ουσίες τα τελευταία χρόνια αποτελούν την επιτομή στο χώρο προπόνησης επαγγελματιών αθλητών και απλών αθλούμενων, με αποτέλεσμα, ως αντίδραση στις προσπάθειες απαγόρευσης, να αναζητούν και να χρησιμοποιούν καινούρια σκευάσματα, που υπόσχονται μικρότερη ανιχνευσιμότητα ή/και νέες μεθόδους ντόπινγκ, που ενδέχεται να έχουν μοιραίες επιπτώσεις στην υγεία των χρηστών. Ωστόσο, δεν θα πρέπει να ξεχνούν πως κάθε φάρμακο έχει και παρενέργειες και αυτό πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψιν. Παραταύτα, εαν επιθυμούν να θέσουν σε κίνδυνο την υγεία τους, για την επίτευξη των στόχων τους εύκολα και γρήγορα, οφείλουν, τουλάχιστον, να απευθυνθούν σε γιατρό ή αθλίατρο, να ενημερωθούν επαρκώς για το σκεύασμα, που θα καταναλώσουν και να είναι σίγουροι για την προέλευσή του. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί αυτό το φαινόμενο, που θέτει σε κίνδυνο τόσες ανθρώπινες ζωές, θα πρέπει να υπάρχει σωστή ενημέρωση από την πολιτεία, κυρίως μέσω των σχολείων, στην εφηβική ηλικία, που θεωρείται και η πιο ευάλωτη. Τέλος, σημαντικό ρόλο έχει η οικογένεια, μέσω της οποίας τα παιδιά θα μάθουν να αποδέχονται τον εαυτό τους και να μην αντιγράφουν τα είδωλα που τους προβάλλονται, καθώς επίσης και να σέβονται τους κανόνες, να αποδέχονται τις ήττες τους. Ο μόνος δρόμος προς τη διάκριση είναι η σκληρή δουλειά, η επιμονή και η αφοσίωση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ελληνικό Μεσογειακό Πανεπιστήμιο. (No Date). *Διατροφικά Συμπληρώματα και Συμπληρωματική Ιατρική: Ορμόνες και Φάρμακα που Επιδρούν στον Μεταβολισμό*. Ανάκτηση από SlidePlayer: <https://slideplayer.gr/slide/11167203/>
- WADA, W. (2021). *WORLD ANTI-DOPING CODE*. World Anti-Doping Agency.
- WADA, W. (2021). *ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΚΩΔΙΚΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΠΑΓΟΡΕΥΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ*. WORLD ANTI DOPING AGENCY.
- Αναγνωστόπουλος , Κ. (2020). *Ανάλυση Λογισμικού Αιματολογικού Αναλυτή Με Τη Χρήση ASTM/HL7*. Αθήνα: Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Μηχανικών, Τμήμα Βιομηχανικής Σχεδίασης και Παραγωγής.
- Αναγνωστοπούλου, Β. (2014). *ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΑΝΔΡΟΓΟΝΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΑΥΣΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΣΤΗΝ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ*. Ηράκλειο: Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής.
- Βασιλάκη, Φ. (2016). *ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΝΑΝΔΡΟΛΟΝΗΣ ΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΕΚΘΕΣΗ*. Ηράκλειο: Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής.
- Βασιλείου, Π. (2014). *ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ ΣΕ ΧΟΙΡΕΙΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΚΟΛΠΙΚΗΣ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗΣ*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Ιατρικής.
- Βενετίκου, Μ. (2020). *Ενδοκρινικό Σύστημα, Α' Μέρος*.
- Βοναπάρτη , Α. (2011). *ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΤΗΣ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ / ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΩΝ ΜΕ ΑΝΑΛΥΤΗ ΧΡΟΝΟΥ ΠΤΗΣΗΣ (LC/TOF-MS) ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ ΟΥΡΑ ΑΘΛΗΤΩΝ*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών Τμήμα Φαρμακευτικής Χημείας.
- Γιανναδάκη, Ε. (2013). *ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΑΒΟΛΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΧΟΡΙΑΚΗΣ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΗΣ ΣΕ ΟΥΡΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΕΝΑΝΤΙ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΗΣ ΑΠΟΔΟΜΗΣΗΣ, ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΧΗΜΙΚΟΥ ΜΙΓΜΑΤΟΣ ΥΠΟ ΜΟΡΦΗ ΨΕΚΑΣΜΟΥ-ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φαρμακευτικής.
- Δήμου, Κ. (2002). *ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΑΒΟΛΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΝΕΥΡΟΜΕΤΑΒΙΒΑΣΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΣΤΟΝ ΥΠΟΘΑΛΑΜΟ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΕΠΙΜΥΩΝ*. Θεσσαλονίκη: ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ - ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ.
- Διάκος, Θ. (2015). *Αναφυλακτικό σοκ: Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε*. Ανάκτηση από iatronet: <https://www.iatronet.gr/ygeia/allergiolgia/article/32610/anafylaktiko-sok-ola-osa-prepei-na-gnwrizete.html>
- Δρογγίτης, Π. (2003). *ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΟΝ ΑΘΛΗΤΗ. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΙΔΙΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ*

ΣΤΙΣ ΕΠΙΔΟΣΕΙΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΠΡΩΤΑΘΛΗΤΙΣΜΟ. Αθήνα: Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
Ανάκτηση από <https://docplayer.gr/79364441-Athlitis-mos-farmaka-tmima-epistimis-diaitologias-diatrofis.html>

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. (No Date, No Date No Date). *e-class*.

Ανάκτηση από eclass.uoa.gr:

<https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM193/ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ%20Τ%CE%A9%CE%9D%20%CE%9F%CE%A1%CE%9C%CE%9F%CE%9D%CE%A9%CE%9D.pdf>

Ζουρνά, Π. (2011). *Αντεπίδραση στεροειδών ορμονών και ορμονών του συστήματος IGF με υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης στο φυσιολογικό μαζικό αδένιο σε σχέση με την εμφάνιση καρκίνου του μαστού ή καλοήθων μαστοπαθειών*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Ιατρικής.

Θεοδωρίδης, Γ. (2015). *Ανοσοχημικές Τεχνικές Ανάλυσης*. Ανάκτηση από

repository.kallipos.gr:

https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3674/1/02_chapter_8.pdf

Θεοδωρίδης, Γ. (2015). *Φασματομετρία Μάζας*. Ανάκτηση από

<https://repository.kallipos.gr/>: <http://hdl.handle.net/11419/3677>

Ιωαννίδης, Π. (2005). *Μελέτη δεικτών οξειδωτικού στρες σε αθλητές υπό την επίδραση αναβολικών παραγόντων*. Λάρισα: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας.

Κακλαμάνος, Γ. (2009). *ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΡΜΟΝΩΝ ΜΕ ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΕ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ-ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ*. Θεσσαλονίκη: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας.

Καραμανλής, Ε. (2008). *Οι Ορμόνες του Φύλου στην Εξέλιξη της Οξείας Πειραματικής Παγκρεατίτιδας*. Θεσσαλονίκη: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Ιατρικής.

Κατσίκης και συν. (2009). *ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ & ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑ*. Ανάκτηση από

[iatrikionline.gr](https://www.iatrikionline.gr): https://www.iatrikionline.gr/ELL_M_1_2009/3.pdf

Κιούση, Μ. (2016). *Ανάπτυξη Μεθόδων Ανίχνευσης Απαγορευμένων Ουσιών Σε Ούρα Αλόγων*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας.

Κουλοχέρη, Σ. (No Date). *ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ*. Ανάκτηση από eclass.uoa.gr:

<https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/MED149/%CE%A3%CE%97%CE%9C%CE%95%CE%99%CE%A9%CE%A3%CE%95%CE%99%CE%A3%20ELISA%20%CE%A3.%20%CE%9A%CE%9F%CE%A5%CE%9B%CE%9F%CE%A7%CE%95%CE%A1%CE%97/2016.ppt>

Λυμπούση, Α. (2016). *Ανάπτυξη και Επικύρωση Μεθόδου για τον Ποσοτικό Προσδιορισμό του Μεταβολίτη της Αιθανόλης Σε Ούρα Αθλητών Με Διαδικασία Απευθείας Έγχυσης με GC/MS και GC/HRMS*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών και Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας.

- Μιχαλάκη, Α. (2018). *ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ GC/HRMS ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΥΡΟΝΙΔΙΩΝ ΤΗΣ 19-ΝΟΡΑΝΔΡΟΣΤΕΡΟΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ 19-ΝΟΡΕΤΙΟΧΟΛΑΝΟΛΟΝΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΛΟΓΟΥ ΤΟΥΣ ΣΕ ΟΥΡΑ ΑΘΛΗΤΩΝ*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Μπαραμπούτης, Ν. (2008). *Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΚΛΥΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ ΤΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Μπατρίνου, Α. (2011). Σύγχρονη Βιοτεχνολογία Τροφίμων Γενετικά Τροποποιημένα Τρόφιμα. Στο Α. Μ. Μπατρίνου, *Σύγχρονη Βιοτεχνολογία Τροφίμων Γενετικά Τροποποιημένα Τρόφιμα* (σσ. 32-44). Αθήνα: Π.Χ.ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ.
- Μπουρνάκας, Χ. (2021). *Κυτταρομετρία Ροής: Αρχές και Εφαρμογές Στη Σύγχρονη Ιατρική Ακρίβειας και τις Κυτταρικές Θεραπείες*. Πατρα: Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας.
- Παγώνης, Θ. (2002). *ΑΝΑΒΟΛΙΚΑ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ manual 2002 Όλα όσα πρέπει να γνωρίζετε*. ΘΕΤΤΑΛΟΣ.
- Παγώνης, Θ. (2007). *Το εύρος των ψυχολογικών παρενεργειών ή/και ψυχιατρικών διαταραχών που σχετίζονται με τη χρήση Αναβολικών Στεροειδών από υγιείς, ασκούμενους ενήλικες*. Λάρισα: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ.
- Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. (2011). *Ενδοκρινολογικό σύστημα και παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα των ορμονών*. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- Παπαδοπούλου, Ν. (2007). *Μη Γενωμική Δράση Στεροειδών Ορμονών: Μοριακοί Μηχανισμοί Ρύθμισης και Βιολογικός Ρόλος στη Νεοπλασία*. Ηράκλειο: Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής.
- Πελεκάνου, Β. (2008). *Μελέτη της έκφρασης της ερυθροποιητίνης και των Υποδοχέων της στον καρκίνο του μαστού. Συσχέτιση με άλλους βιολογικούς παράγοντες: Ανοσοϊστοχημική μελέτη σε ιστολογικά παρασκευάσματα ασθενών και βιολογική-μοριακή ανάλυση σε κυτταρικές σειρές*. Ηράκλειο: Πανεπιστήμιο Κρήτης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής.
- Περδικάκη, Α. (2017). *Παράγωγα Ινσουλίνης*. Πάτρα: Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας.
- Πετρακόπουλος, Ι. (2015). *Ουσίες με αναβολική δράση και η επίδρασή τους στην υγεία*. Τμήμα Επιστήμης Διατροφολογίας - Διατροφής.
- ΠΟΛΥΚΑΡΠΟΥ, Γ. (2007). *ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ STRESS (ΟΡΜΟΝΩΝ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ) ΣΤΟ ΣΙΕΛΟ ΑΘΛΗΤΩΝ ΥΨΗΛΟΥ ΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΥ ΕΠΙΠΕΔΟΥ*. ΠΑΤΡΑ: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ, ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ.
- Σ. Τσιτσιλώνης, Δ.Περρέα. (2009). *Αναβολικά στεροειδή, Ανασκόπηση της Βιβλιογραφίας*. ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE.
- Σακελλαρίου, Π. (2020). *Didaktorika.gr*. Ανάκτηση από [didaktorika.gr](https://didaktorika.gr/eadd/handle/10442/47939): didaktorika.gr/eadd/handle/10442/47939

- Σινάνογλου, Β. Ι. (2013). ΒΟΗΘΗΤΙΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ. Στο Β. Ι. Σινάνογλου, *ΒΟΗΘΗΤΙΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ* (σσ. 53-63). Αθήνα: Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων.
- Σκορίλας, Α. (No Date). *Οι ορμόνες στην Κλινική Βιοχημεία*. Ανάκτηση από docplayer.gr: <https://docplayer.gr/31656573-Oi-ormones-stin-kliniki-viohimeia.html>
- Σπανούδη, Φ. (2016). *Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΣΤΟ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Ιατρικής.
- Σπυριδόπουλος, Θ. (2012). *ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΝΕΦΡΟΥ, ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ, ΟΡΜΟΝΕΣ ΛΙΠΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑ IGF*. Αθήνα: Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Ιατρικής.
- Τόνγκα, Μ. (2012). *ΦΑΡΜΑΚΟΔΙΕΓΕΡΣΗ (DOPING): ΤΟ ΠΑΡΟΝ ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ*. Πειραιάς: Πανεπιστήμιο Πειραιώς.
- Τσιτσιλιώνης, Σ. (2012). *ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΩΣ ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΩΝ ΑΝΑΒΟΛΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΣΤΗΝ ΕΜΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΤΕΝΟΝΤΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΩΣ ΑΣΚΟΥΜΕΝΩΝ ΕΠΙΜΥΩΝ*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Ιατρικής.
- Φραγκάκη, Α. (2009). *Μοντέλα Πρόβλεψης Μεταβολισμού, Οδών Θραυσματοποίησης GC/MS και QSRR Χρόνων Ανάσχεσης Για Τον Έλεγχο Σάρωσης Αναβολικών Στεροειδών*. Αθήνα: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας.
- Χατζηπαύλου - Λιτίνα. (2017). *ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΛΗ ΤΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ*. Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Φαρμακευτικό.