



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΜΜΕΣΗ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗ ΝΤΟΠΙΝΓΚ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΔΙΑΒΑΤΗΡΙΟΥ ΑΘΛΗΤΗ

Καλλιπολίτου Αριάδνη

του Δημητρίου

Επιβλέπων καθηγητής:

Δρ. Ευστάθιος Κουκέας

MASTER'S PROGRAM

TOXICOLOGY

INDIRECT DETECTION OF DOPING VIA THE ATHLETE'S BIOLOGICAL PASSPORT

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κουκέας Ευστάθιος: Δρ. Χημείας, Μέλος Επιστημονικής Επιτροπής Ε.Ο.Ε

Κουρέτας Δημήτριος: Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών-Τοξικολογίας,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βεσκούκης Αριστείδης: Επίκουρος Καθηγητής στην Οξειδοαναγωγική Βιολογίας της
Διατροφής και της Άσκησης, Τμήμα Διαιτολογίας και Διατροφολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη	6
Abstract	7
Κατάλογος όρων.....	8
1. Εισαγωγή.....	10
1.1 Ντόπινγκ.....	10
1.2 Κώδικας.....	11
1.3 Παραβάσεις.....	12
1.4 Κατάλογος απαγορευμένων ουσιών και μεθόδων	13
1.5 Έλεγχος Doping.....	18
2. Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή.....	20
2.1 Εισαγωγή.....	20
2.2 Μονάδα Διαχείρισης Διαβατηρίων Αθλητών (APMU).....	22
2.3 Εφαρμογή ABP.....	23
3. Ντόπινγκ αίματος.....	25
3.1 Ερυθροκύτταρα.....	25
3.2 Ερυθροποίηση.....	26
3.3 Ερυθροποιητίνη.....	27
3.4 Ενότητα Αίματος Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή	30
3.5 Οδηγίες WADA για δείγματα αίματος	32
4. Ντόπινγκ Στεροειδών	35
4.1 Αναβολικά Στεροειδή	35
4.2 Τεστοστερόνη.....	36
4.3 Έλεγχος στεροειδών	37
4.4 Ενότητα Στεροειδών Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή	38
4.4.1 Διαδικασία αρχικής δοκιμής (initial testing procedure ITP)	41
4.4.2 Δοκιμασία Επιβεβαίωσης (Confirmation Procedures CP)	45
4.5. Επέκταση Ενότητας Στεροειδών με Χρήση Δειγμάτων Αίματος.....	45
4.5.1. Προαναλυτική Διαδικασία.....	46
4.5.2. Αναλυτική Διαδικασία	46
5. Ενδοκρινική Ενότητα Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή	48
5.1. Προαναλυτική Διαδικασία.....	50

5.2. Αναλυτική Διαδικασία	50
5.2.1. Αρχικός Ποσοτικός Προσδιορισμός.....	50
5.2.2. Επιβεβαίωση Ποσοτικού Προσδιορισμού	51
6. Άτυπο Εύρημα Διαβατηρίου (Atypical Passport Finding)	51
6.1 Ενότητα Αίματος.....	51
6.2 Ενότητα Στεροειδών	52
7. Αξιολόγηση διαβατηρίου	53
7.1 Αρχική αξιολόγηση.....	53
7.2 Αξιολόγηση Διαβατηρίου	53
8. Διαχείριση αποτελεσμάτων-Ακροαματική διαδικασία-Ανακοίνωση απόφασης.....	55
9. Παράβαση κανόνα αντιντόπινγκ	55
10. Κυρώσεις.....	56
11. Αποτελέσματα από βιβλιογραφία.....	59
12. Στοιχειοθέτηση υπόθεσης Διαβατηρίου	64
13. Συζήτηση	71
14. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	75

Περίληψη

Οι ουσίες που βελτιώνουν την απόδοση (Performance Enhancing Substances, PESs) θεωρούνται ευρέως διαδεδομένες στον αθλητισμό και αποτελούν βασική συνιστώσα του ντόπινγκ. Η χρήση των PESs αναφέρεται στη χρήση ή χειρισμό ουσιών, συνθετικών ή αυτόλογων, με σκοπό την βελτίωση της απόδοσης ενός αθλητή και αποτελούν μέρος του ανταγωνιστικού αθλητισμού σχεδόν από την έναρξή του. Η κύρια πρακτική που χρησιμοποιείται στον έλεγχο ντόπινγκ είναι η ανίχνευση απαγορευμένων ουσιών σε διάφορα βιολογικά υγρά, συνηθέστερα στα ούρα και στο αίμα. Ωστόσο, με την εξέλιξη της επιστήμης και της τεχνολογίας οι νεότερες ενώσεις που χρησιμοποιούνται στον αθλητισμό έχουν παρόμοια δομή με τα ενδογενή μόρια γεγονός που καθιστά δύσκολη την ανίχνευση τους. Για τον λόγο αυτό προτάθηκε στις αρχές του 2000 από την επιστημονική κοινότητα το Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή (ABP) με το οποίο γίνεται έμμεση ανίχνευση ντόπινγκ μελετώντας τη διακύμανση συγκεκριμένων βιοδεικτών. Υπάρχουν τρεις ενότητες στο ABP: η ενότητα αίματος, η ενότητα στεροειδών και η ενδοκρινική ενότητα. Επί του παρόντος, οι δύο πρώτες ενότητες έχουν τεθεί σε εφαρμογή ενώ επίκειται η εφαρμογή της τρίτης.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία εξετάστηκε ο τρόπος εφαρμογής του ABP και ο τρόπος με τον οποίο αυτό ισχυροποιεί το πρόγραμμα αντιντόπινγκ λειτουργώντας συμπληρωματικά με τις αναλυτικές μεθόδους.

Abstract

Performance enhancing substances (PESs) are considered to be widespread in sports and are constitute a main element of doping. The use of PESs refers to the use or manipulation of substances, synthetic or autologous, with the purpose of improving an athlete's performance and have been a part of competitive sports almost since its beginning. The main method used in doping control is the direct detection of banned substances in various biological fluids, most commonly urine and blood. However, with the development of science and technology, the compounds used in sports have a similar structure to endogenous molecules which makes them difficult to detect. For this reason, at the beginning of 2000, the scientific community proposed the Athlete's Biological Passport (ABP), which indirectly detects doping with the use of specific biomarkers. There are three modules in the ABP: the hematological, the steroidal and the endocrinological module. Currently, the first two modules have been implemented in the ABP, while the third is about to be implemented.

In this thesis, the method of application of the ABP was examined and the way in which it strengthens the anti-doping program by functioning in addition to the analytical methods.

Κατάλογος όρων

Anti-Doping Administration and Management System (ADAMS): είναι ένα εργαλείο διαχείρισης βάσεων δεδομένων για εισαγωγή, αποθήκευση, κοινή χρήση και αναφορά στοιχείων, σχεδιασμένο έτσι ώστε να βοηθά τους ενδιαφερόμενους και τον WADA στις επιχειρήσεις τους κατά του ντόπινγκ σε συνδυασμό με τη νομοθεσία περί προστασίας δεδομένων.

Αντικανονικό Αναλυτικό Εύρημα (Adverse Analytical Finding, AAF): Μια αναφορά από ένα εργαστήριο διαπιστευμένο από τον WADA ή άλλο εργαστήριο εγκεκριμένο από τον WADA που, σύμφωνα με το Διεθνές Πρότυπο για Εργαστήρια (ISTL), καθορίζει σε ένα δείγμα την παρουσία μιας απαγορευμένης ουσίας ή των μεταβολιτών ή δεικτών της ή αποδεικτικά στοιχεία για τη χρήση μιας απαγορευμένης μεθόδου.

Αντικανονικό Εύρημα Διαβατηρίου (Adverse Passport Finding, APF): Μια αναφορά που προσδιορίζει ένα αντικανονικό εύρημα διαβατηρίου όπως ορίζεται στα ισχύοντα διεθνή πρότυπα.

Αρχή Διαχείρισης Αποτελεσμάτων (Results Management Authority): Ο Οργανισμός Αντιντόπινγκ που είναι υπεύθυνος για τη Διαχείριση Αποτελεσμάτων.

Άτυπο Εύρημα (Atypical Finding): Μια αναφορά ότι ένα εύρημα από ένα εργαστήριο διαπιστευμένο από τον WADA ή άλλο εργαστήριο εγκεκριμένο από τον WADA, το οποίο απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση όπως προβλέπεται από το Διεθνές Πρότυπο για Εργαστήρια ή σχετικά Τεχνικά Έγγραφα πριν από τον προσδιορισμό ενός δυσμενούς αναλυτικού ευρήματος.

Άτυπο Εύρημα Διαβατηρίου (Atypical Passport Finding, ATPF): Μια αναφορά που περιγράφεται ως άτυπο εύρημα διαβατηρίου όπως περιγράφεται στα ισχύοντα διεθνή πρότυπα.

Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή (Athlete Biological Passport, ABP): Το πρόγραμμα και οι μέθοδοι συλλογής και ταξινόμησης δεδομένων όπως περιγράφονται στο Διεθνές Πρότυπο για Δοκιμές και Έρευνες και στο Διεθνές Πρότυπο για Εργαστήρια.

Οργανισμός Αντιντόπινγκ (Anti-Doping Organization, ADO): Ο WADA ή ένας φορέας που είναι υπεύθυνος για την υιοθέτηση κανόνων που αφορούν την έναρξη, την εφαρμογή ή την επιβολή οποιουδήποτε μέρους της διαδικασίας ελέγχου ντόπινγκ. Αυτό περιλαμβάνει, για παράδειγμα, τη Διεθνή Ολυμπιακή Επιτροπή, τη Διεθνή Παραολυμπιακή Επιτροπή, άλλους οργανισμούς μεγάλων διοργανώσεων που διεξάγουν ελέγχους ντόπινγκ στις εκδηλώσεις τους, τις Διεθνείς Ομοσπονδίες και τους Εθνικούς Οργανισμούς Αντιντόπινγκ.

Προσωπικό Υποστήριξης Αθλητή (Athlete Support Personnel): Οποιοσδήποτε προπονητής, μάνατζερ, προσωπικό της ομάδας, ιατρικό, παραϊατρικό προσωπικό, γονέας ή οποιοσδήποτε άλλο πρόσωπο που εργάζεται, περιθάλπει ή βοηθά έναν αθλητή που συμμετέχει ή προετοιμάζεται για αθλητικούς αγώνες.

Στοχευμένος Έλεγχος (Target Testing): Επιλογή συγκεκριμένων Αθλητών για έλεγχο με βάση τα κριτήρια που ορίζονται στο Διεθνές Πρότυπο Δοκιμών και Ερευνών.

Υπεύθυνος Αιμοληψίας (Blood Collection Officer, BCO): Ένας υπάλληλος που έχει τα προσόντα και έχει εξουσιοδοτηθεί από την Αρχή Συλλογής Δειγμάτων να συλλέξει δείγμα αίματος από έναν αθλητή.

Υπεύθυνος Ελέγχου Ντόπινγκ (Doping Control Officer, DCO): Ένας υπάλληλος που έχει εκπαιδευτεί και εξουσιοδοτηθεί από την Αρχή Συλλογής Δειγμάτων να εκτελεί τις αρμοδιότητες που ανατίθενται στους DCO από Διεθνές Πρότυπο για Δοκιμές και Έρευνες.

WADA: World Antidoping Organization

1. Εισαγωγή

1.1 Ντόπινγκ

Οι ουσίες που βελτιώνουν την απόδοση (performance enhancing substances PESs) έχουν γίνει ευρέως διαδεδομένες και αποτελούν σοβαρό πρόβλημα στον αθλητισμό και συχνά αναφέρονται ως ντόπινγκ. Η χρήση των PESs αναφέρεται στη χρήση ή χειρισμό ουσιών, συνθετικών ή αυτόλογων, με σκοπό την βελτίωση της απόδοσης ενός αθλητή και αποτελούν μέρος του ανταγωνιστικού αθλητισμού σχεδόν από την έναρξή του. Σύμφωνα με αναφορές, τόσο οι Έλληνες αθλητές που αγωνίζονταν στους αρχαίους Ολυμπιακούς Αγώνες όσο και οι Ρωμαίοι μονομάχοι χρησιμοποιούσαν ορισμένα κρασιά, αφεψήματα από διάφορα βότανα και μανιτάρια με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης τους (Botrè et al. 2009; De Rose 2008). Από τότε, οι PESs εξελίχθηκαν χάρη στην πρόοδο της φαρμακευτικής. Το 1967 σύμφωνα με την Ιατρική Επιτροπή της Διεθνούς Ολυμπιακής Επιτροπής το ντόπινγκ ορίζεται ως η χρήση ουσιών ή τεχνικών οποιασδήποτε μορφής ή ποιότητας ξένης ή αφύσικης προς το σώμα, με αποκλειστικό σκοπό την απόκτηση μιας τεχνητής ή άδικης αύξησης της απόδοσης σε αγώνα. Από το 2021 και μετά σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Κώδικα Αντιντόπινγκ (Κώδικας, World Anti-Doping Code) ως ντόπινγκ ορίζεται η παράβαση ενός ή περισσότερων κανόνων αντιντόπινγκ όπως αυτοί ορίζονται στο άρθρο 2 του Κώδικα.

Οι ερευνητές Dietz et al. πραγματοποίησαν το 2013 μία μελέτη με τη χρήση ερωτηματολογίου με σκοπό να υπολογίσουν το ποσοστό χρήσης παράνομων ή απαγορευμένων ουσιών σε τριαθλητές στη Γερμανία. Στη μελέτη συμμετείχαν ερασιπότες αθλητές μεγάλων αποστάσεων (3,8 km–180,2 km–42,2 km) στη Φρανκφούρτη (Ευρωπαϊκό Πρωτάθλημα) και στο Ρένγκενσμπουργκ καθώς και στο τρίαθλο μισής απόστασης στο Βισμπάντεν (Ευρωπαϊκό Πρωτάθλημα) και ερωτήθηκαν για τη χρήση ουσιών που βελτιώνουν τη σωματική και γνωσιακή απόδοση. Συγκεκριμένα, αυτή η μελέτη αξιολόγησε τον επιπολασμό χρήσης φυσικών και γνωστικών ενισχυτικών ουσιών (δηλαδή νόμιμων και ελεύθερα διαθέσιμων ουσιών) καθώς και την παρουσία παράνομων ή απαγορευμένων ουσιών/φαρμακευτικών προϊόντων στο ίδιο δείγμα. Μεταξύ των 2.987 ερωτηθέντων, το 13,0 % ανέφερε χρήση παράνομων ή απαγορευμένων ουσιών για τη βελτίωση της αθλητικής τους απόδοσης ενώ ένα ποσοστό 15,1 % δήλωσε τη χρήση ουσιών που ενισχύουν τη συγκέντρωση, την ικανότητα μάθησης και τη μνήμη (Dietz et al. 2013).

Μια άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Γερμανία το 2010 από τους Striegel et al.. αξιολόγησε το ποσοστό ντόπινγκ και χρήσης παράνομων ουσιών από ελίτ αθλητές και το συνέκρινε με τα αποτελέσματα των επίσημων τεστ ντόπινγκ. Οι αθλητές ερωτήθηκαν χρησιμοποιώντας είτε ένα ανώνυμο ερωτηματολόγιο είτε συνεντεύξεις με τη τεχνική της τυχαιοποιημένης απάντησης. Σύμφωνα

με τους συγγραφείς το 6,8% έκανε χρήση ντόπινγκ το οποίο έρχεται σε αντίθεση με το 0,81% που προκύπτει από επίσημες δοκιμές ντόπινγκ που πραγματοποιήθηκαν από τον WADA και την Εθνική Υπηρεσία Αντιντόπινγκ (NADA) (Striegel et al. 2010).

Το 1998, ένας μεγάλος αριθμός PESs βρέθηκε κατά τη διάρκεια ελέγχου στον Ποδηλατικό Γύρο της Γαλλίας (Tour de France). Αυτό το γεγονός οδήγησε το 1999 στη δημιουργία του Παγκόσμιου Οργανισμού Αντιντόπινγκ (WADA) ενός ανεξάρτητου διεθνή οργανισμού που στοχεύει στη δημιουργία ενός αθλητικού περιβάλλοντος χωρίς ντόπινγκ (Momaya et al. 2015). Σύμφωνα με τον WADA μια ουσία/ή μέθοδος χαρακτηρίζεται ως απαγορευμένη όταν πληρούνται δύο από τα ακόλουθα τρία κριτήρια: (1) όταν η ουσία/ ή μέθοδος ενισχύει τις αθλητικές επιδόσεις, (2) όταν η ουσία/ ή μέθοδος ενέχει κίνδυνο για την υγεία του αθλητή ή (3) όταν η ουσία/ ή μέθοδος παραβιάζει το αθλητικό πνεύμα (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023). Η WADA συνεργάζεται με Υπηρεσίες κατά του ντόπινγκ και επιπλέον συμβάλει στην εφαρμογή του Κώδικα καθώς και τη διαπίστευση των εργαστηρίων που διεξάγουν τις αναλύσεις (Momaya et al. 2015).

Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα PESs μεταξύ των αθλητών περιλαμβάνουν τα αναβολικά στεροειδή (androgenic anabolic steroids, AAS), την αυξητική ορμόνη (human growth hormone, hGH), την κρεατίνη, την ερυθροποιητίνη (EPO), το ντόπινγκ αίματος, τις αμφεταμίνες, τα διεγερτικά, το β-υδροξυ-β-μεθυλβουτυρικό (HMB) καθώς και το γονιδιακό ντόπινγκ το οποίο είναι εφικτό λόγω της εξέλιξης της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA (Momaya et al. 2015).

1.2 Κώδικας

Ο Κώδικας δημοσιεύτηκε από τον WADA και αποτελεί το θεμελιώδες και παγκόσμιο έγγραφο πάνω στο οποίο βασίζεται το Παγκόσμιο Πρόγραμμα Αντιντόπινγκ. Ο Κώδικας είναι το θεμελιώδες κείμενο το οποίο εναρμονίζει, σε παγκόσμιο επίπεδο, πολιτικές, κανόνες και κανονισμούς αντιντόπινγκ για το αθλητικό κίνημα και τις κρατικές αρχές. Έχει υιοθετηθεί από αρκετούς αθλητικούς οργανισμούς σε όλο τον κόσμο, συμπεριλαμβανομένης της Διεθνούς Ολυμπιακής Επιτροπής (ΔΟΕ) (Momaya et al. 2015). Σκοπός του είναι να προωθήσει την προσπάθεια κατά του ντόπινγκ μέσω της καθολικής εφαρμογής κάποιων βασικών κανόνων. Ο Κώδικας έχει συνταχθεί λαμβάνοντας υπόψη τις αρχές της αναλογικότητας και τα ανθρώπινα δικαιώματα. Λειτουργεί σε συνδυασμό με οκτώ δεσμευτικά Διεθνή Πρότυπα τα οποία έχουν ως σκοπό την εναρμόνιση των Οργανισμών Αντι-Ντόπινγκ (Anti-Doping Organizations, ADOs), των αρμόδιων επί συγκεκριμένων τεχνικών και επιχειρησιακών αντικειμένων. Αυτά περιλαμβάνουν:

1. Έλεγχος και Έρευνες [*Testing and Investigations (ISTI)*]
2. Εργαστήρια [*Laboratories (ISL)*]
3. Εξαιρέσεις Θεραπευτικής Χρήσης [*Therapeutic Use Exemptions (ISTUE)*]
4. Κατάλογος Απαγορευμένων [*Prohibited List (The List)*]
5. Προστασία Ιδιωτικότητας και Προσωπικών Δεδομένων [*Protection of Privacy and Personal Information (ISPPPI)*]
6. Συμμόρφωση Υπογραφόντων προς τον Κώδικα [*Code Compliance by Signatories (ISCCS)*]
7. Εκπαίδευση [*Education (ISE)*]
8. Διαχείριση Αποτελεσμάτων [*Results Management (ISRM)*]

1.3 Παραβάσεις

Οι παραβάσεις των κανόνων κατά του ντόπινγκ (Anti-Doping Rule Violations, ADRVs) αναγράφονται στο άρθρο 2 του Κώδικα. Οι αθλητές καθώς και πρόσωπα που σχετίζονται με αυτούς οφείλουν να γνωρίζουν τι συνιστά παράβαση κανόνων αντιντόπινγκ καθώς και ποιες ουσίες και μέθοδοι συμπεριλαμβάνονται στον κατάλογο αυτό. Οι παραβάσεις αυτές είναι οι εξής (World Antidoping Code)

Άρθρο 2.1: Παρουσία της ουσίας ή των μεταβολιτών της ή των βιοδεικτών της στο δείγμα του αθλητή

Άρθρο 2.2 : Χρήση ή απόπειρα χρήσης απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου από τον αθλητή

Άρθρο 2.3: Αποφυγή, άρνηση ή μη υποβολή δειγματοληψίας

Άρθρο 2.4: Μη παροχή πληροφοριών εντοπισμού από αθλητή

Άρθρο 2.5: Παραποίηση ή απόπειρα παραποίησης μέρους της διαδικασίας από τον αθλητή ή άλλο πρόσωπο

Άρθρο 2.6: Κατοχή απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου από αθλητή ή προσωπικό υποστήριξης αθλητή

Άρθρο 2.7: Διακίνηση ή απόπειρα διακίνησης απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου από αθλητή ή άλλο πρόσωπο

Άρθρο 2.8: Χορήγηση ή απόπειρα χορήγησης από αθλητή ή άλλο πρόσωπο προς αθλητή απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου

Άρθρο 2.9: Συνέργεια ή απόπειρα συνέργειας από έναν αθλητή ή άλλο πρόσωπο

Άρθρο 2.10 :Απαγορευμένη σύμπραξη από αθλητή ή άλλο πρόσωπο

Άρθρο 2.11:Πράξεις αθλητή ή άλλου προσώπου που εμποδίζουν αναφορά στις Αρχές ή αποτελούν αντίποινα κατά τέτοιας αναφοράς

1.4 Κατάλογος απαγορευμένων ουσιών και μεθόδων (WADA Prohibited List 2023):

Ο Κατάλογος Απαγορευμένων Ουσιών/Μεθόδων αποτελεί ένα υποχρεωτικό Διεθνές Πρότυπο, μέρος του Παγκόσμιου Προγράμματος Αντιντόπινγκ. Ο κατάλογος ενημερώνεται ετησίως μετά από μια εκτεταμένη διαδικασία διαβούλευσης που καθοδηγείται από τον WADA. Για να συμπεριληφθεί μία ουσία ή μέθοδος στον κατάλογο απαγορευμένων ουσιών και μεθόδων πρέπει να ικανοποιούνται τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα τρία κριτήρια:

1. Ύπαρξη ιατρικών ή άλλων επιστημονικών δεδομένων που υποδεικνύουν ότι η ουσία ή η μέθοδος, μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλες ουσίες ή μεθόδους, έχει τη δυνατότητα να ενισχύσει ή να βελτιώσει άμεσα τις αθλητικές επιδόσεις. Σε αυτή την κατηγορία περιλαμβάνονται και ουσίες των οποίων η χρήση απαγορεύεται μόνο σε συνδυασμό με άλλες ουσίες. Σε αυτή την περίπτωση μια ουσία που προστίθεται στον Κατάλογο Απαγορευμένων επειδή έχει τη δυνατότητα να βελτιώσει την απόδοση μόνο σε συνδυασμό με άλλη ουσία θα απαγορεύεται μόνο εάν υπάρχουν στοιχεία που σχετίζονται με τον συνδυασμό των δύο ουσιών.
2. Ύπαρξη ιατρικών ή άλλων επιστημονικών δεδομένων που υποδεικνύουν ότι η χρήση της ουσίας ή της μεθόδου αποτελεί δυνητικό ή άμεσο κίνδυνο για την υγεία του αθλητή.
3. Χρήση ουσιών ή μεθόδων που θεωρείται ότι παραβιάζουν το αθλητικό πνεύμα.

Στον Κατάλογο Απαγορευμένων Ουσιών/Μεθόδων περιλαμβάνεται επίσης μια ουσία ή μια μέθοδος όταν υπάρχουν ιατρικά ή άλλα επιστημονικά δεδομένα ότι η ουσία ή η μέθοδος έχει τη δυνατότητα να καλύπτει τη δράση ή να εμποδίζει την ανίχνευση άλλων απαγορευμένων ουσιών ή μεθόδων καθώς και ουσίες ή μέθοδοι που δεν προορίζονται για ανθρώπινη χρήση.

Οι ουσίες και οι μέθοδοι που περιλαμβάνονται στο κατάλογο διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες:

1.Απαγορεύεται η χρήση τους εντός των αγώνων

Η περίοδος εντός των αγώνων θεωρείται η περίοδος που αρχίζει λίγο πριν τα μεσάνυχτα (στις 23:59) την ημέρα πριν από έναν αγώνα στον οποίο ο αθλητής πρόκειται να λάβει μέρος μέχρι το τέλος του αγώνα και μέχρι τη διαδικασία συλλογής δειγμάτων. Εξαιρούνται οι περιπτώσεις έγκρισης διαφορετικής περιόδου από τον WADA για ένα δεδομένο άθλημα.

2.Απαγορεύεται η χρήση τους ανά πάσα στιγμή

Απαγορεύεται η χρήση της ουσίας ή της μεθόδου εντός και εκτός της αγωνιστικής περιόδου όπως ορίζεται στον Κώδικα.

3.Καθορισμένες και μη καθορισμένες

Σύμφωνα με το Άρθρο 4.2.2 του Παγκόσμιου Κώδικα Αντιντόπινγκ, «για τους σκοπούς της εφαρμογής του Άρθρου 10, όλες οι απαγορευμένες ουσίες θα είναι καθορισμένες ουσίες εκτός από αυτές που προσδιορίζονται στον απαγορευμένο κατάλογο. Καμία απαγορευμένη μέθοδος δεν θα είναι καθορισμένη μέθοδος εκτός εάν προσδιορίζεται συγκεκριμένα ως καθορισμένη μέθοδος στον απαγορευμένο κατάλογο. Σύμφωνα με το σχόλιο στο άρθρο, «οι καθορισμένες ουσίες και μέθοδοι που προσδιορίζονται στο Άρθρο 4.2.2 δεν πρέπει με κανέναν τρόπο να θεωρούνται λιγότερο σημαντικές ή λιγότερο επικίνδυνες από άλλες ουσίες ή μεθόδους ντόπινγκ. Αντίθετα, είναι απλώς ουσίες και μέθοδοι που είναι πιο πιθανό να έχουν καταναλωθεί ή χρησιμοποιηθεί από έναν αθλητή για άλλο σκοπό εκτός από τη βελτίωση της αθλητικής απόδοσης».

4.Ουσίες κατάχρησης

Σύμφωνα με το Άρθρο 4.2.3 του Κώδικα, Ουσίες κατάχρησης είναι οι ουσίες που προσδιορίζονται ως τέτοιες επειδή χρησιμοποιούνται συχνά στην κοινωνία εκτός του αθλητισμού. Κάποιες από τις ουσίες που χαρακτηρίζονται ως ουσίες κατάχρησης είναι: η κοκαΐνη, η ηρωίνη, η μεθυλενοδιοξυμεθαμφεταμίνη (MDMA/έκσταση) και τετραϋδροκανναβινόλη (THC).

Στον κατάλογο απαγορευμένων ουσιών και μεθόδων περιλαμβάνονται:

Απαγορευμένες ουσίες

S0: Μη Εγκεκριμένες Ουσίες:

Απαγορεύεται η χρήση τους και εντός και εκτός αγώνων και όλες οι ουσίες που περιλαμβάνονται σε αυτή τη κατηγορία είναι καθορισμένες. Οποιαδήποτε φαρμακολογική ουσία που δεν αναφέρεται σε

καμία από τις επόμενες ενότητες του Καταλόγου και χωρίς τρέχουσα έγκριση από κάποια κυβερνητική, ρυθμιστική, ή υγειονομική αρχή για ανθρώπινη θεραπευτική χρήση όπως φάρμακα σε προκλινική ή κλινική ανάπτυξη ή ουσίες εγκεκριμένες μόνο για κτηνιατρική χρήση απαγορεύονται ανά πάσα στιγμή.

S1: Αναβολικοί Παράγοντες

Απαγορεύεται η χρήση τους και εντός και εκτός αγώνων και όλες οι ουσίες που περιλαμβάνονται σε αυτή τη κατηγορία είναι μη καθορισμένες. Στην κατηγορία περιλαμβάνονται όλα τα αναβολικά στεροειδή.

S2: Πεπτιδικές Ορμόνες, Αυξητικοί Παράγοντες, Συγγενείς Ουσίες και Μιμητές

Απαγορεύεται η χρήση τους και εντός και εκτός αγώνων και όλες οι ουσίες που περιλαμβάνονται σε αυτή τη κατηγορία είναι μη καθορισμένες. Ουσίες με παρόμοια χημική δομή ή παρόμοια βιολογικά αποτελέσματα με τις ουσίες που περιλαμβάνονται σε αυτή τη κατηγορία απαγορεύονται. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται

- Ερυθροποιητίνη και παράγοντες που επηρεάζουν την ερυθροποίηση
- Πεπτιδικές ορμόνες και οι παράγοντες απελευθέρωσης τους
- Αυξητικοί παράγοντες και ρυθμιστές αυξητικών παραγόντων

S3: β-2 Αγωνιστές

Απαγορεύεται η χρήση τους και εντός και εκτός αγώνων και όλες οι ουσίες που περιλαμβάνονται σε αυτή τη κατηγορία είναι καθορισμένες. Όλοι οι εκλεκτικοί και μη εκλεκτικοί βήτα-2 αγωνιστές, συμπεριλαμβανομένων όλων των οπτικών ισομερών, απαγορεύονται.

S4: Ορμονικοί και Μεταβολικοί Ρυθμιστές

Απαγορεύεται η χρήση τους και εντός και εκτός αγώνων. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται:

- Αναστολείς αρωματάσης→ καθορισμένες ουσίες
- Αντιοιστρογόνες ουσίες→καθορισμένες ουσίες
- Παράγοντες που αναστέλλουν την ενεργοποίηση του υποδοχέα της ακτιβίνης IIB→μη καθορισμένες ουσίες
- Ρυθμιστές μεταβολισμού→μη καθορισμένες ουσίες

S5: Διουρητικά και Καλυπτικοί Παράγοντες

Απαγορεύεται η χρήση τους και εντός και εκτός αγώνων και όλες οι ουσίες που περιλαμβάνονται σε αυτή τη κατηγορία είναι καθορισμένες. Όλα τα διουρητικά και οι παράγοντες κάλυψης, συμπεριλαμβανομένων όλων των οπτικών ισομερών απαγορεύονται.

S6: Διεγερτικά

Απαγορεύεται η χρήση τους εντός των αγώνων. Σε αυτή τη κατηγορία περιλαμβάνονται καθορισμένες και μη καθορισμένες ουσίες καθώς και οι ουσίες κατάχρησης κοκαΐνη και μεθυλενοδιοξυμεθαμφεταμίνη. Όλα τα διεγερτικά απαγορεύονται.

S7: Ναρκωτικά

Απαγορεύεται η χρήση τους εντός των αγώνων. Σε αυτή τη κατηγορία περιλαμβάνονται καθορισμένες ουσίες καθώς και η ουσία κατάχρησης ηρωΐνη.

S8: Κανναβινοειδή

Απαγορεύεται η χρήση τους εντός των αγώνων. Σε αυτή τη κατηγορία περιλαμβάνονται καθορισμένες ουσίες καθώς και η ουσία κατάχρησης τετραϋδροκανναβινόλη (THC) .

S9: Γλυκοκορτικοειδή

Απαγορεύεται η χρήση τους εντός των αγώνων. Σε αυτή τη κατηγορία περιλαμβάνονται καθορισμένες ουσίες. Όλα τα γλυκοκορτικοειδή απαγορεύονται είτε χορηγούνται ενδοφλεβίως, από το στόμα (συμπεριλαμβανομένης της στοματικής βλεννογόνου (π.χ. στοματική, υπογλώσσια) ή από το ορθό.

P1: β-Αποκλειστές

Απαγορεύεται η χρήση τους εντός των αγώνων. Σε αυτή τη κατηγορία περιλαμβάνονται καθορισμένες ουσίες.

Απαγορευμένες μέθοδοι

Απαγορεύεται η χρήση τους και εντός και εκτός αγώνων. Οι απαγορευμένες μέθοδοι σε αυτήν την κατηγορία είναι μη καθορισμένες εκτός από της μεθόδους στο M2.2. οι οποίες είναι καθορισμένες.

M1: Χειρισμός Αίματος και Συστατικών Αίματος

Απαγορεύονται τα ακόλουθα:

1. Η χορήγηση ή επανεισαγωγή οποιασδήποτε ποσότητας αυτόλογου, αλλογενούς (ομόλογου) ή ετερόλογου αίματος, ή προϊόντα ερυθρών αιμοσφαιρίων οποιασδήποτε προέλευσης στο κυκλοφορικό σύστημα.
2. Τεχνητή ενίσχυση της πρόσληψης, μεταφοράς ή παροχής οξυγόνου.
3. Οποιαδήποτε ενδοαγγειακός χειρισμός του αίματος ή των συστατικών του αίματος με φυσικά ή χημικά μέσα.

M2: Φυσικός και Χημικός Χειρισμός (Αλλοίωση δείγματος)

Απαγορεύονται τα ακόλουθα:

1. Παραβίαση ή απόπειρα αλλαγής της ακεραιότητας και της εγκυρότητας των δειγμάτων που συλλέγονται κατά τη διάρκεια του ελέγχου ντόπινγκ. Συμπεριλαμβάνονται η αντικατάσταση δείγματος και/ή νοθεία του δείγματος.
2. Ενδοφλέβιες εγχύσεις ή/και ενέσεις συνολικά άνω των 100 mL ανά 12ωρο σε περίοδο εκτός από εκείνες που ελήφθησαν νόμιμα κατά τη διάρκεια νοσοκομειακών θεραπειών, χειρουργικών επεμβάσεων ή κλινικών διαγνωστικών ερευνών.

M3: Γονιδιακό/Κυτταρικό Ντόπινγκ

Απαγορεύονται τα ακόλουθα:

1. Η χρήση νουκλεϊκών οξέων ή αναλόγων νουκλεϊκών οξέων που μπορεί να αλλάξουν τις αλληλουχίες του γονιδιώματος και/ή να μεταβάλλουν την έκφραση των γονιδίων με οποιονδήποτε μηχανισμό. Αυτό περιλαμβάνει τεχνολογίες επεξεργασίας γονιδίων, γονιδιακής σίγασης και μεταφοράς γονιδίων.
2. Η χρήση φυσιολογικών ή γενετικά τροποποιημένων κυττάρων.

1.5 Έλεγχος Doping

Οι αθλητές που αγωνίζονται είτε σε εθνικό είτε σε διεθνές επίπεδο, υπόκεινται σε έλεγχο ντόπινγκ οποτεδήποτε και οπουδήποτε. Ο έλεγχος πραγματοποιείται από Εθνικούς Οργανισμούς Αντιντόπινγκ (NADOs), από τις Διεθνείς Ομοσπονδίες (IFs) και από τους Οργανισμούς Μεγάλων Διοργανώσεων (MEOs). Οι Οργανισμοί Αντιντόπινγκ (ADOs) αποφασίζουν ποιον αθλητή θα ελέγξουν, πότε θα γίνει ο έλεγχος και για ποια ουσία με βάση τις διαθέσιμες πληροφορίες. Οι πληροφορίες εντοπισμού των αθλητών είναι αποθηκευμένες στο σύστημα ADAMS της WADA και οι ADOs είτε μέσω δικών τους δειγματοληπτικών ή μέσω επιλογής εταιρειών που κάνουν δειγματοληψίες μεριμνούν για τη συλλογή των δειγμάτων αίματος. Οι Υπεύθυνοι Ελέγχου Ντόπινγκ (Doping Control Officers, DCOs) διασφαλίζουν την τήρηση των προαναλυτικών και δειγματοληπτικών οδηγιών και οι Υπεύθυνοι Ελέγχου Αίματος (Blood Control Officers, BCOs) είναι υπεύθυνοι για τη φλεβοτομή. Τα δείγματα αίματος μεταφέρονται σε εργαστήρια που είναι διαπιστευμένα από τη Διεθνή Οργάνισμός Προτύπων (International Standards Organization) και τον WADA για τη διεξαγωγή αναλύσεων αίματος. Όταν ο αθλητής επιλέγεται για έλεγχο ντόπινγκ, έχει μια σειρά από δικαιώματα και υποχρεώσεις. Αυτά περιλαμβάνουν:

Γνωστοποίηση

Ο αθλητής ειδοποιείται από έναν DCO ή συνοδό ότι έχει επιλεγεί για έλεγχο ντόπινγκ και ενημερώνεται από ποια αρχή θα ελεγχθεί.

Αναφορά στον Σταθμό Ελέγχου Ντόπινγκ

Ο αθλητής πρέπει να παρουσιαστεί αμέσως στον Σταθμό Ελέγχου Ντόπινγκ. Καθυστέρηση μπορεί να δικαιολογηθεί για τελετές απονομής μεταλλίων ή άλλους βάσιμους λόγους αφού όμως πρώτα γίνει check-in στην ελεγκτική αρχή.

Επιλογή δοχείου συλλογής δείγματος (δείγμα ούρων) ή/και κιτ συλλογής αίματος (δείγμα αίματος)

Ο αθλητής θα επιλέξει ένα δοχείο συλλογής δείγματος ούρων από αυτά που διατίθενται από το προσωπικό ελέγχου ντόπινγκ. Εάν συλλεχθεί δείγμα αίματος, ο αθλητής θα επιλέξει ένα κιτ συλλογής αίματος από αυτά που διατίθενται από το προσωπικό ελέγχου ντόπινγκ.

Λήψη δείγματος

Ο DCO ή ο συνοδός θα παρακολουθήσει τη λήψη του δείγματος ούρων όταν ο αθλητής είναι έτοιμος να το δώσει. Ένας BCO θα κάνει την αιμοληψία χρησιμοποιώντας δύο φιαλίδια τα οποία θα αποτελέσουν το δείγμα A και B.

Διαίρεση του δείγματος

Ο αθλητής θα μοιράσει τα ούρα του στα φιαλίδια A και B, αφήνοντας μια υπολειπόμενη ποσότητα ούρων στο δοχείο συλλογής δείγματος. Το δείγμα B παρέχει στον αθλητή την ευκαιρία για δεύτερη ανάλυση σε περίπτωση που το δείγμα A είναι θετικό για αντικανονικό αναλυτικό εύρημα. Εάν συλλεχθεί δείγμα αίματος, τα φιαλίδια αίματος θα τοποθετηθούν στις φιαλίδια συλλογής δειγμάτων αίματος A και B. Μπορεί να χρειαστεί μόνο ένα φιαλίδιο εάν το δείγμα αίματος συλλεχθεί ως μέρος του Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή.

Σφράγισμα του δείγματος

Ο αθλητής θα σφραγίσει τα φιαλίδια A και B.

Μέτρηση ειδικού βάρους στο δείγμα ούρων

Ο DCO μετρά το ειδικό βάρος των ούρων του αθλητή για να καθορίσει εάν ακολουθεί τα εργαστηριακά πρότυπα. Εάν το δείγμα είναι πολύ αραιό, ο αθλητής θα κληθεί να δώσει επιπλέον δείγμα/τα.

Συμπλήρωση της φόρμας ελέγχου ντόπινγκ (Doping Control Form, DCF)

Ο DCO συμπληρώνει το DCF, είτε σε έντυπη είτε σε ψηφιακή μορφή, με τον αθλητή. Ζητείται από τον αθλητή να παράσχει προσωπικές πληροφορίες, έναν κατάλογο ουσιών ή μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και τυχόν σχόλια σχετικά με τη διαδικασία ελέγχου ντόπινγκ. Ο αθλητής λαμβάνει ένα έντυπο ή ψηφιακό αντίγραφο του DCF.

Αποστολή δείγματος στο εργαστήριο

Το σφραγισμένο δείγμα του αθλητή ασφαρίζεται και αποστέλλεται σε εργαστήριο διαπιστευμένο από το WADA. Ένα δείγμα αίματος που συλλέγεται ως μέρος του Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή μπορεί να αναλυθεί από ένα εργαστήριο εγκεκριμένο από τον WADA. Το εργαστηριακό αντίγραφο του DCF που συνοδεύει το δείγμα είναι ανώνυμο, υποδεικνύοντας μόνο τον αριθμό του φιαλιδίου που περιέχει το δείγμα, το άθλημα και το φύλο του αθλητή.

2. Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή

2.1 Εισαγωγή

Εξαιτίας της συνεχούς ανάπτυξης νέων τεχνολογιών και ουσιών στην ιατρική ήταν αναπόφευκτο ότι τα συμβατικά τεστ ντόπινγκ θα απαιτούσαν αναβάθμιση και εκσυγχρονισμό για να γίνουν πιο αποτελεσματικά στην ανίχνευση ουσιών. Οι αθλητές έκαναν κατάχρηση ουσιών/μεθόδων που ήταν σχεδόν πανομοιότυπες με τις ενδογενείς ουσίες όπως είναι η ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη (recombinant human EPO, rhEPO) και η αυτόλογη μετάγγιση αίματος, γεγονός που καθιστούσε την άμεση ανίχνευση δύσκολη αν όχι αδύνατη. Ωστόσο, ήταν σαφές ότι η επίδραση τέτοιων ουσιών/μεθόδων ντόπινγκ θα εξακολουθούσε να είναι ευδιάκριτη, καθώς οποιαδήποτε επίδραση στην απόδοση πιθανότατα θα απεικονίζεται και στους βασικούς βιοδείκτες. Η έννοια του «Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή» (ABP) είναι επομένως η ανίχνευση τέτοιων παραλλαγών που προκαλούνται από το ντόπινγκ μέσω της μακροχρόνιας παρακολούθησης τέτοιων βιοδεικτών (Robinson et al. 2017).

Ο όρος «Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή» προτάθηκε για πρώτη φορά από την επιστημονική κοινότητα στις αρχές της δεκαετίας του 2000, όταν η ανίχνευση συγκεκριμένων αιματολογικών βιοδεικτών καθιερώθηκε ως τρόπος προσδιορισμού του αιματολογικού προφίλ ενός αθλητή (Mahendru et al. 2020). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός κατά του Ντόπινγκ (WADA) έχει αναλάβει την ηγεσία στην ανάπτυξη του ABP. Οι Κατευθυντήριες οδηγίες του Βιολογικού Διαβατηρίου του WADA (Κατευθυντήριες οδηγίες ABP) εγκρίθηκαν για πρώτη φορά από την Εκτελεστική Επιτροπή του WADA και τέθηκαν σε ισχύ την 1η Δεκεμβρίου 2009. Αυτή η πρώτη έκδοση περιείχε μια τυποποιημένη προσέγγιση στο προφίλ μεμονωμένων αιματολογικών μεταβλητών των αθλητών για την ανίχνευση ντόπινγκ αίματος. Το 2014, το αρχικό σύστημα συμπληρώθηκε με τη Στεροειδή Μονάδα, η οποία κυκλοφόρησε για τη δημιουργία προφίλ των μεταβλητών στεροειδών σε βάθος χρόνου ενός αθλητή που μετρήθηκαν σε δείγματα ούρων. Επιπλέον ξεκινά και η εφαρμογή ενός τρίτου μέρους, του ενδοκρινολογικού εντός του 2023 (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023). Η ενδοκρινολογική ενότητα του ABP στοχεύει στην ανίχνευση ντόπινγκ με τη χρήση αυξητικών παραγόντων, όπως η αυξητική ορμόνη (GH) και ο αυξητικός παράγοντας τύπου ινσουλίνης-1 (IGF -1) (Sottas et al. 2011).

Developing the Modules of the ABP

Module	Matrix	Primary uses
Haematological	ABP Blood	EPO detection (2.1) Use cases (2.2)
Steroidal	Urine Blood (serum)	Testosterone detection (2.1) Sample swapping (2.2) Use cases (2.2)
Endocrine	Blood (serum)	To direct GH (isoforms) Test (2.1) Use cases (2.2)

New features planned for Q1 of 2023

 wada

Εικόνα 1: Ενότητες ABP

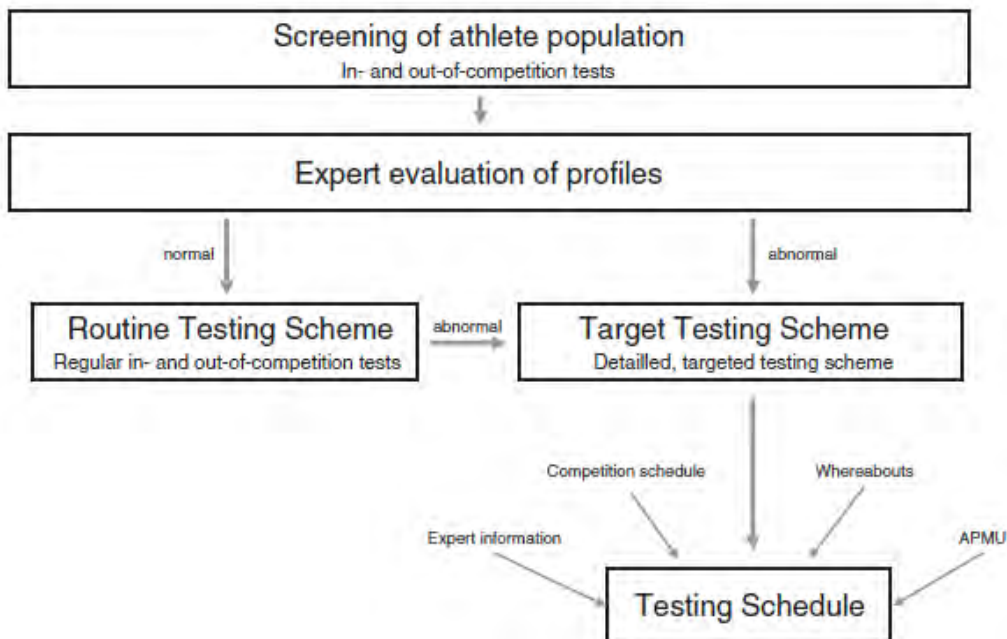
Η προσέγγιση του ABP έχει ενσωματωθεί στις στρατηγικές κατά του ντόπινγκ των προγραμμάτων των Διεθνών Ομοσπονδιών και των Εθνικών Οργανισμών Αντιντόπινγκ. Αυτό έφερε σημαντική αύξηση στον αριθμό των Αντικανονικών Αναλυτικών Ευρημάτων (AAF) που προκύπτουν από αναλύσεις επαγόμενες από δεδομένα του ABP καθώς και έναν αριθμό άμεσων ADRVs.

Η θεμελιώδης αρχή του ABP είναι η παρακολούθηση επιλεγμένων βιολογικών μεταβλητών με την πάροδο του χρόνου που αποκαλύπτουν έμμεσα τις επιπτώσεις του ντόπινγκ, αντί της προσπάθειας ανίχνευσης της ίδιας της ουσίας/μεθόδου ντόπινγκ. Οι Οργανισμοί Αντι-Ντόπινγκ (NADOs) μπορούν να ενσωματώσουν το ABP στο ευρύτερο πλαίσιο ενός ισχυρού προγράμματος αντιντόπινγκ προκειμένου:

- Να εντοπιστούν οι αθλητές που χρειάζονται περαιτέρω προσοχή μέσω της έγκαιρης ερμηνείας των δεδομένων του Διαβατηρίου. Το ABP παρέχει πολύτιμες πληροφορίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να κατευθύνουν πιο αποτελεσματικά τις δραστηριότητες κατά του ντόπινγκ, όπως τον Στοχευμένο Έλεγχο (Target Testing) ή τις έρευνες.
- Τον εντοπισμό πιθανών ADRVs σύμφωνα με το Άρθρο 2.2 το οποίο αφορά τη χρήση ή την απόπειρα χρήσης από αθλητή μιας απαγορευμένης ουσίας ή μιας απαγορευμένης μεθόδου.

2.2 Μονάδα Διαχείρισης Διαβατηρίων Αθλητών (APMU)

Η Μονάδα Διαχείρισης Διαβατηρίων Αθλητών (Athlete Passport Management Unit, APMU) διαδραματίζει βασικό ρόλο στη διαδικασία διαβατηρίου. Για να διασφαλιστεί η ανεξάρτητη και αμερόληπτη αντιμετώπιση των αποτελεσμάτων του διαβατηρίου, αυτή η μονάδα, που συνήθως συνδέεται με εργαστήρια αντιντόπινγκ, είναι υπεύθυνη για την επιχειρησιακή πλευρά των προγραμμάτων διαβατηρίων. Παρέχει τεχνογνωσία για στοχευόμενο έλεγχο ή/και κατάλληλο προγραμματισμό δοκιμών, διαχειρίζεται τα εργαστηριακά δεδομένα, συγκεντρώνει τα αναλυτικά αποτελέσματα, πραγματοποιεί μια αρχική ανασκόπηση και έρχεται σε επαφή με τους οργανισμούς κατά του ντόπινγκ και των εξωτερικών εμπειρογνομόνων για τη σε βάθος αξιολόγηση των δεδομένων του διαβατηρίου. Το APMU θα συσχετίσει πιθανά «αντικανονικά ευρήματα διαβατηρίου» (ανάλογα με τα «αντικανονικά αναλυτικά ευρήματα» στη συμβατική ανάλυση ντόπινγκ) με τον οργανισμό αντιντόπινγκ. Ως εκ τούτου, το προσωπικό της APMU πρέπει να είναι εξειδικευμένο στη διαχείριση τόσο του αντιντόπινγκ όσο και των νομικών πτυχών της διαδικασίας, να είναι εξοικειωμένο με τις προαναλυτικές και αναλυτικές διαδικασίες και να έχει γνώση στη φυσιολογία της άσκησης ώστε να διασφαλίσει τον εξειδικευμένο προγραμματισμό των ελέγχων σε κάθε αθλητικό κλάδο με βάση τις αναμενόμενες επιδράσεις των πιο κοινών ουσιών ντόπινγκ (Schumacher et al. 2012).



Εικόνα 2: Προβλεπόμενη διαδικασία για τους οργανισμούς που επιθυμούν να ενσωματώσουν το πρόγραμμα του βιολογικού διαβατηρίου του αθλητή (Schumacher et al. 2012)

2.3 Εφαρμογή ABP

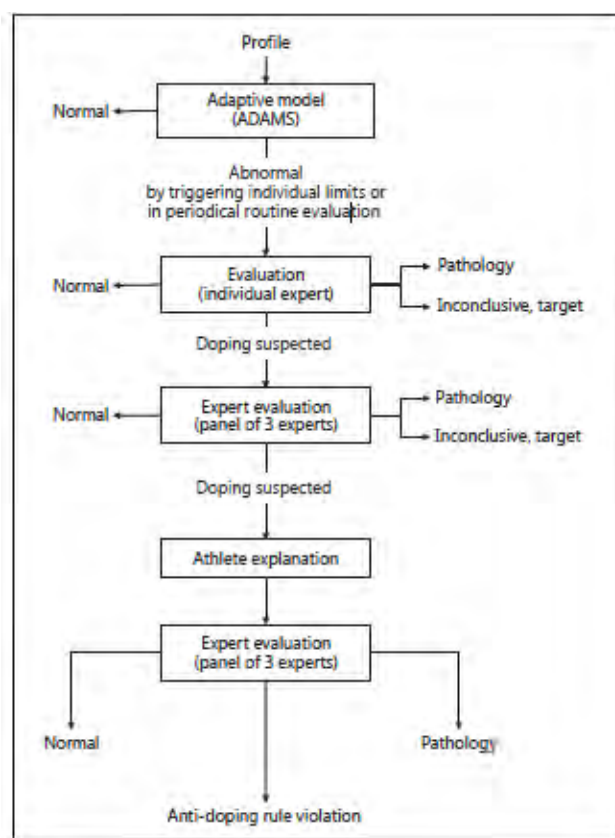
Οι αθλητές χρησιμοποιούν απαγορευμένες ουσίες ή/και μεθόδους προκειμένου να προκαλέσουν αλλαγές στη φυσιολογία τους που τους προσδίδουν κάποιο πλεονέκτημα κατά τη διάρκεια του αγώνα. Αυτές οι ουσίες/μέθοδοι αφήνουν ένα βιολογικό αποτύπωμα στο σώμα του αθλητή για την ανίχνευση του οποίου χρησιμοποιείται το ABP (Sottas et al. 2010). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιούνται διάφοροι βιοδείκτες ντόπινγκ που μετρώνται σε δείγματα αίματος και ούρων, με τον ίδιο τρόπο που οι βιοδείκτες μιας νόσου χρησιμοποιούνται στην ιατρική ως δείκτες για την παρουσία ή τη σοβαρότητα μιας νόσου. Παρόλο που και οι δύο τύποι βιοδεικτών στοχεύουν στη διάκριση ενός παθολογικού βιολογικού αποτυπώματος που προκαλείται από μια συγκεκριμένη αιτία από το φυσιολογικό βιολογικό προφίλ που αναμένεται για μια φυσιολογική κατάσταση, οι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στο ντόπινγκ συγκεντρώνονται και αξιολογούνται σύμφωνα με ειδικά πρότυπα. Αρκετά σημεία του ABP έχουν αναπτυχθεί και επικυρωθεί τα τελευταία χρόνια. Περιλαμβάνουν αυστηρά πρωτόκολλα που αφορούν τη συλλογή, τη μεταφορά και την ανάλυση των δειγμάτων καθώς και εφαρμογή της μεθόδου Bayes για την αξιολόγηση βιολογικών προφίλ εξασφαλίζοντας επιπλέον σε όλα τα στάδια της διαδικασίας την ανωνυμία του αθλητή (Robinson et al. 2011).

Για την προστασία των αθλητών τα κριτήρια είναι συντηρητικά και τα κριτήρια αποδοχής για αναλύσεις αίματος σε εργαστηριακό επίπεδο εξαιρετικά επιλεκτικά. Για το λόγο αυτό, τον πρώτο χρόνο εφαρμογής του το 5%-8% των δειγμάτων του διαβατηρίου αίματος απορρίφθηκαν για διάφορους λόγους όπως ο πολύ μεγάλος χρόνος ανάλυσης, η εσφαλμένη θερμοκρασία κατά τη μεταφορά του δείγματος, τα μη τεκμηριωμένα αποτελέσματα καθώς και δείγματα αίματος που αναλύθηκαν μόνο μία φορά. Πλέον, απορρίπτονται πολύ λιγότερα δείγματα, επειδή όλοι οι ενδιαφερόμενοι έχουν γίνει πιο έμπειροι και τα δείγματα αίματος που έχουν συλλεχθεί συντηρούνται σε ψυγείο και παραδίδονται εντός 36 ωρών (Robinson et al. 2011).

Το ABP μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παροχή πληροφοριών, επιβολή κυρώσεων, για την προστασία της υγείας των αθλητών και ως αποτρεπτικό μέσο. Συγκεκριμένα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παροχή πληροφοριών, επειδή οι οργανισμοί κατά του ντόπινγκ μπορούν να χρησιμοποιήσουν δεδομένα από το διαβατήριο για να διακρίνουν ύποπτα βιολογικά προφίλ και να εντοπίσουν τους αντίστοιχους αθλητές. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επιβολή κυρώσεων όταν το βάρος των αποδεικτικών στοιχείων του ABP είναι αρκετά υψηλό ώστε να αποδεικνύεται πέρα από κάθε αμφιβολία ότι ένας αθλητής έκανε χρήση ντόπινγκ. Επιπλέον, το ABP μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την προστασία της υγείας των αθλητών, επειδή παρέχει μια άμεση εικόνα της επίδρασης που έχει το ντόπινγκ στη φυσιολογία του αθλητή (Robinson et al. 2011).

Το ABP μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό αθλητών που χρειάζονται περισσότερη προσοχή και να καθοδηγήσει σε στοχευμένο έλεγχο, λειτουργώντας συμπληρωματικά με τις αναλυτικές μεθόδους (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023). Επειδή η επίδραση της ουσίας παραμένει στο σώμα ακόμα και όταν η χορηγούμενη ουσία μεταβολιστεί, η ανίχνευση συγκεκριμένων βιοδεικτών μπορεί να χρησιμοποιηθεί στον έλεγχο αντιντόπινγκ (Sottas et al. 2010) Έτσι, με τη χρήση του ABP η επίδραση του ντόπινγκ δεν εξετάζεται άμεσα αλλά μέσω της διακύμανσης του μέσου όρου και της τυπικής απόκλισης συγκεκριμένων βιοδεικτών. Όταν συλλέγεται το πρώτο δείγμα, τα ανώτερα και κατώτερα όρια συγκεκριμένων βιοδεικτών προσδιορίζονται βάσει του πληθυσμού (Sottas et al. 2010). Αυτά τα μεμονωμένα όρια στη συνέχεια προσαρμόζονται με βάση τις τιμές κάθε αθλητή μετά από λήψη πρόσθετων δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου (Sottas et al. 2010). Όταν υπάρχουν αποκλίσεις στις τιμές των βιοδεικτών ενός αθλητή με την πάροδο του χρόνου τότε αυτό αποτελεί ένδειξη παρουσίας απαγορευμένης ουσίας ή χρήσης απαγορευμένης μεθόδου και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για στοχευμένη ανάλυση συγκεκριμένων ουσιών.

Παρακάτω απεικονίζεται το διάγραμμα ροής για τον εντοπισμό παραβίασης του κανόνα αντιντόπινγκ.



Εικόνα 3: Διάγραμμα ροής για τον εντοπισμό παραβίασης του κανόνα αντιντόπινγκ (Robinson et al. 2017)

3. Ντόπιγκ αίματος

3.1 Ερυθροκύτταρα

Τα ερυθροκύτταρα (RBC) αποτελούν κύτταρα του αίματος και η κύρια λειτουργία τους είναι η μεταφορά οξυγόνου στους ιστούς στόχους. Τα ερυθροκύτταρα βρίσκονται στο τελευταίο στάδιο της ωρίμανσης τους, αφού αποβληθούν από το μυελό των οστών στο περιφερικό αίμα. Η διάρκεια ζωής τους είναι μόνο 1-2 ημέρες πριν γίνουν ώριμα ερυθροκύτταρα (Robinson et al. 2017). Τα κύτταρα αυτά προέρχονται κυρίως από τα πολυδύναμα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα CD34+ του μυελού των οστών (Thieme and Hemmersbach 2010). Τρία χαρακτηριστικά της μορφολογίας των ερυθροκυττάρων συμβάλλουν στην αποτελεσματικότητα με την οποία μεταφέρεται το οξυγόνο. Αρχικά, τα ερυθροκύτταρα είναι επίπεδα, δισκοειδή κύτταρα με κοίλωμα στο κέντρο και των δύο πλευρών τους. Ένα δεύτερο δομικό χαρακτηριστικό τους είναι η εύκαμπτη μεμβράνη που διαθέτουν γεγονός που διευκολύνει τη δίοδο τους από τα ελικοειδή τριχοειδή αγγεία και τελικά την απελευθέρωση του οξυγόνου που μεταφέρει στους ιστούς χωρίς να υποστούν ρήξη στην πορεία. Τέλος, τα ερυθροκύτταρα διαθέτουν αιμοσφαιρίνη μια πρωτεΐνη που δεσμεύει το οξυγόνο. Η αιμοσφαιρίνη αποτελείται από δύο μέρη:

1. τη σφαιρίνη, μια πρωτεΐνη με τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες (δύο υπομονάδες α και δύο υπομονάδες β)
2. τέσσερες ομάδες αίμης που είναι μη πρωτεϊνικές ομάδες που περιέχουν σίδηρο. Καθένα από τα τέσσερα άτομα σιδήρου μπορεί να συνδεθεί αντιστρεπτά με το οξυγόνο. Συνεπώς κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης μπορεί να προσλάβει τέσσερα μόρια οξυγόνου.

Τα ερυθροκύτταρα είναι κύτταρα που δεν διαιρούνται. Κατά τη γήρανση του ερυθροκυττάρου η κυτταροπλασματική του μεμβράνη, η οποία δεν μπορεί να επιδιορθωθεί, καθίσταται εύθραυστη καθώς το κύτταρο συμπιέζεται κατά τη διέλευση του από το αγγειακό σύστημα. Η διάρκεια ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι περίπου 120 ημέρες, παρουσιάζοντας ημερήσια αντικατάσταση 0,8–1,0% (Foote 2009). Συνεπώς, τα κατεστραμμένα ερυθροκύτταρα πρέπει να αντικατασταθούν από νέα ερυθροκύτταρα τα οποία παράγονται από τον μυελό των οστών, έναν κυτταροβριθή ιστό που εντοπίζεται στις εσωτερικές κοιλότητες των οστών (Sherwood Physiology).

3.2 Ερυθροποίηση

Η διαδικασία παραγωγής ερυθροκυττάρων από τον μυελό των οστών ονομάζεται ερυθροποίηση και ο ρυθμός παραγωγής ακολουθεί το ρυθμό καταστροφής των γηρασμένων κυττάρων (Sherwood Physiology). Η παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων κυμαίνεται από $2,5 \cdot 10^{11}$ κύτταρα την ημέρα ή περισσότερα από 10^{10} κύτταρα ανά ώρα (Molineux and Sinclair 2009). Η διαδικασία της ερυθροποίησης ελέγχεται από την ερυθροποιητίνη που παράγεται στους νεφρούς. Συγκεκριμένα, οι νεφροί ανιχνεύουν τη μειωμένη ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου του αίματος με αποτέλεσμα να εκκρίνουν στο αίμα την ορμόνη ερυθροποιητίνη όταν φτάνει σε αυτούς αίμα με λιγότερο οξυγόνο η οποία στη συνέχεια διεγείρει την ερυθροποίηση στο μυελό των οστών (Sherwood Physiology).

Πιο αναλυτικά, η ερυθροποιητίνη (EPO) είναι μια γλυκοπρωτεϊνική ορμόνη περίπου 30kDa και ρυθμίζεται από την οξυγόνωση των ιστών ως απόκριση στην υποξία. Ένας αισθητήρας οξυγόνου εντός των νεφρικών κυττάρων ανιχνεύει την περιεκτικότητα του αίματος σε οξυγόνο και ρυθμίζει την ποσότητα της EPO που απελευθερώνεται στο αίμα. Η σύνθεση της EPO επάγεται από τον μεταγραφικό παράγοντα 1 που επάγεται από την υποξία (HIF-1), ο οποίος είναι υπεύθυνος για την ενεργοποίηση τουλάχιστον 20 γονιδίων, συμπεριλαμβανομένης της EPO, της τρανσφερίνης και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF). Ο HIF-1 συνδέεται με το στοιχείο απόκρισης υποξίας στα γονίδια-στόχους επάγοντας τη μεταγραφή τους (Ebert et al. 1999). Η β-υπομονάδα του HIF-1 εκφράζεται ανεξάρτητα από την οξυγόνωση των ιστών ενώ αντίθετα η α-υπομονάδα είναι ευαίσθητη στο οξυγόνο και συσσωρεύεται όταν τα κύτταρα εκτίθενται σε συνθήκες χαμηλής περιεκτικότητας σε οξυγόνο. Σε κατάσταση υποξίας ο HIF-1a μετατοπίζεται από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα του κυττάρου και σχηματίζει μαζί με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες ένα σύμπλεγμα. Μετά τη σύνδεση με το γονίδιο της ερυθροποιητίνης, ξεκινά η μεταγραφή που οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή EPO. Όταν η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι σε φυσιολογικά επίπεδα ο HIF-1a απενεργοποιείται από δύο διαφορετικούς μηχανισμούς, οι οποίοι και οι δύο εξαρτώνται από το οξυγόνο. Η αδρανοποίηση πραγματοποιείται με υδροξυλίωση της ασπαραγίνης N803 σε μια αντίδραση που εξαρτάται από το οξυγόνο. Κατά συνέπεια, ο HIF-1a δεν είναι πλέον σε θέση να συνδεθεί με το γονίδιο της ερυθροποιητίνης. (Aktories et al. 2005; Thieme and Hemmersbach 2010).

Περίπου το 90% της EPO συντίθεται σε νεφρικά περισωληναριακά διάμεσα κύτταρα (Israels and Israels 2006). Επιπλέον, το ήπαρ και ο εγκέφαλος συνθέτουν EPO, αλλά η ποσότητα που παράγεται μόνο από αυτούς τους ιστούς είναι ανεπαρκής για να διατηρηθεί η ερυθροποίηση σε ικανοποιητικά επίπεδα (Foote 2003). Η ερυθροποιητίνη δρα στα προϊόντα διαίρεσης των βλαστικών κυττάρων που έχουν ήδη προγραμματιστεί να διαφοροποιηθούν σε ερυθροκύτταρα διεγείροντας με αυτό τον τρόπο τον πολλαπλασιασμό και την ωρίμανση τους σε ερυθροκύτταρα. Η ερυθροποιητική δραστηριότητα

αυξάνει τον αριθμό των ερυθροκυττάρων στην κυκλοφορία και συνεπώς την ικανότητα του αίματος να μεταφέρει οξυγόνο αποκαθιστώντας τη φυσιολογική παροχή οξυγόνου στους ιστούς. Η έκκριση της ερυθροποιητίνης σταματά μόλις αποκατασταθεί η παροχή οξυγόνου στους ιστούς.

Όταν οι απαιτήσεις για ερυθροκύτταρα είναι υψηλές όπως για παράδειγμα μετά από αιμορραγία ο μυελός των οστών απελευθερώνει στο αίμα ανώριμα ερυθροκύτταρα που ονομάζονται δικτυοερυθροκύτταρα ώστε να καλυφθούν οι ανάγκες του οργανισμού. Το ποσοστό δικτυοερυθροκυττάρων (Ret%) στο περιφερικό αίμα αποτελεί ένδειξη της δραστηριότητας του μυελού των οστών. Υψηλή περιεκτικότητα δικτυοερυθροκυττάρων υποδηλώνει αυξημένη παραγωγή ερυθροκυττάρων από τον μυελό των οστών λόγω διέγερσης του από EPO, απώλεια αίματος ή υποξία, ενώ χαμηλή περιεκτικότητα δικτυοερυθροκυττάρων υποδηλώνει μειωμένη δραστηριότητα στις περιπτώσεις που η συνολική μάζα των ερυθρών αιμοσφαιρίων αυξάνεται πάνω από τα φυσιολογικά επίπεδα και δεν απαιτείται η παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων (Robinson et al. 2017). Τα δικτυοερυθροκύτταρα μπορούν να εντοπιστούν με τεχνικές χρώσης οι οποίες καθιστούν ορατά τα υπολείμματα των οργανιδίων και κυρίως των ριβοσωμάτων τα οποία δεν έχουν αποβληθεί ακόμα (Sherwood physiology).

3.3 Ερυθροποιητίνη

Η ικανότητα του οργανισμού να μεταφέρει οξυγόνο στον συσπώμενο μυ έχει καθοριστικό ρόλο στην αντοχή (di Prampero and Ferretti 1990). Για πολλά χρόνια, ένας από τους πρωταρχικούς στόχους των αθλητών ήταν η βελτίωση της ικανότητας μεταφοράς του οξυγόνου του αίματος στους ιστούς καθώς αυτό αύξανε την απόδοση τους σε ποσοστό 5-8% (Ekblom et al. 1972). Ήδη από το 1970, οι αθλητές άρχισαν να χρησιμοποιούν την μετάγγιση αίματος που τότε ήταν νόμιμη για να ενισχύσουν την αντοχή τους. Η χρήση αυτής της μεθόδου απαγορεύτηκε το 1986 (Sottas et al. 2011) και έκτοτε αποτελεί απαγορευμένη μέθοδο που καταγράφεται από το WADA. Μετά την εισαγωγή της rhEPO στο εμπόριο δηλαδή του πρώτου παράγοντα διέγερσης της ερυθροποίησης η χρήση της διαδόθηκε ευρέως στα περισσότερα αθλήματα αντοχής (Schumacher et al. 2012).

Η πρώτη μορφή rhEPO αναπτύχθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1980 και κυκλοφόρησε στην αγορά το 1989 ως θεραπεία για την οξεία αναιμία που σχετίζεται κυρίως με χρόνια νεφρική νόσο αλλά και με καρκίνο, AIDS, λοίμωξη από ηπατίτιδα C, μεταμόσχευση μυελού των οστών, αυτοάνοσα νοσήματα, καρδιακή ανεπάρκεια και χρόνιες λοιμώξεις. Η χρήση της rhEPO βελτιώνει σημαντικά τη φυσική απόδοση των ασθενών, συμβάλλει στη μείωση της δύσπνοιας κατά την άσκηση και, γενικότερα, συμβάλλει στη βελτίωση της ποιότητας ζωής τους. Επιπλέον, μειώνεται η ανάγκη για μεταγγίσεις αίματος και επομένως μειώνονται οι κίνδυνοι λόγω αντιδράσεων ασυμβατότητας, ιογενών λοιμώξεων

και υπερφόρτωσης σιδήρου (Jelkmann 2007). Διάφορες φαρμακευτικές εταιρείες έχουν παραγάγει πολλές διαφορετικές μορφές rhEPOs (Elliott 2008). Τα rhEPO πρώτης γενιάς έχουν παρόμοια αλληλουχία αμινοξέων με την ενδογενή ορμόνη, αλλά υπάρχουν διαφορές στη δομή των γλυκανών που αποτελούν τις πλευρικές αλυσίδες του μορίου. Στις αρχές του 2000 και προκειμένου να αυξηθεί ο χρόνος ημιζωής της rhEPO προστέθηκαν δύο επιπλέον N-γλυκάνες στην rhEPO δεύτερης γενιάς. Το 2007, κυκλοφόρησε ο συνεχής ενεργοποιητής υποδοχέων ερυθροποιητίνης (Continuous Erythropoietin Receptor Activator, CERA) με χρόνο ημιζωής περίπου μία εβδομάδα. Αυτό το φάρμακο απεκκρίνεται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις στα ούρα λόγω του μεγάλου μεγέθους του (Elliott 2008; Macdougall and Ashenden 2009; Macdougall and Eckardt 2006).

Η παραδοσιακή μέθοδος ανίχνευσης είναι η άμεση ανίχνευση μιας ουσίας σε ένα βιολογικό δείγμα. Αυτή η προσέγγιση έχει το πλεονέκτημα ανίχνευσης του ίδιου του φαρμάκου ή/και των μεταβολιτών του, αλλά πιθανότατα δεν μπορεί να ανιχνεύσει χρήση EPO μερικών ημερών. Η ανασυνδυασμένη EPO και η ενδογενής EPO έχουν την ίδια αλληλουχία αμινοξέων, αλλά διαφέρουν στα σημεία γλυκοζυλίωσης. Αυτές οι διαφορετικές δομές σακχάρου έχουν διαφορετικά ηλεκτρικά φορτία και επιτρέπουν τη διάκριση μεταξύ ενδογενών και εξωγενών ισομορφών EPO (Choi et al. 1996). Για πρώτη φορά το 1995, η ομάδα επιστημόνων των Wide et al. κατάφερε να διαχωρίσει τους δύο τύπους EPO στο αίμα και στα ούρα (Wide et al. 1995). Η εφαρμογή της ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης 0,10% και pH 8,6 επέτρεψε τον προσδιορισμό του μέσου φορτίου της EPO και τα συνολικά αποτελέσματα εκφράστηκαν ως προς την ηλεκτροφορητική τους κινητικότητα. Ωστόσο, επειδή το παράθυρο ανίχνευσης θεωρήθηκε πολύ μικρό και τα αποτελέσματα δεν ήταν δυνατόν να επαναληφθούν σε άλλο εργαστήριο η μέθοδος δεν επικυρώθηκε. Το 2000, λίγο πριν από τους θερινούς Ολυμπιακούς Αγώνες στο Σίδνεϊ, το εργαστήριο αντιντόπινγκ του Παρισιού πρότεινε τον ισοηλεκτρικό διαχωρισμό των ισομορφών EPO ούρων σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου ακολουθούμενη από διπλή στύπωση (Lasne and de Ceauriz 2000).

Οι διάφορες ισομορφές της EPO έχουν διαφορετικά ισοηλεκτρικά σημεία και για το διαχωρισμό τους μπορεί να εφαρμοστεί η ισοηλεκτρική εστίαση (IEF). Η μέθοδος αυτή ήταν αξιόπιστη και έδινε τα ίδια αποτελέσματα και σε άλλα εργαστήρια και για αυτό επικυρώθηκε και τελικά διαπιστεύτηκε σε διάφορα εργαστήρια αντιντόπινγκ παρόλο που η εφαρμογή της ήταν χρονοβόρα και δαπανηρή (Lasne et al. 2007). Το πρώτο AAF αναφέρθηκε από το Ελβετικό Εργαστήριο Ελέγχου Ντόπινγκ (Laboratoire suisse d'analyse du dopage, LAD) το 2001. Το εργαστήριο έχασε αυτή την υπόθεση στο Αθλητικό Διατητικό Δικαστήριο (Court of Arbitration for Sport CAS), επειδή υπήρχε έλλειψη εναρμόνισης μεταξύ των εργαστηρίων αντιντόπινγκ. Σήμερα, τα τεχνικά έγγραφα ορίζουν καλύτερα τα κριτήρια θετικότητας που

είναι απαραίτητα για την εγκυρότητα ενός AAF. Τα τρία κριτήρια θετικότητας που θεσπίστηκαν από το WADA και χρησιμοποιούνται είναι:

(1) δείγματα θετικά για rhEPO πρέπει να παρουσιάζουν τουλάχιστον τρεις αποδεκτές ζώνες στη βασική περιοχή που αντιστοιχούν στις ζώνες 1,2 και 3 του προτύπου αναφοράς.

(2) οι δύο πιο έντονες ζώνες πρέπει να είναι διαδοχικές και να είναι ζώνες 1,2 ή 3.

(3) η πυκνότητα, η οποία μετράται με πυκνομετρία, των ζωνών αυτών πρέπει να είναι μεγαλύτερη (διπλάσια ή μεγαλύτερη) από οποιαδήποτε ζώνη στην ενδογενή περιοχή.

Προκειμένου να βελτιωθεί η συνολική ποιότητα των αποτελεσμάτων εφαρμόστηκαν τεχνικές ανοσοφθορισμού. Αυτή η τεχνική είχε το πλεονέκτημα ότι απέκλειε κάθε πιθανή διασταυρούμενη αντίδραστικότητα (cross reactivity) του αντισώματος αντι-EPO (Lönnberg et al. 2010). Το Διεθνές Πρότυπο για Εργαστήρια (ISL) ορίζει ότι πρέπει να χρησιμοποιούνται αντισώματα που αναγνωρίζουν διαφορετικούς επιτόπους. Ο ανοσοκαθαρισμός χρησιμοποιείται συνήθως σε συνδυασμό με SDS-PAGE. Αυτή η ειδική δοκιμή επιβεβαίωσης δημιουργήθηκε, λόγω ορισμένων άτυπων προφίλ IEF για την EPO που παρατηρήθηκαν σε ορισμένα δείγματα ούρων ή σε δείγματα ούρων που συλλέχθηκαν αμέσως μετά από έντονη σωματική άσκηση (Lamon et al. 2009).

Επιπλέον, έχουν προταθεί δύο εναλλακτικές προσεγγίσεις για τον έλεγχο rhEPO στα ούρα: η ανοσοδοκιμασία MAIA (membrane-assisted isoform immunoassay) και η υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μάζας οι οποίες ωστόσο δεν έχουν ακόμη πλήρως επικυρωθεί από τον WADA διότι η καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δείκτη (Receiver Operating Characteristic, ROC) δεν έχει τεκμηριωθεί με δείγματα που προέρχονται από κλινικές μελέτες και από αθλητές κορυφαίου επιπέδου (Schumacher et al. 2012).

Το 1996, ορισμένες αθλητικές ομοσπονδίες επεχείρησαν να αποτρέψουν το ντόπινγκ rhEPO εισάγοντας ανώτατα όρια τιμών για τον αιματοκρίτη και την αιμοσφαιρίνη πριν από τον αγώνα (αιματοκρίτης >50%, αιμοσφαιρίνη > 17 g/dl) (Schumacher et al. 2012). Η δειγματοληψία και οι αναλύσεις των δειγμάτων πραγματοποιούνταν επιτόπου στην αθλητική εγκατάσταση. Οι αθλητές των οποίων οι τιμές ήταν πάνω από τα όρια αυτά κρίνονταν ως ακατάλληλοι για συμμετοχή στον αγώνα. Αυτός ο κανόνας «μη εκκίνησης» (no start rule) θεωρήθηκε ως έμμεση απόδειξη ντόπινγκ καθώς δεν ανιχνεύονταν η ίδια η ουσία αλλά η επίδραση της στον οργανισμό (Schumacher et al. 2012). Η παράβαση του κανόνα μη εκκίνησης θεωρούνταν ως παράβαση κανόνα αγώνα και όχι παράβαση κανόνα αντιντόπινγκ (Gore et al. 2003). Αν και η ευαισθησία και η ειδικότητα αυτών των πρώιμων δοκιμών παρουσίαζαν μειονεκτήματα, είχαν το πλεονέκτημα ότι περιόριζαν το υπερβολικό ντόπινγκ

(Videman et al. 2000). Για το λόγο αυτό άρχισε να χρησιμοποιείται μια νέα μέθοδος που χρησιμοποιεί έναν συνδυαστικό αλγόριθμο δεικτών όπως αιμοσφαιρίνη, δικτυοερυθροκύτταρα και άλλοι δείκτες ερυθροποίησης (Gore et al. 2003). Αυτά τα τεστ χαρακτηρίστηκαν ως τεστ δεύτερης γενιάς και η βαθμολογία ON- και OFF δίνουν μια ένδειξη της κατάστασης του ερυθροποιητικού συστήματος τη στιγμή της δοκιμής. Η βαθμολογία ON είναι ευαίσθητη σε αλλαγές στους έμμεσους δείκτες κατά την κατάχρηση της EPO ενώ η βαθμολογία OFF αυξάνεται όταν διακόπτεται η χρήση της EPO γεγονός που συνεπάγεται αύξηση στη μάζα των ερυθρών αιμοσφαιρίων και έτσι καταστέλλεται το ερυθροποιητικό σύστημα. Αργότερα φάνηκε ότι ορισμένοι από αυτούς τους δείκτες, που αρχικά αναπτύχθηκαν για την ανίχνευση παραγόντων διέγερσης της ερυθροποίησης (Erythropoiesis-stimulating agents, ESAs), ήταν ευαίσθητοι σε άλλους τύπους χειρισμού του αίματος που ενισχύουν τη μάζα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, όπως η μετάγγιση αίματος (Mørkeberg et al. 2011; Pottgiesser et al. 2011).

3.4 Ενότητα Αίματος Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή

Η συγκεκριμένη ενότητα του ABP περιέχει πληροφορίες για βιοδείκτες αίματος. Χρησιμοποιείται με σκοπό τον προσδιορισμό της χρήσης απαγορευμένων ουσιών ή απαγορευμένων μεθόδων που βελτιώνουν τη μεταφορά/απόδοση οξυγόνου στους ιστούς, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης ESAs καθώς και οποιασδήποτε μορφής μετάγγισης ή χειρισμού αίματος (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023). Επιπλέον, με αυτή την ενότητα γίνεται και ο προσδιορισμός χρήσης των απαγορευμένων μεθόδων που εντάσσονται στην ενότητα M1 του καταλόγου απαγορευμένων ουσιών και μεθόδων (χειρισμός αίματος και συστατικών αίματος) (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023).

Βιοδείκτες αίματος που περιλαμβάνονται στην Ενότητα Αίματος (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023):

- ABPS: Μη φυσιολογική βαθμολογία προφίλ αίματος
- HCT: Αιματοκρίτης
- HGB: Αιμοσφαιρίνη
- IRF: Κλάσμα ανώριμων δικτυοερυθροκυττάρων
- MCH: Μέση σωματιδιακή αιμοσφαιρίνη
- MCHC: Μέση σωματιδιακή συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης
- MCV: Μέσος σωματιδιακός όγκος
- OFFS: Βαθμολογία OFF-hr
- PLT: Αιμοπετάλια

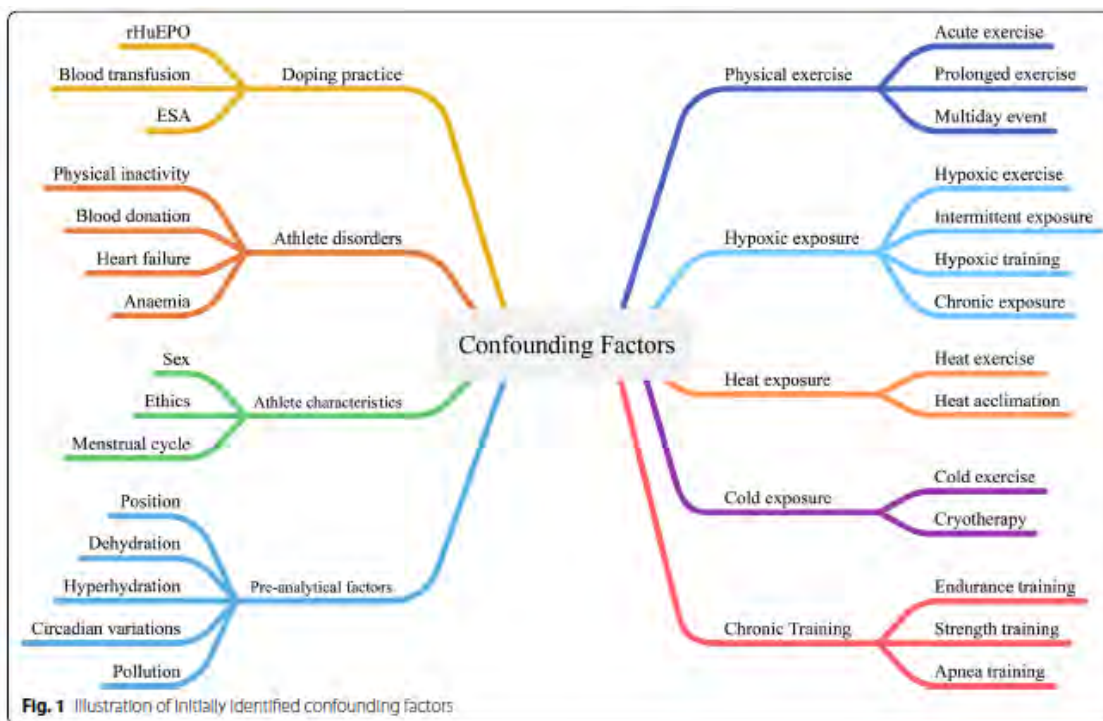
- RBC: Αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων (ερυθροκυττάρων).
- RDW-SD: Εύρος κατανομής ερυθροκυττάρων (τυπική απόκλιση)
- RET: Αριθμός δικτυοερυθροκυττάρων
- RET%: Ποσοστό δικτυοερυθροκυττάρων
- WBC: Λευκά Αιμοσφαίρια

Δεκατέσσερις παράμετροι καταγράφονται και αναλύονται επί του παρόντος ως μέρος της αιματολογικής ενότητας του ABP στο διαδικτυακό σύστημα ADAMS, το οποίο αναπτύχθηκε και υποστηρίζεται από τον WADA. Οι κύριοι δείκτες που παρακολουθούνται είναι η συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ([Hb]) και ο δείκτης διέγερσης ερυθροποίησης «OFF-Score» (OFFs), που υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{OFFs} = [\text{Hb}] - 60 \times \sqrt{\text{Ret}\%}$$

συμπεριλαμβανομένου του ποσοστού των δικτυοερυθροκυττάρων (Ret%) και [Hb] σε g L^{-1} . Ένα άτυπο εύρημα διαβατηρίου (ATPF) δημιουργείται όταν μια κύρια τιμή δείκτη είναι εκτός του ενδοατομικού εύρους του αθλητή ή του διαμήκους προφίλ του κύριου δείκτη. Απαιτείται ένα επίπεδο ειδικότητας 99% (οι ακραίες τιμές αντιστοιχούν σε τιμές εκτός του εύρους 99%-, δηλαδή τουλάχιστον 1:100 πιθανότητα ότι αυτό το αποτέλεσμα οφείλεται σε φυσιολογική κατάσταση) για να ειδοποιήσει το σύστημα για ένα ATPF (Krumm and Faiss 2021).

Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης βιοδεικτών, όπως η αιμοσφαιρίνη, στο αίμα, πρέπει να ληφθεί υπόψη η πιθανή επίδραση διάφορων παραγόντων στον όγκο του πλάσματος. Οι διακυμάνσεις στον όγκο του πλάσματος προκαλούνται λόγω σωματικής άσκησης, περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως η θερμοκρασία ή το υψόμετρο, παραγόντων στρες στους οποίους εκτίθενται συχνά οι αθλητές με υψηλές επιδόσεις (Robinson et al. 2017). Οι αποκλίσεις στις τιμές των δεικτών ενός αθλητή από τις φυσιολογικές τιμές οφείλονται εκτός από τη χρήση απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου και σε άλλους παράγοντες όπως η έντονη άσκηση, η χρόνια προπόνηση, η έκθεση σε ζεστό, κρύο ή υποξικό περιβάλλον, ασθένειες από τις οποίες μπορεί να πάσχει ο αθλητής και παράγοντες που σχετίζονται με την ανάλυση του δείγματος όπως περιγράφονται και στην εικόνα παρακάτω (Krumm and Faiss 2021).



Εικόνα 4: Παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των βιοδεικτών σε ένα δείγμα αίματος (Krumm and Faiss 2021)

3.5 Οδηγίες WADA για δείγματα αίματος

Για τη λήψη αίματος από τον αθλητή στο πλαίσιο εφαρμογής του προγράμματος ABP ο WADA έχει θεσπίσει κάποιους κανόνες οι οποίοι διασφαλίζουν ότι το δείγμα είναι κατάλληλο για χρήση. Αρχικά, πρέπει να είναι γνωστή η τοποθεσία του αθλητή (whereabouts) ώστε να διασφαλιστεί ότι η δειγματοληψία δεν γίνεται εντός δύο (2) ωρών από την προπόνηση του αθλητή, τη συμμετοχή σε αγώνα ή άλλη παρόμοια φυσική δραστηριότητα. Εάν ο αθλητής έχει προπονηθεί ή αγωνιστεί το λιγότερο δύο (2) ώρες πριν από τη στιγμή που έχει ειδοποιηθεί για τον επερχόμενο έλεγχο, ο DCO ή άλλο καθορισμένο πρόσωπο συλλογής δειγμάτων θα συνοδεύει τον αθλητή μέχρι να παρέλθει αυτή η δίωρη περίοδος. Σε διαφορετική περίπτωση πρέπει να καταγραφεί από τον DCO το είδος, η διάρκεια και η ένταση της άσκησης και οι πληροφορίες αυτές πρέπει να είναι διαθέσιμες στο APMU και στη συνέχεια στους εμπειρογνώμονες. Συνιστάται η λήψη δύο δειγμάτων αίματος και στις περιπτώσεις που ο έλεγχος πραγματοποιείται εκτός αγωνιστικής περιόδου τότε πραγματοποιείται επιπλέον και λήψη δειγμάτων ούρων. Για τη συγκεκριμένη ενότητα, συνιστάται η χρήση δεδομένων από δείγματα που συλλέγονται με διαφορά πέντε ημερών ή και περισσότερο για τη βελτιστοποίηση της στατιστικής σημαντικότητας των αποτελεσμάτων. Ωστόσο, όταν υπάρχει κίνδυνος εφαρμογής

πρακτικών ντόπινγκ συνίσταται η λήψη δείγματος με διαφορά μικρότερη των πέντε ημερών (WADA guidelines). Για να πραγματοποιηθεί η αιμοληψία ο αθλητής πρέπει να βρίσκεται σε καθιστή θέση με τα πόδια να ακουμπούν στο πάτωμα για τουλάχιστον 10 λεπτά πριν από τη λήψη του δείγματος.

Από τη στιγμή της δειγματοληψίας μέχρι και τη στιγμή της ανάλυσης τα δείγματα πρέπει να φυλάσσονται σε δροσερό μέρος. Η ακεραιότητα των δεικτών που χρησιμοποιούνται στην αιματολογική ενότητα του ABP εξαρτάται από το βαθμό σταθερότητας αίματος (Blood Stability Score, BSS) η τιμή του οποίου πρέπει να είναι κάτω από το ογδόντα πέντε (85). Το BSS υπολογίζεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$BSS = 3 * T + CAT$$

όπου CAT (collection to analysis time) είναι ο χρόνος που μεσολαβεί από τη συλλογή του δείγματος έως την ανάλυση του υπολογισμένος σε ώρες και T η μέση θερμοκρασία σε βαθμούς Κελσίου που μετράται από το καταγραφικό δεδομένων μεταξύ της συλλογής δειγμάτων και της ανάλυσης. Ο ακόλουθος πίνακας μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τον DCO/BCO για την εκτίμηση του μέγιστου χρόνου μεταφοράς σε διαπιστευμένο ή εγκεκριμένο από τον WADA εργαστήριο για το ABP, που ονομάζεται Χρόνος Συλλογής έως Υποδοχής (CRT), για δεδομένη μέση θερμοκρασία T:

T [°C]	CRT [h]
15	35
12	41
10	46
9	48
8	50
7	53
6	55
5	58
4	60

Το δείγμα αίματος θα πρέπει να αναλυθεί το συντομότερο δυνατό και το αργότερο δώδεκα (12) ώρες μετά την παραλαβή, εκτός εάν η Αρχή Συλλογής Δειγμάτων (Sample Collection Authority, SCA) παρέχει συγκεκριμένες πληροφορίες σχετικά με τις συνθήκες συλλογής και μεταφοράς δειγμάτων. Στην περίπτωση που δεν είναι εφικτή η άμεση ανάλυση του δείγματος αυτό πρέπει να φυλάσσεται στους 4°C.

Το δείγμα αίματος θα αναλυθεί δύο φορές. Για να είναι αποδεκτά τα αποτελέσματα πρέπει οι απόλυτες διαφορές μεταξύ των δύο αναλύσεων να είναι ίσες ή μικρότερες από καθένα από τα ακόλουθα κριτήρια:

- 0,1 g/dL για HGB.
- 0,15% για RET% εάν είτε η πρώτη είτε η δεύτερη μέτρηση είναι χαμηλότερη ή ίση με 1,00%. Διαφορετικά η απόλυτη διαφορά είναι 0,25%.

Τα δεδομένα της δεύτερης ανάλυσης χρησιμοποιούνται για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων της πρώτης ανάλυσης. Επομένως, εάν οι απόλυτες διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων των αναλύσεων είναι εντός των παραπάνω ορίων, τότε μόνο τα δεδομένα της πρώτης ανάλυσης αναφέρονται στο ADAMS. Εάν οι απόλυτες διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο αναλύσεων είναι μεγαλύτερες από εκείνες που ορίζονται παραπάνω, τότε το δείγμα αίματος αναλύεται ξανά δύο φορές. Σε περιπτώσεις επαναλαμβανόμενης ανάλυσης, το δείγμα αίματος αναδεύεται πριν από κάθε ανάλυση. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου οι απόλυτες διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο πιο πρόσφατων αναλύσεων είναι εντός των παραπάνω ορίων.

Τέλος, το εργαστήριο θα πρέπει να αναφέρει τα αποτελέσματα της ανάλυσης των δειγμάτων αίματος το συντομότερο δυνατό και εντός τριών ημερών από τη λήψη του δείγματος. Στο ADAMS θα πρέπει να αναφέρονται τα ακόλουθα:

- Κατάσταση ("Υποβλήθηκε" ή "Δεν αναλύθηκε").
- Κωδικός δείγματος αίματος ABP.
- Τύπος ελέγχου (Εκτός Ανταγωνισμού / Εντός Ανταγωνισμού).
- Άθλημα και πειθαρχική αρχή.
- Ημερομηνία και ώρα παραλαβής του δείγματος αίματος.
- Ημερομηνία και ώρα ανάλυσης του δείγματος αίματος.
- Το όνομα της εξεταστικής αρχής.
- Το όνομα της Αρχής Συλλογής Δειγμάτων.
- Τύπος δείγματος (διαβατήριο αίματος).

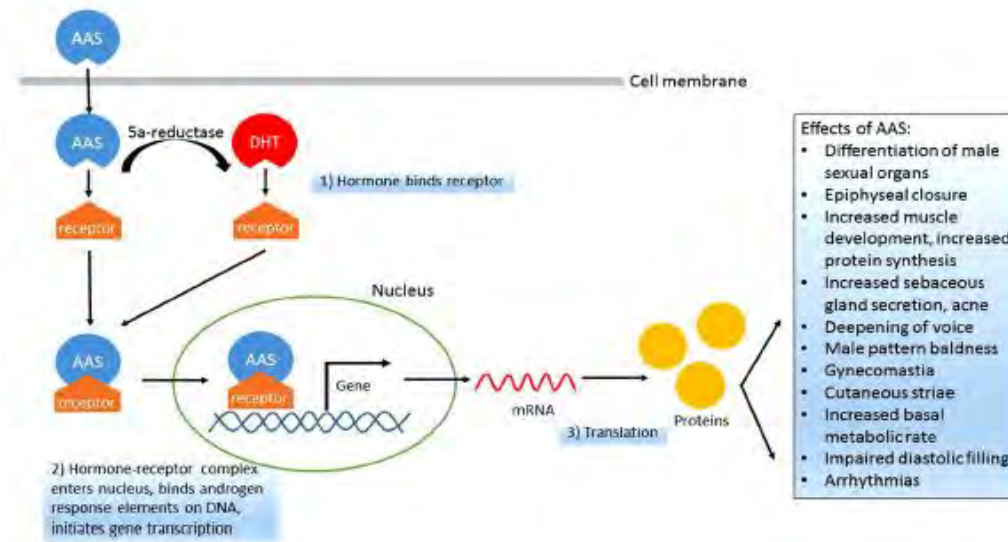
- Τύπος αναλυτή που χρησιμοποιήθηκε.
- Αποτελέσματα αναλύσεων.

4. Ντόπινη Στεροειδών

4.1 Αναβολικά Στεροειδή

Τα αναβολικά στεροειδή (AAS) είναι τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα μεταξύ των PESs στον αθλητισμό και σε αυτά περιλαμβάνονται ενώσεις όπως η τεστοστερόνη, η μεθυλτεστοστερόνη και δαναζόλη (Momaya et al. 2015). Μια μετα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε το 2014 από τους Sagoe et al. αναφέρει τη χρήση AAS σε ποσοστό 6,4 % στους άνδρες και 1,6 % στις γυναίκες κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Επιπλέον, η μελέτη έδειξε ότι η χρήση των AAS ήταν υψηλότερη στους ερασιτέχνες και επαγγελματίες αθλητές με τη συμμετοχή σε τουλάχιστον ένα άθλημα να αυξάνει τις πιθανότητες χρήσης κατά 91%. Από τη μελέτη προέκυψε επίσης ότι ο επιπολασμός της χρήσης AAS ήταν ελαφρώς υψηλότερος τη δεκαετία του 2000 σε σχέση με τη δεκαετία του 1990 (Sagoe et al. 2014). Το ποσοστό χρήσης των AAS είναι υψηλό και μεταξύ των εφήβων. Σε μια μελέτη που διεξήχθη το 2007 από τους Gregory et al. με ποδοσφαιριστές λυκείου στις ΗΠΑ, έδειξε το 6,3% των συμμετεχόντων ήταν είτε νυν είτε πρώην χρήστες AAS, με τη μέση ηλικία κατά την πρώτη χρήση να είναι τα 14 έτη (Gregory et al. 2007).

Τα AAS που χρησιμοποιούνται από τους αθλητές αποτελούν συνθετικά παράγωγα της τεστοστερόνης. Όταν τα AAS βρεθούν στον οργανισμό τότε συνδέονται με τον υποδοχέα ανδρογόνων (AR) ο οποίος βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων-στόχων με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του. Στη συνέχεια πυροδοτείται ένα σηματοδοτικό μονοπάτι που οδηγεί σε αναβολικά αποτελέσματα παρόμοια με αυτά που προκαλούνται από την ενδογενή ορμόνη. Πιο αναλυτικά, ο ενεργοποιημένος υποδοχέας AR συμμετέχει στη ρύθμιση της μεταγραφής διάφορων γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη των μυών. Επιπλέον, το ένζυμο 5-άλφα-ρεδουκτάση έχει σημαντικό ρόλο καθώς μετατρέπει τα AAS σε διυδροτεστοστερόνη, η οποία μπορεί επίσης να δράσει στον υποδοχέα AR. Επιπλέον, τα AAS δρουν ανταγωνιστικά με την κορτιζόλη εκτοπίζοντας την από τους υποδοχείς της αναστέλλοντας με αυτό τον τρόπο τις καταβολικές επιδράσεις των γλυκοκορτικοειδών (Evans 2004).



Εικόνα 5: Δράση των αναβολικών στεροειδών και τα αποτελέσματά τους. AAS αναβολικά στεροειδή, DHT διυδροτεστοστερόνη, DNA δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, mRNA αγγελιοφόρο RNA (Momaya et al. 2015)

Μελέτες έχουν δείξει ότι το κύριο όφελος χρήσης των AAS στην αθλητική απόδοση είναι το αυξημένο μέγεθος των μυών, η δύναμη και η μείωση του ποσοστού λίπους στο σώμα (Bhasin et al. 1996; Giorgi et al. 1999). Μια μελέτη των Bhasin et al. το 1996 έδειξε ότι οι άνδρες που έλαβαν υπερβολική δόση τεστοστερόνης σε συνδυασμό με άσκηση, αύξησαν τη μυϊκή τους μάζα χωρίς αύξηση του λίπους και επιπλέον αυξήθηκε το μέγεθος και η δύναμη των μυών. Σε άλλη μελέτη, οι Giorgi et al. χώρισαν τυχαία 21 άνδρες που προπονούσαν με βάρη σε δύο ομάδες στην ομάδα τεστοστερόνης και στην ομάδα εικονικού φαρμάκου. Σε μια περίοδο 12 εβδομάδων, όσοι ήταν στην ομάδα της τεστοστερόνης εμφάνισαν αύξηση σημαντικά τη μυϊκή τους δύναμη συγκριτικά με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου.

4.2 Τεστοστερόνη

Η τεστοστερόνη είναι η κύρια ανδρική ορμόνη, συντίθεται στους όρχεις και επιτελεί διαφορετικές λειτουργίες στα διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια. Κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής, η δράση των ανδρογόνων είναι κεντρική για την ανάπτυξη του ανδρικού φαινοτύπου (Wilson et al. 1996). Στην εφηβεία, η ορμόνη είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη των δευτερογενών χαρακτηριστικών του φύλου. Η τεστοστερόνη ρυθμίζει πολλές φυσιολογικές διεργασίες στον ενήλικο οργανισμό, συμπεριλαμβανομένου του μεταβολισμού των μυϊκών πρωτεϊνών, των σεξουαλικών και γνωστικών λειτουργιών, της ερυθροποίησης, των λιπιδίων του πλάσματος και του μεταβολισμού των οστών (Bhasin et al. 1996). Κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής, ένας μέσος άνδρας παράγει περίπου 7 mg τεστοστερόνης ημερησίως, περίπου 2500 mg τεστοστερόνης ετησίως, και συνολικά 130 g έως την

ηλικία των 75 ετών (Bardin 1996). Η φυσιολογική συγκέντρωση της τεστοστερόνης στο πλάσμα στους άνδρες είναι από 300 έως 1000 ng/dl, αλλά η μέση τιμή της μειώνεται από την ηλικία των 80 ετών στο μισό σε σχέση με αυτής στην ηλικία των 20 ετών (Bagatell and Bremner 1996; Snyder et al. 1999). Στις γυναίκες, τα επίπεδα τεστοστερόνης στην κυκλοφορία είναι συνήθως περίπου το 10% από αυτά που παρατηρούνται στους άνδρες (Wilson et al. 1996).

4.3 Έλεγχος στεροειδών

Ο έλεγχος για στεροειδή πραγματοποιείται συχνά με χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μαζών MS/MS με σκοπό τον υπολογισμό της αναλογίας τεστοστερόνης προς επιτεστοστερόνη. Η επιτεστοστερόνη είναι ένας μεταβολίτης της τεστοστερόνης που δεν επηρεάζεται από την παρουσία εξωγενών στεροειδών. Επομένως, αύξηση στη τιμή αυτής της αναλογίας βοηθά στον προσδιορισμό της χρήσης AAS (Geyer et al. 2014). Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων που προήλθαν πριν από το 2005 η κρίσιμη τιμή του T/E για σκοπούς ελέγχου ντόπινγκ ήταν >6, αντί >4 (Kuورانne et al. 2014).

Η κατάχρηση διαφορετικών σκευασμάτων τεστοστερόνης καθώς και η συμπληρωματική πρόσληψη διάφορων προδρόμων ουσιών τεστοστερόνης αμφισβήτησαν την εγκυρότητα της αναλογίας T/E (Van Renterghem et al. 2010). Για το λόγο αυτό, αποφασίστηκε να συμπεριληφθούν και άλλοι ανενεργοί μεταβολίτες (ανδροστερόνη, ετιοχολανολόνη, ανδροστανεδιόλες [5αΑδιόλη ή 5βΑδιόλη]) για να σχηματιστεί τελικά το προφίλ στεροειδούς. Στις αρχές της δεκαετίας του 2000, οι έμμεσες προσεγγίσεις δεν έγιναν πλήρως αποδεκτές από την επιστημονική κοινότητα που διενεργούσε αναλύσεις κατά του ντόπινγκ, πιθανώς επειδή οι τεχνικές GC/C/IRMS θεωρούνταν από τις πιο αποτελεσματικές για να προσδιοριστεί εάν η τεστοστερόνη που ανιχνεύθηκε στο δείγμα έχει ενδογενή ή εξωγενή προέλευση (Shackleton et al. 1997). Από το 2004, πραγματοποιήθηκε ανάλυση GC/C/IRMS σε όλα τα δείγματα που παρουσίαζαν αναλογία T/E μεγαλύτερη από 4 ή μη φυσιολογική συγκέντρωση κάποιου μεταβολίτη. Διαπιστώθηκε ότι πράγματι οι περισσότεροι υγιείς Καυκάσιοι άντρες ελίτ αθλητές είχαν αναλογία T/E κοντά στο 1,0 (Van Renterghem et al. 2010). Ο παρακάτω πίνακας δείχνει ότι υπάρχουν περιπτώσεις ουσιών όπου η τιμή του λόγου T/E και άλλων δεικτών επηρεάζονται από την παρουσία άλλων ουσιών (Robinson et al. 2017).

	A	Etio.	A/ Etio.	E	T	T/E	A/T	5αAdiol	5βAdiol	5αAdiol/ 5β	5αAdiol/ E
Oral/injection of T	+++	++	++		+++	+++	---	++	++		
Transdermal T	+++	++	++	--		++	++	++		++	+
DHEA	--	+++	--		+++	+++	---	+	+++		
DHT	+++		+++				++	++		++	++
Contraceptive pill				--		++					+
Ethanol	--	-			++	++	---				

Common confounding factors such as contraceptive pills and ethanol are shown to modify some of these biomarkers. A, androsterone; E, epitestosterone; Etio., etiocholanolone; T, testosterone.

Εικόνα 6: Παράγοντες που επηρεάζουν τη τιμή του λόγου T/E (Robinson et al. 2017).

Επιπλέον χρησιμοποιούνται, χρωματογραφικές και τεχνικές φασματομετρίας μαζών, οι οποίες μπορούν να βοηθήσουν στη διάκριση μεταξύ φυσικών και συνθετικών στεροειδών. Τα συνθετικά στεροειδή παρουσιάζουν δυσκολίες στον εντοπισμό τους. Οι στρατηγικές που ακολουθούνται για την καταπολέμηση της χρήσης συνθετικών στεροειδών περιλαμβάνει δύο μεθόδους. Η μια μέθοδος αφορά σε μια μη στοχευμένη προσέγγιση. Η βάση για αυτήν προσέγγιση αποτελεί το γεγονός ότι τα συνθετικά στεροειδή έχουν κοινές χημικές δομές με γνωστά ενδογενή στεροειδή. Επομένως, με αναζήτηση αυτών των κοινών σημείων, μπορεί να ανιχνευτούν υψηλά επίπεδα ορισμένων στεροειδών. Η δεύτερη μέθοδος εξετάζει τις επιδράσεις των εξωγενών στεροειδών στο προφίλ των ενδογενών στεροειδών. Για παράδειγμα, είναι γνωστό ότι η χορήγηση AAS καταστέλλει τις ενδογενείς συγκεντρώσεις στεροειδών και ένα τέτοιο εύρημα σε έναν αθλητή μπορεί να προκαλέσει ένδειξη για αναζήτηση συνθετικών στεροειδών (Geyer et al 2014).

4.4 Ενότητα Στεροειδών Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή

Η συγκεκριμένη ενότητα του ABP περιέχει πληροφορίες σχετικά με βιοδείκτες που αφορούν τη χρήση στεροειδών. Χρησιμοποιείται με σκοπό την ταυτοποίηση ενδογενών αναβολικών ανδρογόνων στεροειδών (Endogenous Anabolic Androgenic Steroids, EAAS) όταν χορηγούνται εξωγενώς καθώς και άλλων αναβολικών παραγόντων. Αποτελεί επίσης ένα αποτελεσματικό μέσο για τον προσδιορισμό δειγμάτων που μπορεί να έχουν παραποιηθεί ή να έχουν αντικατασταθεί από δείγμα κάποιου άλλου ατόμου (Άρθρο Κώδικα 2.5) (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023).

Για την ανίχνευση αναβολικών στεροειδών χρησιμοποιείται δείγμα ούρων. Οι συγκεντρώσεις των ενδογενών αναβολικών στεροειδών καθώς και οι μεταξύ τους αναλογίες χρησιμοποιούνται για να σχηματιστεί το προφίλ στεροειδών ενός αθλητή. Η παρουσία συνθετικών μορφών στεροειδών στον οργανισμό όπως η τεστοστερόνη, οι πρόδρομες ενώσεις της όπως η ανδροστενεδιόλη, η ανδροστενεδιόνη και η πραστερόνη (δεϋδροεπιανδροστερόνη ή DHEA), ο ενεργός μεταβολίτης της [διυδροτεστοστερόνη (DHT)], και η επιτεστοστερόνη μπορεί να μεταβάλλει τις συγκεντρώσεις των ενδογενών αναβολικών στεροειδών στα ούρα. Μόλις βρεθεί ένα ATRPF δηλαδή αποκλίσεις στις συγκεντρώσεις συγκεκριμένων βιοδεικτών ενός αθλητή, ενεργοποιούνται διαδικασίες επιβεβαίωσης. Επιπλέον, ένα μη φυσιολογικό προφίλ στεροειδών που προκύπτει από ένα δείγμα ούρων ή ένα άτυπο προφίλ στεροειδών που περιλαμβάνει τιμές από μια σειρά προφίλ στεροειδών που συλλέγονται σε μια χρονική περίοδο μπορεί να αποτελεί ένδειξη (ADRV).

Βιοδείκτες στεροειδών που περιλαμβάνονται στην ενότητα στεροειδών (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023) .

- A: Ανδροστερόνη
- Etio: Επιοχολανολόνη
- 5αΑδιόλη: 5α-Ανδροστανή-3α,17β-διόλη
- 5αΑδιόλη: 5β-Ανδροστανή-3α,17β-διόλη
- T: Τεστοστερόνη
- E: Επιτεστοστερόνη

Καθώς και οι λόγοι:

- T/E
- A/T
- A/Etio
- 5αAdiol/5βAdiol
- 5αAdiol/E

Κάθε δείγμα ούρων αναλύεται για να προσδιοριστεί το προφίλ στεροειδών του. Ο προσδιορισμός και η αναφορά του προφίλ στεροειδών ενός δείγματος ακολουθεί μια διαδικασία δύο βημάτων (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023):

1. Διεξάγεται μια διαδικασία αρχικής δοκιμής (initial testing procedure, ITP) για την εκτίμηση του προφίλ στεροειδών του δείγματος και
2. Μια επόμενη διαδικασία επιβεβαίωσης (confirmation procedure, CP) η οποία εφαρμόζεται όταν το αναφερόμενο προφίλ στεροειδών αποτελεί ATPF ή κατόπιν αιτήματος από την APMU, την Αρχή Δοκιμών ή τον WADA.

Table 1. Markers of the Urinary Steroid Profile.

Type of Marker	Steroid Profile Markers	Determination
Concentrations of Steroids	<ul style="list-style-type: none"> - Androsterone (A); - Etiocholanolone (Etio); - 5α-Androstane-3α,17β-diol (5αAdiol); - 5β-Androstane-3α,17β-diol (5βAdiol); - Testosterone (T); and - Epitestosterone (E). 	Determined by the <u>Laboratory</u> by GC-MS ⁿ from the combination of the free steroid fraction and the conjugated fraction released after hydrolysis with β -glucuronidase from <i>E. coli</i> .
Ratios of Steroids	- T/E	As reported by the <u>Laboratory</u> in ADAMS.
	<ul style="list-style-type: none"> - A/T; - A/Etio; - 5αAdiol/5βAdiol; and - 5αAdiol/E 	Automatically computed in ADAMS from respective steroid concentrations after the reporting of the steroid profile by the <u>Laboratory</u> .

Εικόνα 7: Δείκτες που αναλύονται στο προφίλ στεροειδών (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023)

Εκτός από την επίδραση των EAAS, ένα προφίλ στεροειδών ούρων μπορεί να τροποποιηθεί και για άλλους λόγους όπως οι ακόλουθοι (Ayotte 2010; Kuuranne et al. 2014; Mareck et al. 2008):

1. Πρόσληψη αλκοόλ (αιθανόλη).
2. Η χορήγηση άλλων αναβολικών ανδρογόνων στεροειδών (όπως στανοζολόλη).
3. Η χορήγηση ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG) σε άνδρες.
4. Η χορήγηση αναστολέων αρωματάσης και αντι-οιστρογόνων ουσιών.
5. Η χορήγηση αναστολέων της 5 α -αναγωγής .
6. Η χορήγηση κετοκοναζόλης ή άλλων παρόμοιων ενώσεων (π.χ. φλουκοναζόλη, μικοναζόλη)
7. Χρήση καλυπτικών παραγόντων (όπως προβενεσίδη) και διουρητικών.
8. Μικροβιακή δραστηριότητα.
9. Νοθεία δειγμάτων.

4.4.1 Διαδικασία αρχικής δοκιμής (initial testing procedure ITP)(Athlete Biological Passport Operating Guidelines 2023)

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των δεικτών του προφίλ στεροειδών θα βασίζεται σε αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (GC-MSn; $n \geq 1$). Στον παρακάτω πίνακα περιγράφονται οι προϋποθέσεις για την ποσοτικοποίηση των βιοδεικτών που χρησιμοποιούνται στην ενότητα στεροειδών.

Table 2. Requirements of the ITP for Quantification of the Markers of the Steroid Profile.

2.1.1 ITP Validation Requirements								
Range of the Method	Shall cover the ranges of <i>Marker</i> concentrations normally found in males and females.							
Enzymatic Hydrolysis	Assess the efficiency of the enzymatic hydrolysis using β -glucuronidase from <i>E. coli</i>							
Derivatization	Assess the efficiency of the trimethylsilyl (TMS) derivatization							
Limits of Quantification (LOQ)	<p>The <u>LOQ</u> shall be determined during method validation as the lowest concentration that can be measured with an u_c (%) not greater than (\leq) 30% and shall meet the following criteria:</p> <ul style="list-style-type: none"> • T, E \leq 1 ng/mL; • 5αAdiol, 5βAdiol \leq 10 ng/mL; • A, Etio \leq 500 ng/mL 							
Measurement Uncertainty, u_c (%)	Level	A	Etio	T	E	Adiols (5α, 5β)	T/E	
	The estimated u_c (%) shall be not greater than (\leq) the $u_{c,Max}$ (%) value given below							
	at <u>LOQ</u>	\leq 30%						
	at <u>5 x LOQ</u>	\leq 20%				\leq 25%		
	(T, E) > 5 ng/mL							\leq 15%
(T, E) \leq 5 ng/mL							\leq 30%	

2.1.2 ITP Analysis Requirements	
Sample	The ITP for the quantification of the <i>Markers</i> of the steroid profile shall be conducted on a single <i>Aliquot</i> . When needed, the volume of the <i>Aliquot</i> may be adjusted as a function of its specific gravity (SG) and of the sex of the <i>Athlete</i> .
Calibration	Calibration standard(s) or a calibration curve shall be included in each sequence of analysis.

Quality Control	At least two (2) quality control (QC) urine samples containing representative low and high concentrations of the <i>Markers</i> of the steroid profile shall be included in each sequence of analysis.
Enzymatic Hydrolysis	Purified β -glucuronidase from <i>E. coli</i> shall be used for the hydrolysis of the glucuroconjugated urinary steroids, and the completeness of hydrolysis shall be monitored in each <i>Aliquot</i> with isotopically labeled A-glucuronide (or an equivalent scientifically recognized alternative). <i>H. pomatia</i> mixtures shall not be used.
Derivatization	The <i>Markers</i> of steroid profile shall be analyzed as TMS derivatives (TMS enol ethers and/or TMS ethers). Completeness of the derivatization shall be controlled in each <i>Aliquot</i> through the monitoring of mono-O TMS vs. di-O TMS derivative of A.
T/E Ratio	The T/E ratios shall be determined from the ratios of chromatographic peak areas or peak heights after correction against a calibrator or a calibration curve.
Factors Impacting the Steroid Profile	The <i>Laboratory</i> shall: <ul style="list-style-type: none"> • Monitor for signs of microbial activity [e.g. presence of indicators of 3α-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) activity]; [Comment: The direct enzymatic hydrolysis of urine Samples may increase the effects of microbial contamination.] • Test for the presence of conjugated <i>Metabolite(s)</i> of ethanol [e.g. ethanol glucuronide (EtG)], 5α-reductase inhibitors (e.g. finasteride, dutasteride) and ketoconazole (and similar substances).

Εικόνα 7: Απαιτήσεις ITP για την ποσοτικοποίηση βιοδεικτών στο προφίλ στεροειδών (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023)

Μετά το ITP, το εργαστήριο θα αναφέρει στο ADAMS το προφίλ στεροειδών για κάθε δείγμα που αναλύθηκε.

Συγκεκριμένα αναφέρει:

1. Το ειδικό βάρος (specific gravity, SG) του δείγματος όπως αυτή υπολογίσθηκε από το εργαστήριο
2. Τις μη διορθωμένες συγκεντρώσεις των T, E, A, Etio, 5αAdiol και 5βAdiol και την αναλογία T/E. Όταν η μέτρηση ITP ενός δείκτη προφίλ στεροειδούς δεν είναι δυνατή λόγω αραίωσης τότε το εργαστήριο θα πρέπει να επαναλάβει την ανάλυση εφαρμόζοντας μια εναλλακτική διαδικασία προετοιμασίας του δείγματος όπως αλλαγή όγκων κλασμάτων, εφαρμογή εκχύλισης στερεάς φάσης ή εκχύλιση με διαφορετικό διαλύτη. Εάν, ωστόσο, ένας δείκτης του προφίλ στεροειδών δεν μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά, η συγκέντρωση του επηρεασμένου δείκτη θα αναφέρεται ως "-1". Το εργαστήριο θα πρέπει να αναφέρει στην έκθεση δοκιμής τους λόγους για τους οποίους δεν ήταν δυνατή η ποσοτικοποίηση του συγκεκριμένου δείκτη. Όταν το σήμα από το χρωματογράφημα ενός δείκτη δεν μπορεί να ανιχνευθεί επειδή είναι χαμηλότερο από το όριο ανίχνευσης της συσκευής, τότε η συγκέντρωση του δείκτη θα αναφέρεται ως "-2".
3. Το Εργαστήριο μπορεί επίσης να παρέχει πληροφορίες σε περιπτώσεις ανίχνευσης μικροβιακής δραστηριότητας στο δείγμα όπως προσδιορίζονται από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στεροειδών.
4. Το εργαστήριο θα πρέπει να αναφέρει τα παρακάτω εκτιμώμενα επίπεδα σχετικά με την παρουσία ή την απουσία στο δείγμα ουσιών που μπορεί να αλλοιώσουν το προφίλ στεροειδών:
 - EtG εάν ≥ 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$;
 - Καρβοξυ-φιναστερίδη εάν ≥ 5 ng/mL .
 - 4-υδροξυ- και/ή 6-υδροξυ-ντουσταστερίδη εάν ≥ 5 ng/mL .
 - Κετοκοναζόλη εάν ≥ 100 ng/mL ;
 - Φλουκοναζόλη εάν ≥ 500 ng/mL .
 - Μικοναζόλη εάν ≥ 1.000 ng/mL .

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι συνθήκες για την αναφορά των συγκεντρώσεων T και E και του λόγου T/E:

Table 3. Summary of conditions for reporting T and E concentrations and T/E ratio.

Concentration of T	Concentration of E	T/E ratio
Chromatographic peak signal of T measured at or above (\geq) the <u>LOQ</u> . $[T] \geq \text{LOQ}_{(T)}$ Report T as measured	Chromatographic peak signal of E measured at or above (\geq) <u>LOQ</u> . $[E] \geq \text{LOQ}_{(E)}$ Report E as measured.	Report T/E (as determined by the <u>Laboratory</u> from corrected peak heights/areas)
	Chromatographic peak signal of E detected, but below ($<$) <u>LOQ</u> . $\text{LOD}_{(E)} \leq [E] < \text{LOQ}_{(E)}$ Report E as ~ 1"	
	Chromatographic peak signal of E not detected. $[E] < \text{LOD}_{(E)}$ Report E as ~ 2"	Report T/E as ~ 1" Report the <u>LOD</u> _(E) <i>Comment in ADAMS:</i> T/E ratio could not be measured accurately because E could not be detected.
Chromatographic peak signal of T detected, but below ($<$) the <u>LOQ</u> . $\text{LOD}_{(T)} \leq [T] < \text{LOQ}_{(T)}$ Report T as ~ 1"	Chromatographic peak signal of E measured at or above (\geq) <u>LOQ</u> . $[E] \geq \text{LOQ}_{(E)}$ Report E as measured	Report T/E (as determined by the <u>Laboratory</u> from corrected peak heights/areas)
	Chromatographic peak signal of E detected, but below ($<$) <u>LOQ</u> . $\text{LOD}_{(E)} \leq [E] < \text{LOQ}_{(E)}$ Report E as ~ 1"	
	Chromatographic peak signal of E not detected. $[E] < \text{LOD}_{(E)}$ Report E as ~ 2"	Report T/E as ~ 1" <i>Comment in ADAMS:</i> T/E ratio could not be measured accurately because the concentration of T could not be measured, and E could not be detected.
Chromatographic peak signal of T not detected. $[T] < \text{LOD}_{(T)}$ Report T as ~ 2"	Chromatographic peak signal of E measured at or above (\geq) <u>LOQ</u> . $[E] \geq \text{LOQ}_{(E)}$ Report E as measured	Report T/E as ~ 1" Report the <u>LOD</u> _(T) <i>Comment in ADAMS:</i> T/E ratio could not be measured accurately because T could not be detected.
	Chromatographic peak signal of E detected but below ($<$) <u>LOQ</u> . $\text{LOD}_{(E)} \leq [E] < \text{LOQ}_{(E)}$ Report E as ~ 1"	Report T/E as ~ 1" Report the <u>LOD</u> _(T) <i>Comment in ADAMS:</i> T/E ratio could not be measured because T could not be detected, and E could not be measured.
	Chromatographic peak signal of E not detected. $[E] < \text{LOD}_{(E)}$ Report E as ~ 2"	Report T/E as ~ 2" Report the <u>LOD</u> _(E) and <u>LOD</u> _(T) <i>Comment in ADAMS:</i> T/E ratio could not be measured because T and E could not be detected.

Εικόνα 8 Συνθήκες για την αναφορά των συγκεντρώσεων T και E και του λόγου T/E (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023)

4.4.2 Δοκιμασία Επιβεβαίωσης (Confirmation Procedures CP)(Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023)

Το CP για τους δείκτες EAAS περιλαμβάνει αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας πολλαπλών σταδίων GC-MSⁿ ($n \geq 1$) καθώς και την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία ισοτοπικής ανάλυσης (GC/C/IRMS) (WADA Technical Document TD IRMS) για τους δείκτες του προφίλ στεροειδών. Επιπλέον, το εργαστήριο επιβεβαιώνει την απουσία παραγόντων που επηρεάζουν το προφίλ στεροειδών.

Μόλις τα δεδομένα του προφίλ στεροειδών του δείγματος εισαχθούν στο ADAMS και αντιστοιχιστούν με έναν αθλητή τότε ενημερώνεται αυτόματα η ενότητα στεροειδούς του διαβατηρίου. Εάν αναγνωρισθεί ένα ATPF με βάση μια ασυνήθιστα υψηλή τιμή T/E, τότε ενεργοποιείται ένα αίτημα συμπληρωματικής δοκιμής (ATPF-CPR) και αποστέλλεται αυτόματα στα εργαστήρια μέσω του ADAMS. Μετά τη λήψη ενός ATPF-CPR, το εργαστήριο θα προχωρήσει με την CP του προφίλ στεροειδών το συντομότερο δυνατό, εκτός εάν στο δείγμα έχει ανιχνευθεί η παρουσία αιθανόλης ή άλλων παραγόντων που επηρεάζουν το προφίλ στεροειδών. Σε τέτοιες περιπτώσεις, το εργαστήριο λαμβάνει, εντός δεκαπέντε (15) ημερών από την ειδοποίηση ATPF-CPR, ενημέρωση από τον Επίτροπο Διαβατηρίου ή την Αρχή Ελέγχου (ή την Αρχή Διαχείρισης Αποτελεσμάτων, εάν διαφέρει) σχετικά με το εάν θα προχωρήσει ή όχι με την CP του προφίλ στεροειδών του δείγματος.

4.5. Επέκταση Ενότητας Στεροειδών με Χρήση Δειγμάτων Αίματος

Τον Ιούλιο του 2023, ο WADA δημοσίευσε τις Εργαστηριακές Οδηγίες για την Ποσοτικοποίηση Ενδογενών Στεροειδών στο Αίμα για το Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή (Quantification of Endogenous Steroids in Blood for the Athlete Biological Passport) επεκτείνοντας με τον τρόπο αυτό την Ενότητα Στεροειδών με χρήση και δειγμάτων αίματος. Η αναλυτική διαδικασία αφορά στη μέτρηση δύο δεικτών, της τεστοστερόνης και της ανδροστενδιόνης (ανδροστ-4-εν-3,17-διόνης, A4) οι οποίες είναι παρούσες φυσιολογικά στο αίμα και στον υπολογισμό του λόγου λόγος T/A4. Τα ενδογενή επίπεδα αυτών των δεικτών εξαρτώνται από το φύλο. Ο προσδιορισμός τους εμφανίζει αυξημένη ευαισθησία στον εντοπισμό χρήσης τεστοστερόνης από γυναίκες, και σχετικών με την τεστοστερόνη διαδερμικών σκευασμάτων.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των T, A4 βασίζεται σε υγρή χρωματογραφία/διαδοχική φασματομετρία μαζών (LC-MSⁿ, $n \geq 1$) ενώ οι προσδιοριζόμενες συγκεντρώσεις ενσωματώνονται στην Ενότητα Στεροειδών του ADAMS, ακολουθώντας παρόμοια μπαγιασιανή προσέγγιση με αυτήν των άλλων εννοτήτων.

4.5.1. Προαναλυτική Διαδικασία

Το Εργαστήριο παραλαμβάνει, συνήθως, δείγματα σε ψύξη αλλά όχι κατεψυγμένα, τα οποία έχουν συλλεγεί σε σωλήνες που περιέχουν γέλη διαχωρισμού ορού από αδρανές πολυμερές και ενεργοποιητή πήξης. Εναλλακτικά, σε περίπτωση που η πήξη και η φυγοκέντριση του δείγματος πραγματοποιηθούν πριν την παραλαβή από το Εργαστήριο, τα δείγματα μπορούν να παραληφθούν ως κατεψυγμένα δείγματα αίματος ή ως διαχωρισμένος ορός σε νέους σωλήνες. Με την παραλαβή, ελέγχεται, προφανώς, η ακεραιότητα των περιεκτών και η κατάσταση των δειγμάτων, για παράδειγμα το ενδεχόμενο αιμόλυσης. Δείγματα που παραλαμβάνονται ως μη διαχωρισμένο αίμα σε σωλήνες που περιέχουν γέλη διαχωρισμού ορού από αδρανές πολυμερές και ενεργοποιητή πήξης, υφίστανται την ακόλουθη επεξεργασία:

Αμφότερα τα δείγματα «Α» και «Β» φυγοκεντρούνται επί 10-15 min στις 1300-1500 g, το ταχύτερο δυνατόν. Το δείγμα «Β» καταψύχεται για πιθανή νέα ανάλυση. Μια ποσότητα δείγματος «Α» λαμβάνεται προς ανάλυση ενώ το υπόλοιπο φυλάσσεται. Η ποσότητα αναλύεται άμεσα ή μετά από φύλαξη στους 4 °C εντός 24 ωρών ή μετά από κατάψυξη στους -20 °C εάν η ανάλυση πραγματοποιηθεί μετά από την παρέλευση 24 ωρών.

Για την επιβεβαιωτική διαδικασία μια νέα ποσότητα «Α» δείγματος αναλύεται άμεσα μετά τη λήψη της.

Τα δείγματα φυλάσσονται στους -20 °C για διάστημα έως τριών μηνών ενώ για μεγαλύτερο διάστημα καταψύχονται στους -70 °C έως -80 °C.

Δείγματα που έχουν ήδη φυγοκεντρηθεί πριν την παραλαβή από το Εργαστήριο, εάν παραληφθούν σε ψύξη αναλύονται άμεσα ενώ εάν έχουν παραληφθεί κατεψυγμένα, παραμένουν σε κατάψυξη μέχρι την ανάλυση. Κατά την ανάλυση ποσότητα δείγματος «Α» λαμβάνεται προς ανάλυση, αμέσως μετά την πήξη του δείγματος.

4.5.2. Αναλυτική Διαδικασία

4.5.2.1. Αρχικός Ποσοτικός Προσδιορισμός

Η ληφθείσα ποσότητα δείγματος «Α» αναλύεται άπαξ, για τον ποσοτικό προσδιορισμό των T και A4. Στην ίδια παρτίδα ανάλυσης εντάσσονται δείγματα ελέγχου ποιότητας (quality control, QC) στη χαμηλή και υψηλή περιοχή συγκεντρώσεων των δεικτών. Οι συγκεντρώσεις (ng/mL) αναφέρονται στο ADAMS ενώ σε περίπτωση που οι συγκεντρώσεις βρίσκονται κάτω του ορίου ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ), το Εργαστήριο οφείλει να εξηγήσει την αδυναμία ποσοτικοποίησης. Περίπτωση αιμόλυσης πρέπει επίσης να καταγραφεί.

4.5.2.2. Επιβεβαίωση Ποσοτικού Προσδιορισμού

Σε περίπτωση που ζητηθεί από την Αρχή Ελέγχου, την Αρχή Διαχείρισης Αποτελεσμάτων ή τον WADA, το Εργαστήριο οφείλει να προβεί σε επιβεβαίωση του ποσοτικού προσδιορισμού. Μια νέα ληφθείσα ποσότητα δείγματος «Α» αναλύεται άπαξ, για την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των T και A4. Στην ίδια παρτίδα ανάλυσης εντάσσεται τουλάχιστον ένα δείγμα QC με βάση το αποτέλεσμα του αρχικού ποσοτικού προσδιορισμού. Αποτελέσματα και παρατηρήσεις αναφέρονται όπως στην περίπτωση του αρχικού ποσοτικού προσδιορισμού.

Οι απαιτήσεις για την αναλυτική διαδικασία συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Table 1: Analytical Testing Procedure Validation and Performance Requirements for the initial and confirmatory quantification of blood (serum) endogenous steroid Markers.

Markers	Testosterone (T) , total unconjugated fraction Androstenedione (Androst-4-ene-3,17-dione, A4) , total unconjugated fraction
Method and Instrumentation	Liquid Chromatography combined with tandem Mass Spectrometry based on triple quadrupole or HRMS analyzer (LC-MS ⁿ ; n ≥ 1).
Range of the Method	Shall cover the ranges of <i>Marker</i> concentrations normally found in males and females and demonstrate linearity between 0.1 – 10 ng/mL (~ 0.35 – 35 nmol/L) , at least.
Limits of Quantification (LOQ)	The LOQ shall be determined during method validation and is defined as the lowest concentration with an associated u_c (%) not greater than (\leq) 30% and shall be not greater than (\leq) 0.1 ng/mL (~ 0.35 nmol/L) .
Relative Standard Combined Measurement Uncertainty, u_c (%)	The estimated u_c (%) shall be no greater than (\leq) 30% at the LOQ ; and not greater than (\leq) 20% when the <i>Marker</i> concentration is greater than ($>$) 0.3 ng/mL.
Sample	<i>Marker</i> quantification shall be conducted on one serum <u>Aliquot</u> of no greater than (\leq) 100 μL .
Internal Standards	Adequate isotopic-labelled internal standards shall be used for both <i>Markers</i> (e.g., Testosterone-d3 (16,16,17-d3) ⁱⁱ and Androstenedione-d3 (19-d3) ⁱⁱⁱ).
Calibration	Calibration standard(s) shall be included in each sequence of analysis. The " <i>Multilevel Serum Calibrator Set</i> " from Chromsystem ^{iv} is recommended. Other calibrators may be used as long as the method performance criteria are met.
Quality Control	At least two (2) quality control (QC) samples in serum containing representative low (e.g., 0.5 ng/mL) and high (e.g., 5 ng/mL) concentrations of the <i>Markers</i> shall be included in each analytical batch. The QCs should be prepared from authentic samples, or by spiking with a standard solution independent from that used for the calibrator(s).

Εικόνα 9: Απαιτήσεις αναλυτικής διαδικασίας για τον ποσοτικό προσδιορισμό ενδογενών στεροειδών δεικτών σε αίμα (ορό). (WADA Laboratory Guidelines, Quantification of Endogenous Steroids in Blood for the Athlete Biological Passport, 2023)

5. Ενδοκρινική Ενότητα Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή

Στόχος της ενδοκρινικής ενότητας της ABP είναι η ανίχνευση αυξητικών παραγόντων, όπως η αυξητική ορμόνη (GH). Πρόκειται για μια πεπτιδική ορμόνη που παρουσιάζει πολλές ισομορφές και της οποίας η κύρια λειτουργία είναι να διεγείρει την κυτταρική ανάπτυξη και την αναγέννηση των κυττάρων. Η χρήση της GH στον αθλητισμό ξεκίνησε στις αρχές της δεκαετίας του 1980. Το 1985, η GH ήταν μια από τις πρώτες ορμόνες που παρήχθησαν με τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA. Στα μέσα της δεκαετίας του 2000 εισήχθη για πρώτη φορά μια δοκιμή αντιντόπινγκ βασισμένη σε μονοκλωνικά αντισώματα για την ανίχνευση της ανασυνδυασμένης GH (Bidlingmaier et al. 2009). Ταυτόχρονα, ανακαλύφθηκαν διάφοροι βιοδείκτες που επηρεάζονται από την παρουσία της GH και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες ντόπινγκ όπως ο αυξητικός παράγοντας τύπου ινσουλίνης (IGF)-1 και η πρωτεΐνη δέσμευσης IGF (IGFBP-3) που αφορούν τη δράση της GH στο ήπαρ και το N-τελικό πεπτίδιο προκολλαγόνου III (P-III-NP) που σχετίζεται με τη δράση της GH στους μαλακούς ιστούς (Erotokritou-Mulligan et al. 2007). Μια μέθοδος ανίχνευσης που βασίζεται σε τέτοιους βιοδείκτες έχει μεγάλη ευαισθησία όχι μόνο για όλες τις μορφές άμεσου ντόπινγκ GH αλλά και για όλους τους διεγέρτες της έκκρισης GH, συμπεριλαμβανομένης της γκρελίνης, της ορμόνης απελευθέρωσης της GH και άλλων εκκριτικών ορμονών όπως πεπτίδια απελευθέρωσης GH (GRPH-2 και GRPH-6), ακόμη και σε περιπτώσεις γονιδιακού ντόπινγκ (Robinson et al. 2017).

Το IGF-1 και το πεπτίδιο του προκολλαγόνου III αποτέλεσαν τη βάση του τεστ GH-2000 που εφαρμόστηκε για πρώτη φορά κατά τη διάρκεια των Ολυμπιακών Αγώνων του 2012. Η εγκυρότητα των συγκεκριμένων δεικτών στην ανίχνευση ντόπινγκ αξιολογήθηκε για διάφορους παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο, η εθνικότητα, η άσκηση, ο τραυματισμός των οστών και των μαλακών ιστών (Guha et al. 2010). Το πλεονέκτημα χρήσης των συγκεκριμένων βιοδεικτών είναι ότι διαφοροποιούνται ελάχιστα σε κάθε άτομο επομένως η χρήση τους στην ανίχνευση τόσο του άμεσου όσο και του έμμεσου ντόπινγκ GH αυξάνει την ευαισθησία της μεθόδου (Erotokritou-Mulligan et al. 2010; Knies et al. 2013). Ωστόσο, επειδή αυτές οι ενδοατομικές παραλλαγές περιλαμβάνουν τόσο αναλυτικά όσο και βιολογικά κριτήρια και επειδή η ακριβής γνώση αυτών των παραλλαγών με βάση τις αυστηρές διαδικασίες που εφαρμόζονται στο ABP εξακολουθεί να λείπει σήμερα, απαιτούνται πρόσθετες μελέτες για την εφαρμογή αυτών των βιοδεικτών σε μια ενδοκρινολογική ενότητα του ABP (Cox et al. 2014; Robinson et al. 2017).

Σε κάθε περίπτωση όπως συμβαίνει και με τις υπόλοιπες ενότητες του ABP, η ενδοκρινολογική ενότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για δοκιμές άμεσης ανίχνευσης της GH χρησιμοποιώντας την ανοσοδοκιμασία ισομορφής και των παραγόντων διέγερσης της έκκρισης της GH με φασματομετρία μάζας (Thevis et al. 2014) όσο και για τον εντοπισμό παραβίασης κανόνα αντιντόπινγκ. Η γνώση που

αποκτάται κατά την εφαρμογή των ενοτήτων αίματος και στεροειδών θα διευκολύνει την εφαρμογή της ενδοκρινικής ενότητας και οποιασδήποτε μελλοντικής ενότητας του ABP.

Τον Ιούλιο του 2023, ο WADA δημοσίευσε τις Εργαστηριακές Οδηγίες για τις Αναλυτικές Απαιτήσεις για την Ενδοκρινή Ενότητα του Βιολογικού Διαβατηρίου Αθλητή (Analytical Requirements for the Endocrine Module of the Athlete Biological Passport) ενεργοποιώντας με τον τρόπο αυτό την Ενδοκρινή Ενότητα. Η αναλυτική διαδικασία αφορά στη μέτρηση δύο δεικτών βιολογικής δραστηριότητας της GH, του IGF-1 και του P-III-NP. οι οποίοι είναι παρόντες φυσιολογικά στο αίμα και οι συγκεντρώσεις των οποίων αυξάνονται μετά τη χορήγηση GH. Οι συγκεντρώσεις των δύο δεικτών συνδυάζονται με μια εξίσωση ώστε να διαμορφωθεί ο δείκτης GH-2000 score, ο οποίος εξαρτάται από το φύλο και περιλαμβάνει διόρθωση ηλικίας.

Ο δείκτης GH-2000 score υπολογίζεται ως εξής (Powrie et al.):

Άνδρες: $-6,586 + 2,905 \times p3p + 2,100 \times igf - 101,737/ηλικία$

Γυναίκες: $-8,459 + 2,454 \times p3p + 2,195 \times igf - 73,666/ηλικία$

Όπου $igf = \log[IGF-I]$ και $p3p = \log[P-III-NP]$

Προκειμένου να δημιουργηθούν μεμονωμένα μακροχρόνια δεδομένα αθλητή που είναι συγκρίσιμα μεταξύ των εργαστηρίων, εφαρμόζεται ένας εξειδικευμένος προσδιορισμός IGF-I / P-III-NP για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων του IGF-I και του P-III-NP στο αίμα (ορό) για τους σκοπούς του ABP. Οι προσδιορισμοί που χρησιμοποιούνται για την Ενδοκρινική Ενότητα του ABP είναι:

- Ποσοτικοποίηση ανέπαφου IGF-I με Υγρή Χρωματογραφία-(Διαδοχική) Φασματομετρία Μάζας (LC-MSⁿ; n ≥ 1) 12.
- Ποσοτικοποίηση P-III-NP με χρήση ανοσοδοκιμασίας χημειοφωταύγειας Siemens ADVIA Centaur P-III-NP (Siemens Healthcare Laboratory Diagnostics, Camberley, UK). Η δοκιμασία Siemens ADVIA Centaur P-III-NP είναι μια αυτοματοποιημένη, δύο θέσεων, ανοσοδοκιμασία σάντουιτς χημειοφωταύγειας.

Για τους σκοπούς του ABP, πραγματοποιείται μια αρχική ποσοτικοποίηση του Δείγματος «Α». Όταν ζητηθεί, μπορεί επιπλέον να πραγματοποιηθεί επιβεβαιωτική ποσοτικοποίηση του Δείγματος «Α» χρησιμοποιώντας το ίδιο ζεύγος προσδιορισμού για να επιβεβαιωθούν οι συγκεντρώσεις και να πραγματοποιηθεί ταυτοποίηση του IGF-I (σύμφωνα με το TD IDCR14).

5.1. Προαναλυτική Διαδικασία

Το Εργαστήριο παραλαμβάνει, συνήθως, δείγματα σε ψύξη αλλά όχι κατεψυγμένα, τα οποία έχουν συλλεγεί σε σωλήνες που περιέχουν γέλη διαχωρισμού ορού από αδρανές πολυμερές και ενεργοποιητή πήξης. Εναλλακτικά, σε περίπτωση που η πήξη και η φυγοκέντριση του δείγματος πραγματοποιηθούν πριν την παραλαβή από το Εργαστήριο, τα δείγματα μπορούν να παραληφθούν ως κατεψυγμένα δείγματα αίματος σε νέους σωλήνες. Με την παραλαβή, ελέγχεται, προφανώς, η ακεραιότητα των περιεκτών και η κατάσταση των δειγμάτων. Δείγματα που παραλαμβάνονται ως μη διαχωρισμένο αίμα σε σωλήνες που περιέχουν γέλη διαχωρισμού ορού από αδρανές πολυμερές και ενεργοποιητή πήξης, υφίστανται την ακόλουθη επεξεργασία:

Αμφότερα τα δείγματα «Α» και «Β» φυγοκεντρούνται επί 10-15 min στις 1300-1500 g, το ταχύτερο δυνατόν. Το δείγμα «Β» καταψύχεται για πιθανή νέα ανάλυση. Δύο ποσότητες δείγματος «Α» λαμβάνονται προς ανάλυση ενώ το υπόλοιπο φυλάσσεται. Οι ποσότητες αναλύονται άμεσα ή μετά από φύλαξη στους 4 °C εντός 24 ωρών ή μετά από κατάψυξη στους -20 °C εάν η ανάλυση πραγματοποιηθεί μετά από την παρέλευση 24 ωρών.

Για την επιβεβαιωτική διαδικασία δύο νέες ποσότητες «Α» δείγματος αναλύονται άμεσα μετά τη λήψη τους.

Τα δείγματα φυλάσσονται στους -20 °C για διάστημα έως τριών μηνών ενώ για μεγαλύτερο διάστημα καταψύχονται στους -70 °C έως -80 °C.

Δείγματα που έχουν ήδη φυγοκεντρηθεί πριν την παραλαβή από το Εργαστήριο, εάν παραληφθούν σε ψύξη αναλύονται άμεσα ενώ εάν έχουν παραληφθεί κατεψυγμένα, παραμένουν σε κατάψυξη μέχρι την ανάλυση. Κατά την ανάλυση ποσότητα δείγματος «Α» λαμβάνεται προς ανάλυση, αμέσως μετά την πήξη του δείγματος.

5.2. Αναλυτική Διαδικασία

5.2.1. Αρχικός Ποσοτικός Προσδιορισμός

Οι δύο ληφθείσες ποσότητες δείγματος «Α» αναλύονται άπαξ, για τον ποσοτικό προσδιορισμό των IGF-1 και P-III-NP. Στην ίδια παρτίδα ανάλυσης εντάσσονται δείγματα ελέγχου ποιότητας (quality control, QC) στη χαμηλή και υψηλή περιοχή συγκεντρώσεων των δεικτών. Ο συντελεστής διακύμανσης (coefficient of variation, CV%) δεν πρέπει να υπερβαίνει τη σχετική αβεβαιότητα της μέτρησης. Η μέση συγκέντρωση (ng/mL) των δεικτών αναφέρονται στο ADAMS ενώ σε περίπτωση που οι συγκεντρώσεις βρίσκονται κάτω του ορίου ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ), το Εργαστήριο οφείλει να εξηγήσει την αδυναμία ποσοτικοποίησης. Περίπτωση αιμόλυσης πρέπει επίσης να καταγραφεί.

5.2.2. Επιβεβαίωση Ποσοτικού Προσδιορισμού

Σε περίπτωση που ζητηθεί από την Αρχή Ελέγχου, την Αρχή Διαχείρισης Αποτελεσμάτων ή τον WADA, το Εργαστήριο οφείλει να προβεί σε επιβεβαίωση του ποσοτικού προσδιορισμού. Δύο νέες ληφθείσες ποσότητες δείγματος «Α» αναλύονται άπαξ, για την ταυτοποίηση του IGF-1 και τον ποσοτικό προσδιορισμό αμφοτέρων των δεικτών. Στην ίδια παρτίδα ανάλυσης εντάσσεται τουλάχιστον ένα δείγμα QC με βάση το αποτέλεσμα του αρχικού ποσοτικού προσδιορισμού. Αποτελέσματα και παρατηρήσεις αναφέρονται όπως στην περίπτωση του αρχικού ποσοτικού προσδιορισμού.

Οι απαιτήσεις για την αναλυτική διαδικασία του IGF-1 συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Table 2. Analytical Testing Procedure Validation and Performance Requirements for the initial and confirmatory quantification of IGF-I in blood (serum) Samples by top-down LC-MSⁿ for the Endocrine Module of the ABP.

Method and Instrumentation	Top-down (intact IGF-I) Liquid Chromatography combined with (Tandem) Mass Spectrometry based on triple quadrupole or HRMS (LC-MS ⁿ ; n ≥ 1).
Range of the Method	Shall cover the ranges of IGF-I concentrations normally found in males and females and demonstrate linearity between 50–1000 ng/mL , at least.
Limit of Quantification (LOQ)	The LOQ shall not be greater than (≤) 50 ng/mL .
Maximum Relative Combined Standard Measurement Uncertainty u_c (%)	The estimated u_c (%) shall not be greater than (≤) 20% .
Sample	IGF-I quantification shall be conducted in duplicate (using two Aliquots of the "A" Sample) using a volume not greater than (≤) 50 μL of serum per replicate.
Internal Standard	Stable isotope-labeled IGF-I (e.g., NIST ⁱⁱ or ProSpec ⁱⁱⁱ ¹⁵ N-IGF-I).
Calibration	A freshly prepared single point calibrator (SPC) shall be included in each analytical batch. The Recombinant Human IGF-I calibrator from NIST (SRM 2926 ^{iv}) should be used to prepare the SPC. Any other calibration material shall be validated against the NIST SRM 2926 calibrator.

Εικόνα 10: Απαιτήσεις αναλυτικής διαδικασίας για τον ποσοτικό προσδιορισμό IGF-1 σε αίμα (ορό). (WADA Laboratory Guidelines, Analytical Requirements for the Endocrine Module of the Athlete Biological Passport, 2023)

6. Άτυπο Εύρημα Διαβατηρίου (Atypical Passport Finding) (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023)

6.1 Ενότητα Αίματος

Για την Αιματολογική Ενότητα, το Προσαρμοστικό Μοντέλο επεξεργάζεται αυτόματα στο ADAMS δύο κύριους δείκτες, τη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (HGB) και τον δείκτη OFFscore (OFFS) και επιπλέον δύο δευτερεύοντες δείκτες, το ποσοστό δικτυοερυθροκυττάρων (RET%) και τη βαθμολογία ανώμαλου

προφίλ αίματος (ABPS). Ένα άτυπο εύρημα διαβατηρίου δημιουργείται όταν μια τιμή HGB και/ή OFFS από τον τελευταίο έλεγχο είναι εκτός των αναμενόμενων ορίων του συγκεκριμένου ατόμου. Επιπλέον, το διαμήκης προφίλ που αποτελείται από /έως τις τελευταίες πέντε έγκυρες τιμές HGB ή/και OFFS θεωρείται επίσης ως άτυπο εύρημα διαβατηρίου όταν υπάρχει απόκλιση από το αναμενόμενο εύρος. Ένα άτυπο εύρημα διαβατηρίου δημιουργείται μόνο από το προσαρμοστικό μοντέλο με βάση τις τιμές των αρχικών τιμών των δεικτών HGB και OFFS ή την ακολουθία αυτών. Σε περίπτωση εύρεσης άτυπου ευρήματος διαβατηρίου, η Μονάδα Διαχείρισης Διαβατηρίων Αθλητή θα ενημερώσει την Αρχή Διαχείρισης Αποτελεσμάτων (ή την Αρχή Δοκιμών κατά περίπτωση) είτε στην αναφορά της μονάδας διαχείρισης διαβατηρίων αθλητών είτε μέσω του Επιτρόπου Διαβατηρίου όπου αυτό χρειάζεται, σχετικά με το εάν το δείγμα θα πρέπει να υποβληθεί σε ανάλυση για παράγοντες που επηρεάζουν την ερυθροποίηση. Η μονάδα διαχείρισης διαβατηρίων αθλητών θα πρέπει επίσης να παρέχει πληροφορίες για την ανάλυση παραγόντων που επηρεάζουν την ερυθροποίηση όταν το προσαρμοστικό μοντέλο ανιχνεύει μια ανωμαλία στους δευτερεύοντες δείκτες RET% και/ή ABPS.

6.2 Ενότητα Στεροειδών

Για την ενότητα στεροειδών, το προσαρμοστικό μοντέλο επεξεργάζεται αυτόματα στο ADAMS έναν κύριο δείκτη, την αναλογία T/E και τέσσερις (4) δευτερεύοντες δείκτες, τις αναλογίες A/T, A/Etio, 5αAdiol/5βAdiol και 5βAdiol/E. Ένα εύρημα διαβατηρίου θεωρείται άτυπο όταν μια τιμή του λόγου T/E είναι εκτός των αναμενόμενων ορίων του ίδιου ατόμου. Επιπλέον, το «διαμήκης προφίλ στεροειδών» που αποτελείται από /έως τις τελευταίες πέντε (5) έγκυρες τιμές του λόγου T/E θεωρείται επίσης ως άτυπο όταν αποκλίνει από τις αναμενόμενες τιμές όπως αυτές προσδιορίζονται από το προσαρμοστικό μοντέλο.

Στην περίπτωση ενός "διαμήκους προφίλ στεροειδούς", ένα άτυπο εύρημα διαβατηρίου που προκαλείται από μια υψηλή τιμή T/E θα ενεργοποιήσει τη διαδικασία επιβεβαίωσης του άτυπου διαβατηρίου μέσω του ADAMS. Όταν το Προσαρμοστικό Μοντέλο προσδιορίσει μια ανωμαλία σε οποιαδήποτε από τις άλλες αναλογίες του «προφίλ στεροειδών» (A/T, A/Etio, 5αAdiol/5βAdiol και 5βAdiol/E), η Μονάδα Διαχείρισης Διαβατηρίων Αθλητή θα πρέπει να ενημερώσει την Αρχή Διαχείρισης Αποτελεσμάτων (ή Εξεταστική Αρχή κατά περίπτωση) είτε στην αναφορά της μονάδας διαχείρισης διαβατηρίων αθλητών ή μέσω του Επιτρόπου Διαβατηρίου όπου αυτό χρειάζεται, σχετικά με το εάν το δείγμα πρέπει να υποβληθεί σε διαδικασία επιβεβαίωσης.

7.Αξιολόγηση διαβατηρίου (Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023)

7.1 Αρχική αξιολόγηση

Ένα διαβατήριο με ένα άτυπο εύρημα διαβατηρίου θα αποστέλλεται από τη μονάδα διαχείρισης διαβατηρίων αθλητών σε έναν εμπειρογνώμονα για έλεγχο στο ADAMS. Αυτό θα πρέπει να πραγματοποιηθεί εντός επτά (7) ημερών από τον εντοπισμό του άτυπου ευρήματος διαβατηρίου στο ADAMS. Ο έλεγχος του διαβατηρίου θα γίνεται με βάση τις πληροφορίες που αναγράφονται στο διαβατήριο καθώς και άλλες βασικές πληροφορίες όπως το προγράμματα αγώνων του συγκεκριμένου αθλητή όταν αυτά είναι διαθέσιμα. Στις περιπτώσεις που το αποτέλεσμα που προκύπτει από τις αναλύσεις του εργαστηρίου είναι μια υψηλή τιμή T/E, τότε το δείγμα υποβάλλεται πρώτα σε διαδικασία επιβεβαίωσης, συμπεριλαμβανομένης της ανάλυσης GC/C/IRMS. Στην περίπτωση που το αποτέλεσμα της ανάλυσης είναι αρνητικό ή ασαφές, τότε η μονάδα διαχείρισης διαβατηρίων αθλητή θα ζητήσει έλεγχο από εμπειρογνώμονα. Όταν η ανάλυση GC/C/IRMS αποδίδει δυσμενές αναλυτικό εύρημα (AAF) τότε δεν απαιτείται μονάδα διαχείρισης διαβατηρίων αθλητή ή έλεγχος από εμπειρογνώμονα.

Ένα διαβατήριο μπορεί να αποσταλεί για αξιολόγηση από εμπειρογνώμονα ακόμα και εάν δεν υπάρχει άτυπο εύρημα διαβατηρίου αλλά υπάρχουν στοιχεία που δικαιολογούν την επανεξέταση. Αυτά περιλαμβάνουν:

- α) Δεδομένα που δεν λαμβάνονται υπόψη στο Προσαρμοστικό Μοντέλο.
- β) Τυχόν μη φυσιολογικά επίπεδα και/ή παραλλαγές του δείκτη/ων.
- γ) Ενδείξεις αραίωσης του αίματος στην ενότητα αίματος του διαβατηρίου.
- δ) Επίπεδα στεροειδών στα ούρα κάτω από το αντίστοιχο όριο λόγω δυσκολίας ανίχνευσης από το μηχάνημα.

7.2 Αξιολόγηση Διαβατηρίου

Κατά την αξιολόγηση ενός διαβατηρίου, ένας εμπειρογνώμονας συγκρίνει την πιθανότητα τα αποτελέσματα του διαβατηρίου να είναι αποτέλεσμα της χρήσης απαγορευμένης ουσίας ή απαγορευμένης μεθόδου έναντι της πιθανότητας να είναι αποτέλεσμα μιας φυσιολογικής ή παθολογικής κατάστασης, προκειμένου να παρέχει μία από τις ακόλουθες απόψεις: «Κανονικό», «Υποπτο», «Πιθανή χρήση ντόπινγκ» ή «Πιθανή παθολογική κατάσταση». Στην περίπτωση «Πιθανή χρήση ντόπινγκ», ο εμπειρογνώμονας θα καταλήξει στο συμπέρασμα ότι η πιθανότητα το διαβατήριο να είναι αποτέλεσμα της χρήσης απαγορευμένης ουσίας ή απαγορευμένης μεθόδου υπερτερεί της

πιθανότητας το διαβατήριο να είναι αποτέλεσμα μιας φυσιολογικής ή παθολογικής κατάστασης . Ανάλογα με το αποτέλεσμα του αρχικού ελέγχου, η μονάδα διαχείρισης διαβατηρίων αθλητών θα προβεί στις ακόλουθες ενέργειες:

<u>Expert Evaluation</u>	<u>Athlete Passport Management Unit Action</u>
“Normal”	Continue normal <i>Testing</i> plan.
“Suspicious”	Provide recommendations to the <u>Passport Custodian</u> for <i>Target Testing</i> , <i>Sample analysis</i> and/or requesting further information as required.
“Likely doping”	Send to a panel of three (3) <u>Experts</u> , including the initial <u>Expert</u> , as per section C.2 of this Annex C.
“Likely medical condition”	Inform the <i>Athlete</i> as soon as possible via the <u>Passport Custodian</u> (or send to other <u>Experts</u>).

Εικόνα 11: Αξιολόγηση διαβατηρίου από Experts ακόλουθες ενέργειες από μονάδα διαχείρισης διαβατηρίου (*Athlete Biological Passport Operating Guidelines, 2023*)

Σε περίπτωση που η απόφαση του αρχικού εμπειρογνώμονα στην αρχική αξιολόγηση είναι αυτή του «Πιθανή χρήση ντόπινγκ», τότε το διαβατήριο θα αποσταλεί στη συνέχεια από τη μονάδα διαχείρισης διαβατηρίων αθλητών σε δύο (2) επιπλέον εμπειρογνώμονες για έλεγχο. Αυτό θα πρέπει να πραγματοποιηθεί εντός επτά (7) ημερών μετά την αναφορά της αρχικής αξιολόγησης. Η επιπρόσθετη αξιολόγηση πραγματοποιείται χωρίς να υπάρχει ενημέρωση για τα αποτελέσματα της αρχικής αξιολόγησης. Αυτοί οι τρεις (3) εμπειρογνώμονες αποτελούν πλέον την ομάδα εμπειρογνομόνων, που αποτελείται από τον εμπειρογνώμονα που ανέλαβε την αρχική αξιολόγηση και από τους άλλους δύο εμπειρογνώμονες. Για να καταχωρηθεί ένα εύρημα διαβατηρίου ως αντικανονικό απαιτείται ομόφωνη απόφαση μεταξύ των τριών εμπειρογνομόνων.

Στην περίπτωση που οι δύο εμπειρογνώμονες αξιολογήσουν το διαβατήριο ως «Πιθανή χρήση ντόπινγκ» και ο τρίτος εμπειρογνώμονας ως «Ύποπτο» ζητώντας περισσότερες πληροφορίες, τότε η μονάδα διαχείρισης διαβατηρίων αθλητή θα επικοινωνήσει με την ομάδα εμπειρογνομόνων πριν την

οριστικοποίηση της απόφασης. Η ομάδα εμπειρογνομόνων έχει τη δυνατότητα να ζητήσει συμβουλές από έναν εξωτερικό εμπειρογνώμονα με την προϋπόθεση ότι προστατεύονται τα προσωπικά δεδομένα του αθλητή.

Στην περίπτωση που δεν υπάρξει ομοφωνία μεταξύ των τριών εμπειρογνομόνων, τότε η μονάδα διαχείρισης διαβατηρίων αθλητή θα αναφέρει το διαβατήριο ως «Υποπτο», θα ενημερώνει την αναφορά της και θα συστήσει στον Επίτροπο Διαβατηρίου να συνεχίσει πρόσθετες δοκιμές και/ή να συγκεντρώσει πληροφορίες σχετικά με τον αθλητή.

8. Διαχείριση αποτελεσμάτων-Ακροαματική διαδικασία-Ανακοίνωση απόφασης

Σε οποιοδήποτε πρόσωπο φέρεται ότι έχει παραβιάσει κανόνα αντιντόπινγκ, ο Εθνικός Οργανισμός Αντιντόπινγκ παρέχει μία δίκαιη ακροαματική διαδικασία εντός ευλόγου χρονικού διαστήματος από μια λειτουργικά ανεξάρτητη επιτροπή ακρόασεων. Ο Εθνικός Οργανισμός Αντιντόπινγκ συγκροτεί μία πρωτοβάθμια πειθαρχική επιτροπή που έχει δικαιοδοσία ακρόασης και καθορισμού για το εάν ένας αθλητής ή άλλο πρόσωπο που σχετίζεται με τον αθλητή έχει παραβιάσει κανόνα αντιντόπινγκ και κατά περίπτωση, για την επιβολή σχετικών ποινών. Η πρωτοβάθμια πειθαρχική επιτροπή του Εθνικού Οργανισμού Αντιντόπινγκ αποτελείται από έναν ανεξάρτητο πρόεδρο και οκτώ ανεξάρτητα μέλη.

Η πρωτοβάθμια πειθαρχική επιτροπή διεξάγει την ακροαματική διαδικασία και λαμβάνει αποφάσεις χωρίς παρέμβαση από τον Εθνικό Οργανισμό Αντιντόπινγκ. Στο τέλος της ακροαματικής διαδικασίας η Πρωτοβάθμια Πειθαρχική Επιτροπή του Εθνικού Οργανισμού Αντιντόπινγκ εκδίδει γραπτή απόφαση, η οποία περιλαμβάνει πλήρη αιτιολογία, την περίοδο αποκλεισμού που επιβλήθηκε, την ακύρωση των αποτελεσμάτων και τους λόγους για τους οποίους δεν επιβλήθηκαν οι μέγιστες δυνατές ποινές.

9. Παράβαση κανόνα αντιντόπινγκ

Εάν οι εμπειρογνώμονες καταλήξουν ότι το προφίλ ABP ταιριάζει με ένα προφίλ ντόπινγκ, τότε υποβάλλονται συστάσεις στην αρχή αντιντόπινγκ η οποία αναλαμβάνει τη διαδικασία για πιθανή παραβίαση των κανόνων αντιντόπινγκ. Ο Παγκόσμιος Κώδικας Αντιντόπινγκ του 2009 δίνει τη δυνατότητα επιβολής κυρώσεων σε έναν αθλητή για χρήση ντόπινγκ με βάση ένα διαπιστωμένο μη φυσιολογικό προφίλ αίματος ή ούρων (Zorzoli 2011).

Η διαδικασία που προβλέπεται από το WADA είναι η εξής:

- Ενημέρωση του αθλητή ότι ο Οργανισμός Αντιντόπινγκ (ADO) εξετάζει το ενδεχόμενο να του ασκήσει δίωξη παραβίαση του κανόνα αντιντόπινγκ.
- Παράδοση στον αθλητή αντιγράφου από οποιοδήποτε έγγραφο τίθεται στη διάθεση του εμπειρογνώμονα.
- Ο αθλητής έχει το δικαίωμα να αντικρούσει τον ισχυρισμό και να δώσει τη δική του εξήγηση για το άτυπο προφίλ. Μπορεί για παράδειγμα να αποδείξει ότι τα αποτελέσματα οφείλονται στην παρουσία μιας παθολογικής κατάστασης.

Η τελευταία εξήγηση εξετάζεται περαιτέρω από τους ειδικούς, οι οποίοι πρέπει τελικά να αποφασίσουν ομόφωνα εάν, κατά τη γνώμη τους, δεν υπάρχει γνωστή λογική εξήγηση για το μη φυσιολογικό προφίλ αίματος εκτός από τη χρήση μιας απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου. Σε μια τέτοια περίπτωση, οι τρεις ειδικοί υπογράφουν δήλωση βεβαιώνοντας ότι το προφίλ παρέχει «πειστικές αποδείξεις για τη χρήση μιας απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου» και κάνουν επίσημη σύσταση στον ADO να κινήσει πειθαρχική διαδικασία εναντίον του αθλητή (Zorzoli 2011).

10.Κυρώσεις

Σε περίπτωση που διαπιστωθεί ότι ένας αθλητής έχει κάνει παράβαση κανόνα αντιντόπινγκ τότε ακυρώνονται τα αποτελέσματα του στη συγκεκριμένη διοργάνωση. Η περίοδος αποκλεισμού είναι τα τέσσερα έτη όταν η παράβαση κανόνα αντιντόπινγκ δεν αφορά ουσία/μέθοδο ειδικής αναφοράς εκτός εάν ο αθλητής ή άλλο πρόσωπο που σχετίζεται με αυτόν μπορέσει να αποδείξει, ότι η παράβαση του κανόνα αντιντόπινγκ δεν έγινε με πρόθεση. Εάν ο αθλητής μπορεί να αποδείξει ότι οποιαδήποτε πρόσληψη ή χρήση πραγματοποιήθηκε εκτός αγώνα και δεν σχετίζεται με την αθλητική απόδοση, τότε η περίοδος αποκλεισμού είναι οι τρεις μήνες.

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι προβλεπόμενες ποινές:

ΑΡΘΡΟ	ΠΑΡΑΒΑΣΗ	ΠΟΙΝΗ
Άρθρο 2.1	Παρουσία της ουσίας ή των μεταβολιτών της ή των βιοδεικτών της στο δείγμα του αθλητή	
Άρθρο 2.2	Χρήση ή απόπειρα χρήσης απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου από τον αθλητή	
Άρθρο 2.3	Αποφυγή, άρνηση ή μη υποβολή δειγματοληψίας	Αποκλεισμός αθλητή για τα τέσσερα έτη
Άρθρο 2.4	Μη παροχή πληροφοριών εντοπισμού από αθλητή	Αποκλεισμός αθλητή για δύο έτη με δυνατότητα μείωσης στο ένα έτος ανάλογα με το βαθμό υπαιτιότητας του αθλητή.
Άρθρο 2.5	Παραποίηση ή απόπειρα παραποίησης μέρους της διαδικασίας από τον αθλητή ή άλλο πρόσωπο	Αποκλεισμός αθλητή για τέσσερα έτη
Άρθρο 2.6	Κατοχή απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου από αθλητή ή προσωπικό υποστήριξης αθλητή.	
Άρθρο 2.7	Διακίνηση ή απόπειρα διακίνησης απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου από αθλητή ή άλλο πρόσωπο	Περίοδος αποκλεισμού από τέσσερα έτη έως ισόβιο αποκλεισμό ανάλογα με τη σοβαρότητα της παράβασης.

Άρθρο 2.8	Χορήγηση ή απόπειρα χορήγησης από αθλητή ή άλλο πρόσωπο προς αθλητή απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου	Περίοδος αποκλεισμού από τέσσερα έτη έως ισόβιο αποκλεισμό ανάλογα με τη σοβαρότητα της παράβασης.
Άρθρο 2.9	Συνέργεια ή απόπειρα συνέργειας από έναν αθλητή ή άλλο πρόσωπο	Η περίοδος αποκλεισμού είναι από δύο έτη έως ισόβιο αποκλεισμό ανάλογα με τη σοβαρότητα της παράβασης.
Άρθρο 2.10	Απαγορευμένη σύμπραξη από αθλητή ή άλλο πρόσωπο	Η περίοδος αποκλεισμού είναι τα δύο έτη με δυνατότητα μείωσης της ποινής στο ένα έτος ανάλογα με το βαθμό ευθύνης του αθλητή ή προσώπου που σχετίζεται με αυτόν.
Άρθρο 2.11	Πράξεις αθλητή ή άλλου προσώπου που εμποδίζουν αναφορά στις Αρχές ή αποτελούν ανίποινα κατά τέτοιας αναφοράς	Η περίοδος αποκλεισμού είναι από δύο έτη έως τον ισόβιο αποκλεισμό ανάλογα με τη σοβαρότητα της παράβασης είτε από τον αθλητή είτε από πρόσωπο που σχετίζεται με αυτόν.

Εάν ο Εθνικός Οργανισμός Αντιντόπινγκ διαπιστώσει σε μεμονωμένη υπόθεση που αφορά σε παράβαση κανόνα αντιντόπινγκ, εκτός από παραβάσεις των άρθρων 2.7., 2.8., 2.9. ή 2.11. ότι υφίστανται και στοιχεία που δικαιολογούν την επιβολή περιόδου αποκλεισμού μεγαλύτερη από την προβλεπόμενη κύρωση, τότε η περίοδος αποκλεισμού αυξάνεται έως δύο έτη, ανάλογα με τη σοβαρότητα της παράβασης και τη φύση των επιβαρυντικών περιστάσεων, εκτός εάν ο αθλητής ή το άλλο πρόσωπο μπορεί να αποδείξει ότι δεν διέπραξε εν γνώσει του την παράβαση.

Σε περιπτώσεις όπου ο αθλητής ή άλλο πρόσωπο που σχετίζεται με αυτόν μπορεί να αποδείξει ταυτόχρονα ότι δεν συντρέχει σοβαρή υπαιτιότητα και ότι η απαγορευμένη ουσία που ανιχνεύθηκε, εκτός από ουσία κατάχρησης, προήλθε από μολυσμένο προϊόν, τότε η επιβαλλόμενη ποινή κυμαίνεται από επίπληξη χωρίς περίοδο αποκλεισμού μέχρι δύο έτη αποκλεισμού ανάλογα με τον βαθμό υπαιτιότητας του αθλητή ή του άλλου προσώπου.

Σε περίπτωση δεύτερης παράβασης κανόνα αντινότιπινγκ εκ μέρους ενός αθλητή ή άλλου προσώπου, η περίοδος αποκλεισμού είναι το μεγαλύτερο από τα παρακάτω διαστήματα:

(α) περίοδος αποκλεισμού έξι μηνών ή

(β) περίοδος αποκλεισμού μεταξύ:

(i) του αθροίσματος της περιόδου αποκλεισμού, που επιβλήθηκε για την πρώτη παράβαση κανόνα αντινότιπινγκ και της περιόδου αποκλεισμού, που επιβάλλεται για τη δεύτερη παράβαση κανόνα αντινότιπινγκ, όπως θα αντιμετωπιζόταν αν επρόκειτο για πρώτη παράβαση

(ii) του διπλάσιου της περιόδου αποκλεισμού, που επιβάλλεται για τη δεύτερη παράβαση κανόνα αντινότιπινγκ, όπως θα αντιμετωπιζόταν αν επρόκειτο για πρώτη παράβαση.

Οι επιβαλλόμενες κυρώσεις σε περιπτώσεις και τρίτης παράβασης είναι ο ισόβιος αποκλεισμός.

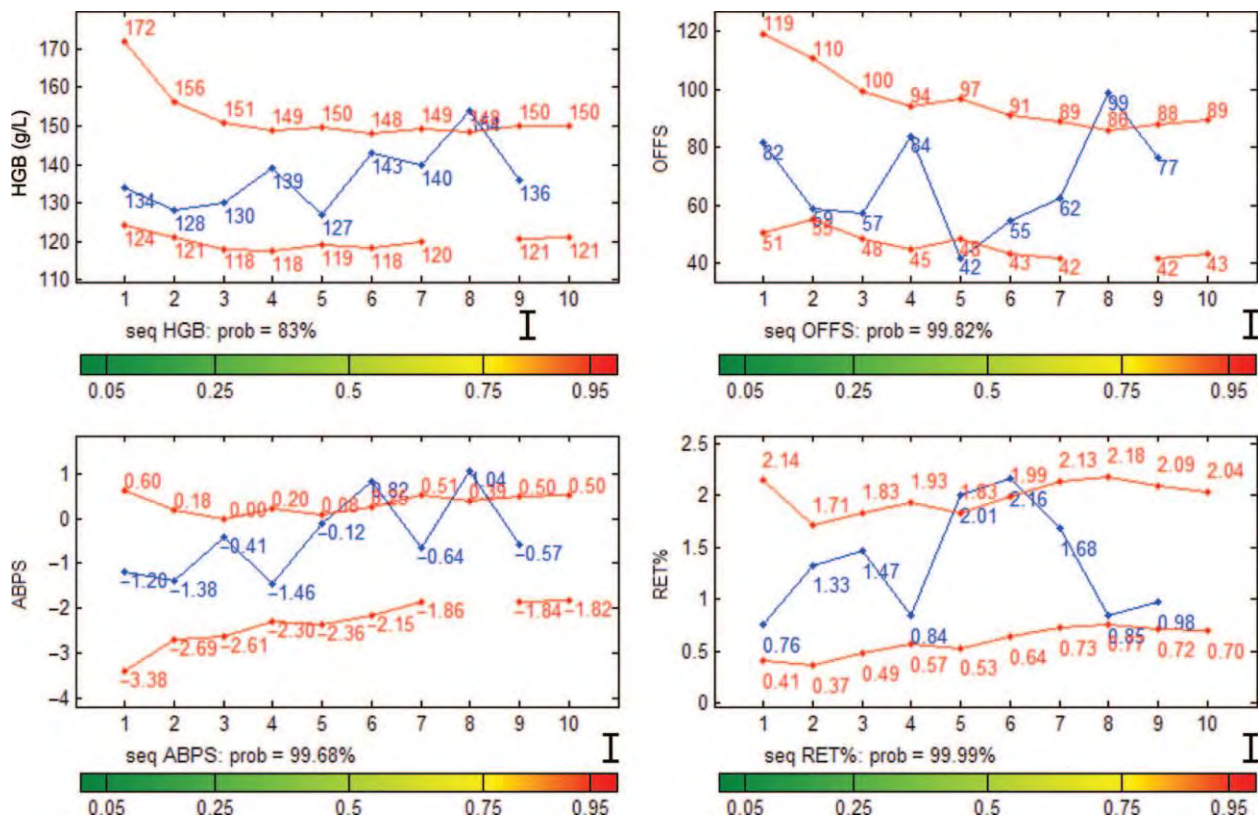
Στην περίπτωση των ομαδικών αθλημάτων όταν σε περισσότερα από ένα μέλη μίας ομάδας έχει γνωστοποιηθεί παράβαση κανόνα αντινότιπινγκ ο εποπτεύων φορέας της αθλητικής διοργάνωσης πραγματοποιεί στοχευμένους ελέγχους στην ομάδα κατά τη διάρκεια της αθλητικής διοργάνωσης. Αν περισσότερα από δύο μέλη μίας αθλητικής ομάδας έχουν διαπράξει παράβαση κανόνα αντινότιπινγκ κατά τη διάρκεια αθλητικής διοργάνωσης τότε επιβάλλεται από τον εποπτεύων φορέα η κατάλληλη κύρωση στην ομάδα.

11.Αποτελέσματα από βιβλιογραφία

Μόλις εξαχθούν τα πρωτογενή δεδομένα, εφαρμόζεται ένα στατιστικό προσαρμοστικό μοντέλο. Αυτό το μοντέλο βασίζεται στη θεωρία Bayesian και στόχος του είναι να αξιολογήσει την πιθανότητα τα δεδομένα του διαβατηρίου να υποδηλώνουν μια φυσιολογική κατάσταση. Παρόμοια μοντέλα χρησιμοποιούνται για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου με βιοδείκτες της νόσου και σε κλινικές δοκιμές με βιοδείκτες ασφάλειας και αποτελεσματικότητας. Με τη χρήση του προσαρμοστικού αυτού μοντέλου προσδιορίζονται μη φυσιολογικά προφίλ που χρειάζονται επανεξέταση. Ένα προφίλ στο οποίο το προσαρμοστικό μοντέλο έχει εντοπίσει μη φυσιολογικό σκορ HGB ή OFF με πιθανότητα 99,9% ή περισσότερο τότε το διαβατήριο πρέπει να ελεγχθεί από μια ομάδα τριών ειδικών. Σε αυτή την περίπτωση είναι σημαντικό οι ειδικοί να έχουν διαφορετικό υπόβαθρο όπως αιματολογία, αθλητική ιατρική, φυσιολογία άσκησης ή ντόπινγκ αίματος έτσι ώστε το ανώνυμο προφίλ ενός αθλητή να μπορεί να αξιολογηθεί εκτενώς. Σε όλη τη διάρκεια της αξιολόγησης και προκειμένου να αξιολογηθεί καλύτερα το προφίλ, οι ειδικοί μπορούν να ζητήσουν πρόσθετες πληροφορίες, όπως την τοποθεσία των αθλητών, το πρόγραμμα των αγώνων, τα ταξίδια στα οποία συμμετείχαν, τα δεδομένα του εργαστηρίου

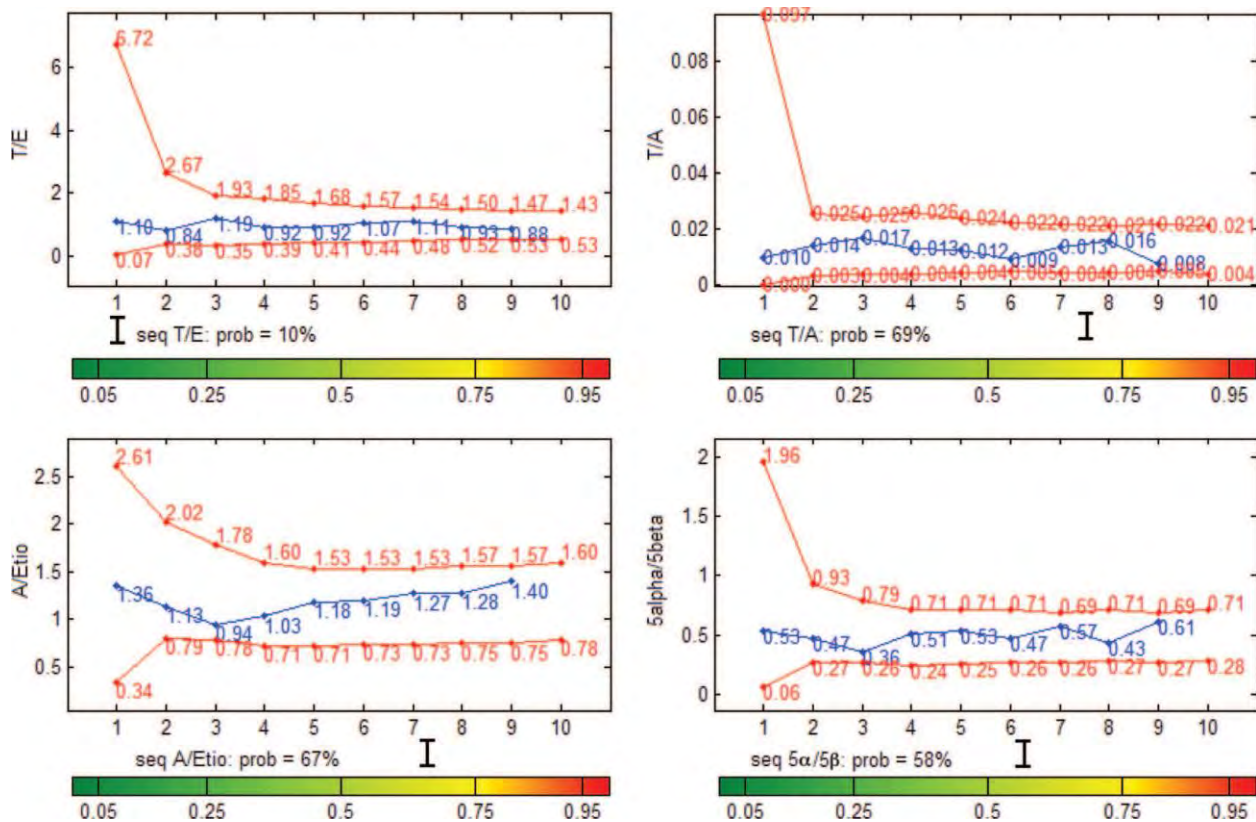
που πραγματοποίησαν τις δοκιμές ή ιατρικές πληροφορίες. Αφού αυτά αξιολογηθούν, οι ειδικοί μπορούν να διατυπώσουν ορισμένες συστάσεις και το προφίλ μπορεί να κριθεί ως φυσιολογικό, παθολογικό ή ως ύποπτο για ντόπινγκ(Zorzoli 2011).

Το 2008, η Union Cycliste Internationale ήταν η πρώτη αθλητική οργάνωση που εφάρμοσε την αιματολογική ενότητα του ABP για να αποτρέψει το ντόπινγκ αίματος στην ελίτ ποδηλασία και στη συνέχεια, αρκετοί ποδηλάτες τιμωρήθηκαν με αποκλειστικό κριτήριο τα μη φυσιολογικά αιματολογικά τους προφίλ. Στην εικόνα 9 φαίνεται η ενότητα αίματος από το βιολογικό διαβατήριο ενός ελίτ ποδηλάτη που εξετάστηκε σε 9 περιπτώσεις για 4 δείκτες ντόπινγκ αίματος: την αιμοσφαιρίνη (HGB), τον δείκτη διέγερσης OFF-score (OFFS), το μη φυσιολογικό προφίλ αίματος (ABPS) και το ποσοστό των δικτυοερυθροκυττάρων (RET%). Οι μπλε γραμμές αντιπροσωπεύουν τα πραγματικά αποτελέσματα των δοκιμών. Οι κόκκινες γραμμές υποδεικνύουν τα όρια πέρα από τα οποία το αποτέλεσμα της δοκιμής θεωρείται μη φυσιολογικό. Τα αρχικά όρια (π.χ. 124–172 g/L για την HGB) βασίζονται σε επιδημιολογικά κριτήρια του γενικού πληθυσμού και προσαρμόζονται όσο αυξάνεται ο αριθμός των ατομικών δεδομένων του αθλητή και τελικά προκύπτουν μεμονωμένα τα τελικά όρια για τον αθλητή (121–150 g/L για HGB) (Sottas et al. 2011). Οι χρωματικές γραμμές δείχνουν αποκλίσεις από τις φυσιολογικές τιμές (Sottas et al. 2010). Στις περιπτώσεις που τα αποτελέσματα των δοκιμών βρίσκονται εκτός των τελικών ορίων του κάθε αθλητή όπως συμβαίνει στη συγκεκριμένη περίπτωση και για τους τέσσερις βιοδείκτες τότε αυτό αποτελεί ένδειξη χρήσης ντόπινγκ. Ο συγκεκριμένος ποδηλάτης βρέθηκε θετικός στην παραλλαγή του rEPO CERA που είναι ένας υποδοχέας συνεχούς ερυθροποίησης (Sottas et al. 2011).



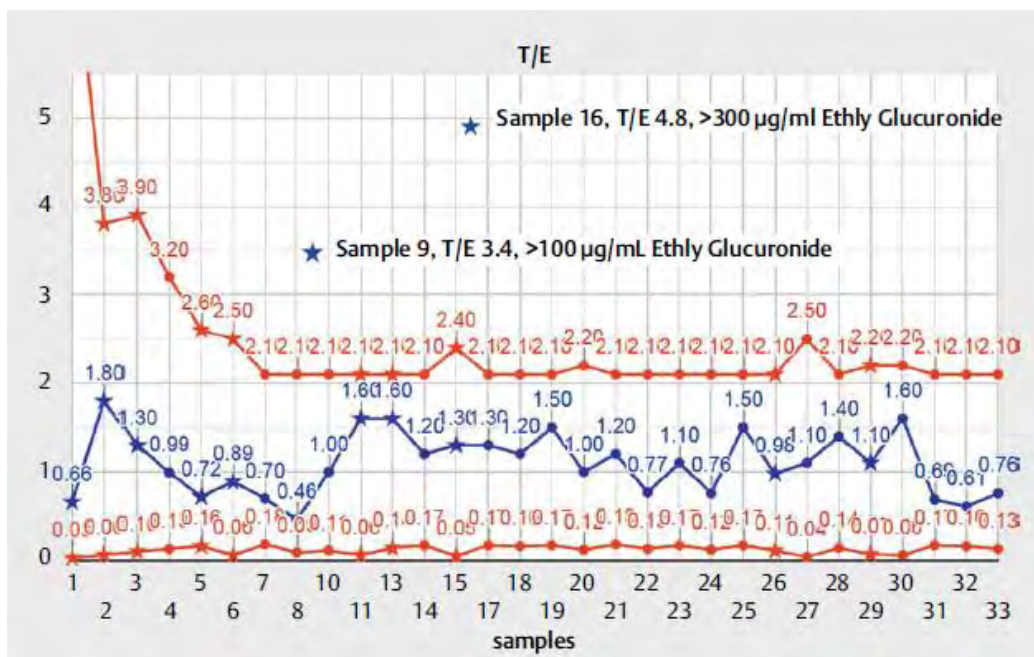
Εικόνα 12: Αιματολογικό προφίλ ποδηλάτη για τέσσερις βιοδείκτες αίματος (Sottas et al. 2011).

Αντίστοιχες δοκιμές εφαρμόζονται και για το προφίλ στεροειδών. Στην εικόνα 10 φαίνεται η ενότητα στεροειδών από το βιολογικό διαβατήριο ενός λευκού αθλητή που εξετάστηκε σε 9 περιπτώσεις, για 4 δείκτες ντόπινγκ στεροειδούς : την αναλογία τεστοστερόνης προς επιτεστοστερόνη (T/E), την αναλογία τεστοστερόνης προς ανδροστερόνη (T/A), την αναλογία ανδροστερόνης προς επιχοχολανολόνη (A/Etio) και την αναλογία 5αΑδιόλη: 5α-Ανδροστανή-3α,17β-διόλη προς 5αΑδιόλη: 5β-Ανδροστανή-3α,17β-διόλη(5α/5β. Οι μπλε γραμμές αντιπροσωπεύουν τα πραγματικά αποτελέσματα των δοκιμών. Οι κόκκινες γραμμές υποδεικνύουν τα ατομικά όρια(Sottas et al. 2011). Οι χρωματικές γραμμές υποδεικνύουν αποκλίσεις από τις φυσιολογικές τιμές (Sottas et al. 2010). Σε αυτή την περίπτωση η έλλειψη οποιασδήποτε απόκλισης δείχνει ότι ένα τέτοιο προφίλ στεροειδών είναι τυπικό μιας φυσιολογικής κατάστασης(Sottas et al. 2011).



Εικόνα 13: Προφίλ στεροειδών αθλήτη για τέσσερις βιοδείκτες στεροειδών (Sottas et al. 2011).

Στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 11) φαίνεται η επίδραση της αιθανόλης στο προφίλ στεροειδών. Η αθλήτρια είχε σταθερή τιμή του λόγου T/E σε μία περίοδο 5 χρόνων με εξαίρεση τα δείγματα 8 και 9. Οι κόκκινες γραμμές δείχνουν το εύρος των τιμών του T/E όπως υπολογίσθηκαν από τη μέθοδο Bayesian και οι μπλε γραμμές τις τιμές που προέκυψαν από τις αναλύσεις των δειγμάτων της αθλήτριας. Οι υψηλές τιμές του λόγου T/E που προέκυψαν από την αρχική δοκιμή καθώς και οι υψηλές συγκεντρώσεις του αιθυλικού γλυκουρονιδίου (EtG) ενός μεταβολίτη της αιθανόλης που μετρήθηκε στη διαδικασία επιβεβαίωσης και συνδέεται με τη χορήγηση αιθανόλης (Thieme et al. 2011) υποδηλώνουν την παρουσία αιθανόλης στο συγκεκριμένο δείγμα (Piper et al. 2021).



Εικόνα 14: Προφίλ στεροειδούς αθλήτριας σε διάρκεια 5 χρόνων. Οι κύκλοι αντιστοιχούν στα δείγματα εκτός ανταγωνισμού και τα αστέρια στα δείγματα εντός ανταγωνισμού. Το παράδειγμα αυτό αποτελεί τμήμα του προφίλ στεροειδούς που βρίσκεται στο ADAMS (Piper et al. 2021).

Έχει παρατηρηθεί ότι κάποιοι αθλητές χρησιμοποιούν έναν συνδυασμό διαφορετικών τεχνικών ντόπινγκ ή μικροδόσεων για να αλλάξουν την εικόνα του διαβατηρίου τους όπως η αραίωση του δείγματος για τη μείωση των υψηλών τιμών Hb, έγκαιρες ενέσεις με EPO για την αύξηση των χαμηλών τιμών ρητίνης. Άλλοι αθλητές προσκομίζουν διάφορα έγγραφα σχετικά με τα έντυπα ελέγχου ντόπινγκ για να εξηγήσουν εκ των προτέρων αποκλίσεις από τις φυσιολογικές τιμές, όπως υποτιθέμενη χειρουργική επέμβαση με απώλεια αίματος για απόκρυψη λήψης αίματος ενόψει μελλοντικής επανέγχυσης ή παραμονή σε υψόμετρο ή χρήση υποξικών ουσιών για την κάλυψη αλλαγών στα δικτυοερυθροκύτταρα που προκαλούνται από EPO ή μεταγγίσεις. Τέτοιες στρατηγικές θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την αξιολόγηση των προφίλ ABP (Schumacher et al. 2012).

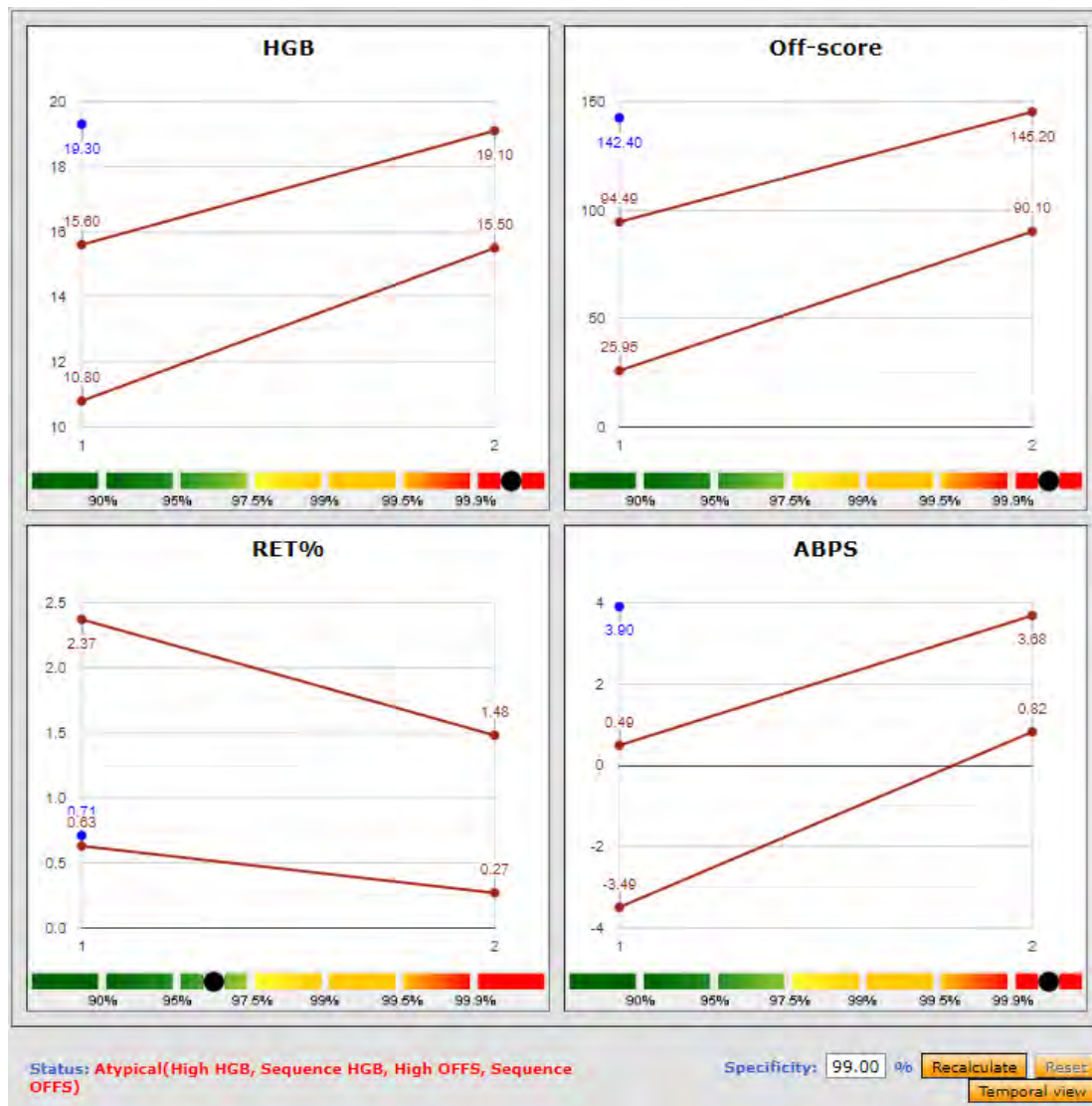
12.Στοιχειοθέτηση υπόθεσης Διαβατηρίου

Το παρακάτω αποτελεί υλικό από το συμπόσιο του WADA για το ABP που πραγματοποιήθηκε στις 12-14/10/2022, στο Νέο Δελχί, και αφορά στην υπόθεση μιας 27χρονης μαραθωνοδρόμου η οποία βρέθηκε θετική σε ντόπινγκ αίματος. Ήταν γνωστό ότι η συγκεκριμένη αθλήτρια κατοικούσε σε υψόμετρο περίπου 2000-2500m.

Λήψη 1^{ου} δείγματος (Αρχική Δοκιμή)

Η δειγματοληψία έγινε σε περίοδο εκτός συναγωνισμού με βάση την επίδοση της αθλήτριας σε αγώνα στις αρχές του 2019.

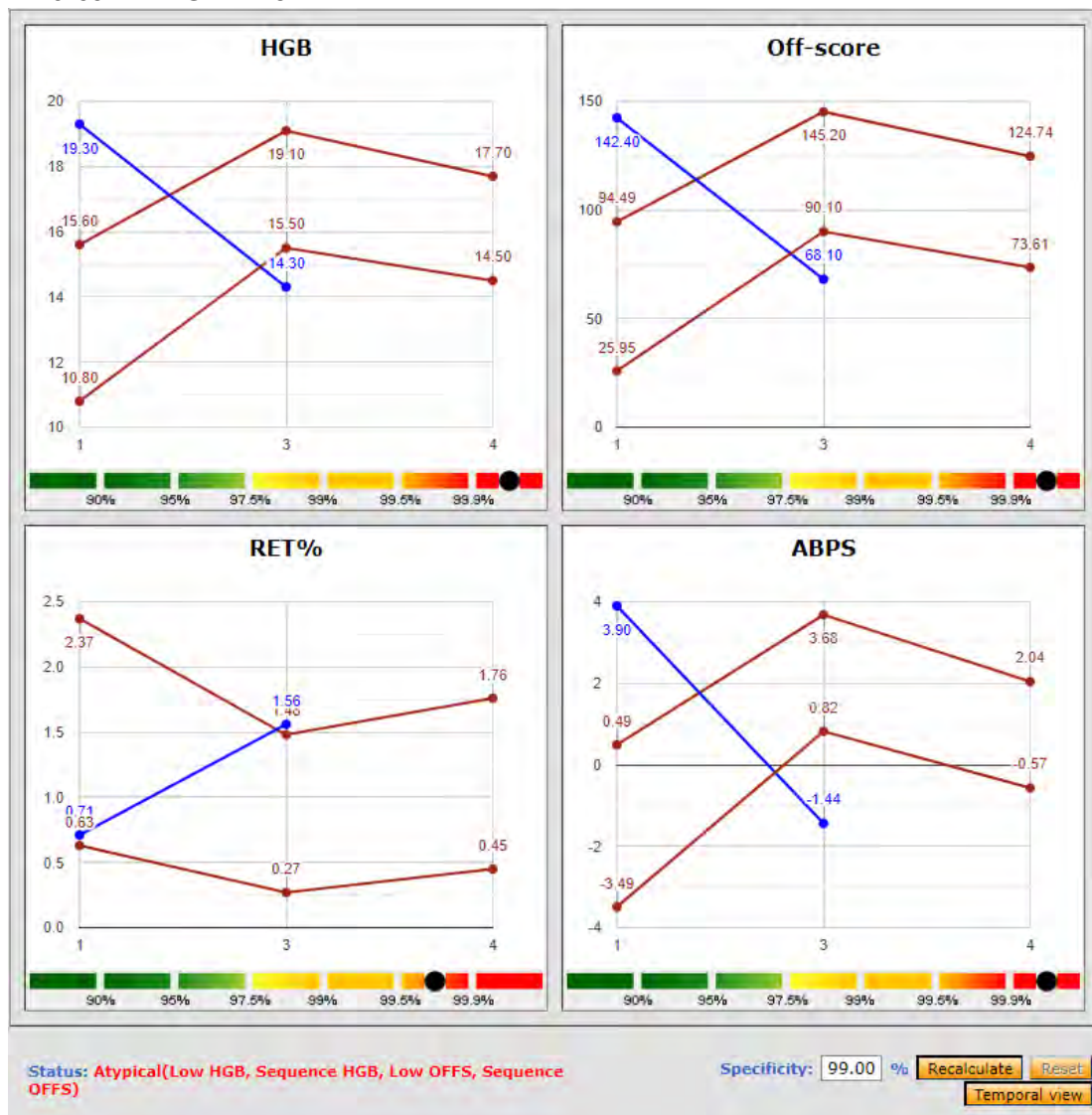
Το αποτέλεσμα της ανάλυσης έδειξε ασυνήθιστα υψηλές συγκεντρώσεις HGB και OFF score.



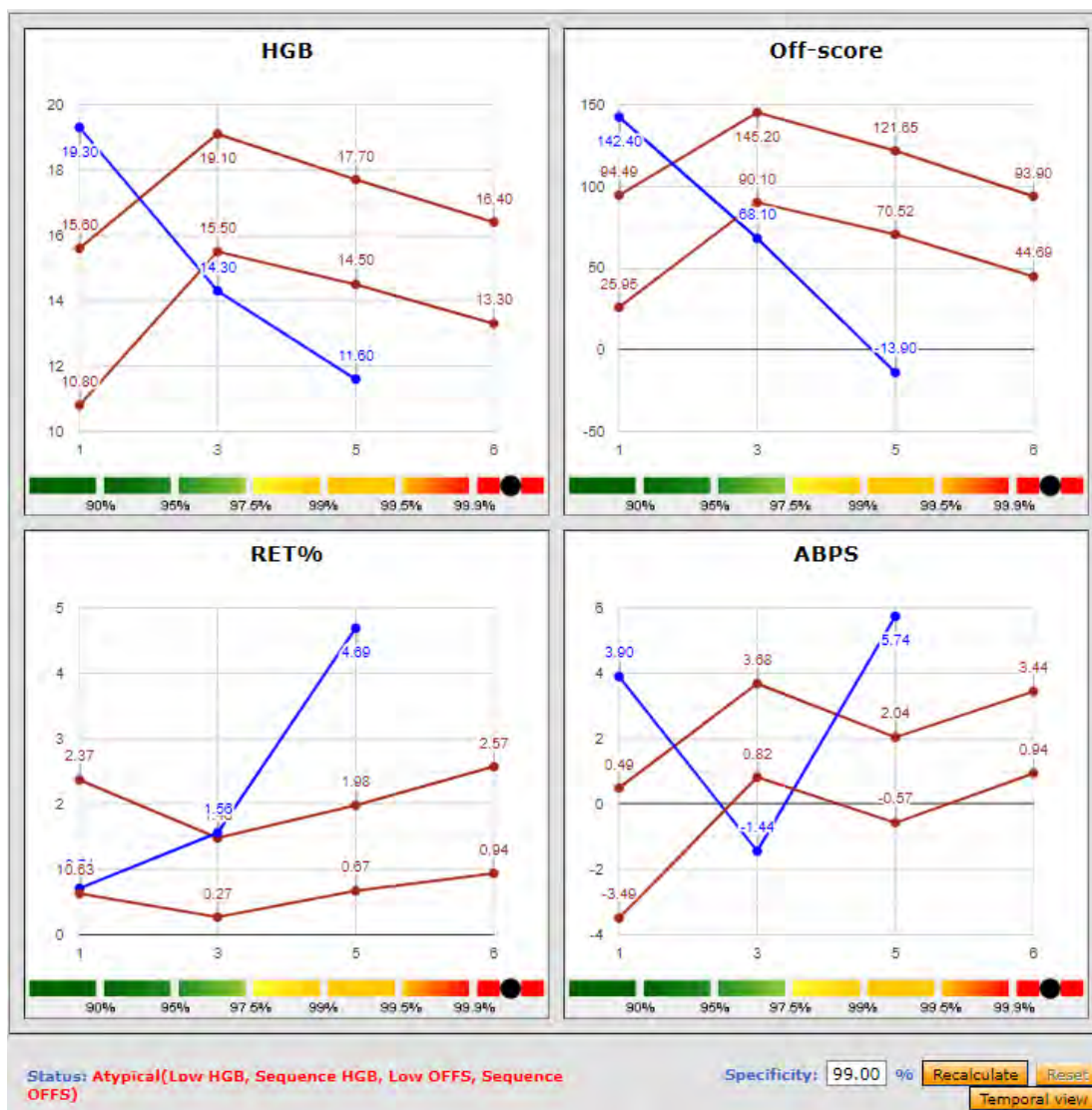
Follow up Testing

Λήψη δεύτερου δείγματος μετά από ενημέρωση της αθλήτριας για την δειγματοληψία.

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων είχαν τιμές πέρα από τα επιτρεπτά όρια και συγκεκριμένα RET% 0.69 και HGB 17.3.



Ακολούθησε η λήψη τρίτου δείγματος μετά από ένα μήνα και στη συνέχεια λήψη τέταρτου δείγματος ένα μήνα μετά. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ανάλυση του τέταρτου δείγματος έδειξαν τιμές πέρα από τα επιτρεπόμενα όρια και συγκεκριμένα RET% 4.05 και HGB 12.3.



Ένα μήνα μετά έγινε δειγματοληψία και πέμπτου δείγματος.

Αξιολόγηση από εμπειρογνώμονα

Ο πρώτος εμπειρογνώμονας που εξέτασε τα αποτελέσματα υποστήριξε ότι αυτά είναι ενδεικτικά της χρήσης ντόπινγκ. Στην συνέχεια το προφίλ αξιολογήθηκε από τρεις εμπειρογνώμονες οι οποίοι ζήτησαν επιπλέον πληροφορίες που αφορούσαν πότε έγινε η δειγματοληψία (εκτός/εντός συναγωνισμού) και ποια ήταν η θερμοκρασία μεταφοράς των δειγμάτων. Από αυτούς οι δύο υποστήριξαν ότι το προφίλ είναι ενδεικτικό της χρήσης ντόπινγκ και ο τρίτος ότι είναι ύποπτο για χρήση ντόπινγκ. Επιπλέον συμφώνησαν ότι η φάση OFF του δείγματος 1 (μηχανισμός αρνητικής ανάδρασης του οργανισμού στην παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων που αντανακλάται με χαμηλές τιμές RET%) είναι πολύ κοντά στην έναρξη των αγώνων και τα αποτελέσματα του δείγματος 5 είναι ενδεικτικά της μετάγγισης αίματος. Ωστόσο χρειάζονται περισσότερες πληροφορίες για να στοιχειοθετηθεί μια υπόθεση διαβατηρίου.

Further Follow Up Testing

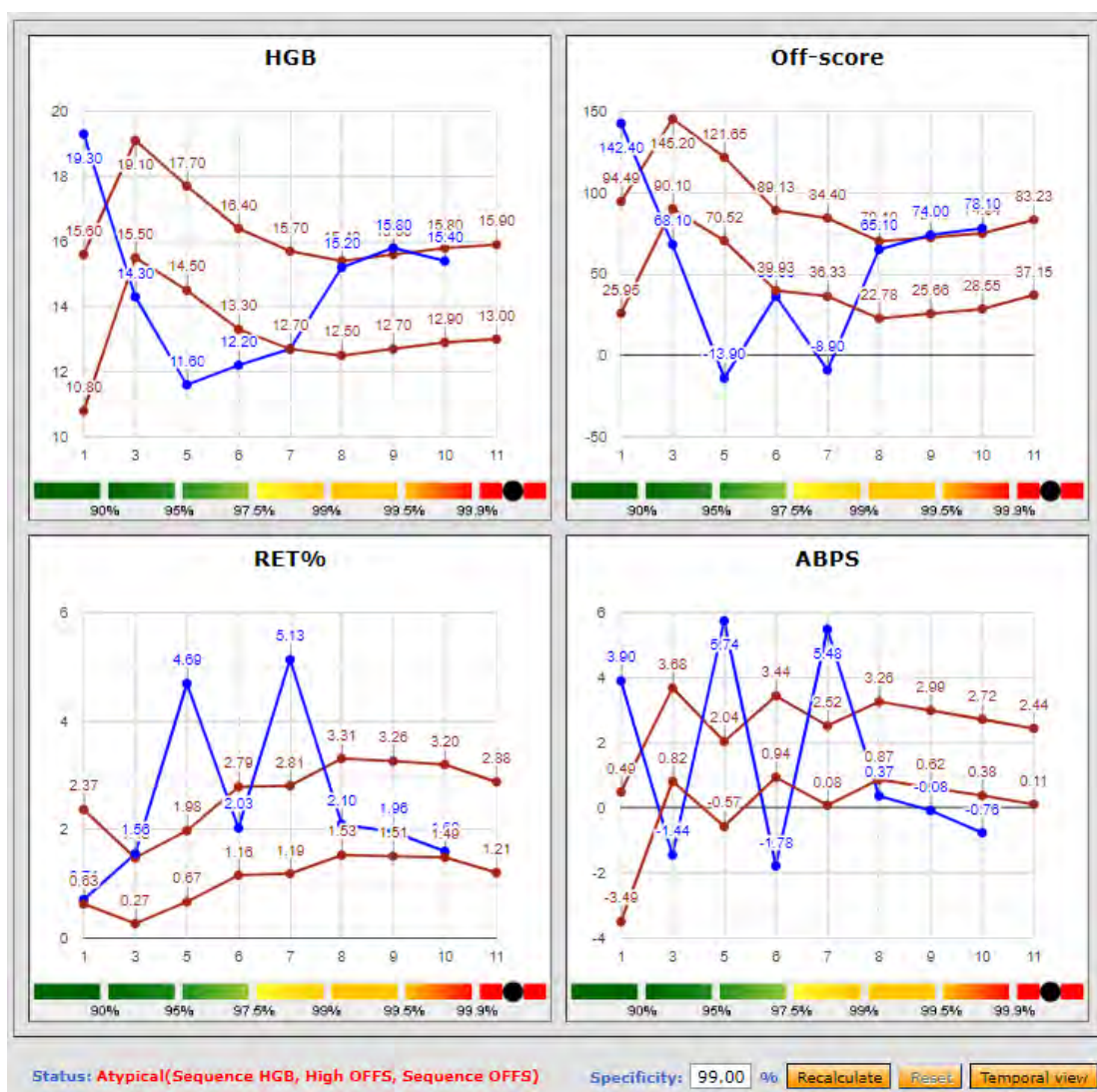
Λήψη άλλων δύο δειγμάτων (6,7) με διαφορά ενός μήνα. Κατά τη λήψη του δείγματος 6 δηλώθηκε από τη αθλήτρια ότι είχε προηγηθεί αιμοληψία.

Unanimous Likely Doping

Δείγμα 1 = Φάση OFF κοντά στον ανταγωνισμό και αποτελέσματα δείγματος 5 ενδεικτικά της μετάγγισης αίματος

Τα αποτελέσματα του δείγματος 7 συνάδουν με τη φλεβοτομή (συνιστάται ιατρικά για τη μείωση του υψηλού του επιπέδου φερριτίνης που παρατηρήθηκε κατά την ανάλυση του δεύτερου δείγματος).

Τα ιατρικά αποτελέσματα που ελήφθησαν δεν εξηγούν τα αποτελέσματα στο δείγμα 1.



Joint Report and Adverse Passport Finding

- Επαρκής ποιότητα έγκυρων δειγμάτων
- Δείγμα 1: καθαρό μοτίβο OFF (αυξημένη μάζα RBC και μειωμένη παραγωγή νέων RBC)
- Δείγματα 5 και 7: ερυθροποιητική αντίδραση μετά από σημαντική απώλεια αίματος (αύξηση δικτυοερυθροκυττάρων και IRF%)
- Πιθανό σενάριο: τεχνητή αύξηση της μάζας των ερυθρών αιμοσφαιρίων με χρήση ESA με σίδηρο IV που οδηγεί στο πρότυπο OFF και επακόλουθη αιμορραγία για τη διόρθωση την επαναφορά της υψηλής φερριτίνης.
- Χειρισμός αίματος: πολύ πιθανό
- Προβλήματα κατά την ανάλυση του δείγματος και επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων στα αποτελέσματα: εξαιρετικά απίθανοι
- Ζητήθηκε η εξήγηση του αθλητή
- Ενημέρωση Επιτρόπου Διαβατηρίου για το ATPF

Ερμηνεία αποτελεσμάτων από την αθλήτρια και αξιολόγηση από τους εμπειρογνώμονες

Δείγμα 1	Απόρριψη επιχειρημάτων για το δείγμα1
Αλλαγές στον όγκο του πλάσματος (αιμοσυγκέντρωση)	Δείγμα 1: Το RET% και το HGB είναι εξαιρετικά μη φυσιολογικά σε σύγκριση με τα άλλα δείγματα. Δεν αναμένεται σημαντική μείωση του όγκου του πλάσματος και μείωση της HGB κατά την επιστροφή στο επίπεδο της θάλασσας. Η χαμηλή HGB στο δείγμα 3 δεν συνάδει με την έκθεση σε υψόμετρο. Δεν παρατηρήθηκε αναλυτική απόκλιση στο LDP. -Αιμοχρωμάτωση:πολύ χαμηλός επιπολασμός σε μη καυκάσιο πληθυσμό. Υψηλά επίπεδα φερριτίνης πιθανόν λόγω συμπληρωματικής χορήγησης σιδήρου. Δεν σχετίζεται με την
Αφυδάτωση	
Προαναλυτικά λάθη	
Ημιτελής ανάμειξη δειγμάτων	
Μείωση των δικτυοερυθροκυττάρων κατά την αποθήκευση του δείγματος	
Υψόμετρο	
Υψηλή φερριτίνη λόγω ηπατικής νόσου	

	HGB.
Δείγματα 5 και 7	Αποδοχή επιχειρημάτων
Λήψη αίματος για θεραπευτικούς σκοπούς	Η διακύμανση στο RET% μπορεί να οφείλεται σε φλεβοτομή.

Στον παρακάτω πίνακες συνοψίζεται η ακροαματική διαδικασία της αθλήτριας:

Genetic test and ferritin results not admitted

High HGB in 1st Sample

Athlete	AIU-World Athletics
Plasma volume decrease due to dehydration and/or altitude training	Not compatible with literature using specific dehydration protocol (↑HGB 4.1%)
	No training/competition in 2 hours before Sample collected (07:10) and collected day before major marathon competition
	Sample collected following descent to sea level (could reduce HGB due to plasma volume expansion, not increase)

High HGB in 1st Sample

Athlete	AIU-World Athletics
Analytical errors caused by inadequate mixing of sample and/or length of collection to analysis time	All procedures for collection and analysis followed correctly. Results in both analyses of Sample 1 entirely consistent demonstrating proper mixing
Low platelets is evidence of inadequate sample mixing	Low platelets is also consistent with recent cessation of EPO (same effect on RET% as platelets)

High HGB in 1st Sample

Athlete	AIU-World Athletics
Other pathology(ies)	Theoretically yes, but extremely rare (less than 1:1,000,000). HGB would be stable and RET% not suppressed
High ferritin levels as evidence of medical reason (Athlete does not use supplemental iron)	<p>Ferritin not related to HGB <i>per se</i></p> <p>High ferritin indicator of EPO administration as iron often combined with EPO doping to maximise effects</p> <p>High ferritin in Sample 2 does not explain HGB and RET% in Sample 1</p>

RET% in 1st Sample

Athlete	AIU-World Athletics
Although low, it is within limits	RET% should be 1.5-2% for this Athlete
Should have been closer to 0 with recent cessation of EPO	RET% could have been close to 0 right after cessation of EPO but may have increase over time [closer to comp]

13.Συζήτηση

Η χρήση απαγορευμένων ουσιών και μεθόδων από τους αθλητές με σκοπό τη βελτίωση των αθλητικών τους επιδόσεων αποτελούν μέρος τόσο του ανταγωνιστικού όσο και του ερασιτεχνικού αθλητισμού και οι αθλητικές αρχές σε όλο τον κόσμο προσπαθούν να εξαλείψουν το ντόπινγκ από τον αθλητισμό. Η κύρια μέθοδος που χρησιμοποιείται στον έλεγχο ντόπινγκ στους αθλητές είναι η ανίχνευση απαγορευμένων ουσιών σε διάφορα βιολογικά υγρά, συνηθέστερα στα ούρα και στο αίμα. Τεχνικές όπως η χρωματογραφία και η φασματομετρία μάζας έχουν αυξησει κατά πολύ τον αριθμό των ενώσεων που μπορούν να ανιχνευθούν. Ωστόσο, οι νεότερες ενώσεις που χρησιμοποιούνται για τη βελτίωση της αθλητικής απόδοσης είναι κυρίως ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες και πεπτιδία παρόμοια με τα ενδογενή. Ως εκ τούτου, ακόμη και με τις πιο σύγχρονες εργαστηριακές τεχνικές, είναι δύσκολη η ανίχνευση όλων αυτών των νέων ενώσεων που βελτιώνουν την απόδοση (Mahendru et al. 2020). Για το λόγο αυτό προτάθηκε στις αρχές του 2000 από την επιστημονική κοινότητα το Βιολογικό Διαβατήριο Αθλητή με το οποίο γίνεται έμμεση ανίχνευση ντόπινγκ με βάση τη διακύμανση συγκεκριμένων βιοδεικτών αίματος και στεροειδών.

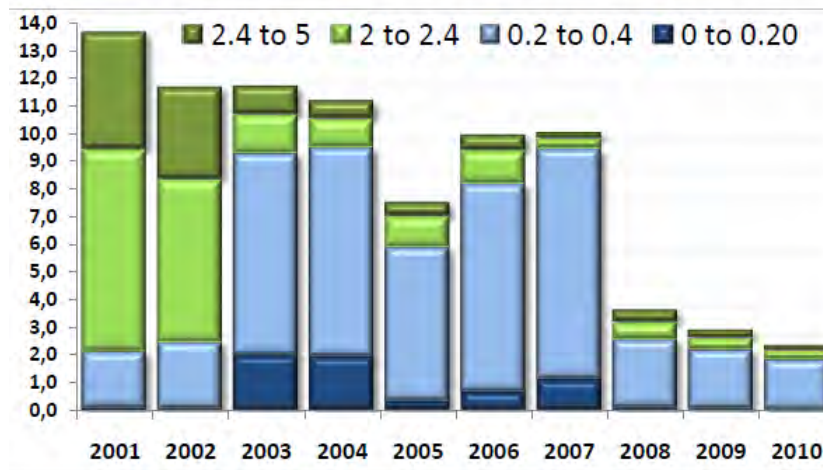
Μέχρι το τέλος του 2010 είχαν κινηθεί συνολικά εννέα διαδικασίες για πιθανή παραβίαση κανόνων αντιντόπινγκ αίματος βάσει του προφίλ διαβατηρίου. Για ορισμένους από αυτούς τους αθλητές, υπήρχαν πρόσθετα στοιχεία: σε μία περίπτωση, η UCI εξέτασε όλες τις δοκιμές EPO που πραγματοποιήθηκαν τα προηγούμενα χρόνια και ζήτησε από το εργαστήριο να αναλύσει εκ νέου ένα δείγμα ούρων, το οποίο τελικά βρέθηκε θετικό για το Dypnero. Σε μια άλλη περίπτωση, ένα δείγμα βιολογικού διαβατηρίου αποκάλυψε την παρουσία της CERA ενός υποδοχέα που αυξάνει το ρυθμό της ερυθροποίησης. Από αυτές τις υποθέσεις επιβλήθηκαν κυρώσεις σε εθνικό επίπεδο (σύμφωνα με τους κανόνες της UCI) και ο αθλητής δεν άσκησε έφεση κατά της απόφασης. Τέσσερις άλλες υποθέσεις

οδηγήθηκαν ενώπιον του Αθλητικού Διαιτητικού Δικαστηρίου αφού το εθνικό πειθαρχικό όργανο αθώωσε δύο αθλητές και είχε αποβάλει άλλους δύο. Οι αθλητές υποστήριξαν κυρίως ότι:

- Ορισμένα από τα αποτελέσματα που αναγράφονταν στο διαβατήριο έπρεπε να θεωρηθούν ως μη αξιόπιστα λόγω μη τήρησης ορισμένων προαναλυτικών, αναλυτικών ή μετα-αναλυτικών κανόνων δηλαδή ο αθλητής δεν ήταν καθιστός για 10 λεπτά πριν τη δειγματοληψία, το δείγμα δεν αναλύθηκε δύο φορές ή δεν υπήρχε καταγραφικό θερμοκρασίας.
- Ορισμένες αλλαγές που παρατηρήθηκαν στους αιματολογικούς βιοδείκτες έπρεπε να αποδοθούν σε φυσιολογικές συνθήκες, όπως η υποξική διέγερση ή μεταβολές λόγω της αγωνιστικής περιόδου.
- Ορισμένα αποτελέσματα εξηγήθηκαν από ιατρικές παθήσεις, όπως απώλεια αίματος λόγω οδοντικής εξαγωγής ή γαστρεντερικής αιμορραγίας ή αφυδάτωση λόγω γαστρεντερικής μόλυνσης και θερμότητας.

Μετά την ολοκλήρωση των ακροάσεων προέκυψε το συμπέρασμα ότι το διαβατήριο του αθλητή είναι «ένα αξιόπιστο μέσο για την έμμεση ανίχνευση πράξεων ντόπινγκ». Επιπλέον, το διαβατήριο είναι ένα αξιόπιστο εργαλείο καθώς, περισσότεροι από 20 αθλητές που συμμετείχαν στο πρόγραμμα διαβατηρίου βρέθηκαν θετικοί σε παράγοντες διέγερσης ερυθροποίησης (ESA).

Η καθιέρωση του διαβατηρίου είχε αποτρεπτικό αποτέλεσμα, το οποίο αποδεικνύεται από δύο τουλάχιστον παραδείγματα. Το πρώτο είναι η διακύμανση των τιμών του RET% που μετρήθηκαν από το 2001 έως το 2010. Το RET% είναι ένας από τους πιο αξιόπιστους δείκτες ντόπινγκ αίματος. Μετά από χορήγηση ESA (περίοδος ενίσχυσης – φάση ON), το RET% αυξάνεται πάνω από 2% το οποίο φαίνεται με τις πράσινες τιμές στην εικόνα παρακάτω. Αντίθετα, κατά τη διάρκεια της περιόδου συντήρησης (φάση OFF), οι τιμές του RET% μειώνονται σε χαμηλότερες τιμές από αυτές που μετρήθηκαν πριν από τη λήψη ESA ή τη θεραπεία μετάγγισης (μπλε τιμές στην εικόνα) λόγω της φυσικής αρνητικής ανάδρασης του οργανισμού στην παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων. Στην εικόνα φαίνεται ότι από το 2001 έως το 2007 σε ένα σχεδόν σταθερό ποσοστό δειγμάτων περίπου στο 10% οι τιμές του RET% ήταν στα ακραία εύρη δηλαδή <0,4% ή > 2,0%. Από την εισαγωγή του Βιολογικού Διαβατηρίου στους ελέγχους αντιντόπινγκ, ο αριθμός αυτός μειώθηκε δραματικά στο 2-3%, παρά το γεγονός ότι τα δείγματα συλλέγονταν πλέον και εκτός συναγωνισμού γεγονός που αύξησε την πιθανότητα να προκύψουν θετικά αποτελέσματα ντόπινγκ. Επιπλέον, από το 2009 και μετά δεν καταγράφηκαν πολύ ακραίες τιμές δηλαδή <0,2% ή >2,4%(Zorzoli 2011).



Εικόνα 15: Αλλαγές στο RET% από το 2001 μέχρι το 2010 (άξονας x: χρόνια, άξονας y: ποσοστό δειγμάτων που αναλύθηκαν. (Zorzoli 2011)

Επιπλέον, το γεγονός ότι όλο και περισσότεροι αθλητές καλούνται να καταθέσουν τα αποτελέσματα του διαβατηρίου τους όταν διαπραγματεύονται συμβόλαιο με μια νέα ομάδα ή όταν επιλέγονται για να αγωνιστούν στην Εθνική Ομάδα ενισχύει την αποτρεπτική χρήση του προγράμματος. Έχουν καταγραφεί περιπτώσεις όπου νέες ομάδες ή Εθνικές Ομοσπονδίες έχουν αρνηθεί να προσλάβουν ή να επιλέξουν αθλητές λόγω του μη φυσιολογικού προφίλ του διαβατηρίου τους (Zorzoli 2011).

Εκτός από την παρουσία απαγορευμένων ουσιών/μεθόδων και την εσκεμμένη αλλοίωση των δειγμάτων που επηρεάζουν το προφίλ διαβατηρίου ενός αθλητή η παρουσία παθολογικής κατάστασης ή κάποιου γενετικού πολυμορφισμού επίσης επηρεάζουν τα αποτελέσματα των αναλύσεων. Επομένως, η ενσωμάτωση γενετικών πληροφοριών στις ενότητες του ABP θεωρείται ότι θα παρέιχε χρήσιμες πληροφορίες όπως στην περίπτωση του Eero Mäntyranta. Ο αθλητής κέρδισε πολλά μετάλλια κατά τη διάρκεια των Ολυμπιακών Αγώνων με τη μεσολάβηση παύσης για μεγάλο χρονικό διάστημα το οποίο θα μπορούσε να οφείλεται στις αυστηρές προπονήσεις που έκανε. Ωστόσο, τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης που βρέθηκαν στα δείγματα αίματος του ήταν 60% υψηλότερα από το τυπικό όριο που υποδηλώνει κατάχρηση ουσιών ντόπινγκ. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, η παρουσία μετάλλαξης οδηγούσε σε αυξημένη παραγωγή πρόδρομων RBC και συνεπώς ερυθροκυττάρων άρα και αιμοσφαιρίνης. Σύμφωνα με τις οδηγίες, η αλλαγή των μεταβλητών σε ένα άτομο πρέπει να είναι σε μικρό εύρος σε σχέση με τον πληθυσμό που έχει ίδια ηλικία και φύλο με τον αθλητή, αλλά λόγω της παρουσίας μετάλλαξης σε αυτήν την περίπτωση τα επίπεδα ήταν υψηλότερα από αυτά του γενικού πληθυσμού (Rogol and Pieper 2017).

Παρόλο που το ABP αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο για τον εντοπισμό αθλητών που κάνουν χρήση ντόπινγκ εγείρει επίσης ερωτήματα που σχετίζονται με τα δικαιώματα των αθλητών. Ειδικότερα, η προοπτική αποκάλυψης προσωπικών δεδομένων από το ABP σε μεμονωμένους αθλητές έχει προκαλέσει συζήτηση στην κοινότητα κατά του ντόπινγκ. Μέχρι στιγμής, τα δεδομένα από την Αιματολογική Ενότητα διατίθενται στους αθλητές μέσω του ADAMS σε αντίθεση με τα δεδομένα από την Ενότητα Στεροειδών. Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι τα δεδομένα από την αιματολογική ενότητα θα μπορούσαν να περιέχουν σχετικές ιατρικές πληροφορίες, με ανωμαλίες που πιθανώς υποδεικνύουν μη ανιχνευμένες παθολογίες και επομένως βοηθούν στην ιατρική διάγνωση. Ωστόσο, υπάρχει παράλληλα η ανησυχία ότι η αποκάλυψη δεδομένων σε αθλητές μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση εναλλακτικών στρατηγικών για την αποφυγή ανίχνευσης ντόπινγκ μέσω του συστήματος ABP και αυτό αποτελεί ένα θεμελιώδες επιχείρημα για να μην επιτραπεί η πρόσβαση των αθλητών στα δεδομένα τους. Επιπλέον, δεδομένου ότι τα δεδομένα ABP μπορεί να περιέχουν πληροφορίες που μπορεί να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση μιας νόσου, οι αθλητές μπορεί να το θεωρήσουν λανθασμένα ως έλεγχο υγείας (Devriendt et al. 2018). Επιπλέον, η αποκάλυψη αυτών πληροφοριών μπορεί να οδηγήσει στη στοχοποίηση ενός αθλητή (Devriendt et al. 2019). Ως εκ τούτου, η παροχή πρόσβασης στους αθλητές στα πρωτογενή δεδομένα μπορεί να επηρεάσει τον σκοπό αυτού του προγράμματος (Devriendt et al. 2019) όπου σύμφωνα με τον WADA, ο μόνος στόχος του ABP είναι να βοηθήσει στην καταπολέμηση του ντόπινγκ και σε καμία περίπτωση δεν αποτελεί εργαλείο για ιατρικό έλεγχο ή για παρακολούθηση της υγείας κάποιου αθλητή (Athlete Biological Passport Operating Guidelines 2023).

Συμπερασματικά, η καθιέρωση του Βιολογικού Διαβατηρίου είναι σαφώς ένα σημαντικό βήμα προόδου στον αγώνα κατά του ντόπινγκ καθώς συνδυάζει δύο διαφορετικές αλλά συμπληρωματικές στρατηγικές. Την κλασική μέθοδο που βασίζεται στην τοξικολογική επιστήμη για την άμεση ανίχνευση μιας απαγορευμένης ουσίας ή μεθόδου σε ένα δείγμα με την ανίχνευση των βιολογικών επιπτώσεων που προκαλούνται από τη χρήση αυτών των ουσιών/μεθόδων (Zorzoli 2011).

14. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ayotte, Christiane. 2010. "Detecting the Administration of Endogenous Anabolic Androgenic Steroids." *Handbook of Experimental Pharmacology* (195): 77–98.
2. Bagatell, C. J., and W. J. Bremner. 1996. "Androgens in Men--Uses and Abuses." *The New England Journal of Medicine* 334(11): 707–14.
3. Bardin, C. W. 1996. "The Anabolic Action of Testosterone." *The New England Journal of Medicine* 335(1): 52–53.
4. Bhasin, S. et al. 1996. "The Effects of Supraphysiologic Doses of Testosterone on Muscle Size and Strength in Normal Men." *The New England Journal of Medicine* 335(1): 1–7.
5. Bidlingmaier, Martin et al. 2009. "High-Sensitivity Chemiluminescence Immunoassays for Detection of Growth Hormone Doping in Sports." *Clinical Chemistry* 55(3): 445–53.
6. Botrè, Francesco, and Antonio Pavan. 2009. "Enhancement Drugs and the Athlete." *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America* 20(1): 133–48, ix.
7. Brudnak, Mark A. 2004. "Creatine: Are the Benefits Worth the Risk?" *Toxicology Letters* 150(1): 123–30.
8. Choi, D., M. Kim, and J. Park. 1996. "Erythropoietin: Physico- and Biochemical Analysis." *Journal of Chromatography. B, Biomedical Applications* 687(1): 189–99.
9. Cox, Holly D. et al. 2014. "Interlaboratory Agreement of Insulin-like Growth Factor 1 Concentrations Measured by Mass Spectrometry." *Clinical Chemistry* 60(3): 541–48.
10. De Rose, Eduardo H. 2008. "Doping in Athletes--an Update." *Clinics in Sports Medicine* 27(1): 107–30, viii–ix.
11. Devriendt, Thijs, Davit Chokoshvili, and Pascal Borry. 2019. "The Athlete Biological Passport: Challenges and Possibilities." *International Journal of Sport Policy and Politics* 11(2): 315–24.
12. Devriendt, Thijs, Davit Chokoshvili, Maddalena Favaretto, and Pascal Borry. 2018. "Do Athletes Have a Right to Access Data in Their Athlete Biological Passport?" *Drug Testing and Analysis* 10(5): 802–6.
13. Dietz, Pavel et al. 2013. "Associations between Physical and Cognitive Doping—a Cross-Sectional Study in 2,997 Triathletes." *PloS One* 8(11): e78702.
14. Ebert, B. L., and H. F. Bunn. 1999. "Regulation of the Erythropoietin Gene." *Blood* 94(6): 1864–77.
15. Ekblom, B., A. N. Goldberg, and B. Gullbring. 1972. "Response to Exercise after Blood Loss and Reinfusion." *Journal of Applied Physiology* 33(2): 175–80.
16. Elliott, S. 2008. "Erythropoiesis-Stimulating Agents and Other Methods to Enhance Oxygen Transport." *British Journal of Pharmacology* 154(3): 529–41.
17. Erotokritou-Mulligan, Ioulietta et al. 2007. "Validation of the Growth Hormone (GH)-Dependent Marker Method of Detecting GH Abuse in Sport through the Use of Independent Data Sets." *Growth hormone & IGF research: official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society* 17(5): 416–23.
18. "The Use of Growth Hormone (GH)-Dependent Markers in the Detection of GH Abuse in Sport: Physiological Intra-Individual Variation of IGF-I, Type 3 pro-Collagen (P-III-P) and the GH-2000 Detection Score." *Clinical Endocrinology* 72(4): 520–26.
19. Evans, Nick A. 2004. "Current Concepts in Anabolic-Androgenic Steroids." *The American Journal of Sports Medicine* 32(2): 534–42.
20. Foote, Mary Ann. 2009. "Studies of Erythropoiesis and the Discovery and Cloning of Recombinant Human Erythropoietin." In *Erythropoietins, Erythropoietic Factors, and Erythropoiesis*, eds. Steven G. Elliott, Mary Ann Foote, and Graham Molineux. Basel: Birkhäuser Basel, 77–85. http://link.springer.com/10.1007/978-3-7643-8698-6_5 (May 23, 2023).

21. Franz, Stefan E. 2009. "Erythropoiesis-Stimulating Agents: Development, Detection and Dangers." *Drug Testing and Analysis* 1(6): 245–49.
22. Geyer, Hans, Wilhelm Schänzer, and Mario Thevis. 2014. "Anabolic Agents: Recent Strategies for Their Detection and Protection from Inadvertent Doping." *British Journal of Sports Medicine* 48(10): 820–26.
23. Giorgi, A., R. P. Weatherby, and P. W. Murphy. 1999. "Muscular Strength, Body Composition and Health Responses to the Use of Testosterone Enanthate: A Double Blind Study." *Journal of Science and Medicine in Sport* 2(4): 341–55.
24. Gore, Christopher J. et al. 2003. "Second-Generation Blood Tests to Detect Erythropoietin Abuse by Athletes." *Haematologica* 88(3): 333–44.
25. Green, G. A., F. D. Uryasz, T. A. Petr, and C. D. Bray. 2001. "NCAA Study of Substance Use and Abuse Habits of College Student-Athletes." *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine* 11(1): 51–56.
26. Gregory, Andrew J. M., and Robert W. Fitch. 2007. "Sports Medicine: Performance-Enhancing Drugs." *Pediatric Clinics of North America* 54(4): 797–806, xii.
27. Greydanus, Donald E., and Dilip R. Patel. 2002. "Sports Doping in the Adolescent Athlete the Hope, Hype, and Hyperbole." *Pediatric Clinics of North America* 49(4): 829–55.
28. Guha, Nishan et al. 2010. "Serum Insulin-like Growth Factor-I and pro-Collagen Type III N-Terminal Peptide in Adolescent Elite Athletes: Implications for the Detection of Growth Hormone Abuse in Sport." *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 95(6): 2969–76.
29. Israels, Lyonel G., and Esther D. Israels. 2006. "Erythropoiesis: An Overview." In *Erythropoietins and Erythropoiesis, Milestones in Drug Therapy MDT*, eds. Graham Molineux, Mary Ann Foote, and Steven G. Elliott. Basel: Birkhäuser-Verlag, 3–14. http://link.springer.com/10.1007/3-7643-7543-4_1 (May 24, 2023).
30. Jelkmann, Wolfgang. 2007. "Erythropoietin after a Century of Research: Younger than Ever." *European Journal of Haematology* 78(3): 183–205.
31. Kniess, Astrid, Eckart Ziegler, Detlef Thieme, and R. Klaus Müller. 2013. "Intra-Individual Variation of GH-Dependent Markers in Athletes: Comparison of Population Based and Individual Thresholds for Detection of GH Abuse in Sports." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 84: 201–8.
32. Krumm, Bastien, and Raphael Faiss. 2021. "Factors Confounding the Athlete Biological Passport: A Systematic Narrative Review." *Sports Medicine - Open* 7(1): 65.
33. Kuuranne, Tiia, Martial Saugy, and Norbert Baume. 2014. "Confounding Factors and Genetic Polymorphism in the Evaluation of Individual Steroid Profiling." *British Journal of Sports Medicine* 48(10): 848–55.
34. Lamon, Séverine et al. 2009. "Effects of Exercise on the Isoelectric Patterns of Erythropoietin." *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine* 19(4): 311–15.
35. Lasne, F., and J. de Ceauriz. 2000. "Recombinant Erythropoietin in Urine." *Nature* 405(6787): 635.
36. Lasne, Françoise, Laurent Martin, Jean Antoine Martin, and Jacques de Ceauriz. 2007. "Isoelectric Profiles of Human Erythropoietin Are Different in Serum and Urine." *International Journal of Biological Macromolecules* 41(3): 354–57.
37. Liddle, David G., and Douglas J. Connor. 2013. "Nutritional Supplements and Ergogenic AIDS." *Primary Care* 40(2): 487–505.
38. Lönnberg, Maria et al. 2010. "Rapid Affinity Purification of Erythropoietin from Biological Samples Using Disposable Monoliths." *Journal of Chromatography. A* 1217(45): 7031–37.
39. Macdougall, Iain C., and Michael Ashenden. 2009a. "Current and Upcoming

- Erythropoiesis-Stimulating Agents, Iron Products, and Other Novel Anemia Medications.” *Advances in Chronic Kidney Disease* 16(2): 117–30.
40. “Current and Upcoming Erythropoiesis-Stimulating Agents, Iron Products, and Other Novel Anemia Medications.” *Advances in Chronic Kidney Disease* 16(2): 117–30.
 41. Macdougall, Iain C., and Kai-Uwe Eckardt. 2006. “Novel Strategies for Stimulating Erythropoiesis and Potential New Treatments for Anaemia.” *Lancet (London, England)* 368(9539): 947–53.
 42. Mahendru, Dhruv, J. Kumaravel, Vidya M. Mahalmani, and Bikash Medhi. 2020. “Athlete Biological Passport: Need and Challenges.” *Indian journal of orthopaedics* 54(3): 264–70.
 43. Mareck, Ute et al. 2008. “Factors Influencing the Steroid Profile in Doping Control Analysis.” *Journal of mass spectrometry: JMS* 43(7): 877–91.
 44. Molineux, Graham, and Angus M. Sinclair. 2009. “Biology of Erythropoietin.” In *Erythropoietins, Erythropoietic Factors, and Erythropoiesis*, eds. Steven G. Elliott, Mary Ann Foote, and Graham Molineux. Basel: Birkhäuser Basel, 41–60. http://link.springer.com/10.1007/978-3-7643-8698-6_3 (May 23, 2023).
 45. Momaya, Amit, Marc Fawal, and Reed Estes. 2015. “Performance-Enhancing Substances in Sports: A Review of the Literature.” *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 45(4): 517–31.
 46. Mørkeberg, J. et al. 2011. “Detecting Autologous Blood Transfusions: A Comparison of Three Passport Approaches and Four Blood Markers.” *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 21(2): 235–43.
 47. Oliver, Jonathan M., Dustin P. Joubert, Steven E. Martin, and Stephen F. Crouse. 2013. “Oral Creatine Supplementation’s Decrease of Blood Lactate during Exhaustive, Incremental Cycling.” *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 23(3): 252–58.
 48. Piper, Thomas et al. 2021. “Current Insights into the Steroidal Module of the Athlete Biological Passport.” *International Journal of Sports Medicine* 42(10): 863–78.
 49. Pottgiesser, Torben et al. 2011. “Detection of Autologous Blood Doping with Adaptively Evaluated Biomarkers of Doping: A Longitudinal Blinded Study.” *Transfusion* 51(8): 1707–15.
 50. Powrie, Basset et al. 2007. “Detection of growth hormone abuse in sport”. *Growth Hormone & IGF Research* 17 (2007) 220–226
 51. di Prampero, P. E., and G. Ferretti. 1990. “Factors Limiting Maximal Oxygen Consumption in Humans.” *Respiration Physiology* 80(2–3): 113–27.
 52. Robinson, Neil, Pierre-Edouard Sottas, and Yorck Olaf Schumacher. 2017. “The Athlete Biological Passport: How to Personalize Anti-Doping Testing across an Athlete’s Career?” *Medicine and Sport Science* 62: 107–18.
 53. Rogol, Alan D., and Lindsay Parks Pieper. 2017. “Genes, Gender, Hormones, and Doping in Sport: A Convoluted Tale.” *Frontiers in Endocrinology* 8: 251.
 54. Sagoe, Dominic et al. 2014. “The Global Epidemiology of Anabolic-Androgenic Steroid Use: A Meta-Analysis and Meta-Regression Analysis.” *Annals of Epidemiology* 24(5): 383–98.
 55. Schumacher, Yorck Olaf, Martial Saugy, Torben Pottgiesser, and Neil Robinson. 2012. “Detection of EPO Doping and Blood Doping: The Haematological Module of the Athlete Biological Passport.” *Drug Testing and Analysis* 4(11): 846–53.
 56. Shackleton, C. H., A. Phillips, T. Chang, and Y. Li. 1997. “Confirming Testosterone Administration by Isotope Ratio Mass Spectrometric Analysis of Urinary Androstenediols.” *Steroids* 62(4): 379–87.
 57. Sherwood Physiology
 58. Snyder, P. J. et al. 1999. “Effect of Testosterone Treatment on Body Composition and

- Muscle Strength in Men over 65 Years of Age." *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84(8): 2647–53.
59. Sottas, Pierre-Edouard et al. 2007. "Bayesian Detection of Abnormal Values in Longitudinal Biomarkers with an Application to T/E Ratio." *Biostatistics (Oxford, England)* 8(2): 285–96.
 60. Sottas, Pierre-Edouard, Neil Robinson, Olivier Rabin, and Martial Saugy. 2011. "The Athlete Biological Passport." *Clinical Chemistry* 57(7): 969–76.
 61. Sottas, Pierre-Edouard, Neil Robinson, and Martial Saugy. 2010. "The Athlete's Biological Passport and Indirect Markers of Blood Doping." *Handbook of Experimental Pharmacology* (195): 305–26.
 62. Striegel, Heiko, Rolf Ulrich, and Perikles Simon. 2010. "Randomized Response Estimates for Doping and Illicit Drug Use in Elite Athletes." *Drug and Alcohol Dependence* 106(2–3): 230–32.
 63. Thevis, Mario, Andreas Thomas, and Wilhelm Schänzer. 2014. "Detecting Peptidic Drugs, Drug Candidates and Analogs in Sports Doping: Current Status and Future Directions." *Expert Review of Proteomics* 11(6): 663–73.
 64. Thieme, D., J. Grosse, L. Keller, and M. Graw. 2011. "Urinary Concentrations of Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate as Thresholds to Determine Potential Ethanol-Induced Alteration of Steroid Profiles." *Drug Testing and Analysis* 3(11–12): 851–56.
 65. Thieme, Detlef, and Peter Hemmersbach, eds. 2010. 195 *Doping in Sports*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-79088-4> (May 23, 2023).
 66. Van Renterghem, Pieter et al. 2010. "Subject-Based Steroid Profiling and the Determination of Novel Biomarkers for DHT and DHEA Misuse in Sports." *Drug Testing and Analysis* 2(11–12): 582–88.
 67. Videman, T. et al. 2000. "Changes in Hemoglobin Values in Elite Cross-Country Skiers from 1987-1999." *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 10(2): 98–102.
 68. WADA Technical Document TD IRMS: Detection of Synthetic Forms of Prohibited Substances by GC/C/IRMS.
 69. WADA Athlete Biological Passport Operating Guidelines, v.9.0 (2023)
 70. WADA Laboratory Guidelines, Analytical Requirements for the Endocrine Module of the Athlete Biological Passport, v 1.0 (2023)
 71. WADA Laboratory Guidelines Quantification of Endogenous Steroids in Blood for the Athlete Biological Passport, v 1.0 (2023)
 72. WADA International Standard for Testing and Investigations (2021)
 73. WADA International Standard for Laboratories (2021)
 74. WADA Prohibited List (2023)
 75. World Antidoping Code
 76. Wide, L., C. Bengtsson, B. Berglund, and B. Ekblom. 1995. "Detection in Blood and Urine of Recombinant Erythropoietin Administered to Healthy Men." *Medicine and Science in Sports and Exercise* 27(11): 1569–76.
 77. Zorzoli, Mario. 2011. "Biological Passport Parameters." *Journal of Human Sport and Exercise* 6(2 (Suppl.)): 205–17.