

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2019

Markéta Marková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Účinky zakázaných látek ve sportu na organismus a možnosti jejich
analytického stanovení

Markéta Marková

Bakalářská práce

2019

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Markéta Marková**
Osobní číslo: **C14491**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Účinky zakázaných látek ve sportu na organismus a možnosti jejich analytického stanovení**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracujte literární rešerši se zaměřením na účinky zakázaných látek ve sportu na lidský organismus. Dále se věnujte průběhu dopingové kontroly, zabývejte se odběrem vzorků a přípravě k analýze a v neposlední řadě samotnému analytickému stanovení.
2. Výsledky prezentované v literatuře porovnejte a kriticky zhodnoťte.
3. Sepište závěrečnou zprávu.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Lenka Česlová, Ph.D.

Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce:

28. února 2019

Termín odevzdání bakalářské práce:

4. července 2019

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.

prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 3.7. 2019

Markéta Marková

Poděkování:

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Lence Česlové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a konzultace, které mi při vypracování bakalářské práce poskytla.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku zakázaných látek ve sportu, protože je doping hodně diskutovaným a aktuálním tématem této doby. První část se zabývá původem a historií dopingu od počátku dějin sportu. Další část je věnována skupinám zakázaných látek, jejich pozitivním i nežádoucím účinkům na organismus a způsobu jejich zneužívání. Dále je popsán průběh dopingové kontroly a pravidla pro analýzu odebraného vzorku. V poslední části této práce jsou uvedeny možnosti stanovení zneužívaných drog ve sportu pomocí analytických metod.

KLÍČOVÁ SLOVA

Doping, sport, dopingová kontrola, kapalinová chromatografie, plynová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

TITLE

The effects of prohibited compounds in sports on organism and possibilities of their analytical determination

ANNOTATION

This bachelor thesis is focused on the issue of prohibited compounds in sport, because doping is very discussed and current topic of this time. The first part deals with the origin and history of doping from the beginning of sport. The next part is devoted to groups of prohibited substances, their positive and undesirable effects on the organism and the way of their abuse. Further the process of doping control and rules for analysis of the sample is described. In the last part of this work the possibilities of determination abused drugs in sport by means of analytical methods are mentioned.

KEYWORDS

Doping, sport, doping control, liquid chromatography, gas chromatography, mass spectrometry

OBSAH

1	DOPING	12
2	HISTORIE DOPINGU	12
2.1	PŮVOD SLOVA „DOPING“	13
2.2	KOŘENY DOPINGU	13
2.3	DOPING V ÉŘE ANTICKÝCH OLYMPIJSKÝCH HER	13
2.4	DOPING VE 20. STOLETÍ	14
2.4.1	Doping v průběhu druhé světové války	14
2.4.2	Doping po konci druhé světové války	14
2.5	VÝVOJ DOPINGU V ČESKOSLOVENSKU	15
3	SKUPINY ZAKÁZANÝCH LÁTEK	15
3.1	STIMULANCIA	15
3.1.1	Amfetaminy	15
3.1.2	Efedrin.....	16
3.1.3	Kofein	16
3.1.4	Kokain.....	17
3.2	NARKOTIKA	18
3.2.1	Kodein.....	18
3.3	ALKOHOL.....	19
3.3.1	Ethanol a jeho účinky na lidský organismus.....	19
3.4	KANABINOIDY	19
3.5	LOKÁLNÍ ANESTETIKA	20
3.6	GLUKOKORTIKOSTEROIDY	21
3.7	BETA BLOKÁTORY	22
3.8	ANABOLICKÉ LÁTKY	22
3.8.1	Anabolické androgenní steroidy	23
3.8.2	Beta -2 agonisté.....	25

3.9	PEPTIDOVÉ HORMONY, JEJICH MIMETIKA A ANALOGA.....	26
3.9.1	Růstový hormon.....	26
3.9.2	Erytropoetin	27
3.9.3	Inzulin	27
3.9.4	Inhibitory aromatázy.....	29
3.9.5	Choriogonadotropin	29
3.9.6	Kortikotropiny.....	30
3.10	DIURETIKA	30
4	ZAKÁZANÉ METODY	31
4.1	MANIPULACE S KRVÍ A JEJÍMI KOMPONENTY	31
4.2	CHEMICKÁ A FYZIKÁLNÍ MANIPULACE	32
4.3	GENOVÝ A BUNĚČNÝ DOPING.....	32
5	DOPINGOVÁ KONTROLA	32
5.1	VÝBĚR SPORTOVCE.....	32
5.2	TESTY MIMO SOUTĚŽ.....	33
5.3	ODBĚR VZORKU.....	33
5.4	LABORATOŘE DOPINGOVÉ KONTROLY.....	33
5.5	ANALÝZA VZORKU MOČI	34
5.6	VÝSLEDKY ANALÝZY VZORKŮ	34
6	ANALYTICKÉ STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK VE SPORTU.....	34
6.1	HMOTNOSTNÍ ANALYZÁTORY UŽÍVANÉ PRO ANALÝZU ZAKÁZANÝCH LÁTEK.....	35
6.2	PŘÍPRAVA VZORKU	35
6.3	CHROMATOGRFIE NA TENKÉ VRSTVĚ.....	36
6.4	PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE	36
6.5	KAPALINOVÁ CHROMATOGRFIE	37
6.6	CHROMATOGRFIE NADKRITICKOU TEKUTINOU.....	39

6.7	ELEKTROFORETICKÉ METODY.....	39
7	ZÁVĚR.....	41
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	42
9	PŘÍLOHY.....	50

Seznam ilustrací a tabulek

Obrázek 1 - Struktura amfetaminu (vlevo) a metamfetaminu (vpravo) [11] - 15

Obrázek 2 - Struktura efedrinu [11] - 16

Obrázek 3 – Struktura kofeinu [11] - 17

Obrázek 4 - Struktura kokainu [16] - 18

Obrázek 5 - Struktura Δ^9 -tetrahydrokanabinolu [11] - 20

Obrázek 6 - Struktura lidokainu [24] - 21

Obrázek 7 - Struktura kortizolu [11] - 22

Obrázek 8 - Schéma tvorby androgenů ve varlatech [11] - 24

Obrázek 9 - Struktura testosteronu [11] - 25

Obrázek 10 - Struktura terbutalinu [30] - 25

Obrázek 11 - Struktura fenoterolu [31] - 25

Obrázek 12 - Struktura inzulínu, řetězce A, B a spojovacího peptidu C [11] - 28

Obrázek 13 - Struktura letrozolu [37] - 29

Obrázek 14 - Struktura diclofenamidu [40] - 31

Obrázek 15 - Struktura hydrochlorothiazidu [41] - 31

Seznam zkratek

ACTH	Adrenokortikotropní hormon
CE	Kapilární elektroforéza
CNS	Centrální nervová soustava
EPO	Erytropoetin
ESI	Elektrosprejová ionizace
GC	Plynová chromatografie
hGH	Růstový hormon
LC	Kapalinová chromatografie
LLE	Extrakce kapalina-kapalina
MS	Hmotnostní spektrometr
MS/MS	Tandemová hmotnostní spektrometrie
NAD	Nikotinamid-adenin-dinukleotid
NPD	Dusíko-fosforový detektor
OH	Olympijské hry
Q	Kvadrupól
r-EPO	Rekombinantní erytropoetin
SFC	Chromatografie s nadkritickou tekutinou
SPE	Extrakce na pevné fázi
THC	Tetrahydrokanabinol
TLC	Chromatografie na tenké vrstvě
WADA	Světová antidopingová asociace

ÚVOD

V současné společnosti jsou na každého jedince kladeny vysoké nároky, často orientované na výkonnost a efektivitu. Sport není výjimkou. Touha po vítězství, slávě, obdivu a v neposlední řadě i finančním prospěchu znamená pro sportovce honbu mnohdy až za hranice lidských možností. Kvůli nátlaku ze strany veřejnosti, trenérů i sportovní organizace a ve snaze uspět a nezklamat okolí jsou nuceni k překročení mezí fair play. Stále častěji slyšíme o dopingových skandálech z různých oblastí sportu, spojené i s úmrtím sportovců. I přes používání nejmodernějších přístrojů a analytických metod k odhalení dopingových látek se antidopingovým organizacím nedaří zcela odstranit tento fenomén.

Podpůrné látky jsou užívány nejen vrcholovými sportovci, ale i širokou společností. Nejvíce zneužívanými látkami této doby jsou jednoznačně steroidní anabolika, erythropoetin a růstový hormon. Zejména dospívající generace si plně neuvědomuje závažnost této situace a s cílem vybudování perfektní postavy tak hazarduje se svým zdravím.

1 DOPING

Využívání podpůrných látek je stále častějším trendem moderního světa, ať je to dosažení větší výkonnosti, oddálení únavy jedince, či zlepšení psychické kondice. Podstatou jsou tedy farmakologické přípravky ovlivňující zdraví jedince. I přes jejich pozitivní vliv na zdraví je tento fenomén krátkodobý, neboť nad tím převažují negativní následky v podobě poškození celého organismu, mnohdy i riziko úmrtí [1].

Definicí dopingu rozumíme jev, kdy dochází k porušování antidopingových pravidel, která jsou dána *Světovým antidopingovým kodexem*:

- Přítomnost zakázané látky v těle nebo jejich metabolitů v těle. Zda ji sportovec použil vědomě, či z nedbalosti zde nehraje roli.
- Použití nebo pokus o použití zakázané látky, či metody, kde postačí důkaz o tom, že byl učiněn pokus o užití, nehledě na úspěšnost.
- Odmítnutí dopingové kontroly nebo nedostavení se k odběru vzorku.
- Porušení povinnosti ohlášení místa pobytu sportovce uvedeného v registru pro testování i mimo soutěž. Pokud není na nahlášeném místě zastižen, je to bráno jako porušení antidopingových pravidel, kde sportovec nese svoji zodpovědnost sám.
- Snaha o podvádění při provádění dopingové kontroly, či narušení jejího průběhu.
- Držení dopingových látek nebo látek umožňujících zakázané metody ve sportu.
- Obchodování s dopingovými prostředky zahrnující i výrobu, dovoz a manipulaci s nimi.
- Podání, či pokus o podání zakázané látky nebo použití zakázané metody jinému sportovci.
- Spoluvina při asistování, či navádění.
- Porušení zákazu spolčování se s osobami, které již byly potrestány za porušení antidopingových pravidel [2].

2 HISTORIE DOPINGU

Již od dávných dob si lidé navzájem konkurovali, a to nejen ve sportu, ale také v období válek, bojů, nebo novodobě v podnikání. Spojuje je snaha o to být rychlejšími a výkonnějšími, než jsou jejich soupeři. Touha po vítězství je mnohdy tak silná, že vede člověka k překročení určité sociální hranice [3].

2.1 PŮVOD SLOVA „DOPING“

Původ tohoto slova má své kořeny již v 17. století, kde se v dochovaných listech píše, že kolonisté v Novém Amsterdamu pili povzbuzující odvar z bylin a kořinek nazývaný ‚doop‘. Další verze uvádí, že toto slovo pochází z nářečí obyvatel jihovýchodní části Afriky, kde slovo ‚dop‘ znamenalo druh alkoholu, který lidé konzumovali při náboženských obřadech jako povzbuzující prostředek [4].

Poprvé se slovo doping objevilo v roce 1889 v anglickém slovníku, a bylo definováno jako směs opia a narkotik určené pro koně. Doping byl v té době hojně používán při závodech koní a psů. Mezi nejčastěji zneužívané látky v té době patřil heroin, morfin, kofein, kokain a strychnin [4].

2.2 KOŘENY DOPINGU

Již v dobách pravěku lidé užívali určité přírodní látky pro podporu výkonnosti. Člověk v těchto dobách bojoval o svůj život s přírodou, nebezpečnými zvířaty, či silnějšími soupeři. Prehistoričtí lovci například pojídali ostatky poražených bojovníků a pili jejich krev. Věřili, že jim tyto rituály dodají větší sílu a odhodlanost do dalších bojů. Naopak při náboženských obřadech bylo užívání povzbuzujících látek spojeno s navozením stavů euforie, opojení a halucinací. Perští indiáni zase žvýkali listy z rostliny *Erythroxylum coca*, známé též jako koka, která měla rovněž povzbudivé účinky na organismus [1].

2.3 DOPING V ÉŘE ANTICKÝCH OLYMPIJSKÝCH HER

Velký rozmach experimentování s podpůrnými prostředky byl v období antických olympijských her ve starověkém Řecku. Hry se pořádaly každé 4 roky a ve svých počátcích trvaly pouze jeden den. Posléze se rozvíjely o další sporty, a byly tak prodlouženy na pět dní. Těchto her se mohli zúčastnit pouze svobodní občané řeckého původu. Díky stoupající popularitě her se z účastníků stávali profesionální sportovci, a péče o ně byla na velmi vysoké úrovni [5].

Antičtí sportovci měli k dispozici nejen profesionální trenéry a pravidelný lékařský dohled, ale také speciální výběr stravy a podpůrných látek ke zvýšení fyzické a psychické síly. Výběr stravy závisel zejména na druhu sportu, kterému se sportovec věnoval. Konzumovali spoustu zeleniny, živočišných bílkovin a také sušené plody fíků, které byly důležitým zdrojem energie [1]. Někteří konzumovali halucinogenní houby, či semena sezamu pro zvýšení výkonnosti před závodem [6].

Rovněž v dobách starověkého Říma gladiátoři konzumovali při tréninku a soubojích alkohol spolu s různými bylinami za účelem dosažení lepší fyzické výkonnosti a rychlejší regenerace mezi jednotlivými duely [6, 7].

2.4 DOPING VE 20. STOLETÍ

Díky novým pokrokům a vědeckým objevům došlo ve 20. století k velkému rozvoji nových látek, a tím také dopingů. V roce 1921 se vědcům podařilo separovat zvířecí formu pohlavního hormonu testosteronu a v průběhu dalších deseti let i jeho lidskou formu. Syntetický testosteron byl poprvé uměle vyroben v roce 1935 a o rok později byl zneužit německými sportovci na olympijských hrách [7].

2.4.1 Doping v průběhu druhé světové války

V průběhu druhé světové války vojáci užívali podpůrné látky. Nejčastější konzumovanou drogou této doby byl alkohol, který bojujícím vojákům dodával odvalu, či zvýšil jejich agresivitu. Spolu s alkoholem byly také zneužívány nově syntetizované chemické látky na bázi amfetaminu pro povzbuzení organismu a odstranění únavy. Na počátku druhé světové války byl poprvé uveden pervitin, který byl zneužíván německými vojáky [1, 8].

2.4.2 Doping po konci druhé světové války

Po druhé světové válce docházelo také k rozvoji a užívání podpůrných látek, a to zejména díky vyšší komercializaci sportu. Případů s užíváním dopingů přibývalo, ovšem v tehdejší době s nimi nebylo nijak nakládáno. Až později, kdy čím dál častěji docházelo k úmrtí spojeným s dopováním sportovců, se do případů vložila média, a doping se stal hojně diskutovaným tématem, a to nejen mezi sportovními organizacemi, ale také mezi lékaři. Mezi první úmrtí v souvislosti s dopingem patří případ, který se odehrál na OH v Římě v roce 1960. Kolaps a následná smrt dánského cyklisty K. Jensena zapříčinila vysoká hodnota amfetaminu v krvi, kterou mu aplikoval jeho trenér [8].

Postupně také došlo k užívání drog nejen vrcholovými sportovci, ale také sportovci rekreačními. Například zneužívání anabolik z hlediska kosmetické atraktivity se stalo moderním trendem nejen v zahraničí, ale i v České republice. U těchto jedinců bylo zjištěno užívání mnohonásobně vyšších dávek, než je potřebné v lékařské terapii. Nejčastěji jde o parenterální, nebo perorální podání anabolik. Kvůli tomuto trendu docházelo k závažným poškozením zdraví u spousty sportovců, nejen z oblasti vrcholového sportu. Proto došlo v roce 1967 k založení zdravotní komise Mezinárodním olympijským výborem, která měla za úkol provádět náhodné kontroly u všech sportovních odvětví, a zamezit tak nekontrolovatelnému

zneužívání drog. Byl vytvořen seznam zakázaných látek a dokument, kde bylo jasně popsáno, jaký postih čeká sportovce při porušení antidopingových pravidel [6].

2.5 VÝVOJ DOPINGU V ČESKOSLOVENSKU

Snaha vyrovnat se ostatním sportovně vyspělým státům donutila příslušné československé sportovní organizace i sportovce samotné k následování trendu zneužívání zakázaných látek. Sportovní prostředí se ovšem dostávalo do rozporuplných situací, kdy na jedné straně bylo důležité podpořit boj proti dopingů na mezinárodním poli, na straně druhé hrála roli tamější politická ideologie. V roce 1971 tak došlo k řadě jednání, která vyústila v usnesení o zásadním opatření proti dopingů a byl vytvořen seznam zakázaných látek a způsoby kontroly [1].

Na OH v roce 1988 došlo k několika pozitivním nálezům zakázaných látek u československých sportovců. Systém cíleného dopování se tak zdál být téměř nekontrolovatelný, a proto bylo nutné změnit pravidla týkající se dopingových kontrol a činností laboratoří. Po roce 1989 došlo k pozvolnému rozpadu státem řízeného dopingů a k zákazu podávání steroidních anabolik sportovcům [1].

3 SKUPINY ZAKÁZANÝCH LÁTEK

3.1 STIMULANCIA

3.1.1 Amfetaminy

Skupina amfetaminů zahrnuje několik strukturálně podobných látek, jako jsou například amfetamin, metamfetamin (obr. 1) nebo methylfenidat. Amfetamin byl syntetizován koncem 20. let a jeho zneužívání začalo ve 40. letech. Tyto látky lehce pronikají do centrální nervové soustavy (CNS) a mají výrazné stimulační účinky, potlačují spánek a chuť k jídlu, navozují stav čilosti a euforie. Tyto účinky se v terapii využívají pro léčbu narkolepsie nebo u dětí při léčbě hyperkinetického syndromu spojeného se ztrátou pozornosti [9, 10].

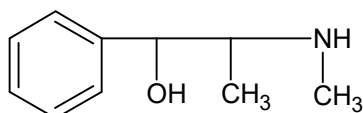


Obrázek 1: Struktura amfetaminu (vlevo) a metamfetaminu (vpravo) [11]

Amfetaminy inhibují monoaminoxidázu, což vede k uvolnění vyšší koncentrace katecholaminů (noradrenalin, dopamin) do synaptického prostoru. Tato stimulace synaptické části vegetativního systému má za následek antidepresivní účinky. K hlavním nežádoucím účinkům patří nespavost, závratě, podrážděnost, tendence k sebevraždě, třes, panické stavy, neklid, akutní břišní křeče doprovázené průjemem. Kardiovaskulární účinky amfetaminu zahrnují také srdeční arytmii, hypertenzi, bušení srdce (palpitace) nebo anginální bolesti [12].

3.1.2 *Efedrin*

Efedrin (obr. 2) je rostlinný alkaloid obsažený ve chvojníku čínském, který byl dříve hojně využíván v léčbě zánětu nosohltanu, bronchiálního astmatu nebo obstrukci dýchacích cest. Dokáže léčit i průběh anafylaktického šoku, poruchy srdečního rytmu a hypotenzi. Působí na CNS obdobně jako amfetamin, ale s nižším účinkem, který může trvat po dobu několika hodin. Vyvolává pocit pohody, odstraňuje psychickou i fyzickou únavu a zvyšuje bronchodilatační účinky na dýchací cesty. Zneužíván je také pro svoji schopnost tlumit bolest a zánětlivé procesy, což umožní sportovci snížit práh bolesti při silových aktivitách, či pokračovat v aktivitě i při zranění [11]. Díky termoregulačním účinkům má vliv na redukci tuků, a to bez úbytku svalové hmoty. Nachází se i v některých volně dostupných lécích, zejména ve výživových doplncích na hubnutí [1].



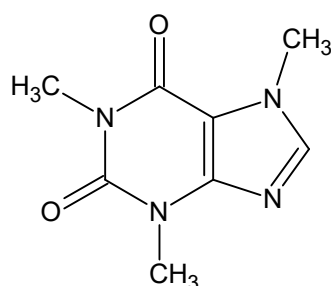
Obrázek 2: Struktura efedrinu [11]

Mezi nežádoucí účinky efedrinu patří poškození oběhového systému, zvýšení krevního tlaku, arytmie, vznik ischemie myokardu a mozkové krvácení. Dochází k poruchám CNS s projevy jako je třes kosterního svalstva, zvracení, závratě, nervozita, podráždění, bolest hlavy, anorexie či psychózy doprovázené halucinacemi [11].

3.1.3 *Kofein*

Kofein (obr. 3) řadíme do skupiny přírodních alkaloidů obsažených v čajových listech, kávových zrnech, guaraně, či ořechových jádrech [1]. Jedná se o jednu z nejužívanějších psychostimulačních látek, která byla v roce 2004 odebrána ze seznamu zakázaných látek, takže může být sportovci konzumován v neomezené míře. Stimulací šedé kůry mozkové v CNS dochází ke zvýšení sekrece katecholaminů, což vede ke snížení ospalosti a únavy. Má přímý

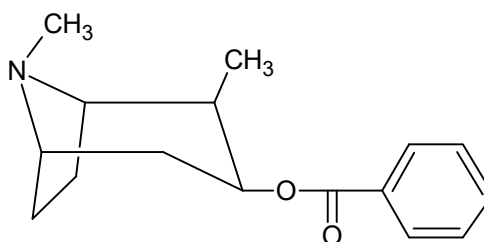
účinek na cyklický adenosinmonofosfát, díky kterému se zvyšuje lipolýza, a tím i počet volných mastných kyselin [13]. Stimuluje tvorbu moči v ledvinách, tvorbu žaludečních šťáv a má významný vliv na regeneraci unavených svalů po fyzické zátěži. Příznivě působí na vyplavování inzulínu, což umožní rychlý přísun glukózy, aminokyselin a draslíku vyčerpaným svalům [1]. Vědeckými studiemi bylo také dokázáno, že požíváním kofeinu dochází ke zvýšení procenta aktivovaných svalů při maximální volní kontrakci a v menší míře také ke zvýšení svalové kontrakce. Mezi nežádoucí účinky kofeinu na organismus řadíme nespavost, bolest hlavy, tachykardii, zvýšení žaludeční sekrece, podráždění žaludeční sliznice, či diurézu s následnou dehydratací. S nadměrnými dávkami kofeinu hrozí třes svalů a narušení nervosvalové koordinace [13].



Obrázek 3: Struktura kofeinu [11]

3.1.4 *Kokain*

Kokain (obr. 4) je přírodní alkaloid se silným stimulačním účinkem patřící rovněž do skupiny lokálních anestetik. Tento bílý krystalický prášek se vyskytuje pouze v čisté formě. Může obsahovat spoustu dalších příměsí v podobě dalších alkaloidů, jako je například kokamin, který účinkuje na kosterní svalstvo. Kokain potlačuje chuť k jídlu, zvyšuje energii, navozuje euforii a pocit touhy. Užívání společně s alkoholem je velmi rizikové, neboť v těle dochází ke vzniku i jiných metabolitů, zejména kokaethylenu, který zvyšuje nebezpečí náhlé smrti z důvodu selhání srdce [14, 15].



Obrázek 4: Struktura kokainu [16]

Jako u všech předchozích látek, tak i u kokainu dochází k výrazné stimulaci centrálního i periferního nervového systému. Zesiluje účinek biogenních aminů, jako jsou například dopamin, norepinefrin a serotonin. Zároveň blokuje zpětné vychytávání těchto neurotransmiterů zpět do synaptické štěrbině, čímž dochází ke zvýšení neurotransmiterů v synaptické štěrbině. Blokádou sodíkových kanálů narušuje funkci akčního potenciálu. Chronickým užíváním kokainu dochází k paranoidnímu a iracionálnímu chování, nebo těžkým depresím z důvodu klesající hladiny dopaminu a serotoninu v těle. Závažná poškození oběhového systému jako je hypertenze, arytmie, může vést až k infarktu myokardu nebo mrtvici [14, 15].

3.2 NARKOTIKA

Do skupiny narkotických analgetik řadíme morfin a jeho deriváty, jako jsou například heroin, opium, kodein či fentanyl. Tyto látky jsou extrémně návykové, a proto nebývají běžně dostupné v lékárnách. Zdrojem je opium, což je sušená mléčná šťáva z nezralých makovic, proto je nazýváme také opioidy. Hlavní metodou získání opia z rostlin je extrakce morfinu a dalších alkaloidů a poté separace jednotlivých látek. Jsou předepisovány jako léky proti bolesti a zneužívány pro své euforické účinky. Nejstarším známým analgetikem tisícím akutní i chronickou bolest je morfin [17]. Jeho tolerovaný limit koncentrace při dopingové analýze je 1 µg v 1 ml moči [11].

3.2.1 Kodein

Kodein je fenanthrenový opiový alkaloid, který je příbuzný morfinu. Dihydrokodein je jednou z nejrozšířenějších drog v ČR zneužívanou pro své analgetické účinky, a byl získán úpravou kodeinu [18]. Kodein se používá ke zmírnění dráždivého kašle, či k léčbě průjmu a syndromu dráždivého střeva [17]. Od roku 1994 je dovoleno léčebné užívání kodeinu sportovci, protože je široce dostupný ve spoustě farmaceutických přípravků zejména k tlumení dráždivého kašle. Mezi jeho nežádoucí účinky patří euforie, poruchy chování, stavy zmatenosti, zácpa, či poruchy

udržení moči. Opakovaným užíváním se zvyšuje riziko vzniku závislosti a tolerance [8]. Dále bolesti hlavy, poruchy spánku, či útlum dechového centra [18].

Mezi narkotická analgetika, která jsou ve sportu povolena, patří kodein, dextromethorphan, dihydrokodein, difenoxylát, dextropropoxyphen, ethylmorfin, propoxyphen, tramadol a pholcodin. Zakázanými narkotiky jsou alphaprodin, anileridin, buprenorphin, dextromoramid, diamorphin (heroin), dipipanon, hydrocodon, levorphanol, methadon, morfin, nalbuphin, pentazocin, pethidin, trimeperidin a další příbuzné látky [11].

3.3 ALKOHOL

Alkoholy jsou skupinou organických látek nesoucích na uhlovodíkovém řetězci OH skupinu. Jedná se o toxické látky působící na lidský organismus rozsáhlým spektrem účinků. Nejznámějším, a tělem v určitých dávkách tolerovaným zástupcem alkoholů je ethanol [11]. I přesto, že je užíván zejména pro zábavu a rekreační účely, má své projevy i v oblasti sportu. Potlačuje zábrany [19] i duševní napětí [11], ale negativně působí na reflexy jedince a jeho jednání [19].

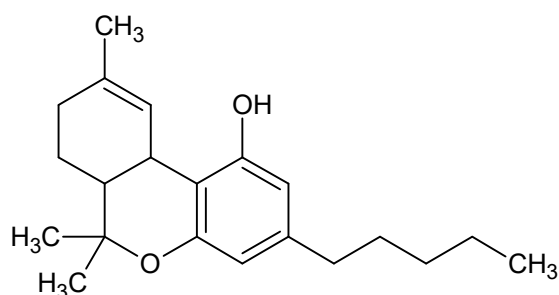
3.3.1 Ethanol a jeho účinky na lidský organismus

Ethanol je sportovci nejvíce zneužívanou návykovou látkou již od dávné historie. Jeho toxicita je závislá na konzumované dávce a nepříznivě ovlivňuje nejen CNS, ale také celkový organismus jedince [20]. Při nepřiměřené konzumaci alkoholu dochází k odumírání jaterních buněk a vzniku zánětlivé reakce. Zasažením další hepatální tkáně dochází k rozvoji jaterní cirhózy, kdy játra ztrácejí svoji metabolickou funkci. Požívání alkoholu spolu s kouřením vede k častým zánětům dýchacích cest a k rozvoji rakoviny [20]. Kvůli negativnímu vlivu na bílkoviny má alkohol za následek jejich zvýšený rozpad. Dlouhodobou konzumací tělo ztrácí minerály, jako je hořčík, zinek, fosfor, draslík a vápník [1]. V případě akutní toxicity dochází ke zhoršení artikulace, ataxii, nystagmu a ospalosti, která může vést až do stavu kómatu. V tomto stavu hrozí pokles krevního tlaku a celkový útlum dechového centra. Často bývá velkým nebezpečím vdechnutí zvratků do plic [8].

3.4 KANABINOIDY

Doposud bylo nalezeno v konopí 533 látek, z nichž je 103 kanabinoidních, tzn. že se jedná o fenolické monoterpenoidní látky. Všechny tyto sloučeniny jsou obsažené pouze v této rostlině. Hlavní psychoaktivní látkou v konopí je Δ^9 -tetrahydrokanabinol (THC, obr. 5) a míra koncentrace THC v rostlině závisí především na zeměpisných oblastech, kde je rostlina

pěstována, či ze kterých částí rostliny je THC získáno (nejnižší obsah THC má stonk a kořen). Intenzita účinků na organismus závisí na spoustě faktorů, mezi které řadíme množství, kvalitu drogy, nebo způsob aplikace. Mezi nejčastější způsoby aplikace patří inhalace (kouření) a perorální podání (konopné koláčky apod.). Sušené listy samičí rostliny označujeme jako marihuanu. Hašiš získáme z květenství samičí konopné rostliny a koncentrace THC je v něm asi pětkrát vyšší než u marihuany [21].



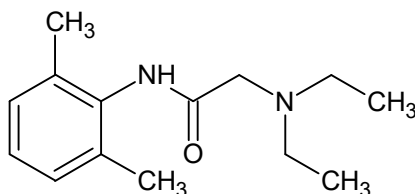
Obrázek 5: Struktura Δ^9 -tetrahydrokanabinolu [11]

THC se váže na specifické kanabinoidní receptory, které jsou umístěné na buněčné membráně. Stimulují nejen CNS, ale také periferní tkáň [21]. Účinky kanabinoidů se projevují euforií až hlasitým smíchem, hladem, pocitem „zpomaleného“ času, nebo překrvením spojivek [22]. Následkem dlouhodobého užívání konopí dochází k rozvoji úzkosti, napětí a deprese. Zhoršuje se soustředěnost a krátkodobá paměť [22]. Dalšími projevy jsou dráždivý kašel, suchost v ústech a silné bušení srdce. V kombinaci s alkoholem hrozí nevolnosti a zvracení [8]. Může dojít až k narušení kvality spermií, či ovariálního cyklu. Snižuje rychlost rozhodování a dochází k časté únavě jedince [18]. Při akutní toxicitě pozorujeme hypertenzi a tachykardii. Jedinec trpí halucinacemi, bludy a tyto stavy trvají po dobu 3 hodin [18]. Tolerovaný limit koncentrace kanabinoidů v těle sportovce může být maximálně 15 ng v 1 ml moči [11].

3.5 LOKÁLNÍ ANESTETIKA

Mezi lokální anestetika řadíme látky obsahující hydrofilní dusík na konci molekuly. Lidokain (obr. 6), trimekain, mepivakain, pilokain a bupivakain patří mezi amidy, které jsou méně toxické. Tyto látky působí rychleji a mají delší trvání. Do skupiny esterů patří přirozený kokain nebo syntetické látky jako je prokain nebo tetrakain [11]. Jedná se o látky, které tlumí vznik a vedení nervového vzruchu v místě aplikace [23]. K vedení nervového vzruchu je potřeba vzniku akčního potenciálu. Ten vzniká při depolarizaci membrány, která je aktivována díky

rychlému vstupu sodíkových iontů do buňky. Lokální anestetika blokují sodíkové kanály, tím znemožní vstup sodíkových iontů do buňky a zamezí vzniku a šíření nervového vzruchu [23]. V lékařské praxi se používají zejména při chirurgickém nebo stomatologickém zákroku [23].



Obrázek 6: Struktura lidokainu [24]

Při nesprávné aplikaci lokálních anestetik může dojít k poklesu krevního tlaku s následnou bradykardií. Toxicita je ovlivněna objemem podané látky a může způsobit poškození tkáně v místě podání, či nekrózu. Při celkové toxické reakci dochází k selhání oběhového systému s hypotenzí a bezvědomí. Toxické reakce sledujeme hlavně při podání anestetik esterového typu. Mezi další nežádoucí účinky patří neklid, zmatenost, hučení v uších, špatné vidění, nystagmus a chvění končetin [23].

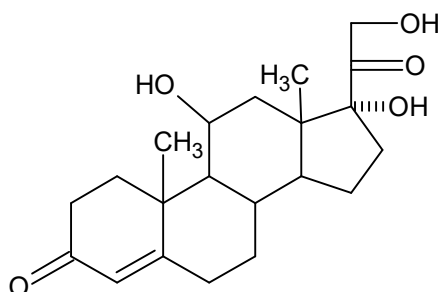
Užití vybraných anestetik ve sportu je za určitých okolností dovoleno. Hlavní podmínkou je dodání lékařské zprávy s diagnózou, dávkou a způsobem podání lokálních anestetik. Je povoleno užití bupivakainu, lidokainu, mepivakainu, prokainu a příbuzných pátek, ovšem tyto látky mohou být podány pouze lokální nebo nitrokloubní injekcí. Užití kokainu je zakázáno v jakémkoliv případě [11].

3.6 GLUKOKORTIKOSTEROIDY

Glukokortikosteroidy se významně podílí na metabolismu sacharidů, tuků a bílkovin. Nejznámějším endogenním glukokortikoidem je kortizol (obr. 7), označovaný také jako hydrokortizon, dále prednisolon, triamcinolon a dexamethason. Kortizol je steroidní hormon produkovaný kůrou nadledvin a jeho vylučování do oběhu je řízeno hypofyzárním ACTH (adrenokortikotropní hormon) [23, 25]. Kortizol se v těle vylučuje v cirkadiánním rytmu a při stresových situacích, kdy dochází ke stimulaci glukogeneze v játrech a zvýšení uvolňování glukózy do mozku pro zajištění jeho dostatečného prokrvení. Potlačuje alergické reakce snížením počtu receptorů zodpovědných za vznik zánětlivých procesů [11]. Při krátkodobém užití nepozorujeme žádné významné nežádoucí účinky. Při dlouhodobém užívání hrozí riziko Cushingova syndromu, kdy dochází k endogenní nadprodukci kortizolu. To se projevuje

sníženou odolností organismu proti infekcím, déle trvajícím hojení ran, ukládání tuků v oblasti trupu, krku a obličeje („měsíčkovitý obličej“) [23, 25]. Zvýšená hladina kortizolu také nepříznivě působí na svalstvo. Dochází k úbytku kosterního svalstva a funkce vaziva a nárůst osteoporózy. Působením na CNS pocituje jedinec buď nepřiměřenou euforii, nebo naopak neklid a deprese vedoucí až k sebevražednému jednání [11].

Orální, rektální, nitrožilní a nitrosvalové podání těchto látek do organismu je ve sportu zakázáno. Lokální podání je možné pouze s lékařským odůvodněním. Užívání glukokortikoidů při sportu musí být hlášeno při dopingové kontrole, někdy může být požadováno lékařské potvrzení o jejich užívání [11].



Obrázek 7: Struktura kortizolu [11]

3.7 BETA BLOKÁTORY

Beta blokátory patří mezi sympatolytika inhibující beta-1 adrenergní receptory. Do této skupiny zneužívaných látek řadíme nebivolol, acebutolol, propranolol, karvedilol a mnoho dalších. Využití nacházejí zejména v léčbě anginy pectoris, hypertenze, srdečního selhání, či glaukomu [26]. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří poruchy spánku a únava, což je způsobeno průnikem lipofilních beta blokátorů do CNS. Z hlediska kardiovaskulárních účinků dochází k hypotenzi a bradykardii s rizikem vzniku srdečního selhání. Dále svalová slabost, závratě, suchost v ústech, či nauzea. Při dlouhodobém užívání beta blokátorů může také dojít ke zvýšení hmotnosti [27].

3.8 ANABOLICKÉ LÁTKY

V současnosti se jedná o jedny z nejvíce zneužívaných drog ve sportu, a to zejména v kulturistice, bojových, či silově rychlostních sportech [11]. Anabolickými účinky rozumíme například zvýšenou tvorbu a hmotnost kosterního svalstva, zvýšenou koncentraci hemoglobinu,

červených krvinek, retenci dusíku a některých elektrolytů, či vliv na distribuci a kvalitu tělesného tuku [28].

3.8.1 Anabolické androgenní steroidy

Mezi anabolické androgenní steroidy řadíme bolandion, bolasteron, metanolon, oxandrolon, nandrolon, stanalozol, dehydroepiandrosteron, epitestosteron a testosteron (Obr. 9) [1]. Jedná se o syntetické deriváty testosteronu, které byly původně syntetizovány, aby zvýšily anabolické účinky testosteronu [11]. Mají vliv na retenci dusíku a dalších elektrolytů v těle, což vede ke zvýšené syntéze svalových proteinů a zároveň k inhibici jejich rozpadu. Tyto proteiny jsou důležitou složkou pro tvorbu svalové hmoty [28, 29]. Metabolity z těchto látek přetrvávají v moči i několik měsíců, takže při antidopingových kontrolách bývají snadno odhalovány.

V dnešní době není k dispozici léčivo s čistě anabolickým účinkem, neboť tyto látky mají současně také androgenní vlastnosti [28, 29]. Podávají se zejména intramuskulárně injekčně, protože testosteron se při perorálním podání rychleji degraduje v játrech a ztrácí tak svoji androgenní funkci [11].

3.8.1.1 Kardiovaskulární a hematologické změny

U kulturistů pravidelně přijímajících anabolika dochází ke ztlustění stěny komor srdeční svaloviny, které souvisí s hypertrofií svalstva. Dochází také k častým poruchám srdečního rytmu, kardiomyopatii nebo riziku vzniku infarktu i u mladších sportovců. Androgenní účinky steroidů mají vliv na retenci vody, chlóru a sodíku. Stoupající koncentrace iontů sodíku v mezibuněčném prostoru má za následek zvýšení kontraktility hladké svaloviny stěn cév, čímž dochází ke zvýšení srdečního výdeje a krevního tlaku [6, 11].

Dochází také k ovlivnění lipidových složek v krvi. Opakovaným užíváním se zvyšují hodnoty cholesterolu a triglyceridů v plazmě, což vede ke vzniku onemocnění kardiovaskulárního systému, nejčastěji infarktu myokardu [8].

3.8.1.2 Poškození jater

Tato poškození sledujeme zejména s perorálními anaboliky, která byla substituována alkylovou skupinou na 17. uhlíku molekuly steroidu. Dochází ke zvýšení sérových hodnot alaninaminotransferázy, aspartátaminotransferázy, alkalické fosfatázy i bilirubinu. V játrech dochází k metabolismu steroidů a jejich aktivita stimuluje jaterní buňky k jejich zvětšení, či dokonce k tvorbě benigních tumorů. Přestože jsou nezhoubné, mohou prasknout, a postižený může na následky vnitřního krvácení zemřít [6].

3.8.1.3 Poruchy reprodukce a změny sekundárních pohlavních znaků

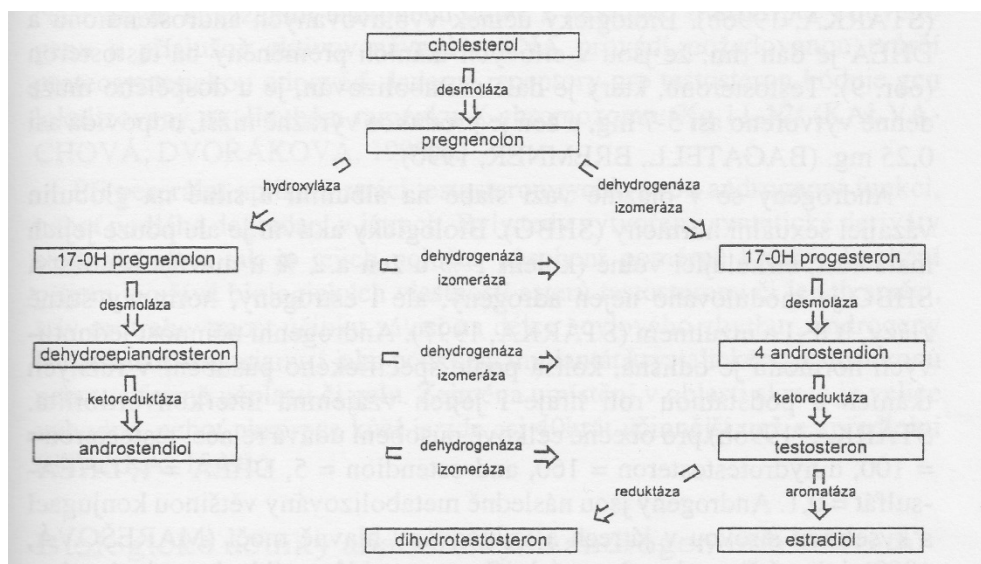
Zneužívání anabolik má za následek útlum sekrece hormonů zodpovědných za činnost pohlavních žláz. Dochází k poklesu pohlavních buněk – spermií u mužů a vajíček u žen. Dlouhodobé užívání anabolik může vést k trvalé neplodnosti [6]. Steroidy mají také negativní vliv na sexuální život jedince. Při užití malé dávky byl zjištěn posun k hypersexualitě, zatímco podání vysoké dávky působí opačně [6]. Gynekomastie je typickým projevem u sportovců přijímajících androgeny. Jedná se o zvětšení mléčných žláz, jejich zvýšenou citlivost, bolest a výtokem mléčné tekutiny [11].

3.8.1.4 Změny chování a poruchy psychiky

Zvýšení agresivity, iritability či projevy násilného psychotického chování jsou dalšími nepříznivými projevy při užívání steroidů. Dále mezi psychické změny patří poruchy spánku, neklid, halucinace, které mohou vést až k sebevražedným projevům [11].

3.8.1.5 Poškození pohybového aparátu

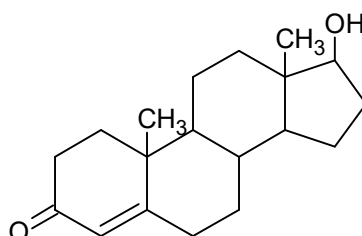
Kvůli rychlému nárůstu svalové hmoty hrozí přetížení pohybového systému, které může vyústit v akutní nebo chronické poškození vazivových struktur [6, 11]. Snižuje se také kvalita vazivového kolagenu, elasticita svalové i pojivové tkáně, což může způsobit mikrotraumatizaci, či ruptury ve svalové tkáni [11].



Obrázek 8: Schéma tvorby androgenů ve varlatech [11]

3.8.1.6 *Testosteron*

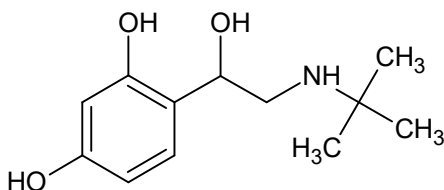
Testosteron (obr. 9) je steroidní hormon produkovaný specifickými žlázami. U mužů je 95 % testosteronu syntetizováno ve varlatech Leydigovými buňkami, zatímco u žen je primární produkce testosteronu v ovariích (85 %) a nadledvinách. Více než polovina testosteronu cirkulujícího v těle je vázána na globulin vážící pohlavní hormony. Zbývající testosteron je vázán na albumin a okolo 2 % hormonu zůstává ve volné formě, což mu umožní průnik přes lipidovou membránu do buňky a navázání na nitrobuněčné receptory [10]. Testosteron je zodpovědný zejména za vývoj sekundárních pohlavních znaků u mužů. Změny v růstu vousů a tělesného ochlupení, stimulace růstu kostí, genitálií, prostaty a semenných váčků. Dochází také k prohloubení hlasu a změnám psychiky i chování [10].



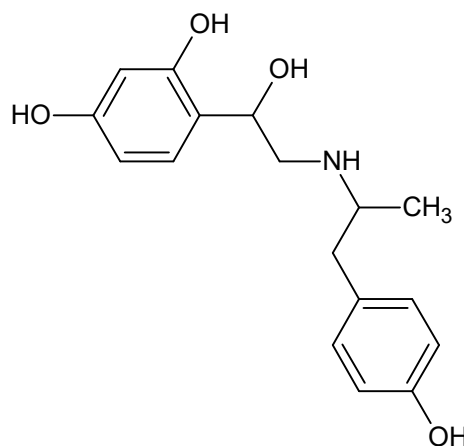
Obrázek 9: Struktura testosteronu [11]

3.8.2 *Beta -2 agonisté*

Mezi beta-2 agonisty řadíme clenbuterol, bambuterol, terbutalin (obr. 10), fenoterol (obr. 11), salbutamol a další příbuzné látky [11]. Díky svým stimulačním účinkům sympatické části vegetativního systému jsou tyto látky zahrnuty mezi stimulantia, ovšem ve vyšších dávkách navozují anabolický efekt, proto byly tyto látky zařazeny Mezinárodním olympijským výborem i mezi anabolické látky [11].



Obrázek 10: Struktura terbutalinu [30]



Obrázek 11: Struktura fenoterolu [31]

Jedná se o sympatomimetické aminy uvolňující svalstvo dýchacích cest při astmatickém záchvatu či alergické reakci. Otevřením dýchacích cest se tak zajistí dostatečný přísun kyslíku ke svalovým tkáním a dochází k urychlení regenerace svalů po fyzické zátěži [1]. Díky svým lipolytickým účinkům mohou být zneužívány k redukci tělesné hmotnosti sportovce [11]. Roli zde nehraje pouze příjem vysokých dávek těchto látek, ale také jejich selektivita, neboť ovlivňují v menší míře také β -1 receptory. Mezi nežádoucí projevy patří zejména třes rukou, bolesti hlavy a tachykardie. U některých jedinců můžeme pozorovat změny v chování, napětí, nervozitu a strach [11].

3.9 PEPTIDOVÉ HORMONY, JEJICH MIMETIKA A ANALOGA

3.9.1 Růstový hormon

Růstový hormon (hGH) je polypeptidový hormon tvořený 191 nebo 176 aminokyselinami a jeho hlavními funkcemi je zejména stimulace růstu a proteosyntézy. Je uvolňován z předního laloku hypofýzy a vyplavován do plazmy zejména při spánku [11]. Je důležitým regulátorem metabolismu, a to nejen u dětí, ale také u dospělých jedinců. Podporuje štěpení tuků (lipolýzu), zvyšuje glukogenezi v játrech, podporuje syntézu kolagenu, či resorpci vápníku a fosfátů ze střeva [32].

Nedostatek, či poruchy spánku nepříznivě ovlivňují tvorbu hGH. Některé aminokyseliny (arginin), dopamin, adrenergní agonisté, hormony štítné žlázy, látky stimulující α -2 adrenergní agonisté (např. clonidin) podporují vyplavení růstového hormonu [11].

Syntetický hGH byl vyvinut v 80. letech minulého století jako náhrada za růstový hormon vylučovaný předním lalokem hypofýzy. Příznivě ovlivňuje tvorbu svalové hmoty a snižuje tělesný tuk. Sportovci užívají růstový hormon zejména kvůli jeho účinkům, které jsou podobné anabolickým steroidům. Ovšem hlavním důvodem, proč sportovci vyhledávají hGH namísto anabolik, je jeho obtížná detekovatelnost. Zatímco steroidy se při dopingové kontrole ze vzorků mohou odhalit i několik měsíců zpětně, růstový hormon je velmi problematické detekovat [33].

Při nadměrné tvorbě růstového hormonu u dětí dochází k projevům gigantismu (obří vzrůst). V dospělosti pak nadbytek tohoto hormonu vede k akromegalii, což je onemocnění projevující se nadměrným růstem kostí a některých tkání, jako jsou třeba chodidla, ruce, uši, nos, či hrudník. Tyto projevy vedou ke zkrácení věku dožití až o deset let. Naopak při nedostatečné tvorbě hGH již v dětském věku dochází ke zpomalení růstu, což se projevuje trpasličím

vzrůstem, jinak označovaným jako nanismem. V dospělosti může být deficit tohoto hormonu příčinou metabolických poruch a imunitního systému [33].

3.9.2 Erythropoetin

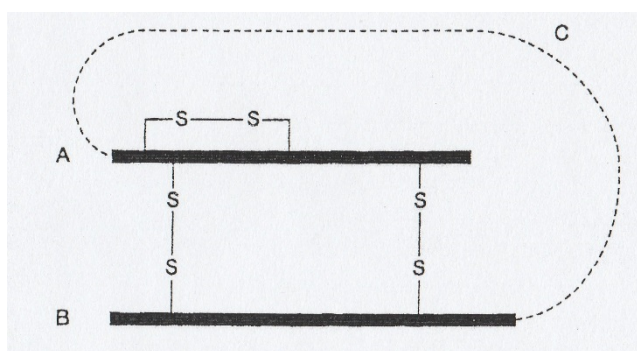
Erythropoetin (EPO) je glykoproteinový hormon tvořený 160 aminokyselinami [34]. Jeho endogenním zdrojem jsou zejména ledviny, proto při chronickém selhání ledvin dochází současně k anémii z nedostatku tohoto hormonu [10]. Tento hormon stimuluje kostní dřeň v procesu nazývaném erytropoéza, tedy k tvorbě nových červených krvinek (erytrocytů), které umožňují zvýšení přenosu kyslíku do tkání. Napomáhá ke zvýšení výkonnosti a lepší regeneraci po fyzické zátěži [34]. Kvůli zvýšenému množství erytrocytů v krvi dochází k nárůstu viskozity krve, což zvyšuje nebezpečí srážení krve v cévách. V důsledku zvýšené hustoty krve hrozí zvětšení levé komory, a může dojít k ucpání věnčitých cév myokardu, které jsou zodpovědné za jeho výživu. Ojedinele může nastat selhání oběhového systému, či ucpání mozkových cév se vznikem mozkové příhody [6].

Rekombinantní erythropoetin (r-EPO) byl vyvinut v roce 1987 a zanedlouho byl sportovci zneužíván jako podpůrná látka. Jeho příznivý vliv na zlepšení výkonnosti využívají hlavně sportovci z odvětví vytrvalostních sportů – běh na lyžích, cyklistika a vytrvalostní běh [32]. Tento hormon se pro léčebné účely využívá hlavně při léčbě anémie, či onemocnění oběhového systému, jater a ledvin. U pacientů s anémií zvyšuje počet červených krvinek pro přenos kyslíku a zlepšuje aerobní schopnosti [1]. Zneužívání rekombinantního erythropoetinu pro jiné, než lékařské účely může také vést ke zvýšeným hodnotám urey, fosfátů a kreatinu v těle. Současně hrozí vznik křečových stavů, kožních alergických projevů až po rozvoj anafylaktického šoku [11]. Neopatrnost a nedostatečná hygiena při injekčním podání erythropoetinu zvyšují riziko přenosu parenterálních nemocí, virového zánětu jater nebo AIDS [6].

3.9.3 Inzulín

Inzulín je syntetizován v β buňkách Langerhansových ostrůvků v pankreatu. Inzulín je protein složený ze dvou spolu spojených peptidových řetězců. Řetězec A je tvořen 21 aminokyselinami a řetězec B je tvořen 30 aminokyselinami [23]. Řetězce A i B jsou navzájem spojeny dvěma disulfidovými můstky a dva řetězce A spojeny opět disulfidovým můstkem, jak je znázorněno na obrázku 12. Jedná se o jediný hormon v těle, který má hypoglykemizující účinek [11], a využívá se tak v léčbě diabetu [34]. Zvyšuje přísun glukózy do svalových, tukových i jaterních buněk a do cílových orgánů. Nadměrný příjem inzulínu také zvyšuje hladinu testosteronu v krvi [11].

Inzulin je syntetizován v β buňkách Langerhansových ostrůvků v pankreatu [23]. V momentu, kdy hladina cukru v krvi přesáhne hodnotu 5,5 mmol/l se glukóza dostává do β -buněk a spustí kaskádu reakcí. Dochází k otevření vápníkových kanálů umožňující vstup iontů vápníku, které spouští syntézu inzulínu [11]. Na hrubém endoplazmatickém retikulu nejdříve vzniká proinzulin, který se v Golgiho aparátu ukládá do vezikul. Pomocí proteázy se poté odštěpí tzv. C-řetězec, a tím vzniká vlastní molekula inzulínu tvořená z již zmíněných řetězců A a B [34]. V cílových systémech se poté váže na glykoproteinové receptory. V počáteční fázi zvyšuje počet přenašečů pro glukózu, a usnadňuje její vstup do buněk. Ve střední fázi aktivuje enzym glykogensyntázu, která má za následek zvýšení tvorby glykogenu v játrech [11].



Obrázek 12: Struktura inzulínu, řetězce A, B a spojovacího peptidu C [11]

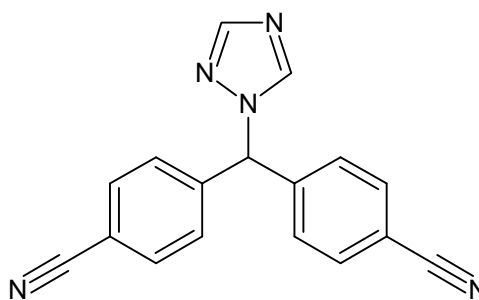
Zvýšená tvorba glykogenu v játrech je z hlediska sportu důležitá pro rychlejší regeneraci organismu po fyzickém výkonu. Inzulin také příznivě ovlivňuje tvorbu aminokyselin, díky čemuž bývá zneužíván pro své anaboličké účinky. Díky zvýšené syntéze aminokyselin a současně snížením rozpadu proteinů dochází k nárůstu svalové hmoty a síly sportovců [1]. U diabetiků, kteří si musí do těla vpravovat inzulin, je užívání dovoleno pouze s písemnou zprávou endokrinologa, či lékaře. Detekce tohoto hormonu při dopingových kontrolách může být obtížná, neboť je organismem rychle spotřebován [11].

Nedostatek inzulínu neboli stav zvýšené koncentrace glukózy v krvi nazýváme jako hyperglykémie. Tento stav označujeme, pokud hodnota glykémie přesáhne hranici 7,8 mmol/l nalačno [35]. Hyperglykémie je nejčastěji způsobena poruchou β -buněk Langerhansových ostrůvků autoimunitní reakcí nebo poškozením receptorů v oblasti cílových orgánů. Projevy nedostatku se vyznačují snížením hmotnosti, žízní, polyurií, či poruchami vědomí z nadbytku glukózy v orgánech. Opakem hyperglykémie je hypoglykémie, což je stav, kdy se v těle vyskytuje zvýšená hladina inzulínu. Dochází k poruchám CNS i celého organismu. Mezi typické projevy patří bolest hlavy, slabost, hlad, únava, či špatné vidění a poruchy vnímání až do stavů křečí nebo kómatu. Hypoglykémii současně doprovází vyplavování katecholaminů,

což se může projevit pocity úzkosti, třesem, bušení srdce, tachykardií, či zvýšením krevního tlaku. Při neopatrné nebo nehygienické manipulaci s jehlami může docházet k přenosu parenterálních nemocí [11].

3.9.4 *Inhibitory aromatázy*

Aromatáza je enzym komplexu cytochromu P450, díky kterému dochází k přeměně androgenů. Například u mužů vyvolává přeměnu testosteronu na osteoanabolický estradiol (obr. 8). Inhibitory aromatázy jsou látky zamezující přeměně testosteronu na jiné estrogény. Mezi tyto látky patří například anastrozol a letrozol, jejichž struktura se neliší od steroidních hormonů, proto je označujeme jako nesteroidní inhibitory. Naproti tomu aminoglutethimid, formestan, exemestan, či vorozol řadíme do skupiny steroidních inhibitorů aromatázy, neboť se svojí strukturou podobají steroidním hormonům [11, 36].



Obrázek 13: Struktura letrozolu [37]

Dochází k potlačení syntézy estrogenů, které mají mimo jiné vliv na ukládání tuků v těle, čehož může být zneužito ke zlepšení výkonosti u sportů, kde je posuzována stavba a vzhled sportovce. Zvýšená hladina testosteronu podporuje také anabolické účinky, tedy nárůst svalové hmoty, stimuluje produkci erythropoetinu, a dochází tak ke zvýšení erytrocytů potřebných pro transport kyslíku do tkání [11]. Využití v lékařství nachází zejména při terapii pokročilého karcinomu prsu [23]. K nežádoucím účinkům patří zejména svědění, alergické reakce doprovázené vzácně až anafylaktickým šokem, ospalost, zažívací potíže, nauzea, zvracení a bolesti svalů [11].

3.9.5 *Choriogonadotropin*

Choriogonadotropin je glykoprotein se sacharidovými skupinami navázanými na proteinovém skeletu. Jeho produkce začíná již v těhotenství, konkrétně v prvním trimestru a stimuluje syntézu progesteronu. Zneužíván je pro své anabolické účinky, neboť u mužů stimuluje produkci testosteronu a epitestosteronu. Na rozdíl od anabolik nenarušuje produkci spermií a testosteronu varlaty [1]. K nepříznivým účinkům choriogonadotropinu řadíme projevy podobné

jako u zneužívání anabolických steroidů. U mužů dochází k výraznější gynekomastii, a to kvůli zvýšené hladině estradiolu v krvi, která stimuluje vzrůst mléčných žláz. Mezi další projevy řadíme bolest v místě aplikace a vznik alergické, někdy až anafylaktické reakce [6].

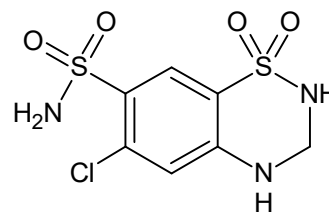
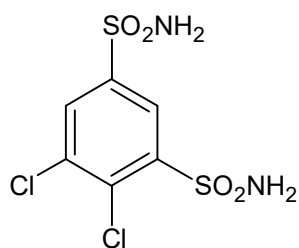
3.9.6 Kortikotropiny

Hlavním účinkem adrenokortikotropního hormonu je stimulace syntézy kůry nadledvin a rychlost vyplavování kortikoidů, které mají důležitou metabolickou funkci [34]. Nadledviny produkují několik důležitých hormonů jako je například aldosteron, kortizol, či androgeny. Nadměrným příjmem kortikotropinu (ACTH) dochází k hypertrofii kůry nadledvin a ke zvýšenému množství produkovaných hormonů [11]. Zneužívanou látkou ve sportu je jeho derivát – tetracosactid, který stimuluje zvýšení koncentrace kortizolu a kortikosteronu v krvi. Dalším příznivým účinkem je navození dobré nálady až euforie, což je také jedním z faktorů, který může ovlivnit výkon sportovce [1].

Mezi nežádoucí účinky patří zejména příznaky plynoucí z nadměrné produkce hormonů produkovaných kůrou nadledvin. Hrozí vznik osteoporózy, atrofie kůže, nekróza kostí, myopatie a snížená odolnost imunitního systému. Mezi kardiovaskulární poruchy vzniklé vlivem zneužívání ACTH patří pokles krevního tlaku, riziko vzniku krevních vmetků, či hypokalemické poruchy srdečního rytmu. Mezi endokrinní účinky patří akné, nadměrné ochlupení, poruchy menstruace, u dětí i pokles růstu. Hrozí nadměrné ukládání tuků spojené se zvyšováním tělesné hmotnosti. Užívání ACTH má také nepříznivé účinky na psychiku, které se projevují nespavostí, neklidem, bolestmi hlavy a psychotickými stavy doprovázené závratěmi. Mezi další projevy patří zánět pankreatu, zvýšené množství lipoproteinů v krvi, ateroskleróza nebo vznik alergie s možným rozvojem anafylaktického šoku [6].

3.10 DIURETIKA

Mezi diuretika řadíme například acetazolamid, amilorid, bendroflumethiazid, benzthiazid, bumetanid, diclofenamid (obr. 14), furosemid, hydrochlorothiazid (obr. 15), mersalyl, triamteren a další příbuzné látky [11]. Jedná se o látky zvyšující exkreci elektrolytů a vody z těla [38] a jejich centrem působení jsou ledviny [39]. Vylučováním elektrolytů a vody se zvyšuje koloidně osmotický tlak v krevní plazmě. Tím dojde ke zvýšení odvodu tělních tekutin z extravaskulárního prostoru do krve a následném mizení otoků z tkání nebo orgánů [39]. V léčebné terapii se díky svým vazodilatačním účinkům využívají k léčbě hypertenze a srdečního selhání [39].



Obrázek 14: Struktura diclofenamidu [40] **Obrázek 15:** Struktura hydrochlorothiazidu [41]

Zneužití diuretik nacházíme zejména v oblastech sportu, kde jsou sportovci řazeni do váhových kategorií. Judo, box, vzpírání a další zápasnické sporty [38], dále například jezdeckví a veslařství, kde je přínosem udržení minimální hmotnosti. Díky zvýšení diurézy mají také schopnost maskovat jiné zakázané látky v moči [42] a snížit tak schopnost detekce při dopingové kontrole [1]. Proto jsou podle Světové antidopingové organizace (WADA) zakázány v jakékoliv koncentraci [42]. Typickým příkladem maskovacích látek je probenecid, který snižuje vylučování anabolik a antibiotik [9, 38].

Kvůli zvýšenému úniku tekutin z organismu dochází k poruchám gastrointestinálního traktu, celkové slabosti organismu, stavům neklidu, úzkostem, či bolestem hlavy. Hrozí ztráty důležitých iontů a minerálů, například draslíku (hypokalemie) nebo hořčíku, což může vést až ke křečovým stavům ve svalích. Dochází k poškození funkce metabolismu v těle, činnosti ledvin a oběhového systému, který ve výjimečných případech může končit až smrtí [6, 8]. Další negativní účinky mohou být hučení v uších, snížení krevního tlaku, menstruační poruchy u žen, či gynekomastie u mužů. V důsledku kolísavé hodnoty vápníku v těle může dojít k rozvoji osteoporózy, ukládání vápenatých iontů v ledvinách, či hypertenze [11].

4 ZAKÁZANÉ METODY

4.1 MANIPULACE S KRVÍ A JEJÍMI KOMPONENTY

Dodáním erytrocytů do krve dochází ke zvýšení transportu kyslíku v krvi, což umožní rychlejší regeneraci unavených svalů po zátěži, a zároveň pozitivně ovlivňuje vytrvalost sportovce. Nejčastější metodou porušování antidopingových pravidel je autotransfúze, kdy si sportovec aplikuje svoji krev, odebranou cca 6-8 týdnů před použitím. Existují však i další krevní přípravky, které obsahují erytrocyty. Patří mezi ně erytrocytový koncentrát, erytrocytová masa, či konzerva čerstvé krve. U těchto přípravků je potřeba brát ohled na kompatibilitu krve [11].

4.2 CHEMICKÁ A FYZIKÁLNÍ MANIPULACE

Do této skupiny řadíme možné postupy při snaze změnit strukturu, či jinak manipulovat se vzorkem odebrané moče při dopingové kontrole. Jsou známy situace, kdy sportovci manipulují s močí svojí, či někoho jiného. Sportovec má například na těle připevněn sáček s cizí močí a v případě komisařovi nepozornosti použije jako vzorek moči vlastní. Jiným postupem je přimíchání jiné kapaliny do odebraného vzorku (voda, alkohol), což může změnit koncentraci, a ovlivnit tak průběh analýzy vzorku [11]. Častá je také katetrizace, kde ovšem hrozí riziko vzniku infekce nebo zánětu močových cest [1].

4.3 GENOVÝ A BUNĚČNÝ DOPING

Jedná se o přenos sekvencí nukleových kyselin, či geneticky upravených buněk za účelem zvýšení výkonnosti a vytrvalosti sportovce [43]. Hrozí zde riziko ohrožení života, či úmrtí sportovce, neboť tento prostředek zneužití způsobí trvalé změny v buňkách [9].

5 DOPINGOVÁ KONTROLA

Dopingovou kontrolou rozumíme proces, kterým se odhaluje porušení antidopingových pravidel. Průběh kontroly zahrnuje výběr sportovce, způsoby a postupy odběru vzorku, analýzu vzorku v laboratoři a oznámení výsledků kontroly sportovní organizaci, která o analýzu požádala, nebo sportovci, který kontrolu podstoupil. Všechny tyto postupy se řídí předem stanovenými pravidly, která vycházejí z celosvětově platných dokumentů vydávaných Mezinárodním olympijským výborem [1].

5.1 VÝBĚR SPORTOVCE

Výběr sportovce pro dopingovou kontrolu se provádí podle předem stanoveného klíče. Na soutěžích může být například klíčem výsledné pořadí, podle něhož je sportovec vybrán [1]. Vylosovaný sportovec je o kontrole informován dopingovým komisařem, který mu následně předá písemnou výzvu, kterou musí potvrdit svým podpisem. Odmítnutí podepsání výzvy je bráno jako porušení antidopingových pravidel. Od podepsání výzvy je sportovec pod dohledem dopingového komisaře, který ho následuje až na místo určené pro dopingovou kontrolu. Se sportovcem se k dopingové kontrole může dostavit také další osoba (např. tlumočník, fyzioterapeut), která musí prokázat svoji totožnost [8].

5.2 TESTY MIMO SOUTĚŽ

Dopingové kontroly neprobíhají jenom na soutěžích. Vrcholoví sportovci, kteří jsou zařazeni do registru pro testování Antidopingovým úřadem ČR (ADV ČR) nebo příslušné mezinárodní sportovní federace musí uvádět svá aktuální místa pobytu, aby u nich v případě výběru mohla být provedena antidopingová kontrola. Každý sportovec zařazený v tomto registru musí hlásit místo pobytu čtvrtletně, a to prostřednictvím formulářů dostupných na internetových stránkách Antidopingového výboru ČR.

Takto nahlášená místa pobytu lze v systému měnit podle aktuální situace. Kontroly se provádějí bez předchozího oznámení. Pokud sportovec není zastižen na místě uvedeném v registru, či nedodá úplné informace o aktuálním pobytu, a to třikrát během 18ti po sobě jdoucích měsíců, hrozí mu postih za porušení antidopingových pravidel ADV ČR. Pověření jiné osoby hlásit místo pobytu je dovoleno, ovšem v případě porušení pravidel nese sportovec zodpovědnost sám [44].

5.3 ODBĚR VZORKU

Samotný odběr vzorku moči probíhá pod přímým dohledem dopingového komisaře stejného pohlaví jako je vybraný sportovec. Komisař má za úkol zamezit podvodným manipulacím s odebíraným vzorkem, které by vedly k porušení antidopingových pravidel [1]. Sportovec musí odevzdat minimálně 75 ml vzorku moči, která je sportovcem rozdělena do dvou lahvíček označených „A“ a „B“. Obě tyto lahvičky jsou poté zapečetěny [8]. Ze zbytku vzorku komisař testuje hustotu moče, která musí splňovat limit daný WADA. Pokud nesplňuje tento limit a hustota je nižší, musí sportovec odevzdat další vzorek [45].

Se vším materiálem včetně lahvíček manipuluje sportovec sám dle pokynů dopingového komisaře. Souprava je označena číselným kódem, který se zapisuje do protokolu o dopingové kontrole spolu s údaji o sportovci. Tyto údaje jsou následně stvrzeny podpisy kontrolovaného sportovce i dopingového komisaře. Protokol je poté spolu se vzorky odeslán na analýzu [1].

5.4 LABORATOŘE DOPINGOVÉ KONTROLY

Jedná se o přesně specifikované prostory se speciálním vybavením a přístroji vhodnými pro analýzu vzorků [1]. Tato zařízení musí splňovat velmi přísné nároky na získání akreditace, která se musí každým rokem obnovovat [8]. K analyzování vzorku se v laboratořích využívá instrumentálních analytických metod, zejména plynové a kapalinové chromatografie s dalšími analyzátory určenými k identifikaci látek [1, 42]. Analytičtí pracovníci se při přebírání vzorku odebíraných při dopingové kontrole mimo soutěž musí ujistit, že vzorky jsou standardně

zabezpečeny. Za splnění přísných kritérií a způsobilost laboratoře zodpovídá Lékařská komise Mezinárodního olympijského výboru a její subkomise pro biochemii a doping [8].

5.5 ANALÝZA VZORKU MOČI

Analýza vzorku odebrané moče probíhá ve specializovaných laboratořích akreditovaných WADA. Při analýze se postupuje jasně daným a striktním postupem, který je v souladu s mezinárodním standardem pro tyto laboratoře [1], aby se předešlo jakémukoliv zfalšování pozitivního výsledku [46]. Analyzovaný vzorek může být použit pouze pro testování látek nebo metod ze seznamu zakázaných látek při sportu. Výsledky analýz prováděné v jiných laboratořích nemohou být za žádných okolností použity. Vzorky jsou ukládány do chladicích boxů, a po ukončení analýzy jsou v laboratoři uloženy po dobu 10 let [1]. V této době mohou být identifikovány pomocí nejmodernějších přístrojů a metod, díky kterým mohou odhalit látky, které v minulosti nebylo možné detekovat [47].

Při analýze se postupuje tak, že je nejprve analyzován vzorek „A“ na všechny typy zakázaných látek ve sportu podle předem daného postupu vydaného Mezinárodním olympijským výborem. Pokud dojde k nálezům některé z nedovolených látek ve vzorku „A“, provádí se následně analýza vzorku „B“, která se provádí pro potvrzení nálezů zakázané látky. Pokud k této situaci dojde, sportovec má právo zúčastnit se této prokazující analýzy vzorku „B“, nahlédnout do svého protokolu o dopingové kontrole a zkontrolovat veškeré údaje. Za pozitivní výsledek dopingové kontroly se považuje prokázání pozitivního nálezů u obou vzorků, poté následuje disciplinární řízení se sportovcem a vyhodnocení trestu [8].

5.6 VÝSLEDKY ANALÝZY VZORKŮ

Po dokončení testů jsou výsledky analýzy předány organizaci, která tyto vzorky dodala. Tato organizace podle číselného kódu identifikuje sportovce, a následně ho o výsledku informuje. Na základě těchto vyšetření se poté postupuje v souladu s příslušným článkem Světového antidopingového Kodexu [1].

6 ANALYTICKÉ STANOVENÍ ZAKÁZANÝCH LÁTEK VE SPORTU

Mezi hlavní požadavky při analýze zakázaných látek patří zejména výběr takové metody, která umožní rychlou detekci s vysokou citlivostí a selektivitou v komplexních matricích [48, 49]. Podle WADA nyní podléhá identifikaci okolo 250 zakázaných látek a tento počet se neustále zvyšuje [48]. Nejčastěji jsou analyzovány vzorky moči nebo krve. Mezi výhody při odběru moči patří vysoká koncentrace identifikovaných látek, či jejich metabolitů [50] a neinvazivní

způsob odběru [48, 51]. Kvůli rozdílným strukturám [51] a fyzikálně-chemickým vlastnostem každé sloučeniny je jejich analýza velmi náročná a k dosažení výsledků o vysoké kvalitě je nutné využít více analytických metod [48]. U většiny analýz postačuje kvalitativní stanovení, v některých případech je však nutná i kvantitativní analýza (např. kofein, efedrin, morfin) [51]. Stanovení přítomnosti nebo nepřítomnosti dopingové látky a jejího metabolitu v těle sportovce zahrnuje počáteční testovací screening, po kterém následují potvrzovací testy [42, 52].

V současné době patří mezi nejpoužívanější metody k identifikaci sloučenin s nízkou molekulovou hmotností plynová a kapalinová chromatografie spojená s hmotnostním spektrometrem (GC-MS, LC-MS). Imunologické testy, izoelektrické fokusace, či kapilární elektroforéza (CE) se zaměřují na analýzu větších molekul, jako jsou proteiny a peptidy [42, 52].

6.1 HMOTNOSTNÍ ANALYZÁTORY UŽÍVANÉ PRO ANALÝZU ZAKÁZANÝCH LÁTEK

Pro kvantitativní analýzu jsou využívány hmotnostní spektrometry s nízkým rozlišením, zatímco přístroje s vysokým rozlišením jsou určeny pro identifikaci sledovaných látek. Mezi analyzátory s nízkým rozlišením řadíme spektrometry s jednoduchým kvadrupólem (Q), hybridní analyzátory například Q s iontovou pastí [52], či trojitým kvadrupólem. Díky své citlivosti a specifitě [48] se využívají při screeningu známých i neznámých kortikoidů, či syntetických steroidů. Samotný analyzátor, či v kombinaci s Q nebo Orbitrap, detekuje látky s vysokým rozlišením hmotnostních spekter [52].

6.2 PŘÍPRAVA VZORKU

Vzorek krve nebo moči obsahuje široké spektrum analytů, proto je příprava této matrice před samotnou identifikací důležitou částí analýzy. Příprava vzorku by měla být co nejjednodušší a citlivá, aby se zamezilo falšování výsledků. Úprava zahrnuje například ředění, srážení proteinů, různé typy extrakcí, jako je extrakce na pevné fázi (SPE), kapalina-kapalina (LLE), či extrakce z pevné fáze do kapaliny. Usiluje se o získání čistého extraktu za účelem zvýšení citlivosti, selektivity a k odstranění matrice. LLE není vhodná pro látky s polárními skupinami a vyžaduje velké objemy vzorku i rozpouštědel, mezi která patří například diethylether, n-pentan nebo terc-butylmetylether. Počáteční screening snadno ionizovatelných sloučenin jako jsou stimulanty, narkotika, diuretika, β -agonisté a β -blokátory, probíhá metodou „dilute-and-shoot“, tedy jednoduchým naředěním, či extrakcí a následnou chromatografickou analýzou. Tento postup úpravy vzorku je rychlý, levný a nevyžaduje specifické vybavení [48].

6.3 CHROMATOGRAFIE NA TENKÉ VRSTVĚ

Chromatografie na tenké vrstvě (TLC) se v minulosti využívala zejména při analýze narkotik, diuretik, či amfetaminu a jeho derivátů. Vzorek vyžadoval 5-200 ml moči a po purifikaci a extrakci cílových komponent následovala jedno- či dvourozměrná TLC, buď na destičce s využitím rozprašovacích činidel, nebo po eluci za využití UV spektroskopie. Mezi často používaná rozprašovací činidla patří jodid draselný, difenylkarbazon, octan stříbrný, či nynhydrin [53]. Dnes se již TLC nepoužívá z důvodu časové náročnosti a nízké citlivosti [51].

6.4 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

Před samotnou separací pomocí plynové chromatografie (GC) je nutné provést hydrolyzu a derivatizaci netěkavých látek pro zajištění vyšší citlivosti a reprodukovatelnosti výsledku. Hydrolyza se provádí například P-glukuronidázou z *Escherichia coli*, nebo působením kyselin [52]. Enzymatická hydrolyza je výhodnější, neboť se jedná o nedestruktivní metodu [51]. Derivatizace se provádí pro zvýšení citlivosti a těkavosti látek. I přes časově náročnou přípravu derivátů a hydrolyzu se jedná o komplexní metodu s vysokou citlivostí. Pro zvýšení selektivity se používá v kombinaci s tandemovými hmotnostními spektrometry (MS/MS) [48]. Pomocí této metody se stanovují například anabolické steroidy, narkotika, stimulantia, či alkohol [54].

Často bývá jednou metodou stanoveno více skupin dopingových látek. Například stanovení stimulantů spolu s narkotiky a β -blokátory bylo provedeno plynovou chromatografií po extrakci *t*-butylmethyletherem v prostředí hydroxidu draselného a síranu sodného [55]. Etherová fáze byla dávkována na kapilární kolonu na bázi oxidu křemičitého, detekce byla provedena pomocí dusíkofosforového detektoru (NPD) při teplotě 280 °C, který je selektivnější než plamenově ionizační detektor [56]. Kvantitativní stanovení bylo provedeno metodou vnitřního standardu. Díky této metodě byly stanoveny látky, jako je například amfetamin, metamfetamin, nikethamid, či kofein [55].

Další možností je provedení extrakce na pevné fázi, poté derivatizace kyselinou octovou, či pyridinem a stanovení pomocí GC-MS [57]. Derivatizace je při detekci pomocí hmotnostního spektrometru nutná z důvodu reprodukovatelnosti výsledků [9]. Pro derivatizaci amfetaminů se nejčastěji používají acylhalogenidy nebo anhydridy halogenovaných kyselin, kdy se zvýší citlivost stanovení [57].

Diuretika a maskovací látky se běžně stanovují pomocí GC-MS po předchozí metylaci aminoskupin a karboxyskupin [58]. Přímá analýza je možná pouze u neutrálních diuretik, jako je spironolakton a canrenon. Při GC jsou používány zesíťené kapilární kolony na bázi silikagelu

a mezi nejpoužívanější stacionární fáze patří metylsilan a fenylmethylsilan [59]. Identifikace benzothiadiazinů je poměrně obtížná, protože vzniklé metylové deriváty jsou nestabilní a mohou podléhat hydrolyze, nebo v případě stanovení altizidu, benzthiazidu a polythiazidu může docházet k oxidaci sulfidových postranních řetězců na sulfoxidy a sulfony, což je způsobeno přítomností nečistot v ethylacetátovém extraktu. Tyto reakce jsou nežádoucí a znemožňují dostatečnou reprodukovatelnost. V současné době se pro detekci diuretik využívá novějších technologií jako je chromatografie nadkritickou tekutinou (SFC) nebo elektroforetické metody [58].

Při analýze beta blokátorů se nejprve provede enzymatická dekonjugace pomocí Helix pomatia, díky které dojde ke zvýšení koncentrace volné látky nebo metabolitu ve vzorku. Metabolit je dále čištěn extrakcí do rozpouštědla nebo na pevné fázi. Následuje derivatizace pomocí různých silylačních činidel pro přípravu těkavých derivátů a GC-MS analýza [56].

Při stanovení kodeinu a morfinu v moči se nejprve provádí hydrolyza a poté extrakce pomocí směsi dichlormetan : metanol (9:1) v prostředí amoniakálního pufru. Po odpaření organického rozpouštědla je vzorek rekonstituován v ethylacetátu a proměřen pomocí GC. Kvantifikace se opět provádí metodou vnitřního standardu, kdy pro kodein se využívá hydrochlorid mepivakainu a pro morfin etylmorfin [60].

Kanabinoidy se pomocí GC-MS stanovují po derivatizaci nebo dekarboxylaci kyselých kanabinoidů. Dále lze použít LC-MS a SFC [61].

Anabolické steroidy se vylučují močí v odlišných koncentracích a metabolitech, proto je analýza této skupiny dopingových látek jednou z nejnáročnějších [48]. Nejprve je nutné provést enzymatickou hydrolyzu [62], neboť anabolika se často vylučují jako glukuronidy, či sulfáty [56]. Dále následuje extrakce, čištění a poté GC-MS analýza. Kvantifikace je založena na poměru testosteronu ku epitestosteronu. Tento způsob stanovení však může být obcházen dodatečným příjmem epitestosteronu pro změnu výsledného poměru [62]. Dále lze pro poměr syntetického a endogenního testosteronu použít analyzátor pro určení poměru izotopů prvků ve vzorku [62, 63]. Jedná se o finančně náročnou, ale citlivou analýzu.

6.5 KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE

Při kapalinové chromatografii (LC) se analyzují netěkavé látky, které není potřeba derivatizovat a vzorek zahrnuje čištění různými extrakčními metodami [52]. Touto metodou se analyzuje široké spektrum zakázaných látek, jako jsou například diuretika, kanabinoidy, glukokortikosteroidy, β -blokátory, narkotika, anabolika a další [54].

Při analýze peptidových hormonů se nejvíce využívá kapalinová chromatografie v systémech s obrácenými fázemi ve spojení s hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem (ESI), kde se jako mobilní fáze používá 0,1 % kyselina trifluoroctová pro zlepšení tvaru výsledných píků analytů [48, 51]. Analýza inzulinu a jeho metabolitů se provádí pomocí LC-ESI-MS/MS po předchozí úpravě vzorku moči, ke které se přidává hovězí insulin jako vnitřní standard a je provedena SPE na adsorbční pryskyřici. Po eluci ve směsi acetonitril : voda se extrakt vysuší, přidá se fosfátový pufr a insulinové protilátky. Cílové analyty jsou uvolněny z komplexu přidávkem 2 % kyseliny octové a připraveny k analýze. V případě použití plazmy zahrnuje příprava vzorku srážení proteinů acetonitrem a k identifikaci se využívá hmotnostní spektrometr s analyzátozem doby letu. Při identifikaci růstového hormonu se opět nejprve provede srážení proteinů acetonitrem a po centrifugaci je vzorek analyzován pomocí LC-MS s ionizací elektrosprejem za použití iontové pasti jako analyzátoru [64]. Luteinizační hormon a lidský choriový gonadotropin jsou detekovány imunologickými testy. Pro ověření se používají další testy kombinované s ultrafiltrací, či hmotnostní spektrometrií [51]. Neznámé peptidy, či peptidy vytvořené po trypsinovém štěpení látek, pro stimulaci erytropoézy jsou analyzovány pomocí LC-MS(/MS) [52].

Při identifikaci diuretik dochází nejprve k SPE extrakci vzorku moči s vnitřním standardem (merfusid). Jako eluční činidlo se používá methanol, který je poté odpařen a odparek je rozpuštěn ve směsi acetonitrilu s vodou, která se používá jako mobilní fáze. K detekci se využívá spektrofotometrického detektoru [58]. Při analýze thiazidových diuretik se jako mobilní fáze používá směs vody a organického modifikátoru, nejčastěji metanolu nebo acetonitrilu. Při pH v rozmezí 3-7 nedochází k ovlivnění retence pomocí pH vodné fáze. Acetonitril jako organická složka mobilní fáze poskytuje lepší rozlišení. Při analýze bazických diuretik (amilorid, triamteren) spolu s kyselými sloučeninami se ke kyselé vodné fázi přidává bazický modifikátor, jako je například propylamin nebo amonná sůl, a to za účelem zabránění interakcí bazických sloučenin se silanolovými skupinami. Dochází tak ke zlepšení tvaru píků bazických látek a snížení retenčních časů. Ve většině případů se pro stanovení používá detektor diodového pole a získaná UV spektra lze identifikovat podle zjištěných píků. U diuretik, jako je bumetanid, furosemid, amilorid nebo triamteren, se používají také fluorescenční detektory, které jsou citlivější a selektivnější než UV detektory [59].

Pro zrychlení analýzy se užívají kolony plněné částicemi menšími než 2 μm , v takovém případě mluvíme o ultravysokoúčinné kapalinové chromatografii, kde je nutné využít speciální

instrumentace, která vydrží tlaky až 1300 barů. Výhodou je extrémně rychlá separace s vysokou účinností [46].

Komplexní analýza 122 dopingových látek ve vzorku moči obsahující diuretika a stimulantia byla provedena metodou vnitřního standardu s využitím LC-MS techniky. Jako mobilní fáze byla použita směs 1 mM octanu amonného a 0,001 % kyselina octová v metanolu. Jedná se o selektivní metodu, neboť nedošlo ke zjištění žádných interferencí ostatních látek [65].

Pro stanovení alkoholu se odebírají vzorky tělních tekutin – krev, sérum, moč nebo plazma. U vzorku krve se odebírá 8-10 ml. Může být přidán antikoagulant, aby se zabránilo koagulaci a eliminovala se potřeba homogenizace. Stanovení alkoholu je provedeno pomocí kapalinové chromatografie na koloně iontově výměnnou stacionární fází. Vytékající kapalina je převedena do reaktoru s alkoholdehydrogenázou, kde po oxidačně-redukční reakci vzniká peroxid vodíku, který je stanoven v průtokovém režimu elektrochemickým detektorem. Touto metodou lze stanovit také metanol a propanol, ale s nižší citlivostí. Další z metod stanovení alkoholu je chemická oxidace, při které dochází k oxidaci etanolu na acetaldehyd a kyselinu octovou. Jako oxidační činidlo se používá kyselina chromová, která se redukuje na sůl Cr^{3+} . Oxidace je řízena buď kolorimetricky, tedy se změnou barvy, nebo titračně. Další metodou je enzymatická oxidace, kde je oxidačním činidlem enzym alkoholdehydrogenáza, který v přítomnosti nikotinamid-adenin-dinukleotidu (NAD) oxiduje etanol na acetaldehyd. Redukovaná forma NAD má široké UV absorpční pásmo, které slouží k měření reakce a výpočtu etanolu. Reakce ji možné provést také u vyšších alkoholů, jako je propanol, či butanol, ale vyšší alkoholy reakci zpomalují. Jejichž principem je oxidace ethanolu na acetaldehyd [66].

6.6 CHROMATOGRAFIE NADKRITICKOU TEKUTINOU

Chromatografie nadkritickou tekutinou (SFC) je metoda, která jako mobilní fázi využívá kapalinu v nadkritickém stavu. Nejčastěji se jedná o oxid uhličitý, ke kterému se přidává polární modifikátor, nejčastěji metanol. Výhodou je rychlost transportu analytů, dobrá rozpustnost [48], vysoká citlivost a rychlost analýzy [61]. SFC spojením s hmotnostními spektrometry bylo identifikováno 110 látek z různých skupin zakázaných látek (např. stimulantia, narkotika, diuretika a β -blokátory) [48]. Ze skupiny stimulantii se touto metodou analyzuje například kokain, jehož identifikace trvá pouze 1 minutu [61].

6.7 ELEKTROFORETICKÉ METODY

Elektroforetické metody využíváme zejména při stanovení vzorků krve nebo plazmy. Detekce syntetického hemoglobinu, který zvyšuje kapacitu přenosu kyslíku v krvi, probíhá pomocí

kapilární zónové elektroforézy spojené s MS, díky kterému rozlišíme syntetický hemoglobin od přirozeného. Ze vzorků séra je možné odstředěním oddělit tento polymer od červených krvinek. Velkou nevýhodou této metody je nízká citlivost [42].

Pro detekci erythropoetinu se využívá dvourozměrné gelové elektroforézy. Analýza pro rozlišení endogenního EPO od r-EPO probíhá na základě UV absorpance a hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem. Přítomnost r-EPO se provádí pomocí kapilární zónové elektroforézy a detekce průletovým analyzátozem [42]. Další možností, jak rozlišit exogenní EPO od endogenního EPO, je detekce založená na diferenciaci jejich izoelektrických profilů. Zatímco první z nich se skládá z počtu pásem umístěných v rozmezí pH 3,7–4,7, druhý jmenovaný se skládá ze šesti pásem umístěných v rozmezí 4,4–5,1 a 3,7–4 [67].

Pro detekci peptidových hormonů se využívá zejména kapilární izoelektrické fokusace, kapilární zónové elektroforézy a elektroforézy na polyakrylamidovém gelu s dodecylsulfátem sodným. Tyto selektivní metody zajišťují kvantifikaci a oddělení od svých syntetických analogů [52]. V současné době se CE [58] nebo micelární elektrokinetická chromatografie [42] užívá i pro detekci diuretik [58]. V případě stanovení pomocí kapilární zónové elektroforézy se vzorek připravuje pomocí filtrace a centrifugace pro odstranění pevných látek ze vzorku. Detekce je provedena spektrofotometrickým detektorem či hmotnostním spektrometrem s ionizací elektrosprejem [42].

7 ZÁVĚR

Tato literární rešerše byla zaměřena na látky zakázané ve sportu. Podrobně jsou vymezeny základní pojmy a definice spojené s dopingovou problematikou. Byly popsány jednotlivé třídy a skupiny těchto látek a jejich nejznámější zástupci. Byly zkoumány také jejich pozitivní i negativní účinky na lidský organismus. Část práce byla zaměřena na skupinu anabolických androgenních steroidů, a to zejména na jejich nežádoucí účinky poškozující organismus. Právě tyto látky jsou v dnešní době nejvíce zneužívány zejména mladými lidmi, kteří si tato rizika ohrožení zdraví plně neuvědomují. Popsán je také průběh dopingové kontroly v průběhu závodu i mimo něj. Každý krok je prováděn dle předem stanoveného standardu a podle striktních pravidel, která musí dodržovat nejen sportovci, ale také dopingoví komisaři a další pracovníci. Dále jsou vyjmenovány zakázané metody, mezi které patří manipulace s krevními komponenty, či buněčný doping.

V poslední části jsou popsány používané metody analytických stanovení dopingových látek. Analýza se provádí ze vzorků moči nebo krve a nejčastějšími metodami pro identifikaci je plynová, či kapalinová chromatografie. Detekce se zpravidla provádí pomocí hmotnostní spektrometrie, která zvyšuje citlivost a selektivitu stanovení. Před samotnou analýzou je nutné vzorek nejprve upravit, což se provádí například různými typy extrakcí, srážením, či naředěním. Před plynovou chromatografií je nutné provést nejprve hydrolýzu nebo derivatizaci.

V dnešní době přibývá nejen množství zneužívaných drog, ale také jedinců, či vrcholových sportovců, kteří je užívají. Touha po vítězství, slávě nebo dokonalé postavě se stává důležitější než vlastní zdraví. Doping není možné zcela vymýtit, ale s využitím moderních instrumentálních přístrojů a analytických metod je možné rychlé odhalení zakázané látky v těle sportovce.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] NEKOLA, J. *Sport a doping*. 2. vyd. Praha: Olympia, **2018**. 176 s. ISBN 978-80-7376-539-2.
- [2] *Antidopingový výbor ČR*. [online]. Praha: Antidopingový výbor ČR. [cit. 10. 5. 2019]. © 2011-2019. Dostupné z: <http://www.antidoping.cz/cs/co-je-to-doping>
- [3] YESALIS, Ch. E.; BHRKE, M. S. History of Doping in Sport. *International Sports Studies*. **2002**, 24 (1), 42-43. ISSN 1443-0770.
- [4] HNÍZDIL, J. a spolupracovníci. *Doping aneb zákulisí vrcholového sportu*. 1. vydání. Praha: nakladatelství Portál, **2000**. 152 s. ISBN 80-7169-776-1.
- [5] JANSÁ, P. a kol. *Pedagogika sportu*. 2. vydání. Praha: Karolinum, **2018**. 228 s. ISBN 978-80-246-3986-4.
- [6] PYŠNÝ, L. *Doping, zdraví, výkon*. 1. vyd. Praha: Karolinum, **1999**. 104 s. ISBN 80-7184-813-1.
- [7] PORTERFIELD, J. *Doping: Athletes and Drugs*. 18. vyd. [online]. USA: Rosen Publishing, **2008**. 92 s. [cit. 10.5. 2019]. ISBN 978-1-42709-250-2. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=30DY_vPxSZ4C&printsec=frontcover&hl=cs#v=onepage&q&f=false
- [8] SLEPIČKA, P., PYŠNÝ, L. a kolektiv. *Problematika dopingu a možnosti dopingové prevence*. Praha: Karolinum, **2000**. 83 s. ISBN 80-246-0205-9.
- [9] DEVENTER, K.; VAN EENOO, P.; DELBEKE, F.T. Screening for amphetamine and amphetamine-type drugs in doping analysis by liquid chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. **2006**, 20 (5). 877-882. ISSN 1097-0231.
- [10] KATZUNG, B. G. *Základní a klinická farmakologie*. San Francisco: Prentice Hall International Inc., **1992**. ISBN 80-85787-35-0.
- [11] PYŠNÝ, L. *Fyziologie a patofyziologie dopingu*. 1. vydání. Praha: Karolinum, **2002**. 115 s. ISBN 80-246-0529-5.

- [12] MEHTA, S. C.; KAR, A. Central Nervous System Stimulants. In: *Pharmaceutical Pharmacology*. Kent: New Academic Science, **2014**. 386-389 s. ISBN 978-1-781830-68-0.
- [13] VILIKUS, Z. a kol. *Výživa sportovců a sportovní výkon*. Praha: Karolinum, **2015**. 178 s. ISBN 978-80-246-3152-3.
- [14] PENDELL, D. *Pharmako/Dynamis*. Praha: Volvox Globator, **2005**. 309 s. ISBN 80-86862-06-2
- [15] HARBISON, R. D.; BOURGEOIS, M. M.; JOHNSON, G. T. Cocaine. *Hamilton & Industrial Toxicology*. 6th ed. Hoboken: John Wiley & Sons, **2015**. 1272–1274 s. ISBN 978-0-470-92973-5.
- [16] BEYER, H.; WALTER, W. Alkaloids. *Organic chemistry – A Comprehensive Degree Text and Source Book*. Chichester: Albion Publishing Limited, **1997**. str. 807. ISBN 978-1-898563-37-2.
- [17] VARDANYAN, R.; HRUBY, V. Analgesics. *Synthesis of Best-Seller Drugs*. London: Elsevier, **2016**. s 20-22. ISBN 978-0-12-411492-0.
- [18] ŠVIHOVEC J. a kol. *Farmakologie*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, **2018**. 1008 s. ISBN 978-80-271-2150-2.
- [19] MOTTRAM, D. R.; CHESTER, N. *Drugs in sport*. [online]. 6.vyd. New York: Routledge, **2015**. 338 s. [cit. 25.4. 2019]. ISBN 978-1-315-88193-5. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=YCNWBQAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=drugs+in+sport&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwjJ9Njewp3iAhVKxMQBHel2DUgQ6wEIQjAD#v=onepage&q=drugs%20in%20sport&f=false>
- [20] PECINOVSKÁ, O.; HELLER J. *Závislost známá neznámá*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, **1996**. 162 s. ISBN 80-7169-277-8.
- [21] MIOVSKÝ, M. a kol. *Konopí a konopné drogy: Adiktologické kompendium*. [online]. Praha: Grada Publishing, **2008**. 544 s. [cit. 5.12.2018]. ISBN 978-80-247-0865-2. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=E_cemW9Ej3EC&printsec=frontcover&dq=kanabinoidy+ve+sportu&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwjH5sm2zofAhWBkiwKHfzgBWgQ6AEITjAG#v=onepage&q&f=false

- [22] ŠTEFAN, J.; HLADÍK, J. a kol. *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. [online]. Praha: Grada Publishing, **2012**. 448 s. [cit. 5.12. 2018]. ISBN 978-80-247-3594-8. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=0_OL1k0RN98C&pg=PA138&dq=%C3%BA%C4%8Dinek+marihuany+cns&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwjxnePm0YnfAhUqw4sKHVPCBy0Q6AEIMDAB#v=onepage&q=%C3%BA%C4%8Dinek%20marihuany%20cns&f=false
- [23] LÜLLMANN, H.; MOHR, K.; HEIN, L. *Barevný atlas farmakologie*. 4. vyd. Praha: Grada Publishing, **2012**. 384 s. ISBN 978-80-247-3908-3.
- [24] Lidocaine. The Merc Index* online [online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2019. Last Revised 2013. [cit. 13.5. 2019]. Dostupné z: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m6805/lidocaine?q=unauthorize>
- [25] SCHÄNZER, W.; THEVIS, M. Doping im Sport. *Medizinische Klinik*. **2007**, vol. 102 (8), s. 631-646. ISSN 1615-6722.
- [26] SLÍVA J.; VOTAVA, M. *Farmakologie*. Praha: Triton, **2011**. 394 s. ISBN 978-80-7387-500-8.
- [27] MAREK, J. a kolektiv. *Farmakoterapie vnitřních nemocí – 4. zcela přepracované a doplněné vydání*. [online]. Praha: Grada Publishing, **2010**. 808 s. [cit. 12.2.2019]. ISBN 978-80-247-2639-7.
- [28] TAYLOR N., W. *Anabolic Steroids and the Athlete*. 2. vyd. London: McFarland & Company, Inc. Publishers, **2002**. 384 s. ISBN 0-7864-1128-7.
- [29] VARDANYAN, R.; HRUBY, V. Anabolic steroids. *Synthesis of Best-Seller Drugs*. London: Elsevier, **2016**. s 483-484. ISBN 978-0-12-411492-0.
- [30] Terbutaline. The Merc Index* online [online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2019. Last Revised 2013. [cit. 10. 5. 2019]. Dostupné z: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m10572?q=unauthorize>
- [31] Fenoterol. The Merc Index* online [online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2019. Last Revised 2013. [cit. 10. 5. 2019]. Dostupné z: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m5282?q=unauthorize>

- [32] FUSEK, M.; VÍTEK, L.; BLAHOŠ, J.; HAJDÚCH, M.; RURL, T. a kol. *Biologická léčiva: Teoretické základy a klinická praxe*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, **2012**. 228 s. ISBN 978-80-247-7872-3.
- [33] HOULIHAN, B. *Dying to win: Doping in sport and the development of anti-doping policy*. [online]. 2. vyd. Strasbourg: Council of Europe, **2002**. 247 s. [cit. 25.4. 2019]. ISBN 92-871-4685-3. Dostupné z:
<https://books.google.cz/books?id=XRrQD92f2fgC&pg=PA8&dq=dying+to+win&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKewjs3fPklofiAhXB4aYKHRqjBggQ6wEIOjAC#v=onepage&q=dying%20to%20win&f=false>
- [34] LÜLLMANN, H.; MOHR, K.; WEHLING, M. *Farmakologie a toxikologie*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, **2004**. 728 s. ISBN 80-247-0836-1.
- [35] LUKÁŠ, K.; ŽÁK A. a kol. *Chorobné znaky a příznaky*. 1. vyd. [online]. Praha: Grada Publishing, **2010**. 519 s. [cit. 8.5. 2019]. ISBN 80-247-2764-1. Dostupné z:
https://books.google.cz/books?id=GpMcCOtt6OgC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.
- [36] COUFAL, O.; FAIT, V. a kol. *Chirurgická léčba karcinomu prsu*. 1. vyd. [online]. Praha: Grada Publishing, **2011**. 416 s. [cit. 8.5. 2019]. ISBN 978-80-247-3641-9. Dostupné z:
<https://books.google.cz/books?id=WhBgAgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=cs#v=onepage&q&f=false>
- [37] Letrozole. The Merck Index* online [online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2019. Last Revised 2013. [cit. 13. 5. 2019]. Dostupné z:
<https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m6772/letrozole?q=unauthorize>
- [38] TSAI, F.; LUI, L-F.; CHANG, B. Analysis of diuretic doping agents by HPLC screening and GC-MSD confirmation. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, **1991**, 9 (10-12), 1069-1076. ISSN 0731-7085.
- [39] MARTÍNKOVÁ, J. a kol. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada Publishing, **2007**. 379 s. ISBN 978-80-247-1356-4.
- [40] Diclofenamide. In: *Index Nominum 2000: International Drug Directory*. 17. vyd. USA: Taylor & Francis, **2000**. 1932 s. ISBN 3-88763-075-0.

- [41] Hydrochlorothiazide. The Merck Index* online [online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2019. Last Revised 2013. [cit. 13. 5. 2019]. Dostupné z: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m6089/hydrochlorothiazide?q=unauthorize>
- [42] HARRISON, C. R. Role of Capillary Electrophoresis in the Fight Against Doping in Sports. *Analytical Chemistry*, **2013**, 85 (15), 6982-6987. ISSN 0003-2700.
- [43] PIȚIGOI, G.; PĂUNESCU, C.; PETRESCU, S.; CIOLAN, G. A.; PĂUNESCU, M. Drug abuse in sport performance – a systematic review. *Farmacia*, **2013**, 61 (6). 1037–1042. ISSN 0014-8237.
- [44] *Antidopingový výbor ČR*. [online]. Praha: Antidopingový výbor ČR. [cit. 9.4.2019]. © 2011-2019. Dostupné z: http://www.antidoping.cz/cs/whereabouts_information
- [45] *Antidopingový výbor ČR*. [online]. Praha: Antidopingový výbor ČR. [cit. 9.4.2019]. © 2011-2019. Dostupné z: <http://www.antidoping.cz/cs/prubeh-dopingove-kontroly>
- [46] BADOUD, F.; SAUGY, M.; VEUTHEY, J.-L. Ultra-high Pressure Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry in Doping Control Analysis. In: GUILLARME, D.; VEUTHEY, J.-L. *UHPLC in Life Sciences*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, **2012**. 466 s. ISBN 978-1-84973-388-5.
- [47] NARCISO, J.; LUZ, S.; BETTENCOURT da SILVA, R. Assessment of the Quality of Doping Substances Identification in Urine by GC/MS/MS. *Analytical Chemistry*, **2019**, 91 (10), 6638-6644. ISSN 0003-2700.
- [48] NICOLI, R.; GUILLARME, D.; LEUENBERGER, N.; BAUME, N.; ROBINSON, N.; SAUGY, M.; VEUTHEY, J. Analytical Strategies for Doping Control Purpose: Needs, Challenges, and Perspectives. *Analytical Chemistry*. **2016**, 88 (1), 508-523. ISSN 1520-6882.
- [49] ALSENEDEI, K. A.; MORRISON, C. Determination of amphetamine-type stimulants (ATs) and synthetic cathinones in urine using solid phase micro-extraction fibre tips and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Methods*. **2018**, 10 (12), 1431-1440. ISSN 1759-9679.
- [50] KOLMONEN, M.; LEINONEN, A.; PELANDER, A.; OJANPERÄ, I. A general screening method for doping agents in human urine by solid phase extraction and

- liquid chromatography/time-of-flight mass spektrometry. *Analytica Chimica Acta*, **2007**, 585 (1). 94-101. ISSN 0003-2670.
- [51] BOER D.; SEPPENWOOLDE – WAASDORP, T.J.A.; MAES, R.A.A. Analytical Aspects of Doping in Sport. In: BRANDENBERGER, H.; MAES, R.A.A. *Analytical Toxicology for Clinical, Forensic and Pharmaceutical Chemists*. Berlin: De Gruyter, **1997**. 43-72 s. ISBN 978-3-11-010731-9.
- [52] BADOUD, F.; GUILLARME, D.; BOCCARD, J.; GRATA, E.; SAUGY, M.; RUDAZ, S.; VEUTHEY, J-L. Analytical aspects in doping control: Challenges and perspectives. *Forensic Science International*, **2011**, 213 (1-3). 49-61. ISSN 0379-0738.
- [53] THEVIS, M. *Mass Spectrometry in Sports Drug Testing: Characterization of Prohibited Substances and Doping Control Analytical Assays*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., **2010**. 376 s. ISBN 978-0-470-41327-2.
- [54] SCHÄNZER, W.; THEVIS, M. Human sports testing by mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*. **2017**, 36 (1). 16-46. ISSN 1098-2787.
- [55] HEMMERSBACH, P.; TORRE, de la R. Stimulants, narcotics and I-blockers: 25 years of development in analytical techniques for doping control. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. **1996**, 678. 221-238. ISSN 0378-4347.
- [56] TROUT, G. J. KAZLAUSKAS, R. Sports drug testing – an analyst’s perspective. *Chemical Society Reviews*. **2004**, 33. 1-13. ISSN 1460-4744.
- [57] DE SOUZA BERGO, P. L.; CORREA, J. M.; NAGEM, T. J.; AUGUSTI, R.; NASCENTES, C. C. Simultaneous quantification of amphetamines and ephedrine in urine by GC/MS using analytical-grade acetic anhydride/pyridine as derivatizing reagents: A suitable approach to reduce costs of routine analyses. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. **2009**, 20 (2). 348-359. ISSN 1678-4790.
- [58] THIEME, D.; GROSSE, J.; LANG, R.; MUELLER, R.K.; WAHL, A. Screening, confirmation and quantitation of diuretics in urine for doping control analysis by high-performance liquid chromatography–atmospheric pressure ionisation tandem mass spektrometry. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. **2001**, 757 (1). 49-57. ISSN 0378-4347.

- [59] VENTURA, J.; SEGURA, J. Detection of diuretic agents in doping control. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. **1996**, 687. 127-144. ISSN 0378-4347.
- [60] DELBEKE, F.T.; DEBACKERE, M. Urinary concentrations of codeine and after the administration of different codeine preparations in relation to doping analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **1991**, 9 (10-12). 959-964. ISSN 0731-7085.
- [61] PAUK, V.; LEMR, K. Forensic applications of supercritical fluid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, **2018**, 1086, 184-196. ISSN 1570-0232.
- [62] VETTER, W. Gas Chromatography with Mass Spectrometry (GC-MS). In: ANDERSON, J. L.; BERTHOD, A.; ESTÉVEZ, V. P.; STALCUP, A. M. *Analytical Separation Science*. 1. vyd. Weinheim: Wiley, VCH, **2015**. 883-926. ISBN 978-3-527-33374-5.
- [63] THIEME, D.; BÜTTNER, A. Doping und Dopinganalytik. *Zentralblatt für Arbeitsmedizin, Arbeitsschutz und Ergonomie*. **2015**, 65 (5). 285-298. ISSN 0944-2502.
- [64] THEVIS, M.; THOMAS, A.; SCHÄNZER, W. Doping control analysis of selected peptide hormones using LC–MS(/MS). *Forensic Science International*. **2011**, 213 (1-3). 35-41. ISSN 0379-0738.
- [65] GIRÓN, A. J.; DEVENTER, K.; ROELS, K.; VAN EENOO, P. Development and validation of an open screening method for diuretics, stimulants and selected compounds in human urine by UHPLC–HRMS for doping control. *Analytica Chimica Acta*. **2012**, 721. 137-146. ISSN 0003-2670.
- [66] BRANDENBERGER, H.; BRANDENBERGER, R.; HALDER, K. Determination of Alcohol Levels in the Body. In: BRANDENBERGER, H.; MAES, R. A. A. *Analytical Toxicology for Clinical, Forensic and Pharmaceutical Chemists*. Berlin: De Gruyter, **1997**. 141-176 s. ISBN 978-3-11-010731-9.
- [67] LASNE, F.; THIOULOUSE, J.; MARTIN, L.; DE CEARRIZ, J. Detection of recombinant human erythropoietin in urine for doping analysis: Interpretation of

isoelectric profiles by discriminant analysis. *Electrophoresis*. **2007**, 28 (12). 1875-1881. ISSN 1522-2683.

9 PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Seznam skupin zakázaných látek a metod (Antidopingový výbor ČR, dostupné z: http://www.antidoping.cz/documents/nebezpeci_dopingu_brozura.pdf)

1. SKUPINY LÁTEK ZAKÁZANÝCH CELOROČNĚ

- S0. Nezařazené (sledované) látky
- S1. Anabolické látky
- S2. Peptidové hormony, růstové faktory a příbuzné látky
- S3. Beta-2 agonisté
- S4. Hormonové a metabolické modulátory
- S5. Diuretika a jiné maskovací látky

2. METODY ZAKÁZANÉ CELOROČNĚ (PŘI SOUTĚŽÍCH I MIMO NĚ)

- M1. Manipulace s krví a krevními komponenty (zvyšování přenosu kyslíku)
- M2. Chemická a fyzikální manipulace
- M3. Genový (genetický) doping

3. LÁTKY ZAKÁZANÉ PŘI SOUTĚŽÍCH

- S6. Stimulancia
- S7. Narkotika
- S8. Kanabinoidy
- S9. Glukokortikosteroidy

4. LÁTKY ZAKÁZANÉ JEN PŘI URČITÝCH SPORTECH

- P1. Alkohol
- P2. Betablokátory

Příloha č. 2: Česká charta proti dopingu

(http://www.antidoping.cz/documents/ceska_charta_proti_dopingu.pdf)

ČESKÁ CHARTA PROTI DOPINGU

V Praze dne 1.ledna 2018

Antidopingový výbor České republiky

- (1) s vědomím potřeby přispět k očistě sportu od používání zakázaných látek a metod, zvyšujících výkonnost v rozporu s morálními a etickými principy sportovního zápolení a fair play,
- (2) s vědomím nepříznivých dopadů dopingu na zdraví sportovců,
- (3) v zájmu účinného uplatňování Světového antidopingového kodexu a jeho standardů vydaného Světovou antidopingovou agenturou WADA a Směrnice pro kontrolu a postih dopingu ve sportu v ČR vydané ADV ČR,
- (4) s ohledem na mezinárodní závazky České republiky v boji proti dopingu ve sportu, zejména pak na Mezinárodní úmluvu proti dopingu ve sportu UNESCO a Antidopingovou úmluvu Rady Evropy,
- (5) se zvláštním důrazem na osobní odpovědnost sportovců, trenérů, doprovodu sportovců i dalších funkcionářů, jakož i sportovních subjektů za vyloučení dopingu ze sportu
- (6) a vzhledem ke své povinnosti ustanovit, zrealizovat a zabezpečit antidopingový program v oblasti koncepční, kontrolní a osvětově výchovné a v návaznosti na Českou chartu proti dopingu ze dne 2. prosince 1993

přijímá tuto chartu proti dopingu a vyzývá všechny sportovce a další osoby fyzické i právnické podílející se na přípravě sportovců k připojení se k této chartě.

Zavazujeme se, že:

- I. budeme ve vzájemné spolupráci všemi prostředky bojovat proti dopingu ve sportu s cílem vytvořit čisté prostředí pro ty sportovce, kteří se sportují bez použití zakázaných prostředků a metod,
- II. bereme na vědomí a za své, že sportovec je v první řadě sám odpovědný za doping a že trenéři, doprovod sportovců i další funkcionáři se budou podílet v rámci prevence proti

dopingu na řádné výchově a osvětě v této oblasti s přispěním Antidopingového výboru ČR a všech dostupných učebních materiálů,

- III.** budeme dodržovat etická pravidla při užití léčebných metod a léčebných přípravků,
- IV.** bereme na vědomí a za své, že v zájmu účinného boje proti dopingu ve sportu má nezastupitelnou roli v antidopingovém programu kontrola zneužívání dopingových prostředků a metod, která musí být objektivní, důsledná a systematická,
- V.** bereme na vědomí a za své, že dopingová kontrola a postih viníků se řídí pravidly Světového antidopingového kodexu a jeho standardů vydaných Světovou antidopingovou agenturou WADA a dalšími předpisy Mezinárodního olympijského výboru, Mezinárodního paralympijského výboru a mezinárodních sportovních federací,
- VI.** bereme na vědomí a za své, že Světová antidopingová agentura vydává pravidelně aktualizovaný seznam zakázaných látek a metod, který je nedílnou součástí předpisů týkajících se kontroly a postihu dopingu ve sportu,
- VII.** zakotvíme v našich pravidlech a rádech zákaz dopingu a povinnost sportovců podrobit se dopingové kontrole podle platných a účinných antidopingových předpisů a zajistíme obeznámenost sportovců s jejich právy a povinnostmi obecně,
- VIII.** veškerá podezření týkající se dopingu sportovců náležitě vyšetříme a případným viníkům bude v souladu s platnými antidopingovými předpisy udělen trest,
- IX.** budeme spolupracovat se všemi subjekty vykonávajícími dopingovou kontrolu při odhalování dopingových praktik kdekoliv na světě, X. bereme na vědomí a za své, že v České republice je pověřen plněním úkolů v boji proti dopingu ve sportu Antidopingový výbor České republiky, XI. a budeme se řídit Směrnicí pro kontrolu a postih dopingu ve sportu v České republice a Světovým antidopingovým kodexem.