

Dopping a sportban az analitikai kémia szemszögéből

NOSZÁL Béla^{1,2}, KRASZNI Márta^{1,2}, RÁCZ Ákos^{1,2}, SZÓKÁN Gyula³

¹Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet, Hőgyes Endre u. 7-9., 1092, Budapest

²MTA-SE Kábító- és Doppingvizsgáló Kutatócsoport, Hőgyes Endre u. 7-9., 1092, Budapest

³ELTE Szerves Kémiai Tanszék, Pázmány Péter sétány 1/a., 1117, Budapest

1. Bevezetés

Az emberi szervezetbe bejutó, ott számottevő biológiai hatást kifejteni képes vegyületek három csoportba sorolhatók:

- gyógyszerek
- kábítószer
- dopping

Jellemzésükben, a szervezetből való kimutatásukban és meghatározásukban, hatóságok általi engedélyezésükben, visszautasításukban kiemelkedő szerep jut az analitikai kémianak.

A dopping fogalmat a társadalom – ha nem is szabatosan – alapvetően ismeri. Definíciószerűen doppingon értjük a sportteljesítményt tiltott módon fokozó anyagok és módszerek összességét. A dopping kérdés társadalmi méretekből általában egy-egy jelentős sportesemény alkalmával kerül előtérbe, elsősorban nyári olimpiákon, ahol jelentős azon sportágak száma, melyekben erős a kísértés a doppingolásra. A 2004-es athéni olimpiai játékokon összesen 2796 esetben végeztek dopping vizsgálatot vizeletből, 709 esetben vérből. Ezen vizsgálatok során 24 esetben, azaz a tesztek 0,68%-ában találtak pozitív mintát. Nem tartozik ezek közé a nagy publicitást kapó Annus Adrián és Fazekas Róbert eset, melyeknél más típusú dopping vétség történt. A dopping kérdéskörével világviszonylatban az 1990-ben alakult World Anti Doping Agency, a WADA hivatott foglalkozni.

2. A tiltott anyagok és módszerek típusai

A WADA szerint¹ a tiltott anyagok körébe tartoznak a bármely időszakban (all time; in-and -out-of-competition) tiltott szerek, a verseny közben (in-competition) tiltottak, és a csak bizonyos sportágakban tiltott anyagok, melyek többségükben szintén csak verseny közben tiltottak. A tiltott módszerek első csoportjába tartoznak az oxigénátadás növelését elősegítő módszerek, a vérdopping, valamint az oxigéntranszportot növelő szerek, melyek közé tartoznak a hemoglobin készítmények és a perfluoro-szénhidrogének^{2,3}.

A tiltott módszerek következő kategóriájába a biológiai, kémiai, fizikai manipulációs módszerek tartoznak, amilyen például a vizeletcsere, katéterezés és infúzió, végül a tiltott módszerek harmadik csoportját a géndopping képezi.

A géndopping napjaink legsúlyosabb, legnagyobb kérdése, amellyel a WADA-nak szembe kell néznie. Erről a közlemény végén részletesebben is szó lesz. A tiltott anyagok csoportosítása, néhány példával, az 1. táblázatban található.

1. Táblázat: A tiltott szerek WADA szerinti csoportosítása¹

Tiltott anyagok	
Csoportok	Példák
Bármely időszakban tiltott anyagok	
S1. Anabolikus hatású anyagok (66 szteroid, 3 nem szteroid típusú*)	tesztoszteron, sztanozolol, klenbuterol ⁴
S2. Peptidhormonok és származékaik	eritropoietin, gonadotropin, kortikotropin
S3. β_2 -agonisták (kivételek: formoterol, szalbutamol, szalmeterol, terbutalin, inhalációs alkalmazása, asthma bronchiale roham megelőzésére)	fenoterol
S4. Antiösztrogének (12 vegyület*)	anesztrezol
S5. Diuretikumok és egyéb maszkírozó szerek (21 vegyület*)	furoszemid, epitesztoszteron
Verseny közben tiltott anyagok	
S6. Stimulánsok (42 anyag*)	efedrin ⁵ amfetamin ^{6,7} metiléndioxi-metamfetamin
S7. Kábító fájdalomcsillapítók (11 anyag*)	morfin, heroin
S8. Kannabinoidok	Δ^9 -tetrahydro-kannabinol
S9. Glükokortikoidok (kivéve a dermatológiai felhasználások esetét)	prednizolon, dexametazon
Csak bizonyos sportágakban tiltott anyagok	
P1. Alkohol (sportágtól függően eltérőek a megengedett plazmakoncentráció határok)	
P2. Béta-blokkolók (20 anyag*)	metoprolol, atenolol

*A számok a konkrétan felsorolt vegyületekre vonatkoznak, de a WADA listájában a csoportok többségénél szerepel a „but not limited to” kitétel, tehát a felsoroltakon kívül egyéb ismert anyagokat is számításba kell venni.

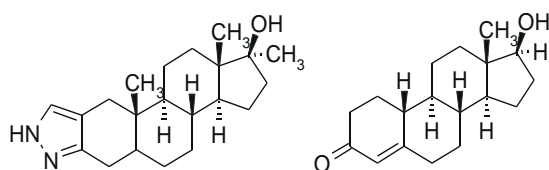
A WADA által tiltott vegyületekről látható, hogy számos kémiai vegyületípust képviselnek, találunk köztük egészen

* Főszerző. Noszál Béla, Tel.: 247-0891; fax: 247-0891; e-mail: .nosbel@hogyes.sote.hu

kis molekulákat (például az alkohol, a stimulánsok), és makromolekulákat: peptideket, fehérjéket, köztük például az eritropoietin nevű, 35 ezres molekulatömegű glikoproteint. Hogy mennyire fontos ennek a kérdésnek a kezelése, a doppingolás megelőzése, vagy az esetleges doppingvétség kimutatása, azt néhány példa illusztrálja.

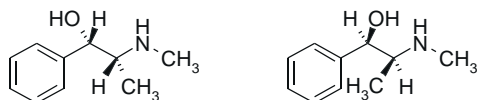
3. Néhány doppingeset az élsport területéről

A sportdopping egyik legnagyobb nyilvánosságot kapott esete Ben Johnson 1988-as olimpiai győzelme Szöulban, a 100 méteres síkfutás döntőjében, ahol 9:79 másodperces eredménnyel, nagy fölénytel utasította maga mögé a mezőnyt, köztük Carl Lewist, minden idők egyik legkiválóbb atlétáját. Ben Johnson szervezetében azonban a doppingvizsgálat sztanozololt mutatott ki, aminek következtében olimpiai aranyérmétől megfosztották.



1.Ábra. A sztanozolol és a nandrolon.

Ennél feltétlenül kisebb jelentőségű, de szintén nagy port vert fel az eset 1994-ben, a labdarúgó világbajnokságon. Diego Maradona (egyike a világ valaha volt legnagyobb tehetségű labdarúgóinak) szervezetében efedrint találtak, aminek következtében a további játéktól azon a világbajnokságon eltiltották.



2.Ábra. Az efedrin két sztereoizomerje

Egy harmadik eset Florence Griffith Joyneré, aki az 1980-as években jeles atléta volt, de az 1988-as szöuli olimpiai játékokig aranyérmel jelentős versenyen nem tudott elérni. Elsősorban 200 méteres női síkfutásban versenyzett. Az 1988-as szöuli olimpiai játékokra, szemmel is látható módon, egészen férfias, ultramaszkulin izomzatra tett szert, amit igyekezett ellenpontoszni a nőiesség külső jegyeinek hangsúlyozásával. Florence Griffith Joyner az 1988-as nyári olimpiai játékokon 100 méteres síkfutásban, 200 méteres síkfutásban és női négyszer 100-as váltóban is aranyérmel szerzett, tehát háromszoros olimpiai aranyérmes lett. Egy évvel később, 1989-ben válogatott atlétatársa, Darrel Robinson azt nyilatkozta, hogy tőle kért növekedési hormonokat. 1989-ben Florence Griffith Joyner a versenyzéstől és a közéletől is visszavonult, és a nagyközönség számára az volt a legközelebbi hír róla, hogy 1998-ban, 38 éves korában elhunyt.

4. Az analitikai kémia feladatai a doppingellenőrzésben

A doppingvizsgálatra szánt minták kb. 80 %-a vizelet, kb. 18 %-a vér. Hajból, nyálból, székletből, kilélegzett levegőből a mintavételnek kb. 2 %-a történik. A két legfontosabb mintatípusra, a vizeletre és a vérre vonatkozó analitikai, illetve mintavételi előnyök és hátrányok olvashatóak a 2. táblázatban

2.Táblázat. A vizeletből ill. vérből történő mintavétel előnyei és hátrányai.

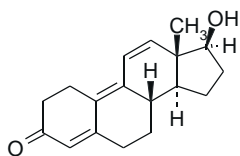
A minta típusa	Előny	Hátrány
Vizelet	Kényelmes Noninvazív Gyors	Metabolitok sokasága
Vér	Peptidhormonok nagyobb koncentrációja Manipuláció kizárása Hematológiai paraméterek Genetikai ujjlenyomat	Invazív Kis molekulák kis koncentrációja Gyors feldolgozást igényel

Az analitikai feladat fázisai:

- Mintaelőkészítés, mely áll az adott komponensre, vagy komponensekre történő esetenkénti bekoncentrálásból, a háttértől (endogén és exogén anyagoknak az összessége) való elkülönítésből. Eszközei a folyadék-folyadék extrakció, a folyadék-szilárd extrakció és a preparatív, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia. Szintén a mintaelőkészítés lehetséges része a származékképzés, ami elsősorban gázkromatográfiai vizsgálatok esetén fordul elő.
- Az elválasztástechnikában a gázkromatográfia, a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia^{8,9}, valamint bizonyos immuno-assay módszerek¹⁰ találhatóak meg, de újabban megjelent a kapilláris elektroforézis is.
- A detektálás, azonosítás, meghatározás fázisában a WADA ma már azonosítási célra nem tekinti elfogadhatónak a retenciós faktor, vagy a Kováts-index használatát. Valamilyen tömegspektrometriás¹¹ detektálásra van szükség. Újabban a tandem tömegspektrometria, a nagyfelbontású tömegspektrometria és az izotóp arányon alapuló tömegspektrometria is használatos. Esetenként ultraibolya abszorpciós spektroszkópiás detektálással is találkozunk.¹² A tiltott szerek vizeletben illetve vérben, meglehetősen széles határértékek szerint fordulhatnak elő. Például, az anabolikus ágensek közül több olyan is van, amely 1 vagy 2 ng/ml koncentrációban engedhető meg^{11,13}, ami figyelembe véve a molekulatömegeket, 10^{-8} – 10^{-9} mol/dm³-es koncentrációt jelent. Az összes többi kismolekulájú szer többségénél, (stimulánsoknál, kábító fájdalomcsillapítóknál¹², β -blokkolóknál, diuretikumoknál¹⁴, glükokortikoidoknál¹⁵), ennél jelentősebben, két vagy három nagyságrenddel magasabb a megengedett koncentráció. A peptidhormonoknál, például az eritropoietinnél^{16,17}, a doppinganalitikai feladat rendkívül összetett, amit a későbbiekben részletesebben áttekintünk.

A doppinganalízisnek több sajátosága is van. Az egyik az, hogy doppingszerként endogén anyagok, azaz olyan vegyületek is használhatók, melyeket maga a szervezet is termel. Ezért doppingolási célra való alkalmazásuk kimutatása igen nagy körültekintést igényel. A másik jellegzetesség a doppinganalízisben a metabolizmus.

Azaz a szervezetbe bekerülő doppingszer a metabolizáló rendszerben átalakul, az esetek túlnyomó többségében nagyobb vízoldhatóságú származékká. Mivel azonban egy vegyületből számos metabolit képződik, amelyek maguk is aktívak lehetnek biológiai folyamatok befolyásolásában, ezért ezen metabolitokat is szükséges detektálni és meghatározni ahhoz, hogy tudjuk, használt-e a sportoló doppingszert. Harmadik jellegzetessége a doppinglelésnek, hogy doppingnak jelenleg olyan szerek és módszerek tekinthetők, melyeket a WADA annak nyilvánít. Így, ha készítenek valahol szintetikus olyan szert, amely a WADA dopplinglistáján még nem szerepel, azt de jure a sportoló használhatja. Természetesen ezen szerek az analitikai kimutatása és meghatározása, újabb külön feladatot jelent, mégpedig akkor, ha majd a WADA listáján is szerepel az adott szer. Ezek a kábítószeranalitikában „design drug”-nak nevezett szerek analógjai, azzal a különbséggel, hogy míg kábítószerek esetén az újabb szerek általában nagyon primitív körülmények között készülnek a különböző rejtett laboratóriumokban, addig doppingszerek esetén jó ok van feltételezni azt, hogy a szerek a legmodernebb technológiák alkalmazásával, a tudomány eredményeinek felhasználásával készülnek, eléggé el nem ítéhető és igen sajnálatos módon. (Ennyiben hasonlítanak a gyógyszerek kifejlesztéséhez)



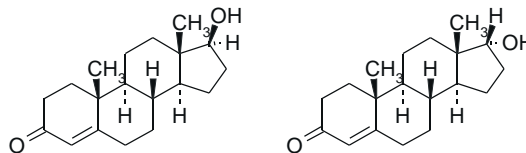
3.Ábra. Egy kizárólag doping célra kifejlesztett anyag, a trenbolon.

A doppinglelésnek így további jellegzetessége a versenyfutás a doping ellenőrzéséért felelős szervezet, a WADA, és ennek támogatói, valamint a dopplingolást alkalmazó, támogató, és – sajnálatos módon – a versenyzők egészségével és a fair-play-jel mit sem törődő szakemberek és szerveződések között.

5. Néhány érdekes példa a doppinglelésekből

A tesztoszteron, abba a kategóriába tartozik, amikor a dopingként használatos anyagot a szervezet maga is termeli. Megoldás lehetne, ha a szervezet számára szükségesnél nagyobb mennyiségben jelen levő szert már doppingszernek tekintenék. Számos anyag esetében ez így igaz. A tesztoszteronnál azonban az a nehézség adódik, hogy koncentrációja az egyének testnedveiben tág határok közt tud változni. Önmagában tehát egy viszonylag magas tesztoszteron koncentráció nem feltétlenül bizonyítéka a doppinglelésnek. Ezért a tesztoszteronra vonatkozó doppinglelésvizsgálat az epitesztoszteronra vonatkozó vizsgálatallal egészül ki. Az epitesztoszteron, amelyben a tesztoszteronhoz képest a 17-es szénatomnak ellentétes a konfigurációja, és amely szintén endogén anyag, viszonylag állandó koncentrációban fordul elő az egyének szervezetében. Ezért a WADA 2005-től érvényes eljárása szerint, tesztoszteron doping vétségnek az bizonyul, ha a tesztoszteron-epitesztoszteron koncentráció aránya meghaladja a 4:1 értéket. Hogy ez mennyire megbízható, arra az ad információt, hogy 2005 előtt ez a bizonyos érték 6:1 volt. Ezen tesztoszteron tesztnél megbízhatóbb

eljárás az izotóparány mérésén alapul.^{18,19} Ennek lényege, hogy az emberi szervezet által termelt tesztoszteronban a ¹³C illetve a ¹²C izotóp koncentrációk aránya nem ugyanaz, mint az exogén módon a szervezetbe vitt tesztoszteronnak az esetében.



4.Ábra. A tesztoszteron és az epitesztoszteron

A tömegspektrometria igen nagy érzékenysége és kicsiny hibája miatt alkalmas a ¹³C/¹²C arány nagy pontossággal történő meghatározására, így segítségével a szervezetből származó, természetes illetve a külső módon bevitt tesztoszteron koncentrációinak aránya is megadható, tehát a doppinglelétség megállapítható¹⁹.

Korunk egyik legnagyobb doppinglelési problémája, egyben vegyülete az eritropoietin, röviden EPO^{16,17}. Az EPO a vesében termelődik, a csontvelőben a vörösvértestek előalakjainak képződéséhez nélkülözhetetlen, termelődését a vérben lévő oxigén koncentrációjának csökkenése fokozza. Vesekárosodásban az EPO életmentő gyógyszernek minősül. Kémiaileg 165 aminosavból álló glikoprotein, 2 diszulfid-híddal, szialinsav részvételével. Kb. harmincötezer Dalton molekulatömegű, 40%-ban szénhidrátot tartalmazó molekula. A vérben 10-12 mol/dm³ koncentrációban fordul elő. A külső módon bevitt EPO felezési ideje 6 óra. Tehát ha EPO-t juttatnak a szervezetbe, annak a fele 6 óra alatt elbomlik és 12 óra múltán az eredetileg bejuttatott mennyiségnek már csak a negyede található meg a vérben. Újabban, biotechnológiai módszerekkel előállítottak a humán EPO-hez hasonló, rekombináns humán EPO-féleségeket. Ilyenek a rHuEPO- α és a rHuEPO- β , valamint a darbepoetin. A darbepoetin a natív humán EPO-tól az aminosav szekvenciában és az oligoszaccharid oldalláncokban tér el. Hatásuk – a rekombináns humán EPO-knak és a darbepoietinnek is – azonos az endogén EPO-ével. Az EPO-féleségek elsősorban állóképességi sportokban (országúti kerékpározás, cross-country síelés, maratoni futás, triatlon) kerültek a doppingszerek közé. Az EPO-nek a doppinglelést szemponyjainak is eleget tévő meghatározása 2000-re, a Sydney-i olimpiai játékokra alakult ki. Önmagában az EPO vérkoncentráció meghatározása nem elegendő a doppinglelés megállapítására. A Sydney-i olimpiai játékokra elfogadott módszer tartalmazza a vér hematokrit értékének, három alakos elem – az eritrocita, makrocita és retikulocita – számának (1 ml vérre vonatkozóan), az eritropoietin koncentrációjának, valamint az oldható transzferrin-receptor (STR) vérkoncentrációjának a meghatározását. Ezen értékek összességéből állapítható meg, hogy a sportoló használt-e EPO-t doppinglelési célra.

6. A géndopping

Korunk legsúlyosabb doppinglelési problémája a géndopping, ami a biotechnológia rohamos fejlődésével és a humán genom mind részletesebb megismerésével vált lehetővé. Mára tudjuk, hogy az emberi génkészlet mintegy 30 000 génből

áll. Ebből 2003-as adatok szerint, 126 olyan gént sikerült azonosítani, amely a sportteljesítmény valamely változatát befolyásolja. Ilyen a vörösvértestszámot meghatározó, ezért az oxigénszállítást és a hemodinamikai tulajdonságokat befolyásoló gén, vagy az antropometriával, testösszetétellel és a szervezetben található izommennyiséggel összefüggő, azt megszabó gén. További ilyen gének az inzulinépződést, szénhidrát háztartást, valamint a lipidanyagcserét befolyásoló gének. A sportteljesítmény genomikája napjainkban két, összefüggő fogalomra épül. Egy élsportoló kiválasztásakor, két típusú munkát végeznek el: Az egyik a sportolójelölt fiatalember genotipizálása, amely magában foglalja a DNS, RNS, fehérje összetétel jellemzését. A másik a fenotipizálás, amely magában foglalja a sportoló szüleinek, felmenőinek a sportolási hajlam, sportteljesítmény szempontjából való felmérését. Nyilvánvaló, hogy akkor van több esélye valakinek arra, hogy élsportoló legyen, ha a szülei között is található volt élsportoló. Hazánkban ismeretes számos, kiváló sportolókat magába foglaló dinasztia, például vízilabdázásban ilyen a Szívós család, vízisportokban a Gyarmati Dezsőt, Székely Évát, Gyarmati Andreát, Hesz Mihályt, Hesz Mátét magába foglaló család.

Ha tehát egy sportoló genotípusában és fenotípusában egyaránt jó esélyű, akkor érdemes vele foglalkozni a továbbiakban is, mondják a kiválasztással foglalkozó szakemberek. Eddig a folyamat talán el is fogadható.

Kérdés azonban egyrészt, hogy szabad-e genetikai módszerrel beavatkozni egy ember életébe, a sportoló biológiájába, másrészt pedig, hogy rendelkezik-e a tudomány olyan eszközökkel, amelyek egy sportolójelölt embernek a génállományát megváltoztatni képesek? A molekuláris biológia eszköztára napjainkra olyan szintre fejlődött, hogy adott DNS szakaszt bevinni egy sejtbe már megoldható feladat. Ennek első fázisa az, hogy azt a DNS szakaszt, mely egy adott sporttulajdonságot kódol, valamilyen kémiai hordozóhoz kell kapcsolni. Ez lehet liposzóma, vagy patogénmentesített vírusfehérje. Ezzel be lehet juttatni a komplexet a sejtbe, így a sejtmag génállománya megváltozik. A sejtmag génállományának a megváltozása ennek megfelelő expresszációkat jelent a riboszómán, a mRNS-en és a fehérjéken. Vagyis a sportoló fehérjéi – például az izomzatában – a megújított, megváltoztatott génállomány szerint fognak alakulni. Ma vannak genetikailag módosított, transzgenetikus állatok, például egerek. Ismert példája ennek a knock-out egér, a Schwarzenegger-egér, vagy a maratoni egér. A Schwarzenegger-egér – természetesen – a túlfejlett izomzatáról ismert, a maratoni egér pedig a rendkívüli munkabírájáról. A legnagyobb, legsúlyosabb kérdés ma az, hogy vannak-e genetikailag módosított sportolók? Erre ma nem lehet egyértelmű választ adni. Annyi biztos, hogy a WADA-nak napjainkban nincs még módszere a géndopping kimutatására. Ha géndopping történik, vagyis a sportoló genetikailag módosított, akkor az új génállománynak megfelelően működik a szervezete, például izomzata, amely táplálékból keletkezik, összetételét tekintve ugyanolyan lesz, mintha nem lenne módosított a génállománya. A kimutatás tehát rendkívül nehéz. Teljes mértékben támogatható és helyesíthető az az álláspont, hogy el kell kerülni azt, hogy tenyésztett sportolók legyenek a jövőben. Jelenleg a WADA minden nyilvános pályázata – nagyon helyesen - a géndopping megelőzését, elkerülését célozza.

7. Következtetések

Az analitikai kémiának tehát, a dopping kimutatásában igen nagy szerepe van napjainkban. A géndopping kimutatása a jelenlegi analitikai kémia lehetőségeit, eszköztárát meghaladja, de biztosan állítható, hogy a jövő analitikai kémiája a géndopping kimutatásában is igen nagy szerepet fog játszani.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondunk a jelen munkához nyújtott sokoldalú segítségért

- Dr. Pucskok Józsefnek
- Dr. Hollósi Ildikónak
- Dr. Dékány Miklósnak az Országos Sportegészségügyi Intézet munkatársainak
- Az Országos Tudományos és Kutatási Alapnak (T43579)
- És az Egészségügyi Tudományos Tanácsnak (535/2003)

Hivatkozások

1. The World Anti-Doping Code. *The 2005 Prohibited List, International Standard WADA*, (http://www.wada-ama.org/ritecontent/document/list_2005.pdf).
2. Riess, J.G., Krafft, M.P.: Fluorinated materials for in vivo oxygen transport (blood substitutes), diagnosis and drug delivery. *Biomaterials* **1998**, *19*, 1529–1539.
3. Spence, R.K.: Perfluorocarbons in the twenty first century: clinical applications as transfusion alternatives. *Artif. Cell Blood Substit. Immobil. Biotechnol.* **1995**, *23*, 367–380.
4. von Deutsch, D.A., Abukhalaf, I.K., Wineski, L.E., H.Y.Aboul- Enein, Pitts, S.A., Parks, B.A., Oster, R.A., Paulsen, D.F., Potter, D.E.: β -Agonist-Induced Alterations in Organ Weights and Protein content: Comparison of Racemic Clenbuterol and Its Enantiomers. *Chirality* **2000**, *12*, 637–648.
5. Gurley, B.J., Wang, P., Gardner, S.F.: Ephedrine type alkaloid content of nutritional supplements containing Ephedra sinica as determined by high performance liquid chromatography. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 1547–1553.
6. Trocewicz, J.: Sample preparation of amphetamine and methamphetamine by means of supported liquid membrane technique for high-performance liquid chromatography analysis. *J. Separation Sci.* **2001**, *24*, 587–592.
7. Halvarsen, T.G., Pedersen-Bjergaard, S., Reubsaet, J.L.E., Rasmussen, K.E.: Liquid-phase microextraction combined with flow-injection tandem mass spectrometry. Rapid screening of amphetamines from biological matrices. *J. Separation Sci.* **2001**, *24*, 615–622.
8. Báthori, M., Kalász, H.: Separation Methods for Phytoecdysteroids. *LC-GC Europe* **2001**, *14*, (10), 626–633
9. Dear, G., Mallett, D., Plumb, R.: Applications of Capillary LC/MS to Drug Metabolism Studies. *LC-GC Europe* **2001**, *14*, (10), 616–625.
10. Cody, J.T., Schwarzhoff, R.: Fluorescence Polarization Immunoassay Detection of Amphetamine, Metamphetamine, and Illicit Amphetamine Analogues in *Drug Testing in Sports* D.I.Black. Preston Publ., Niles, U.S.A., **1995**. p. 53–57.
11. Buiarelli, F., Cartoni, G.P., Amendola, L., Botré, F.: Screening and confirmation analysis of anabolic agents in human urine by gas chromatography-hybrid mass spectrometry (high resolution-time of flight). *Anal. Chim. Acta* **2001**, *447*, 75–88.
12. Crump, K.L., McIntyre, I.M., Drummer, O.H.: Simultaneous Determination of Morphine and Codeine in Blood and Bile, Using Dual Ultraviolet and Fluorescence High-Performance Liquid Chromatography in the *same book* (see above) p.

- 94–98. 2002/4. *Acta Pharmaceutica Hungarica* 243
13. Choo, H.-Y.P., Kwon, O.-S., Park, J.: Qualitative Determination of Stanozolol and Its Metabolite in Urine by Gas Chromatography/Mass Spectrometry in the same book (see above) p. 110–113
 14. Park, S.-J., Pyo, H.-S., Kim, Y.-J., Kim, M.-S., Park, J.: Systematic Analysis of Diuretic Doping Agents by HPLC Screening and GC-MS Confirmation in the same book (see above) p. 133–139.
 15. Park, S.-J., Kim, Y.-J., Pyo, H.-S., Park, J.: Analysis of Corticosteroids in Urine by HPLC and ThermoSpray LC/MS in the same book (see above) p. 161–170.
 16. Ohta, M., Kawasaki, N., Hyuga, S., Hyuga, M., Hayakawa, T.: Selective glycopeptide mapping of erythropoietin by on-line high-performance liquid chromatography-electrography ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2001**, 910, 1–11
 17. Parisotto, R., Gore, C.J., Ernsly, V.R., Ashenden, M.J., Brugnara, C., Howe, C., Martin, D.T., Trout, G.J., Hahn, A.G.: A novel method utilizing markers of altered erythropoiesis for the detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes. *Haematologica* **2000**, 85, 564–572
 18. Aguilera, R., Becchi, M., Casabianca, H., Hatton, C.K., Catlin, D.H., Starcevic, B., Pope, H.G.: Improved method of detection of testosterone abuse by GC/IRMS analysis of urinary steroids. *J. Mass Spectrom* **1996**, 31, 169–176
 19. de la Torre X, Gonzalez JC, Pichini S, Pascual JA, Segura J. ¹³C/¹²C isotope ratio MS analysis of testosterone, in chemicals and pharmaceutical preparations. *J Pharm Biomed Anal.* **2001 Feb**; 24(4):645-50.

Doping in athletics: aspects of Analytical Chemistry

The types and groups of prohibited doping substances and methods are discussed, referring to the WADA Prohibited List. These groups are: the in-and -out-of-competition, the in-competition prohibited substances and methods and those prohibited in specific sports only. There are five groups in the category of in-and -out-of-competition prohibited substances: anabolic agents, peptide hormones, bronchodilator β_2 -agonists, anti-estrogens, diuretics and other masking agents. Within the category of in-competition prohibited substances, the groups are: stimulants, narcotic analgesics, cannabinoids, glucocorticosteroids. The sport-specific prohibited substances are the beta-blockers and the ethanol. Some examples from the history of olympic games, and soccer championships to confirm the importance of the doping problem, are cited: the Ben Johnson scandal in Seoul, Maradona's doping affair in the Soccer World Cup in 1994. The advantages and difficulties working with different biological samples, are described, focusing on the most important sources: blood and urine samples. The methods for sample purification, separation of the components, identifications and quantifications, problems related to doping analysis are discussed. These are: the endogenous

compounds, occurring of some doping substances, the wide range of concentrations in biofluids, the complicated and diversified metabolism and the high-tech support of doping substance production. In the last part of the article three major problems are covered: the novel trends in the anabolic steroid doping, and doping analysis – especially, the emerging role of isotope ratio mass spectrometry – the upcoming use of haematopoietic agents with special regard to recombinant human erythropoietin, rHu-EPO. These drugs are applied in endurance sports, demanding long-range, long-time physical efforts, and the concomitant enhanced oxygen consumption. The bioanalytics of EPOs is highly complex, not only chemical but haematological task, because counting of certain blood cell forms is necessary. The third, most challenging task is: fighting gene doping. It is well-known that genetic factors affect sporting capabilities of humans, and some efforts were made to select the genetically and phenotypically appropriate persons. The most important ethical problem is, however, to set the border between the acceptable genetic modifications and the harmful (and therefore illegal) gene doping manipulations. This is very similar to that doubtful gene manipulations in food production.