

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

GAL CHRISTIAN ŽVEGELJ

**UPORABA RAČUNALNIŠKE ANALIZE ZNANSTVENE
LITERATURE ZA ISKANJE NOVIH SNOVI S
POTENCIALOM ZA ANABOLIČNO DELOVANJE**

**LITERATURE BASED DISCOVERY FOR THE
IDENTIFICATION OF NOVEL SUBSTANCES WITH THE
POTENTIAL FOR ANABOLIC ACTIVITY**

ENOVIT MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2018

Magistrsko nalogo sem opravljaj na Inštitutu za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo Medicinske fakultete v Ljubljani pod mentorstvom doc. dr. Lovra Žiberne, mag. farm, in somentorstvom asist. dr. Dimitarja Hristovskega, univ. dipl. inž. rač.

Zahvala

Za pomoč, sodelovanje in nasvete pri nastajanju magistrskega dela se zahvaljujem mentorju doc. dr. Lovru Žiberna in somentorju asist. dr. Dimitarju Hristovskemu, univ. dipl. inž. rač.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelal samostojno pod mentorstvom doc. dr. Lovra Žiberne, mag. farm., in somentorstvom asist. dr. Dimitarja Hristovskega, univ. dipl. inž. rač.

Gal Christian Žvegelj

Predsednik komisije: prof. dr. Samo Kreft, mag. farm.

Član komisije: izr. prof. dr. Žiga Jakopin, mag. farm.

Vsebina

1. UVOD.....	1
1.1 Definicija dopinga.....	1
1.2 Lista prepovedanih snovi in postopkov (LPSP)	1
1.3 Anabolični androgeni steroidi.....	3
1.3.1 Fiziologija testosterona	4
1.3.2 Vplivi AAS na telesno sestavo.....	6
1.3.2 Vplivi AAS na moč.....	7
1.3.3 Vplivi AAS na vzdržljivost.....	7
1.3.4 Vplivi AAS na regeneracijo	7
1.3.5 Neželeni učinki uporabe AAS.....	7
1.4 SARM, SERM ter zaviralci aromataze	9
1.5 Rastni hormoni in dejavniki	11
1.6 Beta-2 adrenergični agonisti.....	14
1.7 Inzulin.....	14
1.8 Zaviralci miostatina.....	15
2. NAMEN DELA	16
3. METODE	17
3.1 Bibliometrična analiza znanstvenih člankov z orodjem VOSviewer	17
3.2 Literaturna opredelitev farmakoloških mehanizmov MAD.....	18
3.3 Konstrukcija modela za iskanje novih MAD.....	20
3.4 Pristop LBD (angl. Literature-based discovery).....	20
3.5 Orodje SemBT	21
3.5.1 Opis	21
3.5.2 Primer izdelave iskalnega niza.....	22
3.5.3 Rezultati iskanja	23
3.5.4 Uporabljeni iskalni nizi	24
3.6 Orodje za grafični prikaz Neo4j.....	27
3.7 Prikaz prepovedanih snovi na časovnem traku	27
3.8 Statistično ovrednotenje uspešnosti iskanja.....	28
4. REZULTATI	28
4.1 Rezultati bibliometrične analize znanstvenih člankov z orodjem VOS viewer.....	28
4.1.1 Omrežje, zgrajeno glede na težo člankov.....	28
4.1.2 Omrežje, zgrajeno glede na citiranost člankov glede na državo	32

4.1.3 Omrežje, zgrajeno glede na sopojavnost pojmov	36
4.2 Rezultati iskanja z orodjem SemBT	40
4.2.1 Snovi z liste LPSP	40
4.2.2 Najdene snovi s potencialom za zlorabo, ki niso na LPSP	44
4.3 Grafični prikaz z orodjem Neo4j	50
4.4 Prikaz prepovedanih snovi na časovnem traku	55
4.5 Statistično ovrednotenje uspešnosti iskanja	56
5. RAZPRAVA	57
6. ZAKLJUČEK	58
7. VIRI	60

Kazalo slik

Slika 1: Testosteron in njegovi sintezni derivati (prirejeno po [8]).....	3
Slika 2: Testosteron in njegov metabolit DHT (prirejeno po [10])	4
Slika 3: Nastajanje in metabolizem testosterona (prirejeno po [9])	6
Slika 4: Vplivi na izločanje ravnega hormona (prirejeno po [70])	12
Slika 5: Primer prikaza rezultatov iskalnega niza	24
Slika 6: Primer prikaza rezultatov za posamezno semantično relacijo	24
Slika 7: Omrežni prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na težo člankov	29
Slika 8: Prekrivajoči se prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na težo članka	30
Slika 9: Porazdelitveni prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na težo člankov	31
Slika 10: Omrežni prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na citiranost člankov po državah.....	33
Slika 11: Prekrivajoči se prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na citiranost člankov po državah.....	34
Slika 12: Porazdelitveni prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na citiranost člankov po državah.....	35
Slika 13: Omrežni prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na sopojavnost pojmov .	37
Slika 14: Prekrivajoči se prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na sopojavnost pojmov	38
Slika 15: Porazdelitveni prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na sopojavnost pojmov	39
Slika 16: Rezultati grafične obdelave prvega iskalnega niza s programom Neo4J – 25 pojmov z največ relacijami z vsakim objektom	51
Slika 17: Rezultati grafične obdelave prvega iskalnega niza s programom Neo4J – 100 pojmov z največ relacijami.....	52
Slika 18: Rezultati grafične obdelave drugega iskalnega niza s programom Neo4J – 25 pojmov z največ relacijami z vsakim objektom	53
Slika 19: Rezultati grafične obdelave drugega iskalnega niza s programom Neo4J – 100 pojmov z največ relacijami.....	54
Slika 20: Prikaz primera napačne semantične relacije I.....	58
Slika 21: Prikaz primera napačne semantične relacije II.....	58
Slika 22: Prikaz primera napačne semantične relacije III	58

Kazalo preglednic

Tabela I: Opredelitev lastnosti farmakološke skupine	19
Tabela II: Anabolični učinki anaboličnih androgenih steroidov	20
Tabela III: Ergogeni učinki delovanja anaboličnih androgenih steroidov	20
Tabela IV: Rezultati iskanja spojin, uvrščenih na LPSP	43
Tabela V: Rezultati iskanja spojin, ki niso uvrščene na LPSP	50
Tabela VI: Časovni trak.....	55
Tabela VII: Obdelava podatkov s časovnega traka	55
Tabela VIII: Rezultati statistične analize najdenih snovi iz LPSP	56
Tabela IX: Rezultati statistične analize pravilnosti izluščenih trditev	57

Povzetek

Doping pomeni v športu resno težavo, saj lahko športniki z zlorabo prepovedanih snovi in/ali postopkov pridobijo nepošteno prednost pred sotekmovalci in resno ogrozijo svoje zdravje. Naš cilj je bil razviti in ovrednotiti računalniško metodo za odkrivanje novih snovi, ki neposredno ali posredno delujejo anabolično in imajo potencial, da bi jih zlorabili za doping, saj so v športu te snovi najpogosteje zlorabljene. Za vzpostavitev našega eksperimentalnega modela smo uporabili vse snovi z anaboličnim delovanjem, ki so trenutno v športu prepovedane in uvrščene na Listo prepovedanih snovi in postopkov (LPSP), ki jo vsako leto izda Svetovna protidopinška agencija.

Naša metoda spada med nove računalniške pristope k analizi biomedicinske znanstvene literature (angl. Literature-based discovery), ki omogočajo pridobivanje novih hipotez in/ali teorij z obdelavo že obstoječega znanja. Pri raziskovalnem delu smo uporabili program SemBT, ki omogoča analizo semantičnih relacij. Za pridobitev želenih rezultatov smo morali sestaviti iskalne nize, pri čemer smo morali dobro poznati farmakološke mehanizme delovanja iskanih snovi. Semantične relacije in rezultate smo grafično obdelali v programskem okolju Neo4J. Z uporabo istih iskalnih nizov smo v programskem orodju VOS Viewer naredili tudi bibliometrično analizo ustvarjenih omrežij, kjer smo primerjali objave znanstvenih člankov s citiranostjo.

Uporabljeni program SemBT je še vedno v prototipni fazi, zato smo dobljene rezultate tudi ovrednotili na več načinov. Ocenili smo zmožnost in učinkovitost programa za: i. odkrivanje že znanih prepovedanih snovi z Liste prepovedanih snovi in postopkov (program je našel 58 % snovi z LPSP); ii. zmožnost programa za odkrivanje novih snovi z možnostjo zlorabe za namene dopinga (program je našel 207 novih snovi, ki jih ni na Listi) in iii. pravilnost dobljenih rezultatov (70,2 % rezultatov je bilo pravilnih). Ocenjujemo, da ima semantični pristop odkrivanja novih snovi s potencialom za zlorabo v športu velike možnosti za učinkovitost v boju proti dopingiu.

Ključne besede: doping, anabolično delovanje, anabolični androgeni steroidi, izboljšana telesna zmogljivost, semantično orodje SemBT

Abstract

Doping in sport presents a serious problem. Athletes can gain unfair competitive advantage over the others, as well as doping use can impose serious health risks. Our goal was to develop and evaluate a computational method for the identification of novel substances with direct or indirect anabolic effects and consequential potential for doping abuse. Anabolic agents are the most frequently abused substances in sport. For the construction of our experimental model we picked out all substances with anabolic activity from the List of prohibited substances and methods, which is edited and updated annually by World Anti-Doping Agency.

Our method is a novel computational approach for analysing biomedical literature (literature-based discovery) with the aim to generate novel hypotheses from the existing bulk academic knowledge. We used software SemBT to define and analyze semantic relations. We constructed several search queries based on comprehensive knowledge about pharmacological activity of prohibited substances. Obtained results and semantic relations were graphically analysed with Neo4J software. Same search queries were also used in the software tool VOS Viewer to perform bibliometric analysis of the obtained networks based on bibliographic coupling and citations.

Since SemBT software is still in prototype phase we evaluated the obtained results in several manners. We assessed the software's efficacy to: i. identify substances already on the List of prohibited substances and methods (software identified 58 % of substances mentioned on the List); ii. to identify novel substances with the doping potential abuse (software identified 207 novel substances, not currently included on the List) and iii. the level of results correctness (70,2 % of results were correct).

Keywords: doping, anabolism, anabolic androgenic steroids, increased performance, semantic tool SemBT

Seznam okrajšav

AAS	anabolični androgeni steroidi
ACTH	adenokortikotropni hormon
ADH	antidiuretični hormon
AR	androgenski receptor
CRH	kortikotropin sproščujoči hormon
DHT	5 α -dihidrotestosteron
ER	estrogenski receptor
FGF	fibroblastni rastni dejavniki
GDF-8	miostatin/rastni in diferenciacijski dejavnik-8
GH	rastni hormon
GHRH	rastni hormon sproščujoči hormon/somatoliberin
GnRH	gonadotropin/gonadotropine sproščujoči hormon
HDL	lipoprotein visoke gostote
HGF	hepatocitni rastni dejavnik
IA	zaviralci aromataze
IGF-I	inzulinu podoben rastni dejavnik 1
IOC	mednarodni olimpijski komite
LBD	računalniška analiza znanstvene literature (angl. Literature-based discovery)
LDL	lipoprotein nizke gostote
LH	luteinizirajoči hormon
LPSP	Lista prepovedanih snovi in postopkov
MAD	molekule z anaboličnim deovanjem
MeSH	tezaver za indeksiranje medicinske literature (angl. Medical subject heading)
MGF	mehano rastni dejavnik
PDGF	trombocitni rastni dejavnik
POMC	pro-opiomelanokortin
SARM	selektivni modulator androgenskih receptorjev
SERM	selektivni modulator estrogenskih receptorjev
SLOADO	Slovenska antidoping organizacija
SST	somatostatin
VEGF	žilni endotelijski rastni dejavnik
WADA	Svetovna protidopinška organizacija (World Anti-Doping Agency)

1. UVOD

Doping in z njim povezani škandali so v sodobnem športu velik problem, tako zaradi nepravilne prednosti športnikov, ki zlorablajo nedovoljene snovi, kot tudi zaradi zdravstvenih posledic zlorabe. Za preprečevanje zlorabe nedovoljenih snovi je bila ustanovljena Svetovna protidopinška organizacija (WADA), ki si s svojim Svetovnim protidopinškim programom prizadeva ohraniti bistvene vrednote športa (t. i. športni duh), to so med drugim etika, poštenost, predanost, zavezanost, spoštovanje in zdravje športnika. Ogradje tega programa je Svetovni protidopinški kodeks, v katerem so zapisana pravila in smernice o kontroli dopinga, izobraževanju, raziskavah, podelitvi vlog in obveznosti, skladnosti, spreminjanju in razlaganju kodeksa^[1]. Največ težav in zapletov se pojavlja pri ugotavljanju in dokazovanju zlorabe nedovoljenih snovi ali postopkov, saj metode detekcije, zaradi nenehnega razvoja dopinga, hitro zastarijo. Za učinkovit boj proti dopingu je zato potrebno stalno razvijanje novih metod.

1.1 Definicija dopinga

Za doping se šteje vsaka kršitev enega ali več izmed desetih protidopinških pravil, ki jih najdemo podrobno opisana v Svetovnem protidopinškem kodeksu^[1]. Kršitev protidopinških pravil vključuje uporabo, poskus uporabe, posedovanje, trgovanje prepovedanih snovi in postopkov ter vsakršno nesodelovanje pri postopkih dopinških testiranj^[1]. Za kršitve protidopinških pravil so lahko kaznovani tudi člani spremljevalnega osebja in ne le športnik^[1].

1.2 Lista prepovedanih snovi in postopkov (LPSP)

Lista prepovedanih snovi in postopkov je seznam snovi in postopkov, ki so v športu prepovedani, in se posodablja vsako leto. Zanj je pristojna Svetovna protidopinška organizacija (WADA), ki vsako leto dodaja novo odkrite snovi in postopke, ki bi se lahko uporabili za doping. Trenutno veljavna različica je tako prosto dostopna na spletni strani WADA. Različica v slovenskem jeziku pa je na voljo na spletni strani SLOADO, Slovenske antidoping organizacije^[2].

Za prepoved oziroma uvrstitev snovi ali postopka na LPSP mora ta ustrezati vsaj dvema izmed treh določil, ki so: zmožnost izboljšanja zmogljivosti, škodovanje zdravju in kršenje športnega duha^[2].

Lista prepovedanih snovi in postopkov je v osnovi razdeljena na prepovedane snovi, označene s črko S (angl. substances), in prepovedane postopke, označene s črko M (angl. methods). Obe skupini sta posebej razdeljeni v več podskupin, skupaj pa se delita v tri kategorije: vedno prepovedane snovi in postopki; snovi in postopki, prepovedani na tekmovanjih; in snovi, ki so prepovedane le v nekaterih športih^[3]. Prepovedane snovi so razdeljene v deset podskupin (S0 do S9), prepovedani postopki pa v tri (M1 do M3). Podskupine pri prepovedanih snoveh so oblikovane približno po farmakoloških mehanizmih delovanja^[3].

Mi smo preučili snovi iz skupin od S1 do S4. V skupini S1 so anabolični agensi, ki so razdeljeni na anabolične androgene steroide (AAS) in druge anabolične snovi. V naslednji skupini S2 so zbrani peptidni hormoni, rastni dejavniki, sorodne snovi in posnemovalci. Skupino S3 sestavljajo beta-2 adrenergični agonisti, skupino S4 hormoni in metabolični modulatorji^[3].

Iz omenjenih skupin smo izbrali snovi, ki neposredno ali posredno delujejo anabolično, zanje bomo uporabljali izraz molekule z anaboličnim delovanjem (MAD). Mednje smo uvrstili: AAS, selektivne modulatorje androgenskih receptorjev (SARM) in ostale anabolične snovi iz skupine S1; horionski gonadotropin, luteinizirajoči hormon in njegove sproščujoče dejavnike, rastni hormon in njegove sproščujoče dejavnike ter rastne dejavnike iz skupine S2; beta-2 adrenergične agoniste iz skupine S3; zaviralce aromataze, selektivne modulatorje estrogenskih receptorjev, druge antiestrogenske snovi, inzulin ter snovi, ki modificirajo miostatinsko delovanje iz skupine S4^[3].

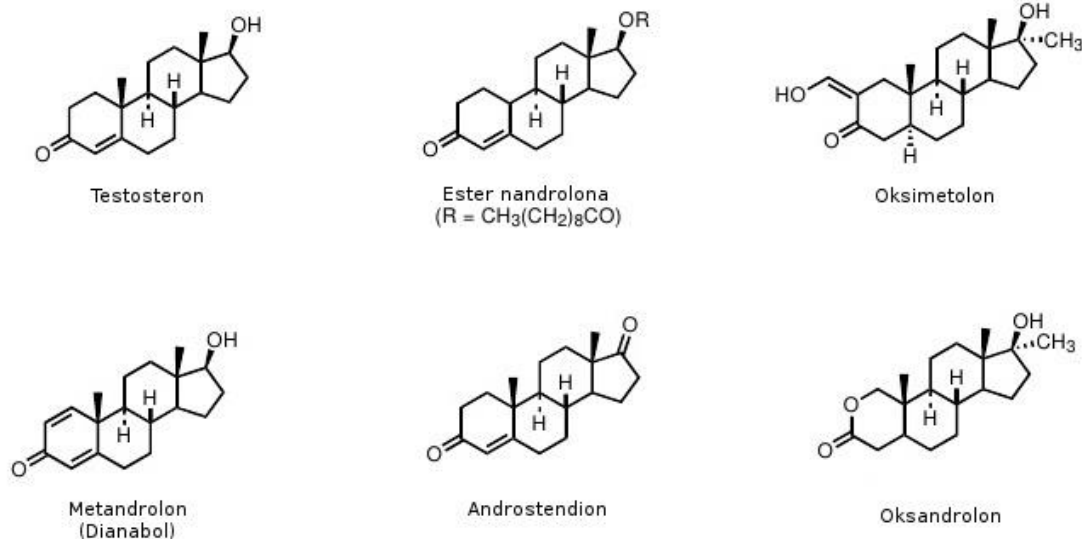
Poročilo WADA za leto 2015 o rezultatih testiranj športnikov kaže, da so na prvem mestu zlorabe prepovedanih snovi še vedno anabolični agensi (50 %), ki jim sledijo stimulansi iz skupine S6 (15 %), diuretiki in ostale maskirne snovi iz skupine S5 (12 %), glukokortikoidi iz skupine S9 (6 %), hormoni in modulatorji metabolizma iz skupine S4 (4 %), kanabinoidi iz skupine S8 (4 %), beta-2 adrenergični agonisti iz skupine S3 (3 %), peptidni hormoni, rastni faktorji in podobne snovi iz skupine S2 (3 %), narkotiki iz skupine S7 (1 %), beta blokatorji iz skupine P2 (1 %) ter kemična in fizična manipulacija iz skupine M2 (0,03 %)^[4].

1.3 Anabolični androgeni steroidi

Anabolični androgeni steroidi so sintetični derivati moškega spolnega hormona testosterona in imajo njemu podobne učinke, ki jih je mogoče do določene mere modificirati s spremembami v strukturi^[5].

Poimenovanje anabolični androgeni steroidi se navezuje na njihovo delovanje. Anabolično delovanje se kaže s povečanim zadrževanjem dušika v pusti telesni masi, kar je lahko doseženo ali s povečano proizvodnjo ali z zmanjšano razgradnjo beljakovin^[6]. Androgeno delovanje pa se kaže s stimulacijo rasti in delovanja moškega reprodukcijskega trakta. Vsi AAS imajo določen delež anaboličnega in določen delež androgenega delovanja, na primer testosteron ima razmerje med anaboličnim in androgenim delovanjem 1 proti 1, 19-nortestosteron/nandrolon pa ima razmerje 10 proti 1^[6]. Razmerje se ugotavlja s testiranjem učinkovine na podganji mišici medeničnega dna, žal pa na molekularni ravni razlikovanje med anaboličnim in androgenim delovanjem ni dobro razumljeno^[6].

Pri zlorabi AAS je bolj zaželeno razmerje v prid anaboličnemu učinku, še posebno pri ženskih uporabnicah. Nekaterim AAS zaradi velikega razmerja laiki pripisujejo samo anabolično delovanje, vendar se po daljšem času uporabe vedno pojavijo tudi androgeni učinki^[7]. Na sliki 1 vidimo strukture testosterona in njegovih sinteznih derivatov.

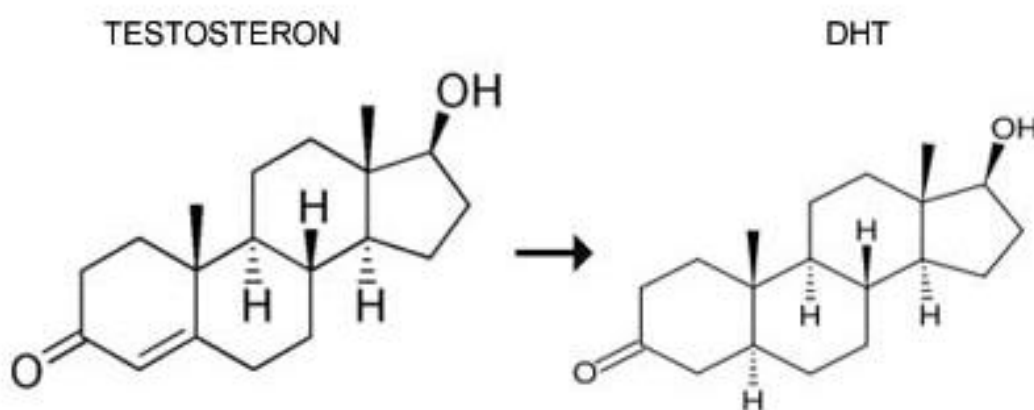


Slika 1: Testosteron in njegovi sintezni derivati (prirejeno po [8])

1.3.1 Fiziologija testosterona

Androgen ali moški spolni hormon je definiran kot snov, ki prispeva k razvoju in vzdrževanju moških lastnosti v reproduktivnih tkivih, s čimer vpliva na spolovila, sekundarne spolne znake in plodnost. Drugi del delovanja pa je povezan z anaboličnim delovanjem v tkivih, ki jih oživčuje somatski živčni sistem (skeletno mišičevje)^[9]. Za namene dopinga je pomemben predvsem anaboličen učinek androgenov.

Testosteron in njegov petkrat močnejši presnovek 5α -dihidrottestosteron (DHT) sta glavna androgena (prikazano na sliki 2), ki uravnavata hormonsko homeostazo pri odraslih sesalcih^[9]. Testosteron sintetizirajo Leydigove celice v testisih. Od tam se prenaša v krvni obtok in nato sproži odziv v oddaljenih, na androgene občutljivih tarčnih tkivih. Majhen delež testosterona in DHT nastaja z izvengonadalno biosintezo s pretvorbo iz šibkega adrenergičnega androgenega prekursorja dehidroepiandrosterona. Pri moških ima zanemarljiv vpliv na celotno količino testosterona, pri ženskah pa je, zaradi veliko manjših količin androgenov v telesu, ravno nasprotno^[9].



Slika 2: Testosteron in njegov metabolit DHT (prirejeno po [10])

Klasični farmakološki učinek androgenov je primarno uravnavan z njihovo vezavo na androgenski receptor (AR), ki je v citosolu celic. Vezava androgena na AR povzroči prenos v jedro, kjer deluje kot transkripcijski faktor in značilno vpliva na izražanje genov z regulacijo prepisovanja tarčnih, na androgene občutljivih genov^[9].

Zgornja fiziološka definicija androgena se dopolnjuje z biokemično in farmakološko definicijo androgena kot molekule, ki učinkovito tekmuje s testosteronom za vezavo na

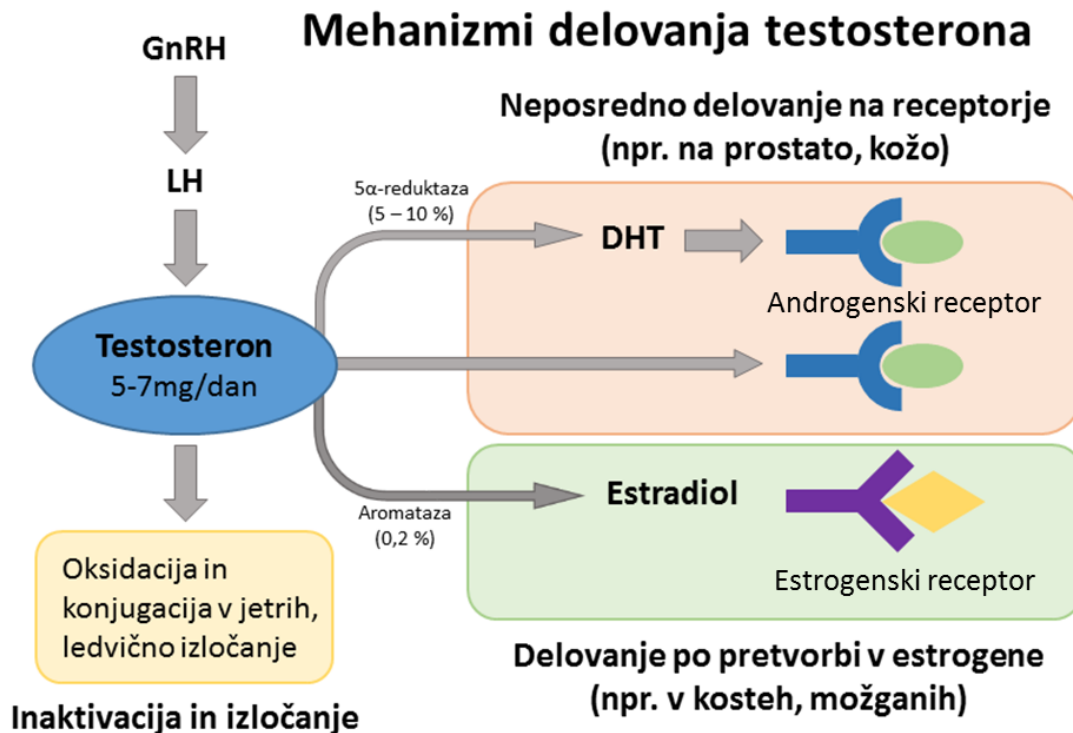
AR. Poleg tega so bili opisani tudi negenomski mehanizmi delovanja androgenov, ki vključujejo hiter in membransko posredovan proces v citoplazmi brez prepisovanja novih proteinov^[9].

Testosteron se za namene nadomestne hormonske terapije uporablja v fizioloških odmerkih, za druge vrste terapije z androgeni pa se uporabljajo višji odmerki testosterona ali njegovih sintetičnih derivatov. Glavni cilj nadomestne terapije androgenov je ponovna vzpostavitev fiziološke izpostavljenosti tkiv androgenom^[9].

V fizioloških pogojih povprečen moški proizvede okoli sedem miligramov testosterona na dan in manjše količine šibkejših androgenov, na primer androstendiona in dihidroepiandrosterona. Iz testosterona s pomočjo encima aromataza nastaja estradiol, kar poteka v testisih, nadledvični žlezi in drugih perifernih tkivih^[11]. Testosteron se sintetizira iz holesterola z zaporedjem encimskih reakcij, kar nadzoruje hipofiza z izločanjem luteinizirajočega hormona (LH)^[9]. LH prav tako poveča prepisovanje genov, ki kodirajo encime za sintezo androgenov, in povzroči hipertrofijo in hiperplazijo Leydigovih celic. Sprožanje LH poteka pulzatilno v intervalih, kar prepreči neodzivnost Leydigovih celic zaradi predolge izpostavljenosti. S staranjem se zmanjšuje občutljivost testisov na LH, kar zmanjša sposobnost testisov za izločanje testosterona. Eksogeno dodajanje LH še dodatno zniža izražanje receptorjev za LH^[11].

Izločanje LH iz hipofize nadzoruje gonadoliberin ali gonadotropin sproščujoči hormon (GnRH – angl. Gonadotropins releasing hormone), ki ga izločajo nevroni hipotalamusa v portalni krvni obtok, s čimer je zagotovljena hipotalamična-hipofizna-gonadotropna os^[9].

Po sprostitvi testosterona in testisov se majhen delež pretvori v dva bioaktivna presnovka estradiol in DHT, večina pa se v jetrih presnovi in inaktivira s presnovnimi reakcijami prve in druge faze. Nastanejo oksidirani in konjugirani metaboliti, ki se izločijo z urinom ali blatom^[9]. Nastajanje in metabolizem testosterona sta prikazana na sliki 3.



Slika 3: Nastajanje in metabolizem testosterona (prirejeno po [9])

1.3.2 Vplivi AAS na telesno sestavo

Študije so si enotne pri povečanju telesne mase, ki naj bi bila predvsem posledica povečanja skeletne mišičnine (mišična hipertrofija)^[12-14]. Skeletna mišičnina se je tako povečala pri prostovoljcih, ki so poleg jemanja AAS izvajali še treninge moči, in tudi pri tistih, ki niso bili športno aktivni. Pri slednjih je bila rast mišičnega tkiva seveda manjša. Glede na režim odmerjanja, odmerke in vrsto AAS je odvisno, kateri tip mišičnih vlaken se poveča^[15, 16].

Drugače je pri telesnih dimenzijah, kjer nekatere študije niso zaznale sprememb, pri večini preostalih pa se je povečal predvsem obseg vratu, trupa, ramenskega obroča in nadlakti^[12-14, 17].

Pri študijah, ki so preučevale pusto telesno maso, ni bilo nikjer znatnega zmanjšanja maščobnega tkiva. Iz tega sledi sklep, da je povečanje telesne mase posledica predvsem povečanja puste telesne mase^[13, 18, 19]. Zaradi povečanja puste telesne mase se zmanjša le relativen delež maščobe v telesu, ne pa absolutna količina. Navkljub rezultatom študij pa večina športnikov uporablja AAS skupaj z nizkim kaloričnim vnosom za zmanjšanje

maščob v telesu. Pri teh športnikih AAS preprečijo razgradnjo mišic ter omogočijo izgubo maščobe ob konstantni mišični masi^[13, 18, 19].

1.3.2 Vplivi AAS na moč

Mišična moč je pomemben dejavnik v številnih športih. Na prvem mestu so seveda športi moči, kot je na primer olimpijsko dvigovanje uteži, vendar pa ima mišična moč pomembno vlogo tudi v drugih športih, kot so na primer kolesarjenje, tek na kratke razdalje in veslanje. Večina študij je ugotavljala povečanje absolutne moči, ki temelji na maksimalni teži ene ponovitve dviga, pri čemer so ugotovili povečanje moči za 5–20 %, odvisno predvsem od odmerka in vrste učinkovine^[20]. Dolgo časa je veljalo prepričanje, da AAS izboljšajo moč le izkušenim športnikom, s študijo pa so dokazali, da so AAS učinkoviti tudi pri športnikih začetnikih^[21]. V raziskavah, kjer so primerjali učinke različnih režimov odmerjanja, vrste AAS, odmerkov in načina vnosa učinkovine, so ugotovili, da imajo vsi skupno točko, in sicer se je povečala moč^[12-14, 21, 22].

1.3.3 Vplivi AAS na vzdržljivost

Kmalu po odkritju AAS so bili ti registrirani za zdravljenje različnih vrst anemij, saj so ugotovili, da dolgotrajna uporaba AAS zviša serumski hemoglobin^[23]. To je bil še dodatni razlog, da so vzdržljivostni športniki zlorabljali AAS, vendar pa študija ni dokazala povečanja vzdržljivosti^[14]. Zaradi naprednejših protidopinških preverjanj in tehnologije za pridobivanje rekombinantnih proteinov (eritropoetina) so AAS prenehali uporabljati, da bi povečevali vzdržljivost^[20].

1.3.4 Vplivi AAS na regeneracijo

Večina športnikov poroča o izboljšani regeneraciji kot posledici uporabe AAS, vendar pa raziskave s tega področja merijo le indirektno dejavnike, povezane z regeneracijo. V različnih raziskavah so dobili nasprotujoče si rezultate, zato ni mogoče oblikovati dokončnega sklepa^[20].

1.3.5 Neželeni učinki uporabe AAS

Poročanja športnikov

Iz vprašalnikov je razvidno, da je večina športnikov, ki so zlorabljali AAS, imela neželene učinke, tako med samim režimom kot tudi po prenehanju jemanja^[24-26]. Moški so poročali o povečanem spolnem nagonu, pojavu aken, večji poraščenosti in agresivnosti, zadrževanju tekočine v telesu, povišanem krvnem tlaku, nespečnosti, večji razdražljivosti,

zmanjšanjem libidu, povečanjem apetitu, povečanjem potenju, povečanjem dobrem počutju, epizodah depresije, izgubi las in ginekomastiji^[24, 25]. Ženske uporabnice pa so poročale o znižanju glasu, povečani poraščenosti po obrazu, zvečanju klitorisa, večji agresivnosti in apetitu, aknah, zadrževanju tekočine v telesu, nihanju libida^[26].

Rezultati nadzorovanih študij

AAS zavirajo hipotalamično-hipofizno-gonadalno zanko, ki deluje kot sistem za uravnavanje izločanja androgenov. Posledično AAS zmotijo endogeno produkcijo testosterona in gonadotropinov (LH in folikle stimulirajoči hormon), kar povzroči atrofijo testisov ter zniža produkcijo in kakovost semenske tekočine^[16, 21, 27], kar lahko vodi v neplodnost. Ponovna vzpostavitev reproduktivnega sistema je odvisna od odmerkov, režima odmerjanja in časa uporabe. Nekateri uporabniki AAS skušajo neželene učinke na reproduktivni sistem omiliti z uporabo hCG, kar je do določene meje uspešno^[27-29].

Pogost neželeni učinek je pojav ginekomastije pri moških uporabnikih, ki je težavna zaradi pojava bolečine v prsni in tudi zaradi estetskih razlogov. V začetnih fazah lahko spontano izveni, pri dolgoročni uporabi AAS pa je edina možnost zdravljenja kirurška odstranitev^[30].

Uporaba AAS v adolescenci lahko vpliva na prezgodnjo ustavitev rasti^[30].

Uporaba AAS se povezuje tudi s pojavom resnih srčno-žilnih zapletov pri mladih športnikih, vključujoč kardiomiopatijo, atrijsko fibrilacijo, QT disperzijo, akutni miokardni infarkt, možgansko kap, motnje v hemostazi, ventrikularno trombozo, sistemski embolizem in akutno srčno odpoved^[31, 32].

Večina študij je ugotovila dvig sistoličnega in diastoličnega krvnega tlaka pri visokih odmerkih AAS, vendar se je zvišani krvni tlak po prenehanju uporabe kmalu povrnil na normalno raven^[33, 34].

Rezultati študij kažejo negativne učinke AAS na serumske lipide in lipoproteine. Rezultati vplivov AAS kažejo na: znižanje serumske koncentracije lipoproteinov visoke gostote (HDL), kar poveča tveganje za nastanek srčno-žilnih bolezni^[35]; zvišanje serumske koncentracije lipoproteinov nizke gostote (LDL), kar prav tako poveča tveganje za nastanek srčno-žilnih bolezni^[34, 36]. Študije si niso enotne pri vplivu AAS na serumske koncentracije holesterola^[33, 37], trigliceridov^[33-35], apolipoproteinov^[35, 38]. Pri študijah

vpliva AAS na lipoprotein(a) pa so ugotovili, da AAS nižajo njegovo serumsko koncentracijo, kar znižuje tveganje za srčno-žilne zaplete^[35, 39].

Že predklinična testiranja na živalih so nedvoumno pokazala škodljive učinke AAS na jetra^[40]. Klinične raziskave so potrdile, da lahko AAS povzročijo resne poškodbe jeter, kot so: patološke znotrajcelične spremembe hepatocitov, zmanjšana funkcija izločanja, holestaza, peliozni hepatitis, hepatocelična hiperplazija ter jetrni karcinom^[41, 42]. Poškodbe jeter so odvisne od vrste apliciranih AAS, pri čemer so najbolj hepatotoksični 17 α -alkilirani steroidi (npr. oksimetolon)^[41, 42]. Uporaba AAS se klinično kaže z dvigom jetrnih encimov, kot sta alaninska transaminaza (ALT) in asparaginska transaminaza (AST) – nekateri raziskovalci menijo, da bi bil njihov dvig lahko poleg okvare jeter tudi posledica mišičnih poškodb^[43].

Ugotovljeno je bilo tudi, da AAS vplivajo na presnovo glukoze, povzročajo inzulinsko rezistenco ter nepravilno delovanje žleze ščitnice^[44, 45]. Izraziti so tudi vplivi na kožo, kjer so opazni povečanje žlez lojnic, povečana produkcija loja in zvišanje holesterola na površini kože^[46]. Z vplivom na tvorbo na hemostatski sistem pa tudi znižajo imunsko odpornost^[47].

Pri opazovanju psiholoških funkcij so študije poročale o shizofreniji^[48-50], nihanju razpoloženja^[51], odvisnosti od steroidov (25 do 50 % uporabnikov AAS)^[52, 53], hipomaničnih epizodah, družinskem nasilju in zlorabi^[54, 55], psihozah ter celo umoru in poskusu umora^[48-50]. Prav tako je zloraba AAS povezana z nizko samozavestjo in nezadovoljstvom z lastnim telesom^[56, 57].

Raziskave o vplivih AAS na ženske so v znanstveni literaturi redke, dejstvo pa je, da uporaba AAS poveča maskulinizacijo. Ženske bodibilderke so poročale o nastanku aken, spremembah v libidu, nihanju višine glasu, izgubi las, sprembi rasti sramnih dlak, povečanju klitorisa, spremembah v menstrualnem ciklu, zmanjšanju prsi^[30], simptomih depresije pri odtegnitvi AAS, simptomih hipomanije, zelo strogih dietah, kroničnem nezadovoljstvu in prezaposlenostjo s postavo ter netradicionalnih vlogah spolov^[58].

1.4 SARM, SERM ter zaviralci aromataze

Selektivni modulatorji androgenskih receptorjev (SARM) so vrsta ligandov za androgeni receptor, ki v nasprotju s testosteronom ne sprožijo celotnega spektra odziva, temveč le terapevtsko želene del^[59]. Želja je razviti molekule z agonističnim delovanjem na

skeletne mišice in kosti in z delnim agonističnim delovanjem na prostato, na katere ne delujeta encima 5α -reduktaza in CYP19 aromataza, s čimer se zmanjšajo neželeni učinki, ki se ponavadi pojavijo pri terapiji z androgeni^[59].

SARM so zato primernejši od AAS za zdravljenje bolezni in stanj, kot so na primer osteoporoza, zmanjševanje mišične mase zaradi starosti, hormonsko pogojeni rak prostate, pomanjkanje androgenov pri moških in bolezni, pri katerih je ena izmed posledic kaheksija^[59].

Podrobnih študij o neželenih učinkih in učinkih SARM na telesno zmogljivost ni, saj učinkovine niso še tako uveljavljene, vendar pa lahko sklepamo na podobne rezultate. Študije primerjave AAS s SARM podpirajo naše domneve, da so neželeni učinki in učinki na telesno zmogljivost podobni pri obeh skupinah, saj je glavna tarča androgenski receptor. Prednost SARM je manj stranskih učinkov zaradi selektivnosti delovanja na tkiva^[60, 61].

Selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev (SERM) so molekule, ki z vplivom na estrogenski receptor (ER) alfa in beta sprožijo estrogene ali antiestrogene učinke v različnih tkivih. Uporabljajo se za upočasnjevanje zmanjševanja mineralne gostote kosti in za preprečevanje ter zdravljenje hormonsko pogojenega raka dojke pri ženskah v menopavzi in uravnavanje ovulacije pri neplodnih ženskah pred menopavzo^[62].

Zaviralci aromaze (IA) so spojine, ki zavirajo biosintezo estrogena. To dosežejo z zaviranjem encima citokroma P450 aromataze, ki katalizira pretvorbo androgenov v estrogene. IA so primarno razvili za ženske, pri katerih ni več ovarijske produkcije estrogena, saj IA zavirajo le estrogen, ki nastane iz androgenov. Uporabljajo se pri zdravljenju hormonsko pogojenega raka dojke pri ženskah v menopavzi^[63].

SERM (z antagonističnim delovanjem) in IA se za doping uporabljajo le pri moških za povečanje tvorbe endogenega testosterona^[64] ali pa za izničenje neželenih učinkov uporabe AAS, povezanih s povečano količino estrogena, kjer je na prvem mestu ginekomastija^[65, 66].

Mehanizem pri zviševanju produkcije endogenega testosterona pri moških z uporabo SERM in AI je enak, razlika je le v tarčah, kjer učinkovine iz obeh skupin delujejo^[64].

Estradiol ima pri moških, čeprav je ženski spolni hormon, ključno vlogo v nekaterih fizioloških funkcijah telesa. Nas zanima predvsem njegov učinek na regulacijo produkcije

testosterona in spermatogeneze^[67]. Kot že zgoraj omenjeno, pri moških večina estradiola nastane s pretvorbo iz testosterona, za kar skrbi encim aromataza^[67].

Na hipotalamusu sta androgenski in estrogenski receptor, prek katerih testosteron in estradiol prek negativne povratne zanke vplivata na izločanje lutenzirajočena hormona (LH) in folikel stimulirajočega hormona (FSH). Zaradi tega lahko SERM prek modulacije estrogenega receptorja in IA prek znižanja serumske koncentracije estrogena vplivata na večje izločanje LH in FSH iz hipofize in posledično zvišata tvorbo endogenega testosterona^[64].

Zaviralci aromataze to dosežejo s preprečevanjem pretvorbe testosterona v estradiol, kar vpliva na znižanje ravni estradiola v telesu. To zaznajo estrogenski receptorji na hipotalamusu in hipofizi, kar prek hipotalamične-hipofizne-testikularne zanke vpliva na zvišanje produkcije endogenega testosterona^[64].

Selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev delujejo po istem mehanizmu, le da vplivajo neposredno na hipofizo in hipotalamus z vezavo na njune estrogenske receptorje^[64].

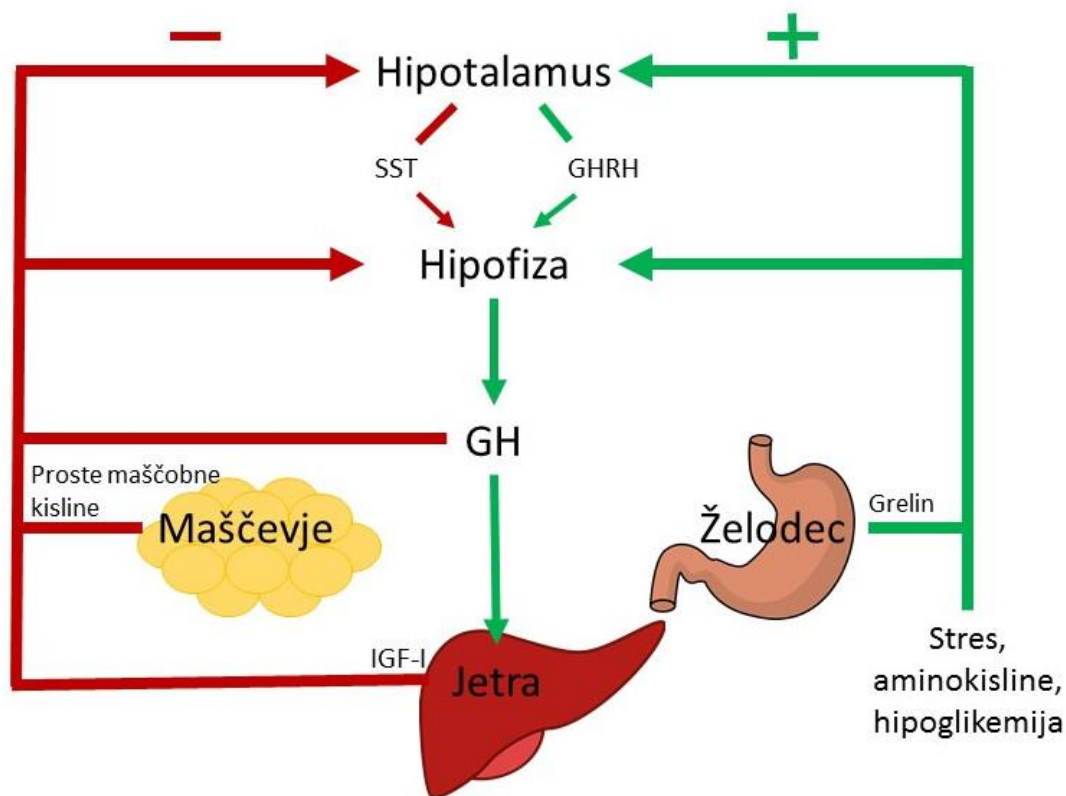
Neželeni učinki SERM in IA pri moških so precej neraziskani. Glede na mehanizem delovanja pa lahko neželene učinke razdelimo okvirno na dve skupini, in sicer na učinke povečane količine testosterona v telesu in na učinke zmanjšane količine estrogena v telesu (SERM ne znižajo dejanske količine estrogena v telesu, le z vezavo na ER povzročijo temu podoben odziv).

Pri povečani količini testosterona so neželeni učinki podobni zgoranj opisanim pri AAS. Pri znižani količini estrogena pa se glede strankih učinkov lahko sklepa iz študij, ki preučujejo posledice hipogonadizma. Njihovi rezultati nakazujejo na znižanje spolne funkcije, izgubo kostne mase, akumulacijo maščobe in hipogonadizem^[68].

1.5 Rastni hormoni in dejavniki

Rastni hormon (GH) je peptidni hormon, ki nastaja v prednjem režnju hipofize^[69]. Izloča se pulzirajoče, glede na cirkadiani ritem, kar nadzorujejo številni dejavniki, med te prištevamo somatoliberin (GHRH – angl. growth hormone releasing hormone), somatostatin (SST), grelin in inzulinu podoben rastni dejavnik 1 (IGF-I, angl. Insulin-like growth factor 1), stres, starost, fizično pripravljenost, sestavo telesa, količino glukoze in

prostih maščobnih kislin ter aminokislin v krvi (prikazano na sliki 4)^[70]. GH deluje neposredno na svoje receptorje in tudi posredno prek povečane produkcije IGF-I^[70].



Slika 4: Vplivi na izločanje rastnega hormona (prirejeno po [70])

Glede ergogenih učinkov GH rezultati študij, kjer se ugotavljajo predvsem zvišanje puste telesne mase, znižanje deleža telesne maščobe, izboljšanje mišične moči in vzdržljivosti, niso popolnoma enotni. Večina študij je potrdila zvišanje puste telesne mase in znižanje deleža telesne maščobe, ni pa bilo opaznega povečanja mišične moči in vzdržljivosti^[71]. Poročanja športnikov tudi niso popolnoma verodostojna, saj so njihovi odmerki višji od tistih, ki so uporabljeni v študijah, prav tako večinoma uporabljajo GH v kombinaciji z drugimi snovmi (npr. AAS v športih moči in eritropoetin v vzdržljivostnih športih)^[72].

Tudi posledice zlorabe GH niso natančno raziskane, saj nimamo kliničnih raziskav na športnikih, ki uporabljajo GH za doping. Sklepamo pa lahko o neželenih učinkih iz raziskav na pacientih z akromegalijo, ki imajo povišane serumske vrednosti GH. Glavni simptomi so zatekanje dlani in stopal, robat obraz, zobozdravstvene težave, bolečine v sklepih, zadrževanje tekočine in pretirano potenje. Povečano je tveganje za nastanek sladkorne bolezni in hipertenzije, kar lahko vodi v zgodnjo smrt zaradi srčno-žilnih

zapletov. Neželeni učinki dolgoročne uporabe visokih odmerkov GH so povečanje tveganja za sladkorno bolezen, zvišani krvni tlak, kardiomiopatije, osteoporoza, neredna menstruacija in erektilna disfunkcija. Pojavita se tudi zadrževanje telesnih tekočin in spremenjen lipidni profil. GH poveča serumske vrednosti IGF-I, zato posledično povzroči tudi z njim povezane neželene učinke^[72].

Inzulinu podoben rastni dejavnik 1 je polipeptid s pomembno vlogo pri regulaciji ravnega hormona. Poleg tega vpliva tudi na rast tkiv, presnovo glukoze, lipidov, nastanek sladkorne bolezni in hitrejše staranje žil^[70]. Ergogeni učinki zlorabe IGF-I so podobni učinkom GH^[73]. Čeprav študij neželenih učinkov dolgoročne uporabe IGF-I ni, lahko sklepamo, da so neželeni učinki podobni dolgoročni zlorabi GH. V kliničnih testiranjih kratkoročne uporabe IGF-I so najpogostejši neželeni učinki edemi, glavobol, bolečine v sklepih in čeljusti ter hipoglikemija^[73].

Vpliv na izločanje GH imajo tudi številne sintezne spojine in pa hormon **grelin**, za katerega se je izkazalo da poveča sintezo GH. Peptidni hormon grelin je naravni ligand za receptor sekretagogov ravnega hormona in ima sinergističen učinek s somatoliberinom^[74]. Oba delujeta posredno anabolično^[75]. Poleg regulacije sproščanja GH grelin tudi poveča vnos hrane in praznjenje želodca^[76].

Rastni dejavniki

Študije so v zadnjih desetletjih identificirale številne polipeptidne rastne faktorje s ključnimi vlogami v bioloških procesih, kot so na primer celična rast, migracija in diferenciacija. Glede na receptorje so razdeljeni v več skupin^[77]:

- **fibroblastni rastni dejavniki (FGF)**, ki vplivajo na proliferacijo in diferenciacijo raznih tkiv in celic^[78];
- **hepatocitni rastni dejavniki (HGF)**, ki vplivajo na delovanje epitelnih celic različnih tkiv, predvsem pri obnavljanju poškodb^[79];
- **žilni endotelijski rastni dejavnik (VEGF)**, ki vpliva na rast žilnih endotelijskih celic, na tvorbo kosti, hematopoezo in celjenje ran^[80];
- **mehano rastni dejavnik (MGF)**, ki vpliva na proliferacijo mišičnih satelitnih celic in zakasnuje fuzijo mioblastov, kar vpliva na regeneracijo mišičnine^[81];
- **trombocitni rastni dejavnik (PDGF)**, ki vpliva na fibroblaste, celice gladkega mišičevja in celice glije, uporablja se za hitrejše celjenje ulkusov in regeneracijo kosti^[77].

Zaradi fiziološke vloge rastnih dejavnikov se ti v športu zlorablajo za izboljšanje mišične rasti, moči, vzdržljivosti in regeneracije ter celjenje poškodovanega tkiva v telesu^[82].

Neželeni učinki niso dobro raziskani, vendar rastni dejavniki sodelujejo pri nastanku in rasti tumorjev^[79, 80], iz česar lahko sklepamo, da njihova uporaba poveča možnost nastanka novotvorb.

1.6 Beta-2 adrenergični agonisti

Spojine z agonističnim delovanjem na beta-2 adrenergične receptorje spadajo med glavne učinkovine za zdravljenje bronhialne astme. Z zmanjšanjem tonusa gladkih mišic dihalnih poti pomagajo pri astmatičnih napadih in samem nadzoru bolezni^[83].

Če se jemljejo visoki odmerki beta-2 adrenergičnih agonistov, imajo ti anabolične učinke^[84], zato imajo potencial za zlorabo v športu. Poleg anaboličnega delovanja na skeletno mišičnino imajo tudi katabolično delovanje na maščobno tkivo.^[85, 86] Zaradi tega so zelo popularni tako med profesionalnimi kot tudi med rekreativnimi športniki. Med športniki je za doping najbolj pogosto uporabljen klenbuterol, ki se ne uporablja več v humani medicini. Zlorablajo se tudi drugi, ki so še vedno v uporabi v terapiji proti astmi in kronični obstruktivni pljučni bolezni^[87-89].

Med neželene učinke uporabe beta-2 adrenergičnih agonistov pri terapevtski uporabi spadajo tremor, glavobol, tahikardija, palpitanje, srčne aritmije vključno z arterijsko fibrilacijo, supraventrikularno tahikardijo in ekstrasistolami, mišični krči, hipokaliemija, reverzibilne presnovne motnje, ishemija miokarda, slabost, bruhanje, hipertenzija^[90, 91]. Kot doping se uporabljajo veliko višji odmerki, tako da se naštetim neželenim učinkom lahko dodajo še neželeni učinki AAS, ki so posledica anaboličnega delovanja.

1.7 Inzulin

Polipeptidni hormon, ki nastaja v β -celicah Langerhansovih otočkov v trebušni slinavki, igra pomembno vlogo pri nadzoru presnove. Njegovi poglobitni nalogi sta spodbujanje privzema glukoze iz systemskega krvnega obtoka v celice in zaviranje jetrne glukoneogeneze, s čimer prispeva k homeostazi krvnega sladkorja^[92]. Njegovi anabolični učinki se kažejo v povečanem prenosu glukoze in aminokislin v mišično tkivo, s čimer se posledično poveča sinteza in zmanjša razgradnja beljakovin^[93].

S tehnologijo rekombinantne DNA so v 80. letih začeli proizvajati analoge človeškega inzulina za potrebe zdravljenja sladkorne bolezni^[94]. Takrat se je začela tudi zloraba inzulina v športu zaradi njegovih domnevnih anaboličnih učinkov na skeletno mišičnino^[93].

Ponavadi se uporablja za povečanje mišične mase v kombinaciji z AAS. Lahko pa se uporabi tudi za nasičenje mišičnega tkiva z glikogenom, za boljše rezultate pri vzdržljivostnih športih^[95]. Leta 1996 sta bila v bodibilderskih revijah objavljena dva članka, ki sta predstavila uporabo inzulina za povečanje mišične rasti^[96]. Navkljub temu – potencialnih anaboličnih učinkov inzulina na skeletne mišice za zdaj še niso potrdili^[97].

Pri inzulinu je glavna težava preveliko odmerjanje, kar vodi v hipoglikemijo in v najslabšem primeru posledično v smrt^[98]. Hipoglikemija lahko povroči resne hude okvare živčevja (nevrokognitivna disfunkcija, odpoved možganske funkcije, demenca), bolezni srčno-žilnega sistema (ishemija miokarda, tanjšanje stene arterij, tahikardija, hipertenzija, atrijska fibrilacija), okvare regulatornih sistemov (zmanjšanje sekrecije inzulina in glukagona, zvečanje sekrecije kateholaminov in ACTH, zvečanje vnetnih mediatorjev) in okvare očesa^[99].

1.8 Zaviralci miostatina

Rast skeletnega mišičevja je pod natančnim nadzorom rastnih dejavnikov. Eden izmed njih je miostatin ali rastni in diferenciacijski dejavnik-8 (GDF-8), ki je negativni regulator mišične rasti. Modifikacija oziroma predvsem zaviranje delovanja miostatina zato poveča mišično maso in moč, kar bi se lahko učinkovito uporabljalo za zdravljenje degenerativnih mišičnih bolezni^[100].

Z mišično rastjo se posledično povečuje tudi mišična moč^[101], zato obstaja potencial za zlorabo v namene dopinga. Primer zaviranja miostatina je deček iz Nemčije, pri katerem zaradi mutacij ni bilo učinkov miostatina. Pri štirih letih je imel dvakrat večjo mišično maso in dvakrat manjši delež maščobe kot njegovi vrstniki, prav tako je izkazoval neverjetno mišično moč^[102].

Navkljub temu pospešitev mišične rasti z zaviralci miostatina zviša možnost nastanka poškodb zaradi večje obremenitve mišičnih vlaken^[103]. Poveča se tudi možnost poškodb kit in drugih vezivnih tkiv, saj miostatin pospešuje njihovo regeneracijo^[104]. Ugotovljeno

je bilo tudi, da se mišična moč in mišični volumen ne povečata sorazmerno, in sicer se mišični volumen poveča že ob majhnem povečanju mišične moči^[105].

Omeniti je treba, da je natančne podatke o neželenih in ergogenih učinkih s pomočjo študij težko določiti, saj so odmerki, ki jih uporabljajo športniki, ponavadi nekajkrat višji od testiranih. Prav tako se ponavadi zlorablja kombinacija snovi, medtem ko se v študijah preučuje le ena^[20].

2. NAMEN DELA

Namen je razvoj modela za iskanje novih učinkovin z uporabo semantičnih relacij ter vrednotenje učinkovitosti tega modela kot iskalnika novih učinkovin, ki so potencialno uporabne, da se zlorabijo za doping. Za iskanje po znanstvenih člankih bomo uporabili program SemBT, ki omogoča iskanje zelenih mehanizmov delovanja učinkovin s pomočjo semantičnih relacij. V središču iskanih spojin bodo anabolični androgeni steroidi in ostale spojine z neposrednim ali posrednim anaboličnim učinkom (MAD). S farmakološkim ovrednotenjem mehanizmov delovanja MAD bomo oblikovali iskalne nize v SemBT. Med rezultati bomo iskali MAD, ki še niso na LPSP, in s tem preverili prvo hipotezo:

1. Naš model je s pomočjo SemBT sposoben najti nove snovi, ki še niso uvrščene na LPSP in imajo potencial za uporabo kot doping.

Učinkovitost orodja pri identifikaciji spojin s pomočjo našega modela bomo preverjali z deležem identificiranih spojin, že uvrščenih na LPSP.

Med dobljenimi spojinami si jih bomo nekaj izbrali ter v literaturnih virih našli leto, ko je bil objavljen prvi članek, ki je omenjal, da ima snov anabolično delovanje, ter to primerjali z letom, ko je bila določena snov uvrščena na LPSP. Leto, ko je bil objavljen članek o anaboličnem delovanju snovi, bomo imenovali leto prve semantične relacije. S tem bomo ugotavljali, ali bi z našim pristopom snov hitreje identificirali in uvrstili na LPSP. Časovno obdobje med prvo semantično relacijo in uvrstitvijo snovi na listo prepovedanih snovi in postopkov bomo imenovali »okno priložnosti«. V tem časovnem obdobju lahko športnik legalno zlorablja snov za povečevanje telesne zmogljivosti, zato je zmanjšanje okna priložnosti ključno za učinkovito preprečevanje dopinga. Z drugo hipotezo bomo vrednotili, kako bi z orodjem SemBT zmanjšali okno priložnosti:

2. Z uporabo programskega orodja SemBT lahko novo odkrito snov hitreje uvrstimo na LPSP in tako zmanjšamo okno priložnosti.

3. METODE

3.1 Bibliometrična analiza znanstvenih člankov z orodjem

VOSviewer

S programsko opremo VOSviewer smo obdelali podatke iz naših iskalnih nizov na spletni bazi Web of Science. Spletna baza omogoča dostop do bibliografskih baz podatkov z indeksi citiranosti: Science Citation Index Expanded® (SCI-EXPANDED), Social Sciences Citation Index® (SSCI) in Arts & Humanities Citation Index® (A&HCI)^[106].

Program VOSviewer je orodje za sestavljanje in prikaz bibliometričnih omrežij. Omrežja sestavljamo na podlagi podatkov o člankih, avtorjih, citiranosti, socitiranosti, soavtorstvu, itd. Druga možnost je konstrukcija omrežja s pomočjo t. i. tekstovnega rudarjenja (angl. text mining), ki iz besedila izlušči pomembnejše **pojme (angl. term)**, s pomočjo preučevanja vzorcev in teženj (angl. trend)^[107].

Povzete pojme iz besedila program razporedi v različne skupine (angl. cluster) glede na medsebojno povezanost. Pri slikovnem prikazu omrežja imamo tri izbire: omrežni prikaz (angl. network visualization), prekrivajoči se prikaz (angl. overlay visualization) in porazdelitveni prikaz (angl. density visualization)^[108].

Pri omrežnem prikazu so pojmi prikazani v krogu, katerega velikost je odvisna od teže pojma. Teža je določena glede na število povezav pojma in njihove moči. Pri tem prikazu so pojmi iz istih skupin enake barve, razdalja med določenimi pojmi pa kaže na njihovo povezanost^[108].

Pri prekrivajočem se prikazu je razporeditev enaka kot pri omrežnem, drugačna je le barva krogov, saj tu prikazuje druge dejavnike. Mi smo kot dejavnik določili letnico izida članka^[108].

Pri porazdelitvenem prikazu vidimo obarvanost celotnega omrežja glede na težo pojmov^[108].

Za vsako zgrajeno omrežje smo uporabili vse tri poglede. Dejavniki, ki smo jih določili za izdelavo omrežja, pa so bili: teža pojmov v prvem primeru, socitiranost člankov glede na države, iz katerih prihajajo avtorji člankov, v drugem, in sopojavnost pojmov v tretjem.

Iskalni niz, ki smo ga uporabili, je bil takle: **Anabolic steroids OR anabolic androgenic steroids**, tako da smo iz literature zajeli obe najpogostejši poimenovanji za AAS.

Pri prvem omrežju smo za iskalni niz dobili 6145 člankov, iz katerih je VOSviewer izluščil 76.583 pojmov. Število pojmov smo zmanjšali z dvostopenjskim postopkom. Najprej smo določili, da nas zanimajo le pojmi, ki se pojavijo vsaj 60-krat. Tako smo dobili 395 pojmov, izmed katerih smo izbrali 60 % najbolj zastopanih, tako da nam je ostalo 237 pojmov, s katerimi je program sestavil bibliometrično omrežje.

Pri drugem omrežju za prikaz citiranosti je program iz zbirke člankov izluščil 104 države, izmed katerih jih je za prikaz uporabil 58, saj smo določili, da želimo najmanj pet povezav med državami.

Pri tretjem omrežju, zgrajenem glede na sopojavnosti pojmov, smo si izmed 14.392 najdenih pojmov izbrali 500 najbolj zastopanih.

3.2 Literaturna opredelitev farmakoloških mehanizmov MAD

V uvodu omenjene snovi, ki posredno ali neposredno delujejo anabolično, smo farmakološko ovrednotili. Snovi smo glede na mehanizem delovanja razdelili v 16 skupin: anabolični androgeni steroidi (AAS), selektivni modulatorji androgenskih receptorjev, selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev, zaviralci aromataze, rastni hormon, rastni hormon sproščujoči hormon, sekretagogi ravnega hormona, fibroblastni rastni faktor, hepatocitni rastni faktor, insulinu podoben rastni faktor-1, mehano rastni faktor, trombocitni rastni faktor, žilno-endotelijski rastni faktor, beta-2 agonisti, zaviralci miostatina, inzulin. Zaradi omejenega obsega pričujoče magistrske naloge bomo tukaj opredelili le AAS. Vsaki farmakološki skupini smo opredelili tarčni receptor, mehanizem in učinke delovanja. Ker so vsi iskalni nizi in članki na Pubmed v angleškem jeziku, smo tudi rezultate predstavili v tem jeziku (rezultati so zbrani v tabeli I).

Pharmaceutical group: Anabolic androgenic steroids
Molecular targets/receptors: Androgen receptor
Substances from prohibited list: <i>exogenous</i> (1-Androstenediol; 1-Androstenedione; 1-Testosterone; 4-Hydroxytestosterone; Bolandiol; Bolasterone; Calusterone; Clostebol; Danazol; Dehydrochlormethyltestosterone; Desoxymethyltestosterone; Drostanolone; Ethylestrenol; Fluoxymesterone; Formebolone; Furazabol; Gestrinone; Mestanolone; Mesterolone; Metandienone; Metenolone; Methandriol; Methasterone; Methylidienolone; Methyl-1-testosterone; Methylnor testosterone; Methyltestosterone; Metribolone; Mibolerone; Norboletone; Norclostebol; Norethandrolone; Oxabolone; Oxandrolone; Oxymesterone; Oxymetholone; Prostanazol; Quinbolone; Stanozolol; Stenbolone; Tetrahydrogestrinone; Trenbolone;), <i>endogenous</i> (19-Norandrostenediol; 19-Norandrostenedione; Androstenediol; Androstenedione; Boldenone; Boldione; Dihydrotestosterone; Nandrolone; Prasterone; Testosterone), <i>metabolites</i> (3 β -Hydroxy-5 α -androstan-17-one; 5 α -Androst-2-ene-17-one; 5 α -Androstane-3 α ,17 α -diol; 5 α -Androstane-3 α ,17 β -diol; 5 α -Androstane-3 β ,17 α -diol; 5 α -Androstane-3 β ,17 β -diol; 5 β -Androstane-3 α ,17 β -diol; 7 α -Hydroxy-DHEA; 7 β -Hydroxy-DHEA; 4-Androstenediol (androst-4-ene-3 β , 17 β -diol); 5-Androstenedione (androst-5-ene-3,17-dione); 7-Keto-DHEA; 19-Norandrosterone; 19-Noretiocholanolone; Androst-4-ene-3 α ,17 α -diol; Androst-4-ene-3 α ,17 β -diol; Androst-4-ene-3 β ,17 α -diol; Androst-5-ene-3 α ,17 α -diol; Androst-5-ene-3 α ,17 β -diol; Androst-5-ene-3 β ,17 α -diol; Androsterone; Epi-dihydrotestosterone; Epitestosterone; Etiocholanolone)
Mechanism of action: AAS \rightarrow AR \rightarrow gene expression \rightarrow anabolic/androgenic effects
Primary effects: anabolic effects, androgenic effects (virilization)
Other effects: regulation of erythrocyte production, platelet aggregation, lipid profile, blood glucose and behavior

Tabela I: Opredelitev lastnosti farmakološke skupine

Z vidika izboljšanja športnih rezultatov nas zanimajo anabolični učinki AAS. V literaturi smo poiskali sopomenke za anabolizem v angleškem jeziku in tako smo učinkovito sestavili iskalne nize za iskanje zelenih spojin. S tem smo povečali količino člankov, ki so ustrezali našim iskalnim nizom, saj avtorji člankov uporabljajo različne sinonime za anabolične učinke (rezultati so zbrani v tabeli II). Nato smo poiskali še ergogene učinke delovanja anaboličnih androgenih steroidov (rezultati so zbrani v tabeli III).

Target pharmacological effect
anabolic effect(s)
anabolism
anabolic actions
increased biosynthesis
increased muscle size
increased muscle growth
increased muscle mass
increased bone mass
increased bone density
increased protein synthesys

increased lean body mass
increased satellite cell proliferation

Tabela II: Anabolični učinki anaboličnih androgenih steroidov

Effects on sport performance
increased muscle strenght
increased muscle regeneration
increased endurance

Tabela III: Ergogeni učinki delovanja anaboličnih androgenih steroidov

3.3 Konstrukcija modela za iskanje novih MAD

Za iskanje molekul z anaboličnim delovanjem smo oblikovali semantični model:

$S \rightarrow M \rightarrow E \rightarrow P$, kjer S (*substance*) predstavlja snov, M (*mechanism*) farmakološki mehanizem snovi, E (*effect*) delovanje te snovi na telo in P (*performance*) posledični učinek na športne rezultate. Mi smo z definiranjem M, E in P uporabili model za iskanje novih S.

Zaradi različnih mehanizmov delovanja iskanih snovi smo po tem modelu naredili sedem iskalnih nizov. Praktični primer za prikaz delovanja tega modela iz skupine AAS je: S je testosteron, M je androgenski receptor, E je povečana mišična rast in P je povečana mišična moč. Podrobnejša razlaga farmakodinamičnega učinka je videti takole: testosteron (S) se veže na androgenski receptor, s čimer povroči spremembe v regulaciji genov (M). To posledično privede do učinkov testosterona, ki jih poznamo, katerih del je tudi hipertrofija mišičnih vlaken (E). S povečanjem mišične mase se poveča tudi mišična moč (P), kar se učinkovito uporablja za izboljšanje športnih rezultatov. S ciljem najti snovi, ki še niso uvrščene na LPSP, s pomočjo dobro uveljavljenih farmakoloških mehanizmov in literature, smo definirali M, E in P. Za iskanje smo uporabili spletno orodje Semantična Bitola ali krajše SemBT, ki ga najdemo na spletni strani Medicinske fakultete, Univerze v Ljubljani <http://sembt.mf.uni-lj.si/>. Pri uporabi omenjenega programskega orodja smo morali naš semantični model poenostaviti na $S \rightarrow M$ in $S \rightarrow E$. Manjkajoče dele modela smo nato dopolnili s pomočjo poznavanja farmakoloških in fizioloških mehanizmov.

3.4 Pristop LBD (angl. Literature-based discovery)

»Literature based discovery« je način odkrivanja novega znanja iz že obstoječe znanstvene literature. Z uporabo orodij za analizo obsežnih zbirk literature se postavljajo nove hipoteze in korelacije. Do novih ugotovitev je mogoče priti le z dobrim preučevanjem

povezav v literaturi, ne da bi bile te konkretno opisane v kateremkoli analiziranem članku^[109].

Znanost je s pomočjo LBD-pristopa prišla do številnih odkritij, od zdravljenja katarakt, multiple skleroze, Parkinsonove bolezni do ugotovitve zdravilnih lastnosti kurkumina in novih načinov terapije rakavih obolenj. Najobetavnejša področja so verjetno odkrivanje in razvoj novih zdravilnih učinkovin ter njihova uporaba za druge indikacije, kot je bilo prvotno namenjeno. Možnost je tudi napoved morebitnih neželenih učinkov zdravil^[109].

Zaradi velikega obsega literature se pri LBD ne uporabljajo celotni članki, temveč MEDLINE zbirka, ki vsebuje naslove člankov, njihove povzetke ter jih razvršča s pomočjo MeSH (angl. Medical subject heading) sistema^[110, 111].

Glavni metodi načina uporabe LBD sta »odprto odkrivanje« (angl. open discovery), ki smo ga uporabili mi, in »zaprto odkrivanje« (angl. closed discovery). Pri odprtem od modela $S \rightarrow M \rightarrow E$ definiramo le koncept E (učinek delovanja), ali pa koncepta E in M (mehanizem), ter tako iščemo vse ustrezne S. V prvem primeru, kjer definiramo E, iščemo vse snovi, ki povzročijo definiran farmakološki učinek, v drugem primeru, kjer definiramo E in M, pa iščemo vse snovi, ki povzročijo neki farmakološki učinek po določenem farmakološkem učinku. Pri zaprtem odkrivanju pa definiramo S in E, tako da iščemo mehanizme delovanja določene snovi, da povzroči želeni učinek^[109].

Prvi način je primeren za odkrivanje novih snovi z določenim učinkom, v našem primeru snovi, ki imajo možnost uporabe za namene dopinga. Drugi način pa je primeren za odkrivanje še novih mehanizmov delovanja določenih snovi.

3.5 Orodje SemBT

3.5.1 Opis

SemBT Biomedical Question Answering tool ali krajše SemBT-orodje omogoča zgoraj omenjena »closed discovery« in »open discovery« načina iskanja odgovorov po biomedicinski literaturi. Dostopno je na spletni strani <http://sembt.mf.uni-lj.si/>, trenutna zbirka, ki obsega naslove in povzetke strokovnih člankov, je bila nazadnje posodobljena 31. 3. 2014.

Za uporabo orodja moramo najprej vnesti poizvedbo (angl. query), ki je sestavljena iz osebka/subjekta (angl. subject), ki smo ga v našem primeru iskali, povezave/relacije (angl.

semantic relation) in/ali predmeta/objekta (angl. object). Naša poizvedba lahko vsebuje en člen ali več, odvisno od naših namer iskanja. Medtem ko si za objekt lahko izberemo poljuben predmet iz literature, imamo za subjekt in relacijo točno določen seznam možnosti. V našem primeru smo potrebovali vse tri. Povezave/relacije so vnaprej določene in smo si jih izbrali s seznama, predmet/objekt pa smo določili s pomočjo poznavanja farmakoloških mehanizmov. Pri subjektu pa smo le določili, iz katerih skupin (angl. semantic type) naj program išče rezultate. Skupine so prav tako vnaprej določene in si jih lahko izberemo s seznama.

3.5.2 Primer izdelave iskalnega niza

Začeli smo z izbiro subjekta, ki nas je zanimal, in sicer anabolični učinki/anabolično delovanje. Iskalni niz je bil videti takole **»obj_name:(anabolism)«**.

V drugem koraku smo si izbrali relacije. Zanimale so nas vse snovi, ki povzročajo anabolične učinke/anabolično delovanje, zato smo s seznama relacij izbrali ustrezne.

Iskalni niz je bil videti takole **»relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS OR CAUSES) AND obj_name:(anabolism)«**.

Da smo zožili rezultate, smo določili še ustrezne subjekte, ki ustrezajo naši tematiki.

Zanimali so nas vse farmacevtske snovi, hormoni in steroidne molekule. Iskalni niz je bil videti takole **»sub_semtype:(phsu OR strd OR horm) AND**

relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS OR CAUSES) AND obj_name:(anabolism)«.

Z zgornjim iskalnim nizom nam orodje najde vse farmacevtske snovi, steroidne molekule in hormone, ki spodbujajo/sprožajo/vplivajo na anabolično delovanje/anabolične procese/anabolizem.

Tarča prvega iskalnega niza so bili primarno anabolični androgeni steroidi kot najpomembnejša podskupina molekul z anaboličnim delovanjem, zato smo s pomočjo znanja o farmakoloških mehanizmih delovanja AAS dodelali naš iskalni niz na:

»(sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm) AND

relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS OR CAUSES) AND obj_name:("androgen receptor")) OR (sub_semtype:(phsu OR strd OR horm) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS OR CAUSES) AND obj_name:(anabolism))«.

Tako smo poleg zgoraj razloženega iskalnega niza iskali še vse aminokislino, peptide, beljakovine, farmacevtske snovi, hormone in steroidne molekule, ki spodbujajo/sprožajo/vplivajo na androgenski receptor.

Za konec smo iskalnemu nizu dodali še malenkost, s katero smo bolj presejali rezultate in se znebili vseh glukokortikoidov in mineralokortikoidov, ki smo jih dobivali kot lažno pozitivne rezultate. Končni iskalni niz je bil videti takole: **»((sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS OR CAUSES) AND obj_name:("androgen receptor")) OR (sub_semtype:(phsu OR strd OR horm) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS OR CAUSES) AND obj_name:(anabolism))) AND NOT sub_name:(glucocorticoid* OR mineralocorticoid*)«**. S končnim iskalnim nizom nam je orodje SemBT iz literature poiskalo vse aminokislino, peptide, beljakovine, farmacevtske snovi, hormone in steroidne molekule, ki spodbujajo/sprožajo/vplivajo na androgenski receptor, in vse farmacevtske snovi, steroidne molekule in hormone, ki spodbujajo/sprožajo/vplivajo na anabolično delovanje/anabolične procese/anabolizem, brez mineralokortikoidov in glukokortikoidov.

3.5.3 Rezultati iskanja

SemBT prikaže vse najdene semantične povezave iz svoje podatkovne baze. Prikazani so v razpredelnici (na sliki 5), kjer lahko za vsak posamezen rezultat vidimo, kaj je program vzela za subjekt, kaj za relacijo in kaj za objekt. Poleg tega je pri vsakem rezultatu napisana tudi pogostost pojavnosti določene relacije, rezultati v razpredelnici pa so razvrščeni od največje pogostosti do najmanjše.

Subject	Sem Relation	Object	Frequency
Androgens	INTERACTS_WITH	AR Androgen Receptor	119
Androgens	STIMULATES	AR Androgen Receptor	86
Stanolone	INTERACTS_WITH	AR Androgen Receptor	75
Testosterone	INTERACTS_WITH	AR Androgen Receptor	70
Stanolone	STIMULATES	AR Androgen Receptor	38
Androgen Antagonists	INTERACTS_WITH	AR Androgen Receptor	34
Testosterone	STIMULATES	AR Androgen Receptor	30
Steroids	INTERACTS_WITH	AR Androgen Receptor	26
Androgens	INTERACTS_WITH	Androgen Receptor	26
Stanolone	INTERACTS_WITH	Androgen Receptor	19

Slika 5: Primer prikaza rezultatov iskalnega niza

Vsak najdeni rezultat si lahko ogledamo tudi podrobneje, tako da vidimo del besedila članka, kjer je program našel iskano semantično relacijo (slika 6). Za vsako najdeno relacijo smo ovrednotili, ali je rezultat iskalnega niza pravilen, da smo ovrednotili delovanje iskalnega orodja.

At most 300 sentences shown!

Subject cui: C0002844 Name: Androgens Sem. type: horm Novel: true

Predicate: INTERACTS_WITH

Object cui: C0034786|367 Name: AR|Androgen Receptor Sem. type: gngm|aapp Novel: true

Androgens	INTERACTS_WITH	AR Androgen Receptor	Correct?	#Y/N
These data indicate that exposure to androgens can influence Sertoli cell cytosol androgen receptor concentrations in vitro and in vivo. (PMID: 6202501)			Y ▼	1/0
The anabolic action of androgens is likely to be mediated via androgen receptors in skeletal muscle cytosol. (PMID: 6976344)			Y ▼	1/0
It is concluded that FSH and androgens control androgen receptor levels in Sertoli cells. (PMID: 2831032)			Y ▼	1/0
Progestagens, estradiol and antiandrogens competed with androgens for binding to the androgen receptor in the cells to a higher extent than in other androgen-sensitive systems. (PMID: 2149505)			Y ▼	1/0
Only androgens affected fetal androgen receptor (AR) content. (PMID: 1873381)			Y ▼	1/0
The results suggest that androgens can bind to androgen receptors in AVP-ir neurons in the BST and medial amygdaloid nucleus, possibly to influence AVP expression. (PMID: 8194487)			Y ▼	1/0
The results also suggest that androgens can bind to androgen receptors in AVP-ir and OT-ir neurons in the mpvPVN. (PMID: 8194487)			Y ▼	1/0

Slika 6: Primer prikaza rezultatov za posamezno semantično relacijo

3.5.4 Uporabljeni iskalni nizi

Prvi iskalni niz

Prvi iskalni niz, s katerim smo primarno iskali AAS, je že opisan v zgornjem podpoglavju Primer konstrukcije iskalnega niza in je takle: »((sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS OR CAUSES) AND obj_name:('androgen receptor')) OR (sub_semtype:(phsu OR strd OR horm) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS OR CAUSES) AND

obj_name:(anabolism))) AND NOT sub_name:(glucocorticoid* OR mineralocorticoid*)«.

Drugi iskalni niz

Z drugim iskalnim nizom smo iskali predvsem rastne faktorje. Iskali smo vse farmacevtske snovi, hormone, aminokislino, peptide in proteine, ki spodbujajo/sprožajo/vplivajo na mišično rast in rast mišičnega tkiva. Iskalni niz je naslednji: »(sub_semtype:(phsu OR horm OR aapp) AND relation:(CAUSES OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS) AND obj_name: muscle growth) OR (sub_semtype:(phsu OR horm OR aapp) AND relation:(CAUSES OR STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS) AND obj_name: muscle tissue growth)«.

Tretji iskalni niz

Pri tretjem iskalnem nizu smo v osnovi iskali snovi s protiestrogenim delovanjem, ki jih lahko razdelimo na zaviralce aromataze in antagoniste estrogenskih receptorjev. Iskali smo vse aminokislino, peptide, beljakovine, farmacevtske snovi, steroidne molekule, hormone in organske snovi, ki zavirajo/motijo/upočasnjujejo delovanje estrogenega receptorja in encima aromataze. Iskalni niz je bil videti takole: »(sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(DISRUPTS OR INHIBITS OR NEG_STIMULATES OR NEG_INTERACTS_WITH) AND obj_name:("estrogen receptor")) OR (sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(DISRUPTS OR INHIBITS OR NEG_AFFECTS) AND obj_name:("aromatase")) OR (sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(DISRUPTS) AND obj_name:(estrogen biosynthesis))«.

Četrty iskalni niz

Za tarčo četrtega iskalnega niza smo si izbrali agoniste adrenergičnih beta-2 receptorjev. Iskali smo vse organske in farmacevtske snovi, ki spodbujajo/sprožajo/vplivajo na beta-2 adrenergične receptorje. Iskalni niz je naslednji: »sub_semtype:(orch OR phsu) AND relation:(STIMULATES OR AFFECTS OR AUGMENTS) AND obj_name:("beta-2 adrenergic receptor")«.

Peti iskalni niz

Cilj petega iskalnega niza je bilo najti snovi z vplivom na receptor za gonadoliberin. Iskali smo vse aminokislino, peptide, beljakovine, farmacevtske in organske snovi, steroidne

molekule ter hormone, ki spodbujajo/sprožajo/vplivajo na receptor za gonadoliberin. Iskalni niz je bil: **sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES) AND obj_name:("Gonadotropin-Releasing Hormone Receptor")**«.

Šesti iskalni niz

S šestim iskalnim nizom smo iskali analoge ravnega hormona in njegovih sproščujočih dejavnikov. Iskali smo vse aminokisljine, peptide, beljakovine, farmacevtske in organske snovi, steroidne molekule ter hormone, ki spodbujajo/sprožajo/vplivajo na receptor za ravnj hormon, receptor za grelin, receptor za sekretogoge ravnega hormona. Iskalni niz je bil takle: »**(sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES) AND obj_name:("growth hormone secretagogue receptor")) OR (sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES) AND obj_name:("ghrelin receptor")) OR (sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES) AND obj_name:("ghsr")) OR (sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES) AND obj_name:("growth hormone receptor")) OR (sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(INTERACTS_WITH OR STIMULATES) AND obj_name:("ghr"))**«.

Sedmi iskalni niz

Zadnji iskalni niz je bil namenjen zaviralcem miostatina, ki so najnovejša skupina učinkovin iz vseh naštetih. Iskali smo vse aminokisljine, peptide, beljakovine, farmacevtske in organske snovi, steroidne molekule ter hormone, ki zavirajo/motijo/upočasnjujejo miostatin. Iskalni niz je bil naslednji: »**sub_semtype:(aapp OR phsu OR strd OR horm OR orch) AND relation:(INHIBITS OR NEG_INTERACTS_WITH) AND obj_name:("myostatin")**«.

Skupni rezultati

Za konec smo še združili rezultate vseh iskalnih nizov, da smo lahko primerjali, koliko MAD iz LPSP smo našli, in s tem ovrednotili uspešnost naše metode za iskanje MAD.

3.6 Orodje za grafični prikaz Neo4j

Za boljšo predstavo iskalnih nizov smo naredili naredili grafični prikaz rezultatov iskalnih nizov z orodjem Neo4j. Pri njem smo uporabili enake iskalne nize kot pri SemBT.

3.7 Prikaz prepovedanih snovi na časovnem traku

S prikazom dogodkov na časovnem traku smo želeli prikazati uporabnost orodja SemBT v boju proti dopingu. Ker nismo imeli dostopa do najnovejše literature, smo ugotavljali, kako bi se LBD izkazala v preteklosti. Na časovni trak smo vnesli točke, ki označujejo leto odkritja snovi (s potencialom za zlorabo v športu), leto prve omembe iskanega farmakološkega mehanizma v znanstveni literaturi iz spletne baze PubMed, leto prve semantične relacije v programu SemBt, ki ugotavlja potencial snovi za zlorabo, leto uvrstitve te snovi na LPSP in leto prvega pozitivnega športnikovega vzorca na iskano snov.

Zanimalo nas je predvsem obdobje med odkritjem snovi in njeno uvstitvijo na LPSP. Obdobje med tema točkama smo poimenovali *obdobje priložnosti*, kajti v tem času so lahko športniki zlorabljali določeno snov brez posledic.

Obdobje od prve semantične relacije in uvrstitvijo snovi na LPSP nakazuje, koliko časa manj bi lahko športniki nekaznovano zlorabljali določeno prepovedano snov, če bi v preteklosti uporabili LBD.

Letnici prve omembe iskanega farmakološkega mehanizma snovi v spletni bazi Pubmed in prve semantične relacije v programu Pubmed smo primerjali kot dodatno ovrednotenje zmoglosti programske opreme, da najde želene rezultate. Pri tem smo za iskane snovi ročno pregledali članke na spletni bazi Pubmed in skušali najti najstarejši članek, v katerem je omenjeno, da ima iskana snov anabolične učinke. Letnico tega članka smo nato primerjali z letnico najstarejšega članka, ki ga je odkril SemBT.

Prepovedane snovi, ki smo jih izbrali, so testosteron, metandienon, nesteroidni selektivni modulatorji androgenskih receptorjev, rastni hormon, letrozol, grelin in inzulin.

Pri inzulinu in rastnem hormonu smo kot letnico odkritja vzeli leto prve biosinteze, saj se je možnost širše uporabe pojavila šele, ko sta bila pridobljena s pomočjo biotehnologije. Pri testosteronu pa smo vzeli leto prve sinteze, saj je to sprožilo začetek razvoja AAS.

3.8 Statistično ovrednotenje uspešnosti iskanja

Orodje SemBT je v fazi preiskovanja, tako da je bil pomemben del naše naloge tudi kritično ovrednotiti delovanje SemBT. To smo storili na dva načina, in sicer smo pri prvem ugotavljali, kakšen delež spojin iz LPSP, ki delujejo anabolično, je program našel s pomočjo naših iskalnih nizov. S tem smo ugotavljali, kako se orodje obnese pri odkrivanju novih snovi s potencialom za zlorabo v doping. Pri drugi metodi pa smo za vsako najdeno trditev ovrednotili, ali jo je program izbral pravilno. Rezultate smo nato izvozili iz orodja in jih statistično obdelali.

4. REZULTATI

4.1 Rezultati bibliometrične analize znanstvenih člankov z orodjem VOS viewer

4.1.1 Omrežje, zgrajeno glede na teže člankov

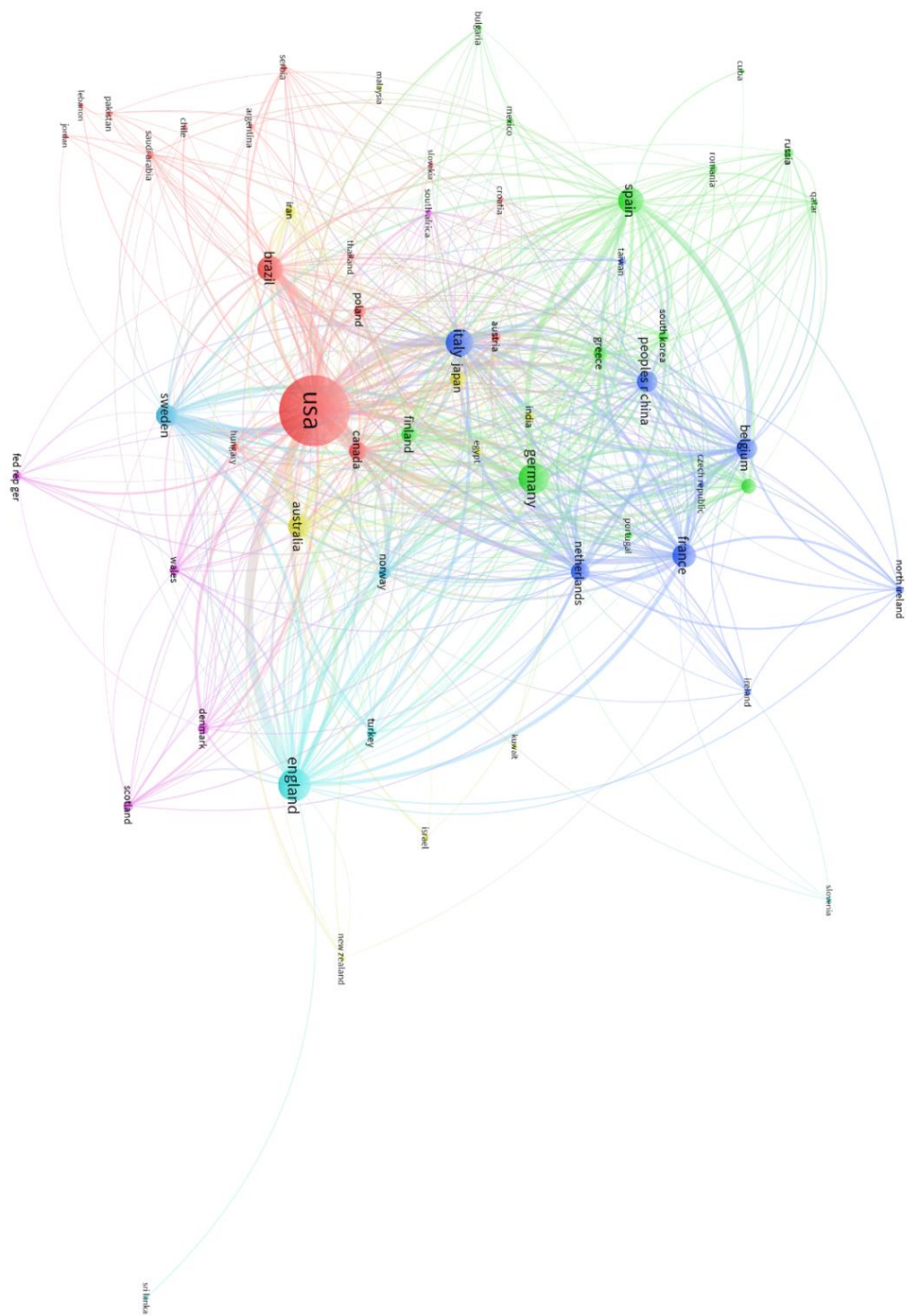
Na prikazu (slika 7) vidimo porazdelitev pojmov v tri skupine. Vidimo, da pri zeleno obarvanih krogih prevladujejo analizne metode in boj proti doping ter pojmi, povezani z njima. Pri modrih vidimo pojme, povezane s farmakološkimi mehanizmi vpliva anaboličnih snovi, pri rdečih pa vidimo pojme, povezane s posledicami uporabe AAS. Kot vidimo, so vse tri skupine povezane, najbližje sta si modra in rdeča skupina, zelena skupina pa je malce oddaljena. Tu lahko vidimo dva glavna namena študij o anaboličnih androgenih steroidih. Prvi obsega uporabo AAS in njihove učinke, drugi pa analizne metode za njihovo odkrivanje.

To ugotovitev podpira tudi prekrivajoči se prikaz (slika 8), pri katerem vidimo prevladujoče letnice uporabe iskanih pojmov v znanstveni literaturi. Tu lahko s slike razberemo, da so se pojmi, povezani z analizo, pojavljali v literaturi veliko kasneje kot pojmi, povezani z učinki AAS. To lahko pripišemo dejstvu, da so bile najprej aktualne raziskave o delovanju in učinkih AAS za namene zdravljenja, kasneje pa je bilo več znanstvenih objav o analiznih postopkih za ugotavljanje prisotnosti AAS v vzorcih, namenjenih boju proti doping.

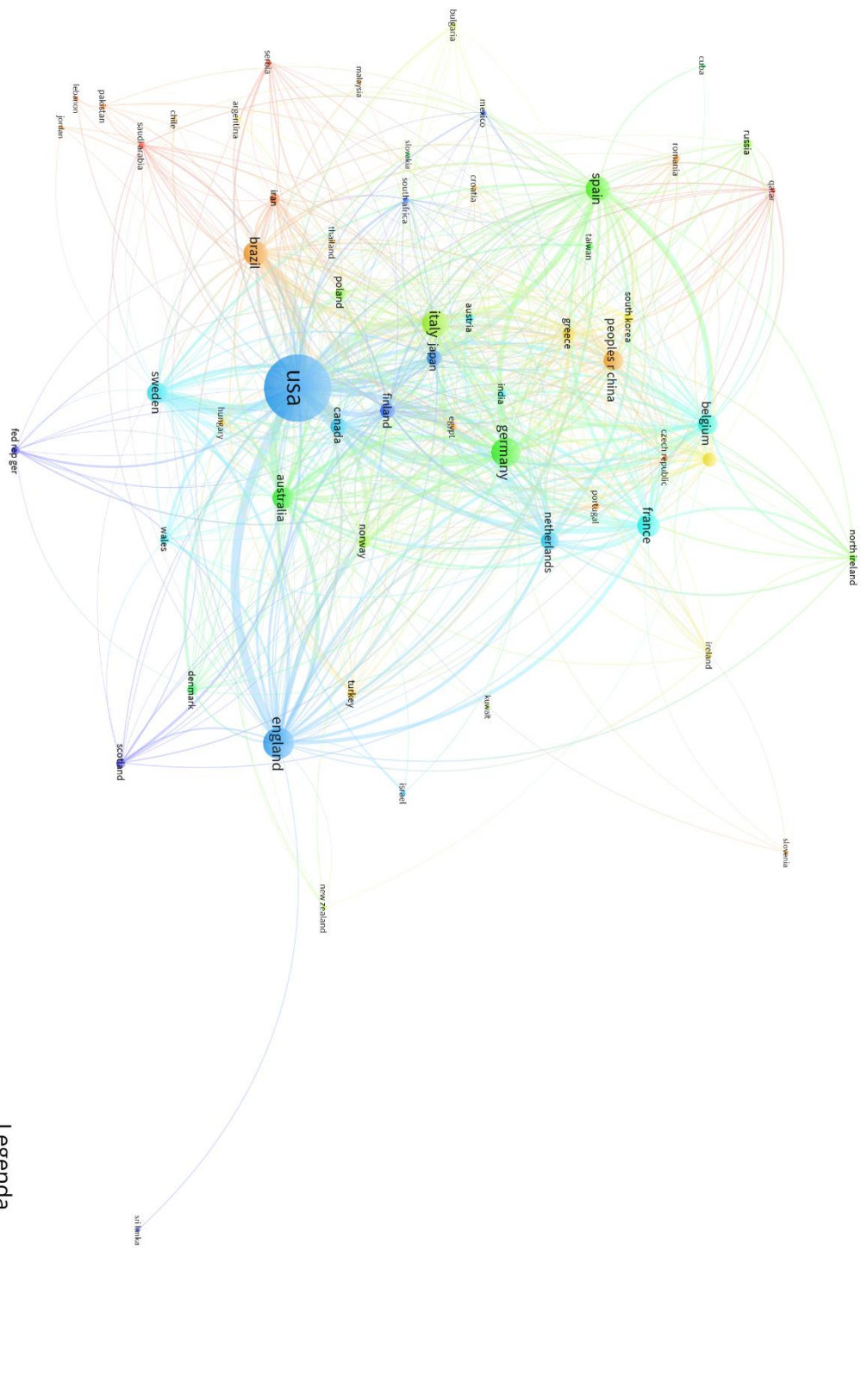
Tudi porazdelitveni prikaz (slika 9) potrjuje našo domnevo, in sicer z razdelitvijo pojmov na dva otoka, kjer je pogostost pojavljanja najvišja.

4.1.2 Omrežje, zgrajeno glede na citiranost člankov glede na državo

Na prikazu vidimo (slika 10), da po citiranosti prevladujejo raziskave, opravljene v Združenih državah Amerike, tem v približno enakih velikostih sledijo Velika Britanija, Italija, Nemčija, Brazilija, Francija, Kitajska, Belgija in Brazilija. Države, ki so najbolj povezane glede vzajemne citiranosti, so tudi razvrščene v iste skupine. Zanimivo je, da so nekatere države, kjer je doping razširjen, prikazane v zelo majnem obsegu (npr. Rusija). Glede časovne razporeditve (slika 11) vidimo, da so bile novejša raziskave narejene v državah z manjšo citiranostjo. Porazdelitveni prikaz (slika 12) ponovno prikaže, da so Združene države Amerike vodilne.



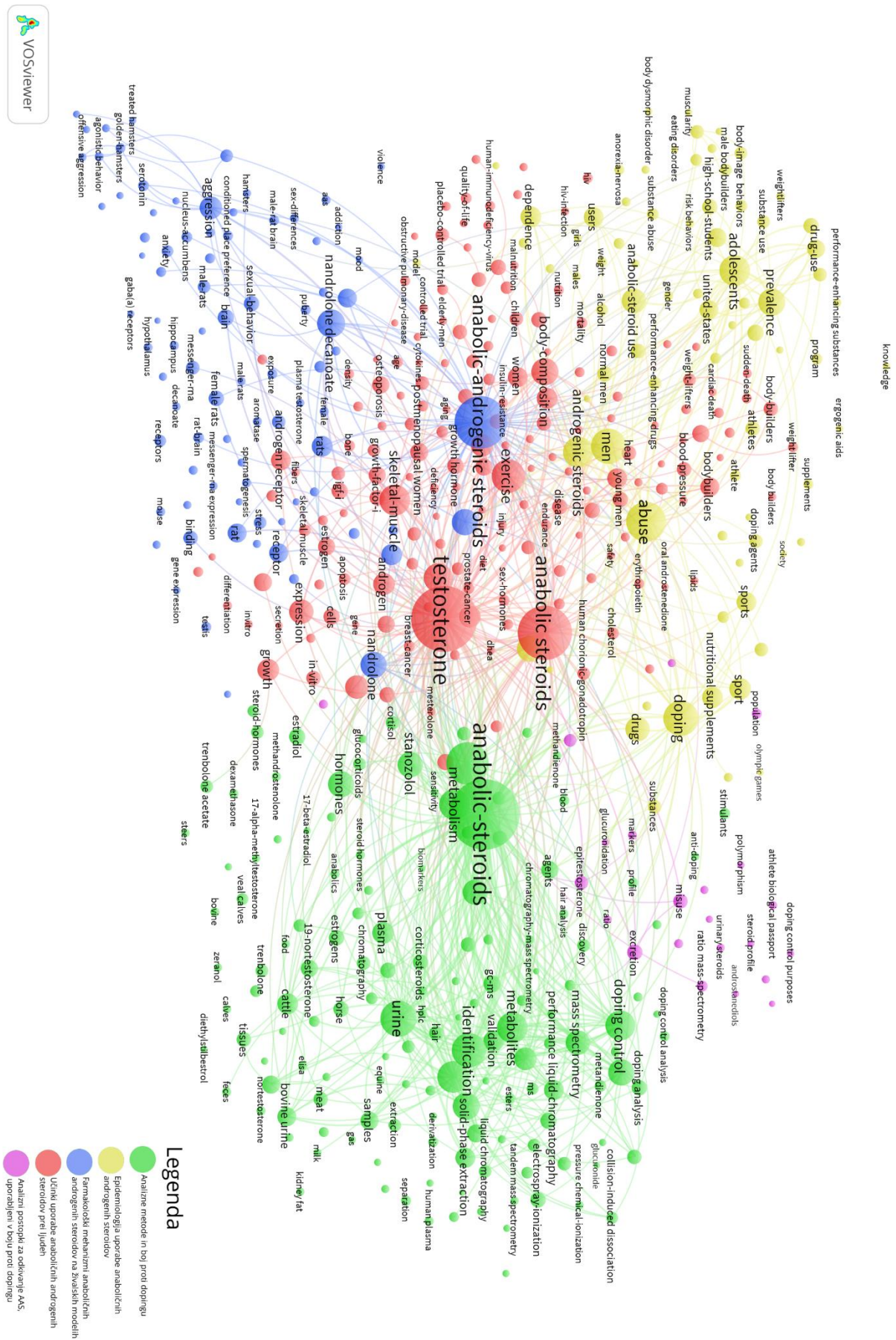
Slika 10: Omrežni prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na citiranost člankov po državah



Slika 11: Prekrivajoči se prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na citiranost člankov po državah

4.1.3 Omrežje, zgrajeno glede na sopojavnost pojmov

Na prikazu (slika 13) vidimo pet skupin, kjer je: i. zelena skupina, povezana z analiznimi postopki AAS in bojem proti dopingu; ii. modra skupina, povezana s farmakološkimi mehanizmi AAS na živalskih modelih; iii. rdeča skupina, povezana z učinki uporabe AAS pri ljudeh; iv. rumena skupina, povezana z epidemiologijo uporabe AAS in v. vijolična skupina, povezana z analiznimi postopki za odkrivanje AAS, uporabljenimi pri boju proti dopingu. Izmed vseh pojmov so najbolj zastopani različna poimenovanja AAS in testosteron. V časovni razporeditvi (slika 14) vidimo časovno razdelitev analiznih postopkov za odkrivanje AAS in učinkov uporabe AAS v dve skupini. Podobne rezultate smo imeli tudi v prvem omrežju (slika 7), vendar je v tem omrežju analiznim postopkom pridružena epidemiologija uporabe AAS. Porazdelitveni prikaz (slika 15) prikazuje razdelitev pojmov v dve skupini, in sicer v skupino učinkov AAS in skupino analiznih metod za odkrivanje AAS.



Slika 13: Omrežni prikaz bibliometrične analize, zgrajene glede na sopoajavnost pojmov

4.2 Rezultati iskanja z orodjem SemBT

4.2.1 Snovi z liste LPSP

Rezultati so navedeni v tabeli VI. V njej so navedene vse MAD, ki so bile uvrščene na LPSP v letu 2017. Rezultati so za vseh osem zgoraj omenjenih iskalnih nizov. Številke na vrhu ustrezajo števikam iskalnih nizov. Snovi so razdeljene po terapevtskih skupinah, tako kot so navedene na LPSP. Na koncu vsake terapevtske skupine je seštevek vseh molekul, ki jih je program SemBT našel z določenim iskalnim nizom. Na dnu razpredelnice (tabela VI) so navedeni še deleži najdenih snovi za vsak iskalni niz glede na terapevtsko skupino, ki ji je bil iskalni niz namenjen, in glede na celotno število prepovedanih snovi. Pri deležih skupin skupin vidimo, da so najslabši v skupini AAS (37,5 %), v preostalih skupinah pa so veliko višji (od 64,3 % do 100 %). Nizek delež pri AAS, ki je tudi največja terapevtska skupina na LPSP, kar lahko izberemo iz izračunov celotnih deležev, vpliva na nižji delež celotnih najdenih skupin (58 %). Pri AAS je najnižji delež najdenih spojin v skupini metabolitov, najvišji pa pri endogenih AAS.

S kratkim pregledom člankov na PubMed, v katerih so omenjeni AAS, ki jih SemBT ni našel, smo ugotovili, da so to članki, katerih tematika je povezana z analiznimi metodami za odkrivanje AAS, ki v naslovu in povzetku ne opisujejo fiziologije in delovanja AAS, temveč le analizno metodo. Podatki o fiziologiji in delovanju anaboličnih steroidov, iz katerih naše programsko orodje izbere, da so ti iskane molekule, so v preostalem delu članka, do katerega pa žal nimamo dostopa. Pri starejših člankih pa je težava, da članki nimajo napisanih povzetcov na spletni strani, saj so članki naloženi v obliki slik – »skenov« – ali pa manjkajo. Z dostopom do besedil celotnih in novejših člankov bi se naši rezultati bistveno izboljšali.

Exogenous AAS	1	2	3	4	5	6	7	8
1-Androstenediol								
1-Androstenedione	x							x
1-Testosterone								
4-Hydroksyttestosterone	x							x
Bolandiol	x							x
Bolasterone								
Calusterone								
Clostebol	x							x
Danazol	x		x (AI)		x			x
Dehydrochloromethyltestosterone	x							x
Desoxymethyltestosterone								
Drostanlone								
Ethylestrenol								
Fluoxymesterone								
Formebolone								
Furazabol	x							x
Gestrinone								
Mestanolone								
Mesterolone	x							x
Metandienone	x							x
Metenolone								
Methandriol								
Methasterone								
Methyldienolone								
Methyl-1-testosterone								
Methylnortestosterone								
Methyltestosterone	x		x (AI)					x
Metribolone/methyltrienolone/R-1881	x							x
Mibolone/17 α -methyl-19-nortestosterone	x							x
Norboletone								
Norclostebol								
Norethandrolone								
Oxabolone								
Oxandrolone	x							x
Oxymesterone								
Oxymetholone	x							x
Prostanozol								
Quinbolone								
Stanozolol	x							x
Stenbolone								
Tetrahydrogestrinone/The Clear	x							x
Trenbolone	x		x (AE)					x
	17	0	0	0	1	0	0	17
Endogenous								
19-Norandrostenediol								
19-Norandrostenedione	x							x
Androstenediol/Androst-5-ene-3 β ,17 β -diol	x							x
Androstenedione	x		x					x
Boldenone	x							x
Boldione								
Dihydrotestosterone/Stanolone	x		x (AI)		x			x
Nandrolone/19-nortestosterone	x		x (AI)					x
Prasterone/dehydroepiandrosterone	x	x	x					x
Testosterone	x		x			x		x
	8	1	5	0	1	1	0	8
Metabolites and isomers								

3β-Hydroxy-5α-androstan-17-one	x							x
5α-Androst-2-ene-17-one								
5α-Androstane-3α,17α-diol								
5α-Androstane-3α,17β-diol	x							x
5α-Androstane-3β,17α-diol								
5α-Androstane-3β,17β-diol	x							x
5β-Androstane-3α,17β-diol								
7α-Hydroxy-DHEA								
7β-Hydroxy-DHEA								
4-Androstenediol								
5-Androstenedione								
7-Keto-DHEA								
19-Norandrosterone								
19-Noretiocholanolone								
Androst-4-ene-3α,17α-diol								
Androst-4-ene-3α,17β-diol								
Androst-4-ene-3β,17α-diol								
Androst-5-ene-3α,17α-diol								
Androst-5-ene-3α,17β-diol								
Androst-5-ene-3β,17α-diol								
Androsterone	x							x
Epi-dihydrotestosterone								
Epitestosterone	x							x
Etiocholanolone								
	5	0	0	0	0	0	0	5
Other anabolic agents								
Clenbuterol	x			x				x
SARMs	x							x
Tibolone			x (AI)					x
Zeranol			x (AI)					x
Zilpaterol								
	2	0	2	1	0	0	0	4
Chorionic Gonadotropin					x			x
Luteinizing Hormone	x				x			x
Gonadorelin	x				x	x		x
Buserelin	x		x (AI)		x			x
Leuprorelin/leuprolide					x			x
	3	0	1	0	5	1	0	5
Growth Hormone and its releasing factors	x	x			x	x	x	x
Growth Hormone releasing hormone						x		x
CJC-1295								
Sermorelin						x		x
Tesamorelin								
Growth Hormone Secretagogues						x		x
Ghrelin	x					x		x
Anamorelin/ONO-7643						x		x
Ipamorelin						x		x
GH-releasing peptides						x		x
Alexamorelin								
GHRP-6						x		x
Heksarelin						x		x
Pralmorelin(GHRP-2)						x		x
	2	1	0	0	1	11	1	11
Growth Factors								
Fibroblast Growth Factors (FGFs)	x	x				x	x	x
Hepatocyte Growth Factor (HGF)								
Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)	x	x	x (AI)		x	x	x	x

Mechano Growth Factors (MGFs)								
Platelet Derived Growth Factor (PDGF)	x	x						x
Vascular-Endothelial Growth Factor (VEGF)	x	x						x
	4	4	1	0	1	2	2	4
Beta-2 Agonists				x				x
Fenterol				x				x
Formoterol				x				x
Higenamine				x				x
Indacaterol								
Oldaterol								
Procaterol				x				x
Reproterol								
Salbutamol				x				x
Salmeterol				x				x
Terbutaline				x				x
Vilanterol								
	0	0	0	8	0	0	0	8
Aromatase inhibitors	x		x					x
4-Androstene-3,6,17 trione (6-oxo)			x					x
Aminoglutethimide			x					x
Anastrozole	x		x					x
Androsta-1,4,6-triene-3,17-dione/androstatrienone			x					x
Androsta-3,5-diene-7,17-dione/arimistane								
Exemestane	x		x					x
Formestane/4-hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione	x		x					x
Letrozole/CGS 20267			x					x
Testolactone	x		x					x
	5	0	9	0	0	0	0	9
SERMs	x		x					x
Raloxifene	x		x					x
Tamoxifen	x		x		x			x
Toremifene								
	3	0	3	0	1	0	0	3
Anti-estrogenic substances	x		x					x
Clomiphene			x		x			x
Cyclofenil								
Fulvestrant	x		x					x
	2	0	3	0	1	0	0	3
Myostatin funtion modifying agents	x	x					x	x
Myostatin inhibitors							x	x
	1	1	0	0	0	0	2	2
Insulins	x	x	x (AI)			x	x	x
	1	1	1	0	0	1	1	1
Seštevek	53	8	25	9	11	16	6	80
Delež v skupini	0,375	0,667	0,833	0,643	1	0,786	1	
Delež v celoti	0,38	0,06	0,18	0,06	0,08	0,12	0,04	0,58

Tabela IV: Rezultati iskanja spojin, uvrščenih na LPSP

4.2.2 Najdene snovi s potencialom za zlorabo, ki niso na LPSP

Za najdene snovi, ki niso na Listi prepovedanih snovi in postopkov, smo ovrednotili, ali delujejo po iskanem mehanizmu in ali bi lahko teoretično imele anabolično delovanje in možnost zlorabe za namene dopinga. Snovi, ki niso delovale po iskanem mehanizmu, smo izločili, preostale pa smo zbrali v razpredelnici (tabela V), ki je v prilogi 2. Snovi smo razporedili po skupinah, približno po zgledu razporeda na LPSP.

V skupini **AAS** smo dobili predvsem presnovke, označevalce in nekaj dizajnerskih steroidov. Najbolj omembe vreden v tej skupini je 7α -metil-19-nortestosteron (MENT), ki je bil razvit za moško kontracepcijo in nadomestno hormonsko terapijo, vendar ni nikoli prišel v klinično rabo. Namesto tega je zaradi svojih edinstvenih lastnosti postal priljubljen med bodibilderji^[112]. Pri tej skupini lahko z gotovostjo trdimo, da vse najdene snovi delujejo anabolično in da bi se lahko uporabile v namene dopinga, saj delujejo po enakem principu kot ostali v uvodu opisani AAS.

Naslednja skupina so **selektivni modulatorji androgenskih receptorjev**, kjer smo našli šest predstavnikov te terapevske skupine. Na LPSP niso navedeni vsak posebej, verjetno zato, ker še niso uveljavljeni. Tudi pri tej skupini lahko z gotovostjo trdimo, da vse najdene snovi delujejo anabolično in da bi se lahko uporabile za doping, saj so analogne z v uvodu opisanim SARM-om.

Pri skupini **rastnih faktorjev** imamo kot rezultat tri endogene molekule, ki sodelujejo pri rasti tkiv. Zaradi narave delovanja rastnih faktorjev lahko z gotovostjo trdimo, da delujejo anabolično, vendar ne vemo, ali so posledica njihovega delovanja boljši športni rezultati.

Sledi najobsežnejša skupina, in sicer **snovi, ki zavirajo encim aromataza**. Številnost rezultatov v tej skupini je verjetno posledica velikega števila raziskav, v katerih iščejo morebitne zdravilne učinkovine za zdravljenje raka dojke. Zaradi lažje preglednosti smo molekule razdelili v več podskupin. Prvo smo poimenovali *sintezni zaviralci aromataze*, vanjo pa smo uvrstili vse molekule, ki so bile sintetizirane za zaviranje aromataze, vendar niso prestale kliničnih testiranj ali pa niso izrecno navedene na LPSP. Sledijo podskupine *flavonoidov*, *lignanov* in *alkaloidov*, kamor so razvrščene najdene molekule iz pripadajočih skupin. Imamo še podskupini *azolnih antimikotikov* in *zdravil za druge indikacije*. Pri obeh podskupinah gre za zdravila, pri katerih zaviranje aromataze ni glavni, temveč stranski učinek zdravila. *Azolne antimikotike* bi lahko uvrstili v *zdravila za druge indikacije*, vendar

imajo zaradi številčnosti ločeno podskupino. Zadnji dve podskupini sta *kontaminanti/motilci hormonov*, kjer gre za snovi iz vsakdanjega življenja, ki so jim izpostavljeni tako ljudje kot živali in so razlog za nekatere hormonske motnje. Zadnja je podskupina *ostalo*, kjer so navedeni nerazvrščeni zadetki, med katerimi je vredno omeniti MAb3-2C2, monoklonsko protitelo za zaviranje aromataze. Med vsemi podskupinami lahko z gotovostjo trdimo, da imajo snovi iz podskupine *sintezni zaviralci aromataze* enako delovanje kot v uvodu omenjeni zaviralci aromataze in da ima posledično anabolično delovanje ter zmožnost zlorabe. Za ostale podskupine bi bilo treba podrobneje raziskati mehanizme delovanja vsake snovi, saj nekatere na primer zavirajo aromatazo le v *in vitro* pogojih ali pa ostali njihovi učinki ne delujejo ugodno na izboljšanje telesne zmogljivosti.

Sledi skupina **antiestrogenov**, ki smo jo tudi razdelili v podskupine. Prvi dve podskupini sta *selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev* in *sintezni antiestrogeni* , v katerih so snovi, ki so bile sintetizirane za antiestrogeno delovanje, vendar niso prestale kliničnih testiranj ali pa niso izrecno navedene na LPSP. Snovi smo razvrstili v dve skupini zaradi različnih mehanizmov delovanja. Sledijo *antiestrogeni rastlinskega izvora* in *zdravila za druge indikacije* , kjer so snovi, katerih stranski in ne glavni učinek je antiestrogeno delovanje, ter še podskupina *ostalo*. Podobno kot pri zaviralcih aromataze lahko z gotovostjo trdimo le za podskupini *selektivnih modulatorjev estrogenskih receptorjev* in *sinteznih antiestrogenov* , da bi delovali po mehanizmu, opisanem v uvodu, in tako posledično imeli anabolično delovanje in potencial za zlorabo.

Naslednja skupina so **progestini**, pri katerih naj bi bilo anabolično delovanje posledica pretvorbe v androstandienol in dehidroepiandrosteron. Trenutno niso na LPSP in tudi uporaba hormonske kontracepcije, ki vsebuje progestine, je v športu dovoljena.

Sledi skupina **agonistov adrenergičnih receptorjev beta**, ki jo po večini sestavljajo snovi, ki se uporabljajo za zdravljenje astme in kronične obstruktivne pljučne bolezni, ali so se s tem namenom uporabljale v preteklosti, ali pa niso prestale kliničnih testiranj. Glede na to, da imajo enak mehanizem delovanja kot snovi z LPSP, lahko sklepamo, da večina najdenih snovi deluje anabolično in je primerna za doping.

Pri skupini **analogov gonadotropine sproščujočega hormona** imamo sedem rezultatov, ki so, kot že ime nakazuje, analogi gonadotropine sproščujočega hormona, tako da delujejo

po enakem mehanizmu kot preostali predstavniki skupine, navedeni na LPSP. Zato jim lahko pripišemo anabolično delovanje in zmožnost zlorabe v namene dopinga.

V skupini **rastni hormon in njegovi sproščujoči dejavniki** so spojine glede na mehanizem delovanja bolj heterogene kot v prejšnji skupini, vendar je večina analognih spojin na LPSP, tako da lahko sklepamo o njihovem anaboličnem delovanju in posledičnem izboljšanju športne zmogljivosti. Tiste, ki ne delujejo po takšnem mehanizmu, bi bilo pa treba še raziskati.

Sledi skupina najbolj naprednih in najmanj raziskanih molekul z anaboličnim delovanjem, **zaviralci miostatina**. Dobljene snovi naj bi zavirale miostatin in s tem pripomogle k anaboličnemu delovanju, vendar ne moremo zagotovo trditi, da bi se to preneslo tudi v boljše športne rezultate.

Zadnjo skupino, **ščitnične hormone**, smo dodali z razlogom, ker smo jih dobili skoraj pri vseh iskalnih nizih, tako samo besedno zvezo ščitnični hormoni kot tudi obe molekuli posamično, trijodotironin (T3) in tiroksin (T4). Navkljub možnemu izboljšanju zmogljivosti in zlorabi teh snovi, na kar opozarjajo različni strokovnjaki v svetu boja proti doping, WADA ne želi uvrstiti ščitničnih hormonov na LPSP^[113, 114].

Identificirali smo nove snovi, ki se lahko potencialno uporabijo kot doping in niso navedene na LPSP. Vendar z uporabo večine izmed njih ne bi obšli dopinških testov. Najdene molekule so večinoma analogi snovi z Liste prepovedanih snovi in postopkov, kjer piše, da so poleg naštetih snovi prepovedane tudi vse snovi s podobno molekulsko strukturo ali mehanizmom delovanja^[3].

Omenjeno (ni na Listi prepovedanih snovi in postopkov)	1	2	3	4	5	6	7
Anabolični androgeni steroidi							
6 α -fluoro-19-nortestosterone (dizajnerski steroid)	x						
6 α -fluoro-testosterone (dizajnerski steroid)	x						
5 α -dihydro-19-nortestosterone/5 α -dihydroandrolone (presnovek)	x						
7 α -chloro-5 α -dihydrotestosterone	x						
7 α -iodo-5 α -dihydrotestosterone	x						
16 α -fluoro-dihydrotestosterone	x						
16 α -bromo-dihydrotestosterone	x						
16 β -bromo-dihydrotestosterone	x						
16 α -[125I]iodo-5 α -dihydrotestosterone (označevalec)	x						
Dehydroepiandrosterone sulfate (endogen)	x						
[18F]fluoro- α -dihydrotestosterone (označevalec)	x						
(17 α ,20E)-17 β -hydroxy-21-iodo-5 α -pregn-20-en-3-one(17 α -[E]-iodovinyl)-5 α -DHT (označevalec)	x						
17 β -hydroxy-7 α -methyl-(17 α ,20E)-21-iodo-19-norpregna-4,20-dien-3-one (7 α -methyl-17 α -[E]-iodovinyl)-19-nortestosterone (označevalec)	x						
11 β -fluoronordihydrotestosterone (označevalec)	x						
7 α -cyano-(17 α ,20E/Z)-[125I]iodovinyl-19-nortestosterone (označevalec)	x						
19-oxoandrogen (presnovek)	x						
11-ketotestosterone (presnovek)	x						
Trestolone/7 α -methyl-19-nortestosterone (MENT)	x				x		
11 β -hydroxytestosterone (presnovek)	x						
Selektivni modulatorji androgenskih receptorjev							
S22	x						
(S)-3-(4-chloro-3-fluorophenoxy)-2-hydroxy-2-methyl-N-(4-nitro-3-trifluoromethylphenyl)propionamide / C-6	x						
S-26/S-3-(4-fluorophenoxy)-2-hydroxy-2-methyl-N-(4-cyano-3-iodophenyl)-propionamide	x						
S42	x						
LGD2226	x						
Enobosarm/ostarine	x						
Rastni faktorji							
Epidermal growth factor (EGF)	x	x	x ¹		x		
Endothelial cell growth factor (ECGF)		x					
Basic fibroblast growth factor (FGF2)		x					
Zaviralci aromataze							
Sintezni zaviralci aromataze							
bis-(p-cyanophenyl)imidazo-1-yl-methane hemisuccinate/CGS 18320B			x				
Vorozole/R 76713			x				
Fadrozole/CGS 16949A			x				
Androst-5-ene-4,17-dione			x				
Androst-4-ene-6,17-dione			x				
MR20494			x				
MR 20492			x			x	
7 α -(3'-bromoacetoxypropyl)androstenedione			x				
4-acetoxy-4-androstene-3,17-dione			x				
LY56110(α,α -bis(4-chlorophenyl)-5-methylpyrimidine)			x				
Plomestane/MDL-18,962			x				
7 α -(4'-amino)phenylthio-4-androstene-3,17-dione			x				
16 α -hydroxyandrostenedione			x				
6 α -bromoandrostenedione			x				
(19R)-10-thiiranylestr-4-ene-3,17-dione			x				
1,4,6-Androstatriene-3,17-dione			x				
Finrozole			x				
YM 511			x				
Atamestane/SH489			x				
Rogletimide/pyridoglutethimide			x				
MFT-279			x				
4-cyclohexylaniline			x				
MEN 11066			x				
R 151885			x				
16 α -Bromoacetoxy-4-androstene-3,17-dione			x				
16 α -bromoacetoxy-4-androstene-3,6,17-trione			x				
17 β -bromoacetyl-amino-4-androsten-3-one			x				
7-((4'-aminophenyl)thio)-1,4-androstadiene-3,17-dione			x				
4-(Phenylthio)-4-androstene-3,17-dione (AI)			x				

RU 54115 (AI)			x				
Flavonoidi							
Chrysin (AI - samo in vitro)			x				
Genistein 4'-methyl ether (Biochanin A) (AI, veže tudi na estrogenske receptroje)			x				
alpha-Naphthoflavone/7,8-benzoflavone			x				
Naringenin			x				
Luteolin			x				
Proanthocyanidin			x				
Procyanidin			x				
Isoliquiritigenin (alosterični modulator GABA-A)			x				
Naringin			x			x	
Puerarin			x				
Pinocebrin			x				
Hesperetin			x				
Azolni fungicidi							
Clotrimazole			x				
Imazalil			x				
Prochloraz			x				
Difenoconazole			x				
Fenbuconazole			x				
Propiconazole			x				
Triadimenol			x				
Fenarimol			x				
Ketoconazole (tudi antiandrogen, antiglukokortikoid)			x				
Kontaminanti/motilci hormonov							
Tributyltin (premaz za ladje, precej toksičen)			x				
Mono-(2-ethylhexyl)phthalate			x				
Phloxine B (barvilo v kozmetiki in farmaciji)			x				
Zearalenone (mikotoksin, kontaminant v hrani)			x				
Alkaloidi							
Nicotine			x				
Cotinine			x				
Anabasine			x				
Myosmine			x				
Indole-3-carbinol (v zelenjavi iz družine križnic)			x				
Triptolide (terpen)			x				
Zdravila za druge indikacije							
Metformin (antidiabetik)			x				
Troglitazone (antidiabetik)			x				
Nesteroidna protivnetna zdravila							
Vatalanib (antagonist VEGF receptorja)			x				
Feniclonine (AI + AE; zavre sintezo serotonina - popolnoma)			x				
Etomidate (anestetik)			x				
PD 98059 (zaviralec MAP kinaze)			x				
Mefloquine (zdravilo za malarijo)			x				
Fenofibrate (zniževanje serumskih lipidov)			x				
Lamotrigine (antikonvulziv)			x				
Oxcarbazepine (antikonvulziv)			x				
Tiagabine (antikonvulziv)			x				
Phenobarbital (antikonvulziv)			x				
Phenytoin (antikonvulziv)			x				
Ethosuximide(antikonvulziv)			x				
Valproate(antikonvulziv)			x				
NS-398 (zaviralec COX-2)			x				
Nimesulide (zaviralec COX-2)			x				
Panobinostat (zaviralec histonske deacetilaze)			x				
LGD1069/Bexarotene (proti raku, retinoid)			x				
Lignani							
Enterodiol			x				
Enterolactone			x				
Honokiol (zavira tudi 5 α -dihidrotestosteron reduktazo)			x				
Ostalo							
Calcitriol			x				
Seocalcitol/EB 1089 (AI)			x				
MAb3-2C2 (monoklonsko protitelo za aromatazo)			x				
Aspergillusidone C (izoliran iz gliv)			x				
Epigallocatechin gallate (katehin iz čajev)			x				
Catechin (katehin iz čajev)			x				x
Theaflavins (v čaju)			x				

Ursolic acid (v olupku jabolka)			x				
Vanilloids (npr. kapsaicin)			x				
Aspergillusidone C (izlorian iz gliv)			x				
Antiestrogeni							
Selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev							
Endoxifene (presnovek tamoksifena)			x				
Afimoxifene (presnovek tamoksifena)			x				
Anordrin (postkoitalna kontracepcija)			x				
Arzoxifene			x				
Bazedoxifene			x				
4-estren-3,17-diol	x						
Sintezni antiestrogeni							
EM-800			x				
ZM 189,154			x				
ICI-164384			x				
RU 58668			x				
XCT790			x				
Faslodex/ICI 182 780 (selective estrogen receptor degrader)			x				
Antiestrogeni rastlinskega izvora							
Shikonin (tradicionalna medicina)			x				
Melatonin (zavira aromatazo in signalne poti ER)			x				
Reservatrol (kombinacija agonista/antagonista ER)			x				
Juzen-taiho-to/Shimotsu-to (tradicionalna medicina)			x				
Wogonin			x				
Mangostin			x				
Diallyl trisulfide/Allitridin (česen, antagonist ER)			x				
Zdravila za druge indikacije							
Trastuzumab (monoklonsko protitelo za HER-2, zmanjša ekspresijo ER)			x				
Prazosin (α -bloker, zmanjša konc. ER)			x				
Artemisinin (antimalarik)			x				
XR5944 (zaviralec topozomeraze)			x				
Naloxone (antagonist ER, antagonist opioidnih receptorjev)			x				
Ostalo							
Methaneseleninic acid (zavira signaliziranje ER)			x				
Progestini							
Pregnenolone (deluje anabolično - pretvorba v DHEA in androstadienol)	x						
Nomegestrol			x				
R5020			x				
Agonisti andrenergičnih receptorjev β							
Isoproterenol/isoprenaline				x			
Orciprenaline				x			
Zinterol				x			
Pirbuterol				x			
Bambuterol				x			
Ritodrine				x			
Dobutamine				x			
Tulobuterol				x			
NCX-950				x			
Imoxiterol/RP 58802B				x			
Ibopamine				x			
Dopexamine				x			
Sibenaadet				x			
Broxaterol				x			
Denopamine				x			
Tretoquinol				x			
Bedoradrine/KUR-1246				x			
Picumeterol				x			
BRL 35135				x			
YS 49				x			
Hexoprenaline				x			
Prenalterol				x			
D 2343				x			
Phenylpropanolamine				x			
Analogi gonadotropine sproščujočega hormona							
Triptorelin (GnRH agonist)					x		
Goserelin (GnRH agonist)					x		
D-Ala ⁶ , des-Gly ¹⁰ -LHRH ethylamide (GnRH agonist)					x		
Nafarelin (GnRH agonist)					x		
RC-160 (GH analogue)					x		
Avorelin (GnRH agonist)					x		

Deslorelin (GnRH agonist)					x		
Rastni hormon in njegovi spoščujoči dejavniki							
CP464709 (ghrelin analogue)						x	
Motilin (GH secretagogue)						x	
C189A (GH analogue)						x	
L692,585 (GH secretagogue)						x	
Naringenin (ghrelin receptor agonist)						x	
Human placental lactogen (šibek agonist GH receptorja)						x	
Octreotide (GH analogue)						x	
Adenosine (GH secretagogue receptor agonist)						x	
Phenylisopropyladenosine (GH secretagogue receptor agonist)						x	
Ulimorelin (ghrelin receptor agonist)						x	
Mitemincinal (Motilin receptor agonist)						x	
SM-130686 (ghrelin receptor agonist)						x	
[Trp3, Arg5]-ghrelin(1-5) (GH secretagogue receptor agonist)						x	
Orexin (GH secretagogue receptor agonist)						x	
Ibutamoren/MK-0677 (GH secretagogue receptor agonist)						x	
Leptin (GHR agonist)						x	x
Zaviralci miostatina							
BIM-28131 (ghrelin analogue)						x	x
Follistatin							x
Myostatin propeptide							x
Decorin							x
Caveolin 3							x
4-(5-benzo(1,3)dioxol-5-yl-4-pyridin-2-yl-1H-imidazol-2-yl)benzamide							x
BIM-28125 (ghrelin analogue)							x
Ščitnični hormoni							
Thyroid hormones	x	x	x	x			x
T3	x	x	x	x ²			x
T4	x	x	x				x

Tabela V: Rezultati iskanja spojin, ki niso uvrščene na LPSP

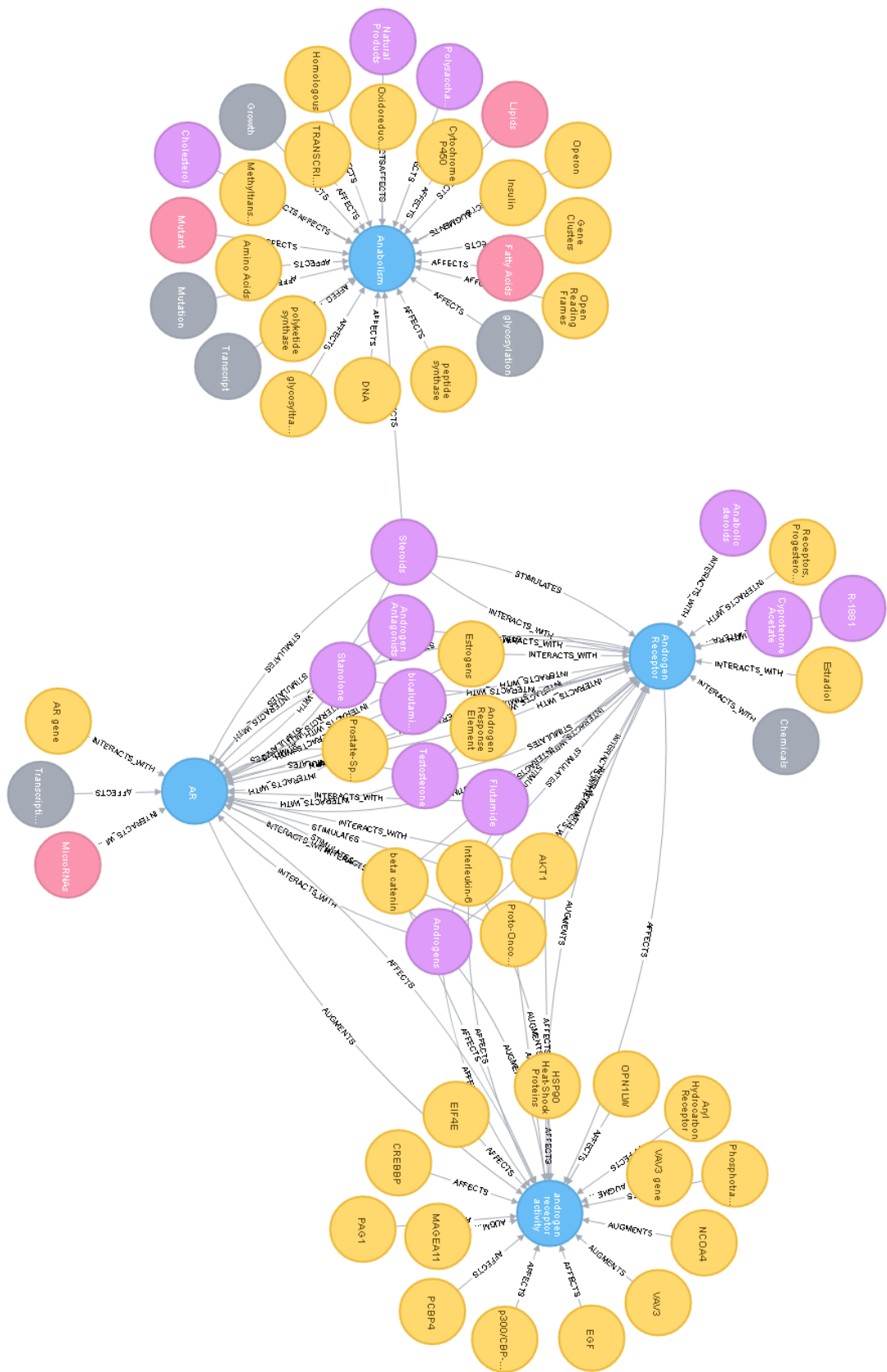
¹manjša ekspresija aromataze

²zvečana krčljivost miocitov

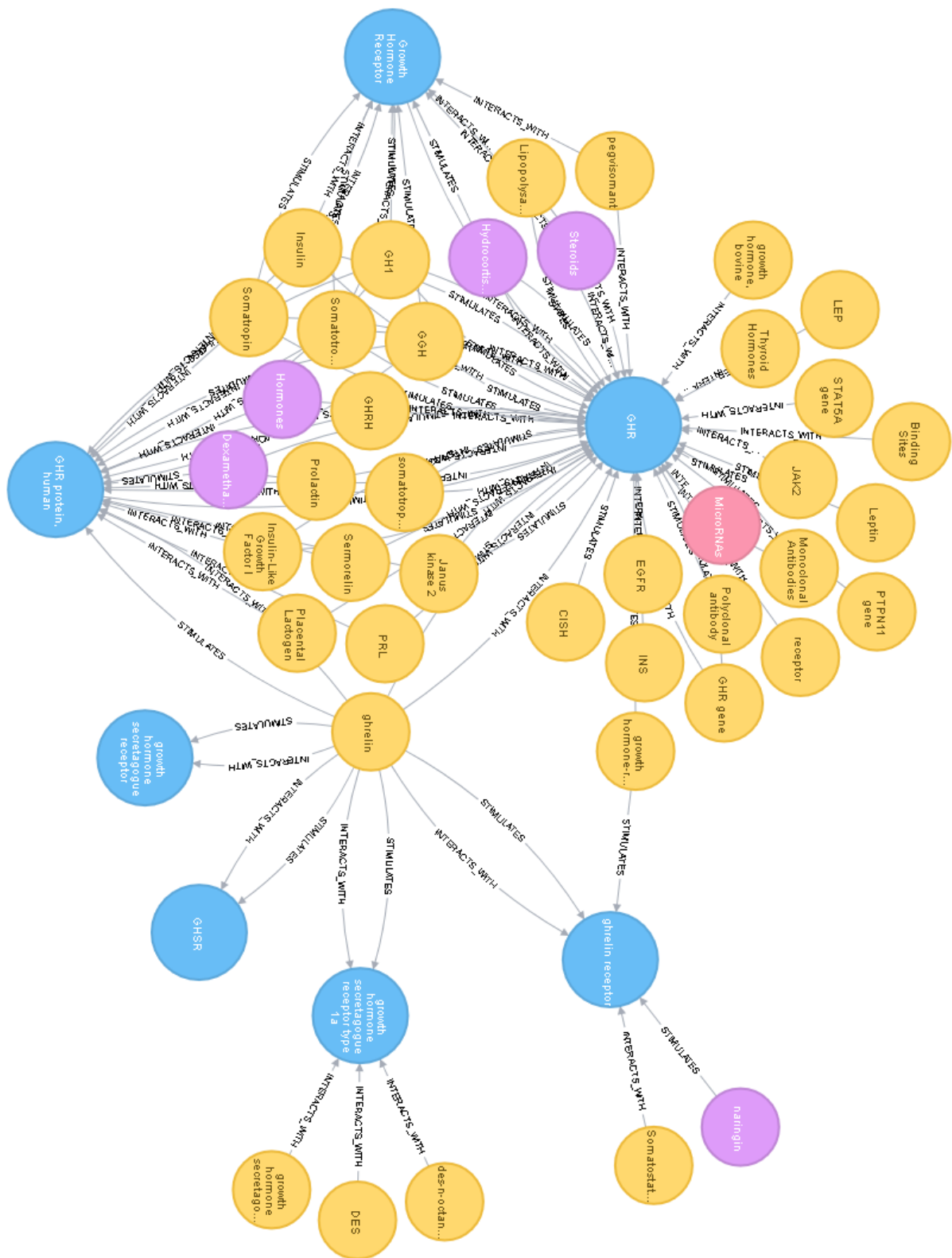
4.3 Grafični prikaz z orodjem Neo4j

Na prvi sliki (slika 16) vidimo grafični prikaz prvega iskalnega niza. Z modro so označeni vsi objekti, ki smo jih določili v iskalnem nizu. AR in androgenski receptor se ponovita, ker eden označuje receptor, drugi pa gen za receptor. Z vijolično so označene vse farmacevtske snovi, z rumeno geni in genomi, z roza aminokisliline, peptidi in proteini ter z rdečo hormoni. Na prvi sliki (slika 16) smo določili, da je za vsak objekt posamezno prikazanih 25 pojmov z največ relacijami, na drugi sliki (slika 17) pa je za vse objekte skupaj prikazanih 100 pojmov z največ relacijami.

Grafični prikaz smo naredili tudi za drugi iskalni niz, ki je v prilogi 3. Tudi pri tem prikazu je na prvi sliki (slika 18) prikazanih 25 pojmov z največ relacijami in na drugi (slika 19) za vse objekte skupaj prikazanih 100 pojmov z največ relacijami.



Slika 16: Rezultati grafične obdelave prvega iskalnega niza s programom Neo4J – 25 pojmov z največ relacijami z vsakim objektom



Slika 19: Rezultati grafične obdelave drugega iskalnega niza s programom Neo4J – 100 pojmov z največ relacijami

4.4 Prikaz prepovedanih snovi na časovnem traku

Snov	Odkritje	LPSP	1. članek	1. relacija	1. pozitiven
testosteron	1935	1983 (IOC)	1936	1950	1984
metandienon	1955	1976 (IOC)	1959	1962	1976
SARM	1998	2008	1999	2008	2010
rastni hormon	1981	1989	1950	1975	2009
letrozol	1990	2001	1990	1990	2009
grelin	1999	2015	1999	2000	2008
inzulin	1982	1998	1953	1983	2002

Tabela VI: Časovni trak

V razpredelnici (tabela VI) smo označili leto odkritja snovi s potencialom za zlorabo v športu z **odkritje**, leto uvrstitve snovi na listo prepovedanih snovi in postopkov z **LPSP**, leto prve omembe iskanega farmakološkega mehanizma v znanstveni literaturi iz spletne baze PubMed s **1. članek**, leto prve semantične relacije v programu SemBt, ki ugotavlja potencial snovi za zlorabo, s **1. relacija** in leto prvega pozitivnega športnikovega vzorca na iskano snov s **1. pozitiven**. IOC poleg letnic označuje, da je bila snov uvrščena na listo prepovedanih snovi, ki jo je izdal Mednarodni olimpijski komite, ki je bil pred nastankom WADA pristojen za boj proti dopingu.

Podatke smo obdelali za boljši prikaz učinkovitosti naše metode pri boju proti dopingu.

Snov	Priložnost	Priložnost P	Priložnost S	Razlika P	Razlika S
testosteron	48 let	1 let	15 let	47 let	14 let
metandienon	21 let	4 let	7 let	17 let	3 let
SARM	10 let	1 let	10 let	9 let	9 let
rastni hormon	8 let	0 let	0 let	8 let	0 let
letrozol	11 let	0 let	0 let	11 let	0 let
grelin	16 let	0 let	1 let	16 let	1 let
inzulin	16 let	0 let	1 let	16 let	1 let

Tabela VII: Obdelava podatkov s časovnega traka

V drugi razpredelnici (tabela VII) je resnično obdobje priložnosti označeno s **Priložnost**, hipotetično obdobje priložnosti, kjer bi snovi prepovedali s pomočjo preučevanjem znanstvene literature na spletni bazi PubMed, s **Priložnost P**, hipotetično obdobje priložnosti, kjer bi snovi prepovedali s pomočjo orodja SemBT, s **Priložnost S**, koliko let prej bi bile snovi uvrščene na LPSP s pomočjo obdelave člankov, je označeno z **Razlika P**, in koliko let SemBT zaostaja za ročnim pregledom člankov na PubMed, z **Razlika S**.

Kot vidimo iz prvega stolpca druge razpredelnice (tabela VII), bi s pomočjo metod preučevanja znanstvene literature dosegli precejšnje zmanjšanje obdobja priložnosti, pri testosteronu skoraj za 50 let. Seveda moramo v zakup vzeti tudi dejstva, da se je organizirani boj proti dopingu začel nekje v sedemdesetih letih prejšnjega stoletja, da ni bilo na voljo takšnih računalnih metod in da moramo navkljub odkritju nove snovi z možnostjo za zlorabo razviti tudi analizo metodo za njeno odkrivanje.

Glede primerjave SemBT z ročnim iskanjem snovi po PubMed vidimo, da se je naša metoda precej dobro odrezala. Edino pri SARM-ih ne bi skrajšali obdobja priložnosti v primerjavi z ročnim iskanjem.

4.5 Statistično ovrednotenje uspešnosti iskanja

Rezultate prvega dela statistične analize smo podali v razpredelnici (tabela VIII), kjer vsak stolpec predstavlja posamezen iskalni niz, ki smo ga opisali zgoraj. V zadnjem stolpcu je rezultat vseh iskalnih nizov skupaj. Deleži so podani glede na terapevtsko skupino, za katero je bil iskalni niz namenjen, in glede na celotno število iskanih snovi.

Iskalni niz	1	2	3	4	5	6	7	vsi
Delež najdenih snovi v posamezni farmakološki skupini iz LPSP	37,5 %	66,7 %	83,3 %	64,3 %	100 %	78,6 %	100 %	/
Delež najdenih snovi v celoti vseh anaboličnih snovi iz LPSP	38 %	6 %	18 %	6 %	8 %	12 %	4 %	58 %

Tabela VIII: Rezultati statistične analize najdenih snovi iz LPSP

Pri pregledu rezultatov vidimo, da je najslabši rezultat prvega iskalnega niza, ki pa tudi obsega največjo skupino snovi, zato ima največji vpliv na skupni delež najdenih snovi. Ostali rezultati so skoraj dvakrat boljši, vendar pa imajo veliko manjši vpliv na končni delež. Rezultate drugega dela statistične analize smo tudi predstavili glede na vsak iskalni niz in na koncu še skupaj (tabela IX).

Iskalni niz	Število zadetkov	Pravilni zadetki	Napačni zadetki	Delež pravilnih
1	663	415	248	62,6 %
2	640	473	167	73,9 %
3	1856	1242	614	66,9 %
4	344	265	79	77,0 %
5	327	278	49	85,0 %
6	312	234	78	75,0 %
7	39	26	13	66,7 %
skupaj	4181	2933	1248	70,2 %

Tabela IX: Rezultati statistične analize pravilnosti izluščenih trditev

Delež pravilnih zadetkov glede na iskalni niz variira od najslabšega s 53,8 % do najboljšega s 85 %. Glede na celoto vidimo, da je program približno dve tretjini trditev izluščil pravilno.

5. RAZPRAVA

Iz rezultatov lahko razberemo, da ima naša metoda raziskovanja sposobnost identificirati snovi, ki imajo potencial, da se zlorabijo za doping.

Deleži najdenih snovi iz LPSP so precej visoki, razen pri AAS, ki je tudi glavna preučevana terapevtska skupina v naši študiji. Kot smo že pri poglavju Rezultati omenili in razložili, bi bilo mogoče rezultate izboljšati z uporabo semantične analize celotnih člankov in ne le povzetkov.

Tudi pri najdenih snoveh, ki niso navedene na LPSP, smo imeli veliko predstavnikov iz vsake obravnavane terapevtske skupine, vendar pa so te, kakor smo že pri poglavju Rezultati omenili in razložili, zastarele. Če bi imeli dostop do patentne literature in ne le do člankov iz medicinske podatkovne baze PubMed do leta 2014, bi lahko iskali tudi novo odkrite snovi z zmožnostjo zlorabe kot doping.

Zaradi številnosti najdenih snovi, ki niso na LPSP, in obsega naloge nismo imeli možnosti, da bi vsako snov podrobno preučili in kritično ovrednotili, ali je identificirana snov primerna za izboljšanje športnih zmogljivosti. Še posebno pri zaviralcih aromataze in antiestrogenih, kjer smo dobili zelo heterogene rezultate, bi bilo treba natančno preučiti vsako najdeno snov. To bi lahko izvedli z večjo raziskovalno ekipo.

Pri statistiki pravilnosti izluščenih stavkov iz znanstvene literature smo dobili več kot dve tretjini pravilnih rezultatov, s čimer smo precej zadovoljni, saj je program še vedno v razvojni fazi. Napačne zadetke smo tudi preučili, da bi v prihodnosti izboljšali program.

Tri primere napak smo tudi prikazali. Iz programa smo tudi uvozili nekaj slik primerov, da lažje predstavimo napake, ki jih naredi program.

V prvem primeru (slika 20) je program zamešal osebek, ki se nanaša na povedek. Namesto **IL-6**, ki se nanaša na povedek **activation**, je program izbral osebek **androgen**.

In the absence of **androgen** , IL-6 causes **activation** of **AR** that is approximately 50% of the maximal activity induced by androgen.

Slika 20: Prikaz primera napačne semantične relacije I

V drugem primeru (slika 21) program ni upošteval nikalnega dela samostalnika, namesto da bi upošteval **non-androgenic**, je upošteval le **androgenic**, s čimer dobi stavek ravno nasproten pomen.

However, non-**androgenic** pathways have also been shown to **activate** the **AR** .

Slika 21: Prikaz primera napačne semantične relacije II

Podobno kot pri drugem primeru (slika 22) program pri tretjem primeru (slika 15) ni upošteval, da je stavek nikalen, saj je za povedek upošteval le **mediated**, namesto **did not appear to be mediated**, kar je ponovno dalo stavku ravno nasproten pomen.

The rapid responses triggered by **DHT** did not appear to be **mediated** through classic intracellular **androgen receptors**

Slika 22: Prikaz primera napačne semantične relacije III

Navkljub tem manjšim napakam, ki se bodo odpravile z nadaljnjim razvojem, je program v večini primerov podal dobre rezultate.

Pri časovnem traku smo najbolje prikazali zmožnost naše metode pri boju proti dopingu. Pri vseh preučeni snoveh bi skoraj povsod zmanjšali obdobje priložnosti za 10 let ali več.

6. ZAKLJUČEK

Naša metoda, ki temelji na LBD-pristopu, ima zmožnost ustvariti obetavne rezultate in tako lahko potrdimo obe postavljeni hipotezi. SemBT ima z optimizacijo in razvojem zmožnost avtomatiziranega odkrivanja snovi z dopinškim potencialom takoj, ko se te pojavijo v znanstveni literaturi. Ta programska oprema bi se lahko učinkovito uporabljala v boju proti dopingu. Prav zaradi tega je treba s to programsko opremo in našim modelom iskanja ravnati skrajno previdno, saj bi v napačnih rokah lahko prišlo do zlonamerne uporabe v namene dopinga.

Navkljub temu, da se odkrivajo novejše snovi, se anabolični androgeni steroidi še vedno zlorablajo v velikem obsegu, tako v profesionalnem športu kot tudi v rekreativnem, zato je treba nenehno iskati nove poti za boj proti dopingu.

7. VIRI

1. World Anti-Doping Agency, *Svetovni protidopinški kodeks*. 2013, Slovenska protidopinška organizacija: <http://www.sloado.si/kategorija/kodeks-sportniki-2015>.
2. World Anti-Doping Agency, *Kaj je lista?* 2017, Slovenska protidopinška organizacija: http://www.sloado.si/kategorija/lista-kaj_je_lista.
3. World Anti-Doping Agency, *Lista prepovedanih snovi in postopkov 2017*. 2017, Slovenska protidopinška organizacija.
4. World Anti-Doping Agency, *2015 Anti-doping testing figures*. 2015.
5. Ganesan, K. and M.V. Pellegrini, *Anabolic Steroids*, in *StatPearls*. 2018: Treasure Island (FL).
6. Kuhn, C.M., *Anabolic steroids*. *Recent Prog Horm Res*, 2002. **57**: p. 411-34.
7. Foster, Z.J. and J.A. Housner, *Anabolic-androgenic steroids and testosterone precursors: ergogenic aids and sport*. *Curr Sports Med Rep*, 2004. **3**(4): p. 234-41.
8. Fragkaki, A.G., et al., *Structural characteristics of anabolic androgenic steroids contributing to binding to the androgen receptor and to their anabolic and androgenic activities. Applied modifications in the steroidal structure*. *Steroids*, 2009. **74**(2): p. 172-97.
9. Bs, D., *Androgen Physiology, Pharmacology and Abuse*, in *Endotext*, L.J. De Groot, et al., Editors. 2000, MDText.com, Inc.: South Dartmouth (MA).
10. Gardner, P., *Is DHT The King Of All Male Hormones*. 2017.
11. O'Donnell L, S.P., de Kretser D. M., *Endocrinology of male reproductive system and spermatogenesis*. 2017

12. Johnson, L.C., et al., *Anabolic steroid: effects on strength, body weight, oxygen uptake and spermatogenesis upon mature males*. *Med Sci Sports*, 1972. **4**(1): p. 43-5.
13. Hervey, G.R., et al., *Effects of methandienone on the performance and body composition of men undergoing athletic training*. *Clin Sci (Lond)*, 1981. **60**(4): p. 457-61.
14. Win-May, M. and M. Mya-Tu, *The effect of anabolic steroids on physical fitness*. *J Sports Med Phys Fitness*, 1975. **15**(3): p. 266-71.
15. Kadi, F., *Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids*. *Acta Physiol Scand Suppl*, 2000. **646**: p. 1-52.
16. Bhasin, S., et al., *Testosterone dose-response relationships in healthy young men*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001. **281**(6): p. E1172-81.
17. Giorgi, A., R.P. Weatherby, and P.W. Murphy, *Muscular strength, body composition and health responses to the use of testosterone enanthate: a double blind study*. *J Sci Med Sport*, 1999. **2**(4): p. 341-55.
18. Hartgens, F., et al., *Body composition and anthropometry in bodybuilders: regional changes due to nandrolone decanoate administration*. *Int J Sports Med*, 2001. **22**(3): p. 235-41.
19. Kouri, E.M., et al., *Fat-free mass index in users and nonusers of anabolic-androgenic steroids*. *Clin J Sport Med*, 1995. **5**(4): p. 223-8.
20. Hartgens, F. and H. Kuipers, *Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes*. *Sports Med*, 2004. **34**(8): p. 513-54.
21. Bhasin, S., et al., *The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men*. *N Engl J Med*, 1996. **335**(1): p. 1-7.

22. Friedl, K.E., et al., *Comparison of the effects of high dose testosterone and 19-nortestosterone to a replacement dose of testosterone on strength and body composition in normal men.* J Steroid Biochem Mol Biol, 1991. **40**(4-6): p. 607-12.
23. Hinterberger, W. and H. Vierhapper, *Anabolic steroids and blood cell production.* Wien Med Wochenschr, 1993. **143**(14-15): p. 380-2.
24. Strauss, R.H., et al., *Side Effects of Anabolic Steroids in Weight-Trained Men.* Phys Sportsmed, 1983. **11**(12): p. 86-98.
25. Yesalis, C.E., 3rd, et al., *Self-Reported Use of Anabolic-Androgenic Steroids by Elite Power Lifters.* Phys Sportsmed, 1988. **16**(12): p. 91-100.
26. Strauss, R.H., M.T. Liggett, and R.R. Lanese, *Anabolic steroid use and perceived effects in ten weight-trained women athletes.* JAMA, 1985. **253**(19): p. 2871-3.
27. Alen, M., M. Reinila, and R. Vihko, *Response of serum hormones to androgen administration in power athletes.* Med Sci Sports Exerc, 1985. **17**(3): p. 354-9.
28. Alen, M. and K. Hakkinen, *Androgenic steroid effects on serum hormones and on maximal force development in strength athletes.* J Sports Med Phys Fitness, 1987. **27**(1): p. 38-46.
29. Martikainen, H., et al., *Testicular responsiveness to human chorionic gonadotrophin during transient hypogonadotrophic hypogonadism induced by androgenic/anabolic steroids in power athletes.* J Steroid Biochem, 1986. **25**(1): p. 109-12.
30. Wilson, J.D., *Androgen abuse by athletes.* Endocr Rev, 1988. **9**(2): p. 181-99.
31. Dickerman, R.D., et al., *Cardiovascular complications and anabolic steroids.* Eur Heart J, 1996. **17**(12): p. 1912.
32. Nieminen, M.S., et al., *Serious cardiovascular side effects of large doses of anabolic steroids in weight lifters.* Eur Heart J, 1996. **17**(10): p. 1576-83.
33. Kuipers, H., et al., *Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders.* Int J Sports Med, 1991. **12**(4): p. 413-8.
34. Kleiner, S.M., et al., *Dietary influences on cardiovascular disease risk in anabolic steroid-using and nonusing bodybuilders.* J Am Coll Nutr, 1989. **8**(2): p. 109-19.
35. Hartgens, F., et al., *Effects of androgenic-anabolic steroids on apolipoproteins and lipoprotein (a).* Br J Sports Med, 2004. **38**(3): p. 253-9.
36. Lenders, J.W., et al., *Deleterious effects of anabolic steroids on serum lipoproteins, blood pressure, and liver function in amateur body builders.* Int J Sports Med, 1988. **9**(1): p. 19-23.
37. Freed, D.L., et al., *Anabolic steroids in athletics: crossover double-blind trial on weightlifters.* Br Med J, 1975. **2**(5969): p. 471-3.
38. Thompson, P.D., et al., *Contrasting effects of testosterone and stanozolol on serum lipoprotein levels.* JAMA, 1989. **261**(8): p. 1165-8.
39. Cohen, L.I., C.G. Hartford, and G.G. Rogers, *Lipoprotein (a) and cholesterol in body builders using anabolic androgenic steroids.* Med Sci Sports Exerc, 1996. **28**(2): p. 176-9.
40. Gragera, R., et al., *Ultrastructural changes induced by anabolic steroids in liver of trained rats.* Histol Histopathol, 1993. **8**(3): p. 449-55.
41. Ishak, K.G. and H.J. Zimmerman, *Hepatotoxic effects of the anabolic/androgenic steroids.* Semin Liver Dis, 1987. **7**(3): p. 230-6.
42. Soe, K.L., M. Soe, and C. Gluud, *Liver pathology associated with the use of anabolic-androgenic steroids.* Liver, 1992. **12**(2): p. 73-9.

43. Dickerman, R.D., et al., *Anabolic steroid-induced hepatotoxicity: is it overstated?* Clin J Sport Med, 1999. **9**(1): p. 34-9.
44. Cohen, J.C. and R. Hickman, *Insulin resistance and diminished glucose tolerance in powerlifters ingesting anabolic steroids.* J Clin Endocrinol Metab, 1987. **64**(5): p. 960-3.
45. Deyszig, R. and M. Weissel, *Ingestion of androgenic-anabolic steroids induces mild thyroidal impairment in male body builders.* J Clin Endocrinol Metab, 1993. **76**(4): p. 1069-71.
46. Kiraly, C.L., et al., *The effect of testosterone and anabolic steroids on the skin surface lipids and the population of Propionibacteria acnes in young postpubertal men.* Acta Derm Venereol, 1988. **68**(1): p. 21-6.
47. Calabrese, L.H., et al., *The effects of anabolic steroids and strength training on the human immune response.* Med Sci Sports Exerc, 1989. **21**(4): p. 386-92.
48. Brower, K.J., et al., *Anabolic androgenic steroids and suicide.* Am J Psychiatry, 1989. **146**(8): p. 1075.
49. Pope, H.G., Jr. and D.L. Katz, *Homicide and near-homicide by anabolic steroid users.* J Clin Psychiatry, 1990. **51**(1): p. 28-31.
50. Pope, H.G., Jr. and D.L. Katz, *Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use.* Am J Psychiatry, 1988. **145**(4): p. 487-90.
51. Pope, H.G., Jr., E.M. Kouri, and J.I. Hudson, *Effects of supraphysiologic doses of testosterone on mood and aggression in normal men: a randomized controlled trial.* Arch Gen Psychiatry, 2000. **57**(2): p. 133-40; discussion 155-6.
52. Pope, H.G., Jr. and D.L. Katz, *Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use. A controlled study of 160 athletes.* Arch Gen Psychiatry, 1994. **51**(5): p. 375-82.
53. Brower, K.J., et al., *Symptoms and correlates of anabolic-androgenic steroid dependence.* Br J Addict, 1991. **86**(6): p. 759-68.
54. Driessen, M., et al., *Child sexual abuse associated with anabolic androgenic steroid use.* Am J Psychiatry, 1996. **153**(10): p. 1369.
55. Schulte, H.M., M.J. Hall, and M. Boyer, *Domestic violence associated with anabolic steroid abuse.* Am J Psychiatry, 1993. **150**(2): p. 348.
56. Pope, H.G., Jr., D.L. Katz, and J.I. Hudson, *Anorexia nervosa and "reverse anorexia" among 108 male bodybuilders.* Compr Psychiatry, 1993. **34**(6): p. 406-9.
57. Blouin, A.G. and G.S. Goldfield, *Body image and steroid use in male bodybuilders.* Int J Eat Disord, 1995. **18**(2): p. 159-65.
58. Gruber, A.J. and H.G. Pope, Jr., *Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women.* Psychother Psychosom, 2000. **69**(1): p. 19-26.
59. Bhasin, S., *Selective Androgen Receptor Modulators as Function Promoting Therapies.* J Frailty Aging, 2015. **4**(3): p. 121-2.
60. Gao, W., et al., *Selective androgen receptor modulator treatment improves muscle strength and body composition and prevents bone loss in orchidectomized rats.* Endocrinology, 2005. **146**(11): p. 4887-97.
61. Clark, R.V., et al., *Safety, pharmacokinetics and pharmacological effects of the selective androgen receptor modulator, GSK2881078, in healthy men and postmenopausal women.* Br J Clin Pharmacol, 2017. **83**(10): p. 2179-2194.
62. Clarke, B.L. and S. Khosla, *New selective estrogen and androgen receptor modulators.* Curr Opin Rheumatol, 2009. **21**(4): p. 374-9.

63. Buzdar, A.U., et al., *An overview of the pharmacology and pharmacokinetics of the newer generation aromatase inhibitors anastrozole, letrozole, and exemestane*. *Cancer*, 2002. **95**(9): p. 2006-16.
64. Rambhatla, A., J.N. Mills, and J. Rajfer, *The Role of Estrogen Modulators in Male Hypogonadism and Infertility*. *Rev Urol*, 2016. **18**(2): p. 66-72.
65. Rhoden, E.L. and A. Morgentaler, *Treatment of testosterone-induced gynecomastia with the aromatase inhibitor, anastrozole*. *Int J Impot Res*, 2004. **16**(1): p. 95-7.
66. Spano, F. and W.G. Ryan, *Tamoxifen for gynecomastia induced by anabolic steroids?* *N Engl J Med*, 1984. **311**(13): p. 861-2.
67. Schulster, M., A.M. Bernie, and R. Ramasamy, *The role of estradiol in male reproductive function*. *Asian J Androl*, 2016. **18**(3): p. 435-40.
68. Finkelstein, J.S., et al., *Gonadal steroids and body composition, strength, and sexual function in men*. *N Engl J Med*, 2013. **369**(11): p. 1011-22.
69. Herrington, J. and C. Carter-Su, *Signaling pathways activated by the growth hormone receptor*. *Trends Endocrinol Metab*, 2001. **12**(6): p. 252-7.
70. Gunawardane, K., et al., *Normal Physiology of Growth Hormone in Adults*, in *Endotext*, L.J. De Groot, et al., Editors. 2000: South Dartmouth (MA).
71. Liu, H., et al., *Systematic review: the effects of growth hormone on athletic performance*. *Ann Intern Med*, 2008. **148**(10): p. 747-58.
72. Saugy, M., et al., *Human growth hormone doping in sport*. *Br J Sports Med*, 2006. **40 Suppl 1**: p. i35-9.
73. Holt, R.I. and P.H. Sonksen, *Growth hormone, IGF-I and insulin and their abuse in sport*. *Br J Pharmacol*, 2008. **154**(3): p. 542-56.
74. Hataya, Y., et al., *A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. **86**(9): p. 4552.
75. Erotokritou-Mulligan, I., R.I. Holt, and P.H. Sonksen, *Growth hormone doping: a review*. *Open Access J Sports Med*, 2011. **2**: p. 99-111.
76. van der Lely, A.J., et al., *Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin*. *Endocr Rev*, 2004. **25**(3): p. 426-57.
77. Westermarck, B. and C.H. Heldin, *Platelet-derived growth factor. Structure, function and implications in normal and malignant cell growth*. *Acta Oncol*, 1993. **32**(2): p. 101-5.
78. Ornitz, D.M. and N. Itoh, *The Fibroblast Growth Factor signaling pathway*. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2015. **4**(3): p. 215-66.
79. Nakamura, T. and S. Mizuno, *The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine*. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2010. **86**(6): p. 588-610.
80. Duffy A.M., B.-H.D.J., Harmey J.H., *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in Non-Endothelial Cells: Autocrine Signalling by VEGF*. *Madame Curie Bioscience Database [Internet]*, 2011.
81. Fornaro, M., et al., *Mechano-growth factor peptide, the COOH terminus of unprocessed insulin-like growth factor 1, has no apparent effect on myoblasts or primary muscle stem cells*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014. **306**(2): p. E150-6.
82. Goldspink, G., et al., *Growth factors, muscle function, and doping*. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010. **39**(1): p. 169-81, xi.
83. Barisione, G., et al., *Beta-Adrenergic Agonists*. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2010. **3**(4): p. 1016-1044.

84. Moore, N.G., G.G. Pegg, and M.N. Sillence, *Anabolic effects of the beta 2-adrenoceptor agonist salmeterol are dependent on route of administration*. *Am J Physiol*, 1994. **267**(3 Pt 1): p. E475-84.
85. Yang, Y.T. and M.A. McElligott, *Multiple actions of beta-adrenergic agonists on skeletal muscle and adipose tissue*. *Biochem J*, 1989. **261**(1): p. 1-10.
86. Carter, W.J., et al., *Effects of clenbuterol on skeletal muscle mass, body composition, and recovery from surgical stress in senescent rats*. *Metabolism*, 1991. **40**(8): p. 855-60.
87. BBC, *Alberto Contador handed two-year drugs ban*. 2012, BBC.
88. Martha, K., *Chris Froome doping investigation looks set to go beyond Tour de France*. 2018, The Guardian.
89. Spellwin, G. *37 Secrets of a Clenbuterol Cycle - And how to get Fast Results*. 24.4.2018]; Available from: <https://www.elitefitness.com/articles/37-clenbuterol-cycle-secrets/>.
90. JAZMP, *Povzetek glavnih značilnosti zdravila Atimos*. 2011, Javna agencija RS za zdravila in medicinske pripomočke: www.cbz.si.
91. JAZMP, *Povzetek glavnih značilnosti zdravila Ventolin*. 2010, Javna agencija RS za zdravila in medicinske pripomočke: www.cbz.si.
92. Weiss, M., D.F. Steiner, and L.H. Philipson, *Insulin Biosynthesis, Secretion, Structure, and Structure-Activity Relationships*, in *Endotext*, L.J. De Groot, et al., Editors. 2000: South Dartmouth (MA).
93. Anderson, L.J., J.M. Tamayose, and J.M. Garcia, *Use of growth hormone, IGF-I, and insulin for anabolic purpose: Pharmacological basis, methods of detection, and adverse effects*. *Mol Cell Endocrinol*, 2017.
94. Donner, T., *Insulin - Pharmacology, Therapeutic Regimens And Principles Of Intensive Insulin Therapy*, in *Endotext*, L.J. De Groot, et al., Editors. 2000: South Dartmouth (MA).
95. Coghlan, A. *Athletes may be increasingly abusing insulin*. 2001 8.8.2018 [cited 2018 24.4.2018]; Available from: <https://www.newscientist.com/article/dn1129-athletes-may-be-increasingly-abusing-insulin/>
96. Dawson, R.T. and M.W. Harrison, *Use of insulin as an anabolic agent*. *Br J Sports Med*, 1997. **31**(3): p. 259.
97. Chow, L.S., et al., *Mechanism of insulin's anabolic effect on muscle: measurements of muscle protein synthesis and breakdown using aminoacyl-tRNA and other surrogate measures*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006. **291**(4): p. E729-36.
98. Foundation, A.S. *S4 Insulin*. 06.05.2018]; Available from: <https://www.antidoping.ch/de/node/1244>.
99. Kalra, S., et al., *Hypoglycemia: The neglected complication*. *Indian J Endocrinol Metab*, 2013. **17**(5): p. 819-34.
100. Tsuchida, K., *Myostatin inhibition by a follistatin-derived peptide ameliorates the pathophysiology of muscular dystrophy model mice*. *Acta Myol*, 2008. **27**: p. 14-8.
101. Smith, R.C. and B.K. Lin, *Myostatin inhibitors as therapies for muscle wasting associated with cancer and other disorders*. *Curr Opin Support Palliat Care*, 2013. **7**(4): p. 352-60.
102. Schuelke, M., et al., *Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child*. *N Engl J Med*, 2004. **350**(26): p. 2682-8.
103. Lee, Y.S., et al., *Muscle hypertrophy induced by myostatin inhibition accelerates degeneration in dysferlinopathy*. *Hum Mol Genet*, 2015. **24**(20): p. 5711-9.

104. Eliasson, P., et al., *Myostatin in tendon maintenance and repair*. *Growth Factors*, 2009. **27**(4): p. 247-54.
105. Amthor, H., et al., *Lack of myostatin results in excessive muscle growth but impaired force generation*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. **104**(6): p. 1835-40.
106. Maribor, I.-I.i.z. *Web of Science - predstavitev*. [cited 2018 15.05]; Available from: http://home.izum.si/izum/ft_baze/wos.asp.
107. Leiden, U. *Welcome to VOSviewer*. 2018 [cited 2018 11.06.]; Available from: <http://www.vosviewer.com/>.
108. van Eck, N.J.W., L., *VOSviewer manual*. 2016: <http://www.vosviewer.com/>.
109. Henry, S. and B.T. McInnes, *Literature Based Discovery: Models, methods, and trends*. *J Biomed Inform*, 2017. **74**: p. 20-32.
110. Medicine, U.S.N.L.o. *Medical Subject Headings (MeSH®) in MEDLINE®/PubMed®: A Tutorial*. 2012 06.08.2014 [cited 2018 26.05.]; Available from: <https://www.nlm.nih.gov/bsd/disted/meshtutorial/introduction/index.html>.
111. Farha, A. *Medline: MEDLINE INTRODUCTION*. 2017 [cited 2018 28.05.]; Available from: <http://aub.edu.lb/libguides.com/SML-Medline>.
112. Arnold, M., *Trestolone (Ment) Explained*, in *Iron magazine*. 2012, Iron magazine: <http://www.ironmagazine.com/2012/trestolone-ment-explained/>.
113. Germano, S. *In Rebuff to Usada, WADA Declines to Ban Thyroid Medication*. *The Wall Street Journal* 2015 [cited 2018 02.07]; Available from: <https://www.wsj.com/articles/in-rebuff-to-usada-wada-declines-to-ban-thyroid-medication-1443568862>.
114. Lee, J. *Liothyronine & the Hypothyroid (Thyroid Deficiency) Controversy*. 2013 [cited 2018 02.07.]; Available from: <http://speedendurance.com/2013/05/09/liothyronine-hypothyroid-thyroid-deficiency-controversy/>.