



**Facoltà di Scienze Motorie
Università degli Studi di Verona**

Corso elettivo

“Farmaci, integratori e doping”

Lezioni 3 e 4: Le sostanze dopanti -1-

Docenti:

C. Chiamulera, G. Fumagalli, R. Leone

Le sostanze "proibite"

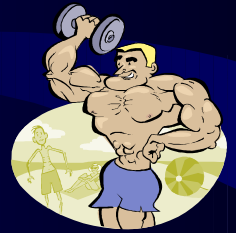
The World Anti-Doping Code

THE 2006 PROHIBITED LIST INTERNATIONAL STANDARD

The official text of the *Prohibited List* shall be maintained by WADA and shall be published in English and French. In the event of any conflict between the English and French versions, the English version shall prevail.

This List shall come into effect on 1 January 2006.

Sostanze la cui assunzione è proibita sia in competizione che fuori -1-



S1. Agenti anabolizzanti

1. Steroidi androgenici anabolizzanti (AAS)

- a) AAS esogeni (es. danazolo, nandrolone, stanazolo, THG, ecc.) e altre sostanze con struttura chimica o effetto biologico simile
- b) AAS endogeni (es. testosterone, DHEA, ecc.) e metaboliti

2. Altri agenti anabolizzanti

clenbuterolo, tibolone, zeranolo, zilpaterolo

S2. Ormoni e sostanze correlate

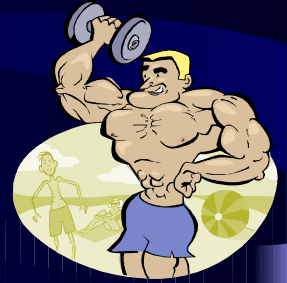
Eritropoietina (EPO), Ormone della crescita (hGH), Insulin-like Growth Factors (es. IGF-1), Mechano Growth Factors (MGFs), Gonadotropine (LH, hCG, proibite solo nei maschi), Insulina, Corticotropine e altre sostanze con struttura chimica o effetto biologico simile

S3. Agonisti beta-2

Tutti proibiti: il loro uso richiede esenzione terapeutica. Salbutamolo*, formoterolo, salmeterolo e terbutalina, per via inalatoria per l'asma/ broncocostrizione indotte da esercizio, esenzione terapeutica abbreviata

*Concentrazioni urinarie >1000 ng/ml sono considerate doping anche con l'esenzione

Sostanze la cui assunzione è proibita sia in competizione che fuori -2-



S4. Agenti con attività anti-estrogenica

1. Inibitori delle aromatasi

anastrozolo, letrozolo, aminoglutetimide, esemestano, formestano, testolattone

2. Modulatori selettivi dei recettori degli estrogeni (SERMs)

raloxifene, tamoxifene, toremifene

3. Altre sostanze anti-estrogeniche

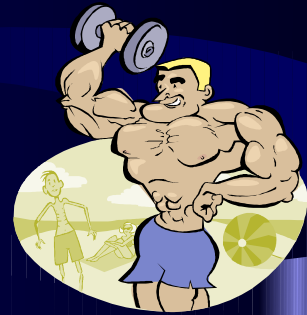
clomifene, ciclofenil, fulvestrant

S5. Diuretici e altri agenti mascheranti

Diuretici*, epitestosterone, probenecid, inibitori alfa-reduttasi (es. finasteride), plasma expander (es. albumina, destrano)

*L'esenzione terapeutica non è valida se le urine dell'atleta contengono un diuretico in associazione con una sostanza proibita (anche livelli sotto-soglia)

Metodi proibiti sia in gara che fuori



M1 Aumento del trasporto di ossigeno

- a) doping ematico: sangue autologo, omologo o eterologo, prodotti con globuli rossi di qualsiasi origine
- b) sostanze che aumentano artificialmente la cattura, il trasporto o il rilascio di ossigeno: es. sostanze chimiche perfluorate, efaproxiral (RSR13) o prodotti con emoglobina modificata

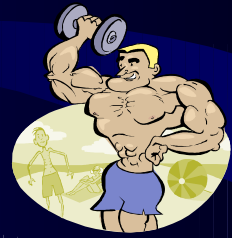
M2 Manipolazioni chimiche e fisiche

Uso di metodi che tentano di alterare i campioni raccolti per i test antidoping (es. cateterismi, sostituzione urine). Infusioni e.v. sono proibite, tranne che per legittimi trattamenti medici acuti

M3 Doping genetico

Uso non terapeutico di cellule, geni, elementi genetici o la modulazione dell'espressione genica che hanno la capacità di aumentare la performance atletica

Sostanze la cui assunzione è proibita in occasione delle competizioni



S6. Stimolanti

Amfetamine, cocaina, efedrina*, metilefedrina*, metilfenidato, modafinil, pemolina, selegilina, sibutramina, stricnina, ecc., e altre sostanze con struttura chimica o effetto farmacologico simile
(*concentrazioni urinarie >10mcg/ml)

S7. Narcotici

Buprenorfina, destromoramide, eroina, fentanile e derivati, idromorfone, metadone, morfina, ossicodone, ossimorfone, pentazocina, petidina

S8. Cannabinoidi (es. hashish e marijuana)

S9. Glucocorticosteroidi

Proibiti per via orale, rettale, e.v. o i.m. a meno di esenzione terapeutica.
Per altre vie (es. inalatoria) esenzione terapeutica abbreviata.
Preparazioni dermatologiche non proibite

Sostanze proibite in particolari discipline sportive

P1 Alcool*, es. automobilismo (>0.1 g/L), arco (>0.1 g/L), biliardo (>0.2 g/L), karate (>0.1 g/L), motociclismo (>0.1 g/L), motonautica (>0.3 g/L) ecc.

La presenza dell'alcool viene determinata mediante analisi dell'espriato e/o del sangue. Come paragone si ricorda che in Italia il limite legale per la guida è di 0.5 g/L.

P2 Beta-bloccanti* (es. atenololo, labetalolo, metoprololo, nadololo, sotalolo, timololo, ecc.) in diversi sport (es. automobilismo, arco**, bocce, biliardo, bridge, curling, ginnastica, motociclismo, pentatlon moderno, tiro al bersaglio**, sci (salti, snowboard acrobatico), wrestling, ecc.)

*solo in competizione, **anche fuori competizione

SPECIFIED SUBSTANCES*

"Specified Substances"* are listed below:

- All inhaled Beta-2 Agonists, except clenbuterol;
- Probenecid;
- Cathine, cropropamide, crotetamide, ephedrine, etamivan, famprofazone, heptaminol, isometheptene, levmethamphetamine, meclofenoxate, p-methylamphetamine, methylephedrine, nikethamide, norfenefrine, octopamine, ortetamine, oxilofrine, phenpromethamine, propylhexedrine, selegiline, sibutramine;
- Cannabinoids;
- All Glucocorticosteroids;
- Alcohol;
- All Beta Blockers.

* *"The Prohibited List may identify specified substances which are particularly susceptible to unintentional anti-doping rule violations because of their general availability in medicinal products or which are less likely to be successfully abused as doping agents."* A doping violation involving such substances may result in a reduced sanction provided that the "...Athlete can establish that the Use of such a specified substance was not intended to enhance sport performance..."

THE 2006 MONITORING PROGRAM*

The following substances are placed on the 2006 Monitoring Program:

1. Stimulants:

a) *In-Competition Only:* *Bupropion, caffeine, phenylephrine, phenylpropanolamine, pipradrol, pseudoephedrine, synephrine.*

b) *Out-of competition:* *Adrafinil, adrenaline, amfepramone, amiphenazole, amphetamine, amphetaminil, benzphetamine, bromantan, carphedon, clobenzorex, cocaine, cyclazodone, dimethylamphetamine, etilamphetamine, etilefrine, fenbutrazate, fencamfamin, fencamine, fenetylline, fenfluramine, fenproporex, furfenorex, mefenorex, mephentermine, mesocarb, methamphetamine (D-), methylenedioxyamphetamine, methylenedioxymethamphetamine, methylphenidate, modafinil, norfenfluramine, parahydroxyamphetamine, pemoline, pentetrazol, phendimetrazine, phenmetrazine, phentermine, prolintane, strychnine.*

2. Narcotics:

In-Competition Only: *morphine/codeine ratio*

* The WADA Code (4.5) states: "WADA, in consultation with other Signatories and governments, shall establish a monitoring program regarding substances which are not on the Prohibited List, but which WADA wishes to monitor in order to detect patterns of misuse in sport."



COMITATO OLIMPICO NAZIONALE ITALIANO

DISCIPLINARE PER L'ESENZIONE A FINI TERAPEUTICI.

Art.8 Criteri per la concessione a fini terapeutici

1. È possibile concedere ad un atleta di livello nazionale un'esenzione a fini terapeutici (EFT), che consenta l'uso di una sostanza vietata o di un metodo proibito inclusi nella lista dei divieti.
2. La domanda di EFT sarà esaminata dal CEFT di cui al presente disciplinare esclusivamente per gli atleti di livello nazionale.
3. L'autorizzazione sarà concessa solo nel rispetto rigoroso dei seguenti criteri:
 - a) l'atleta dovrà inoltrare, **per il tramite della Commissione federale antidoping**, una domanda di EFT almeno 21 giorni prima della partecipazione ad un evento e comunque prima dell'inizio della terapia specifica;
 - b) l'atleta subirà un danno alla salute significativo se la sostanza vietata o il metodo proibito non saranno somministrati per il trattamento di una patologia acuta o cronica;
 - c) l'uso terapeutico della sostanza vietata o del metodo proibito non produrrà un miglioramento delle prestazioni, salvo quello attribuibile al ritorno ad uno stato di salute normale dopo il trattamento di una patologia medica accertata; l'uso di qualsiasi sostanza o metodo proibiti finalizzato ad aumentare livelli di ormoni endogeni collocati ai limiti inferiori del range di normalità individuale non è considerato intervento terapeutico accettabile;
 - d) non esiste un'alternativa terapeutica ragionevole all'uso della sostanza o del metodo normalmente vietati;
 - e) la necessità di utilizzare una sostanza o un metodo normalmente vietati non deve essere la conseguenza, parziale o totale, di un precedente uso non terapeutico di sostanze comprese nella lista dei divieti.

FARMACI CON SOSTANZE DOPANTI

- Le confezioni di farmaci, contenenti sostanze vietate per doping, devono recare un apposito contrassegno sull'involucro e sul foglietto illustrativo

D.M. 24 settembre 2003

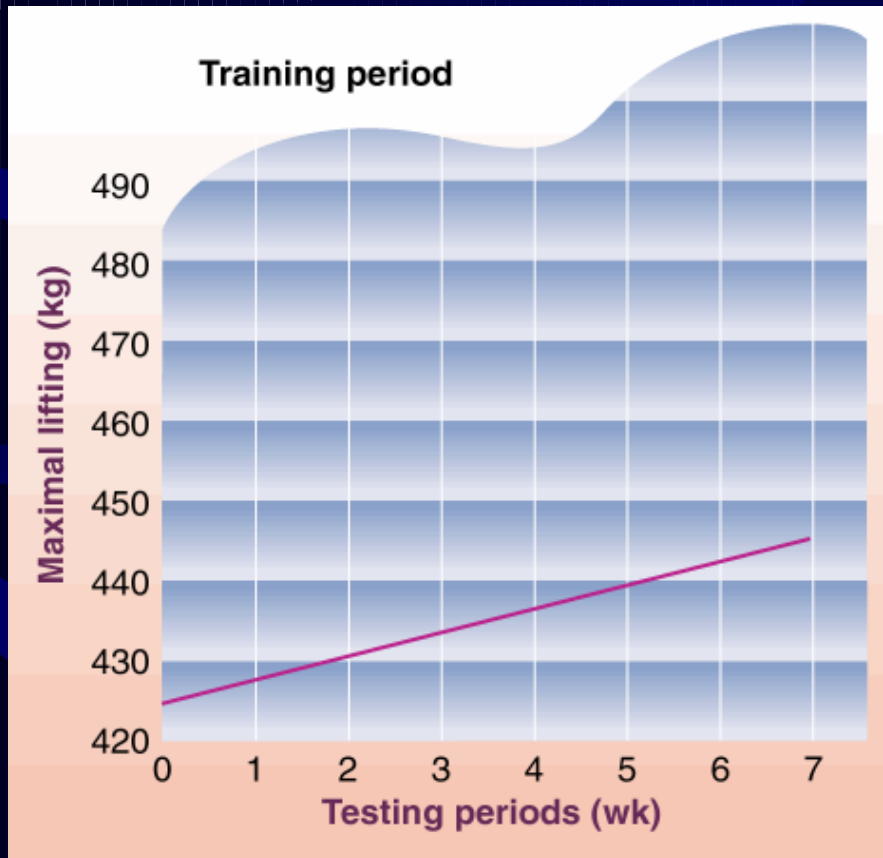
L'etichettatura dell'imballaggio esterno delle confezioni di tali medicinali deve includere il seguente pittogramma



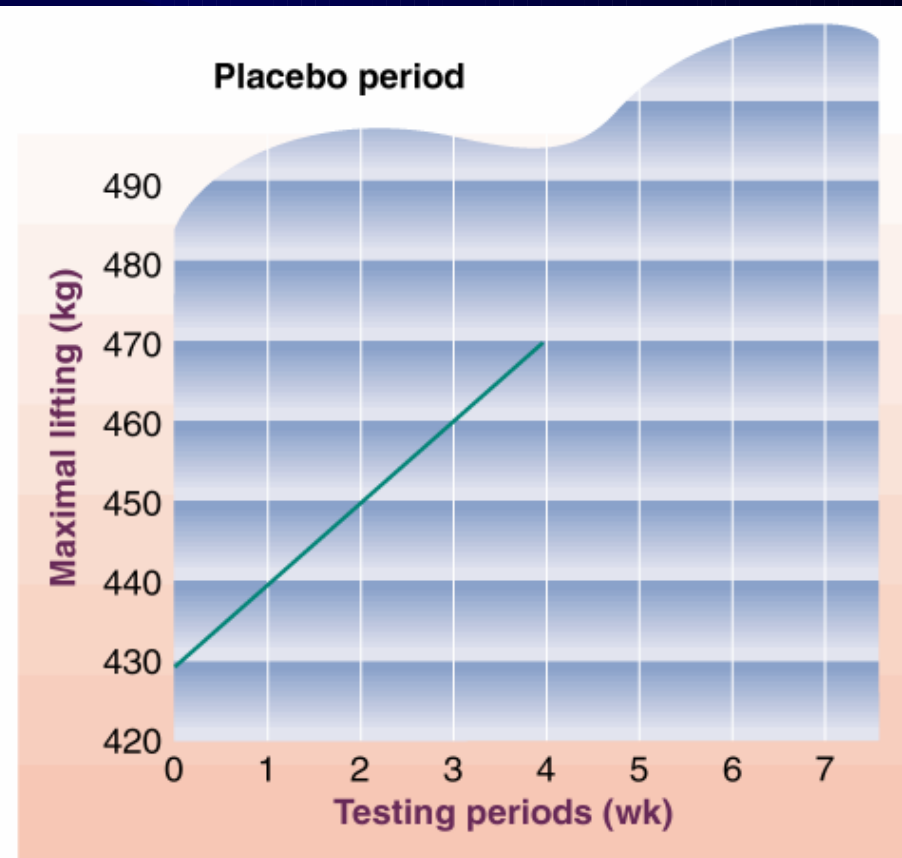
Meccanismi d'azione e
reazioni avverse delle
principali sostanze dopanti

L'effetto placebo

Effetto dell'allenamento
nel sollevamento pesi



Effetto dell'allenamento +
placebo* nel sollevamento pesi



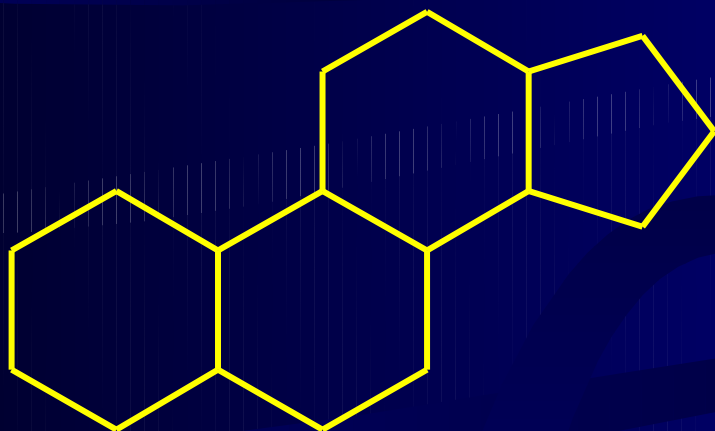
*Gli atleti pensavano di assumere Dianabol

Ariel & Savill, *MSSE*, 1972

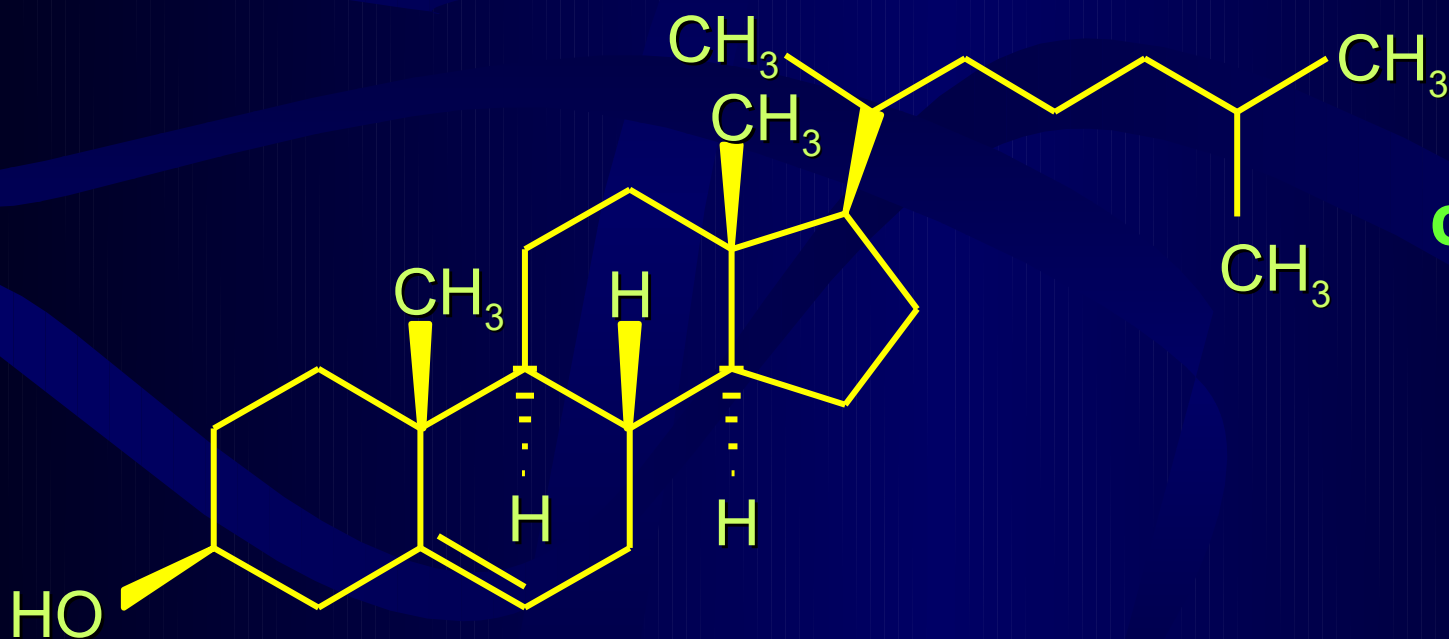
Steroidi Androgenici Anabolizzanti (AAS)



- **Ormoni maschili endogeni** (es. testosterone)
 - Hanno effetti anabolizzanti cioè aumentano la massa muscolare, attraverso regolazione genica e aumento della sintesi proteica del tessuto muscolare. Inibiscono anche la disgregazione proteica
- **Derivati esogeni** (con struttura chimica simile al testosterone, es. nandrolone, danazolo, THG, ecc.)
 - Con questi farmaci si è cercato di massimizzare gli effetti anabolizzanti del testosterone minimizzando allo stesso tempo gli effetti androgenici. Impresa non riuscita

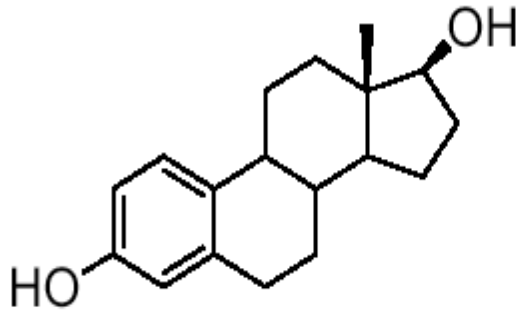


- struttura tetraciclica
fondamentale degli steroidi -

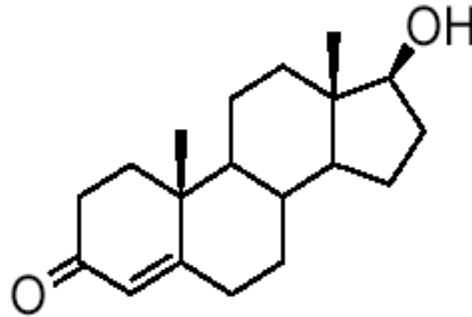


colesterolo

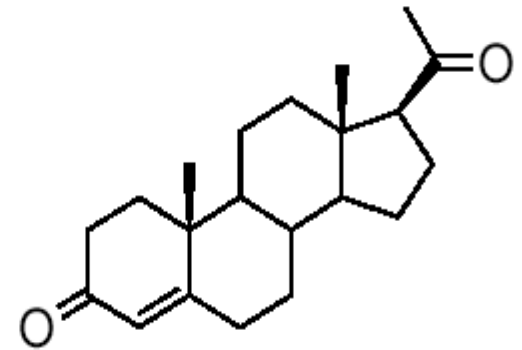
Ormoni steroidei propriamente detti



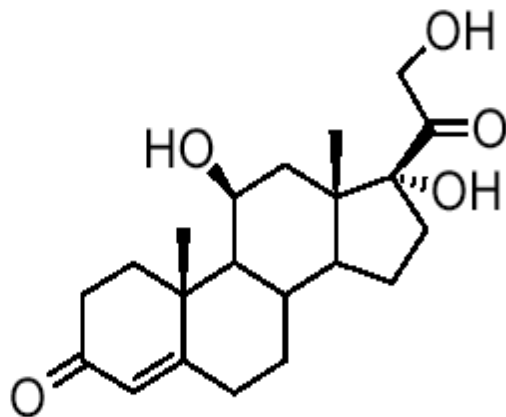
17- β estradiol (**ER**)



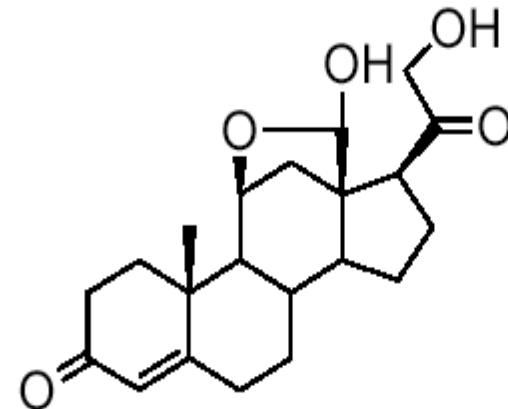
testosterone (**AR**)



progesterone (**PR**)



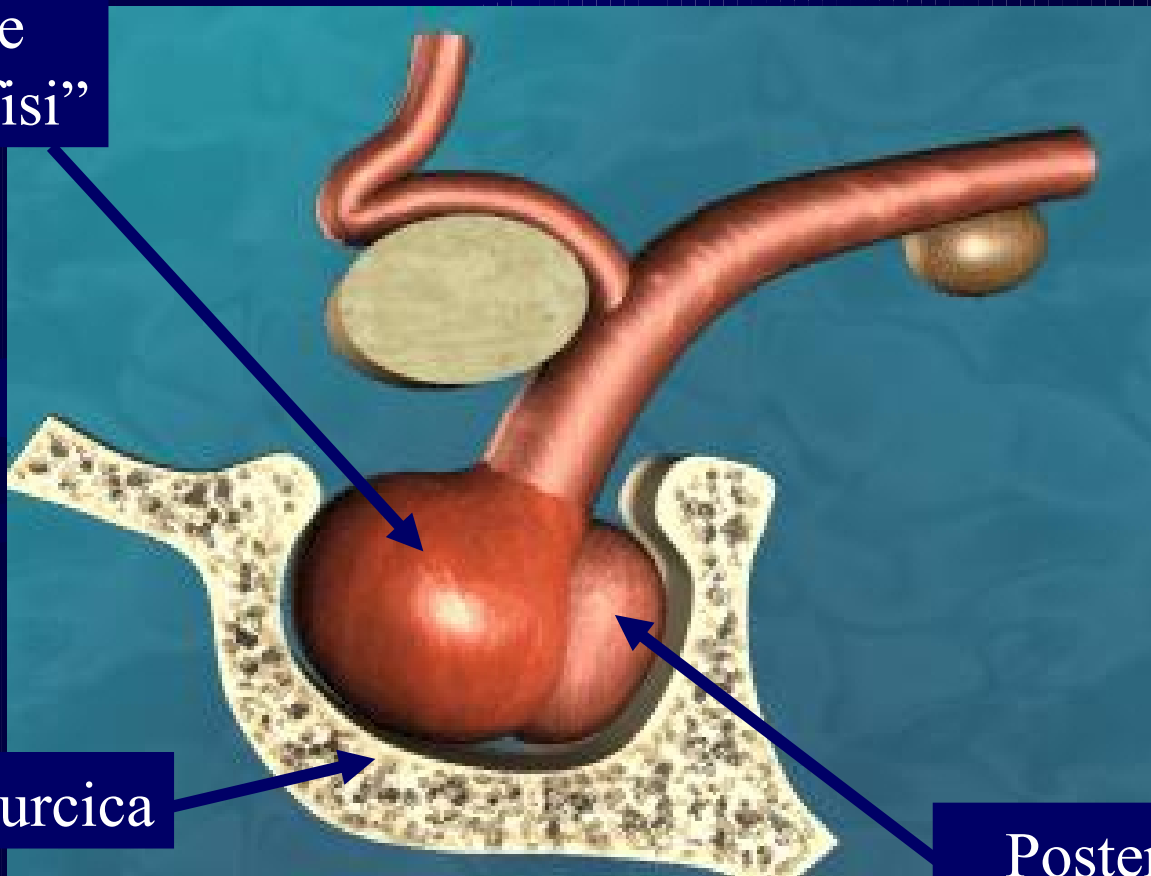
cortisol (**GR**)



aldosterone (**MR**)

Ghiandola pituitaria

Anteriore
“adenoipofisi”

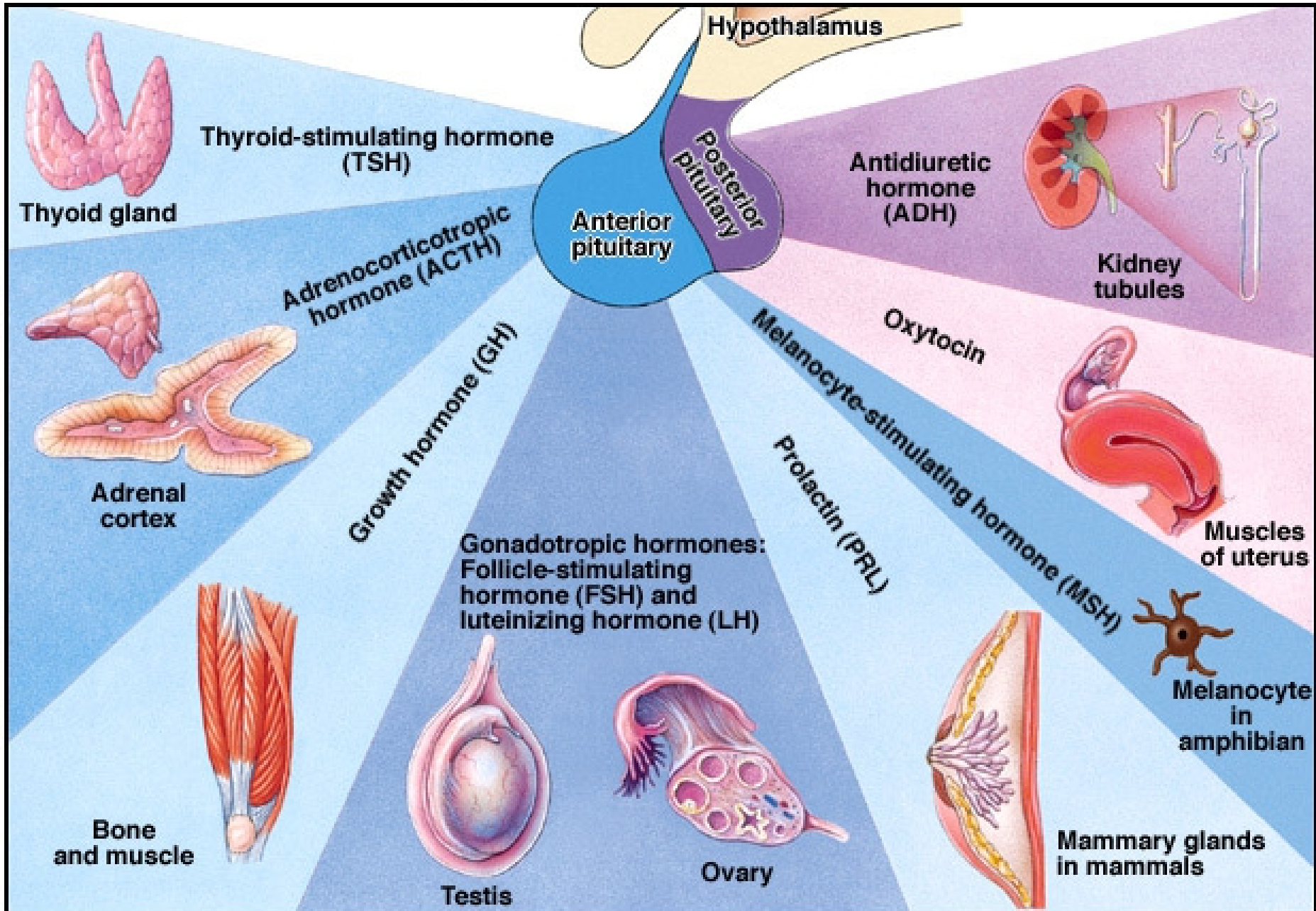


Sella Turcica

Posteriore
“neuroipofisi”

Ciascuna delle due parti ha un ruolo distinto nella regolazione ormonale

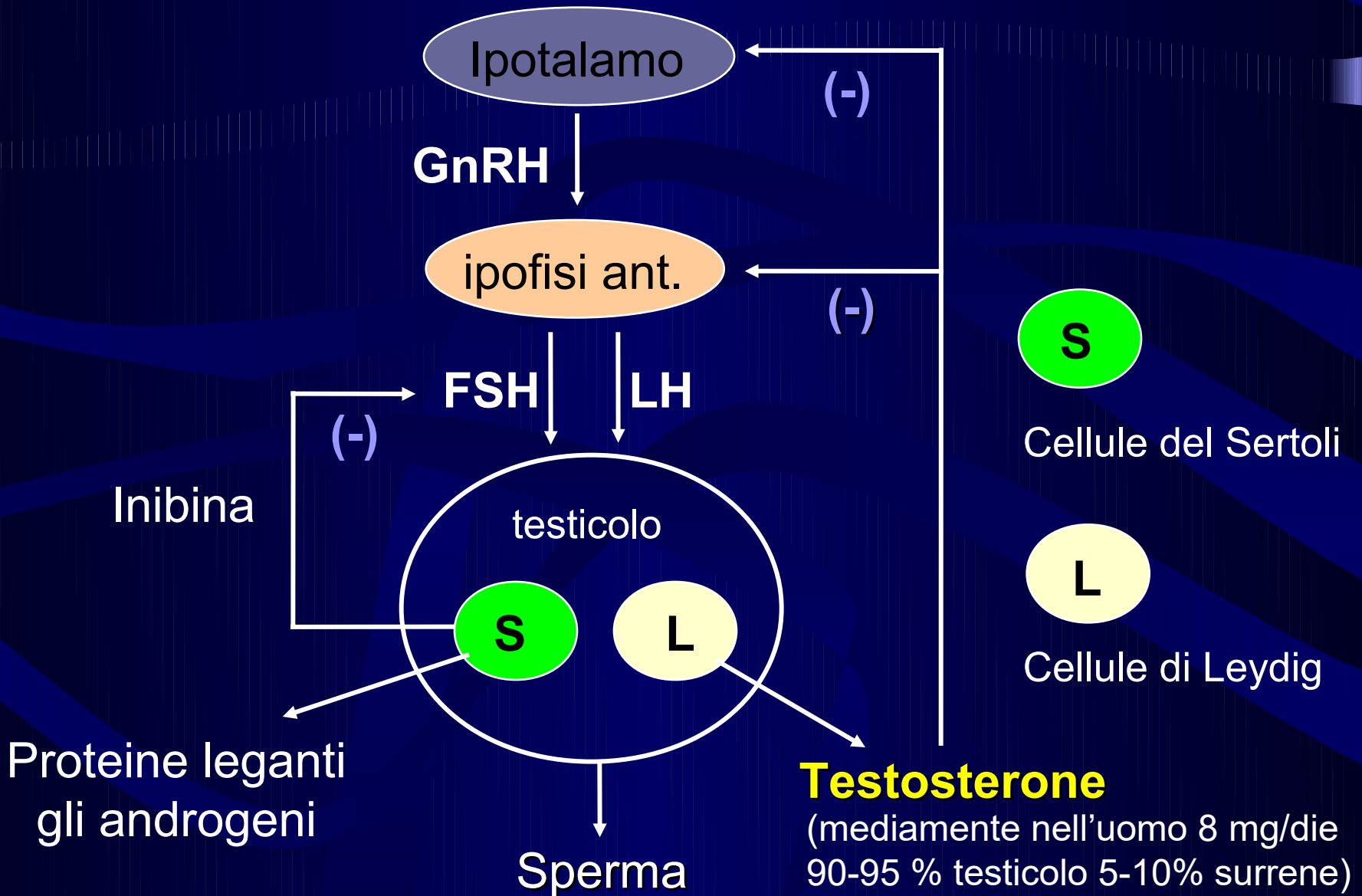
Pituitary Gland Hormones



Robert Wadlow — Gigantism Caused by Pituitary Tumor



Produzione del testosterone



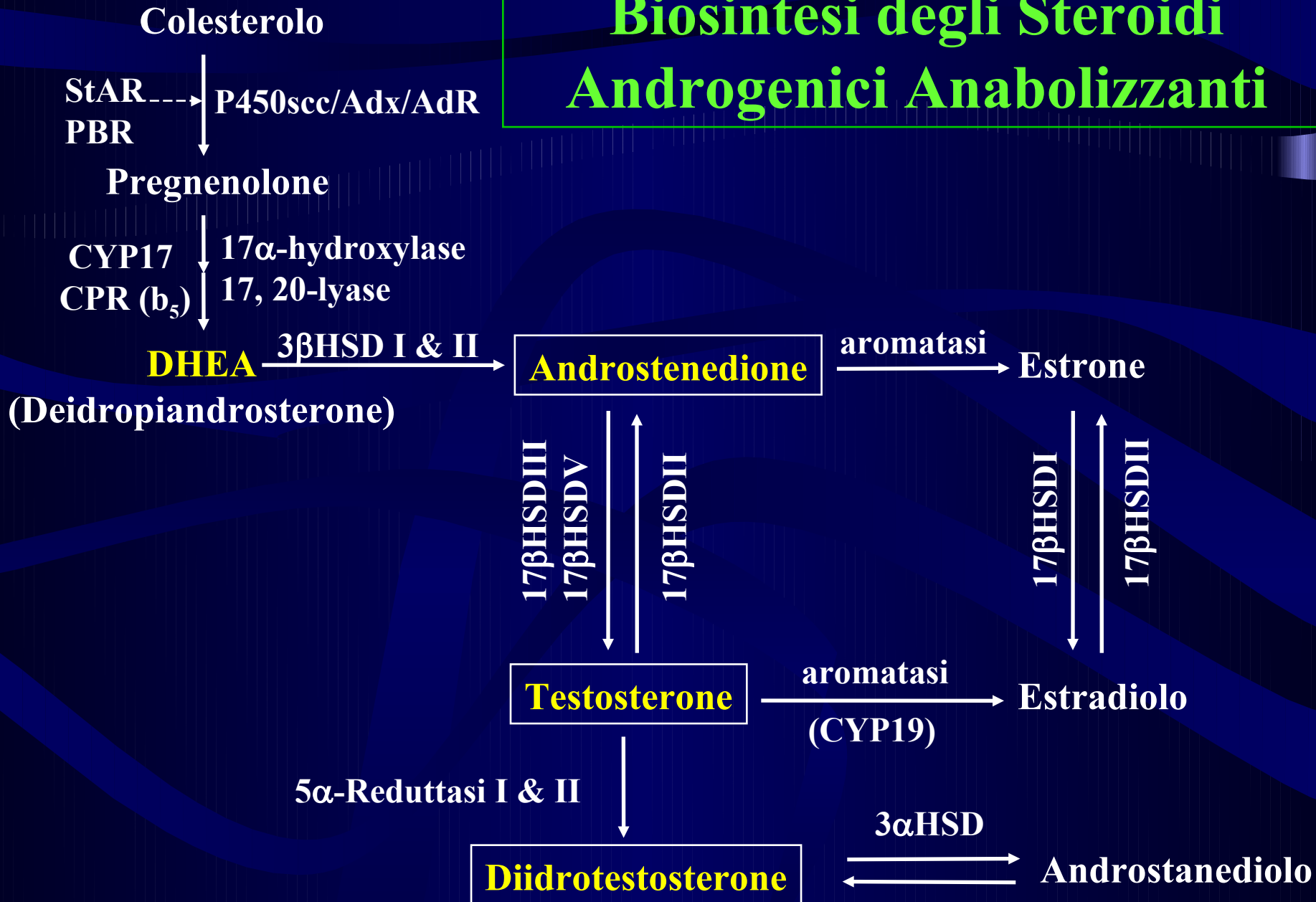
Proteine leganti gli ormoni

Sia androgeni che estrogeni si legano alle proteine plasmatiche; solo il 2% degli ormoni circolanti non sono legati: tale quota è quella biologicamente attiva. L'elevato legame prolunga l'emivita degli ormoni

Albumine: non specifiche; bassa affinità; (58% legame)

Gamma globuline: globuline leganti gli ormoni sessuali (SHBG); specifiche; alta affinità; (40% legame)

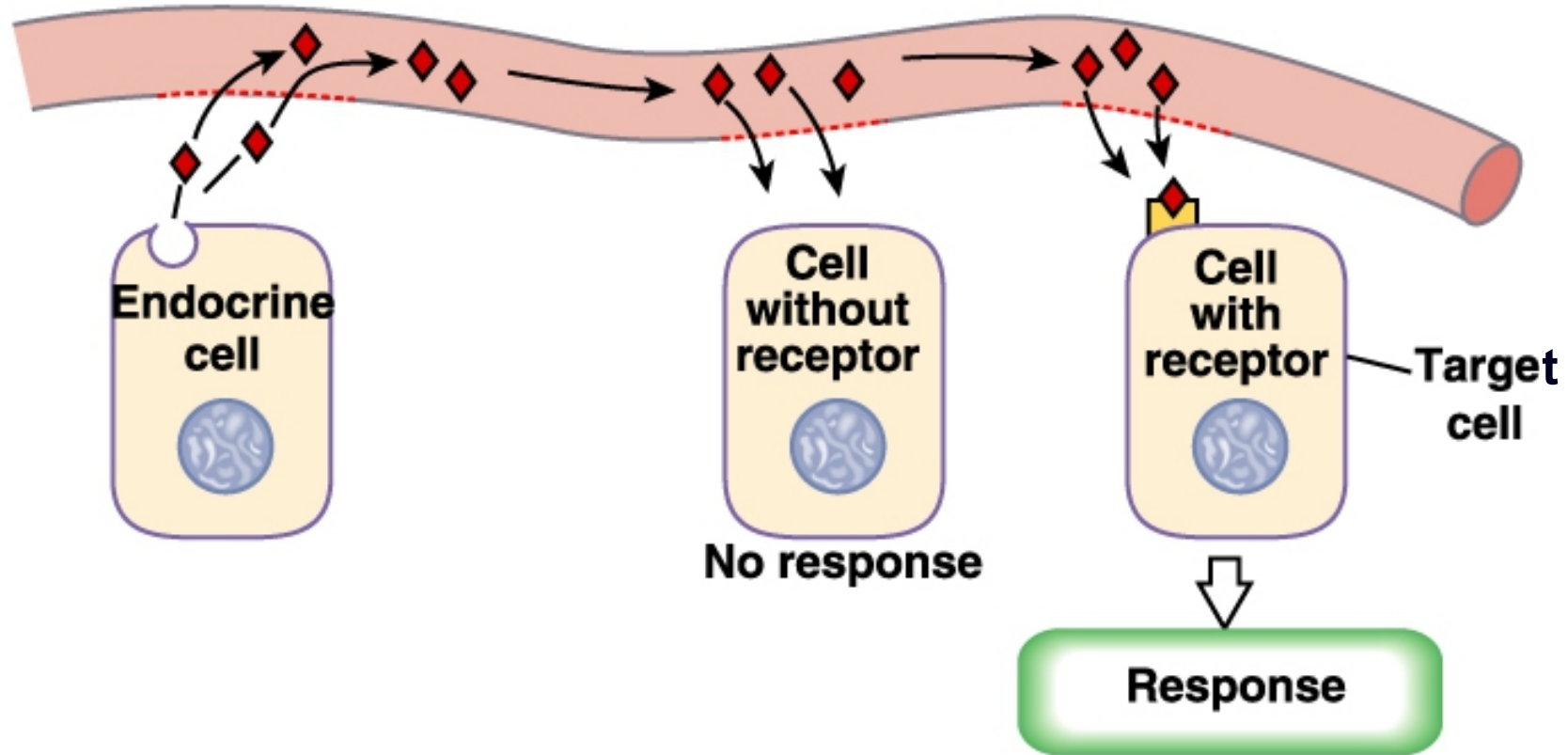
Biosintesi degli Steroidi Androgenici Anabolizzanti



Meccanismo d'azione del testosterone

- Diffonde nelle cellule target
- Metabolizzato a **diidrotestosterone**
- Si lega a recettori citoplasmatici
- Il complesso attivo trasloca nel nucleo legandosi a livello del DNA in regioni promotrici (siti di fattori di trascrizione) e altera la trascrizione genetica

Segnali ormonali



Schema semplificato del meccanismo d'azione ormonale

CELLULA BERSAGLIO

Ormone

recettore

Nucleo

DNA

H/R

trascrizione

Gln

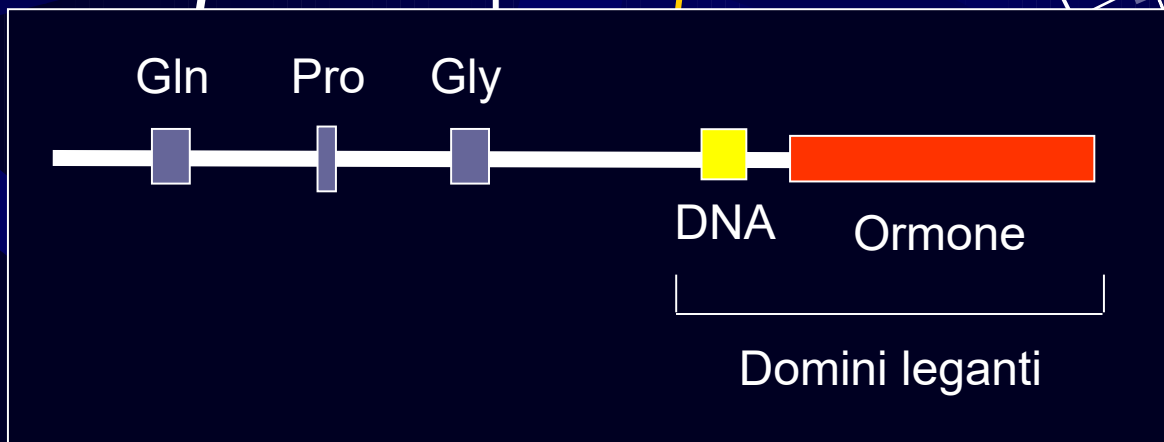
Pro

Gly

DNA

Ormone

Domini leganti



TESTOSTERONE

5-alfa reduttasi

Diidrotestosterone

Recettore androgeni
(NR3A)

Genitali esterni

*Differenziamento nella gestazione
Maturazione durante la pubertà
Patologie prostatiche*

Follicoli piliferi

*Incrementata crescita
durante la pubertà*

CYP19 (aromatasi)

Estradiolo

Recettore estrogeni

Osso

*Chiusura epifisi,
aumentata densità*

? Libido

Recettore androgeni
(NR3A)

Genitali interni

Sviluppo durante la gestazione

Muscolo scheletrico

*Aumento massa e forza
durante la pubertà*

Eritropoiesi

? Osso

Organi bersaglio ed effetti fisiologici del testosterone e dei suoi metaboliti

- SNC (↑ libido, benessere, aggressività)
- Ipotalamo/Pituitaria (↓ GnRH, LH, FSH; ↑ GH)
- Laringe (abbassamento voce)
- Petto (↑ dimensione)
- Fegato (↓ SHBG, HDL)
- Rene (↑ eritropoietina, ritenzione idrosalina)
- Genitali (↑ sviluppo, spermatogenesi, funzione erettile)
- Cute (↑ peli, produzione di sebo con conseguente acne)
- Ossa (↑ densità ossea)
- Muscolo (↑ massa magra, forza)
- Tessuto adiposo (↑ lipolisi, ↓ grasso addominale)
- Sangue (↑ ematocrito)
- Sistema immunitario (↓ produzione auto-anticorpi)
- Prostata (↑ dimensione)

Raggruppamento azioni farmacologiche

- **Azioni morfogeniche:** irreversibili; si verificano durante l'embriogenesi
- **Azioni stimolatorie:** pubertà (peli, corde vocali, ossa)
- **Azioni di mantenimento:** reversibili; comportamento, libido, funzione riproduttiva
- **Altre azioni:** diminuzione tessuto linfoide; stimolazione eritropoiesi.

Raggruppamento azioni farmacologiche

- **Effetti virilizzanti:** regolazione gonadotropine; spermatogenesi; sviluppo sessuale
- **Effetti anabolici proteici:** incremento densità ossea, massa muscolare, globuli rossi

Usi clinici

Terapia sostitutiva

Ipogonadismo

prepuberale: congenito e acquisito; terapia per 2-3 anni fino alla pubertà; dosi basse di mantenimento

postpuberale: disfunzione testicolare primaria; secondario alla distruzione dell'adenoipofisi

Invecchiamento e impotenza

Usi clinici

Tumore mammella; endometriosi

uso limitato a causa degli effetti virilizzanti

Azione anabolica proteica:

aumentato uptake aminoacidi; incremento RNA polimerasi nel muscolo scheletrico; antagonismo delle azioni dei glucocorticoidi; utilizzato per persone di bassa statura (19-nortestosterone)

Specialità medicinali, contenenti steroidi anabolizzanti, per uso terapeutico in Italia

- **Clobestol**: Alfatrofodermin[®], Trofodermin[®]
- **DHEA**: Gynodian depot[®]
- **Nandrolone**: Deca-Durabolin[®], Dynabolon[®]
- **Mesterolone**: Proviron[®]
- **Ossandrolone**: Oxandrolone[®]
- **Testosterone**: Andriol[®], Androderm[®], Androgel[®], Facovit[®], TestoEnant[®], Testogel[®], Testovis[®], Testoviron[®], Sustanon[®]

AAS e doping

Steroidi anabolizzanti di uso comune



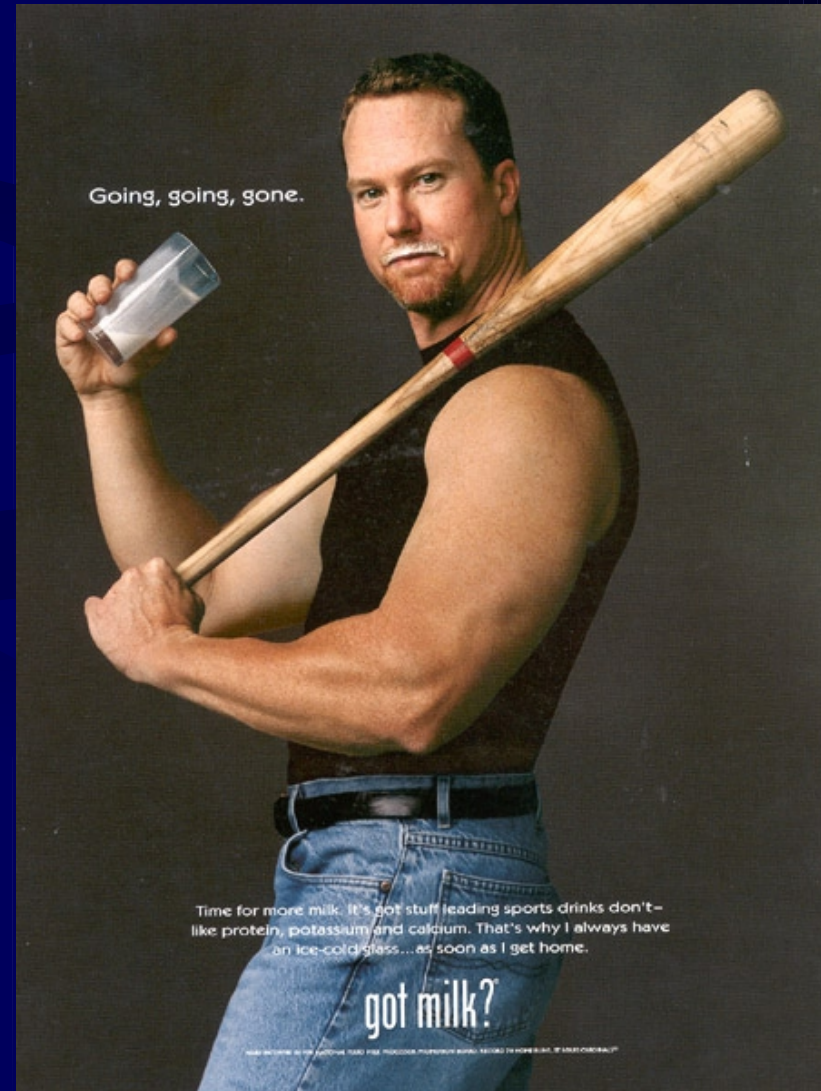
- Testosterone*
- Stanazolo
- Danazolo
- Nandrolone
- **Diidrotosterone (DHT)**
- **Deidropiandrosterone (DHEA)**
- **Androstenedione**
- Metandienone
- Tetraidrogestrinone (THG)
- Ecc. ecc.

C.J. Hunter: positivo per nandrolone (2000)

*In giallo gli ormoni naturali

Atleti come promotori del doping

- I produttori dichiaravano che l'androstenedione è un "proormone" che può aiutare a costruire i muscoli
- La sua popolarità iniziò nel 1998 "grazie" a Mark McGwire, uno dei più famosi giocatori di baseball americani, che ne promuoveva l'uso "Well, I didn't endorse it. I didn't promote it. It's just something that helped me through my workouts. Period. That's it. Everybody takes supplements when they work out. You need to." -Mark McGwire on Androstene, ESPN Magazine May 17, 1999
- Disponibile come prodotto OTC sia negli USA che in UK



Tetraidrogestrinone (THG)

- Il tetraidrogestrinone (THG) è uno steroide anabolizzante specificatamente sviluppato come sostanza per aumentare la performance fisica e per cercare di evitare la sua individuazione nei test antidoping (**Nature 2003; 425:752**)
- Atleti del baseball negli USA, quali Barry Bonds, Jason Giambi e Gary Sheffield, hanno testimoniato nel corso di un processo contro la Bay Area Laboratory Co-Operative (BALCO)
- Negli USA si è svolta una vera e proprio guerra prima di mettere al bando questa sostanza, particolarmente utilizzata e non proibita nel baseball (ora lo è)
- Il caso del THG evidenzia la continua necessità di migliorare i metodi per la detenzione delle sostanze dopanti
- Per la prima volta il THG è stato testato alle Olimpiadi di Atene

**Efficacia del
tetraidrogestrinone
(Labrie F et al. J
Endocrinol 2005; 184:427)**

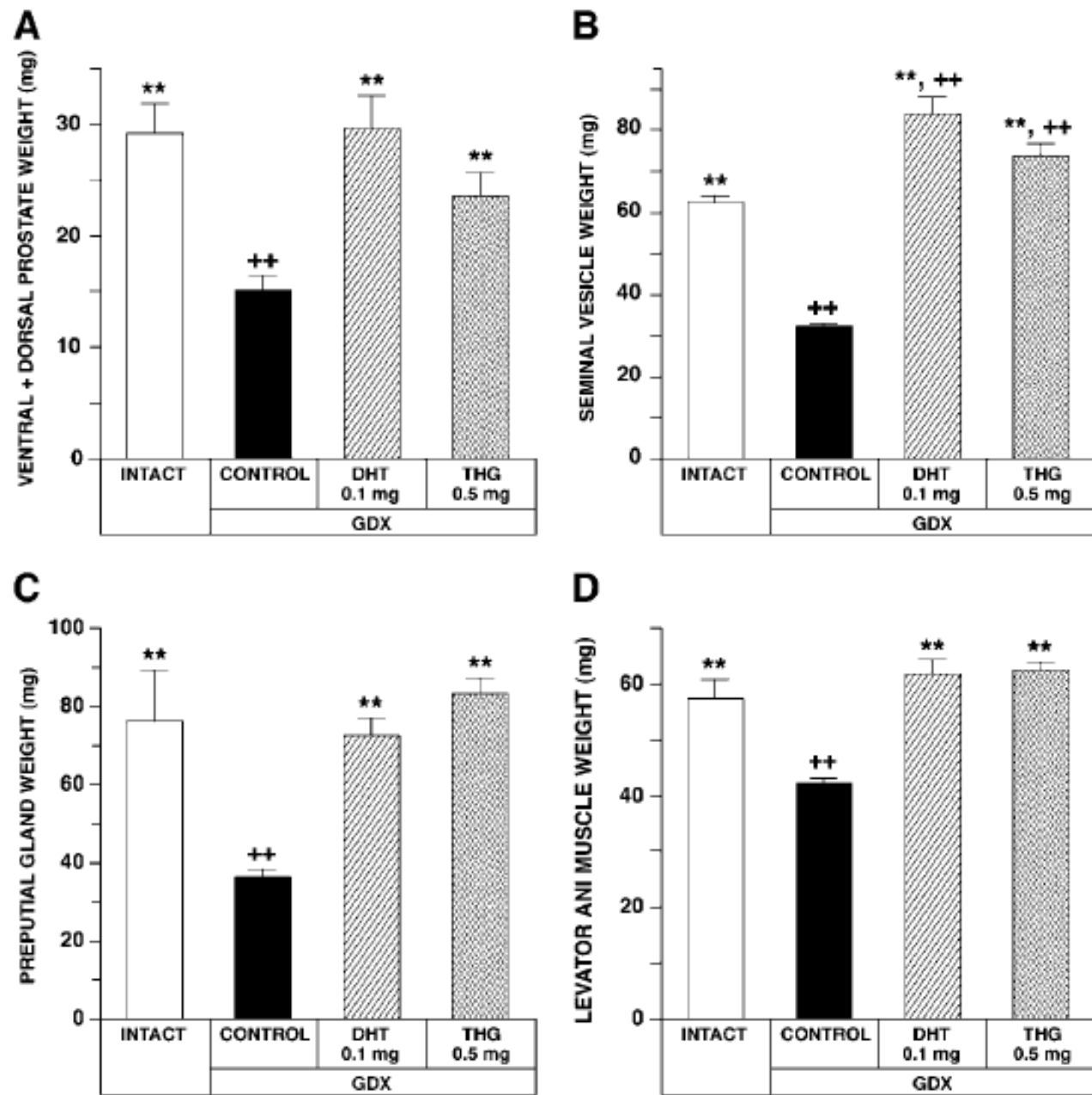


Figure 2 Effect of 7-day daily treatment with DHT or THG on the weights of (A) prostate, (B) seminal vesicle, (C) preputial gland and (D) levator ani muscle in gonadectomized (GDX) male C57BL6 mice. Data are expressed as the mean \pm s.e.m. of 10 animals per group. ** $P < 0.01$, experimental versus GDX-control mice, ++ $P < 0.01$, experimental versus intact control mice.

Modalità di assunzione degli AAS come doping

- Via somministrazione: orale o parenterale
- Ciclica: tipicamente 6-8 settimane con uguale intervallo libero
- A dosi (10-40 volte quelle terapeutiche) crescenti e poi decrescenti (regime piramidale)
- Stacking: uso contemporaneo di più anabolizzanti (tipicamente uno per os e uno iniettivo) per evitare la tolleranza a un particolare steroide
- Solleventori di peso e culturisti arrivano ad utilizzare dosi fino a 100 volte superiori a quelle terapeutiche
- Spesso si fa seguire agli steroidi anabolizzanti la gonadotropina corionica umana (hCG) per stimolare la produzione di testosterone endogeno soppresso dall'assunzione cronica degli steroidi
- L' aumento della forza muscolare da AAS è potenziato da adeguati protocolli di allenamento

Gli AAS come doping funzionano!

- Aumentano la forza e la massa muscolare. Aumentano l'aggressività, la resistenza agli allenamenti e il recupero dopo carichi di lavoro intensi
- I giovani e le donne: risentono maggiormente dell'effetto anabolizzante degli steroidi in termini di performance, ma sono anche coloro che hanno il maggior rischio di effetti collaterali

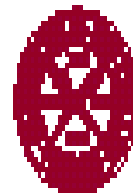
The New England Journal of Medicine

©Copyright, 1996, by the Massachusetts Medical Society

VOLUME 335

JULY 4, 1996

NUMBER 1



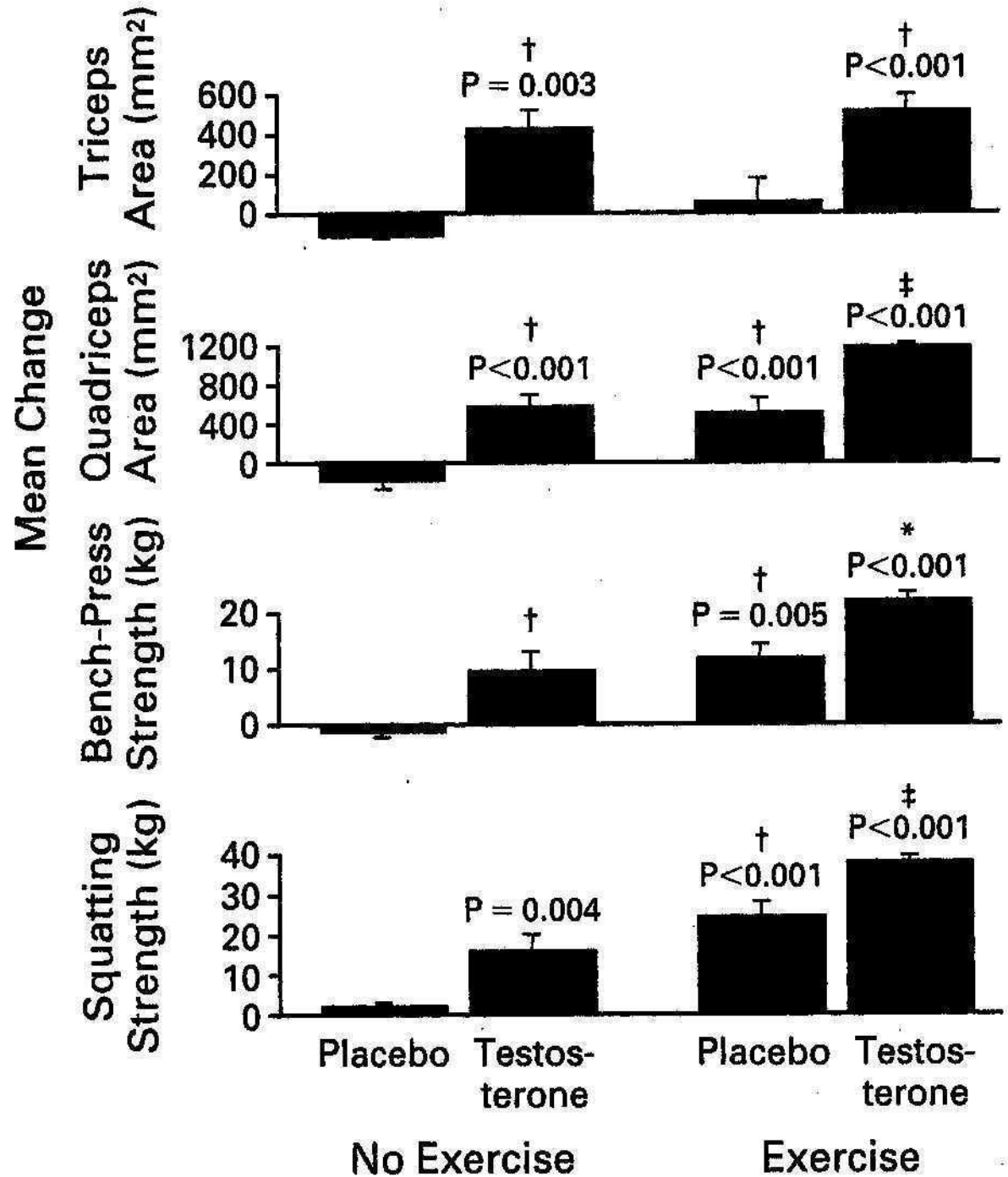
THE EFFECTS OF SUPRAPHYSIOLOGIC DOSES OF TESTOSTERONE ON MUSCLE SIZE AND STRENGTH IN NORMAL MEN

SHALENDER BHASIN, M.D., THOMAS W. STORER, PH.D., NANCY BERMAN, PH.D., CARLOS CALLEGARI, M.D.,
BRENDA CLEVINGER, B.A., JEFFREY PHILLIPS, M.D., THOMAS J. BUNNELL, B.A., RAY TRICKER, PH.D., AIDA SHIRAZI, R.Ph.,
AND RICHARD CASABURI, PH.D., M.D.

Caratteristiche dello studio di Bashin S. et al. (NEJM 1996)

- Studio randomizzato in doppio cieco su 43 soggetti
- Quattro bracci: 1) Placebo 2) Testosterone 3) Esercizio fisico + placebo 4) Esercizio fisico + testosterone
- Dosaggio di testosterone: 600 mg/settimana per 10 settimane
- Misurazione massa muscolare con Risonanza Magnetica
- Misurazione della forza muscolare con esercizi alla panca e allo squatting
- Tutte le misurazioni prima e dopo il trattamento (placebo o testosterone)

Bhasin et al
NEJM 335:1-7 (1996)



"Occhio" ai numeri

	<u>No Exercise</u>		<u>+ Exercise</u>	
	Placebo	Test.	Placebo	Test.
<u>Δ Bench</u>	0	2.2	8.4	2.8
Δ W t				
<u>Δ Squat</u>	1.8	2.9	1.8	4.7
Δ W t				

Bhasin et al NEJM 335:1-7 (1996)

Relazione dose-risposta degli steroidi anabolizzanti

Am J Physiol Endocrinol Metab
281: E1172–E1181, 2001.

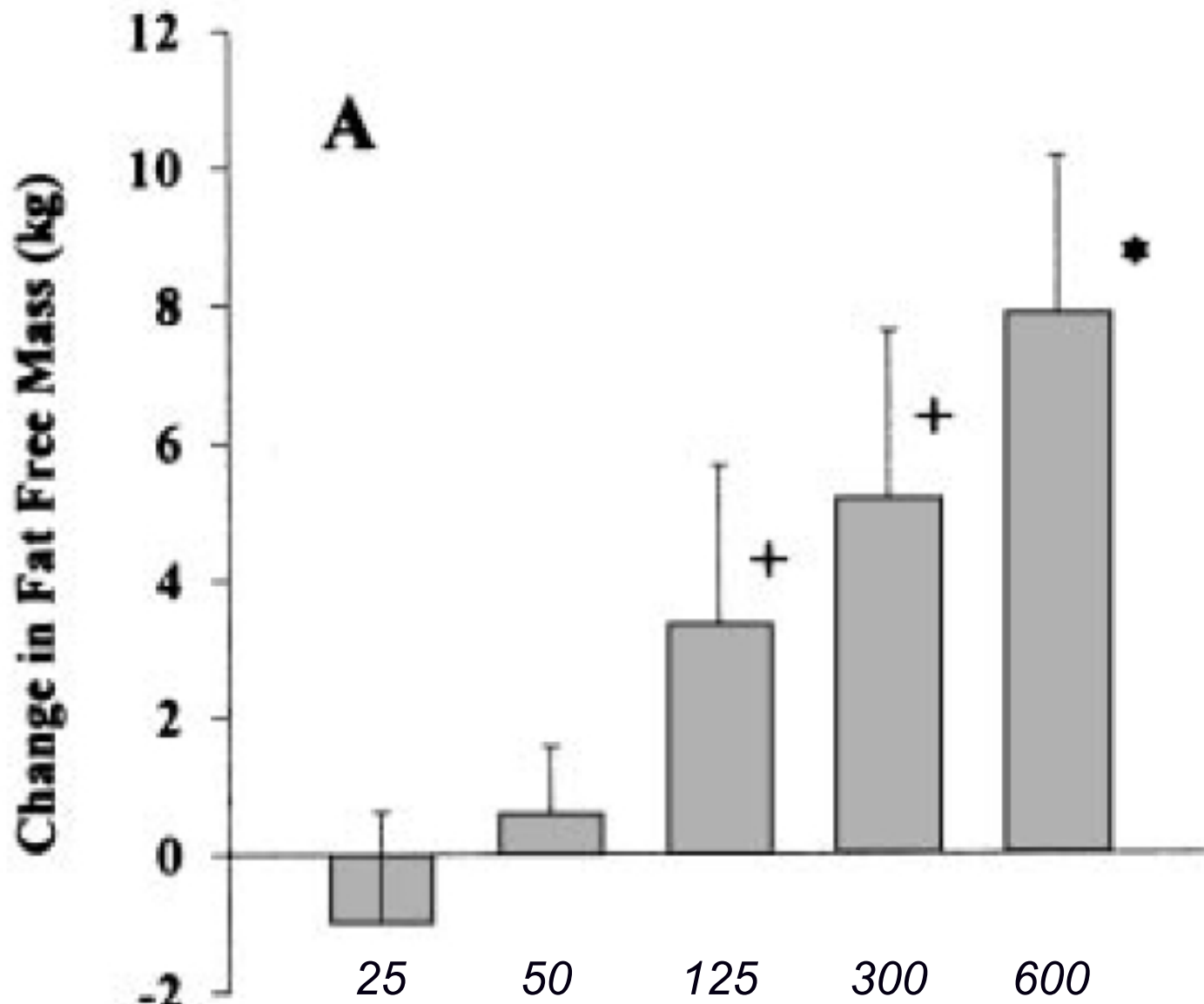
Testosterone dose-response relationships in healthy young men

SHALENDER BHASIN,¹ LINDA WOODHOUSE,¹ RICHARD CASABURI,³ ATAM B. SINGH,¹
DIMPLE BHASIN,³ NANCY BERMAN,³ XIANGHONG CHEN,⁴ KEVIN E. YARASHESKI,⁴
LYNNE MAGLIANO,² CONNIE DZEKOV,¹ JEANNE DZEKOV,¹ RACHELLE BROSS,³
JEFFREY PHILLIPS,³ INDRANI SINHA-HIKIM,¹ RUOQUING SHEN,¹
AND THOMAS W. STORER²

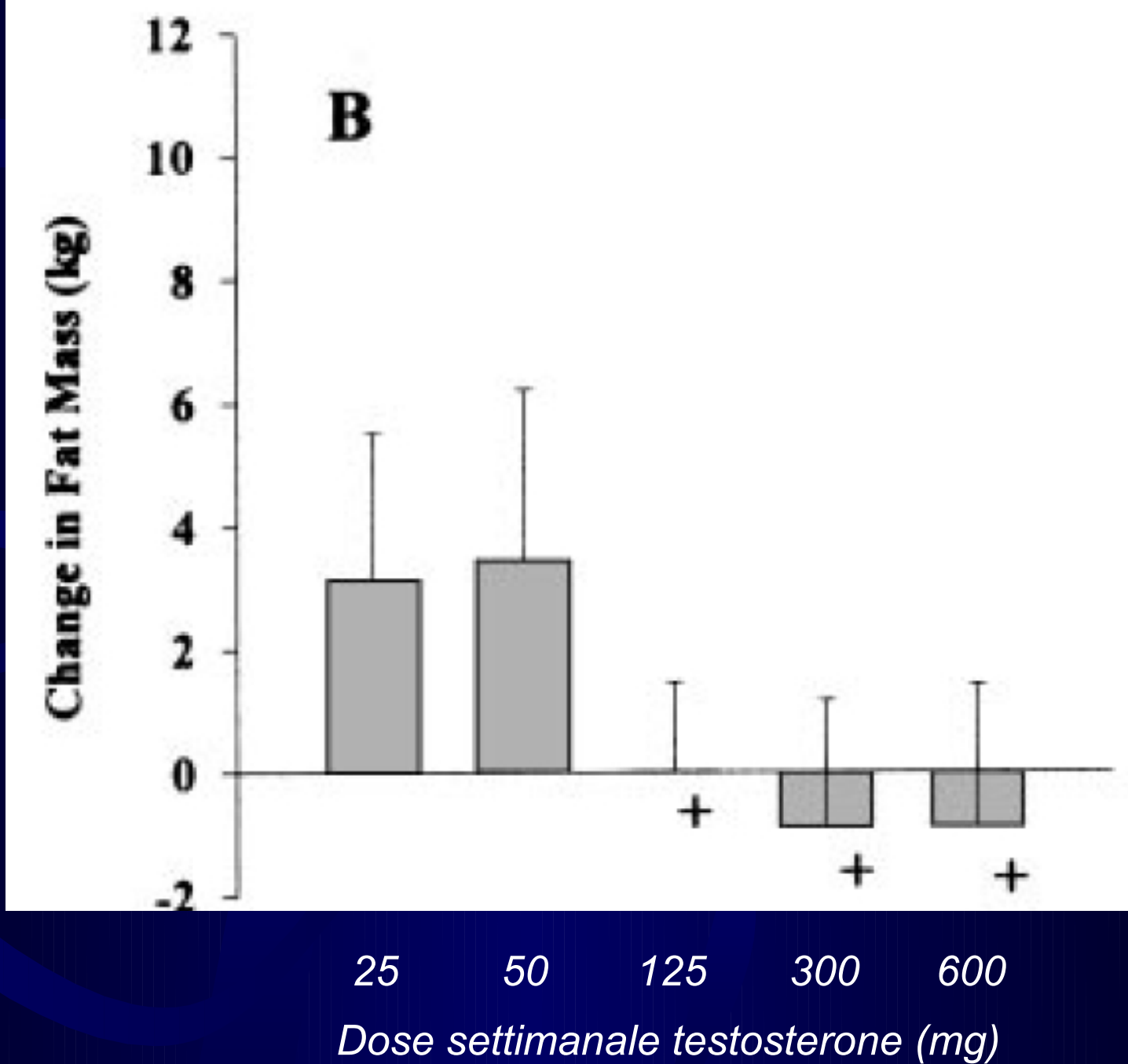
¹*Division of Endocrinology, Metabolism, and Molecular Medicine, Charles R. Drew University of Medicine and Science, Los Angeles 90059;* ²*Laboratory for Exercise Sciences, El Camino College, and* ³*Harbor-University of California Los Angeles Medical Center, Torrance, California 90502; and* ⁴*Biomedical Mass Spectrometric Research Resource, Department of Internal Medicine, Washington University, School of Medicine, St. Louis, Missouri 63110*

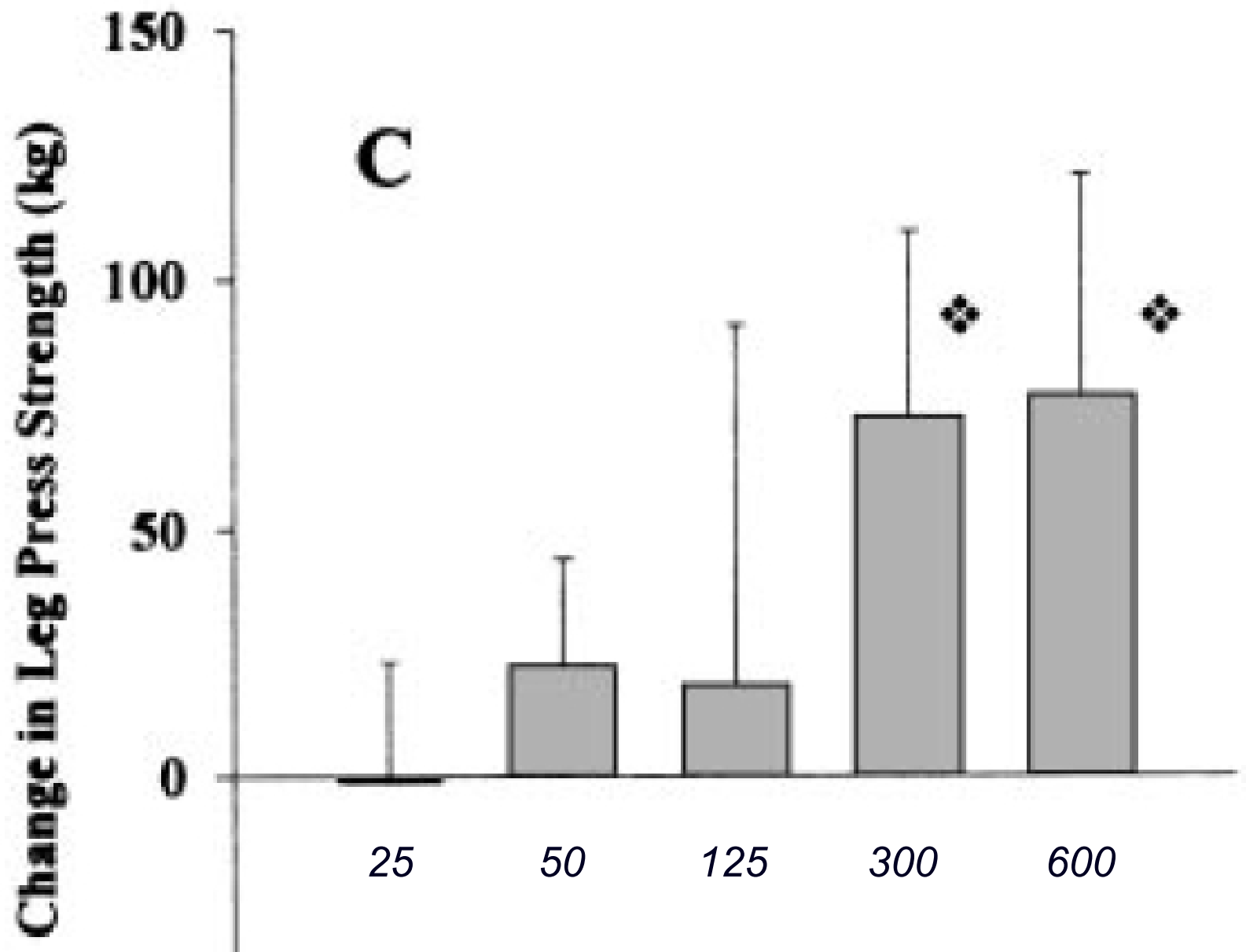
Caratteristiche dello studio di Bashin S. et al. (Am J Physiol Endocrinol Metab 2001)

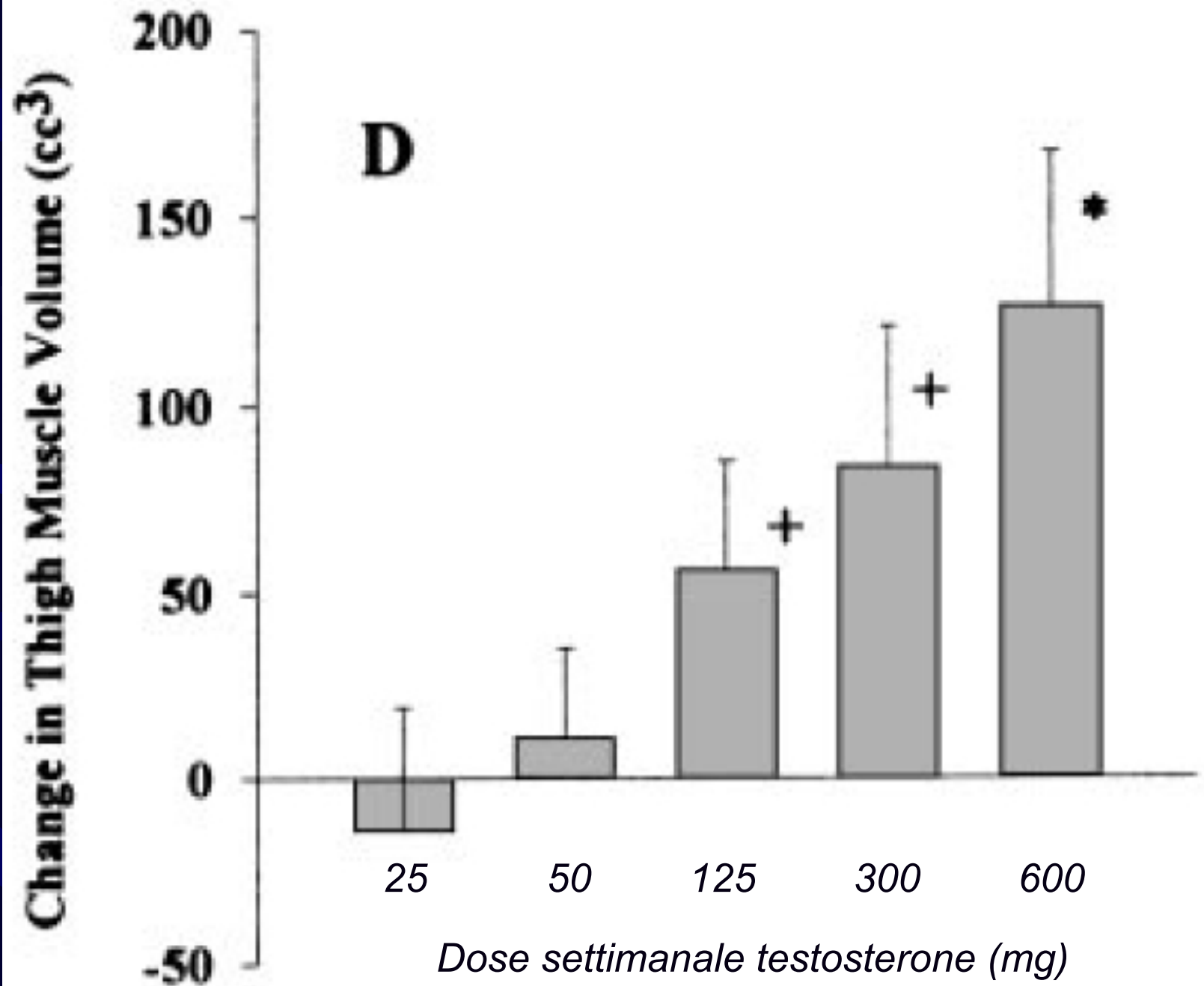
- Studio randomizzato in doppio cieco su 61 soggetti (18-35 anni) trattati con diverse dosi di testosterone
- Cinque gruppi: 1) 25 mg/sett. 2) 50 mg/sett. 3) 125 mg/sett. 4) 300 mg/sett. 5) 600 mg/sett.
- Durata trattamento 20 settimane
- Misurazioni: ad inizio e alla 20^a settimana. Il volume della coscia misurato con RM. La forza misurata con un esercizio allo squatting

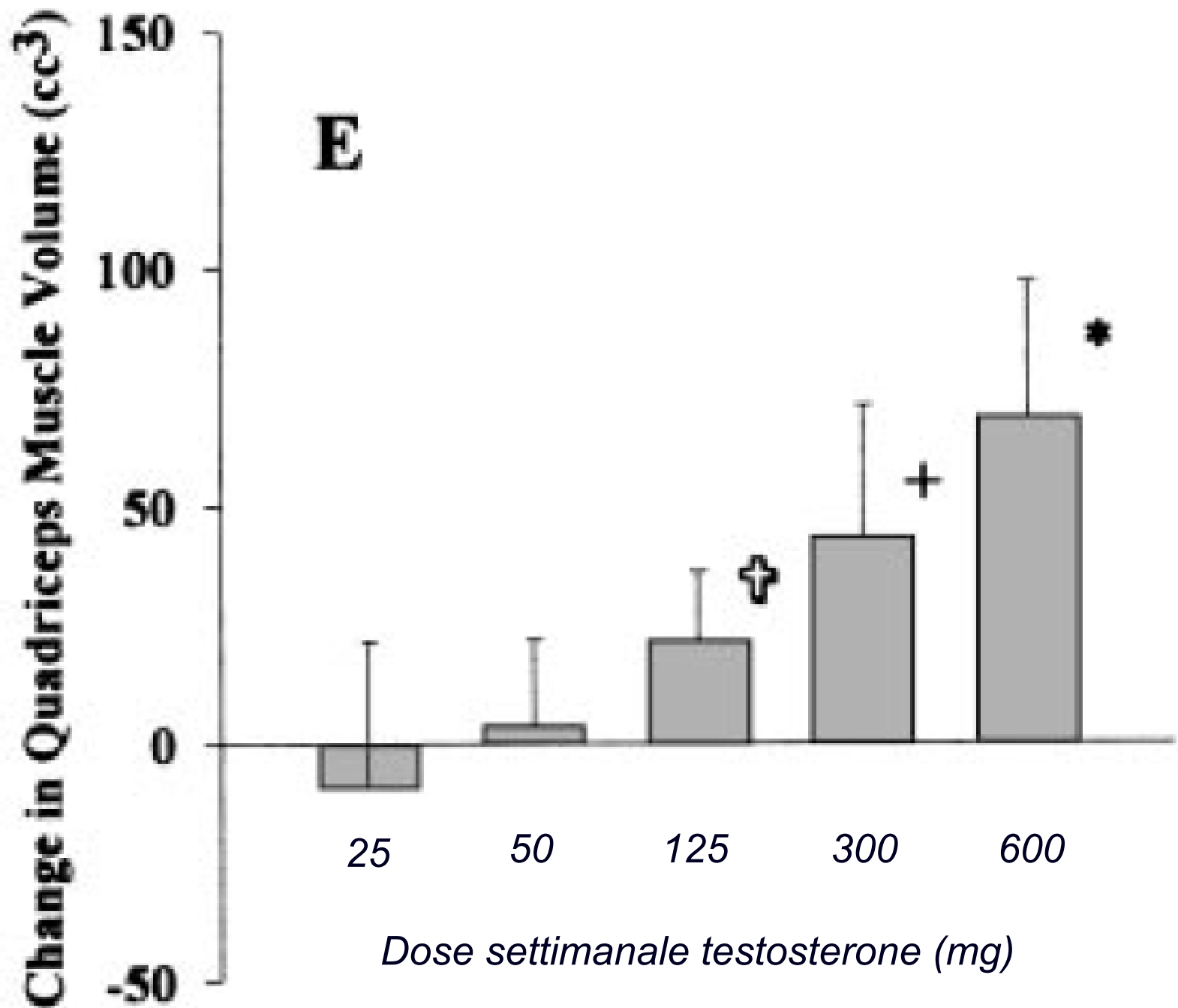


Dose settimanale testosterone (mg)

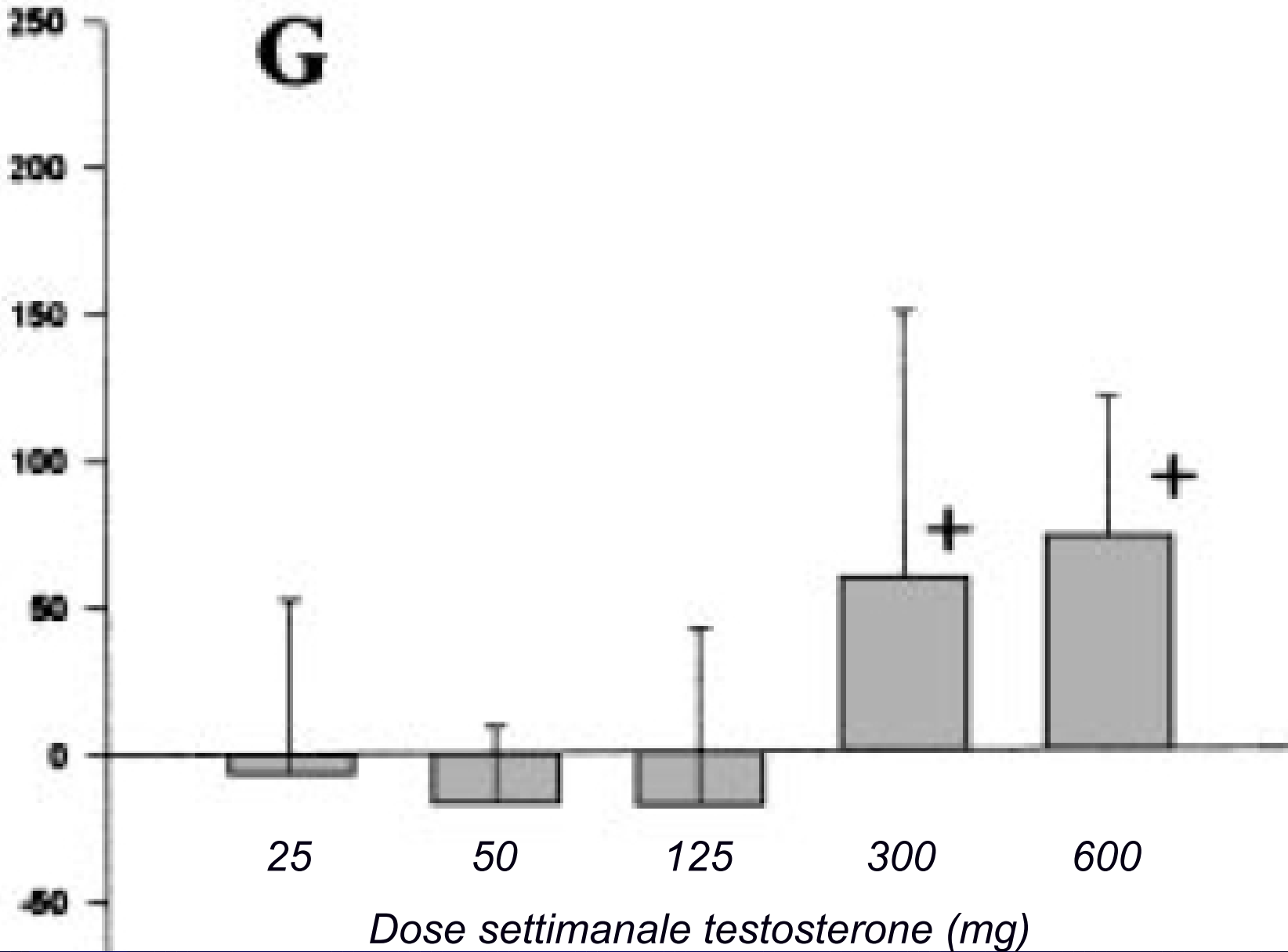




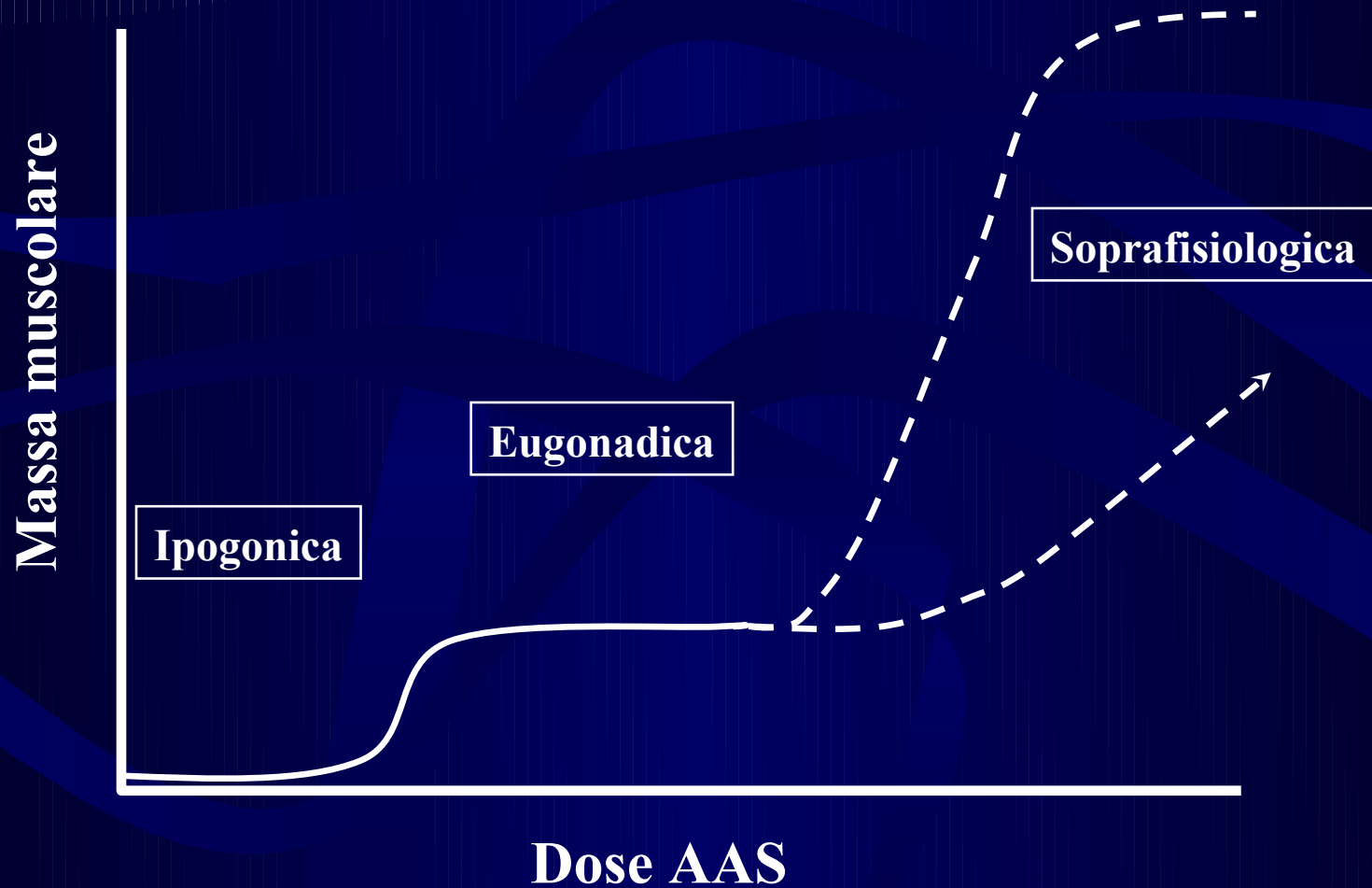




Change in Insulin-like Growth Factor 1 (ng/ml)



Curve Dose-Risposta AAS

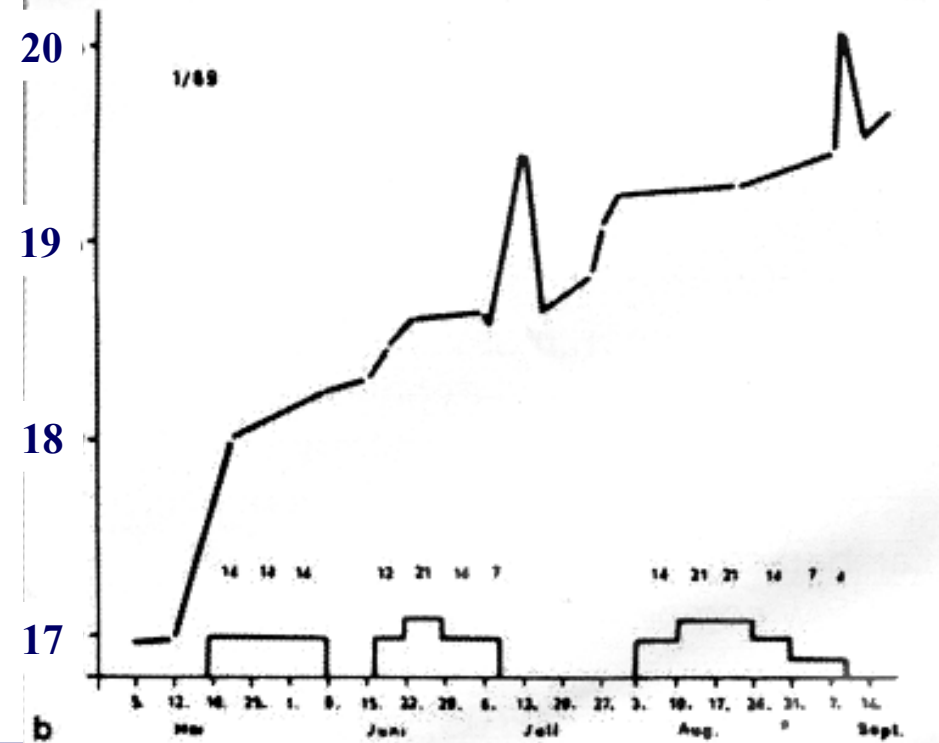


Turinabol orale: effetto sul lancio del peso in un atleta donna della DDR

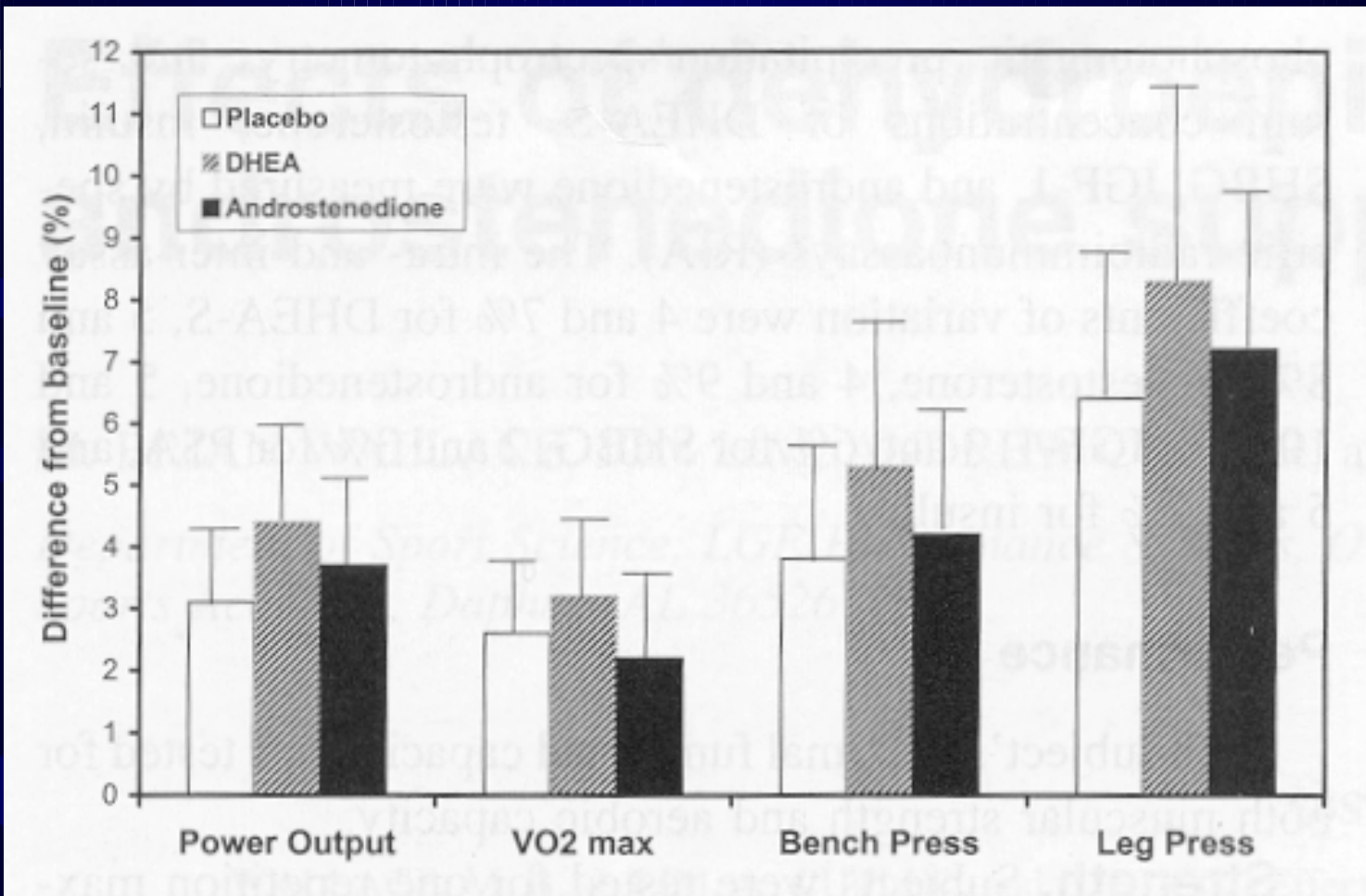
Distance (meters)



Distance (meters)



Non sempre funzionano: effetti del DHEA e androstenedione dopo 12 settimane di allenamento



Tecniche antidoping per AAS

- **Steroidi sintetici: individuabili con gas-cromatografia o spettrofotometria di massa**
 - **HPLC-MS di metaboliti coniugati**
- **Per indagare la somministrazione esogena di testosterone viene usato il rapporto testosterone/epitestosterone nelle urine**
- **Un T/E > 4 è considerato doping (normale < 2)**
- **Altro rapporto indicativo: T/LH > 30**
- **Rapporto di 5 α /non-5 α C₁₉ steroidi**

Antidoping AAS

Strategie per evitare di essere individuati

- Utilizzo di sostanze difficili da individuare
- Periodi di astinenza
 - AAS sintetici iniettabili individuali fino ad oltre 6 mesi
- Diuretici per diluire le urine
- Uso di **ketoconazolo**: riduce l'eliminazione del testosterone endogeno fornendo così un rapporto T/E "normale"
- Uso di **finasteride** per diminuire la formazione dei metaboliti 5 α -ridotti
- Assunzione di epitestosterone
- Contaminanti batterici
- Alterare i campioni (sostituzione, ecc.)

Individuare il diidrotestosterone (DHT)

- **Problemi: breve emivita DHT endogeno**
- **Isotope Ratio Mass Spectrometry**
 - ^{13}C contenuto di DHT endogeno *vs* esogeno
 - $\delta^{13}\text{C}\%$ < -29 suggerisce una fonte esogena
- **Ratio of 5α :non- 5α C_{19} steroidi**
 - 5α -/ 5β - Androsterone- $3\alpha,17\beta$ -dioli
 - Sviluppato dalla Mitsubishi Chemical Co.
 - Utilizzato nei campionati di nuoto asiatici (1994) per individuare ricorso al doping nelle atlete cinesi

DHT: nuotatrici cinesi

Atleta	DHT _{corr}	5 α /5 β -A	5 α A/Etio	DHT/EpiT
1	388.67	56.61	5.70	83.14
2	89.54	12.65	1.99	24.77
2	60.73	10.21	1.92	13.22
2	77.40	10.62	1.99	29.07
2	47.93	17.75	2.26	17.43
3	18.63	14.02	2.53	4.73
4	16.38	67.88	2.91	9.38
5	28.70	62.45	2.52	6.42
5	15.68	70.52	2.51	7.80

**Limite superiore
normale:**

12.13

1.88

2.20

2.72

Reazioni avverse degli AAS

- **Cardiovascolari**
 - Cardiomiopatia, ictus, infarto miocardio
- **Fegato**
 - Danno epatocellulare, colestasi
 - Tumori
- **Dislipidemia**
 - Aumento LDL, diminuzione HDL
 - Attivazione lipasi epatiche

AAS: reazioni avverse a livello del SNC



- **Euforia, mania, paranoia**
- **Aggressività, ira, tendenza all'omicidio, abusi sessuali**
- **Depressione, tendenza al suicidio durante l'astinenza**

Dipendenza dagli AAS

- Dipendenza psicologica comune
- Dipendenza fisica controversa

Sindrome d'astinenza da AAS (modello bifasico)

- Prima fase (1-2 settimane)
 - agitazione, instabilità vasomotoria
 - Può essere necessaria ospedalizzazione
- Seconda fase (mesi)
 - depressione, debolezza
 - Esacerbazione sintomatologia da stato ipogonadale

Altre reazioni avverse degli AAS

- **Bambini**
 - Fusione piastra epifisaria
 - Arresto della crescita
- **Infezioni**
 - Ascessi/cellulite, HIV, epatiti virali
- **Rotture tendini (superallenamento?)**
- **Edemi per ritenzione idrica**
- **Policitemia**

Reazioni avverse degli AAS specifiche per l'uomo



- **Infertilità**

- Incidenza incrementata durante l'uso
- Reversibile alla sospensione e con uso di gonadotropine corioniche

- **Ginecomastia**

- Si può utilizzare il testolattone (derivato del testosterone)

- **Iperplasia prostatica, tumori prostata**

Reazioni avverse degli AAS specifiche per la donna

- **Amenorrea**
- **Atrofia del seno**
- **Irsutismo**
- **Ispessimento del clitoride**
- **Abbassamento della voce**
- **Effetti spesso irreversibili**



Abuso di steroidi anabolizzanti

Polifarmacia per mascherare gli effetti avversi

Effetti avversi

Ginecomastia

Acne

Atrofia testicolare

Edemi

Aumento peso

Farmaci

Tamoxifene

Testolattone

Tretinoina o antibiotici

hCG

Diuretici

Tiroxina

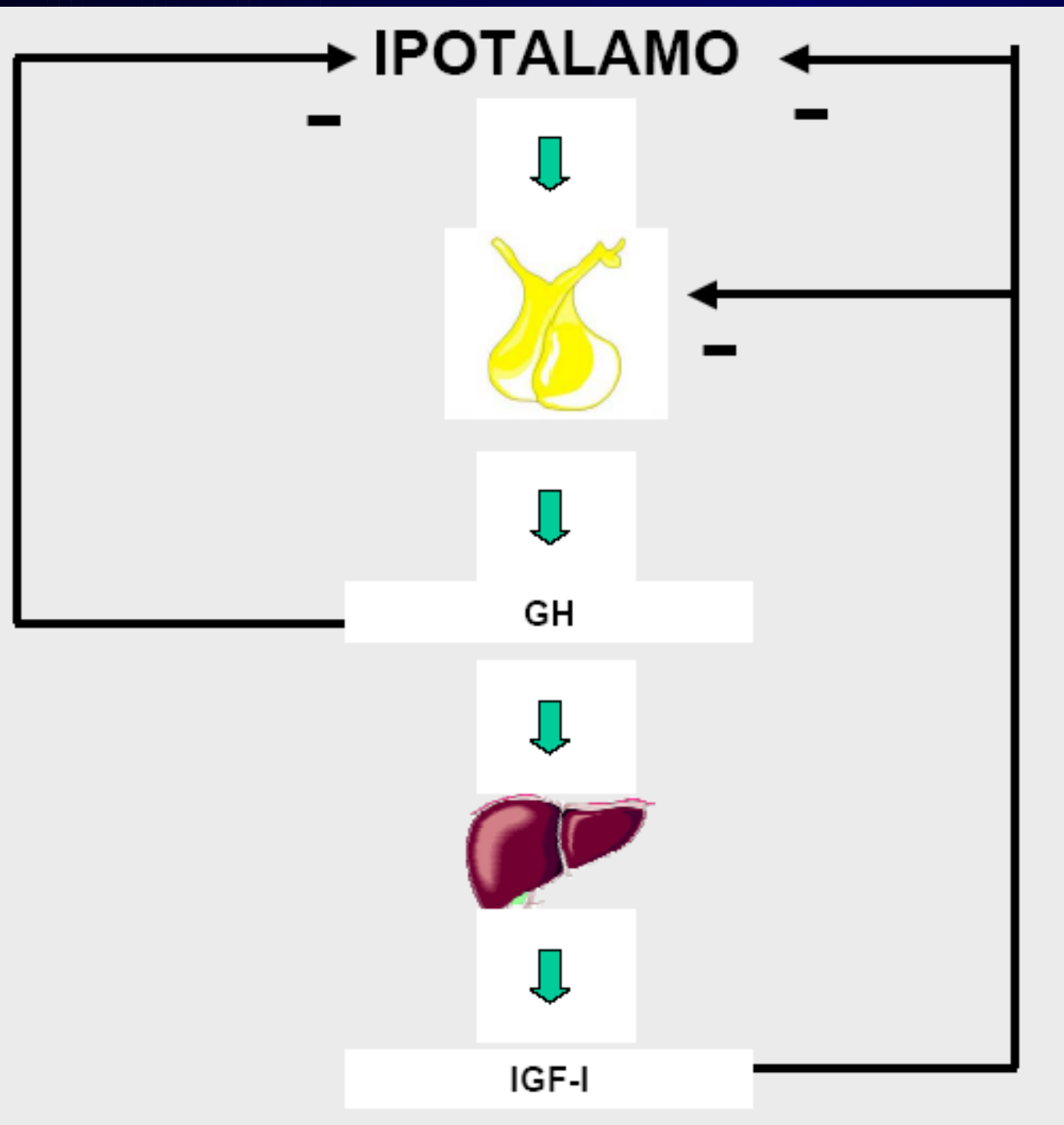


Altri anabolizzanti: es. il tibolone

- Il tibolone (Livial[®]) abbina un'attività estrogenica e progestinica con una debole attività androgenica
- Usato per la terapia dei sintomi vasomotori post menopausali e per la profilassi della osteoporosi

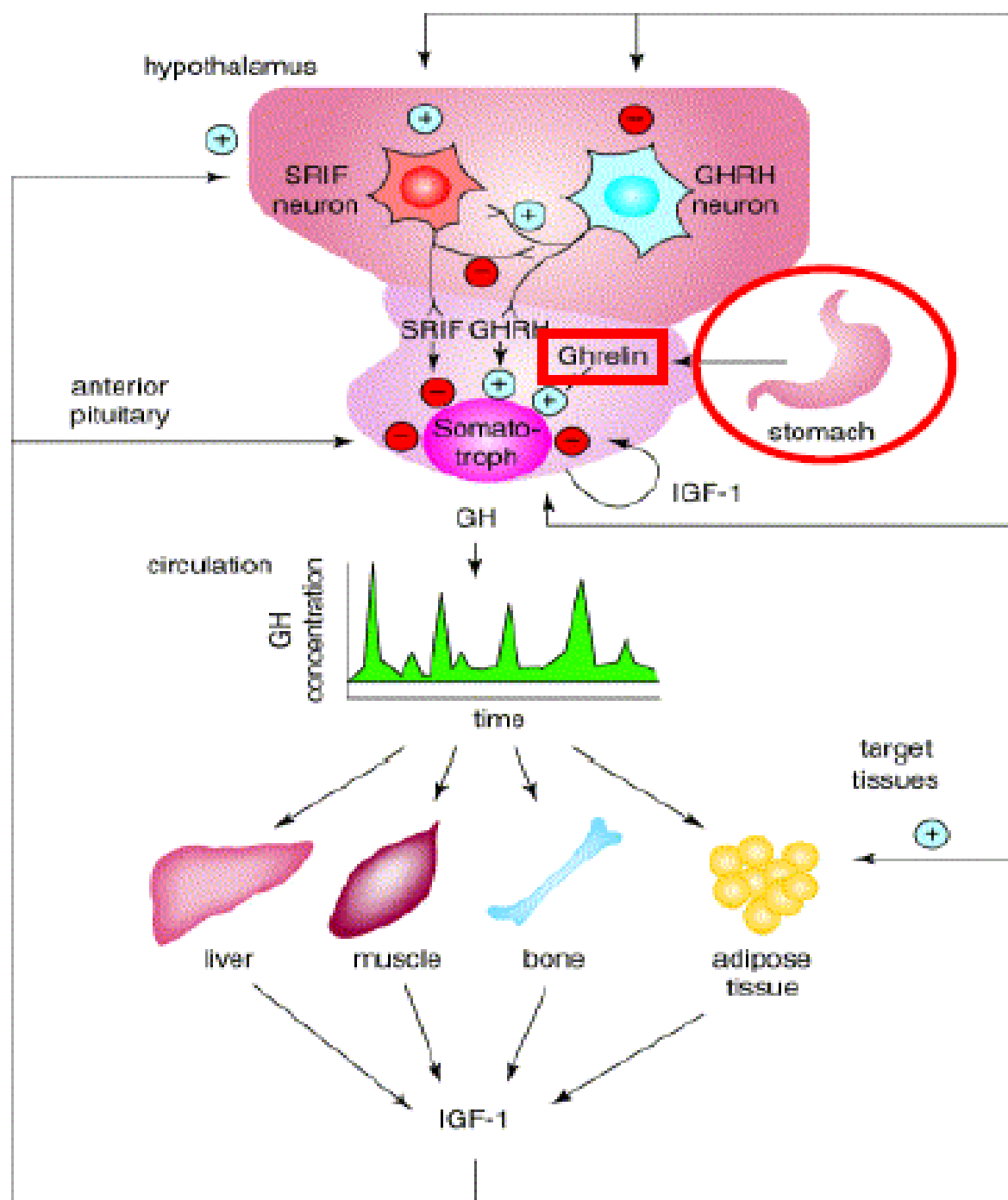
Ormone della crescita umano (hGH)

- L'“Underground Steroid handbook” (rivista californiana) già conteneva le informazioni sul hGH prima che se ne parlasse nella letteratura scientifica.
- L'uso del hGH è iniziato con hGH estrattivo, ancora oggi esistono traffici al mercato nero di **ipofisi umane**.
- Dal 1996 è prodotto mediante biotecnologia genetica
- L'approvvigionamento di GH umano ricombinante (rhGH) deriva da furti, ricette false, vendita da genitori di bambini affetti da deficit dell'ormone della crescita.
- Azione additiva con gli AAS

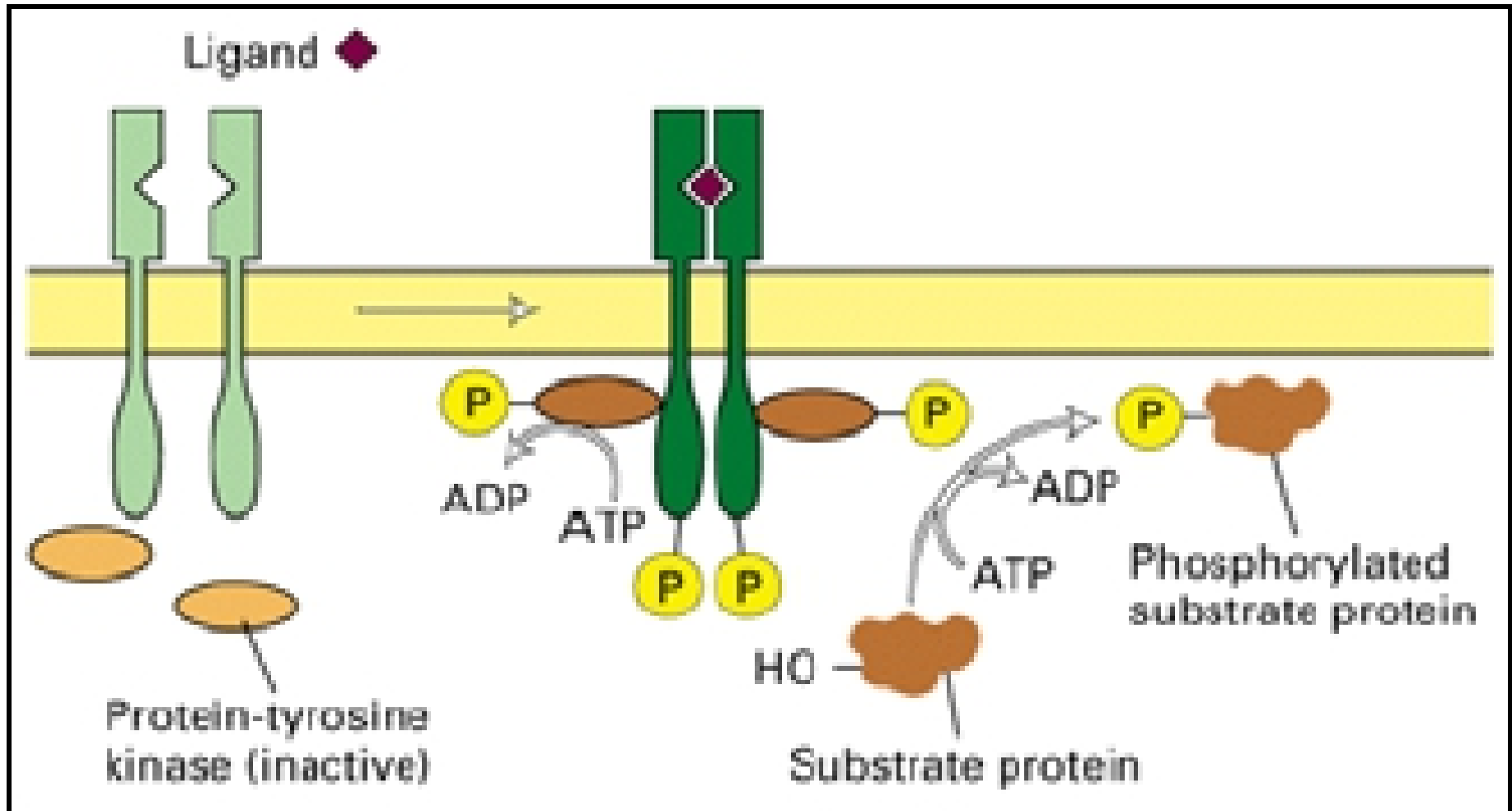


Il GH è prodotto dall'adenoipofisi

Il GH stimola la produzione di IGF-1 (Insulin-like Growth Factor) che deve il suo nome alle analogie strutturali con l'insulina

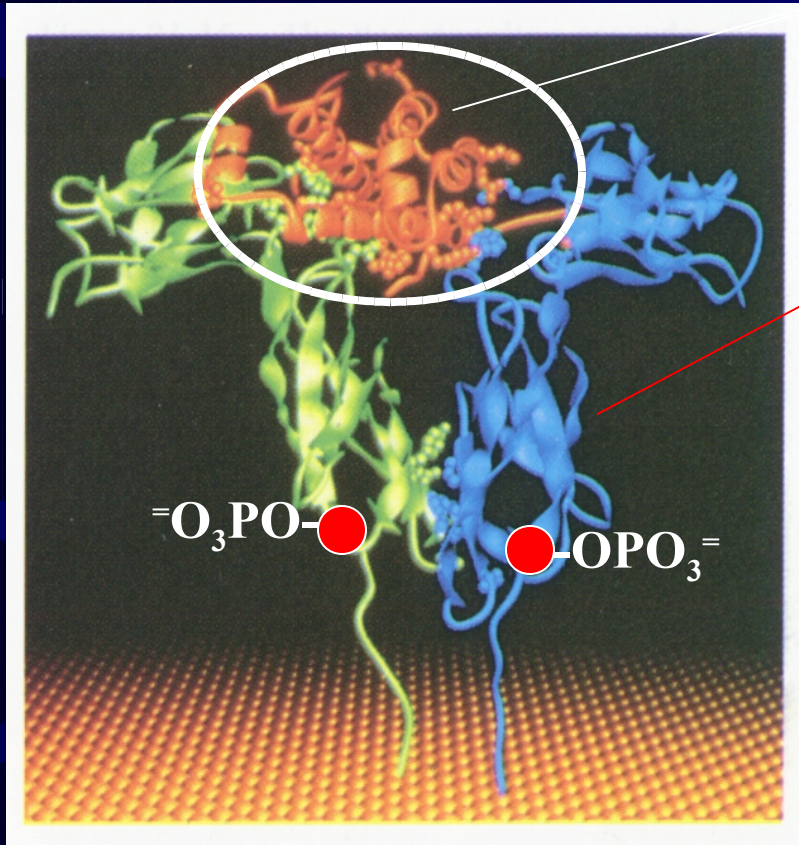


I recettori accoppiati alle tirosin-chinasi



Extracellulare

Ormone della crescita



**Dominio extracellulare
del recettore del GH**

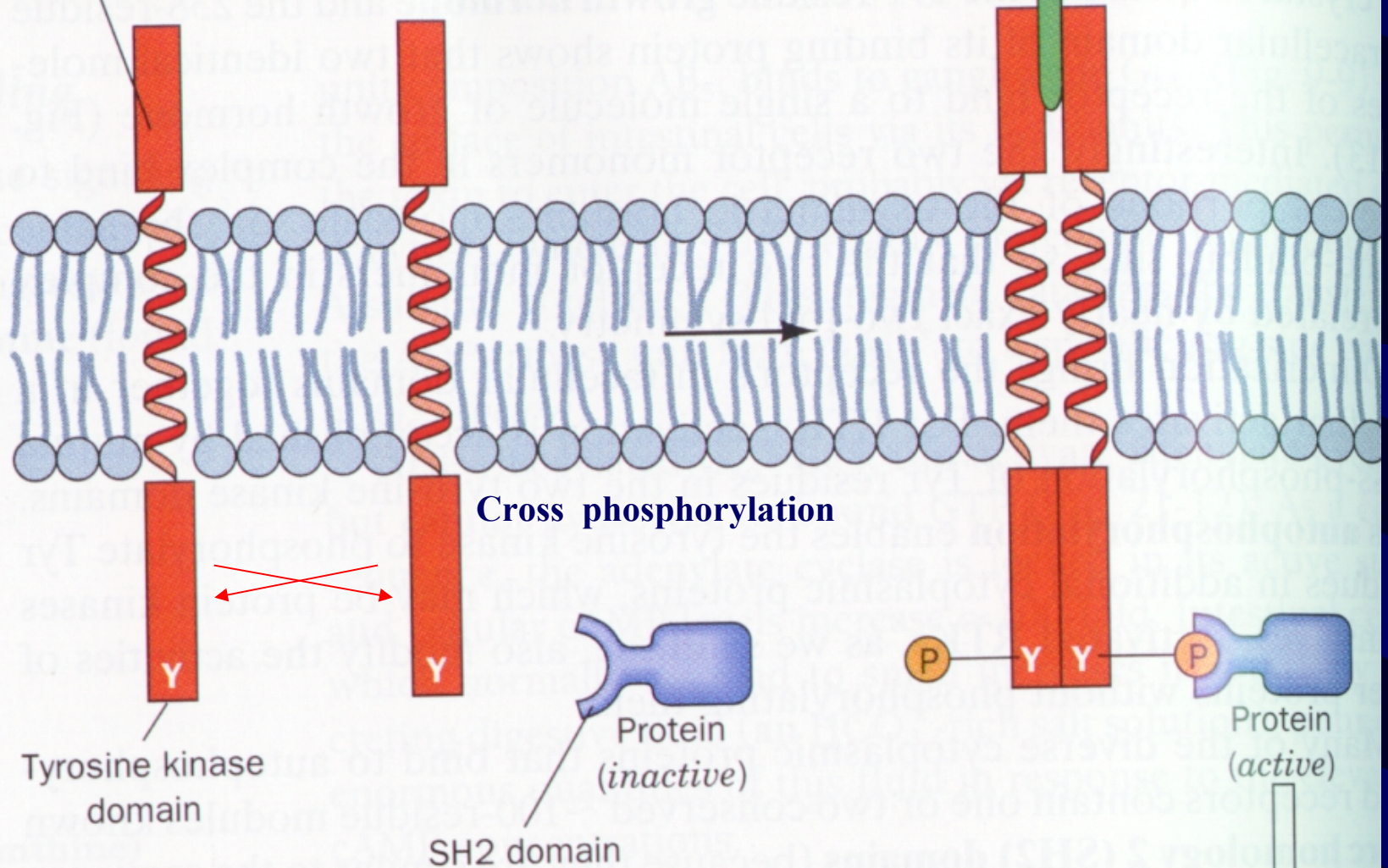
**Legandosi al recettore porta
alla dimerizzazione delle
subunità recettoriali per
cross fosforilazione**

Intracellulare

Recettore dell'Ormone della Crescita

Monomeric receptor

Growth factor



Cross phosphorylation

Y

Y

P

Y

Y

P

Tyrosine kinase domain

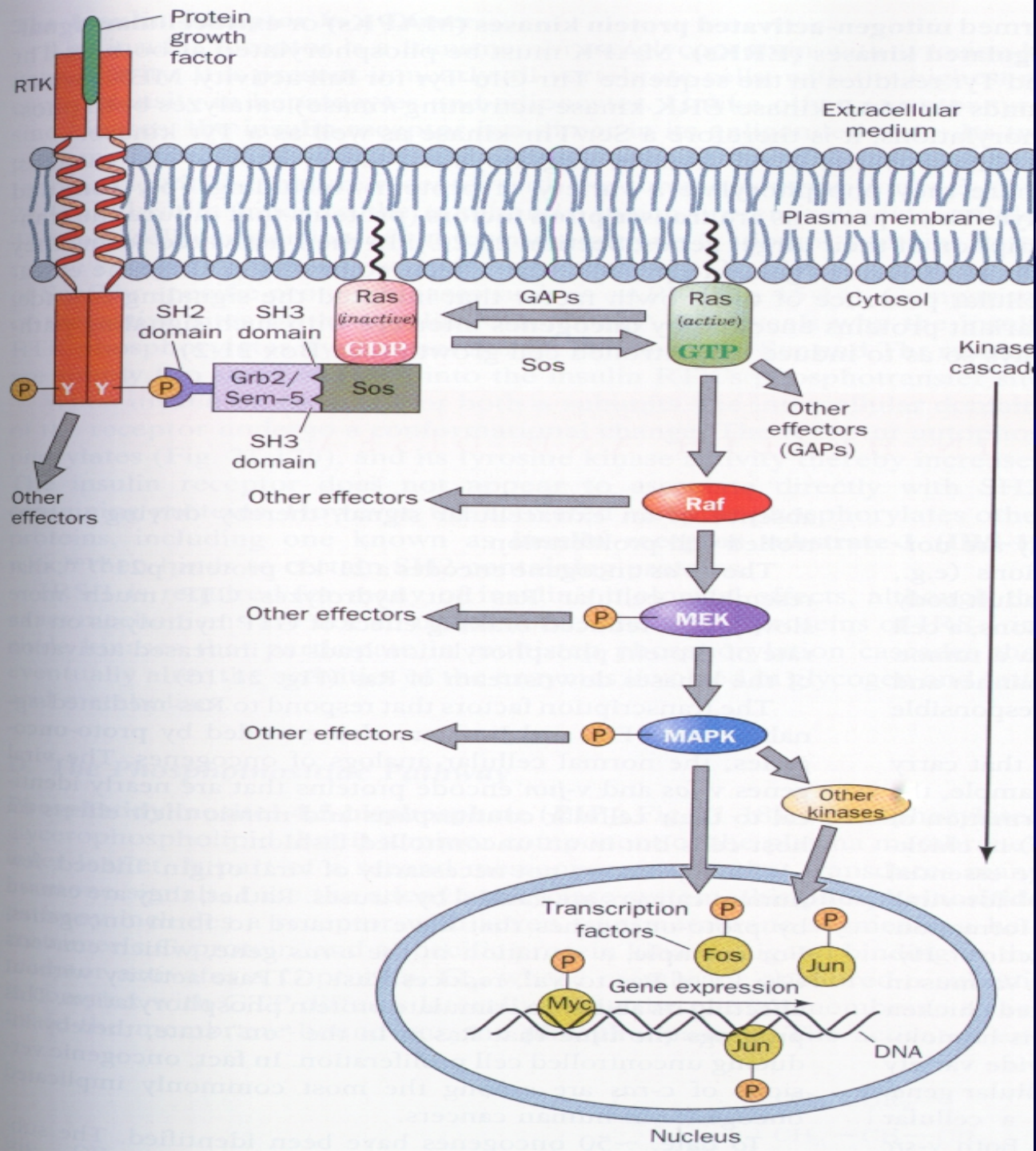
Protein (inactive)

Protein (active)

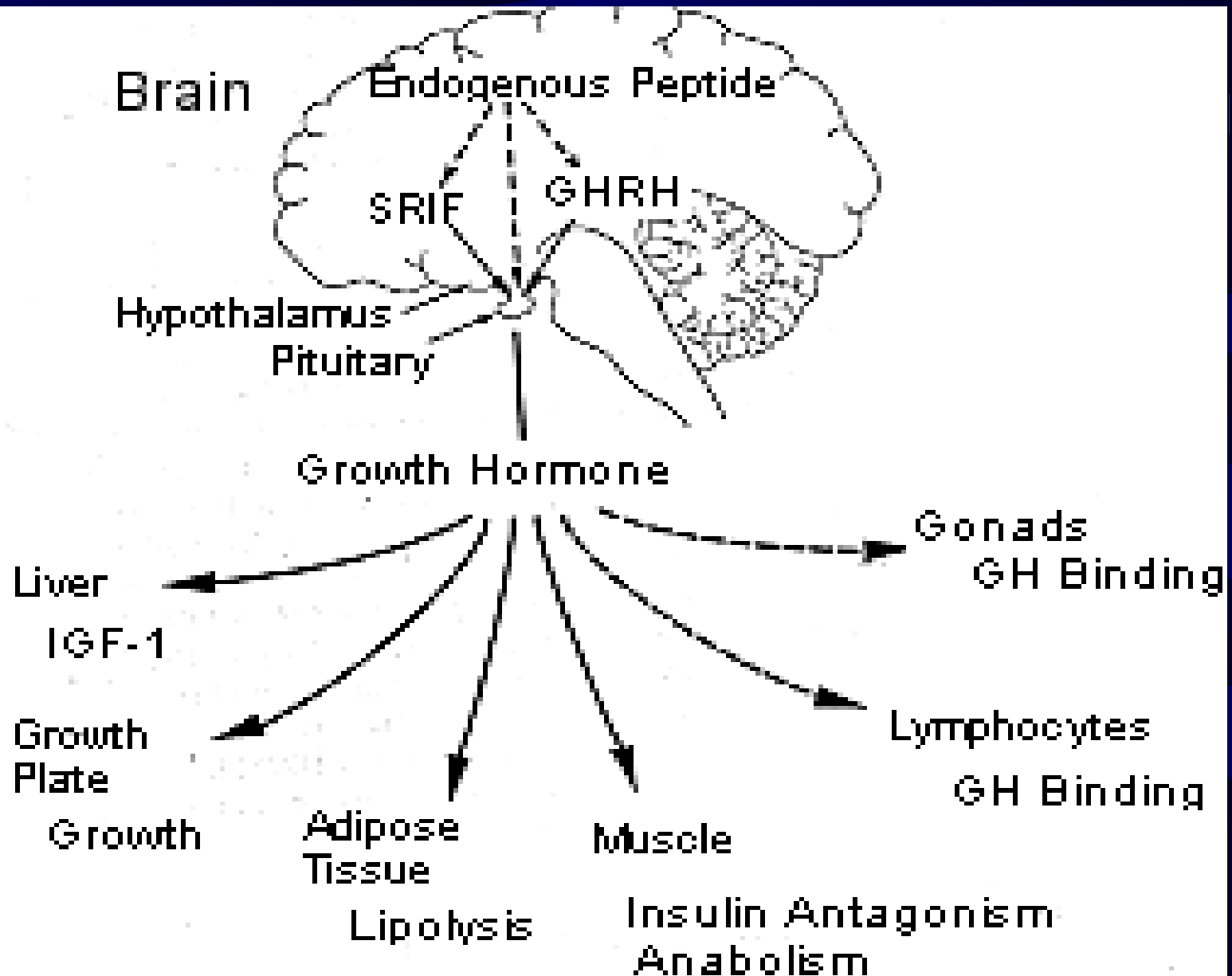
SH2 domain

Tyrosine Kinase Receptors

Cellular response



Schema di funzionamento dell'ormone della crescita



Effetti dell'Ormone della Crescita

- Stimola la crescita di tutti i tessuti del corpo capaci di crescere
- Stimola la produzione di IGF-1 (Insulin-like growth factor) che media molti degli effetti del GH
- Effetti del GH sui processi metabolici:
 - Incrementata sintesi proteica in tutte le cellule (incremento massa magra)
 - Diminuita utilizzazione dei carboidrati da parte delle cellule
 - Aumentata mobilizzazione degli acidi grassi liberi ed utilizzo degli acidi grassi per produrre energia (effetto lipolitico)

Specialità medicinali contenenti ormone della crescita in commercio in Italia

Genotropin Kabipen

Genotropin Miniquick

Genotropin

Humatrope

Norditropin Simplexx

Nutropinaq

Saizen

Zomacton

Modalità di esaltazione dell'azione del GH

- Esistono sostanze capaci di aumentare la secrezione di GH endogeno:
 - ✓ Vasopressina
 - ✓ Clonidina
 - ✓ Propranololo
 - ✓ Aminoacidi (arginina, lisina, ornitina)
 - ✓ GHB (gamma idrossi butirrato)

Discipline sportive in cui si sospetta l'uso di hGH in base alle sue azioni

Azione	Sport
Promozione della crescita lineare	Sport altezza-specifici (pallacanestro, pallavolo, nuoto di fondo)
Anabolica	Sport di potenza (sollevamento peso, lotta, velocità su pista, lancio del peso, nuoto di velocità)
Lipolitica	Sport sensibili al peso (sollevamento peso, lotta, pugilato)
Cardiotonica	Sport di resistenza (fondo su pista, nuoto di resistenza)
Deposizione di collagene	Cicatrizzazione delle ferite in ogni sport

Perché gli atleti utilizzano rhGH?

L'ormone della crescita ricombinante è una “sostanza simile alla endogena” difficile da distinguere dall'ormone naturale. Rapida eliminazione.

Il GH effettivamente incrementa la performance degli atleti?

Non ci sono dati che dimostrano l'efficacia

Pelissier-Alicot Al., Leonetti G. Am Bio Clin 2003; 61:41-8

Non ci sono evidenze di aumento della forza muscolare in atleti in allenamento

Dean H. Clin J Sport Med 2002; 12:250-3

Dal Corriere della Sera
25 settembre 2000



....Rosolino, Bellutti, Idem, Trillini e Abbagnale, tutte medaglie d'oro a Sydney, ai quali nel corso di vari esami eseguiti prima delle Olimpiadi sono stati riscontrati valori anomali di GH...

"E' solo una strumentalizzazione per un problema che non esiste", ecco la risposta di Antonella Bellutti, "sono dati che non hanno alcuna valenza, finalizzati solo a rovinare l'immagine degli atleti. Sono senza parole, è da una vita che faccio la lotta al doping"...

Reazioni avverse dell'ormone della crescita

- ✓ Edemi
- ✓ Artralgie, mialgie e miopatie
- ✓ Dolore all'articolazione mandibolare
- ✓ Gigantismo
- ✓ Acromegalia
- ✓ Ipotiroidismo
- ✓ Patologie cardiache (es. cardiomiopatia)
- ✓ Diabete mellito
- ✓ Impotenza
- ✓ Osteoporosi
- ✓ Polipi al colon

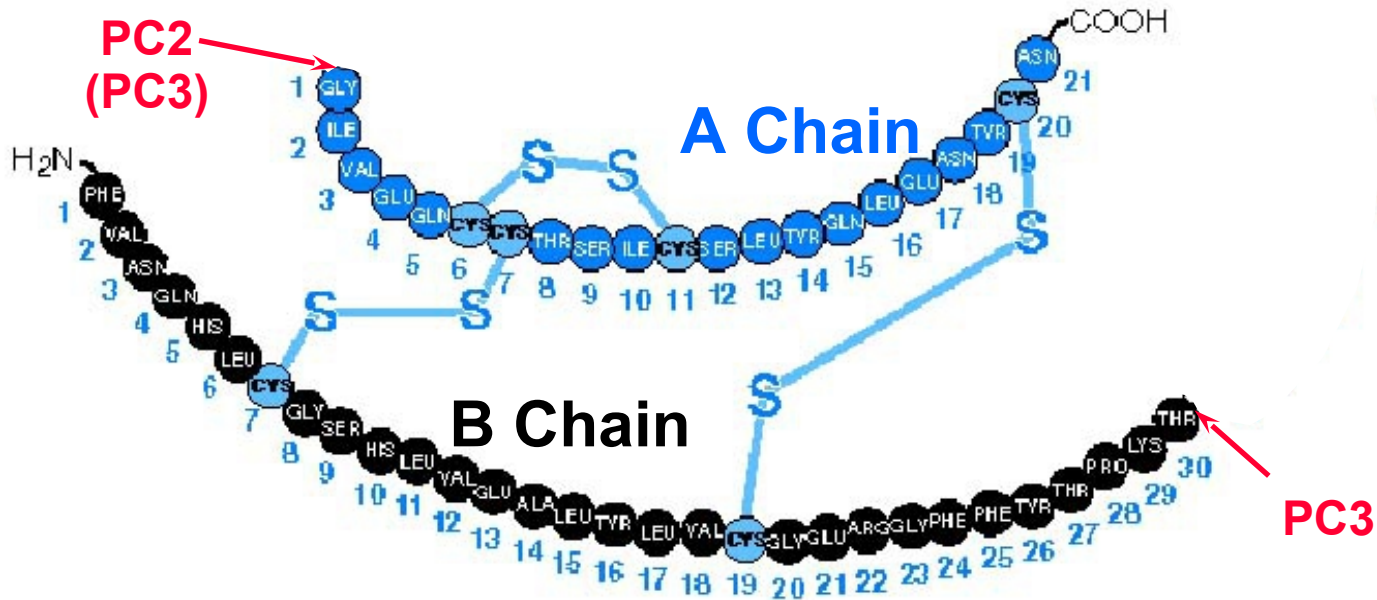
Sintesi e struttura dell'insulina

Gli ormoni peptidici sono sintetizzati come preproormoni inattivi che includono una sequenza segnale, l'ormone e altri frammenti peptidici aggiuntivi

Ca²⁺-dependent
endopeptidases

Insulin

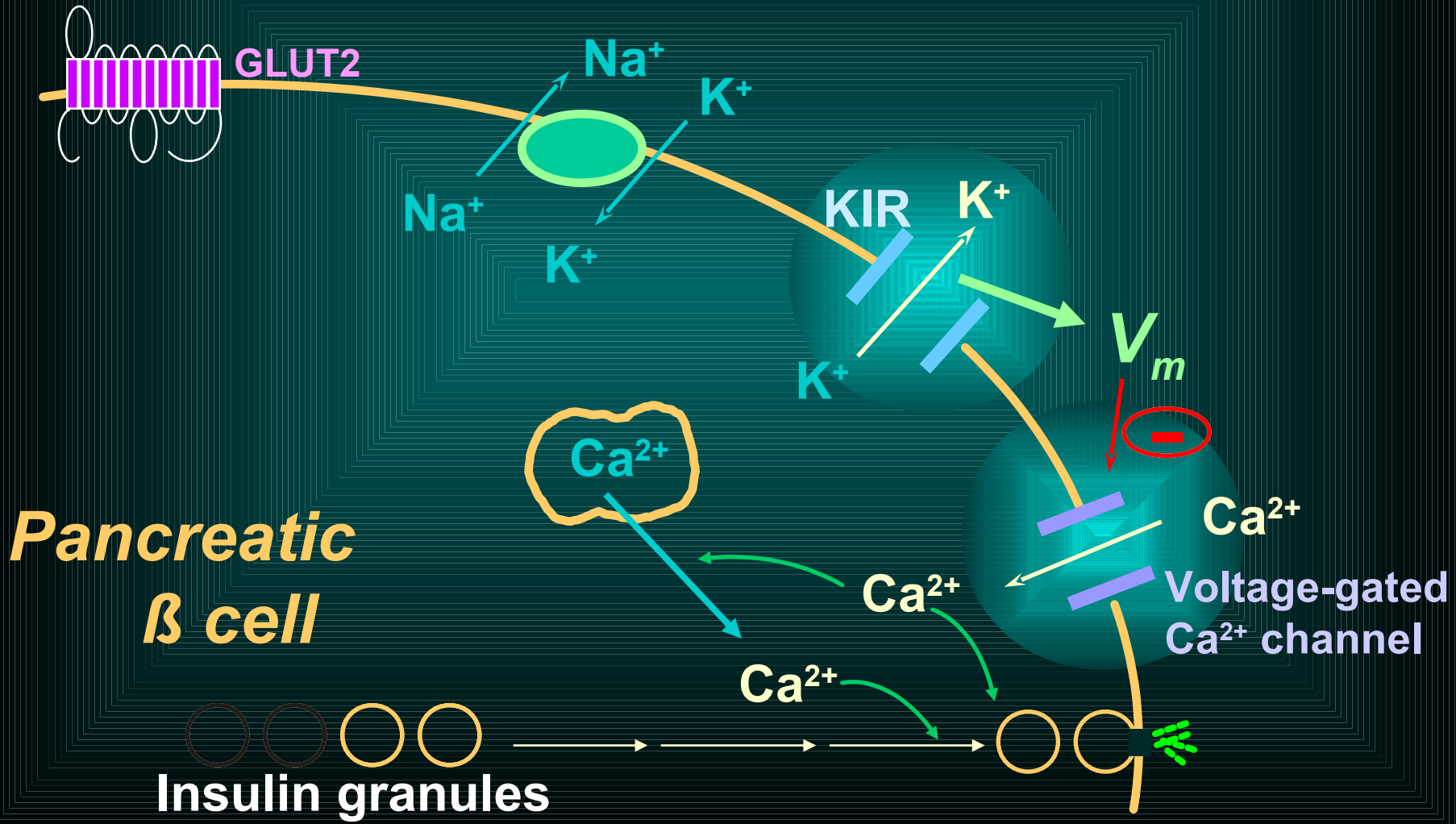
MW 5808



Fornita da Ann K. Snyder

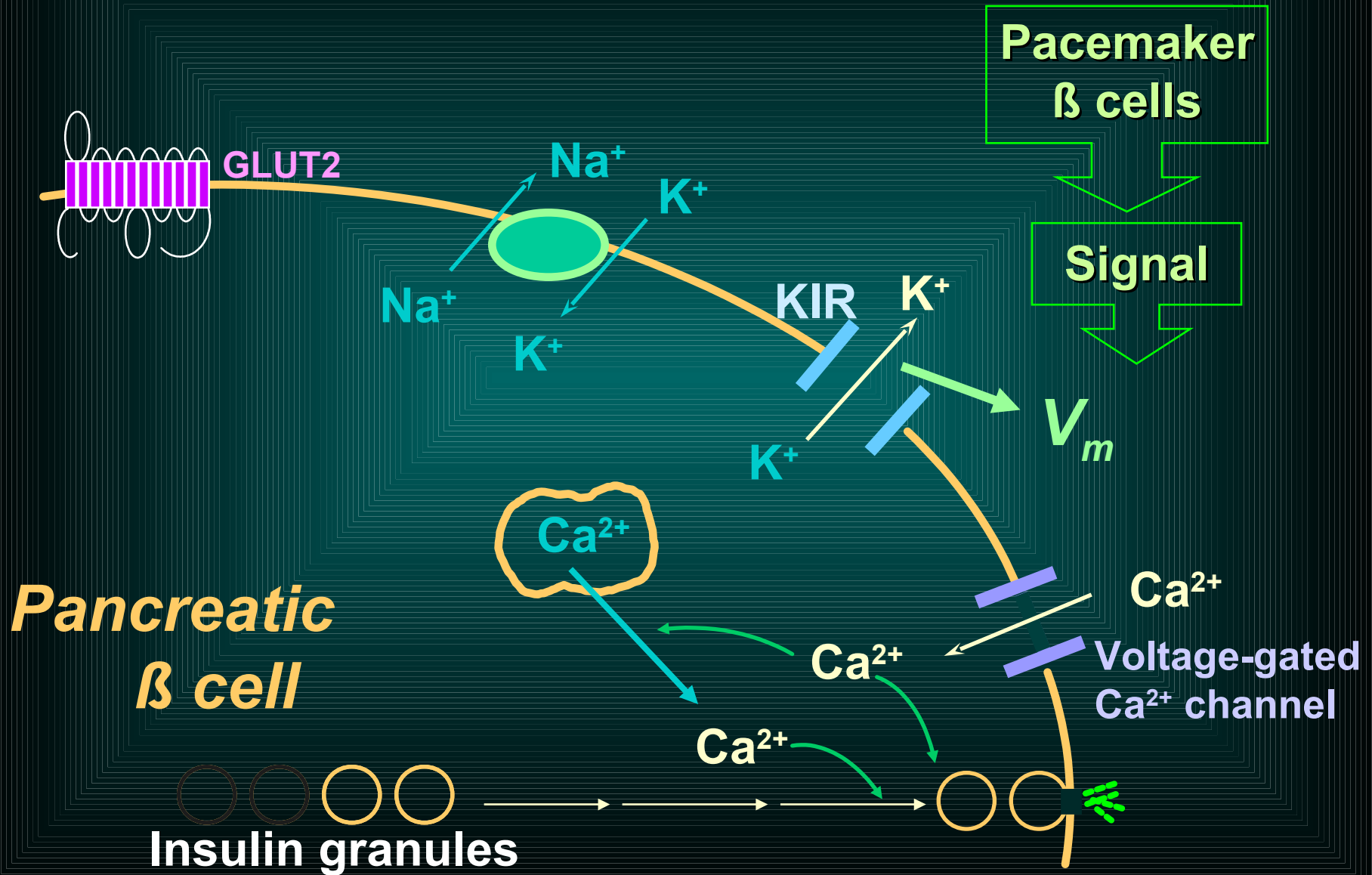
Regolazione della secrezione di insulina

Fornita da Ann K. Snyder



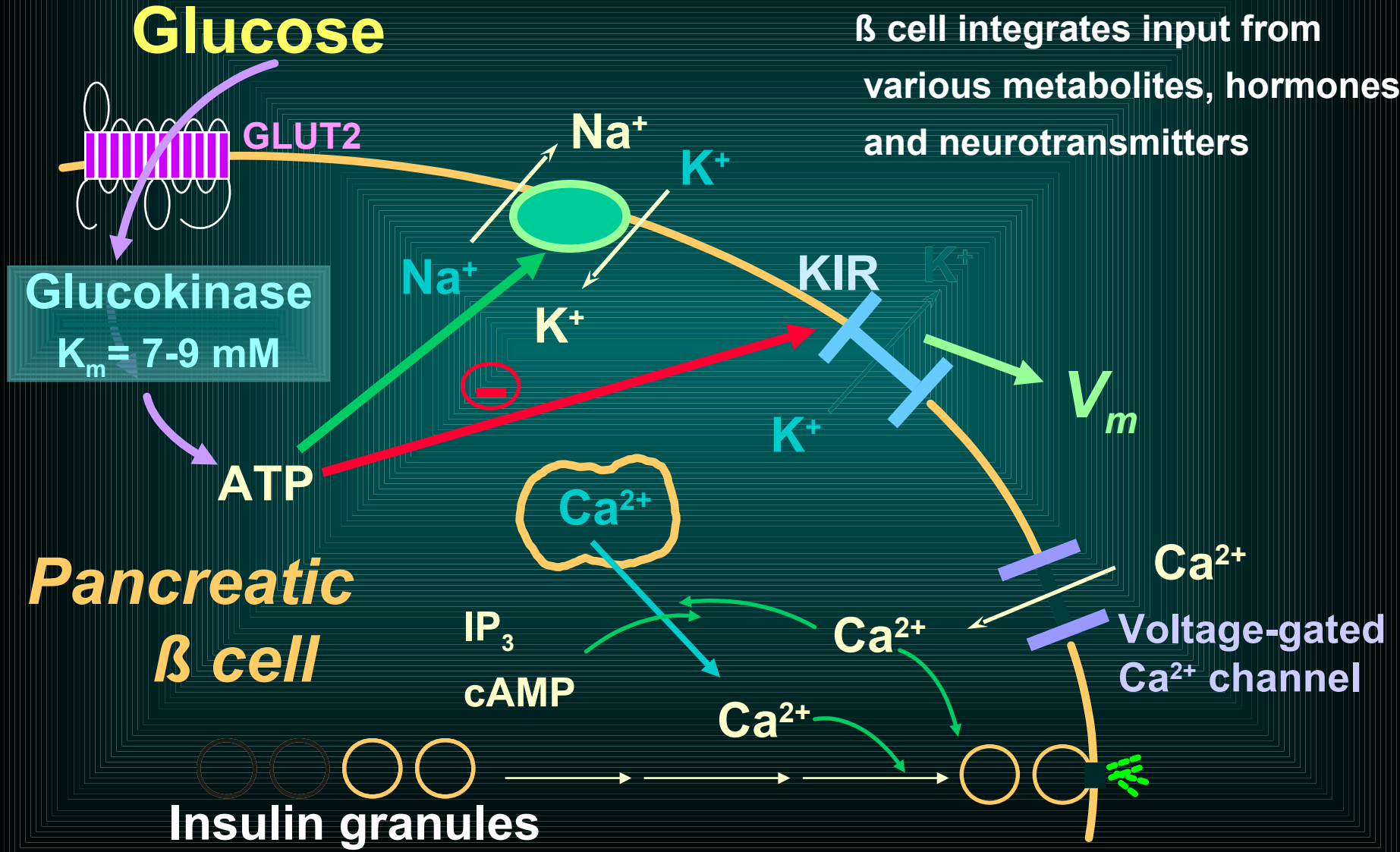
Secrezione basale dell'insulina

Fornita da Ann K. Snyder



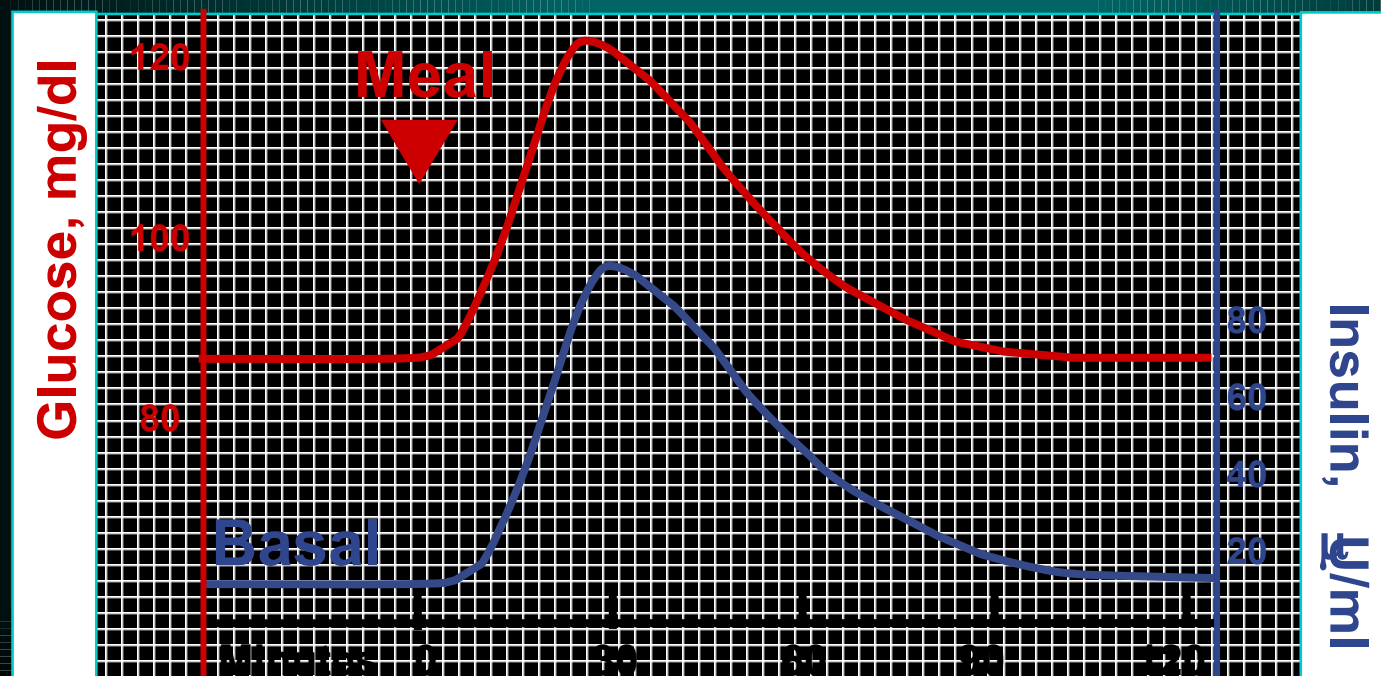
Secrezione insulina stimolata dal glucosio

Fornita da Ann K. Snyder



Rilascio insulina: livelli fisiologici

- Units: 1 U = 36 μg , i.e. 28 U/mg
- Daily secretion in humans: 40 - 50 U
- Basal plasma insulin: 12 $\mu\text{U/ml}$
- Postprandial insulin: up to 90 $\mu\text{U/ml}$



Fornita da
A.K. Snyder

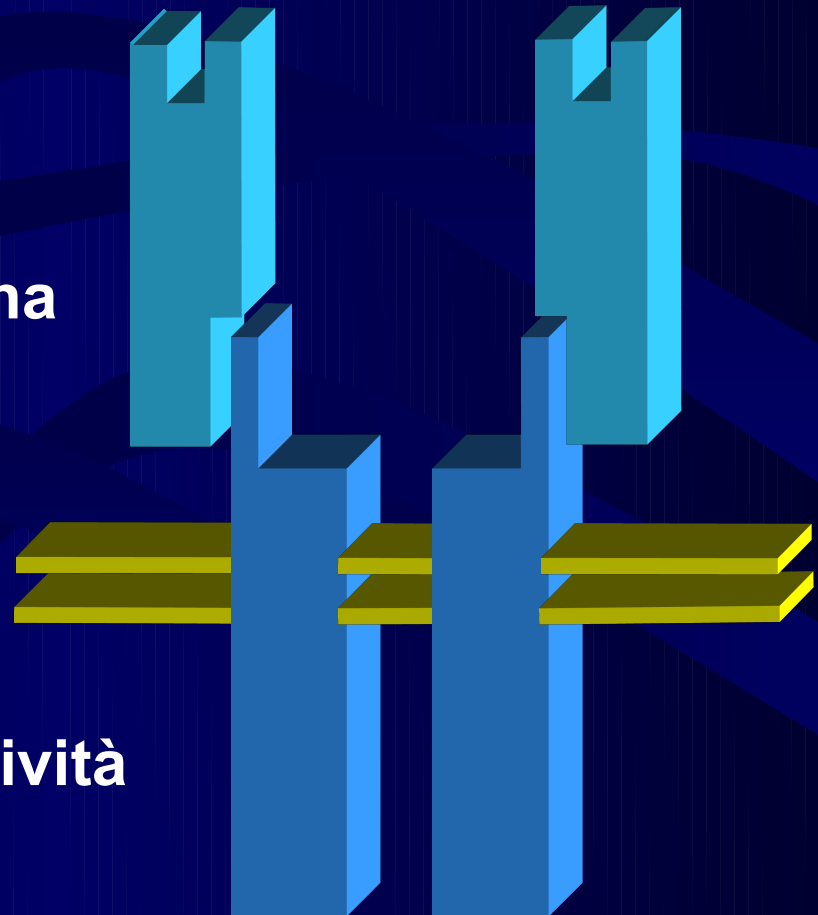
Recettore dell'insulina

Recettori superficie cellulare:

sub-unità α siti di legame dell'insulina

Membrana plasmatica

sub-unita β con attività tirosin kinasi



Attivazione del recettore dell'insulina

Insulin binding to α subunit regulates β subunit activity



autophosphorylation of β subunit



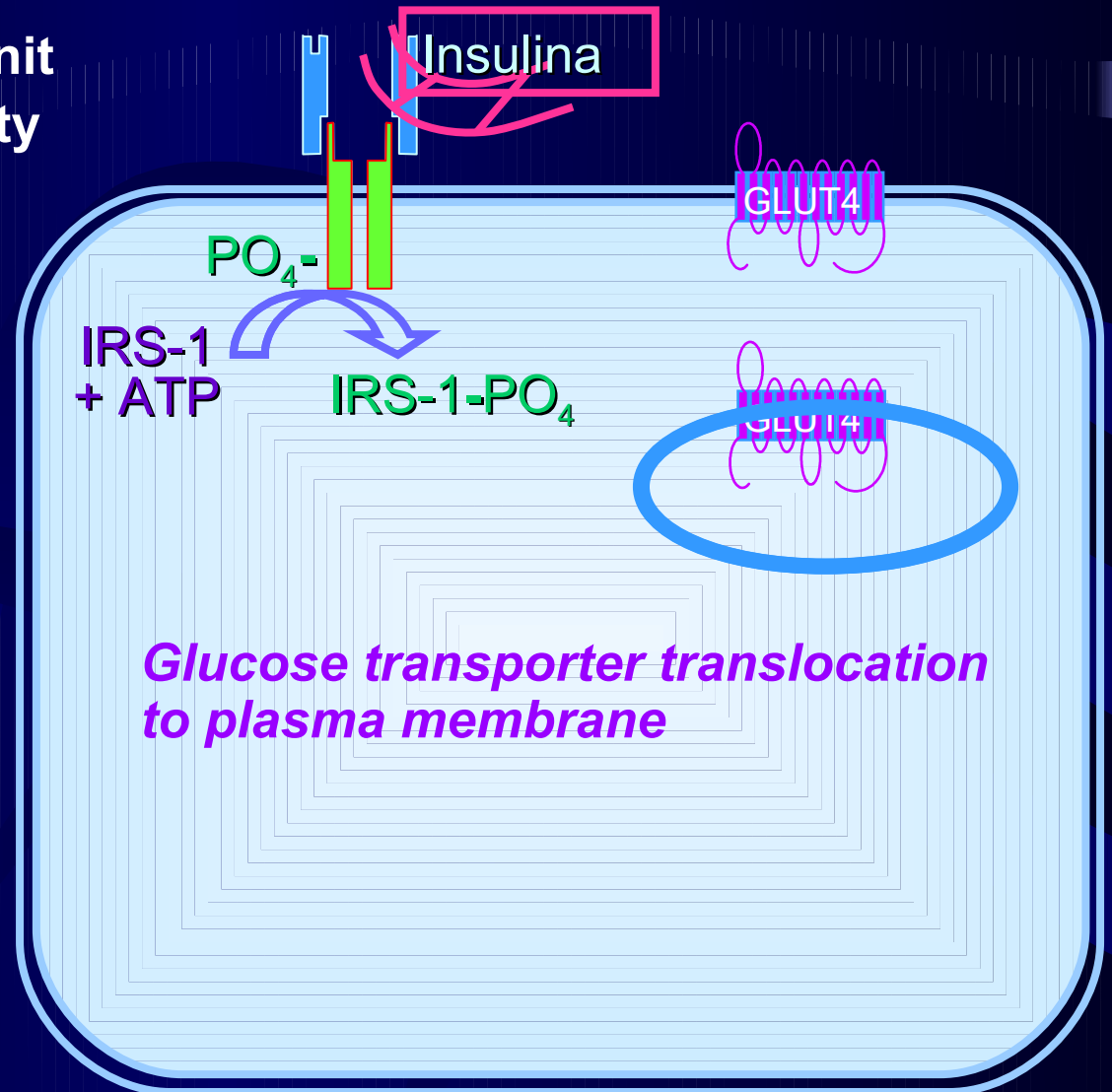
\uparrow tyr kinase activity



phosphorylation of other substrates



activation of phosphoinositide 3-kinase



Attivazione del recettore dell'insulina

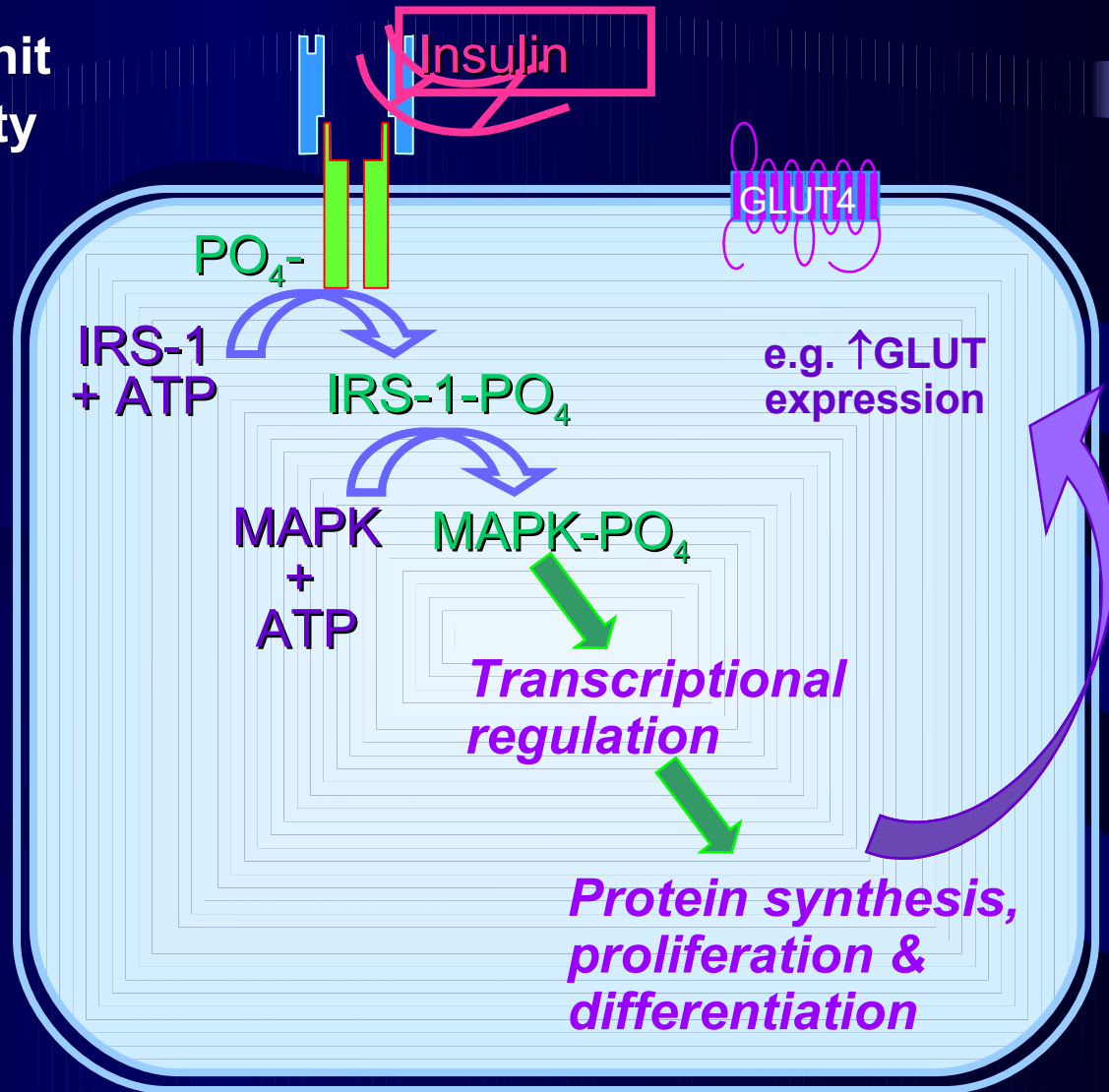
Insulin binding to α subunit
regulates β subunit activity

↓
autophosphorylation
of β subunit

↓
 \uparrow tyr kinase activity

↓
phosphorylation of
other substrates

↓
phosphorylation of
MAP kinase



Attivazione del recettore dell'insulina

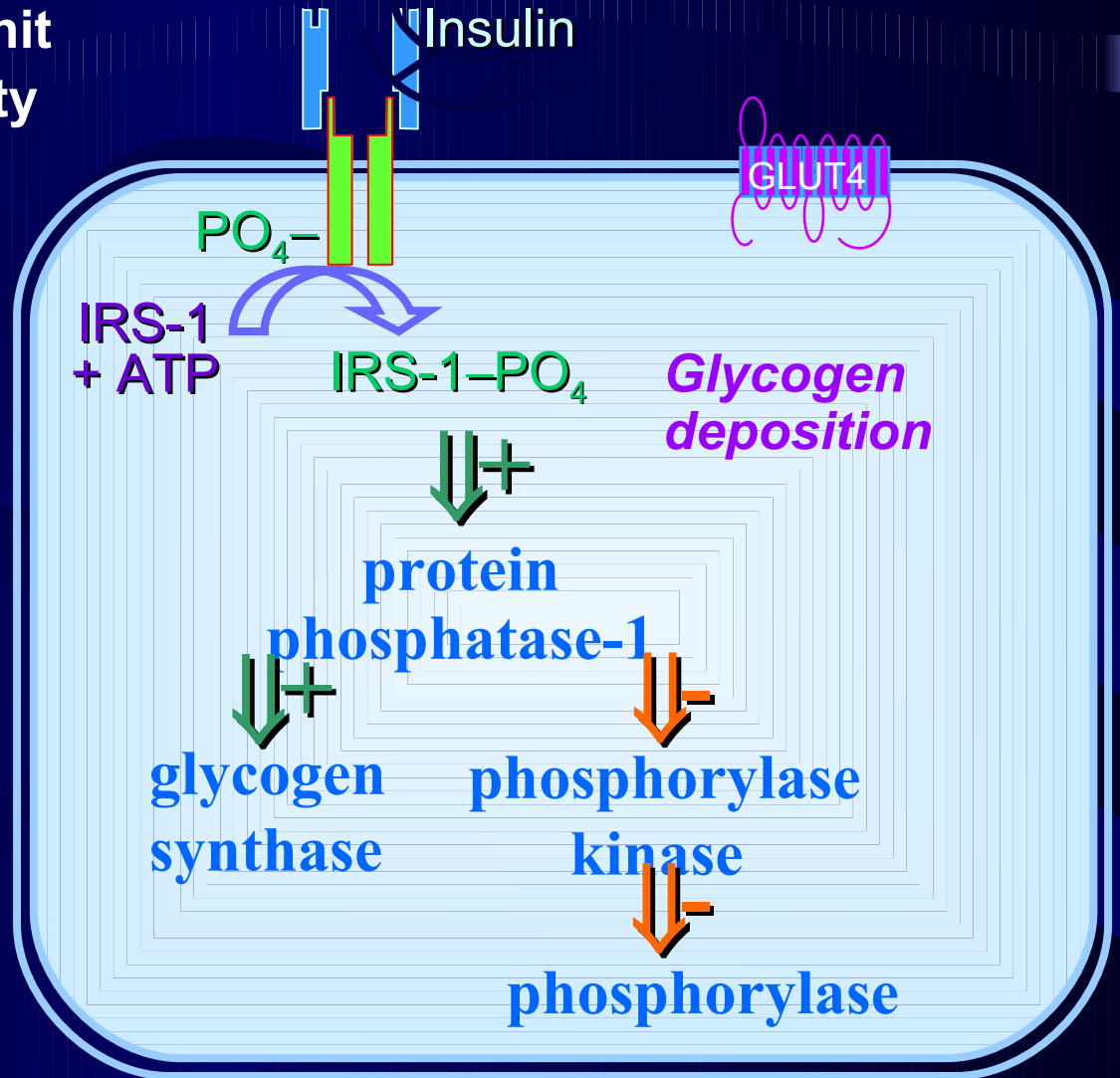
Insulin binding to α subunit regulates β subunit activity

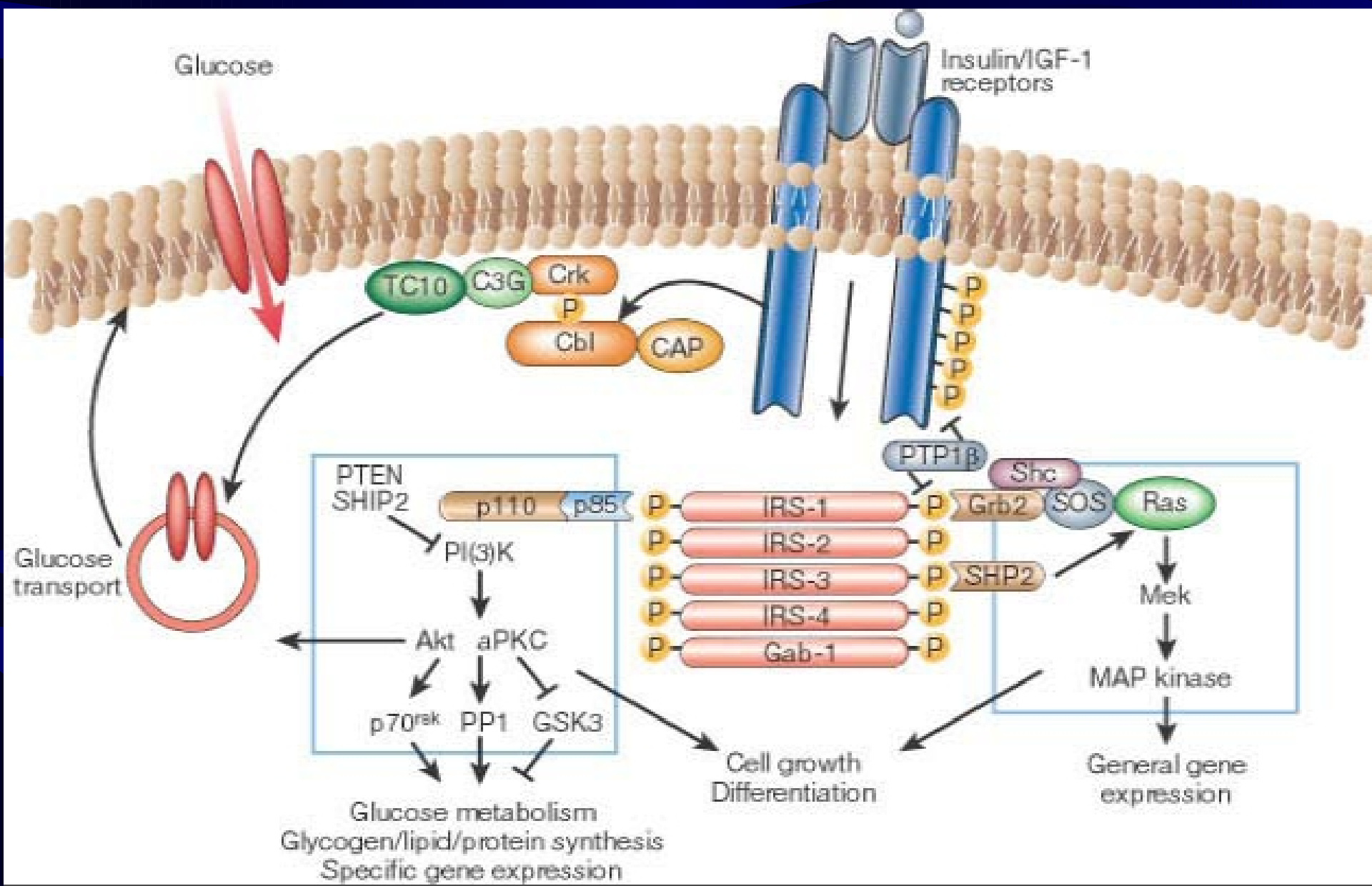
↓
autophosphorylation of β subunit

↓
↑ tyr kinase activity

↓
phosphorylation of other substrates

↓
phosphorylation of MAP kinase





Effetti dell'insulina

Fegato

Stimola

sintesi glicogeno
sintesi trigliceridi

Inibisce

glicogenolisi
ketogenesi
gluconeogenesi

Muscolo scheletrico

utilizzo glucosio
sintesi proteine
sintesi glicogeno

degradazione proteica
glicogenolisi

Tessuto adiposo

utilizzo glucosio
accumulo trigliceridi

lipolisi

***Promuove processi
anabolici***

***Inibisce processi
catabolici***

Reazioni avverse dell'insulina

- **Ipoglicemia** (fino al coma e morte, aumento rischio con l'alcol)
- **Allergia**
 - Reazioni locali cutanee o sistemiche, rara anafilassi
- **Lipoipertrofia**
 - Dovuta all'effetto lipogenico dell'insulina quando si utilizza la stessa area per frequenti iniezioni
- **Lipoatrofia**
 - Dovuta alla presenza di impurità
- **Edema da insulina transitorio e raro**
- **Tremori, sudorazione, ansia, agitazione**

Altri regolatori ormonali



Gonadotropine (LH, hCG) proibite solo nei maschi

Hanno effetti diversi nell'uomo e nella donna. Nell'uomo, controllano la produzione di testosterone, pertanto vengono assunti per ottenere gli stessi effetti degli ormoni androgeni steroidei o, come detto, per aumentare la produzione endogena di testosterone soppressa dall'assunzione di AAS.

Nella donna controllano il processo dell'ovulazione.

GH in commercio: Gonasi HP[®], Pregnyl[®], Profasi HP[®]

LH in commercio: Luveris[®]. Inoltre vari farmaci che liberano le gonadotropine (es. buserelina, gonadorelina, goserelina, ecc.)

Gli effetti collaterali sono riconducibili a quelli degli steroidi anabolizzanti. Due sintomi gravi sono rappresentati dalla cefalea fastidiosissima e, sul piano psicologico, dalla depressione.

Altri regolatori ormonali



Corticotropina (ACTH)

E' uno degli ormoni prodotti dall'ipofisi anteriore.

La corticotropina stimola la funzione della corteccia surrenale, la quale produce ormoni (es. cortisolo) che, a loro volta, controllano il metabolismo glucidico e l'equilibrio idrico salino. Hanno anche azione **ANTIINFIAMMATORIA**-

L'attivazione dell'ACTH e della corteccia surrenale è tipica nelle condizioni di stress, pertanto la giustificazione nell'uso di questo ormone è quella di fornire all'atleta una maggior quota di ormone per fronteggiare lo stress.

Specialità medicinale in commercio in Italia: Synacthen[®], Cortrosyn[®],
Le complicazioni sono gravi, anche se rare, tenuto conto dell'azione multifocale dell'ACTH e degli ormoni surrenali: ritenzione idrica, diabete, alterazioni cutanee, riduzione delle difese immunitarie, miopatie, obesità, osteoporosi, ulcera gastroduodenale.

AGENTI CON ATTIVITÀ ANTIESTROGENICA

- Sono soprattutto: 1) gli inibitori delle aromatasi, che agiscono principalmente bloccando la conversione degli androgeni in estrogeni (anastrozolo) e 2) gli antagonisti dei recettori per gli estrogeni (es. raloxifene, tamoxifene)