

IL DOPING DA GH

Prime segnalazioni a partire da gli anni '80

Razionale ?

1) *Effetto anabolico*

2) *Pazienti con deficit GH*

{
↓ massa magra
↑ massa grassa
↓ forza muscolare
↓ resistenza allo sforzo

Miglioramento con GH
a dosi "sostitutive"

IL DOPING DA GH



GH ricombinante
estrattivo

IGF-1

Sostanze inibenti la SMS

Acetilcolina e colinergici
GABA
Oppioidi
Arginina

Sostanze stimolanti GHRH

α_2 -adrenergici (Clonidina)
Dopamina
Serotonina
Prostaglandine (PgE)

Segretagoghi del GH

Exarelina
MK-0677, NNC 26-0703

IL DOPING DA GH

Risultati “contro”

- Dosi “fisiologiche” (0.02 mg/kg/die) di GH in soggetti anziani sani
→ nessun incremento forza muscolare
Yarasheski KE Am J Physiol 1995; 268:; 268
Taaffe DR J CLin Endocrinol Metab 1996; 81: 421
- Dosi più “elevate” di GH (0.09 mg/kg/die) in atleti di potenza
→ nessuna modificazione forza muscolare e composizione corporea
Deyssig R Acta Endocrinol 1993; 128: 313
- Acromegalia: performance muscolari ridotte

.....ma.....

- Dose di GH utilizzata più bassa di quella “proposta” (fino a 4 mg/die!)
- Durata degli studi relativamente breve
- GH utilizzato in modo isolato (spesso gli atleti associano steroidi anabolizzanti)
- Acromegalia: spesso diagnosi tardiva. Riportato incremento forza muscolare nei primi anni di malattia

Holt RI Br J Pharmacol 2008; 154: 542



IL DOPING DA GH

Risultati “pro”

- GH (0.1-1.2 mg/die) + T (5mg/die) in soggetti anziani sani
 - significativo aumento VO_2 max
 - ↑ massa magra (simil GH da “solo”), ↓ massa grassa

Giannoulis MG J Clin Endocrinol Metab 2006; 91:477
- GH (0.06 U/Kg/die) in precedenti “utilizzatori” di steroidi anabolizzanti
 - incremento della forza muscolare

Graham MR Horm Res 2008; 69: 343



IL DOPING DA GH

Rischi/effetti collaterali legati assunzione GH

Diabete mellito

Iperensione arteriosa

Cardiomegalia ed alterazioni funzione cardiaca

Acromegalia

Visceromegalia

Sindrome tunnel carpale

Ipertricosi

Rischio neoplastico

Deficit funzione renale

Encefalite (GH estrattivo)



IL DOPING DA GH

...perché gli atleti lo utilizzano?

- *La letteratura “non ufficiale” garantisce effetto anabolizzante simil-steroidi*
- *Difficoltà di identificazione nei test antidoping*
 - rGH indistinguibile da molecola endogena
 - pulsatilità di secrezione del GH endogeno
 - l' esercizio fisico stimola secrezione GH
 - secrezione influenzata da introito calorico e/o integratori alimentari



IL DOPING DA GH

Test per l' identificazione

↑ *rapporto IGF1/IGF2 urinario*

Presupposti

- *i livelli di IGF1 urinario sono molto superiori a quelli di GH*
- *l' es. fisico aumenta i valori plasmatici di GH, meno quelli di IGF1*
- *la somministrazione di GH induce significativi incrementi di IGF1 nel siero e nelle urine. Effetto persistente per emivita lunga di IGF1*
- *Negli acromegalici i valori di IGF1 correlano con quelli di GH, mentre IGF2 non differisce da popolazione generale*



IL DOPING DA GH

Test per l'identificazione

*Identificazione isomero GH a 22kDA
in assenza del “naturale” isomero a 20 kDA*

Presupposti

- *l'ipofisi produce in gran parte l'isomero a 22 kDA, insieme a minor quantità di altri isomeri, tra cui il più rappresentato è quello a 20 kDA*
- *il GH esogeno è costituito “solo” da catena polipeptidica a 22 kDA*

Limiti

- *finestra diagnostica breve poiché rGH breve emivita (32h)*
- *non identifica soggetti che usano GH estrattivo, IGF-1, GH-secretagoghi*
- *ci vogliono campioni ematici*



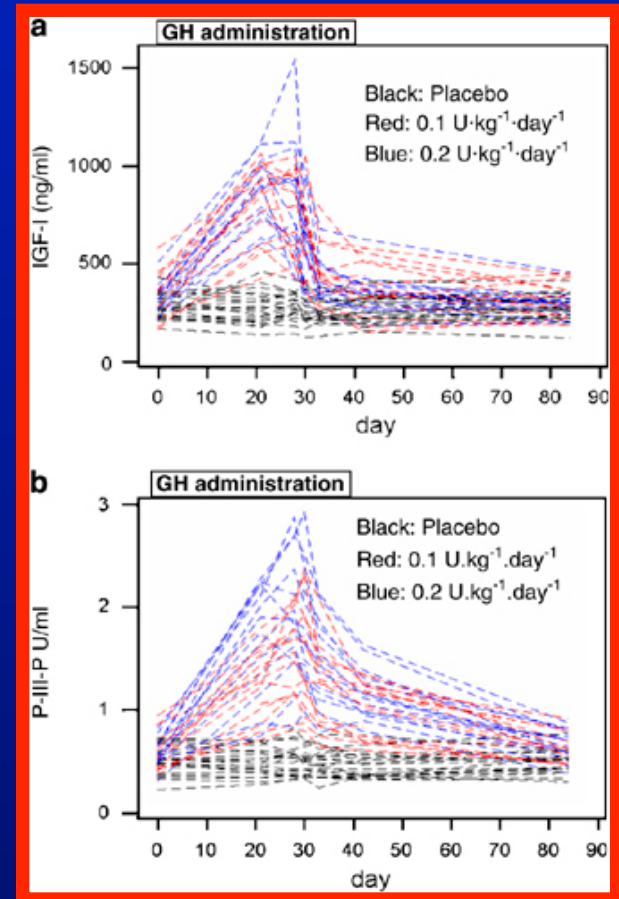
IL DOPING DA GH

Test per l'identificazione

Ricerca di "marker" GH-dipendenti

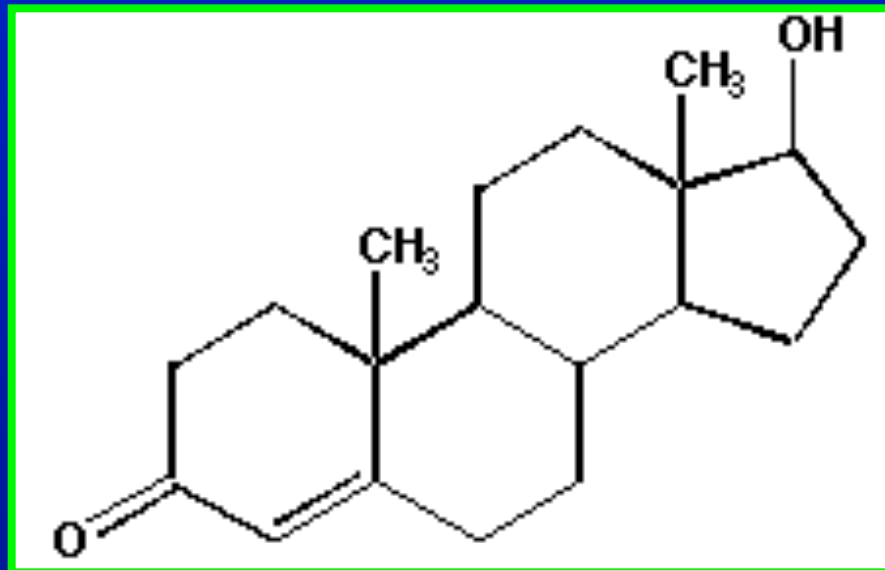
- ❖ IGF 1
- ❖ IGFBP 2 (IGF binding protein 2)
- ❖ IGFBP 3 (IGF binding protein 3)
- ❖ ALS (Acid Labile Subunit)
- ❖ osteocalcina
- ❖ procollagene tipo III
- ❖ telopeptide del collagene
- ❖ propeptide C-terminale del collagene tipo 1

Scarsamente influenzati da sesso ed esercizio fisico



STEROIDI ANABOLIZZANTI

Molecole derivate dal testosterone



Problematiche legate a terapia con il testosterone:

- via orale (*inattivazione epatica*)
- via parenterale (*breve emivita*)

STERIODI ANABOLIZZANTI

Esterificazione in 17 β (TIPO A)

↑ solubilità via parenterale

emivita diversa (lunghezza catena laterale dell'estere)

Alchilazione in 17 α (TIPO B)

↓ metabolismo epatico (somministrabili per os)

tossicità epatica

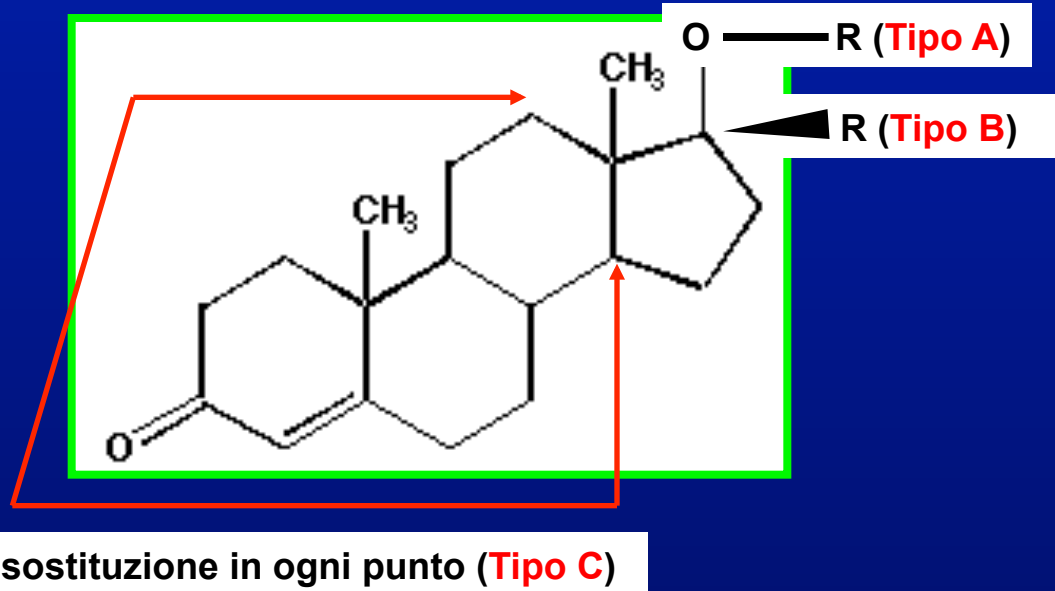
Modificazione della struttura (TIPO C)

↑ emivita

↑ potenza androgenica

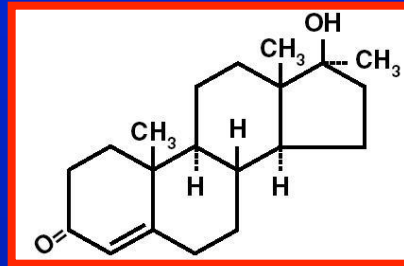
↓ aromatizzazione

↓ 5 α riduzione

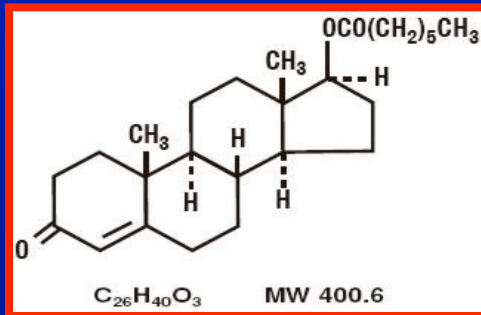


STEROIDI ANABOLIZZANTI

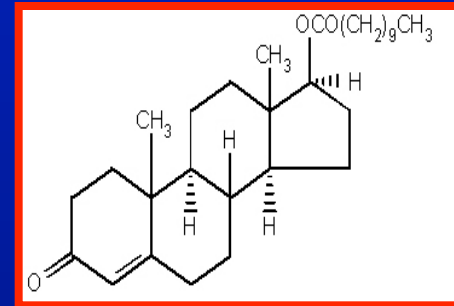
Esempio 17 α alchilato
METILTESTOSTERONE



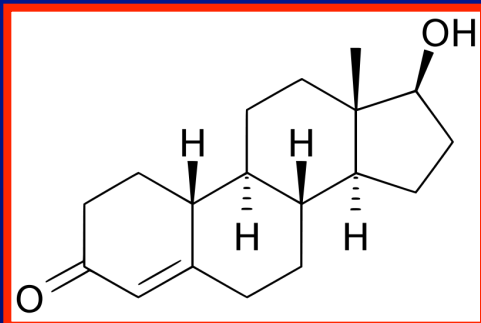
Esempi 17 β esterificati
TESTOSTERONE ENANTATO



TESTOSTERONE UNDECANOATO



Esempi modificazioni struttura
NANDROLONE



STEROIDI ANABOLIZZANTI

ORALI (prev. Tipo B e C)	INIETTABILI (IM) (prev. Tipo A)
Etilestrenolo (Maxibolin) Mesterolone (Proviron) Metandrostenolone (Dianabol)* Metenelone (Primobolan)* Metiltestosterone (Testovis) Testosterone undecanoato (Andriol) Oxandrolone (Oxandrolone) Oximetolone (Anadrol)* Stanozololo (Winstrol)*	Esossimestrolo (Enoltestovis) Metandrostenolone (Dianabol)* Metenelone enantato (Primobolan) Nandrolone decanoato (DecaDurabolin) Nandrolone fenpropionato (Durabolin)* Stenbolone (Anatrofin)* Testosterone cipionato (Depotestosterone)* Testosterone enantato (Testoenant) Testosterone propionato (Testovis) Testosterone esteri in associazione (Sustanon) Testosterone nincotinato (Bolfortan)* Therobolin* Trenbolone (Finajet)* Trofobolene

*** Non in commercio in Italia**



IL DOPING DA STEROIDI ANABOLIZZANTI

Perché gli atleti li utilizzano?

➤ *Effetto anabolico*

*stimolo sintesi proteica (↑ massa e forza muscolare)
contrasto attività catabolica glucocorticoidi
attivazione asse GH/IGF1*

➤ *Stimolo su eritropoiesi*

effetto favorevole su VO_2 max (anche se dati “contrastanti”)

➤ *Effetto amfetamino-simile*

azione sul SNC → > sopportazione sforzo fisico

➤ *Modulazione trasmissione neuromuscolare ?*

↓ tempi reazione → miglioramento potenza esplosiva



IL DOPING DA STEROIDI ANABOLIZZANTI

Come vengono utilizzati?

- *Cicli di 6-12 settimane intervallati da stop (2-3/anno)*
scopo: ridurre effetti collaterali
- *Dosi variabili e utilizzate “a piramide”*
da quasi “terapeutiche” fino a 10-100 volte superiori,
quindi calo graduale
- *Utilizzo nel corso del ciclo di steroidi diversi*
scopo: minimizzare fenomeni di downregulation recettoriali (non certo)
- *Utilizzo talvolta di associazioni di steroidi (“stacking”)*
scopo: minimizzare i fenomeni di tolleranza
- *Schema terapeutico modificato sulla base della possibilità di controlli*
passaggio da formulazione long-acting a short-acting
- *Talvolta in associazione con altri agenti anabolizzanti (GH, insulina)*



STEROIDI ANABOLIZZANTI: effetti collaterali

Maschio	Femmina	Entrambi i sessi
azoospermia	oligo-amenorrea	ittero
atrofia testicolare	sterilità	epatomegalia
sterilità	acne/seborrea	etp fegato
impotenza	abbassamento voce	ipertensione
alterazione libido	mascolinizzazione	ritenzione liquidi
pat. prostatica (IPB/etp)	alopecia	ipercolesterolemia
arresto crescita	irsutismo	rischio CHD
acne/seborrea	alterazione libido	alterazioni psicologiche
alopecia	atrofia mammaria (etp)	aggressività
	arresto crescita	psicosi (crisi astinenza)



IL DOPING DA STEROIDI ANABOLIZZANTI

Test per l'identificazione

- ✓ Utilizzano metodiche di **Gas-Cromatografia-Spettrometria di Massa (GC-MS)**
- ✓ Viene valutato il profilo degli **steroidi urinari endogeni**
- ✓ Viene valutato il **rapporto tra testosterone e gli altri steroidi (soprattutto epitestosterone)**

Il riscontro di un **rapporto (T/E) > 10:1**
è indice di **ABUSO DI TESTOSTERONE**.
Valori tra 6 e 10 dubbi → ulteriori indagini

STEROIDI URINARI ENDOGENI

Androsterone

Etiocolanolone

5 α -androstan-3 α , 17 β -diolo

5 β -androstan-3 α , 17 β -diolo

5 α -androstane-3 β , 17 β -diolo

Deidroepiandrosterone

Epiandrosterone

5 α -androstandione

5-androsten-3 β , 17 β -diolo

Epitestosterone

Diidrottestosterone

4-androstenedione

Testosterone

11 β -idrossiandrosterone

11 β -idrossietiocolanolone

Pregnandiol

Pregnantriol

SARM: Selective Androgen Receptor Modulator

Terminologia analoga ai SERM (tamoxifene, raloxifene)

- Classe di *composti non steroidei* “potenzialmente”
dotati di *attività agonista* sul recettore androgenico
in modo *tessuto-selettivo*
- Non sottoposti ad aromatizzazione
- Mimano solo alcuni effetti del testosterone
- Ancora in fase di sviluppo
- Probabilmente già utilizzati come composti “dopanti”



INSULINA

Principale ormone ad azione regolatrice sul metabolismo glucidico

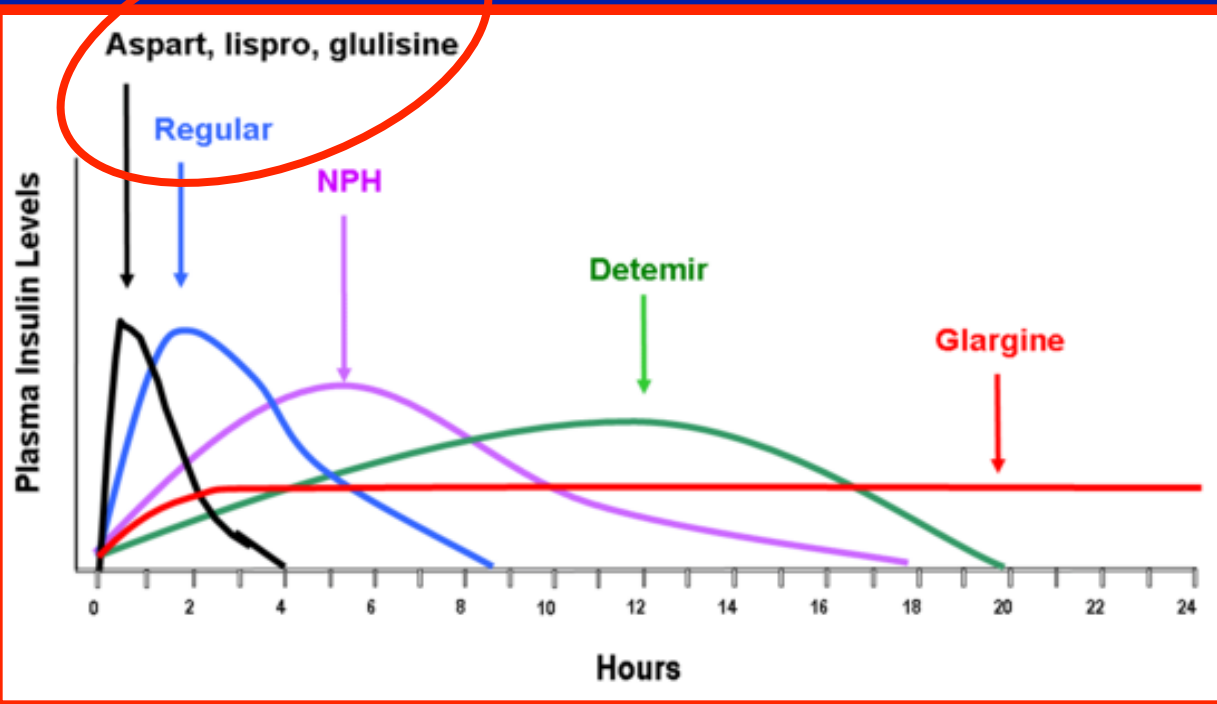
Principali azioni fisiologiche

Livello di azione	Principali effetti
Tessuto adiposo	↓ lipolisi ↑ lipogenesi
Fegato	↓ gluconeogenesi ↑ glicogenosintesi ↓ chetogenesi
Sistema muscolare (scheletrico/miocardico)	↓ proteolisi (dosi soprafisiologiche) ↑ proteosintesi (dosi soprafisiologiche) ↑ uptake glucosio (↑ espressione GLUT-4)
Sangue	↓ Glicemia ↓ FFA circolanti ↓ Corpi chetonici circolanti

INSULINA E DOPING

- Incremento delle riserve muscolari di glicogeno
 - Inibizione proteolisi muscolare
 - Stimolo proteosintesi muscolare
- (effetto sinergico con sistema GH/IGF-1)

Miglioramento performance muscolare



+ **dieta "ricca" in:**
-carboidrati semplici
-aminoacidi

+ **GH:**
-azione sinergica
- "iperglicemizzante"

INSULINA E DOPING

RISCHI

Gravi e ripetute crisi ipoglicemiche

Danni cerebrali da neuroglicopenia

BMJ 1997;314:1280 (26 April)

Letters

Bodybuilders find it easy to obtain insulin to help them in training

.....We have recently been involved in the care of a 21 year old amateur bodybuilder, who was admitted after taking an excessive amount of insulin intravenously.

He developed **severe brain damage after prolonged neuroglycopenia.**

His case brought several points to our attention

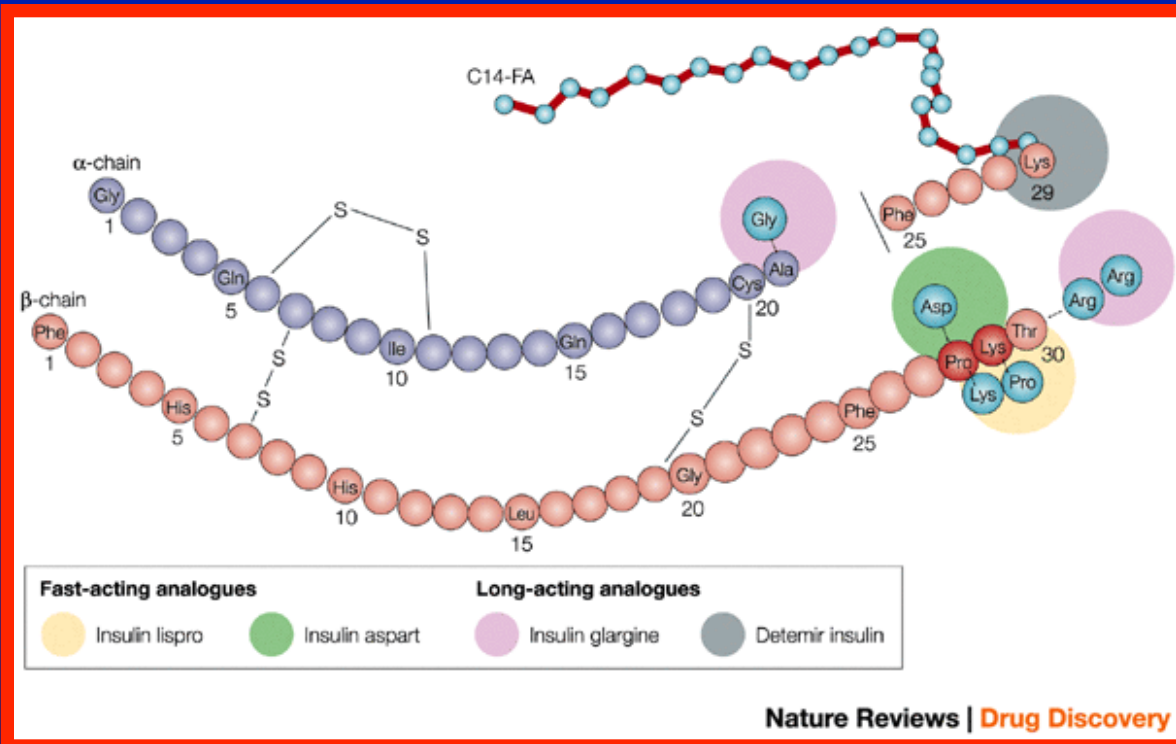


INSULINA E DOPING



Test per l'identificazione

Metodica **LC-MS/MS** ha permesso di rilevare la presenza di insuline ricombinanti in campioni urinari/plasmatici



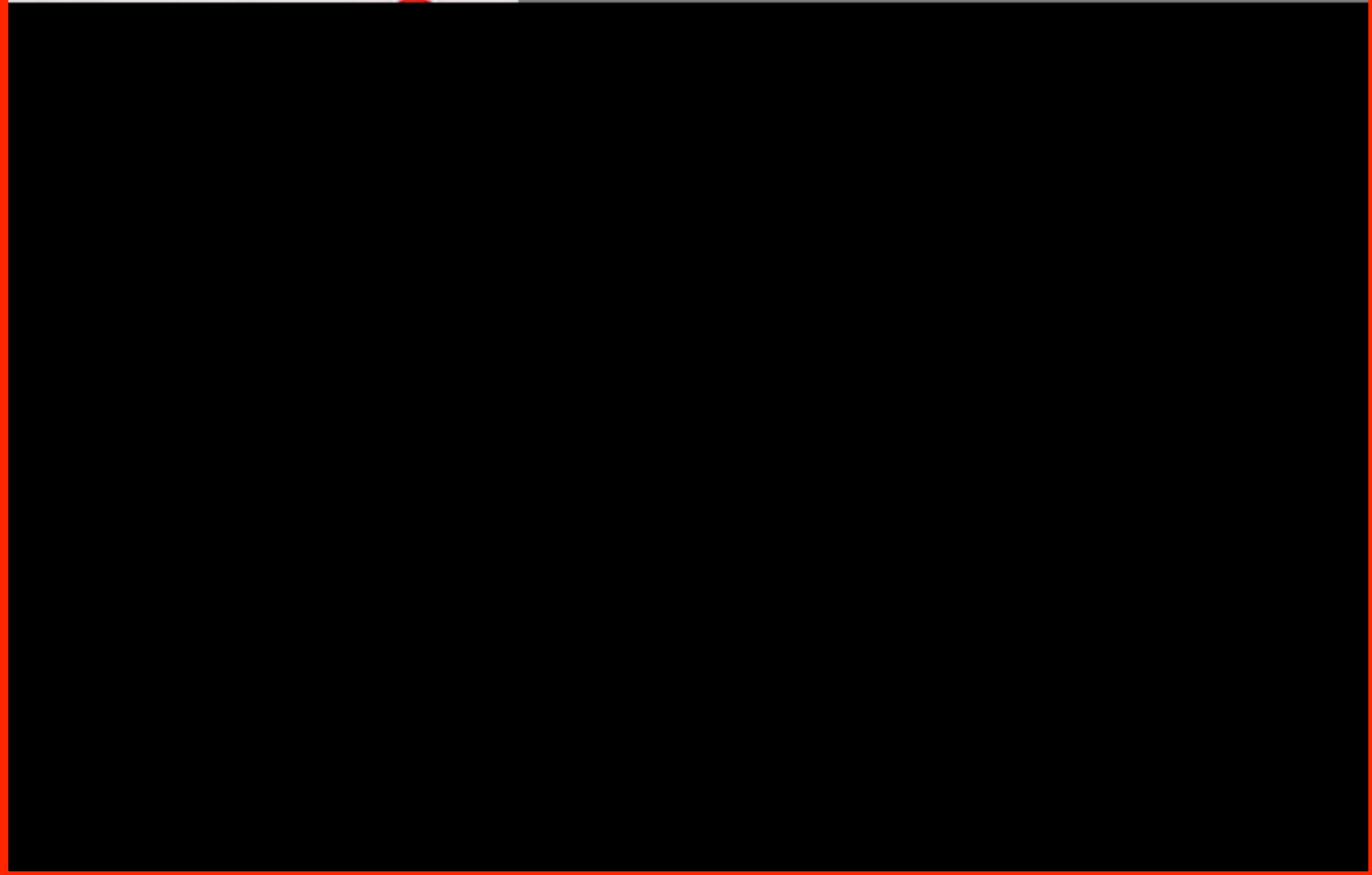
ERITROPOIETINA



Ormone glicoproteico di 34 KD prodotto dal rene
Principale fattore di regolazione della produzione di g.r.

Uso clinico:
Anemia secondaria
-IRC
-neoplasia
-chemioterapia
-AIDS

Erythropoietin mechanism for regulating the rate of erythropoiesis (Figure 18.6)



Fattori stimolanti l'eritropoiesi

Eritropoietina naturale

Glicoproteina con 40% di carboidrati

Eritropoietine ricombinanti

- Alfa, beta, delta, omega

- Superglicosilata (darbopoietina)

Differiscono per il contenuto in carboidrati e ac.sialico



Darbopoietina

- Più costosa di EPO, ma 10 volte più efficace
- Ha un' emivita molto maggiore rispetto all' EPO: si può somministrare anche una sola volta a settimana (e.v. o s.c.)
- Gli effetti si hanno dopo circa 8 giorni:
 - Hct fino al 60%
 - Miglioramento disponibilità di O₂ tra il 9% e il 20%
- La ricchezza in carboidrati ed ac. sialico ↑ potere antigenico → Ab anti rhEPO



ERITROPOIETINA E DOPING



EFFETTI DOPANTI

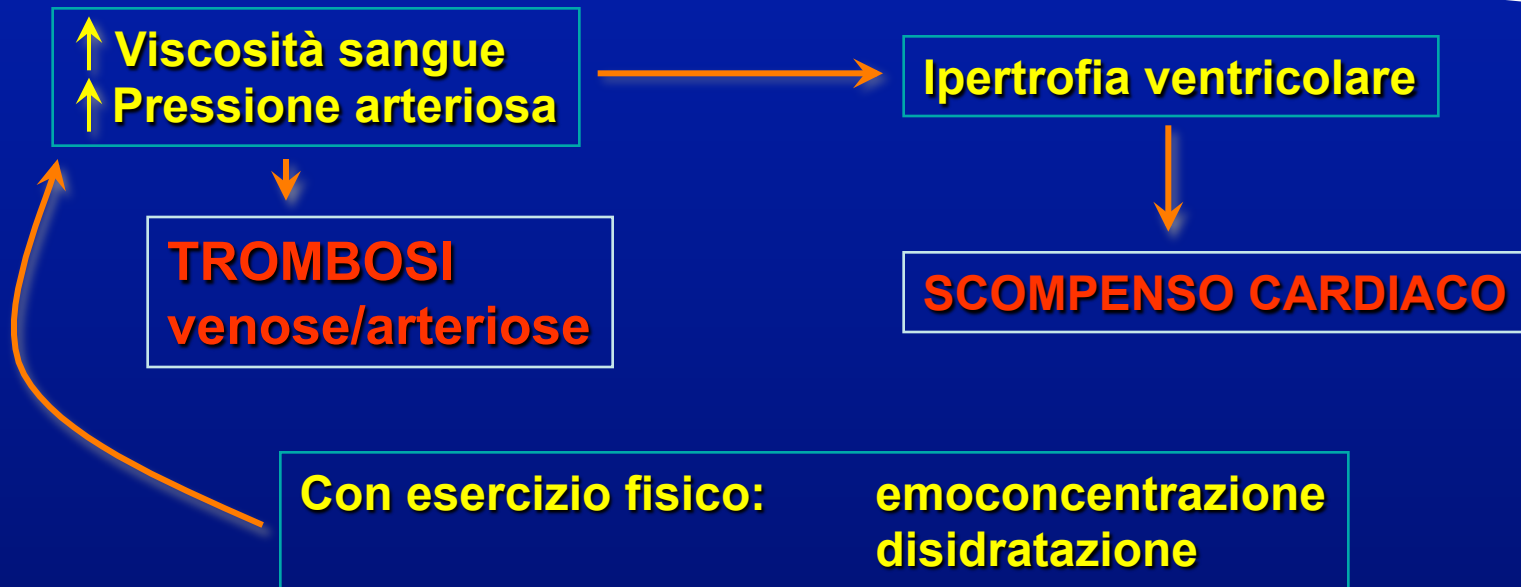
- ↑ Produzione globuli rossi → ↑ capacità di trasporto di O_2 ai muscoli
- Migliora le prestazioni a base aerobica e migliora il recupero

Sport di resistenza
(ciclismo, maratona, sci di fondo...)

EFFETTI COLLATERALI

Ematocrito troppo alto (> 50%)

Spesso associata all'uso di **broncodilatatori**
(scambio gassoso a livello alveolare)



A lungo termine: inibizione produzione EPO endogena, policitemia, leucemia acuta

News Release

Monday 17 May 2004, 12:53 GMT

New Data Show Two Week Dosing Intervals With CERA Achieve Effective Haemoglobin Control in Haemodialysis Patients

LISBON, Portugal, May 17 /PRNewswire/ -- Further evidence of the sustained erythropoietic activity of CERA (Continuous Erythropoiesis Receptor Activator) was highlighted by new clinical data presented today at the EDTA (European Dialysis and Transplant Association) meeting. The data demonstrated that CERA administered intravenously once every two weeks maintained stable control of haemoglobin (Hb) levels in 80% of patients with chronic renal anaemia who were receiving haemodialysis. This is the first time an anaemia treatment given every two weeks achieves such a high response rate.



CERA: Continuous **E**rythropoiesis **R**eceptor **A**ctivator

- **CERA: EPO** coniugata con una molecola di metossi-polietilenglicole di 30 kDa, prodotta dalla Hoffman- La Roche, Inc.
- Si lega al recettore dell' EPO con minor affinità, ma produce una risposta eritropoietica maggiore rispetto all' EPO
- Ha un' emivita da 2 a 7 volte maggiore rispetto all' EPO: si può somministrare ogni 2 settimane o una sola volta al mese (e.v. e s.c.)
- Il picco di risposta con dosi multiple si ha:
 - se somministrata e.v.: dopo 7 giorni, poi la risposta rimane stabile
 - se somministrata s.c.: dopo 10 giorni, poi si ha riduzione della risposta
- Ben tollerata, non si ha produzione di Ab anti-EPO
- I test attuali non sono in grado di individuare il trattamento



ERITROPOIETINA E DOPING



Test per l'identificazione (metodi indiretti)

- valori Hb ed Ht
- n° reticolociti
- valori di sideremia, transferrina, ferritina
(talvolta associata a ferro)

Test per l'identificazione (metodi diretti)

Differisce dall'umana per pattern
di glicosilazione/dimensioni glicani

IEF= isoelectric focusing

SDS-PAGE= sodium dodecyl sulfate
polyacrylamide gel electrophoresis

