

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Facoltà di Medicina e Chirurgia



Scuola di Specializzazione In
Farmacologia Clinica

Direttore:

Prof. Giosuè Gabriele Baggio

Tesi di Specializzazione

Nuove sostanze dopanti: effetti sull'organismo
e problemi di rilevamento nei liquidi biologici.

Relatore:

Chiar.^{mo} Prof. Alfio Bertolini

Specializzando:

Dott. Gustavo Savino

Anno Accademico 2002-2003

SOMMARIO

INTRODUZIONE	3
La storia	4
Aspetti legali	8
Giovani e Doping	11
LE SOSTANZE	15
NUOVE SOSTANZE DOPANTI	18
Ormoni peptidici e doping ematico (Sezione I Classe E; Sezione II Classe A)	18
Agenti Anabolizzanti (Classe C)	29
Integratori	46
- Xantine metilate: caffeina, guaranina.	50
- Efedrina	54
- Tribulus Terrestris	55
IL RILEVAMENTO DELLE SOSTANZE DOPANTI NEI LIQUIDI BIOLOGICI	60
Procedure, metodiche, problemi	60
CONCLUSIONI	74
Bibliografia	78
Ringraziamenti	85

*" L'uomo ha una vocazione innata per i farmaci;
il desiderio di prendere medicinali è una delle
caratteristiche che distinguono
l'uomo dagli altri animali "*

William Osler

INTRODUZIONE

Il significato e le origini del termine "doping" risultano piuttosto poco chiare. Pare, infatti, che il sostantivo primordiale *doop*, poi divenuto verbo (*to dope*) presso i britannici, derivi da un antico dialetto africano col significato di miscuglio, mistura o pozione. Agli inizi dell' '800 "to dope" in Nord America indicava la pratica del "drogare" i cavalli da corsa con preparati a base di tabacco e narcotici allo scopo di compromettere le prestazioni atletiche degli animali degli avversari, o per truccare i concorsi ippici a scopo di lucro. Un significato dunque negativo rispetto al più attuale che intende per doping, secondo una non più recentissima definizione, "la somministrazione, l'assunzione volontaria e l'uso da parte di atleti e di soggetti dell'ordinamento sportivo di sostanze appartenenti alle classi di agenti farmacologici proibiti, e l'impiego di metodi vietati allo scopo di alterare artificiosamente le prestazioni agonistiche". Un'alterazione in senso migliorativo sulla performance, dunque, non lecita ed ottenuta attraverso sistemi non naturali e fisiologici come l'allenamento e la preparazione psico-fisica, bensì grazie a farmaci e metodi

particolarmente artificiosi, più o meno invasivi, influenti sulle caratteristiche fisiche e mentali dell'atleta allo scopo di migliorarne le prestazioni.

La storia

Il doping ha probabilmente la stessa età dello sport, dal momento in cui l'uomo ha desiderato confrontarsi attraverso le proprie abilità col suo simile o con gli animali non soltanto a scopo bellico o per badare al proprio sostentamento, dal momento in cui la trasposizione della battaglia e della caccia in eventi e manifestazioni a scopo ludico hanno costituito un elemento fondamentale nell'evoluzione dell'essere umano, l'uomo ha probabilmente quasi da subito, cercato di prepararsi al confronto tentando di migliorarsi con qualsiasi sistema. Sono numerosissime le testimonianze di cerimonie propiziatorie prima della prestazione, l'assunzione di pozioni simbolicamente preparate con ingredienti richiamanti la vittoria o il vincitore di precedenti confronti. E' ben noto l'esempio dei gladiatori che, prima di scendere nell'arena dell'anfiteatro Flavio, erano soliti assumere una bevanda preparata con una miscela composta dal sudore dei "collegi" risultati vincitori negli incontri del giorno precedente e dalla sabbia del "campo di gioco" che aveva accolto il sangue dei vinti. Al di là di preparazioni galeniche di questo tipo, puramente simboliche ed a significato pseudo-magico, presso i Romani e presso numerosi altri popoli dell'antichità erano diffuse pratiche "dopanti" dotate anche di un certo significato farmacologico. Si ha notizia di preparati a base di frutta fermentata ad elevato contenuto alcolico per conferire all'atleta euforia e ridurre la paura dello scontro, alimenti preparati con interiora e testicoli di toro, dotati di vago significato anabolizzante, estratti di passiflora e tiglio

ad effetto ansiolitico ed altre improbabili misture dotate di più o meno blanda efficacia farmacologica. Col tempo le competizioni e le discipline sportive si sono evolute, l'esito della gara non è più stato segnato dalla vita o morte dei partecipanti. Premi in danaro, proprietà dello stato devolute, esenzione dal servizio di leva, per i giovani atleti dell'antica Grecia che parteciparono alle prime olimpiadi, costituirono la posta più ambita dai concorrenti. Nell'età moderna l'invenzione del motore e della luce elettrica hanno consentito lo svolgimento di gare ad alta velocità ed in ambientazione notturna proponendo nuove alternative, lo sviluppo di ulteriori abilità e l'organizzazione di un maggior numero di competizioni in varie discipline. Il doping, più o meno subdolamente, si è però sempre insinuato come pratica sleale e pericolosa per il raggiungimento del risultato sportivo e quindi per il conseguimento di premi ed onori nel modo più facile e rapido possibile. La prima morte documentata di un atleta a causa dell'uso sconsiderato di sostanze risale al 1896. Il ciclista Arthur Linton, durante la corsa Bordeaux-Parigi fu colpito da una crisi cardiaca in seguito ad overdose di stimolanti. Fu molto in uso, in particolare nei primi decenni del 1900, soprattutto tra i ciclisti, la pratica di preparare e consumare anche nel corso della gara stessa le cosiddette "bombe", veri e propri miscugli composti con associazioni di stimolanti naturali o artificiali diluite in borraccia con vino o acqua.

Il primo steroide anabolizzante fu introdotto alla fine degli anni '40 nella pratica del doping ed il suo utilizzo si diffuse rapidamente in molte categorie di atleti.

I primi tentativi di definire in termini legali in Italia la pratica del doping risalgono all'inizio degli anni '60. Fu la Federazione Medico-Sportiva Italiana, nel 1962, a proporre per prima una definizione di doping come: "l'assunzione di sostanze dirette ad aumentare artificiosamente le prestazioni in gara del concorrente pregiudicandone la moralità, l'integrità psichica e fisica"; una definizione che pone

in risalto l'aspetto etico e la lealtà dell'atleta ed i suoi principi morali. Il Consiglio di Europa nel 1966 suggerì una definizione differente proponendo la seguente: "Costituisce doping l'impiego di qualsiasi sostanza (...) da parte di individui sani al solo scopo di migliorare artificiosamente il rendimento in una competizione " Tale definizione pone in risalto invece la assoluta inutilità dell'assunzione di farmaci e sostanze da parte di individui non affetti da alcuna patologia, e qualunque assunzione di farmaci da parte di atleti sarebbe stata configurata come doping secondo tali indicazioni. Nel 1967 la morte dell'atleta Tommy Simpson, avvenuta proprio al traguardo della tappa del Mont Ventoux del Tour de France, scosse l'opinione pubblica. Il ciclista Simpson aveva assunto una dose consistente di amfetamine procurando al suo organismo una grave ipertermia che, in concomitanza con l'elevata temperatura ambientale (estate del 1967) risultò in un esito fatale: il ciclista morì a causa di un collasso cardiocircolatorio poco dopo aver completato la sua prova. Il Comitato Internazionale Olimpico, fondato nel 1894 dal Barone Pierre de Coubertin, decise in tale occasione di dedicarsi con maggiore attenzione ad un fenomeno così pericoloso e già all'epoca, da anni, dilagante, istituendo la pratica dei controlli antidoping e preoccupandosi di stilare un elenco di sostanze la cui assunzione doveva essere vietata agli atleti nel contesto delle competizioni sportive di qualsiasi livello e disciplina. Da allora tale lista è stata completata, aggiornata, revisionata, fino all'attuale ultima edizione dello scorso gennaio 2003.(**Tab. 1**).

Dalla morte di Simpson ad oggi la storia del doping ha conosciuto momenti diversi. Tra i più drammatici ritorna alla memoria il periodo della guerra fredda tra Stati Uniti ed Unione Sovietica nel corso degli anni '80. All'epoca lo scontro e la sete di supremazia tra le due superpotenze fu caratterizzato, oltre che dalla corsa agli armamenti, anche dalla bramosia di mostrare al mondo la rispettiva paternità della

gioventù sportiva più sana e forte possibile. Per gli atleti Russi ed Americani furono impiegati i prodotti più pericolosi, furono utilizzate cavie umane per la sperimentazione di sostanze dopanti, fino alla possibilità di intervento sulla regolazione dello sviluppo fisico e sessuale dell'individuo, secondo un'etica distorta dalla mente di ricercatori privi di ogni scrupolo.

I - Sostanze VIETATE
A. Stimolanti
B. Narcotici
C. Agenti anabolizzanti
1. <i>Steroidi anabolizzanti</i>
2. <i>Beta-2 agonisti</i>
D. Diuretici
E. Ormoni peptidici, sostanze ad azione mimetica e analoghi
F. Agenti con attività anti-estrogenica
G. Agenti Mascheranti
II – METODI VIETATI
A. Aumento di trasporto di ossigeno
B. Manipolazioni farmacologiche, chimiche e fisiche
C. Doping genetico
III. CLASSI DI SOSTANZE VIETATE IN DETERMINATE CONDIZIONI
A. Alcool
B. Cannabinoidi
C. Anestetici locali
D. Glucocorticosteroidi
E. Beta-bloccanti

Tab. 1 Lista del C.I.O. aggiornata al gennaio 2003

Aspetti legali

In Italia la prima legge definita e dedicata alla prevenzione ed alla lotta al doping è la n. 376 del 14 dicembre 2000, "Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping". Nel testo redatto dal legislatore la definizione di doping è così espressa: "Art. 1, Comma 2: Costituiscono doping la somministrazione o l'assunzione di farmaci o di sostanze biologicamente o farmacologicamente attive e l'adozione o la sottoposizione a pratiche mediche non giustificate da condizioni patologiche ed idonee a modificare le condizioni psico-fisiche o biologiche dell'organismo al fine di alterare le prestazioni agonistiche degli atleti.

Comma 3: Ai fini della presente legge sono equiparate al doping la somministrazione di farmaci o di sostanze biologicamente o farmacologicamente attive e l'adozione di pratiche mediche non giustificate da condizioni patologiche, finalizzate e comunque idonee a modificare i risultati dei controlli sull'uso dei farmaci, delle sostanze e delle pratiche indicati nel comma 2".

La suddetta legge propone un elenco, completo e definito, suddiviso in 10 classi, di sostanze vietate agli atleti, ed una ulteriore sezione relativa ai metodi di doping (emotrasfusioni, somministrazione di trasportatori artificiali di ossigeno). L'elenco delle sostanze vietate dalla legge italiana, pur basandosi su quello redatto dal C.I.O., risulta alquanto differente soprattutto per una particolare e fondamentale caratteristica. Nell'elenco stilato dal Comitato Olimpico ogni classe di sostanze vietate presenta una parziale lista delle principali molecole e termina con la dicitura "and related substances". Il C.I.O. cioè si riserva di vietare l'assunzione delle sostanze elencate e di tutte le relative affini per struttura ed effetto farmacologico in modo da non permettere all'atleta di ricercare prodotti dopanti a base di molecole

non espressamente citate. Ogni classe presente nella lista della legge italiana è priva della dicitura "...e sostanze affini"; a tale mancanza la legge italiana sopperisce (o dovrebbe sopperire) con periodici aggiornamenti semestrali della lista delle sostanze vietate parallelamente ai più recenti progressi della ricerca scientifica. La lista della legge italiana è dunque una lista chiusa. L'ultimo aggiornamento della lista italiana è stato pubblicato sulla G.U. n.222 del 24 settembre 2003 – *"DECRETO 10 luglio 2003 Modifiche al decreto ministeriale 15 ottobre 2002" recante "Approvazione della lista dei farmaci, sostanze biologicamente o farmacologicamente attive e delle pratiche mediche, il cui impiego e' considerato doping, ai sensi della legge 14 dicembre 2000, n. 376"*.

In Italia dunque, l'applicazione delle due liste è da differenziare: per le sanzioni sportive da comminare agli atleti trasgressori nell'ambito delle competizioni organizzate sotto l'egida del C.I.O. e della World Anti-Doping Agency ha valore la relativa lista aperta, per le sanzioni penali ha valore la lista italiana; per tutte le competizioni nazionali non gestite da C.I.O. e/o W.A.D.A. ha valore la lista italiana, sia per le sanzioni sportive che per quelle penali.

La legge 376/2000 infatti, prevede anche interventi penali con sanzioni pecuniarie e fino alla reclusione nei confronti dell'atleta o di chiunque favorisca il ricorso al doping (**Tab.2**).

Art. 9 Disposizioni penali (legge 376/2000)

1. Salvo che il fatto costituisca più grave reato, è punito con la **reclusione da tre mesi a tre anni e con la multa da lire 5 milioni a lire 100 milioni chiunque procura ad altri, somministra, assume o favorisce comunque l'utilizzo di farmaci o di sostanze biologicamente o farmacologicamente attive, ricompresi nelle classi previste all'articolo 2, comma 1, che non siano giustificati da condizioni patologiche e siano idonei a modificare le condizioni psicofisiche o biologiche dell'organismo, al fine di alterare le prestazioni agonistiche degli atleti, ovvero siano diretti a modificare i risultati dei controlli sull'uso di tali farmaci o sostanze.**
2. La pena di cui al comma 1 si applica, salvo che il fatto costituisca più grave reato, a chi adotta o si sottopone alle pratiche mediche ricomprese nelle classi previste all'articolo 2, comma 1, non giustificate
3. La pena di cui ai commi 1 e 2 è aumentata:
 - a) se dal fatto deriva un danno per la salute;
 - b) se il fatto è commesso nei confronti di un minorenni;
 - c) se il fatto è commesso da un componente o da un dipendente del CONI ovvero di una federazione sportiva nazionale, di una società, di un'associazione o di un ente riconosciuti dal CONI.
4. **Se il fatto è commesso da chi esercita una professione sanitaria, alla condanna consegue l'interdizione temporanea dall'esercizio della professione.**

Tab. 2 Disposizioni penali secondo la legge italiana antidoping

Nel marzo 2003, la World Anti-Doping Agency (WADA) e il C.I.O. hanno deciso di istituire un nuovo codice di regolamentazione per la lotta al doping (World Anti-Doping Code) proponendo nuove strategie di intervento, nuove misure di controllo, nuovi programmi di vigilanza. Il Codice, redatto e controfirmato dalle maggiori federazioni sportive internazionali entrerà completamente in vigore nel corso del 2004.

Una delle caratteristiche principali di tale regolamentazione è la nuova definizione di Doping proposta:

Costituiscono DOPING

-

La presenza di una sostanza vietata, dei suoi metaboliti e dei suoi markers nei liquidi biologici prelevati

(Spetta allo sportivo assicurarsi che nessuna sostanza vietata, metaboliti o markers, penetri nel suo organismo)

-

Sia l'uso che il tentativo di uso di sostanze o metodi proibiti.

-

Il successo o meno "del doping" non è indispensabile.

La falsificazione o il tentativo di falsificazione dei campioni

Il semplice possesso da parte dell'atleta di sostanze o strumenti che servano per pratiche proibite.

E' questa una interpretazione apparentemente non difforme da quelle proposte precedentemente. Tale definizione però punta l'attenzione sul rilevamento della/e sostanze nei liquidi biologici, la cui sola presenza potrà costituire caso di doping, indipendentemente dalla buona fede o non intenzionalità dell'atleta che spesso in passato è stata oggetto di discussione ed a volte discriminante nel proscioglimento dell'indagato.

Giovani e Doping

Da anni ormai si assiste con triste periodicità a sempre più numerosi casi di atleti implicati in situazioni poco chiare di utilizzo di sostanze dopanti, spesso atleti

di un certo calibro e di discreta fama. Purtroppo il fenomeno del doping non è soltanto circoscritto allo sport professionistico, anzi, è lo sport amatoriale il contesto più ampio e meno controllabile in cui il doping raduna i suoi accoliti; lo spirito di emulazione nei confronti di alcuni pseudo-campioni dopati, la voglia di soddisfare il proprio desiderio di primeggiare ad ogni costo, la superficialità, l'ignoranza e la facile reperibilità di sostanze dopanti di ogni classe costituiscono i principali ostacoli alla lotta al doping e il terreno più fertile per l'espansione e la diffusione del fenomeno. E' sempre più facile e ormai quasi una prassi il ricorso all'integrazione alimentare, peraltro utile in alcuni casi ben selezionati e clinicamente controllati, da parte di atleti più o meno giovani praticanti sport a livello amatoriale. Il ricorso al flacone, all'integratore proteico, ai carboidrati ed agli aminoacidi ramificati in compresse, hanno preso il posto della dieta bilanciata in base alle richieste dell'organismo. Tali considerazioni non hanno alcuna intenzione di demonizzare o screditare l'integrazione alimentare, costituiscono comunque una valutazione di quanto oggi si cerchi con rapidità di sostituire comportamenti e attività molto più fisiologiche e naturali per l'organismo con surrogati la cui immediata efficacia (spesso molto dubbia) mette in secondo piano la consapevolezza ed il timore di una possibile insorgenza di effetti collaterali spesso anche di grave entità.

Se un integratore come la creatina, di cui tanto si è parlato nel recente passato, era venduto e proposto su internet nel 1998 da circa una ventina di siti, e di questo se ne meravigliava alquanto un giornalista del mattino, Andrea Galdi, nel suo articolo "Internet, supermarket della creatina", oggi i siti che vendono e propongono lo stesso integratore sono circa 600.000 !. (ricerca effettuata nel mese di ottobre 2003 tramite lo stesso motore di ricerca - www.yahoo.com - citato nell'articolo di A.Galdi nel 1998). Questa semplice osservazione non è altro che la constatazione di quanto l'interesse dei consumatori nei confronti di simili prodotti sia in crescente ed

esponenziale aumento. Così come la creatina, è possibile ugualmente acquistare e reperire su internet prodotti di ogni tipo: steroidi androgeni anabolizzanti, stimolanti, emoderivati, eritropoietina, prodotti in grado di alterare la presenza dei metaboliti urinari di sostanze illecite utilizzate a vari scopi, etc.: c'è solo l'imbarazzo della scelta nell'individuare il fornitore migliore, il più sicuro, e il prodotto più economico.

La facile reperibilità di sostanze e la relativa ignoranza circa i potenziali gravi effetti per la salute dell'individuo ha spinto numerosi enti pubblici, Università, organizzazioni sportive ed organi nazionali ed internazionali a programmare interventi di indagine e prevenzione soprattutto tra i giovani in età scolare ed i giovani atleti.

La Commissione Europea, Direzione Generale per l'Educazione e la Cultura, nel 2001 ha promosso e finanziato 16 progetti in Europa, di cui 4 italiani (Modena, Caserta, Massa Carrara, Roma). L'obiettivo principale e collettivo dei progetti italiani è stato quello di condurre inizialmente un'indagine conoscitiva sugli stili di vita nel mondo giovanile, con particolare riguardo all'utilizzo delle sostanze dopanti, e successivamente promuovere ed organizzare interventi formativi e divulgativi per la diffusione della cultura di uno Sport pulito.

Il Progetto modenese, denominato "Tallone d'Achille, come partecipare senza farsi male", ideato dal Centro di Medicina Sportiva dell'A.U.S.L. di Modena, è stato realizzato con la partecipazione di più partners (Provincia e Comune di Modena, Università di Modena e Reggio Emilia, Ospedale Psichiatrico Privato "Villa Igea", C.O.N.I., U.I.S.P., C.S.I., Ser.T di Modena, Ufficio Scolastico Regionale dell'Emilia Romagna). Il progetto è stato condotto con i seguenti obiettivi principali:

- Realizzare un'indagine su un campione significativo di adolescenti (15-19 anni) sulla disponibilità generica e specifica ad assumere sostanze per favorire il

superamento delle difficoltà proprie dell'età adolescenziale e per migliorare la propria prestazione fisica e/o la propria immagine corporea.

- Effettuare una serie di interventi informativi ed educativi nelle scuole e nelle società sportive sul doping, tenendo conto anche dei risultati derivanti dall'analisi dei questionari somministrati ai giovani selezionati per l'indagine.
- Fornire informazioni sui rischi per la salute relativi all'utilizzo privo di fondamento di sostanze, farmaci e prodotti per l'integrazione alimentare dello sportivo, attraverso l'attivazione di una linea telefonica dedicata ("Telefono Pulito" con numero verde 800170001 ad accesso gratuito da tutto il territorio nazionale) e del sito internet www.tallonediachille.it

I dati raccolti al termine della prima parte del progetto (l'indagine), derivati dall'analisi di 1200 questionari contenenti le risposte a domande preparate da un gruppo socio-psicologico, da una nutrizionista e da due grafologi sono stati raccolti nel testo "Giovani e Doping a Modena", pubblicato nel novembre del 2002. I dati analizzati hanno consentito di evidenziare una percentuale importante di giovani favorevoli a comportamenti a rischio di sviluppo di abuso e dipendenza. E' risultato un basso livello di autostima, ed un comportamento fortemente teso all'ottenimento del consenso da parte del gruppo dei pari, e quindi un atteggiamento disponibile anche all'utilizzo di risorse esterne e farmacologiche per migliorare il proprio aspetto e la propria prestazione.

Le riflessioni su tali risultati si sono espresse e tradotte nell'organizzazione ed attuazione degli interventi di tipo formativo-divulgativo attualmente in corso in ambito scolastico e sportivo.

Risultati interessanti sono emersi anche da un'indagine effettuata dal Ministero della Pubblica Istruzione nel corso del 2003 denominato "Alla scoperta del corpo umano". Nell'indagine sono stati coinvolti 13.360 ragazzi dai 13 ai 18 anni e l'analisi

dei risultati ha condotto alle seguenti evidenze: i ragazzi intervistati considerano grave rischio per la salute: il tabagismo (55%), l'anoressia/bulimia (30%), la tossicodipendenza (27%), l'alcolismo (26%). Il 35% dei ragazzi non sa cosa sia il doping e il 47% non ne conosce i relativi danni per la salute. Le sostanze dopanti sono indicate dai ragazzi all'ultimo posto tra quelle ritenute capaci di portare a gravi conseguenze.

Altri progetti sono stati condotti in Italia da Enti locali e nazionali e molti saranno programmati nel corso del 2004, anno che la Comunità Europea ha voluto dedicare all'educazione dei giovani attraverso lo Sport.

LE SOSTANZE

Descrivere in modo particolareggiato le sostanze dopanti ed i relativi effetti sull'organismo costituirebbe un compito estremamente arduo e si risolverebbe nella produzione di un testo la cui mole sarebbe degna di un trattato di Farmacologia Clinica. Scopo della presente trattazione è l'analisi e la descrizione degli effetti di alcune delle sostanze recentemente comparse nella pratica del doping e la cui preoccupante diffusione anche in ambito sportivo amatoriale mette sempre più spesso in allarme il personale sanitario. Non è difficile ormai imbattersi anche in Pronto Soccorso in veri e propri casi clinici caratterizzati da un corredo sintomatologico tipico della intossicazione da farmaci assunti a scopo dopante (epatite tossica, agitazione psicomotoria, ipertermia, infarto muscolare da emoconcentrazione, ecc). Molte delle sostanze utilizzate fino ad alcuni anni fa sono ormai divenute obsolete.

Tra le prime sostanze dopanti ad effetto stimolante fu utilizzata addirittura la stricnina, che con effetto eccitatorio indiretto produceva un aumento del tono

muscolare di breve durata (emivita breve). La stricnina inibisce, a livello midollare, il legame del neurotrasmettitore inibitorio glicina ai relativi recettori localizzati a livello dei motoneuroni. La glicina rende il motoneurone non eccitabile e quindi induce una riduzione del tono muscolare, la stricnina, inibendo tale effetto, facilita la conduzione motoneuronale e rende ipertonico il muscolo fino allo spasmo. E' facile raggiungere dosi tossiche e addirittura letali di stricnina (30 mg/Kg). Gli effetti principali della stricnina si esprimono soprattutto a livello cardiovascolare e respiratorio con tachicardia e ipertensione fino all'arresto cardiaco; è osservabile inoltre tachipnea grave fino all'arresto respiratorio. Alterazioni a livello renale, con conseguenti ipocalcemia, ipocaliemia e ipernatriemia, sono frequenti in seguito ad intossicazione da stricnina; frequenti sono anche la rabdomiolisi e le contrazioni spastiche fino alle convulsioni. Oggi vengono sempre più di frequente utilizzati a scopo dopante-stimolante amfetamine ed agonisti beta adrenergici.

Un tempo veniva fatto spesso ricorso anche alla categoria dei farmaci narcotici da parte di alcuni atleti. Sembra assurdo o quanto meno singolare che uno sportivo possa far ricorso a sostanze quali buprenorfina, morfina, eroina, pentazocina, e altri analgesici oppioidi a scopo di doping. In effetti tali sostanze venivano utilizzate da molti atleti per due principali motivi. Gli oppioidi a basse dosi producono un piacevole stato di euforia con scomparsa di ansia ed agitazione pre-gara; inoltre, come secondo effetto, la loro azione analgesica veniva particolarmente ricercata da atleti la cui disciplina potesse sottoporre a micro o macro-politraumatismi (pugili, lottatori). In passato l'associazione di oppioidi a sostanze stimolanti, usati per contrastare la riduzione del livello di attenzione indotto dai narcotici, (morfina + cocaina) ha provocato innumerevoli danni fisici fino allo sviluppo di dipendenza fisica ed al decesso di alcuni atleti olimpionici.

Molte dunque sono le sostanze ormai non più di uso comune tra gli atleti dediti alla pratica del doping; nuove classi e nuove molecole risultano sempre più diffuse col rischio di produrre effetti ancora poco conosciuti sull'organismo umano. Spesso infatti si tratta di sostanze ancora in via di sperimentazione clinica per la terapia di determinate patologie, oppure addirittura di farmaci ad uso veterinario. Le classi di sostanze più diffusamente impiegate nella pratica del doping di questi ultimi anni riguardano gli ormoni peptidici ed il relativo impiego di alcuni di essi nella pratica del doping ematico e la classe degli ormoni steroidi androgeni anabolizzanti. E' inoltre frequente il ricorso, spesso da parte degli atleti non professionisti, ad alcune categorie di integratori che più o meno subdolamente nascondono proprietà dopanti spesso non ufficialmente dichiarate.

NUOVE SOSTANZE DOPANTI

Ormoni peptidici e doping ematico

(Sezione I Classe E; Sezione II Classe A)

Le sostanze appartenenti alla classe E della sezione I della lista delle sostanze e delle pratiche vietate redatta dal C.I.O. rientrano nella categoria denominata degli “Ormoni peptidici, mimetici ed analoghi”. Le molecole appartenenti a tale classe maggiormente utilizzate a scopo di doping sono la somatotropina (GH) e l'eritropoietina.

Secondo un rapporto dei NAS di Palermo, nel 1999, nella sola Sicilia la spesa dei farmaci relativa alla somatotropina (GH), soprattutto per un particolare prodotto (*Saizen*®), sarebbe stata sufficiente per la terapia della quasi totalità dei casi di nanismo in tutta Italia. Questo dato piuttosto inquietante basta a dare un'idea dell'utilizzo e della diffusione della pratica del doping tramite l'impiego di GH. L'ormone somatotropo, prodotto dall'ipofisi, agisce in senso anabolico soprattutto sul metabolismo proteico favorendo il trasporto degli aminoacidi a livello delle fibrocellule muscolari con conseguente aumento della sintesi proteica. Il GH stimola la produzione di insulina da parte del pancreas con conseguente azione glicogenosintetica. Inoltre, in seguito ad assunzione di GH, aumentano la neosintesi cartilaginea e la proliferazione cellulare. Tali effetti apparentemente favorevoli all'aumento della massa muscolare si risolvono ben presto in seri effetti collaterali rappresentati da: alterazioni del metabolismo con formazione di corpi chetonici ed acidosi, alterazioni somatiche caratterizzate da prognatismo, diastasi dei denti incisivi, acromegalia, irsutismo, ginecomastia. Non è infrequente la sensibilizzazione immunitaria nei confronti di derivati del GH o di ormone somatotropo sintetico somministrati come farmaci, con conseguenti reazioni da

ipersensibilità anche di notevole entità. In seguito ad impiego di preparazioni estrattive di ipofisi animale sono stati segnalati casi di Sindrome di Kreutzfeldt-Jakob talvolta con esito anche fatale.

Sebbene il GH occupi, nell'ambito della classe E delle sostanze vietate dal C.I.O., un preoccupante ruolo nella pratica del doping in senso anabolizzante, l'attenzione maggiore, soprattutto negli ultimi anni è rivolta al doping ematico, una pratica piuttosto recente, vietata dalla metà degli anni '80, ma già in uso da anni con la tecnica della trasfusione e dell'auto-trasfusione, perfezionatasi nel tempo con l'ausilio di sussidi farmacologici potenzialmente efficacissimi in tal senso ma altrettanto pericolosi se utilizzati da soggetti in stato di buona salute.

Il nome del farmaco che maggiormente occupa le pagine dei referti medici delle commissioni deputate ai controlli antidoping, ma anche quelle delle centinaia di articoli delle maggiori testate giornalistiche sportive e non, è senza dubbio l'Eritropoietina. La frequenza di utilizzo di questa molecola nello sport, in varie discipline ed a differenti livelli, sia professionistico che dilettantistico, costituisce senza dubbio uno dei maggiori problemi per la salute dell'atleta nella pratica del doping

L'eritropoietina (EPO) è prodotta per il 90% dal rene e in piccola quantità dal fegato, agisce sul midollo osseo stimolando la maturazione e la liberazione nel sangue di globuli rossi, l'ipossia rappresenta lo stimolo più importante nella modulazione della produzione di EPO.

Dal 1985 l'EPO è divenuta disponibile come farmaco nella sua forma ricombinante umana (rHuEpo), e ne è stato approvato l'impiego clinico per il trattamento dell'anemia in soggetti affetti da insufficienza renale cronica.

Come spesso accade nell'assistere con soddisfazione al progresso scientifico farmacologico, talvolta il successo relativo alla sintesi di nuove molecole, efficaci e

proponibili per l'impiego nella pratica clinica, si trasforma automaticamente in timore per l'ipotetico erroneo, fraudolento e pericoloso utilizzo da parte di chiunque possa intravedere per quella determinata molecola un possibile impiego in senso dopante. L'EPO come sostanza dopante viene usata soprattutto nelle specialità di resistenza (ciclismo, maratona ecc.) allo scopo di rendere più efficiente il trasporto ematico dell'O₂ e la cessione dello stesso ai tessuti impegnati nel lavoro, attraverso un aumento della massa eritrocitaria.

I principali effetti avversi dovuti all'impiego di eritropoietina in soggetti normali e non carenti di tale ormone sono: tendenza alla trombofilia, sia indipendentemente dal valore di ematocrito (Ht) in quanto l'Epo ha la capacità di influire sulla funzione dei fattori della coagulazione del sangue, sia in relazione al valore dell'Ht a causa dell'emoconcentrazione con formazione di trombi e coaguli intravascolari; ipertensione, conseguente sclerosi vascolare e aumentato rischio di infarto; potenziale incremento delle resistenze vascolari nelle zone profonde del cervello, con possibile invecchiamento precoce delle strutture; convulsioni; encefalopatia ipertensiva; policitemia; aplasia midollare fino alla possibile insorgenza di leucemie acute; reazioni autoimmunitarie: comparsa di anticorpi anti-frazione glucidica dell'EPO, la cui rilevanza clinica non è ancora del tutto nota, e di anticorpi anti-frazione proteica con inibizione della produzione di emazie da parte dell'eritropoietina endogena e di quella esogena.

All'EPO si è aggiunta di recente, prendendone quasi il posto principale nella pratica del doping ematico farmacologico, la darbepoietina α , denominata Novel Erythropoiesis Stimulating Protein (NESP).

La NESP è un'eritropoietina sintetica analoga all'eritropoietina ricombinante umana ma dotata di lunga emivita plasmatica. (emivita di eliminazione della darbepoietina α = 25 ore circa, contro le 8,5 ore dell'emivita di eliminazione della rHuEpo dopo

somministrazione endovenosa) (MacDougall et al, 2001). Il meccanismo di stimolazione dell'eritropoiesi esercitato dalla NESP è simile a quello tipico dell'eritropoietina endogena; la NESP agisce legandosi ai recettori per l'eritropoietina sulle cellule progenitrici eritroidi, con una relativamente bassa affinità, stimolandone la maturazione e la proliferazione fino alla differenziazione in cellule ematiche mature. Sebbene l'affinità di legame della NESP verso i recettori per l'eritropoietina sia relativamente bassa, la lunga emivita della molecola conferisce a tale farmaco una durata di azione maggiore ed un'efficacia duratura.

La NESP è una eritropoietina iperglicosilata: essa è dotata di cinque catene carboidratiche con residui N-terminali (due in più rispetto alla rHuEpo) che conferiscono alla molecola un elevato contenuto in acido sialico ed un elevato peso molecolare. Proprio l'elevato contenuto in acido sialico della molecola, provocando un rallentamento della clearance plasmatica dovuto ad una laboriosa metabolizzazione, caratterizza la maggiore permanenza nel circolo ematico e la prolungata attività *in vivo* della darbepoietina α a favore, dal punto di vista clinico, di un ridotto numero di somministrazioni (una dose a settimana contro tre della rHuEpo in soggetti affetti da grave anemia ed insufficienza renale cronica) (MacDougall, 2000; Egrie & Brown, 2001)

L'impiego clinico della darbepoietina è indicato per il trattamento dell'anemia in pazienti con insufficienza renale cronica o in dialisi, nel trattamento dell'anemia correlata a chemioterapia e dell'anemia grave causata da alcune neoplasie.

Gli effetti avversi e pericolosi relativi all'utilizzo di darbepoietina α da parte di soggetti sani, oltre a comprendere tutte le possibili evenienze patologiche derivanti da un aumento della viscosità ematica da emoconcentrazione ed aumento del numero di emazie (ipertensione, eventi trombotici), comprendono anche manifestazioni a livello osteo-muscolare caratterizzati da mialgie ed artralgie

diffuse, sensazione di affaticamento, e la pericolosissima evenienza di aplasia midollare: la sua eziopatogenesi non è ancora stata strettamente correlata al trattamento con NESP ma esistono evidenze di comparsa di tale patologia in soggetti trattati con tale molecola. Non è inoltre infrequente la comparsa di una sieroconversione per anticorpi anti-darbepoietina α (Casadevall et al, 2002).

La NESP può produrre in breve tempo una elevazione dell'ematocrito dai valori normali di 42%-44% fino a valori del 60%, estremamente rischiosi per il soggetto sano. La Commissione italiana di Vigilanza antidoping ha stabilito che il valore di ematocrito da considerare normale per l'atleta non deve superare il 50%. Sarebbe opportuno commentare una tale decisione ma non è certo questo lo scopo della presente trattazione.

Effetti simili a quelli indotti dall'EPO e dalla NESP sono spesso ricercati, come già accennato, anche con espedienti quali l'emotrasfusione. Tale pratica risulta ugualmente vietata come metodo di doping e non comporta di certo meno rischi (emolisi, emocromatosi, ipertermia da pirogeni presenti nel sangue conservato, nefrite).

L'attenzione dei ricercatori che, in malafede, favoriscono la diffusione del fenomeno del doping, ha intravisto di recente un ulteriore potenziale effetto dopante intrinseco di alcune molecole che, pur agendo in senso ossigenante per il muscolo, non determinano un aumento della massa eritrocitaria e quindi l'elevazione dell'ematocrito. Pur agendo con meccanismi diversi dalle varie forme di eritropoietina, esse non sono prive purtroppo di spiacevoli e pericolosi effetti avversi.

Si sta infatti pericolosamente diffondendo l'utilizzo di nuovi prodotti classificati come "modulatori allosterici del legame ossigeno emoglobina". Tali sostanze sono in grado di intervenire sull'affinità di legame dei gruppi eme dell'emoglobina

all'ossigeno velocizzandone il rilascio ai tessuti con conseguente spostamento verso destra della curva di dissociazione Hb-O₂ (**Fig. 1**)

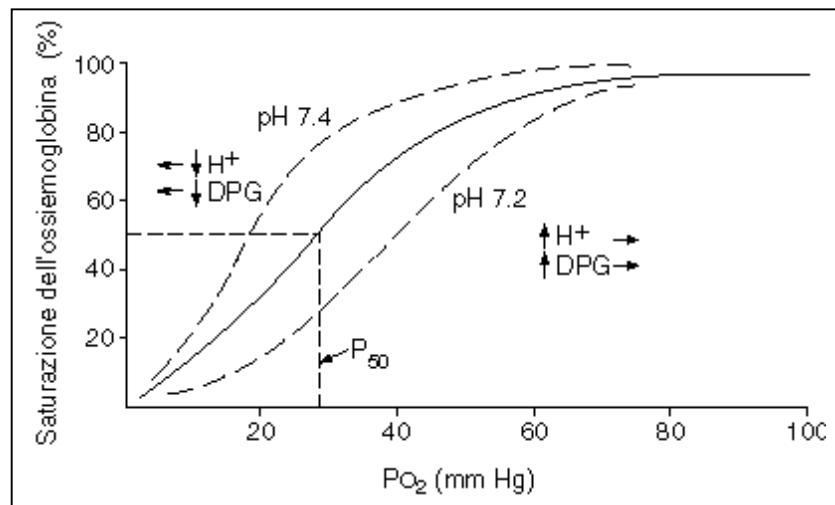


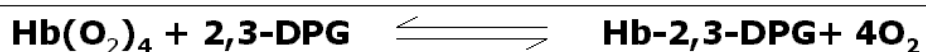
Fig. 1 Curva di saturazione/dissociazione del legame emoglobina-ossigeno

Tali sostanze sono caratterizzate prevalentemente dal 2-3 difosfo-glicerato (2,3-DPG) e dal metil-acetil-fosfato (MAP).

Il 2-3 difosfo-glicerato è un prodotto intermedio coinvolto nella prima tappa della fase di recupero energetico della glicolisi eritrocitaria, cioè la fase di conversione della gliceraldeide-3-fosfato in 1,3-difosfoglicerato, reazione catalizzata dalla gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi. Il susseguirsi delle reazioni glicolitiche da questo punto in poi conduce alla produzione finale di due molecole di acido piruvico e di energia incamerata in quattro molecole di ATP.

Il 2,3-DPG agisce come modulatore allosterico del legame ossigeno-emoglobina; esso non si lega all'ossiemoglobina, bensì all'Hb inserendosi tra le catene β con le quali forma 4 ponti salini rendendo la molecola più compatta.

La reazione riportata di seguito illustra l'equilibrio tra HbO₂ e Hb-2,3-DPG:



In questo equilibrio un aumento del 2,3-DPG sposta la reazione a destra favorendo la liberazione di O_2 ; in altre parole l'azione dell'acido 2,3-DPG si traduce in una notevole diminuzione dell'affinità dell'Hb per l' O_2 , favorendo così la cessione dell'ossigeno. Esso agisce pertanto come un importante modulatore dell'ossigenazione dell'Hb, in quanto la sua concentrazione aumenta (nelle ipossie di varia origine o in quelle condizioni patologiche nelle quali il flusso dell'aria nei bronchioli è ostacolato), o diminuisce (nelle acidosi, shock ecc) con un meccanismo di adattamento corrispondente alle necessità fisiologiche.

L'aumento dei livelli di 2,3-DPG è ottenuto, oltre che con la somministrazione di prodotti a base di 2,3-DPG per via iniettiva, anche e soprattutto per via indiretta da parte di alcuni atleti. Una tecnica che ne favorisce l'incremento è l'ozono-terapia. Tale tecnica favorisce un aumento della velocità delle reazioni enzimatiche caratteristiche della glicolisi eritrocitaria favorendo una maggiore produzione di 2,3-DPG nell'unità di tempo (**Fig. 2**). Ciò avverrebbe a causa dell'azione ossidante dell'ozono (O_3) che, favorendo la formazione di perossidi, determinerebbe l'innescio di una cascata di reazioni con effetto di compensazione anti-ossidante da parte dell'organismo risultante in una aumentata produzione di alcuni enzimi quali: superossido-dismutasi, glutazione-reduttasi, glutazione perossidasi e glucoso-6-fosfato-deidrogenasi. Quest'ultimo, entrando nel ciclo dei pentosi, favorisce l'aumento della produzione di 2,3-DPG come prodotto intermedio. L'ozono ad uso clinico è spesso somministrato anche per via endovenosa con la tecnica dell'auto-emoterapia che si esegue prelevando circa 200 cc di sangue venoso, convogliato in un contenitore a sacca contenente anticoagulante, trattato con miscela di O_2/O_3 e successivamente ritrasfuso.

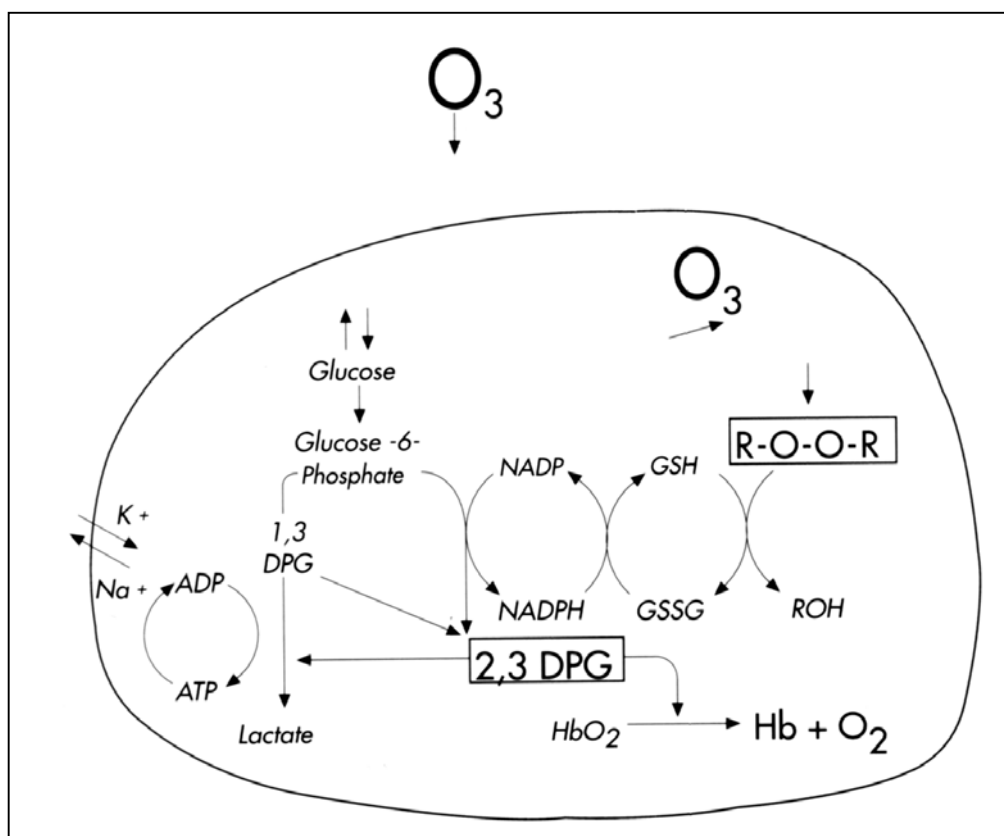


Fig. 2 Aumento della produzione di 2,3 DPG indotto da ozono (O_3)

Il metilacetilfosfato (MAP) è un altro composto con proprietà di modulatore del legame ossigeno emoglobina utilizzato da alcuni atleti a scopo dopante; il MAP compete infatti con il 2,3 DPG per il legame sulle catene emoglobiniche β (il MAP è in grado di acetilare i siti emoglobinici Val-1(β); Lys-82(β); Lys-144(β) localizzati nelle immediate vicinanze dei siti di legame dell'emoglobina per il 2,3-DPG) (Ueno H. et al. 1989). Ciò impedisce all'emoglobina il legame con il 2,3-DPG ma la rende ugualmente poco affine al legame con O_2 risultando pertanto spostata verso destra la curva di saturazione emoglobinica con maggiore cessione di ossigeno ai tessuti. Il risultato di una ridotta affinità dell'emoglobina nei confronti dell'ossigeno e di una maggiore cessione dello stesso ai tessuti in condizioni sia di riposo che di sforzo fisico può condurre ad una serie di manifestazioni sintomatologiche configurabili come sindrome ipossiémica.

Si sta di recente diffondendo pericolosamente anche l'utilizzo di una nuovissima molecola sintetica con effetto di modulazione allosterica Hb-O₂, l'RSR13.

L'RSR13 (sale sodico dell'acido 2-[4-[2-[(3,5-dimetilfenil)amino]-2-ossietil]fenoxil]-2-metilpropanoico) è una piccola molecola che facilita la cessione ematica di ossigeno ai tessuti riducendo l'affinità di legame tra emoglobina ed O₂ tramite un legame allosterico al tetramero emoglobinico stesso. La somministrazione endovenosa di RSR13 provoca una immediata e prolungata riduzione dell'affinità di legame tra emoglobina ed ossigeno che simula ed amplifica gli effetti di altri modulatori allosterici come l'H⁺, la CO₂ ed il 2,3-DPG; ciò risulta in una maggiore ossigenazione tissutale senza alcun incremento dell'ematocrito.

Tali proprietà dell'RSR13 lo hanno reso proponibile per la terapia farmacologica di alcuni stati di ipossia tissutale, da ridotto flusso ematico, regionale o generale; e per il trattamento di patologie da ridotta capacità di trasporto e/o aumentata richiesta tissutale di ossigeno.

Numerosi studi su animali da esperimento hanno dimostrato che l'RSR13 può favorire un incremento dell'ossigenazione in numerosi tessuti in condizioni di ipossia inclusi il miocardio, i muscoli scheletrici, i tessuti neoplastici e l'encefalo. L'RSR13 non è mai stato testato in soggetti sani per valutarne l'aumento della performance atletica, essendo stato ipotizzato e studiato il suo possibile utilizzo esclusivamente per la terapia della ipossigenazione di cellule cerebrali ipoperfuse in corso di neoplasie. L'RSR è in grado, però, di indurre un incremento del 15% della cessione di ossigeno ai tessuti in corso di esercizio fisico nel muscolo scheletrico di cane e di incrementare del 25% la VO_{2max}. In questi animali da esperimento è stata rilevata una elevazione della pO₂50 (pressione parziale di ossigeno che risulta al 50% della saturazione emoglobinica) di 21mmHg; si è resa comunque necessaria

una supplementazione di ossigeno per il mantenimento del livello di ossigenazione arteriosa.

Una dose terapeutica di 75-100 mg/kg favorisce un aumento della pO_{250} di circa 10 mmHg; ciò determina una facilitazione della cessione di ossigeno ai tessuti. E' in effetti possibile che dosi inferiori di RSR13 possano favorire un miglioramento della performance atletica: una dose minima attiva di RSR13 è stata valutata intorno a valori di circa 50 mg/kg. Questa dose potrebbe incrementare la pO_{250} di circa 1-2 mmHg per un periodo di circa 2 ore ma richiederebbe una infusione endovenosa di un volume di 350 ml, somministrato in un periodo di circa 45 minuti.

L'infusione endovenosa di RSR13 può causare irritazione e dolore nella sede di iniezione che limita la possibilità di concentrare eccessivamente il farmaco nella soluzione da somministrare per tale via; pertanto, essendo necessarie abbondanti diluizioni, i tempi di infusione risultano molto lunghi.

Il picco per l'ottenimento dell'effetto farmacologico viene raggiunto al termine dell'infusione, l'emivita del farmaco in soggetti sani è approssimativamente di circa 3-6 ore.

La somministrazione orale di RSR13 non è ancora da considerare valida, dato il potenziale irritante di tale molecola a livello della mucosa oro-faringea ed esofago-gastrica.

Una somministrazione di RSR13 in soggetti sani per il puro scopo di incrementarne la performance atletica costituirebbe senza dubbio una pratica estremamente rischiosa. Tale evenienza, non supportata da una supplementazione di ossigeno atta a favorire il mantenimento di una buona ossigenazione arteriosa, supplementazione praticamente impossibile nel corso dell'espletamento della performance atletica, potrebbe condurre a rapida desaturazione arteriosa di ossigeno con risultante ipossiemia, ciò interferirebbe addirittura con lo sforzo

muscolare, configurandosi un risultato opposto rispetto a quello previsto, cioè un rapido “down” psicofisico piuttosto che il miglioramento della prestazione. Si sommerebbero, inoltre, all’ipossiemia sintomi come nausea, vomito e cefalea, fino allo scompenso cardiocircolatorio grave.

Esistono validi protocolli e metodi per il rilevamento dell’RSR13 nelle urine e nel sangue, anche una minima dose terapeutica del farmaco può essere rilevata facilmente nelle urine fino a 24 ore dopo la somministrazione.

L’ RSR13 è stato mantenuto, per tutto il 2002, in fase 3 di sperimentazione per un tumore cerebrale (glioblastoma) ed in fase 2 per il carcinoma del polmone. Le sperimentazioni sono state programmate allo scopo di valutare quanto il farmaco fosse capace di favorire l’ossigenazione dei tessuti coinvolti nelle relative patologie. L’RSR13 sarà messo in commercio nei prossimi mesi, entro la fine del 2003, con l’indicazione di adiuvante alla terapia radiante per il trattamento delle metastasi cerebrali, del glioblastoma e di alcune forme di carcinoma polmonare.

Agenti Anabolizzanti (Classe C)

L'uso di steroidi androgeni anabolizzanti è senza dubbio la pratica maggiormente diffusa in ambito sportivo amatoriale, sono molti gli atleti impegnati in discipline sportive, che richiedono un particolare impegno muscolare, che cedono alla tentazione dell'impiego di sostanze in grado di aumentare la massa muscolare col minimo sforzo tentando di ottenere risultati nel minor tempo possibile. E' proprio la filosofia del risultato immediato a qualunque costo che pone purtroppo in secondo piano la consapevolezza del rischio per la salute a cui soprattutto l'uso di androgeni anabolizzanti espone. Ciò è rinforzato da una cultura sempre più subdolamente diffusa in modo preoccupante a vari livelli di comunicazione di massa, una cultura che suggerisce in maniera più o meno velata e subliminale l'utilizzo di sussidi esogeni, tendendo a sminuire il valore delle risorse interne e le capacità individuali. Vengono quotidianamente proposti modelli e luoghi comuni di forza, potenza, prestanza e capacità psico-fisiche associate a corrispondenze artificiali, devianti e poco condivisibili secondo un'etica della tutela e prevenzione della salute (**Fig. 3**)



(Foto di V. Balleri, 2003)

Fig. 3 Recente manifesto pubblicitario della Peugeot, ottobre 2003

Da una recente stima (approssimativa e basata su dichiarazioni individuali rilasciate su questionari anonimi) negli Stati Uniti d'America il 30% degli atleti non professionisti e oltre l'85% dei professionisti (sollevamento pesi e body building) ricorre all'uso di steroidi androgeni anabolizzanti (R.J.Auchus - The Science of Steroid Abuse - 2000).

Tutti gli ormoni steroidei di qualunque origine (gonadica, corticosurrenale) posseggono una struttura di base, il ciclopentanoperidrofenantrene, complesso policiclico rigido a 17 atomi di carbonio (**Fig. 4**).

Gli ormoni steroidei si dividono in tre gruppi principali (a seconda del numero di atomi di carbonio che possiedono) relativamente alle strutture di base:

- Nucleo di pregnano : corticoidi e progestinici a 21 atomi di carbonio
- Nucleo di estrano: estrogeni, a 18 atomi di carbonio
- Nucleo di androstano: androgeni a 19 atomi di carbonio

Sono gli steroidi androgeni, il cui prototipo è il testosterone, ad essere utilizzati come sostanze dopanti. Il testosterone, prodotto sia dalle gonadi maschili che femminili, nell'uomo è il principale androgeno circolante, viene secreto dalle cellule del Leydig del testicolo in seguito alla stimolazione da parte dell'ormone luteinizzante (LH), prodotto dall'ipofisi. Le diverse azioni del testosterone sono dovute alla sua capacità di agire tramite almeno tre diversi meccanismi: legame specifico e diretto al recettore androgenico; conversione, in determinati tessuti, in diidrotestosterone, il quale si lega al recettore androgenico con affinità maggiore rispetto al testosterone; conversione in estradiolo, che si lega invece al recettore estrogenico.

La assunzione orale di testosterone determina il suo assorbimento nella circolazione portale, pertanto ciò causa un rapido catabolismo epatico; la via di somministrazione più utilizzata da parte di atleti a scopo di doping è quindi la via iniettiva che consente l'impiego di steroidi cosiddetti a "lunga emivita" come il testosterone propionato, cipionato ed enantato.

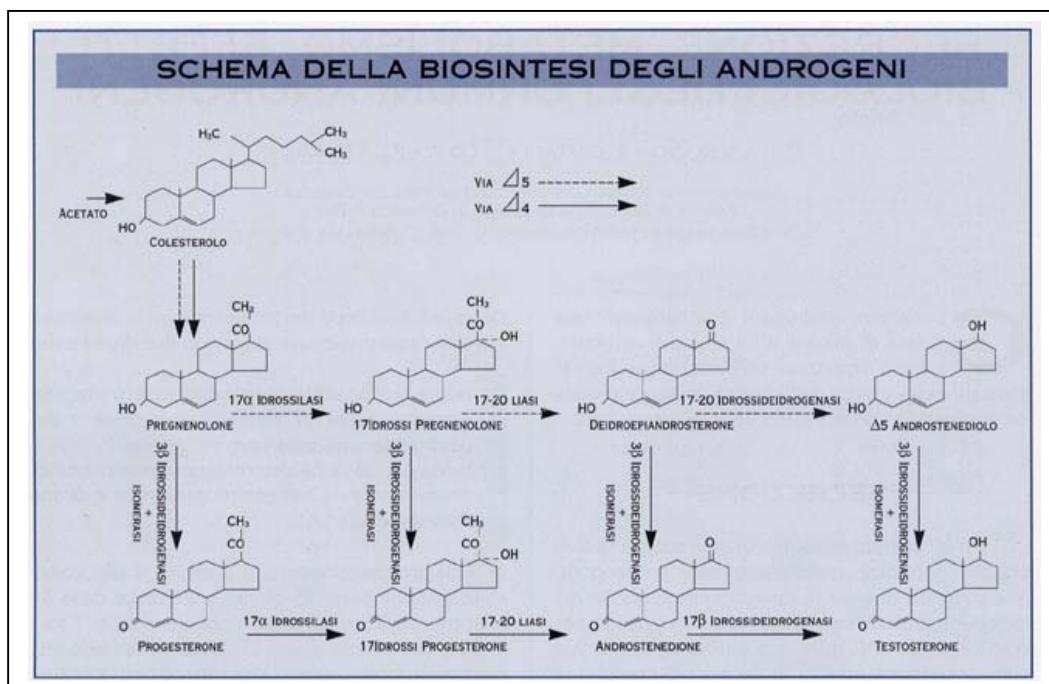


Fig. 4 La biosintesi degli androgeni e formule di struttura

Una singola dose di testosterone propionato pari a 25mg per via intramuscolare comporta un mantenimento dei livelli del farmaco di circa 2-4 ng/ml per circa 36 ore; l'AUC per tale dosaggio è stata stimata in soggetti sani per valori pari a circa 180 ng x hr/ml (Fujioka et al, 1986; Baba et al, 1985; Nieschlag et al, 1976). Il testosterone si lega a specifiche proteine plasmatiche (testosterone-estradiolo binding globulins); il legame farmaco proteico risulta dunque del 98% ed il restante 2% di testosterone libero ne determina l'emivita. L'emivita di eliminazione del testosterone cipionato somministrato per via intramuscolare è pari a circa 8 giorni; maggiore è la massa corporea, più lunga risulta l'emivita di eliminazione (Prod Info Depo-Testosterone(R), 2000). Il volume di distribuzione del testosterone è pari a circa

120 L/Kg (Fujioka et al., 1986). Il metabolismo di tale molecola è prevalentemente epatico, il fegato metabolizza il farmaco con la produzione di 17-chetosteroidi ed altri derivati attraverso processi di coniugazione con acido glucuronico ed acido solforico, inoltre il testosterone è ulteriormente ridotto a diidrotestosterone, responsabile di attività farmacologica in alcuni tessuti. I metaboliti del testosterone sono: i coniugati del testosterone con ac. glucuronico (ad attività poco conosciuta); i coniugati del testosterone con ac. solforico (ad attività poco conosciuta); 17 chetosteroidi (attivi); Testosterone-19-d3 (attivo) (Fujioka et al., 1986).

L'escrezione renale del testosterone avviene per il 90% in forma di metaboliti; la clearance renale è pari a circa 2000 ml/min. (Fujioka et al., 1986).

Alcuni anni fa nella pratica del body building si è diffusa la affannosa e compulsiva pratica della ricerca dello steroide anabolizzante dotato della maggior emivita e di minori effetti collaterali. E' ovviamente questa una pura contraddizione in termini, in quanto una maggiore permanenza in circolo di uno steroide androgeno anabolizzante, come di qualsiasi altra sostanza ad azione farmacologica, ne prolunga gli effetti "utili" ed anche quelli avversi.

Tra i prodotti maggiormente diffusi tra gli atleti hanno acquistato un posto di rilievo alla fine degli anni '90 il metandrostenolone (Dianabol) ed il Trenbolone Acetato (Parabolan); il primo, chimicamente modificato con una alchilazione in posizione 17-alfa della struttura principale (le molecole di questa famiglia sono infatti definite chetosteroidi 17-alfa-alchilati), sarebbe in grado di resistere alle reazioni di coniugazione epatica bypassando la formazione dei metaboliti epatici al primo passaggio del farmaco al fegato. In tal modo l'emivita del metandrostenolone risulterebbe addirittura duplicata rispetto ai già citati steroidi a lunga emivita. Uno dei più pericolosi effetti degli steroidi 17-alfa alchilati è la loro interazione con i fattori della coagulazione, riducendone la produzione e facilitandone la

degradazione, inducono un aumento del rischio di emorragie in corso di utilizzo frequente di questa classe di steroidi anabolizzanti (Husted et al, 1976). Il trenbolone acetato è uno steroide utilizzato nella pratica clinica veterinaria, pertanto mai testato scientificamente nell'uomo, dotato di lunga emivita, sovrapponibile a quella del metandrostenolone, e di pericolosi ed ancora poco conosciuti effetti avversi.

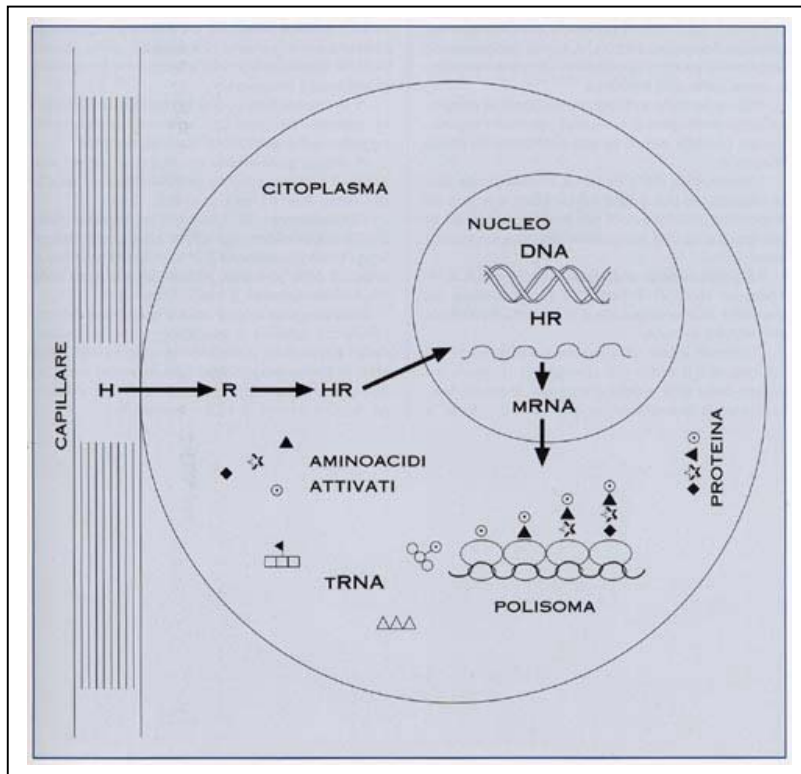
Nello scorso mese di settembre è purtroppo salito alla ribalta un ulteriore farmaco dalle decantate proprietà anabolizzanti alquanto uniche, il Metandrostenedione-17-diolo (Met-AD-17-Diol). Tale pericolosissimo prodotto della sintesi chimica di laboratorio sarebbe un precursore del metandrostenolone (Dianabol); la fantomatica ditta produttrice "Pharm-Tech" ne illustra in numerosi comunicati pubblicitari anche le proprietà di ligando antagonista per i recettori degli estrogeni rendendo in pratica insignificante l'effetto femminilizzante dei metaboliti estrogenici derivati dall'intervento dell'aromatasi tissutale. E' ancora impossibile valutare i reali effetti anabolizzanti e le proprietà di tale prodotto; l'unico dato disponibile attualmente sull'attività del metandrostenedione-17-diolo è la rapida induzione di una grave forma di epatite tossica ad impronta colestatica di cui sono risultati vittime alcuni giovani body builder nella provincia di Verona nello scorso mese di settembre. E' attualmente in corso un'inchiesta dei N.A.S. sulla distribuzione e la diffusione di questa pericolosa sostanza, venduta come integratore alimentare proveniente dal mercato americano.

L'effetto degli Steroidi Androgeni si manifesta con:

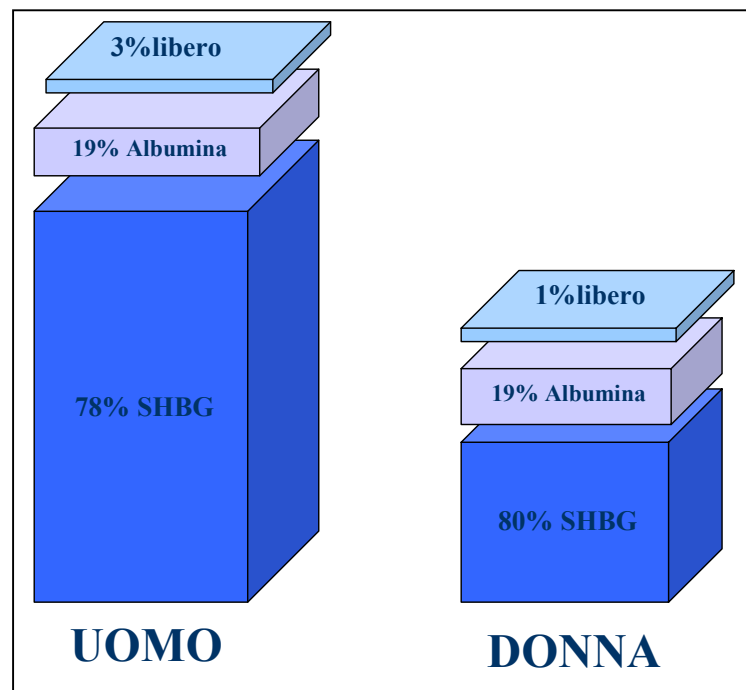
- **Azione androgena**: effetto mascolinizzante, favorisce lo sviluppo degli organi genitali maschili e dei caratteri sessuali maschili secondari
- **Azione anabolizzante**: positivizzazione del bilancio azotato, induzione della sintesi proteica; stimolazione della eritropoiesi, stimolazione dell'attività osteoblastica

I principali effetti degli steroidi androgeni sono così riassumibili:

- SNC (↑ libido, aggressività)
- Ipotalamo / Ipofisi (↓ GnRH, LH, FSH; ↑ GH)
- Muscoli laringei (modificazione del timbro della voce)
- Ghiandola Mammaria (↑ E₂ ↑ dimensioni)
- Fegato (↓ SHBG, HDL)
- Rene (↑ eritropoietina)
- Genitali (↑ sviluppo)
- Prostata (↑ dimensioni, secrezioni)
- Pelle (↑ peli, barba, secrez. sebacea)
- Osso (↑ BMD)
- Muscoli (↑ massa)
- Tessuto adiposo (↑ lipolisi, ↓ grasso addominale)
- Sangue (↑ HCT)



Meccanismo d'azione degli steroidi androgeni anabolizzanti



Livelli circolanti di testosterone in proporzione e percentuali di molecola legata a proteine di trasporto

Il testosterone subisce un metabolismo enzimatico in differenti tessuti (epatico, adiposo, urogenitale) dove agiscono i principali enzimi responsabili del suo metabolismo: la 5 α -reduttasi che catalizza irreversibilmente la reazione testosterone-diidrotestosterone e l'aromatasi che catalizza irreversibilmente la reazione testosterone-estradiolo; a livello esclusivamente epatico il testosterone viene inoltre metabolizzato in androsterone e eticolanolone.

Alcune applicazioni degli steroidi androgeni nella pratica clinica sono le seguenti:

- Anemia
- Ritardo puberale
- Ritardo di crescita
- Ipogonadismo
- Insufficienza delle cellule di Leydig indotta da chemioterapia
- Carcinoma mammario nella donna
- Cefalea a grappolo (*studio sperimentale Klimek et al., 1985*)
- Osteoporosi
- Artrite reumatoide

L'uso degli steroidi androgeni nella pratica sportiva è iniziato alcuni decenni fa ma si è diffuso prevalentemente negli anni '80 presso gli atleti sovietici ed americani nel pieno periodo politico denominato "guerra fredda". Nel corso di quegli anni, anche vantare la paternità dell'atleta maggiormente dotato veniva posto in evidenza come elemento di supremazia dalla relativa superpotenza militare. Ciò diede luogo a numerosi ed ancora oscuri esperimenti farmacologici, assolutamente abominevoli e contrari all'etica professionale, da parte di medici nei confronti di atleti olimpionici la cui salute risultò gravemente compromessa negli anni a venire. Il primo tentativo sperimentale fu quello di sintetizzare nuove molecole steroidee con l'intento di scindere l'effetto anabolizzante da quello androgenico (indesiderato soprattutto da

parte delle atlete); ciò non è mai stato possibile, essendo l'azione anabolizzante e l'azione virilizzante degli steroidi non mediate da meccanismi separati, bensì risultanti dalla stessa interazione dell'ormone e dai suoi metaboliti col proprio recettore, che si esprime in tessuti differenti.

I primi steroidi androgeni utilizzati a scopo di doping furono i 17 α -alchilati ritenendo che avessero effetti anabolici maggiori; col tempo, allo scopo di evitare il rilevamento urinario ai controlli antidoping di steroidi non endogeni è stata sempre più di frequente adottata la pratica di assunzione di precursori del testosterone come il deidroepiandrosterone (DHEA) e l'androstenedione, o di stimolanti la secrezione endogena di testosterone come la gonadotropina corionica. Di recente è stato introdotto l'uso di preparati a base di Tribulus Terrestris, prodotto erboristico che pare abbia la proprietà di indurre lo stimolo della produzione di steroidi androgeni da parte delle gonadi secondo un meccanismo ancora poco chiaro.

Attualmente gli steroidi androgeni anabolizzanti maggiormente utilizzati come dopanti sono di origine prevalentemente sintetica o si tratta di prodotti composti da più ingredienti (**Fig. 5, 6**)

L'uso di steroidi androgeni anabolizzanti si è praticamente diffuso pericolosamente soprattutto a livello amatoriale generando dei fenomeni di abuso, dipendenza e diffusione di patologie piuttosto atipiche in soggetti giovani ed apparentemente in stato di buona salute.

Un atleta che ceda alla tentazione dell'uso di steroidi androgeni anabolizzanti facilmente entra in un circolo vizioso caratterizzato da momenti caratteristici e tipici.

Oral Steroids	Injectable Steroids
■ Anadrol (oxymetholone)	■ Deca-Durabolin (nandrolone decanoate)
■ Oxandrin (oxandrolone)	■ Durabolin (nandrolone phenpropionate)
■ Dianabol (methandrostenolone)	■ Depo-Testosterone (testosterone cypionate)
■ Winstrol (stanozolol)	■ Equipoise (boldenone undecylenate)

Fig.5 Alcuni degli steroidi androgeni utilizzati a scopo dopante

Dyma - Bol

DSS Price \$46.32/Caps 60ct

DSS Price \$27.49/Spray

Nor Androstendiolo ----- 25 mg

19 Norandrostendione ----- 50 mg

4 Androstendiolo ----- 75 mg

5 Androstendiolo ----- 75 mg

4 Androstene 3, 17 Dione --- 75 mg

Tribulus Terrestris ----- 500 mg

Fosfatidil Serina ----- 200 mg

Zinco (Glicinato) ----- 8 mg

Fig. 6 Prodotto composito in vendita su internet, (contenuto di 2 capsule)

Un ipotetico percorso di un atleta che decida di utilizzare steroidi androgeni anabolizzanti (SA) potrebbe non discostarsi dalla seguente descrizione.

La prima assunzione avviene di solito in seguito al passaparola all'interno di gruppi in cui sono presenti abusatori o "esperti" utilizzatori di sostanze dopanti, quindi, timidamente, l'atleta comincia a gestire il proprio rapporto con le somministrazioni, prima orali, poi per via iniettiva. Iniziano quindi i primi cicli di assunzione della durata di 4-18 settimane, seguono brevi sospensioni per poi passare al cosiddetto "stacking", l'associazione cioè di più prodotti di natura ormonale e la combinazione di sostanze di vario genere (integratori proteici, complessi aminoacidici, vitamine, prodotti erboristici). L'atleta diviene aggressivo (fenomeno della cosiddetta "roid-rage"), sente aumentare il desiderio sessuale, frequenta la palestra in modo compulsivo anche più volte al giorno. Di solito a tale livello compaiono i primi effetti collaterali tra cui la ginecomastia nell'uomo, l'acne e, dopo una serie di ulteriori periodi di sospensione anche l'atrofia testicolare. L'eccesso di steroidi androgeni di natura esogena ha in pratica prodotto, in questo caso, una inibizione a feedback sulla produzione di LH ipofisario con conseguente ridotto stimolo per le cellule del Leydig testicolari che tendono all'atrofia, inoltre un carico eccessivo di androgeni produce solitamente anche un notevole aumento della quota di estradiolo circolante a causa dell'effetto metabolico dell'aromatasi (**Fig. 7**), come precedentemente descritto. L'eccesso di estrogeni produce nell'uomo la ginecomastia. Nella donna utilizzatrice di SA è frequente la comparsa di peli a distribuzione tipica del sesso maschile, il cambiamento del tono della voce, e l'amenorrea.

In questa fase l'utilizzatore di steroidi androgeni cerca di porre rimedio a tali "inconvenienti" ricorrendo ad ulteriori farmaci per la terapia degli effetti collaterali come il Tamoxifen per contrastare la ginecomastia, la tretinoina contro l'acne e la β hCG per favorire il ripristino della funzione testicolare. La spesa diventa

elevatissima e l'atleta cerca di guadagnare il più possibile dalla sua raggiunta soddisfacente condizione di incremento muscolare iscrivendosi a gare ufficiali di body building, ciò espone però il body builder al rischio di essere riconosciuto positivo per doping ai controlli. Subentra dunque un ulteriore momento, quello delle sospensioni ripetute dell'assunzione di SA prima della gara per operare una sorta di wash-out metabolico. Non sono però sufficienti sospensioni brevi, anche perché l'abuso di SA può generare positività ai controlli antidoping fino a 6 mesi dopo l'ultima assunzione. L'atleta ricorre dunque a pratiche di varia natura, non riuscendo a sostenere sospensioni troppo prolungate della sua "terapia" anabolizzante essendo ormai divenuto dipendente. Divengono frequenti i lavaggi vescicali con cateteri (assolutamente inutili per eludere i controlli e rischiosi per la facile contaminazione delle vie urinarie, non essendo eseguiti secondo le più banali norme di asepsi); l'assunzione di diuretici, l'assunzione di epitestosterone (per compromettere e bilanciare in modo fraudolento il rapporto urinario Testosterone/Epitestosterone valutato in sede di controllo antidoping), fino alla ricerca di prodotti difficilmente riscontrabili nelle urine da parte dei controlli. Il ricorso ai precursori del testosterone come il DHEA e l'androstenedione è frequente tra gli atleti implicati nell'uso di SA sia per tentare di eludere il controllo antidoping, sia per tentare una "terapia" anabolizzante più "naturale", supponendo che il testosterone formatosi all'interno dell'organismo da precursori esogeni sia più adatto a generare effetti anabolici quasi "fisiologici". Recenti studi (King et al, 1999; Brown et al, 2000 ; Leder et al, 2000; Broeder et al, 2000) hanno dimostrato che l'assunzione di precursori come l'androstenedione non determina un aumento significativo del testosterone circolante alle dosi utilizzate dalla maggior parte degli atleti (100 mg/die); una lieve oscillazione in tal senso si otterrebbe soltanto per dosi molto elevate (300 mg/die), impossibili da sostenere ed inutilmente eccessive per così

minimi risultati. Inoltre, nessun effetto sull'incremento della forza muscolare è stato riscontrato in soggetti utilizzatori di precursori del testosterone; per contro è stato evidenziato un notevole aumento del livello di estrogeni circolanti per effetto dell'aromatasi anche sull'androstenedione (**Fig.7**).

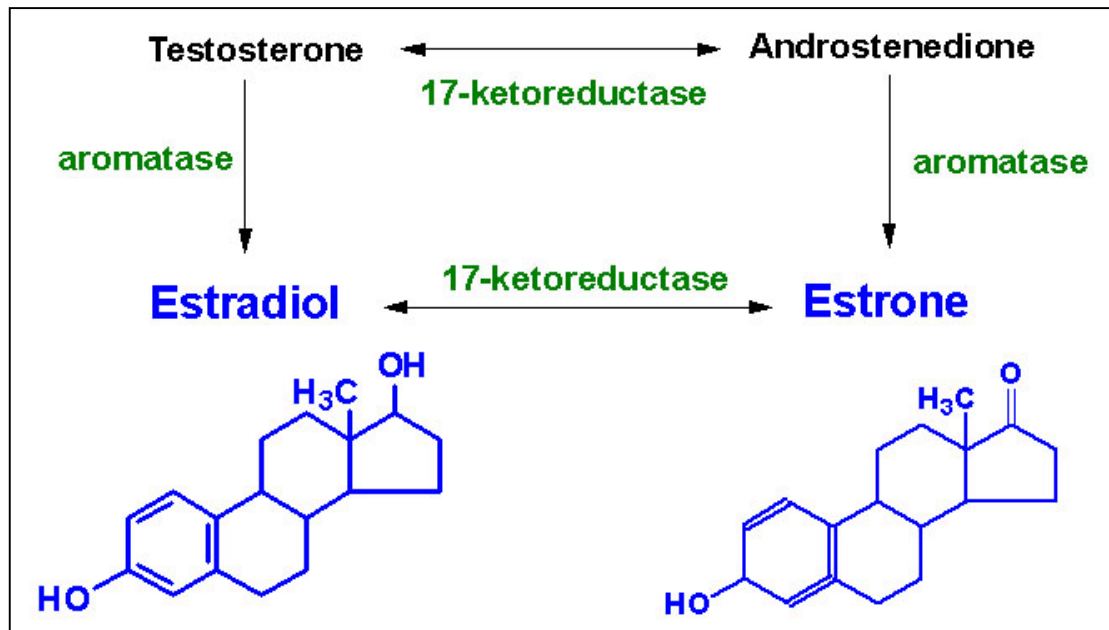


Fig. 7 Azione dell'aromatasi e della 17-chetoreduktasi.

I primi e più gravi effetti collaterali generati dall'abuso di SA sono soprattutto di carattere cardiovascolare e sono rappresentati da cardiomiopatia, ischemia miocardica e stroke, inoltre l'abuso di SA per via orale espone all'insorgenza di colestasi, danno epatocellulare, peliosi epatica, epatocarcinomi, dislipidemie con aumento delle LDL e riduzione delle HDL.

Ecco un elenco delle possibili complicazioni dovute all'uso di SA:

- | | |
|-------------------------|---|
| • Ipofonia Testicolare | • Comparsa di caratteri sessuali maschili secondari nella donna |
| • Oligo-azospermia | • Amenorrea |
| • Ginecomastia | • Disturbi alimentari |
| • Ipertrofia prostatica | • Depressione e distimie |
| • Carcinoma prostatico | • Iperglicemia |
| • Carcinoma epatico | • Alopecia |
| • Ipertensione | • Impotenza funzionale nell'uomo |
| • Cardiopatia ischemica | • Riduzione della libido |
| • Policitemia | |

Un dato allarmante riguarda l'aumento della diffusione di patologie infettive come l'A.I.D.S. anche a causa di abitudini di abuso di steroidi anabolizzanti per via iniettiva. Ciò è dovuto al fenomeno dello scambio di siringhe infette da parte degli atleti utilizzatori di SA.

Parallelamente alla ben nota azione degli SA a livello cellulare si è recentemente posta l'attenzione ad un'azione degli steroidi a livello centrale ed in particolare di alcuni prodotti del metabolismo e della sintesi del testosterone definiti neurosteroidi. Pare che l'allopregnenolone, il DHEA stesso ed altri agenti ancora non ben noti abbiano una azione non androgena ne' anabolizzante ma mediata dalla loro interazione sul recettore del GABA (acido gamma amino butirrico), neurotrasmettitore di fondamentale importanza a livello del SNC per i suoi effetti inibitori sul rilascio di altri neuromediatrici quali la dopamina (Fig. 8).

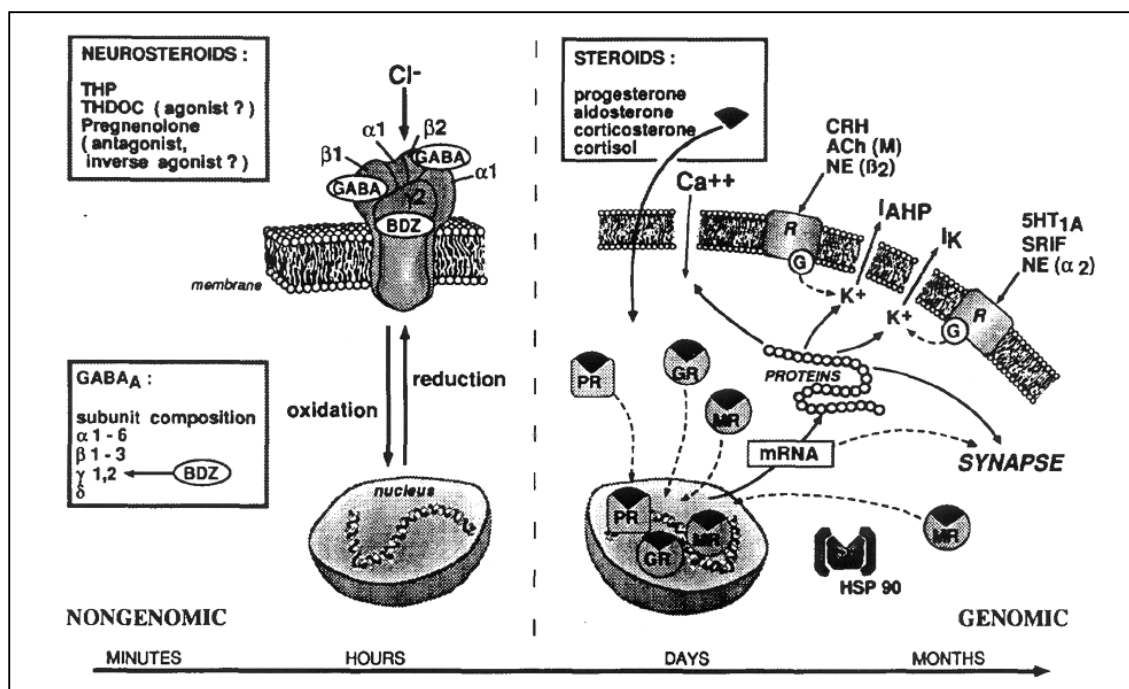


Fig. 8 Legame ed azione dei neurosteroidi e degli steroidi

Tali interazioni dei neurosteroidi a livello centrale sarebbero addirittura immediate e precederebbero quelle tipiche degli steroidi androgeni. L'intervento di tali molecole sul recettore del GABA (Fig. 9) pare sia responsabile, oltre che di alcune delle

modificazioni dell'umore tipiche degli abusatori di SA, anche dell'instaurarsi di una condizione di dipendenza vera e propria non dissimile da quella tipica determinata dalle più comuni sostanze d'abuso per interazione ed interferenza sui meccanismi dopaminergici della ricompensa. Tali interazioni sono ancora in fase di studio. E' comunque descritta una vera e propria sindrome da astinenza da steroidi sia psicologica che fisica, quest'ultima caratterizzata da instabilità vasomotoria reattiva alla clonidina.

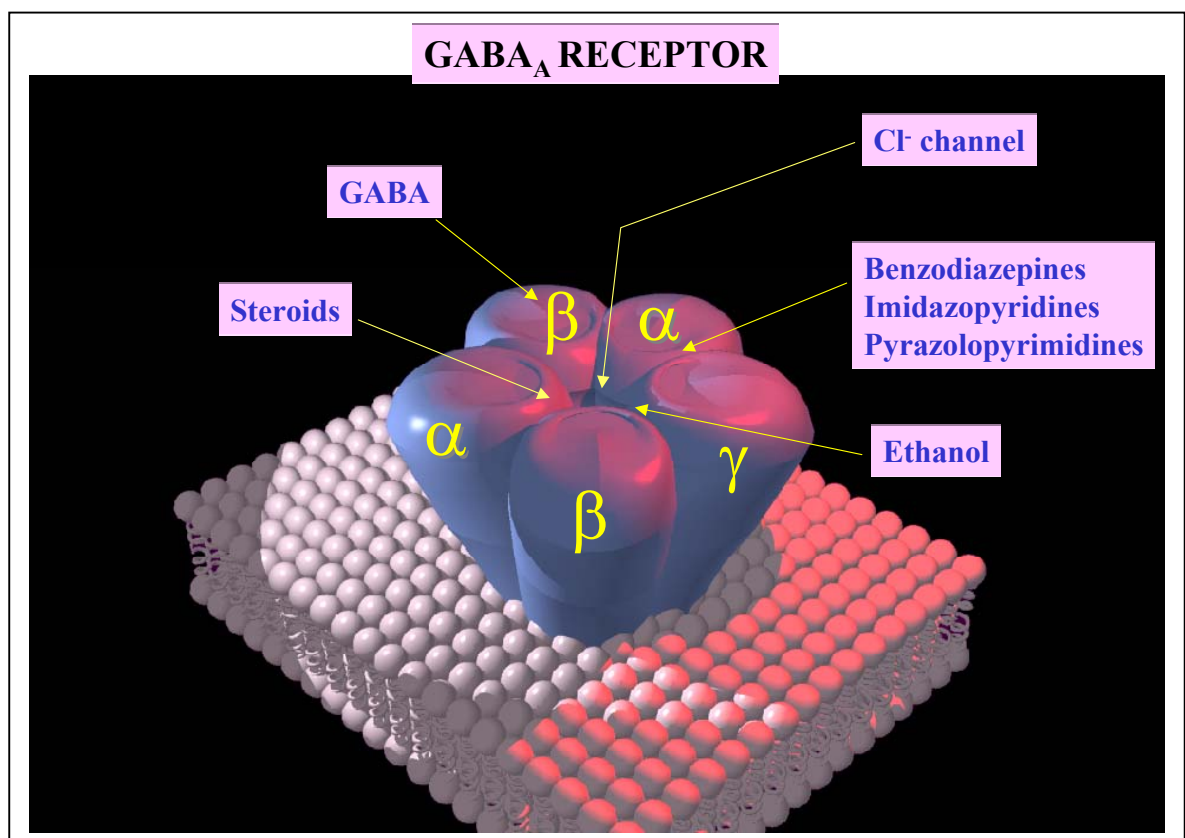


Fig. 9 Sito di legame dei neurosteroidi sul recettore del GABA *(da Biggio G. 2001)*

Molti abusatori di SA sono stati osservati e valutati dal punto di vista psichiatrico ed è stata teorizzata da alcuni specialisti una particolare sindrome di cui molti di tali soggetti riporterebbero i sintomi. Tale sindrome, definita "Reverse Anorexia", tipica degli atleti

dipendenti da steroidi androgeni anabolizzanti sarebbe caratterizzata dai seguenti sintomi:

- Paura di mostrarsi "Esili" (*fear to look small*)
- Desiderio compulsivo di aumentare di peso (massa muscolare)
- Continui controlli del peso corporeo
- Evitamento dell'esposizione del proprio corpo
- Esercizio Muscolare Compulsivo
- Comportamento alimentare ossessivo
- Alta incidenza di uso di androgeni fino alle sostanze ad uso veterinario (Mibolerone, Boldenone, Stanozololo)

Tale condizione patologica, denominata, come già accennato, *Reverse Anorexia* è anche definita "Dismorfia Muscolare" ed è tipica dei soggetti che, ottenuti i primi risultati anabolici grazie agli SA con aumento della massa muscolare, tendono a desiderare incrementi ponderali sempre maggiori sviluppando un'alterata percezione del "sé corporeo" e tendendo a considerare il proprio fisico sempre troppo esile rispetto ai propri obiettivi, evitando di mostrarsi privi di indumenti in pubblico e cercando continuamente di intervenire per incrementare la massa muscolare (sessioni ripetute in palestra, alimentazione programmata, uso compulsivo di steroidi di qualunque natura).

Nella Figura 10 sono elencati alcuni risultati di uno studio in cui è stato somministrato a soggetti con diagnosi di dismorfia muscolare un questionario con domande relative al numero di pesate quotidiane, alle sessioni in palestra, etc., il confronto di tali risposte con quelle dei controlli è risultato interessante.

	<u>M.D.</u>	<u>Ctrl.</u>
Number of Times You Weigh Yourself/Week	5.0	2.0
Number of Times You Check Mirrors/Day	9.2	3.4
Minutes/Day Preoccupied Being Small	325	41
Have You Worn Heavy Sweatshirts In Summer Or Refused To Remove Shirt?		
Yes	21	0
No	3	30
Have You Given Up Enjoyable Activities To Go To The Gym To Get Bigger?		
Yes	24	11
No	0	19
<i>Olivardia et al Am J Psychiatry 157:1291-1296 (2000)</i>		

Fig. 10 (M.D. = muscular dystrophia, Ctrl = controls)

Le problematiche cliniche relative all'uso di SA sono dunque molteplici e potenzialmente gravissime. Purtroppo le numerose campagne internazionali contro tale pratica illecita e pericolosa non hanno ancora prodotto effetti consistenti sulla riduzione del numero dei soggetti implicati nel doping di questo tipo.

Integratori

La legislazione italiana vigente considera i prodotti alimentari, comunemente definiti integratori, come “prodotti alimentari destinati ad una alimentazione particolare”. Tali prodotti, ed in particolare quelli destinati a chi pratica sport, vengono classificati nelle seguenti categorie ai sensi della circolare 7/06/1999 n. 8 “Linee guida sugli alimenti adattati ad un intenso sforzo muscolare soprattutto per gli sportivi” :

- A - PRODOTTI FINALIZZATI AD UNA INTEGRAZIONE ENERGETICA**
- B - PRODOTTI CON MINERALI DESTINATI A REINTEGRARE LE PERDITE IDROSALINE CAUSATE DALLA SUDORAZIONE CONSEGUENTE ALL'ATTIVITA' MUSCOLARE SVOLTA**
- C - PRODOTTI FINALIZZATI AD UNA INTEGRAZIONE DI PROTEINE**
- D - PRODOTTI FINALIZZATI ALL'INTEGRAZIONE DI AMINOACIDI E DERIVATI**
- E - ALTRI PRODOTTI CON VALENZA NUTRIZIONALE ADATTA AD UN INTENSO SFORZO MUSCOLARE**
- F - COMBINAZIONE DEI SUDETTI PRODOTTI**

La circolare suddetta è stata redatta a completamento di un precedente decreto legislativo del 27 gennaio 1992, n. 111, di attuazione della direttiva 89/398/CEE, concernente i prodotti alimentari destinati ad una alimentazione particolare.

Ad ulteriore perfezionamento di tale decreto è stato emanato il provvedimento del 19 novembre 2002 contenente un vero e proprio “elenco dei prodotti autorizzati” ai sensi dell'art. 8 del decreto legislativo 27 gennaio 1992, n. 111, come alimenti “adattati ad un intenso sforzo muscolare soprattutto per gli sportivi”.

Inoltre, secondo le “Disposizioni per l'adempimento di obblighi derivanti dall'appartenenza dell'Italia alle Comunità europee”. definite dalla Legge 3 febbraio 2003, n. 14 (G.U. 7 febbraio 2003, n. 31; s.o. n. 19), compare tra i suddetti obblighi anche l'adempimento ad adottare la Direttiva 2002/46/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 10 giugno 2002, per il ravvicinamento delle legislazioni degli Stati membri relative agli integratori alimentari. Tale direttiva istituisce gli elenchi delle vitamine e dei minerali da utilizzare nella produzione degli integratori alimentari al fine di garantire la sicurezza di quanto viene assunto dall'organismo umano; essa prevede, inoltre, la determinazione di livelli massimi consentiti di vitamine e minerali negli integratori alimentari da realizzarsi nei prossimi anni in base ai pareri dei ricercatori e ai risultati delle correnti ricerche, considerando le quantità assunte da altre fonti alimentari. Infine, la Direttiva dichiara espressamente la necessità di dotare le confezioni degli integratori alimentari di una “opportuna e corretta etichettatura” considerando che:

(1) Sono commercializzati in numero crescente nella Comunità prodotti alimentari contenenti fonti concentrate di sostanze nutritive proposti quali supplementi delle sostanze nutritive assunte con la normale alimentazione.

(2) Questi prodotti sono assoggettati negli Stati membri a disposizioni nazionali eterogenee, che possono ostacolare la libera circolazione ed instaurare condizioni di concorrenza ineguali, con dirette ripercussioni sul buon funzionamento del mercato interno. È pertanto necessario disciplinare a livello comunitario i prodotti di questo tipo commercializzati come prodotti alimentari.

(3) In circostanze normali, una dieta adeguata ed equilibrata è in grado di fornire, nelle proporzioni considerate idonee e raccomandate da studi scientifici generalmente riconosciuti, tutti gli elementi necessari al normale sviluppo e al mantenimento in buona salute dell'organismo. Le indagini indicano tuttavia che tale

situazione ideale non trova riscontro pratico per tutte le sostanze nutritive e presso tutti i gruppi della popolazione della Comunità.

(4) I consumatori, in ragione di un particolare stile di vita o per motivi diversi, possono decidere di integrare l' apporto di determinati nutrienti della loro dieta mediante integratori alimentari.

A livello internazionale esiste inoltre un' organizzazione intergovernativa denominata "CODEX ALIMENTARIUS", (sito web <http://www.codexalimentarius.net/>) fondata nel 1963 dalla FAO e dalla World Health Organization, che elabora e pubblica regole sulla produzione, il trattamento, l'etichettatura, livelli di sostanze inquinanti e potenzialmente tossiche, coloranti ed additivi ammessi negli alimenti. Dal 1994 sono in discussione le regole relative agli integratori alimentari.

Attualmente a livello internazionale, come sostenuto dai relatori della stessa direttiva europea sopracitata, assistiamo alla diffusione di un uso degli integratori alimentari piuttosto considerevole. La stragrande maggioranza di atleti e sportivi, professionisti e non, consumano spessissimo tali prodotti con lo scopo di "reintegrare" le risorse energetiche e plastiche utilizzate dall'organismo in seguito all'attività fisica svolta.

I concetti di integrazione e "reintegro" costituiscono però un argomento piuttosto delicato, troppo spesso "male interpretato" dall'atleta o superficialmente affrontato e gestito dai consigli poco attenti di chi si improvvisa esperto di nutrizione e farmacologia applicata allo sport soltanto in virtù di una certa anzianità nella pratica sportiva. C'è poi un altro aspetto del fenomeno "integratori": possono costituire una forma di doping per l'atleta professionista ? In una non recentissima ma comunque ancora molto attuale pubblicazione si sostiene piuttosto drasticamente l'opportunità di *"consentire il totale utilizzo dei mezzi medicamentosi per il cittadino-atleta non-*

sano, mentre, in carenza di alterazioni patologiche o fisiopatologiche, l'utilizzo di qualsiasi sostanza esogena dovrebbe configurarsi come doping" (Benzi G., Bellotti P., Farmaci, allenamento e sport, Roma, Il Pensiero scientifico, 1990.). Tale affermazione potrebbe in effetti essere considerata estremamente rigida; di certo, la legislazione vigente fino a qualche anno fa poco si è preoccupata del crescente carico di prodotti alimentari a scopo di integrazione dietetica immessi sul mercato internazionale, sottovalutando le associazioni presenti in tali prodotti confezionati con principi diversi ed arditi accostamenti di molecole differenti, con aggiunta, spesso, di principi attivi presenti nella lista delle sostanze vietate dal CIO (Comitato Olimpico Internazionale). In un articolo del 19 marzo 2000 pubblicato sul Washington Post, è riportato quanto segue: "Nel 1998 gli investigatori della FDA (Food and Drugs Administration) in California hanno scoperto che un terzo dei circa 260 prodotti erboristici importati dall'Asia erano contaminati con farmaci non elencati in etichetta, o contenevano piombo, arsenico o mercurio. Nel mese di febbraio 2000, funzionari statali della California hanno scoperto che cinque prodotti erboristici cinesi contenevano potenti farmaci per il diabete". Secondo un rapporto del Ministero della Salute, in Italia, fino al mese di aprile 2002, tra i prodotti indicati per una integrazione alimentare dell'atleta presenti sul mercato, circa 170 sono risultati positivi per la presenza di sostanze potenzialmente dopanti dichiarate o meno nella composizione del prodotto. Addirittura alcune partite di aminoacidi ramificati sono risultate positive per la presenza assolutamente inspiegabile di tracce di nandrolone, un ormone androgeno la cui assunzione oltre ad essere vietata agli atleti dal comitato internazionale olimpico, può produrre una serie di effetti molto gravi sia a livello cardiovascolare che endocrino. Che si tratti di buona o malafede non è ancora chiaro, basta però navigare su internet approdando ai vari siti (centinaia) delle aziende produttrici di integratori per imbattersi in prodotti

composti con guarana (caffeina) MA Huang (antica erba cinese il cui principio attivo è l'efedrina) o fenilpropanolamina, sostanze tra le più diffuse in seguito alla assunzione delle quali, vietata dal regolamento antidoping, può verificarsi la comparsa di una serie di effetti collaterali anche molto spiacevoli. Efedrina e fenilpropanolamina, ad esempio, sono spesso presenti nella composizione dei prodotti cosiddetti “fat-burner” (brucia grassi), “termogenici”, ovvero dimagranti, in seguito all'uso non controllato dei quali è frequente la comparsa di alterazioni del ritmo cardiaco e dei livelli della pressione arteriosa.

Il problema non è dunque soltanto quello del doping inconsapevole nel quale può incorrere il più o meno ignaro e disattento atleta nell'assumere questo o quel prodotto “contaminato” da sostanze illecite, bensì la reale ipotesi di un rischio per la salute in seguito all'assunzione di integratori alimentari alle dosi scorrette, associando tale assunzione con altri farmaci, sottovalutando la presenza ed il quantitativo di componenti poco chiaramente descritti e riportati nell'etichetta. Gli ingredienti più comunemente utilizzati nella preparazione di integratori “per lo sportivo” e più utilizzati dagli atleti, come già accennato precedentemente, sono senza dubbio la caffeina e il guarana, l'efedrina e il tribulus terrestris, di cui segue una breve descrizione.

- Xantine metilate: caffeina, guaranina.

L'estratto di guarana, pianta utilizzata nella preparazione di infusi e tisane energizzanti da molti secoli, è di recente entrato nella composizione di molti prodotti per l'integrazione alimentare dello sportivo. Il principio attivo del guarana è la guaranina, un analogo strutturale della caffeina. La caffeina è una metilxantina strutturalmente correlata alla teofillina ed alla teobromina; alcaloidi presenti in

vegetali ampiamente diffusi in natura. Oltre alla pianta del caffè, contengono metilxantine anche la pianta del tè (*Thea Sinensis*), quella della noce di *Cola Acuminata* e la pianta del cacao (*Theobroma cacao*). La produzione di bevande ed alimenti a base di metilxantine a varie concentrazioni è estremamente diffusa nel mondo (Tab. 3). Sono comunque importanti le proprietà farmacologiche delle xantine ed in particolare della caffeina anche in ambito clinico, che rendono particolarmente utile tale molecola anche per l'impiego terapeutico e non soltanto per l'assunzione a scopo voluttuario.

CAFFEINE CONTENT OF FOODS		
CARBONATED BEVERAGES	PORTION SIZE	CAFFEINE (mg)
Coca-Cola (prepackaged)	12 oz	46.5
Coca-Cola (fountain drink)	12 oz	37.9 to 44.6
Diet Coke (prepackaged)	12 oz	46.5
Diet Coke (fountain drink)	12 oz	46.4 to 48.1
Diet Pepsi (prepackaged)	12 oz	30.3
Diet Pepsi (fountain drink)	12 oz	37.2 to 44.1
Pepsi (prepackaged)	12 oz	32.1
Pepsi (fountain drink)	12 oz	37.4 to 39.3
7-Up, Sprite	12 oz	0
CHOCOLATE PRODUCTS	PORTION SIZE	CAFFEINE (mg)
Baking chocolate	1 oz	35
Chocolate bar	1 bar	60 to 70
Cocoa	8 oz	10 to 17
Milk chocolate	1 oz	6
COFFEE	PORTION SIZE	CAFFEINE (mg)
Brewed, ground	5 oz	85 to 200
Espresso	1.5 to 2 oz	100
Ground, decaffeinated	5 oz	2 to 4
Instant, decaffeinated	5 oz	0.5 to 3
Instant, freeze dried	5 oz	53 to 70
TEA	PORTION SIZE	CAFFEINE (mg)
Bagged, green	5 oz	31
Bagged, herb or mint	5 oz	Trace
Bagged, regular, black	5 oz	40 to 50
Instant	5 oz	30

MICROMEDEX database, Thomson Healthcare™

Tab. 3 Quantità di caffeina (mg) contenuta in alcuni prodotti

La caffeina è strutturalmente la 1,3,7-trimetilxantina. La xantina è una diossipurina, strutturalmente correlata all'acido urico. Numerosi derivati delle metilxantine sono stati sintetizzati e saggiati per la loro proprietà di inibire le fosfodiesterasi e di antagonizzare gli effetti recettore-mediati dell'adenosina. Sono infatti queste le principali azioni meglio caratterizzate delle metilxantine, che per ordine decrescente di efficacia possiamo classificare come segue: teofillina>caffeina>teobromina.

Le proprietà farmacologiche delle metilxantine si esprimono col rilascio della muscolatura liscia, in particolare di quella bronchiale, con la stimolazione del miocardio, con un'azione diuretica a livello renale e, soprattutto con una azione eccitatoria a livello del Sistema Nervoso Centrale.

Tali proprietà sono il risultato dell'inibizione delle fosfodiesterasi con conseguente aumento dell'AMP ciclico intracellulare; dell'induzione diretta e indiretta dell'aumento della concentrazione del calcio intracellulare; del fondamentale effetto di tipo antagonista delle metilxantine nei confronti dei recettori dell'adenosina. Gran parte dell'attività farmacologica delle metilxantine dipende da quest'ultimo effetto.

Gli effetti delle metilxantine sulla muscolatura liscia si esprimono in senso miorilassante soprattutto a livello bronchiale. A livello del SNC la teofillina è responsabile del maggior effetto eccitatorio (è quindi potenzialmente la molecola più pericolosa in tal senso), segue la caffeina, mentre la teobromina è la meno attiva. La teofillina non compare tra le sostanze elencate nell'ultimo aggiornamento (settembre 2003) della lista delle sostanze vietate e considerate dopanti dalla legge italiana; essa è invece contemplata dalla lista del C.I.O. quale "sostanza affine" alla caffeina; pertanto una positività al controllo antidoping per questa sostanza rende imputabile l'atleta impegnato nelle competizioni internazionali.

L'effetto eccitatorio delle metilxantine sul SNC si esprime con riduzione della sonnolenza, aumento del livello di attenzione, aumento della capacità a sopportare lo sforzo intellettuale, riduzione dei tempi di reazione, fino all'insorgenza di ansia, insonnia, tremori, vomito, iperestesie e infine convulsioni. Inoltre le metilxantine agiscono a livello dei centri bulbari del respiro aumentandone la sensibilità alla concentrazione di CO₂ e favorendo un aumento del volume respiratorio/min.

Le metilxantine possono indurre tolleranza e dipendenza psicologica e fisica. A livello cardiovascolare le metilxantine causano una modesta riduzione delle

resistenze vascolari periferiche, aumento della perfusione ematica in alcuni organi (rene: diuresi aumentata), stimolazione del miocardio con effetti inotropo e cronotropo positivi, talvolta ipertensione. Le azioni delle metilxantine sul sistema circolatorio sono complesse e talvolta contrastanti e gli effetti risultanti dipendono fortemente dalle condizioni prevalenti al momento della loro somministrazione, della dose impiegata, e dell'eventuale pregressa assunzione.

La caffeina è una delle sostanze ritenute dopanti soltanto se riscontrabile, a livello urinario, oltre una certa concentrazione ($12\mu\text{g/ml}$). Una concentrazione urinaria di caffeina pari a $12\mu\text{g/ml}$ non è facile da raggiungere bevendo semplicemente caffè: sarebbero necessarie circa 7-10 tazzine di espresso in un periodo di circa 2 ore e la mucosa gastrica umana non sarebbe in grado di sostenere un tale carico senza andare incontro ad una acuta irritazione; gli atleti preferiscono la via rettale per l'assunzione di caffeina, utilizzando numerose preparazioni impiegate solitamente, ad esempio, per il trattamento dell'emicrania, oppure formulazioni appositamente realizzate in paesi esteri dove la libera vendita di preparati a base di elevate concentrazioni di caffeina ne consente una facile distribuzione. Essa è utilizzata come dopante soprattutto per i suoi effetti sul sistema cardiovascolare, allo scopo di favorire la circolazione ematica e la conseguente ossigenazione muscolare. La caffeina è assunta spesso anche in associazione ad altre sostanze secondo l'erronea convinzione che la caffeina possa facilitare la distribuzione dei farmaci assunti in associazione ad essa. A dosi elevate si manifestano i primi effetti avversi della caffeina proprio a livello cardiovascolare: tachiaritmie, ipertensione, prolungamento dell'intervallo QRS, fino all'ischemia miocardica. Effetti tipici della caffeina sono caratterizzati da iperattività, insonnia, cefalea, eccitazione psicomotoria, irritabilità; in alcuni casi sono state riferite allucinazioni. La caffeina può indurre uno stato di acidosi metabolica e alterazioni della mucosa

gastrointestinale fino all'ulcera gastroduodenale ed enterocolite necrotizzante in seguito ad utilizzo cronico. La caffeina utilizzata a dosi elevate e per periodi di tempo prolungati può agire come teratogeno sul prodotto del concepimento: numerose alterazioni a livello splancnico (per riduzione del flusso ematico) sono state infatti evidenziate in neonati di madri abusatrici di caffeina.

La caffeina interferisce negativamente con la supplementazione di creatina inibendo la risintesi di fosfocreatina dopo lo sforzo muscolare intenso, vanificando così parzialmente la possibile efficacia di una adeguata e misurata integrazione alimentare a base di creatina che è a volte indicata, per brevi periodi, per l'atleta professionista (Williams & Branch, 1998; Vandenberghe et al, 1997)

- Efedrina

L'efedrina riscuote un interesse maggiore rispetto alla caffeina per l'utilizzo a scopo dopante sia per modalità di somministrazione più agevoli (inalazione), sia per effetto più immediato e prolungato a dosi minori rispetto alla caffeina stessa. L'efedrina è facilmente reperibile a dosaggi consistenti anche in Italia, in quanto presente come principio attivo in molti prodotti da banco, venduti in farmacia per la terapia sintomatica delle riniti. L'efedrina è un simpaticomimetico con attività beta ed alfa adrenergica diretta ed indiretta tramite lo stimolo alla liberazione di adrenalina (Gilman et al, 1990; Reynolds, 1991; Olin, 1990). Gli effetti di tale molecola si esplicano a livello respiratorio con broncodilatazione (effetto ricercato dagli atleti per ottenere una maggiore ossigenazione), a livello cardiovascolare con tachicardia e ipertensione, a livello del Sistema Nervoso Centrale con agitazione psicomotoria ed euforia, fino alla possibile insorgenza di ansia, crisi di panico, allucinazioni, comportamento paranoide e psicosi. Alterazioni urinarie con

ritenzione vescicale da ipertono sfinteriale del detrusore sono tipiche in soggetti utilizzatori di efedrina.

- Tribulus Terrestris

Il tribulus terrestris (TT) è una pianta molto diffusa nei paesi dell'est asiatico con una lunga tradizione di utilizzo nella medicina indiana e cinese per il trattamento di una serie di patologie come disfunzioni renali, cardiovascolari, gastrointestinali ed epatiche. L'intento principale per cui il tribulus viene impiegato dagli atleti è relativo alla sua presunta notevole efficacia nello stimolo alla produzione di ormoni androgeni. I prodotti a base di TT infatti, oltre ad essere utilizzati in forma di soluzione contenente il succo prodotto dalla spremitura dei semi della pianta originale, dotato di provato potere batteriostatico nei confronti dello stafilococco aureo e dell' escherichia coli, vengono impiegati anche nella formulazione in compresse contenenti un estratto liofilizzato di uno dei principali componenti della pianta stessa: la protodioscina. Tale sostanza è una saponina steroidea che agirebbe favorendo l'aumento della produzione endogena di testosterone, diidrotosterone, ormone luteinizzante (LH), deidroepiandrosterone (DHEA), deidroepiandrosterone solfato (DHEA-S), con conseguente aumento della spermatogenesi e della libido nell'animale da esperimento e nell'uomo (Gauthaman K. et al. 2002, 2003). Per tale motivo non è infrequente il riscontro del TT in numerosi prodotti definiti "multingredienti" utilizzati dai "body builders" per la pratica dello "stacking" a cui si è accennato in precedenza. L'associazione del tribulus terrestris alla assunzione di altri prodotti a base di androgeni anabolizzanti a dosaggi piuttosto sostenuti e prolungati non fa altro che amplificare di intensità e durata tutti gli effetti avversi di cui si rendono responsabili tali sconsiderate somministrazioni.

Anche in contesti differenti da quelli a cui appartengono certi atleti abituati a sostenere il loro lavoro muscolare con farmaci e sostanze, è comunque estremamente diffuso un distorto concetto della supplementazione dietetica, mosso dal desiderio di soddisfare le richieste dell'organismo a cui da sola la normale alimentazione, secondo molti, non riuscirebbe a sopperire. La definizione di integrazione è dunque intesa come una sorta di strategia o intervento mirato a porre rimedio alla carenza di qualche fondamentale principio nutritivo non assunto in maniera soddisfacente con la normale alimentazione o troppo facilmente o rapidamente eliminato. Integrazione dunque come terapia, come intervento specifico per permettere all'organismo di funzionare al meglio.

La normale alimentazione, se correttamente varia e completa, non richiede integrazioni particolari. Non ha senso, in assenza ovviamente di patologie riconosciute, ricorrere ad un prodotto confezionato la cui composizione risulta, nella maggior parte dei casi, poco chiaramente descritta..

“Il concetto di “Integrare” dà l'impressione di completezza, di un rimedio possibile all'idea suggerita che gli alimenti siano insufficienti ad assicurare la nostra efficienza e quindi la nostra salute. Pregiudizio comune è che il cibo che mangiamo non sia naturale e che quindi vada integrato; in realtà il cibo cosiddetto “industriale” è più controllato e studiato, è comunque sicuro. Mai come in questi ultimi decenni, nei Paesi industrializzati, vi è stata abbondanza di cibo; un cibo iperproteico ed ipercalorico che spesso è alla base dell'obesità che si sta diffondendo in modo pauroso e preoccupante. Perché allora la necessità di integratori alimentari ?”. (S. Garattini, Negri News, 2003) Gli integratori dietetici possono essere classificati come: energetici (es.: carboidrati), idrosalini (es.: elettroliti ed oligoelementi), plastici (es.: proteine, aminoacidi), metabolici (es.: creatina, vitamine), antiossidanti (es.: anione superossido). Inoltre, molti prodotti erboristici rientrano nella categoria degli

integratori. La propaganda ha favorito la diffusione e l'attribuzione di proprietà miracolose a molti di tali prodotti; ciò ha prodotto moltissimi falsi miti.

Molto spesso il problema derivante da una cattiva interpretazione della integrazione alimentare è caratterizzato da un uso anche poco corretto dei principi presenti nei vari prodotti. Gli integratori energetici, ad esempio, carboidrati e maltodestrine, spesso vengono assunti secondo modalità e cronologia di somministrazione scorrette, tanto da produrre effetti opposti a quelli desiderati o ipotizzati. E' frequente il calo glicemico in corso di sforzo dopo scorretta assunzione di un unico carico di carboidrati prima della performance che facilmente determina un picco di secrezione insulinica proprio durante la prestazione atletica inducendo perdita della forza di contrazione muscolare, stordimento, vertigini e sudorazione profusa con nausea fino allo svenimento.

E' inoltre sempre più frequente la comparsa di ipertensione in giovani atleti che solitamente fanno ricorso a bevande ad elevato contenuto di sali senza un'opportuna diluizione. Le cosiddette bibite isotoniche, spesso isotoniche non sono, anzi, a volte risultano iper o ipotoniche, dotate cioè di una troppo elevata o troppo bassa concentrazione di elettroliti ed oligoelementi, tale da generare veri e propri scompensi temporanei, squilibri ipertensivi, alterazione della frequenza cardiaca, diuresi profusa. Per ciò che riguarda gli integratori cosiddetti plastici, costituiti dalle proteine e dai loro complessi, dosaggi scorretti possono indurre difficoltà digestive, meteorismo, dolori addominali, diarrea, iperlavoro per l'emuntorio renale. Anche una semplice dispepsia può compromettere la performance atletica più comune, per il miglioramento della quale si sia assunto un particolare integratore nel modo o nel momento sbagliato. Capostipite degli integratori definiti metabolici è la creatina, l'assunzione della quale fornirebbe il supporto alla integrazione delle perdite di fosfocreatina, prodotto fondamentale

della catena biochimica di eventi che porta alla produzione di energia. Della creatina, di cui tanto si è parlato nel recente passato, si potrebbe discutere a lungo: le dosi consigliate agli atleti riportate nelle pubblicazioni presenti in letteratura scientifica sono davvero molto contenute e di gran lunga inferiori a quelle comunemente utilizzate dagli sportivi (Benzi & Ceci, 2001); un carico eccessivo di creatina può produrre nausea, vomito, alterazioni elettrolitiche, insufficienza renale e patologie epatiche. Purtroppo il crescente consumo ed il notevole aumento della richiesta di tale prodotto ha fatto sì che molte aziende aumentassero la produzione di integratori a base di creatina a scapito della qualità del processo di estrazione della sostanza stessa con il risultato di un aumento inquietante nella composizione di tali integratori di residui e di molecole ad elevata tossicità, quali dicianamide, diidrotiazine e creatinina.

Gli antiossidanti sono entrati di recente con ruolo di assoluto protagonismo nel panorama degli integratori; Si tratta dei cosiddetti “scavengers”, “chain breakers” e flavonoidi, dai nomi particolarmente accattivanti che agiscono evitando che l'aumentata produzione di radicali liberi in condizioni di stress fisico possa indurre un invecchiamento precoce dei tessuti. Esistono centinaia di prodotti a base di antiossidanti, e non solo per lo sportivo, ma anche per chi voglia apprezzare un “migliore tenore di vita” dal punto di vista fisico ed estetico, per chiunque possa desiderare di mantenersi “sempre giovane”: sono queste le frasi frequentemente diffuse dalle relative campagne pubblicitarie. Ci si è quasi dimenticati che i principali antiossidanti sono presenti nella maggior parte dei vegetali e nella frutta, e che una corretta alimentazione che ponga la giusta attenzione alla componente vegetale della dieta può essere in grado di fornire il miglior apporto di antiossidanti realmente naturali quali, tra i tanti, le vitamine A, C ed E.

Sebbene l'assunzione di alcune sostanze, come la creatina ed alcune proteine, anche semplicemente al dosaggio scorretto, comporti il rischio di effetti dannosi per la salute, molti altri integratori possono essere praticamente innocui, come ad esempio quelli a base di aminoacidi ramificati (a meno di non assumerli per via endovenosa rischiando così una grave encefalopatia).

Sostiene G. Kuschinsky: "Un farmaco, che si sostiene non provochi alcun effetto collaterale, molto probabilmente non possiede alcun effetto terapeutico"; nessun farmaco o sostanza dotata di un effetto sull'organismo è dunque totalmente innocua: tutte, oltre a produrre l'effetto caratteristico specifico, producono anche un numero più o meno grande di effetti collaterali indesiderati, soprattutto se usate senza una precisa indicazione e secondo modalità non corrette.

IL RILEVAMENTO DELLE SOSTANZE DOPANTI NEI LIQUIDI BIOLOGICI

Procedure, metodiche, problemi

L'unica vera arma utile nella lotta al doping è senza dubbio costituita dall'efficacia delle metodiche laboratoristiche di rilevamento delle sostanze dopanti nei liquidi biologici.

Le tecniche impiegate per le analisi di rilevamento antidoping risultano estremamente complesse e delicate. Ogni eventuale rilevamento necessita di conferme, ha un valore legale ed è soggetto ad ulteriori verifiche da parte dell'Autorità Giudiziaria o Sportiva, verifiche che possono essere relative alla corretta conservazione e trasporto del campione, al mantenimento della catena di custodia ed alla regolarità delle procedure adottate. Il test antidoping non è dunque paragonabile all'applicazione di qualunque metodica di screening a scopo clinico che, pur richiedendo altrettanta scrupolosità, non deve seguire un iter particolarmente complesso. In campo clinico non sempre si rendono necessarie approfondite conferme biochimiche, il primo livello di screening si rivela spesso sufficiente per l'importanza dell'immediatezza nella valutazione clinica, per favorire il risparmio di tempo e un più rapido inquadramento della condizione del paziente.

Le analisi antidoping attualmente valutate di routine vengono praticate prevalentemente sulle urine degli atleti; il C.I.O. e la W.A.D.A., gli organi internazionali redattori del nuovo codice antidoping, che entrerà in vigore a partire dal 1/1/2004, proporranno in futuro ulteriori valutazioni su campioni differenti (sangue, capelli).

La procedura di consegna dei campioni al laboratorio dal momento in cui le urine dell'atleta vengono raccolte dopo la competizione sportiva (sono previsti

attualmente prelievi e controlli anche prima delle competizioni, nel corso dei giorni/settimane precedenti la gara) è ben descritta dalla legge italiana. Il medico nominato e delegato all'operazione, dopo il prelievo, effettua la misura del pH (5-7) e della densità ($p.s. \geq 1010$) sull'urina residua; dopo aver sigillato due flaconi, siglati A e B, essi vengono inviati al laboratorio d'analisi (accreditato per tali rilevamenti) in due contenitori termici sigillati, a loro volta inseriti in altre borse per la spedizione anch'esse sigillate. Una delle quattro copie del verbale di prelievo, quella che non contiene alcun dato identificativo dell'atleta, viene inviata al laboratorio; il laboratorio che effettua le analisi segue procedure ben precise per la presa in carico e conservazione del campione.

La "catena di custodia" è la documentazione che accompagna il campione e che riporta notizie sul prelievo, trasporto e conservazione dello stesso; l'obiettivo della catena di custodia è quello di garantire l'integrità del campione; una tale procedura viene sempre applicata nel caso di accertamenti a fini medico legali. Il flacone A viene utilizzato per la prima analisi, il contenitore B viene conservato sigillato in modo tale da garantirne l'integrità. In caso di positività della prima analisi, il campione B viene utilizzato per le controanalisi, se richieste dall'atleta.

Le analisi dei campioni A e B vengono svolte esclusivamente dallo stesso laboratorio, secondo la convenzione con la Commissione Anti-Doping. L'importanza dunque del rilevamento delle sostanze dopanti nei liquidi biologici è senza dubbio primaria: lo dimostra l'accuratezza dei singoli passaggi che l'atleta, il medico, i tecnici di laboratorio e tutto il personale coinvolto nella procedura descritta sono tenuti ad osservare. E' la possibilità di un corretto e attendibile rilevamento che consente l'applicazione delle adeguate e relative sanzioni nei confronti di chi infranga la normativa antidoping e metta a rischio la propria ed altrui salute.

E' indubbio che, un appropriato prelievo del campione, il mantenimento di una corretta catena di custodia e uno scrupoloso rispetto delle procedure, non conducono a nulla se la metodica di dosaggio risulta poco sensibile e/o specifica. Tanto si è parlato e si continua a discutere circa l'inadeguatezza di alcune tecniche nei confronti del rilevamento di alcuni metaboliti poco riscontrabili nei liquidi biologici e della poca attendibilità dell'utilizzo del solo campione urina, fin troppo suscettibile di manipolazioni e contraffazioni poco controllabili.

Per quanto riguarda le tecniche utilizzate attualmente affinché le analisi di rilevamento di sostanze dopanti siano valide ai fini legali, la metodica impiegata deve essere basata sulla cromatografia associata alla spettrometria di massa.

Per le principali sostanze d'abuso, sono disponibili i più comuni test di screening, generalmente immunometrici. Questi possono essere utilizzati soprattutto se si deve analizzare un grande numero di campioni; in campo anti-doping è però obbligatorio effettuare la conferma cromatografica e spettrometrica dei dati risultati positivi con le metodiche di screening. Alcuni test di screening esistenti in commercio non sono idonei per essere utilizzati ai fini anti-doping; ciò è dovuto alla scarsa reattività crociata degli anticorpi del reagente verso alcuni componenti di una stessa classe di sostanze (es. amfetamine).

Solitamente, in campo clinico, si stabilisce un valore soglia di concentrazione (cut-off) di una determinata sostanza nei liquidi biologici; il rilevamento di un dato al di sopra di tale valore viene considerato positivo per la presenza della relativa sostanza e quindi indicativo della pregressa assunzione. Il cut-off non ha particolare significato nel campo delle analisi anti-doping in quanto basta la semplice presenza nelle urine della sostanza ritenuta vietata a permettere di ritenere il risultato positivo ed a configurare l'evento. Esistono però anche sostanze dopanti per le quali sono stati stabiliti valori di cut-off, in quanto alcune di esse sono fisiologicamente presenti

nell'organismo a valori noti (epitestosterone), oppure non farmacologicamente efficaci in senso dopante al di sotto di determinate concentrazioni (efedrina, caffeina) (**Tab. 4**).

CAFFEINA > 12 microgrammi/millilitro
CARBOSSI-THC > 15 nanogrammi/millilitro
CATINA > 5 microgrammi/millilitro
EFEDRINA > 10 microgrammi/millilitro
EPITESTOSTERONE > 200 nanogrammi/millilitro
METILEFEDRINA > 10 microgrammi/millilitro
MORFINA > 1 microgrammi/millilitro
19-NORANDROSTERONE > 2 nanogrammi/millilitro per gli uomini
19-NORANDROSTERONE > 5 nanogrammi/millilitro per le donne
FENILPROPANOLAMINA > 25 microgrammi/millilitro
PSEUDOEFEDEDRINA > 25 microgrammi/millilitro
SALBUTAMOLO (come stimolante) > 100 nanogrammi/millilitro
SALBUTAMOLO (come agente anabolizzante) > 1000 nanogrammi/millilitro
RAPPORTO T/E > 6

Tab. 4 Elenco delle sostanze ritenute dopanti oltre un certo limite di concentrazione urinaria

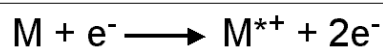
Dopo aver provveduto a verificare la presenza di una determinata sostanza nel campione disponibile grazie a metodi immunometrici o tramite l'impiego di radiotraccianti, è dunque opportuna e necessaria la verifica cromatografica e spettrometrica. Per le sostanze per cui non sono disponibili o attendibili i comuni test di screening si procede direttamente con le tecniche cromatografiche applicate al campione.

Le tecniche cromatografiche sono utilizzate per separare le sostanze contenute in una miscela sfruttando le loro caratteristiche chimico fisiche. Le principali

applicazioni sono costituite dalla cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) e dalla gas cromatografia (GC). L'elemento principale di un cromatografo è la colonna cromatografica, dove avviene la separazione delle diverse sostanze presenti nella miscela da analizzare. Nel caso del cromatografo liquido la miscela viene immessa nella colonna attraverso un mezzo di trasporto liquido, nel caso del gas-cromatografo il mezzo di trasporto è un gas. In entrambi i casi, il risultato ottenuto è un cromatogramma formato da picchi che corrispondono alle diverse sostanze presenti nella miscela; essi vengono rilevati e trascritti come curve su grafici in ordine di uscita dalla colonna dove è posto un rivelatore. Una ulteriore conferma del dato rilevato si rende necessaria nel corso delle analisi anti-doping: per avere la certezza del dato analitico, la cromatografia deve essere accoppiata a spettrometria di massa (MS; GC-MS). La spettrometria di massa con ionizzazione per impatto elettronico viene largamente usata come rivelatore accoppiato alla gascromatografia.

All'uscita della colonna cromatografica, le molecole da analizzare, in fase gassosa, vengono convogliate ad una temperatura molto elevata in una camera di ionizzazione, qui esse interagiscono con un fascio di elettroni generato da un filamento incandescente (Renio o Tugsteno) ed accelerato attraverso un potenziale regolabile dall'operatore. Le molecole, dunque, subiscono un bombardamento elettronico ad energia normalmente fissata a 70 eV. L'impatto elettronico provoca la ionizzazione della molecola, cioè la perdita di un elettrone e la formazione dello ione molecolare.

Lo ione molecolare (M^+) è lo ione (positivo) generato per ionizzazione della molecola da analizzare, esso è dotato della stessa massa della molecola in esame. Dopo ionizzazione per impatto elettronico, lo ione formatosi è definibile come una specie a numero dispari di elettroni:



Una volta generati, gli ioni vengono portati verso l'analizzatore, un dispositivo in grado di separarli in base al loro rapporto massa/carica. In particolare, l'analizzatore a singolo quadrupolo presente nei più comuni GC/MS utilizza la stabilità delle traiettorie per separare gli ioni in base al loro rapporto massa/carica (m/z). A separazione avvenuta, l'abbondanza dei vari "pacchetti" di ioni viene tradotta in segnale tramite il detector.

Il segnale del detector viene trasdotto e rappresentato graficamente; ogni frammento rilevato viene espresso come una curva su un grafico in cui alle ascisse è rappresentata la massa, ed alle ordinate la quantità di frammento prodottasi. Per ogni molecola esiste un caratteristico spettro di frammentazione costituito da picchi graficamente riconoscibili e riconducibili alla molecola di origine. Per l'interpretazione dello spettro di massa è di fondamentale importanza dunque la disponibilità di una libreria di spettri conosciuti, corrispondenti a migliaia di sostanze, caricata in un database presente nel computer dello strumento. Nel caso della spettrometria di massa accoppiata alla cromatografia liquida (LC/MS) con interfaccia ESI, viene applicata una differenza di potenziale all'eluato in uscita dalla colonna; questo provoca la formazione di un "elettrospray". Da ciò si ottiene uno spettro di massa contenente la distribuzione degli ioni molecolari multicarica $(M^+zH)^{z+}$. Attraverso un sistema di equazioni lineari è possibile risalire al peso molecolare della sostanza. Il perfezionamento delle metodiche descritte con l'evoluzione in High Resolution Mass Spectrometry (HRMS) e l'utilizzo di strumenti cosiddetti in tandem MS-MS ha consentito il raggiungimento di una migliore qualità delle valutazioni analitiche

Un diagramma standard delle procedure adottate dal laboratorio italiano accreditato dal C.I.O. per le analisi anti doping è di seguito riportato (**Fig. 11**):

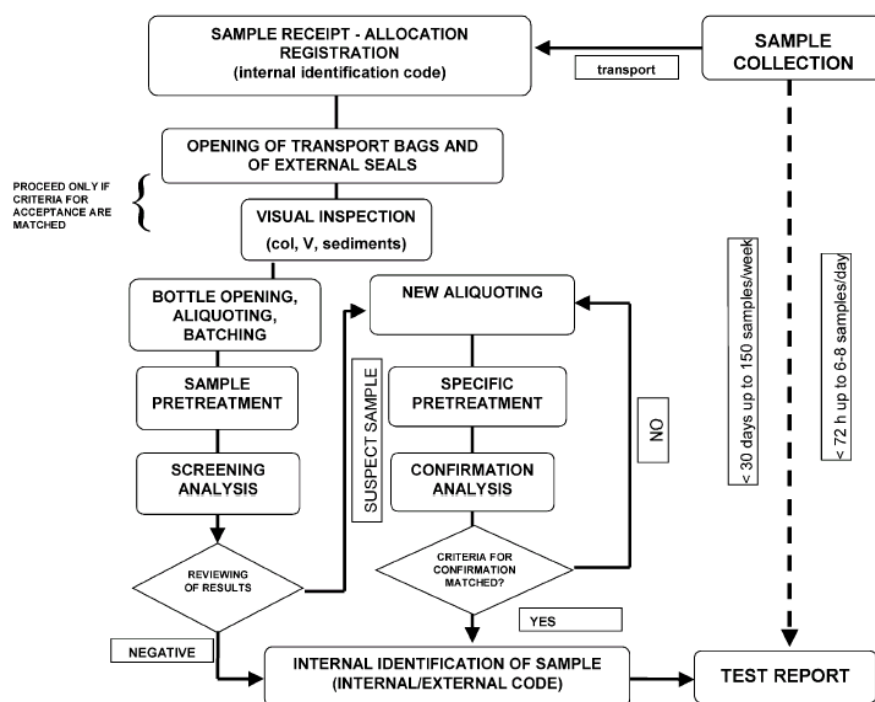


Fig. 11 (da Botrè F, 2003)

La continua e sempre crescente sintesi di nuove sostanze, alcune delle quali sono state descritte nei precedenti capitoli, e la ricerca e l'utilizzo in senso dopante di nuovi e vecchi farmaci disponibili nella pratica clinica, sta compromettendo sempre più l'attendibilità dei risultati di alcuni test.

Sostanze come l'eritropoietina, il GH, l'insuline-like growth factor 1 (IGF-1) non risultano spesso facilmente riscontrabili nelle urine o, quantomeno, differenziabili dai picchi fisiologici relativi ai valori dei singoli individui. L'assunzione di sostanze esogene di origine sintetica come ad esempio la NESP, analogo della eritropoietina precedentemente citato, si può, invece, piuttosto facilmente rilevare, soprattutto in campioni ematici, data la differenza nella composizione della molecola endogena rispetto a quella sintetica dotata di un maggior numero di catene carboidratiche con residui di acido sialico. Anche per il rilevamento della stessa Epo ricombinante

umana nelle urine sono stati approntati dei metodi efficaci di cui il più diffuso, elaborato da F. Lasne e J. De Ceaurriz, è descritto dagli stessi autori nell'articolo "Detection of isoelectric profiles of erythropoietin in urine: differentiation of natural and administered recombinant hormones". (National Anti-Doping Laboratory, 92290 Châtenay-Malabry, France) (2002)

Il rilevamento di alcuni derivati del testosterone nelle urine è spesso stato attribuito e giustificato da parte di alcuni atleti come derivante da una involontaria assunzione di prodotti alimentari o integratori nella cui composizione sarebbe stata aggiunta una quota di tali molecole non dichiarata; la nuova definizione di doping lascia poco spazio alla involontarietà come presunzione di innocenza, spesso in passato, invece, si è reso difficile discriminare l'assunzione involontaria dalla premeditata e dunque provare, al di là del semplice rilevamento analitico, che una assunzione di steroidi anabolizzanti, peraltro riscontrabili a lungo termine nelle urine (mesi), fosse stata praticata con l'unico ed il solo scopo dopante.

Un altro fondamentale punto di discussione relativo ai problemi di rilevamento delle sostanze dopanti nei liquidi biologici riguarda la stesura delle liste delle sostanze vietate. Come già è stato descritto, la lista adottata dalla legge italiana è una lista definita "chiusa" e periodicamente integrata, mentre la lista adottata per le competizioni internazionali redatta da C.I.O. / W.A.D.A. risulta aperta grazie alla dizione "sostanze affini". Ciò, sebbene conferisca estrema completezza alla normativa internazionale, pone in serie difficoltà il laboratorio impegnato nei rilevamenti. E' estremamente difficile possedere una libreria di spettri di massa di sostanze talmente vasta e completa da permettere un rilevamento di minime quantità, ad esempio, di prodotti ad azione stimolante di origine vegetale e poco diffusi, oppure di alcuni milligrammi di Tribulus Terrestris delle cui caratteristiche chimico-fisiche poco ancora si conosce.

Sarebbe opportuno differenziare le batterie di test per valutazioni approfondite personalizzabili e specifiche per le singole discipline, operazione che già viene praticata in alcuni laboratori ma non è ancora standardizzata.

Sarebbe inoltre indispensabile programmare il ricorso ad altre matrici per il rilevamento analitico, l'utilizzo cioè di campioni diversi dalle urine, che siano di routine o di verifica ma che possano conferire una maggiore attendibilità ai risultati del rilevamento. Il prelievo ematico di routine è stato da alcuni anni proposto come ipotesi alternativa a quello delle urine. Il sangue è un campione difficilmente manipolabile allo scopo di ottenere contraffazioni, l'analisi sul sangue intero rivela la presenza non solo dei metaboliti ma anche della sostanza assunta come tale in percentuali maggiori, pertanto è più facile risalire ad un utilizzo recente della sostanza dopante; inoltre la sensibilità di alcune metodiche applicate al rilevamento di specifiche sostanze presenti nel sangue è senza dubbio maggiore rispetto al rilevamento sul campione urinario.

Basterebbe, ad esempio, in alcuni casi anche la sola valutazione di parametri come la ferritinemia per supporre l'utilizzo di eritropoietina (**Tab. 5**)

<u>Ferritinemia</u>	<u>Cyclists using EPO</u>	<u>Blood donors</u>
Level (mean)	806 ng/ml	125 ng/ml
Ranges		
Min :	534 ng/ml	42 ng/ml
Max :	1997 ng/ml	280 ng/ml

Tab. 5 (da Dine G., 2001)

Il prelievo, in quanto manovra invasiva, è però fortemente contestato da alcune categorie ed associazioni di atleti e, a parte la valutazione dell'ematocrito, accettata

e praticata già da tempo, la sua applicazione potrà probabilmente essere approvata in futuro soltanto come metodica di seconda istanza o di approfondimento. E' ovvio che l'utilità del prelievo ematico è massima se esso può essere effettuato entro un certo periodo dalla presunta assunzione di sostanze, trascorso il quale l'applicazione di tale pratica potrebbe non avere senso.

Si è pensato di proporre test sulla saliva e sul sudore, ma il test che quasi sicuramente sarà adottato e tenuto in considerazione come completamento e approfondimento delle analisi sulle urine sarà il test del capello (Tab. 6).

Specimens	Detection window	Use	Observations
Saliva	1 h–24 h	Concentration of parent drug	Special collection devices (Salivette)
Sweat	3 h–2 d/1 w	Only parent drug detection	Drug Wipe/Patch tests Cumulative exposure
Hair	>3d–m/y	Concentration of parent drug after chronic consumption	Easy to store at room temperature
Plasma/Serum	3 h–2 d	Concentration of parent drug allows evaluation of short term toxicity e.g. evaluation of performance (DUI)	Stored cooled/frozen
Urine	6 h–3 d	Only drug metabolites detection	Stored cooled/frozen

Tab. 6 (da Wennig, 2000)

Il rilevamento di sostanze d'abuso tramite il test del capello ha guadagnato notevole attenzione e credito nel corso degli anni '90; tale tecnica è attualmente un elemento fondamentale nella pratica della tossicologia forense.

Molti farmaci e sostanze restano incorporati nella matrice cheratinica del capello per molto tempo. La crescita del capello avviene con una velocità media di 0.35 mm/die e di circa 1.5 cm/mese a seconda delle sedi anatomiche, della razza, del sesso e dell'età del soggetto. Nell'area del cuoio capelluto un capello della lunghezza di 3 cm potrebbe essere stato generato dal follicolo circa 3 mesi prima. I metaboliti di una determinata sostanza, condotti dal circolo ematico al follicolo pilifero, attraversano la membrana cellulare degli elementi che formeranno il pelo

fino a restarne incorporati e, con la formazione della matrice cheratinica, verranno trasportati e condotti distalmente man mano che la lunghezza del pelo aumenterà nel tempo (**Fig. 12**). E' pertanto teoricamente possibile non solo definire la presenza di un metabolita ma anche il periodo della sua relativa assunzione con una discreta precisione fino a 90 giorni dopo l'assunzione della sostanza.

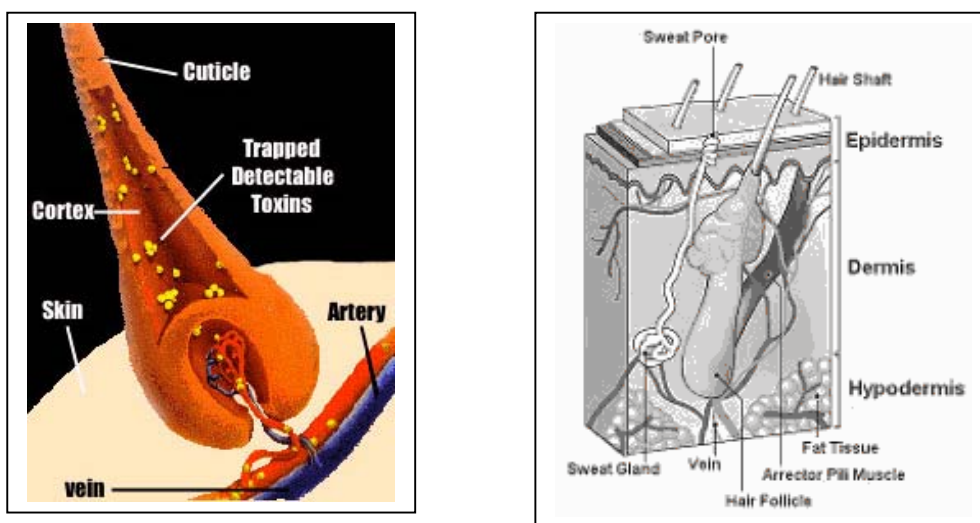


Fig. 12 Schemi dell'incorporazione di sostanze nella matrice del pelo

Standards analitici quantitativi e qualitativi sono già largamente disponibili per molti farmaci e sostanze di abuso per le metodiche di rilevamento sul capello; le sostanze rilevabili secondo tale metodica, dopo assunzione sia orale che parenterale, sono circa 60; tra queste gli oppioidi, la cocaina, il THC, le amfetamine, l'MDA, l'MDMA, gli allucinogeni, i barbiturici, le benzodiazepine, ed altre molecole di varia natura. Standard analitici validi non esistono ancora per diuretici ed agenti anabolizzanti, sebbene per questi ultimi alcuni ricercatori abbiano sviluppato di recente alcuni standard piuttosto attendibili. Lo spessore del capello e la sua pigmentazione possono costituire delle variabili importanti per il rilevamento delle sostanze in tale matrice: capelli sottili e di pigmentazione chiara trattengono una concentrazione minore di sostanza rilevabile al test. Esistono inoltre prodotti

cosmetici in grado di alterare la composizione e la struttura del capello rendendo difficile o impossibile una accurata valutazione analitica.

Oltre che nel capello, è possibile rilevare l'accumulo di metaboliti di alcune sostanze anche nel pelo pubico e/o ascellare.

Testosterone and DHEA concentrations (pg/mg) in hair of the head, axillary and pubic regions						
Subject	Testosterone			DHEA		
	Head	Axillary	Pubis	Head	Axillary	Pubis
1	4.1	182	3.9	3.2	1984	1363
2	3.3	39	3.5	6.7	719	90
3	2.2	17	4.7	4.9	2735	60

Secondo i test praticati da Gaillard (**Tab. 7, 8** Gaillard Y et al, 2000) il test effettuato sul capello per le amfetamine (ma anche per alcuni steroidi) sarebbe più sensibile ed attendibile di quello praticato sulle urine.

Results in urine and hair for amphetamines ^a			
Identified molecules	<i>n</i>	Urine (ng/ml)	Hair (ng/mg)
Amphetamine	1	906.0	1.22
	2	332.0	0.56
	3	24.6	IQ
	4	23.9	0.48
	5	5.2	0.34
	6	2.2	1.00
	7	0	0.37
	8	0	0.30
	9	0	0.17
	10	0	0.09
	11	0	0.08
	12	0	0
	13	0	0
	14	0	0
	15	0	0
	16	0	0
	17	0	0
	18	0	0
	19	0	0
	20	0	0
	21	0	IQ
	22	0	IQ
	23	0	IQ
	24	0	IQ
	25	0	IQ
	26	0	IQ
	27	0	IQ
	28	0	IQ
	29	0	IQ
	30	0	IQ
Total number of positives		6	10
Number of analyses		30	19
Total percentage of positives		20	52

Tab. 7 (*da Gaillard Y. 2000*)

Results in urine and hair for anabolic steroids ^a			
Identified molecules	<i>n</i>	Urine (ng/ml)	Hair (ng/mg)
Nandrolone	1	0	5.1
Testosterone undecanoate	2	0	15.2
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
	6	0	0
	7	0	0
	8	0	0
	9	0	0
	10	0	0
	11	0	0
	12	0	0
	13	0	0
	14	0	0
	15	0	0
	16	0	0
	17	0	0
	18	0	0
	19	0	0
	20	0	0
	21	0	0
	22	0	0
	23	0	0
	24	0	0
	25	0	0
	26	0	IQ
	27	0	IQ
	28	0	IQ
	29	0	IQ
	30	0	IQ
Total number of positives		0	2
Number of analyses		30	25
Total percentage of positives		0	8

^a IQ: Insufficient quantity.

Tab. 8 (*da Gaillard Y. 2000*)

Oltre al perfezionamento delle tecniche analitiche, tappa fondamentale per il miglioramento della qualità in campo laboratoristico, è altrettanto opportuno considerare la necessità di approfondire le conoscenze anche da altri punti di vista da parte degli operatori del settore della Medicina sportiva e di tutte le discipline come la Farmacologia Clinica e la Tossicologia, la cui sinergia risulta in una corretta prevenzione e tutela della salute.

Sarebbe fondamentale lo studio di modelli tossicocinetici applicabili all'uso di sostanze da parte di atleti, modelli che includano gli effetti presunti di determinate sostanze sull'allenamento, in gara e nel recupero post-attività fisica. Studi di Physiology-based toxicokinetic (PB-TK) e Physiology of exercise-based toxicokinetic (POEB-TK) sono già in programmazione per i prossimi anni da parte delle strutture deputate dalle commissioni internazionali che regolano la disciplina antidoping, allo scopo di valutare le reali proprietà di determinate sostanze sull'organismo di individui abituati ad un'attività fisica intensa che comunque rende le loro funzioni metaboliche e fisiologiche in generale, potenzialmente differenti da quelle della popolazione generale.

CONCLUSIONI

Il ricorso al doping costituisce purtroppo una pratica in continua e dilagante diffusione, soprattutto nel contesto dello sport amatoriale. Gli effetti avversi ed i danni all'organismo indotti da sostanze e prodotti a base di molecole potenzialmente o sicuramente pericolose risultano molteplici e sempre più frequentemente osservabili. In alcuni contesti, soggetti giovani, ancora nel pieno dello sviluppo fisico, non appena dimostrano particolari capacità nella pratica di una disciplina sportiva, sperimentano o vengono sottoposti a dubbie pratiche o "terapie" (auto-somministrate o illecitamente prescritte), quasi a sussidio ed a tutela della conservazione e del perfezionamento delle già evidenti predisposizioni atletiche. Non è difficile imbattersi in contesti amatoriali da "polisportiva" locale dove l'accesso o il passaggio alla rosa dei potenziali "campioni" avviene previa adesione da parte del giovane atleta ad un programma di integrazione dietetico-farmacologica che, essendo riservato ai "migliori", viene addirittura vissuto come un privilegio da parte di coloro a cui viene proposto. Proprio i giovani rappresentano le potenziali vittime più esposte al fenomeno del doping, una generazione di adolescenti che nel 21° secolo appare, più che in altri periodi della storia recente, alla continua ricerca di un'immagine da presentare al mondo come invincibile, sicura, invidiabile e vincente a qualunque costo. E' sempre più viva da parte degli adolescenti la continua ricerca di consensi, il desiderio di ricorrere a sistemi di comunicazione nuovi, la voglia di impostare e ricercare rapporti interpersonali su base telematica, nati cioè grazie ai forum del web ed ai siti di incontro virtuale (chat-lines). Le opportunità che le tecnologie odierne offrono, al fine di poter impostare un incontro su base totalmente virtuale, ha sconvolto e rivoluzionato l'atteggiamento del giovane adolescente del

nostro tempo. La chat-line (letteralmente la linea – telematica – dedicata alla “chiacchiera” virtuale), consentendo una anonimità “fisica” permette all’utente del servizio telematico la possibilità di costruire per se stesso un’identità simile o migliore addirittura di quella che desidererebbe mostrare. Spesso, però, è e deve risultare fisiologico l’abbandono della virtualità per la naturale prosecuzione di un rapporto, nato secondo modalità anomale ma sempre più frequenti. Il conseguente impatto con la realtà, il momento del confronto fisico con l’interlocutore, la presentazione del vero sé corporeo pone spesso l’adolescente a dover affrontare un serio conflitto con se stesso.

Viviamo dunque in un contesto sociale in cui può essere e viene considerata “performance” anche il solo presentarsi fisicamente a qualcuno, il continuo bombardamento pubblicitario, la subliminalità o l’evidenza del messaggio che il benessere psico-fisico (associato ad immagini di bellezza e perfezione fisica) possa essere raggiunto con qualche pillola e poche bustine da sciogliere in acqua consente la divulgazione di un messaggio subdolo e pericoloso. Il ricorso a sostanze a scopo “dopante” non riguarda ormai soltanto il mondo dello sport. Il concetto di doping si sta pericolosamente allargando, contagiando ambiti sociali in cui risulta addirittura più lecito, se non normale, ricorrere a un farmaco per essere all’altezza della prestazione da fornire, di qualunque tipo essa sia.

La Prof.ssa Andrea Petroczi della Kingston University (UK), in un suo recente lavoro (Petroczi A., E.A.S.M. Congress, Stoccolma, settembre 2003) ha analizzato la predisposizione, l’atteggiamento morale e le conoscenze relative al doping in tre differenti culture: gli atleti Canadesi, gli Americani e gli Ungheresi. Le conclusioni dell’interessante lavoro della Prof.ssa Petroczi forniscono molti spunti di riflessione: la predisposizione, l’atteggiamento e le conoscenze sul doping in differenti culture possono variare; per alcuni la spinta a non farvi ricorso è caratterizzata dalle

convinzioni morali e dall'etica della lealtà; per altri i rischi per la salute costituiscono il maggior deterrente al doping; altri ancora dimostrano atteggiamenti permissivi nei confronti dell'uso di sostanze. L'uniformità del livello di istruzione e di maturità degli atleti coinvolti nello studio ha consentito all'autrice la deduzione che una corretta informazione, un buon livello di istruzione e una discreta maturità intellettuale possono non essere influenti sulla predisposizione all'uso di sostanze in ambito sportivo. E' essenziale piuttosto, per la prof.ssa Petroczi, non ignorare il contesto sociale ed economico dello sport professionistico e la sua influenza sulla popolazione giovanile. L'importanza di un messaggio di gloria ed onori, ricchezza e fama, conseguiti con sistemi e mezzi diversi, può influire sul comportamento giovanile ancor più di una corretta informazione ed educazione morale.

Non è facile concordare pienamente con tali conclusioni: il doping è senza dubbio un problema di ordine morale, etico-legale, ma non solo. Esso riguarda prevalentemente la salute pubblica; va pertanto contrastato e combattuto soprattutto con la prevenzione. E' innegabile l'importanza e l'influenza negativa di un contesto sociale che suggerisce il conseguimento di un risultato con rapida semplicità accessibile a tutti. E' però dovere morale da parte del medico e di ogni operatore sanitario rendere noti gli effetti dannosi, i rischi, la pericolosità e i problemi relativi all'adozione di pratiche dopanti, a qualsiasi livello. E' fondamentale porre l'attenzione sulle possibili alternative naturali, sui corretti stili di vita, sulle profonde risorse individuali e sulla accettazione della diversità interindividuale che offre ad alcuni abilità, capacità e predisposizioni differenti rispetto ad altri. Il percorso della conoscenza del sé e delle proprie attitudini, delle "incapacità" e della possibilità di affrontarle individualmente, se necessario con un supporto specialistico anche soltanto impostato sul counselling, deve essere proposto come alternativa a chiunque.

Osservando la collettività appaiono gli atteggiamenti ed i comportamenti della media della popolazione; supportare e fornire la competenza e l'informazione inizialmente alle piccole realtà scolastiche, sportive, sociali, intervenire anche sul singolo può produrre risultati notevoli a lungo termine anche su atteggiamenti comuni. L'istinto di emulazione nei confronti di falsi miti e campioni dalla dubbia carriera prescinde dalla riflessione individuale; la consapevolezza di un rischio reale di danno a breve o a lungo termine per la salute deve avere l'obiettivo di fornire uno spunto per la riflessione e la capacità e la consapevolezza di poter scegliere tra la via dell'autodistruzione e quella della crescita.

La cultura di uno sport pulito deve essere sostenuta di pari passo a quella della cura della salute individuale. L'informazione ha e può assumere un ruolo preventivo di carattere generale sia nei confronti dell'atleta che nei confronti del personale sanitario, del corpo docente e presso i preparatori atletici, categorie queste ultime a diretto contatto con i giovani. Deve essere chiaro quanto la salute individuale possa con estrema facilità essere compromessa dall'uso assolutamente sconsiderato ed immotivato di farmaci e sostanze di cui soltanto le più diffuse sono state analizzate nella presente trattazione.

Bibliografia

- 1) Achenbach H, Hubner H, Brandt W et al: Cardioactive steroid saponins and other constituents from the aerial parts of *Tribulus cistoides*. *Phytochem* 1994; 35(6):1527-1543.
- 2) Adaikan PG, Gauthaman K, Prasad RNV et al: Proerectile pharmacological effects of *Tribulus terrestris* extract on the rabbit corpus cavernosum. *Ann Acad Med Singapore* 2000; 29(1):22-26
- 3) Akhter J, Hyder S, & Ahmed M: Cerebrovascular accident associated with anabolic steroid use in a young man. *Neurology* 1994; 44:2405-6.
- 4) Amendola L, Colamonici C, Rossi F, Botre F: Determination of clenbuterol in human urine by GC-MS-MS-MS: confirmation analysis in antidoping control. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002; 773(1): 7-16.
- 5) Amendola L, Molaioni F, Botre F. Detection of beta-blockers in human urine by GC-MS-MS-EI: perspectives for the antidoping control. *J Pharm Biomed Anal* 2000; 23(1):211-21.
- 6) Auchus RJ: The Science of Steroid Abuse. Teachers Program at STARS 2000: Science Teacher Access to Resources at Southwestern (Univ. of Texas, Southwestern Medical Center, Dallas TX)
- 7) Ault A: FDA proposes limits on ephedrine supplements. *Lancet* 1997; 349:1753.
- 8) Aviado DM: A comparative study of nasal decongestion by sympathomimetic drugs. *Arch Otolarynol* 1959; 69:598-605.
- 9) Ayotte C, Levesque JF, Cle roux M, Lajeunesse A, Goudreault D, Fakirian A: Sport nutritional supplements: quality and doping controls. *Can J Appl Physiol.* 2001; 26 Suppl: S120-9.
- 10) Baba S, Fujioka M, Shinohara Y et al: Determination of testosterone propionate in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatograph* 1985; 337:205-212.
- 11) Barbaccia ML, Serra M, Purdy RH, Biggio G. Stress and neuroactive steroids. *Int Rev Neurobiol* 2001; 46: 243-72.
- 12) Beale MD, Pritchett JT & Kellner CH: Supraventricular tachycardia in a patient receiving ECT, clozapine, and caffeine. *Convuls Ther* 1994; 10(3):228-231.

- 13)Beckett AM et al: Comparison of oral and percutaneous routes in man for the administration of "ephedrines". J Pharm Pharmacol 1972; 24:65P.
- 14)Benzi G & Ceci A: Creatine as nutritional supplementation and medicinal product. J Sports Med Phys Fitness 2001; 41(1):1-10
- 15)Benzi G, Bellotti P, Farmaci, allenamento e sport, Roma, Il Pensiero scientifico, 1990.
- 16)Bevalot F, Gaillard Y, Lhermitte MA, Pepin G: Analysis of corticosteroids in hair
- 17)Bochnia M, Medras M, Pospiech L, Jaworska M: Poststeroid balance disorder, a case report in a body builder. Int J Sports Med. 1999; 20(6): 407-9.
- 18)Bohn AM, Betts S, Schwenk TL: Creatine and other nonsteroidal strength-enhancing aids. Curr Sports Med Rep 2002; 1(4): 239-45.
- 19)Botrè F., Drugs of abuse and abuse of drugs in sportsmen: the role of in vitro models to study effects and mechanisms Toxicology in vitro, 2003 in press
- 20)Breidbach A, Catlin DH: RSR13, a potential athletic performance enhancement agent: detection in urine by gas chromatography/mass spectrometry. Rapid Commun Mass Spectrom. 2001; 15(24): 2379-82.
- 21)Broeder CE, Quindry J, Brittingham K, Panton L, Thomson J, Appakondur S, Breuel K, Byrd R, Douglas J, Earnest C, Mitchell C, Olson M, Roy T, Yarlagadda C: The Andro Project: physiological and hormonal influences of androstenedione supplementation in men 35 to 65 years old participating in a high-intensity resistance training program. Arch Intern Med. 2000, 160(20): 3093-104.
- 22)Brower KJ, Blow FC, Beresford TP et al: Anabolic-androgenic steroid dependence. J Clin Psychiatry 1989; 50:31-33
- 23)Brown GA, Vukovich MD, Reifsnrath TA, Uhl NL, Parsons KA, Sharp RL, King DS: Effects of anabolic precursors on serum testosterone concentrations and adaptations to resistance training in young men. Int J Sport Nutr Exerc Metab 2000, 10(3): 340-59.
- 24)Calzia F., Castellani M; Palla Avvelenata; Bradipo Libri, ottobre 2003
- 25)Carrillo JA & Benitez J: CYP1A2 activity, gender and smoking as variable influencing the toxicity of caffeine. Br J Clin Pharmacol 1996; 41:605-608
- 26)Casadevall N, Nataf J, Viron B et al: Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. N Engl J Med 2002; 346(7):469-475.

- 27)Chester N, Reilly T, Mottram DR: Physiological, subjective and performance effects of pseudoephedrine and phenylpropanolamine during endurance running exercise. *Int J Sports Med.* 2003; 24(1): 3-8.
- 28)Choi PY, Pope HG Jr, Olivardia R: Muscle dysmorphia: a new syndrome in weightlifters. *Br J Sports Med.* 2002; 36(5): 375-6
- 29)Clarkson PM, Thompson HS: Drugs and sport. Research findings and limitations. *Sports Med.* 1997; 24(6): 366-84.
- 30)Cowan DA & Kicman AT: Doping in Sport: Misuse, Analytical Tests, and Legal Aspects. *Clin Chem* 1997; 43(7): 1110 - 1113.
- 31)Delbeke FT, Van Eenoo P, Van Thuyne W, Desmet N: Prohormones and sport. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2002; 83(1-5): 245-51.
- 32)Dine G: Biochemical and Hematological Parameters in Athletes, ISLH XIVth Intrnational Symposium, Special Workshop "Blood Doping in Sports and Detection Strategies" 2001.
- 33)Donnelly ET, Kelley M, Rockwell S: Effects of RSR13 and oxygen on the cytotoxicity of cisplatin and carboplatin to EMT6 mouse mammary tumor cells in vitro and in vivo. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2003; in press.
- 34)Dumestre-Toulet V, Cirimele V, Ludes B, Gromb S, Kintz P: Hair analysis of seven bodybuilders for anabolic steroids, ephedrine, and clenbuterol. *J Forensic Sci.* 2002; 47(1): 211-4.
- 35)Eagleton HJ, Littlewood TJ: Update on the clinical use and misuse of erythropoietin. *Curr Hematol Rep* 2003; 2(2):109-15.
- 36)Egrie JC & Browne JK: Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Br J Cancer* 2001a; 84:3-10.
- 37)Egrie JC & Browne JK: Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:3-13.
- 38)Eklof AC, Thurelius AM, Garle M, Rane A, Sjoqvist F: The anti-doping hot-line, a means to capture the abuse of doping agents in the Swedish society and a new service function in clinical pharmacology. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; in press.
- 39)Espinola EB, Dias RF, Mattei R et al: Pharmacological activity of Guarana (*Paullinia cupana* Mart) in laboratory animals. *J Ethnopharmacol* 1997; 55:223-229.
- 40)Fetrow CW & Avila JR: Professional's Handbook of Complementary and Alternative Medicines. Springhouse Co, Springhouse, PA; 1999.

- 41)Fisher M, Appleby M, Rittoo D et al: Myocardial infarction with extensive intracoronary thrombus induced by anabolic steroids. *Br J Clin Pract* 1996; 50:222-223.
- 42)Fleming T: *PDR for Herbal Medicines*, Medical Economics Company, Inc, Montvale, NJ, 1998.
- 43)Fujioka M, Shinohara Y, Baba S et al: Pharmacokinetic properties of testosterone propionate in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63:1361-1364.
- 44)Gaillard Y, Vayssette F, Balland A, Pepin G: Gas chromatographic-tandem mass spectrometric determination of anabolic steroids and their esters in hair. Application in doping control and meat quality control. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1999; 735(2): 189-205.
- 45)Gaillard Y, Vayssette F, Pepin G: Compared interest between hair analysis and urinalysis in doping controls. Results for amphetamines, corticosteroids and anabolic steroids in racing cyclists. *Forensic Sci Int.* 2000; 107(1-3): 361-79.
- 46)Gambelunghe C, Sommovilla M, Rossi R: Testing for nandrolone metabolites in urine samples of professional athletes and sedentary subjects by GC/MS/MS analysis. *Biomed Chromatogr.* 2002; 16(8): 508-12.
- 47)Gaudard A, Varlet-Marie E, Bressolle F, Audran M: Drugs for increasing oxygen and their potential use in doping: a review. *Sports Med.* 2003; 33(3): 187-212.
- 48)Gautaman K, Adaikan PG, Prasad RNV; Aphrodisiac properties of Tribulus Terrestris extract (Protodioscin) in normal and castrated rats, *Life Sciences* 71; 2002; 1385-1396
- 49)Gauthaman K, Ganesan AP, Prasad RN: Sexual effects of puncturevine (Tribulus terrestris) extract (protodioscin): an evaluation using a rat model. *J Altern Complement Med.* 2003; 9(2): 257-65.
- 50)Gauthaman K, Maulik M, Kumari R, Manchanda SC, Dinda AK, Maulik SK: Effect of chronic treatment with bark of Terminalia arjuna: a study on the isolated ischemic-reperfused rat heart. *J Ethnopharmacol.* 2001; 75(2-3): 197-201.
- 51)Gauthier J: Blood doping and cardiovascular consequences. *Presse Med* 2002; 31(40): 1904-8.
- 52)Gilman AG, Rall TW, Nies AS et al (Eds): *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed. Macmillan Publishing Co, New York, NY, 1990.
- 53)Goldberg L: Adverse effects of anabolic steroids (letter). *JAMA* 1996; 276:257.
- 54)Gore CJ, Parisotto R, Ashenden MJ, Stray-Gundersen J, Sharpe K, Hopkins W, Emslie KR, Howe C, Trout GJ, Kazlauskas R, Hahn AG: Second-generation blood

- tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica*. 2003; 88(3): 333-44.
- 55)Graham TE: Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. *Sports Med*. 2001; 31(11): 785-807.
 - 56)Habscheid W, Abele U, Dahm HH: Severe cholestasis with kidney failure from anabolic steroids in a body builder *Dtsch Med Wochenschr* 1999; 124(36): 1029-32.
 - 57)Huenerbein A, Sipoli Marques MA, Pereira Ados S, de Aquino Neto FR: Improvement in steroid screening for doping control with special emphasis on stanozolol. *J Chromatogr A*. 2003; 985(1-2): 375-86.
 - 58)Husted S, Andreasen F: Problems encountered in long-term treatment with anticoagulants. *Acta Med Scand*. 1976; 200(5): 379-84.
 - 59)Jefferson JW: Lithium tremor and caffeine intake: two cases of drinking less and shaking more. *J Clin Psychiatry* 1988; 49:72-73.
 - 60)Kicman AT & Gower DB: Anabolic steroids in sport: biochemical, clinical and analytical perspectives. *Ann Clin Biochem*. 2003; 40(Pt 4):321-56.
 - 61)King DS, Sharp RL, Vukovich MD, Brown GA, Reifenrath TA, Uhl NL, Parsons KA: Effect of oral androstenedione on serum testosterone and adaptations to resistance training in young men: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999 2; 281(21): 2020-8.
 - 62)Klimek A: Use of testosterone in the treatment of cluster headache. *Eur Neurol* 1985; 24(1): 53-6.
 - 63)Kohler RM, Lambert MI: Urine nandrolone metabolites: false positive doping test? *Br J Sports Med* 2002; 36(5): 325-9.
 - 64)Lasne F, Martin L, Crepin N, de Ceaurriz J: Detection of isoelectric profiles of erythropoietin in urine: differentiation of natural and administered recombinant hormones. *Anal Biochem*. 2002; 15; 311(2): 119-26.
 - 65)Laure P, Binsinger C, Lecerf T: General practitioners and doping in sport: attitudes and experience. *Br J Sports Med*. 2003; 37(4): 335-8.
 - 66)Leder BZ, Longcope C, Catlin DH, Ahrens B, Schoenfeld DA, Finkelstein JS: Oral androstenedione administration and serum testosterone concentrations in young men. *JAMA* 2000; 283(6): 779-82.
 - 67)MacDougall IC, Hutton RD, Cavill L et al: Poor response to treatment of renal anaemia with erythropoietin corrected by iron given intravenously. *Br Med J* 1989; 299:157-158.

- 68)Macdougall IC: An overview of the efficacy and safety of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:14-21.
- 69)Macdougall IC: Novel erythropoiesis stimulating protein. *Semin Nephrol* 2000; 20(4):375-381
- 70)Miyake M, Grinberg OY, Hou H, Steffen RP, Elkadi H, Swartz HM: The effect of RSR13, a synthetic allosteric modifier of hemoglobin, on brain tissue pO₂ (measured by EPR oximetry) following severe hemorrhagic shock in rats. *Adv Exp Med Biol.* 2003; 530: 319-29.
- 71)Nieschlag E, Cueppers HJ, Wiegelman W et al: Bioavailability and LH-suppressing effect of different testosterone preparations in normal and hypogonadal men. *Hormone Res* 1976; 7:138-145
- 72)Olin B (ed): *Facts and Comparisons*. JB Lippincott Co, St Louis, MO, 1990
- 73)Olivardia R, Pope HG Jr, Hudson JI: Muscle dysmorphia in male weightlifters: a case-control study. *Am J Psychiatry.* 2000;157(8):1291-6.
- 74)Paranka N: Hemoglobin Modifiers: Is RSR13 the Next Aerobic Enhancer ? ISLH XIVth International Symposium, Special Workshop "Blood Doping in Sports and Detection Strategies" 2001.
- 75)Pasquali R, Cesari MP, Besteghi L et al: Thermogenic agents in the treatment of human obesity: preliminary results. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1987; 11(suppl 3):23-26.
- 76)Pelissier-Alicot AL, Leonetti G: Growth hormone and doping. *Ann Biol Clin (Paris).* 2003; 61(1): 41-8.
- 77)Petroczi A: "The good, the bad and the ugly: Morals, doping and drugs in three cultures" (presentation, 11th E.A.S.M. Congress, Stockholm Set 10-13 2003)
- 78)Pipe A & Ayotte C: Nutritional supplements and doping. *Clin J Sport Med.* 2002; 12(4): 245-9.
- 79)Prendergast HM, Bannen T, Erickson TB, Honore KR: The toxic torch of the modern Olympic Games. *Vet Hum Toxicol.* 2003; 45(2): 97-102.
- 80)Product Information: Depo-Testosterone(R), testosterone cypionate. Pharmacia & Upjohn Co, Kalamazoo, MI, (PI revised 8/99) reviewed 2/2000
- 81)Reynolds JEF (ed): *Martindale: The Extra Pharmacopoeia* (electronic version). Micromedex, Inc, Denver, CO, 1991-2003
- 82)Rivier L., Criteria for the identification of compounds by liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-multiple mass spectrometry in forensic toxicology and doping analysis; *Analytica Chimica Acta* 492 (2003) 69-82

- 83)Robinson N, Saugy M, Mangin P: Effects of exercise on the secondary blood markers commonly used to suspect erythropoietin doping. Clin Lab. 2003; 49(1-2):57-62.
- 84)Savino G, Tripi F, Ferrari A, Pasciullo G, Bertolini A, Sternieri E: Clean Telephone", an italian Telephone advice and information Service on Doping Agents and frequently used substances in sport practice. Activity Report. (Presentation, 11th E.A.S.M. Congress, Stockholm Sep 10-13 2003).
- 85)Shekelle PG, Hardy ML, Morton SC, Maglione M, Mojica WA, Suttorp MJ, Rhodes SL, Jungvig L, Gagne J: Efficacy and safety of ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance: a meta-analysis. JAMA. 2003; 289(12): 1537-45
- 86)Steffen RP, Liard JF, Gerber MJ, Hoffman SJ: Allosteric modification of hemoglobin by RSR13 as a therapeutic strategy. Adv Exp Med Biol 2003; 530:249-59.
- 87)Ueno H, Pospischil MA, Manning JM: Methyl acetyl phosphate as a covalent probe for anion-binding sites in human and bovine hemoglobins. J Biol Chem 1989; 25;264(21):12344-51.
- 88)Vandenbergh K, Van Leemputte M et al: Caffeine counteracts the ergogenic action of muscle creatine loading. J Appl Physiol 1996; 80(2):452-457.
- 89)Varlet-Marie E, Gaudard A, Audran M, Bressolle F : Pharmacokinetics/pharmacodynamics of recombinant human erythropoietins in doping control. Sports Med. 2003; 33(4): 301-15.
- 90)Veneri RJ & Gordon SC: Anabolic steroid-induced cholestasis: choleretic response to corticosteroids (letter). J Clin Gastroenterol 1988; 10:467-468.
- 91)Wennig R: Potential problems with the interpretation of hair analysis results. Forensic Science International 2000; 107: 5-12
- 92)Werner W, Berendonk F, Berendonk B: Hormonal doping and androgenization of athletes: a secret program of the German Democratic Republic Government. Clinical Chemistry 1997; 43:7: 1262-1279.
- 93)Williams MH & Branch JD: Creatine supplementation and exercise performance: an update. J Am Coll Nutr 1998; 17(3):216-234.
- 94)www.sportpro.it

Ringraziamenti

Ringrazio i miei genitori Sergio e Aida e mio fratello Alberto per aver creduto nelle mie scelte e per aver sostenuto con me le difficoltà e la distanza in questi anni di studio.

Ringrazio il Prof. Alfio Bertolini per tutti i suoi suggerimenti, per la paziente revisione di questo lavoro e per avermi offerto la possibilità di dedicare il tempo necessario all'approfondimento dello studio della farmacologia delle sostanze dopanti, al fenomeno del doping ed alle attività promosse dal Progetto Tallone d'Achille, collateralmente agli impegni di frequenza e studio nel corso della mia formazione specialistica

Ringrazio il Prof. Emilio Sternieri per avermi proposto di collaborare al Progetto Tallone d'Achille e per avermi chiesto di coordinare il Servizio di consulenza "Telefono Pulito", inoltre per aver messo a mia disposizione la sua esperienza in materia di doping ed il materiale scientifico raccolto nel corso della sua attività di membro della Commissione Antidoping del C.O.N.I. e di consulente per il P.M. Raffaele Guariniello.

Ringrazio la Dott.ssa Anna Ferrari per aver sostenuto il mio entusiasmo e l'impegno profuso nelle mie ricerche e per aver collaborato alla stesura dei lavori scientifici in materia di doping pubblicati e presentati nel corso di questi anni

Un ringraziamento particolare va al dott. Ferdinando Tripi, direttore del Servizio di Medicina Sportiva, ideatore del Progetto Tallone d'Achille, preziosa guida e "compagno di viaggio", per il suo sostegno, per aver creduto in me e per avermi permesso di esprimere e comunicare il risultato dei miei studi e delle mie ricerche in ambito farmacologico anche nel contesto della Medicina Sportiva e nel corso degli incontri con le Scuole e le Società Sportive del Territorio Modenese.

Ringrazio il Dott. Daniele Bindo, l'Assessore alla Cultura e Sport Prof. Mario Lugli, il Dott. PierGiorgio Passini della Provincia di Modena, L'Assessore allo Sport del Comune di Modena Dott. Raffaele Candini, ed il Ten. Sabato Simonetti, comandante dei NAS di Parma, per aver sostenuto il mio lavoro.

Ringrazio il Direttore ed i docenti della Scuola di Farmacologia Clinica per il supporto scientifico e formativo alla mia preparazione specialistica.

Ringrazio la Prof.ssa Anna Valeria Vergoni, la Prof.ssa Rossana Arletti e la Prof.ssa Augusta Benelli per aver contribuito alla mia formazione nel campo della Farmacologia Sperimentale nel corso dei primi anni della mia preparazione specialistica.

Ringrazio il personale tecnico e gli amici della Farmacologia: Antonella, Antonio, Claudio, Monica e Stefano per la loro disponibilità.

Ringrazio la Dott.ssa Nives Castellana e il Dott. Diego Pinetti per le utilissime delucidazioni circa il funzionamento delle apparecchiature e le metodiche di Tossicologia Sperimentale.

Ringrazio i colleghi e gli amici: Alfredo Barbieri, Arrigo Cicero, Benedetta Degl'Antoni, Carla Bazzani, Carolina Ciacci, Ciro Coccia, Claudio Costanzini, Corrado Orienti, Daria Brovia, Davide Catellani, Davide Fregni, Domenico Andria, Domenico Cuzzola, Donatella Crinò, Elena Molinaroli, Elisa Sala, Francesca Naddeo, Gabriella Pasciullo, Ginevra Zandomeneghi, Giorgio Gibertoni, Giovanni Vitale, Giuseppe D'Ambrosio, Giuseppe Ferrazza, Giuseppe & Annarita Gianfredi, Lelio Luzzi, Lisa & Maria Gibertoni, Lorella Faraoni, Luca Annunziata & Adele Maglieri, Maria Pia Del Giorno, Marco Amendolara, Maria Michela Cainazzo, Marica Cannone, Mario Grosoli, Mario & Annamaria Pivetta, Maurizio Bettelli, Maurizio Galdieri, Maurizio & Maria Imperato, Michele Saracino, Nadia Marzocchi, Nicola Ferro, Paolo Cremonini, Paolo Sciarillo, Pietro Aveta, Riccardo Giovannetti, Renato Costarella, Renato Milone, Rita Romano, Roberto Bursi, Rosario Tedesco, Sabrina Saltini, Sabrina Severi, Sandro Capasso, Sergio Bezzanti e Sheila Leone per la loro collaborazione, per aver reso piacevole il mio lavoro e per l'affetto dimostratomi nel corso di questi quattro anni.

Un grazie davvero speciale alle mie Amiche, Sorelle e Compagne di viaggio Paola e Valentina.