



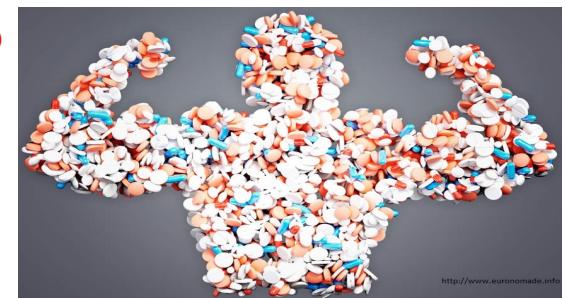
**I webinar di Enpab
Empowerment
della
professione**

IL DOPING SPORTIVO

**Dott. Luigi Sabbatella
Biologo Laboratorista e Forense
Consulente Tecnico per la Tossicologia Forense**

DOPING

Uso di una o più sostanze o di pratiche mediche, da parte di un atleta, a scopo non terapeutico, ma finalizzato al miglioramento dell'efficienza psicofisica durante una prestazione sportiva



Etimologia:

“Doping” viene dal verbo inglese “*to dope*” (sommministrare stimolanti)

Prima menzione nel 1889 ad indicare una mistura a base di oppio, altri narcotici e tabacco somministrata a cavalli da corsa in Nord America per migliorarne le prestazioni sportive

Origine:

“**Dop**”, che nella lingua dei Cafri dell’Africa precoloniale indicava una bevanda alcolica con proprietà stimolanti bevuta in occasione di feste religiose. Il termine sarebbe stato importato in Europa ad indicare diverse bevande con proprietà stimolanti

“**Doop**”, termine olandese con il significato di “salsa densa”, utilizzato per indicare un miscuglio di sostanze energetiche ingerito dai marinai prima di affrontare una tempesta sull’oceano. Il termine sarebbe diventato di uso comune nello slang americano per indicare una bevanda a base di tabacco e stramonio con cui i rapinatori drogavano le proprie vittime

Fino al 1889 la parola “*dope*” veniva utilizzata per indicare una sostanza densa e viscosa a base di oppio da fumare, mentre successivamente iniziò ad essere usata per indicare una qualsiasi sostanza ad azione narcotico-stupefacente

Nella lingua francese il verbo “*doper*” presenta assonanza con “*duper*” che significa “imbrogliare, raggirare”

CENNI STORICI

Tempi antichi

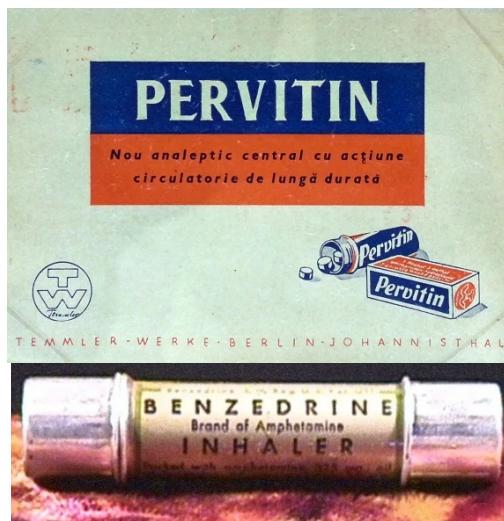
Galen, già nel III secolo a.C., descriveva l'uso di preparati con effetti stimolanti da parte di atleti greci per migliorare le prestazioni sportive

Gli atleti dell'antica Roma erano soliti mangiare differenti tipi di carne in base alla disciplina sportiva praticata, con la convinzione che le qualità dell'animale consumato si trasferissero all'atleta



XIX secolo

Descritto uso occasionale di caffeina, stricnina, etere e alcool da parte di atleti



Il guerra mondiale

Uso/abuso frequente di amfetamine da parte degli eserciti per migliorare lo stato di veglia e la reattività psico-fisica

Ai soldati della Wehrmacht venivano somministrate dosi massicce di metamfetamina (*Pervitin*®), sintetizzata dal medico Fritz Hauschild nel 1937, rimasto molto colpito dagli effetti delle benzedrine sugli atleti americani alle Olimpiadi di Berlino del 1936. Gli Alleati rispondevano con l'utilizzo di *Benzedrine*®, un mix di amfetamine da inalare

Decennio 1940-1950

Abuso sociale di amfetamine

Si diffonde l'utilizzo a scopo di doping in discipline sportive soprattutto di durata e fatica

CENNI STORICI

Anni '60

Inizia l'uso massivo di farmaci nello sport, soprattutto anabolizzanti (olimpiadi di Tokyo del 1964)

1963: in Francia viene varata la prima legislazione nazionale anti-doping

1967: viene creata la commissione medica del C.I.O., in seguito alla morte del ciclista Tom Simpson durante una tappa del Tour de France, per abuso di amfetamine

1968: la commissione medica del C.I.O. definisce il doping e presenta una prima lista di sostanze proibite
Con le olimpiadi di Città del Messico iniziano i test anti-doping sugli atleti

Dagli anni '80 ai giorni nostri

1989: convenzione di Strasburgo del consiglio d'Europa contro il doping

1998-1999: numerosi casi di doping soprattutto nel calcio e nel ciclismo

**1999: in accordo tra il C.I.O. e l'U.E. viene istituita l'Agenzia Internazionale Anti-Doping
(World Anti-Doping Agency o WADA)**

**Nel 2000 la WADA vara l'*Action Plan Against Drugs 2000-2004* che include obiettivi
nella lotta al doping sportivo**

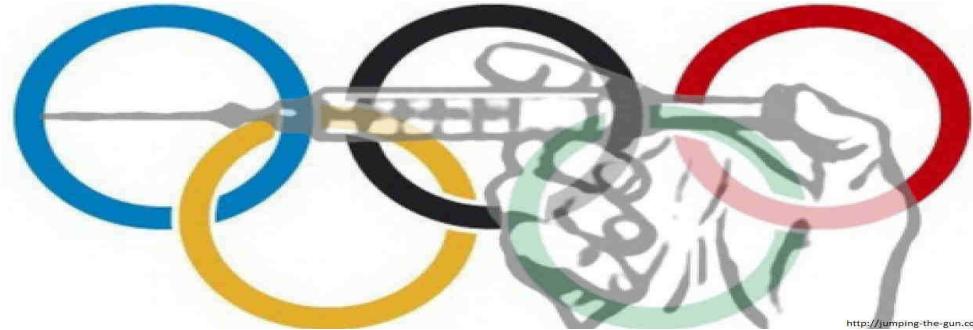


DEFINIZIONI

Definizione Comitato Olimpico Internazionale (C.I.O.) 1968

“Doping is the use by athletes of banned substances or methods that may enhance performance”

(Il doping è l'utilizzo, da parte degli atleti, di sostanze o metodi che possono migliorarne le prestazioni)



Definizione Legge 14 dicembre 2000 n. 376

(Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping)

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 psicofisiche o biologiche dell'organismo al fine di alterare le prestazioni agonistiche degli atleti”

WORLD ANTI-DOPING AGENCY (W.A.D.A.)

Istituita nel 1999 come agenzia internazionale indipendente composta in misura equivalente da esponenti dei movimenti sportivi e governativi

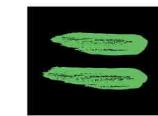
Obiettivi fondamentali:

Lotta contro il doping e protezione della salute degli atleti
Informazione e prevenzione
Definizione lista univoca delle sostanze e dei metodi proibiti
Definizione chiara ed univoca di doping
Standardizzazione delle metodologie
Salvaguardia della credibilità dell'anti-doping
Coordinamento internazionale

→ Il *World Anti-Doping Code* è il documento fondamentale che armonizza le politiche anti-doping in tutti gli sport ed in tutti i paesi

Il "Code" attualmente in vigore è stato emesso nel 2015, nel novembre 2019 è stato emesso il "Revised 2021 World Anti-Doping Code" che sarà effettivo a partire dal 1° gennaio 2021

La lista delle sostanze e dei metodi proibiti viene aggiornata annualmente in gennaio



**WORLD
ANTI-DOPING
AGENCY**
play true

<https://www.wada-ama.org/>

Principali attività:

Sviluppo delle attività antidoping a livello internazionale
Ricerca scientifica
Creazione, sviluppo e implementazione continua del codice mondiale anti-doping (world anti-doping code)

Dal sito ufficiale <https://www.wada-ama.org/>
"Our vision: a world where all athletes can compete in a doping-free sporting environment"

IL CODICE WADA

Documento fondamentale ed universale su cui è basato il programma mondiale antidoping

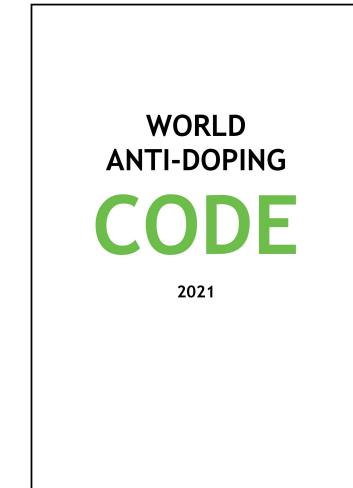
Armonizza regole e procedure precedentemente variabili da un paese all'altro e da una disciplina sportiva all'altra

Definisce il doping, enuncia le responsabilità dei soggetti coinvolti e stabilisce le disposizioni che ne costituiscono violazione:

- Accertamento di una sostanza o di un metodo proibito
- Uso o tentato uso di una sostanza o di un metodo proibito
- Violazione dell'obbligo di notifica dei luoghi di permanenza e reperibilità
- Manomissione o tentativo di manomissione delle procedure di controllo
- Possesso e/o commercio di sostanze vietate da parte dell'atleta o del personale a supporto
- Somministrazione o tentata somministrazione di sostanze proibite

Stabilisce gli standard internazionali del programma mondiale anti-doping

- Lista delle sostanze vietate e dei metodi proibiti
- Standard per le esenzioni a fini terapeutici
- Standard per le modalità di esecuzione dei controlli anti-doping
- Standard per i laboratori anti-doping
- Criteri di protezione della privacy e delle informazioni personali



→ La mancata ratifica, adozione ed applicazione del Codice WADA da parte di un governo, comitato o federazione sportiva nazionale, sancisce l'esclusione di tale nazione dall'organizzazione di eventi sportivi internazionali sul proprio territorio

LEGISLAZIONE ITALIANA

Legge 14 dicembre 2000 n.376

Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping

Naturale evoluzione della legge 522/1995 (Ratifica ed esecuzione della convenzione europea contro il doping di Strasburgo del 16 novembre 1989)

Finalità principale: promuovere la salute individuale e collettiva nel rispetto dei principi etici e dei valori educativi richiamati dalla convenzione di Strasburgo (art. 1 c. 1)



Definisce sostanze e metodi proibiti e criteri di esenzione terapeutica (art. 1 c. 2, 3, 4)

Stabilisce le classi delle sostanze e dei metodi dopanti e ne stabilisce i criteri di aggiornamento (art. 2)

Stabilisce le commissioni di controllo e vigilanza ed i laboratori autorizzati ai controlli (artt. 3 e 4)

Definisce le disposizioni penali relative e le relative sanzioni correlate al doping (art. 9)

LEGISLAZIONE ITALIANA

Legge 14 dicembre 2000 n.376

Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping

→ Introduce il reato di Doping Sportivo

Ai sensi della legge 376/2000 (art. 9) assumere, procurare, somministrare o favorire l'uso di sostanze dopanti, nonché il tentativo di alterazione dei controlli anti-doping, divengono reati penalmente perseguitibili e punibili con la reclusione da 3 mesi a 3 anni, oltre a sanzioni pecuniarie accessorie (multe da 5 a 100 milioni di lire)

Aggravanti previste in caso di danno per la salute, fatto commesso su minore o fatto commesso da un membro di CONI, federazione o società sportiva o esercente professione sanitaria



Chiunque commerci sostanze vietate a scopo di doping attraverso canali diversi dalle farmacie è punito con la reclusione da 2 a 6 anni e multe da 5164.57 a 77468.58 €

LEGISLAZIONE ITALIANA

Il D.M. Salute 24 settembre 2003 impone l'inclusione sull'imballaggio esterno delle confezioni di medicinali che contengano sostanze vietate per doping di un pittogramma che lo evidenzi

Sulla base degli aggiornamenti della lista delle sostanze proibite revisionata e pubblicata annualmente dalla WADA, viene eseguita, con D.M., la revisione della lista dei farmaci, delle sostanze biologicamente attive e delle pratiche mediche il cui impiego è considerato doping ai sensi della legge 376/2000



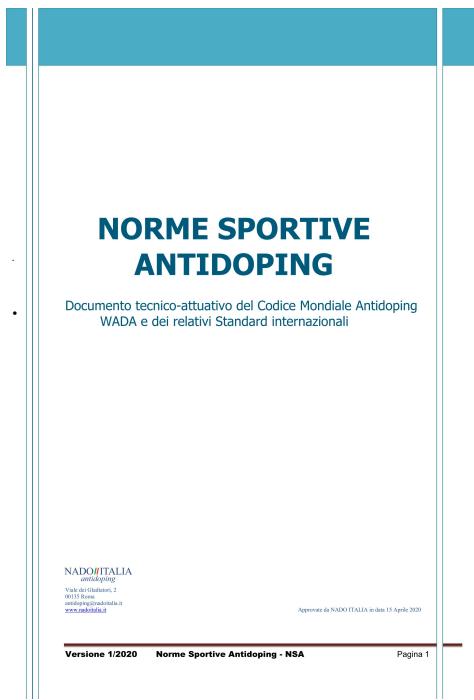
L'ultimo aggiornamento attualmente in vigore è quello del D.M. Salute 11 giugno 2019

Il D.Lgs 21/2018, in vigore dal 6 aprile 2018, ha introdotto nel c.p. l'art. 586-bis (utilizzo o somministrazione di farmaci o di altre sostanze al fine di alterare le prestazioni agonistiche degli atleti)

GIUSTIZIA SPORTIVA: LE NORME SPORTIVE ANTIDOPING

Le Norme Sportive Antidoping (NSA) costituiscono il documento tecnico-attuativo del Codice Mondiale Antidoping WADA e dei relativi standard internazionali

Vengono emanate periodicamente da NADO Italia (*National Anti-Doping Agency*) e sono sottoposte a regolari revisioni e aggiornamenti



Attualmente sono in vigore le NSA versione 1-2020, operative dal 15 aprile 2020

NADO Italia, con sede in Roma, è una derivazione funzionale della WADA costituita in virtù della Legge 26 novembre 2007 n. 230 ed è sottoposta a vigilanza e verifica puntuale da parte della stessa WADA

NADO Italia è diretta da un presidente ed articolata nei seguenti organismi:

Comitato Controlli Antidoping (CCA): addetto alla predisposizione del Piano Controlli Antidoping (TDP) ed alla sua effettuazione

Comitato per le Esenzioni ai Fini Terapeutici (CEFT)

Procura Nazionale Antidoping (PNA), cui competono la gestione dei risultati nonché l'accertamento delle responsabilità delle violazioni delle NSA

Tribunale Nazionale Antidoping (TNA), articolato in due sezioni e competente a giudicare le violazioni delle NSA

GIUSTIZIA SPORTIVA: CONTROLLI E SANZIONI

Esecuzione dei controlli antidoping:

Per l'esecuzione dei controlli antidoping NADO Italia si avvale

- degli Ispettori Medici qualificati della Federazione Medico Sportiva Italiana (FMSI) per il campionamento
- del Laboratorio Antidoping di Roma, unico accreditato WADA sul territorio nazionale, per l'esecuzione delle analisi

Sanzioni sportive:

Applicate in conseguenza della violazione delle NSA

Sono di tenore variabile in base alla tipologia della violazione, ad eventuali attenuanti e/o aggravanti ed alla recidività

Comprendono:

- l'invalidazione dei risultati ottenuti (comprensiva della perdita di eventuali medaglie, punti e/o premi)
- la sospensione cautelare dall'attività sportiva e la squalifica per tempi variabili tra i 6 mesi e gli 8 anni
- la squalifica a vita e/o la radiazione nei casi più gravi e/o recidivi



DEFINIZIONE WADA

Per doping si intende il verificarsi di una o più violazioni delle norme previste dal codice (*World Anti-Doping Code, art. 1*):

- La presenza di una sostanza vietata o dei suoi metaboliti o marcatori in un campione biologico dell'atleta
- L'uso o il tentato uso di una sostanza vietata o di un metodo proibito
- La manomissione o tentata manomissione, in relazione a qualsiasi fase, dei controlli antidoping
- Il rifiuto o l'omissione di presentarsi al controllo antidoping, il possesso di sostanze vietate e il traffico delle stesse

Una sostanza "proibita" deve possedere almeno due di questi tre requisiti:

- deve potenziare la performance sportiva
- deve rappresentare un rischio per la salute dell'atleta
- deve violare lo spirito etico del Codice

La WADA redige e revisiona, con cadenza almeno annuale, la lista che definisce quali siano le sostanze e i metodi proibiti ("Prohibited List")

Dal 1 gennaio 2020 è in vigore la lista 2020, disponibile online da agosto 2019



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

This List shall come into effect on 1 January 2020

LA “LISTA” WADA 2020

SOSTANZE E METODI SEMPRE PROIBITI (IN E FUORI COMPETIZIONE)

SOSTANZE PROIBITE

S0 Sostanze non approvate

S1 Agenti anabolizzanti

S2 Ormoni peptidici, fattori di crescita, sostanze correlate e mimetici

S3 Beta-2 agonisti

S4 Modulatori ormonali e metabolici

S5 Diuretici e agenti mascheranti

METODI PROIBITI

M1 Manipolazione del sangue e dei componenti del sangue

M2 Manipolazione fisica e chimica

M3 Doping genetico e cellulare

SOSTANZE E METODI PROIBITI IN COMPETIZIONE

SOSTANZE PROIBITE

S6 Stimolanti

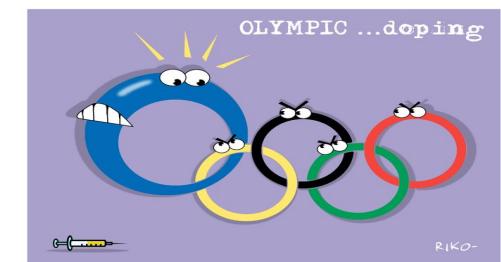
S7 Narcotici

S8 Cannabinoidi

S9 Glucocorticosteroidi

SOSTANZE PROIBITE SOLO IN PARTICOLARI SPORT

P1 Beta-bloccanti



SOSTANZE SEMPRE PROIBITE: SO SOSTANZE NON APPROVATE

SO Sostanze non approvate

Qualsiasi sostanza ad azione farmacologica non compresa nelle altre sezioni della Lista il cui uso non sia stato approvato dalle autorità sanitarie governative o di regolamentazione per l'uso terapeutico umano è SEMPRE proibita

Per sostanze non approvate si intendono:

- farmaci in fase di sviluppo pre-clinico o clinico**
- farmaci non più autorizzati**
- farmaci in fase di sviluppo**
- sostanze autorizzate solo per uso veterinario**
- designer drugs**



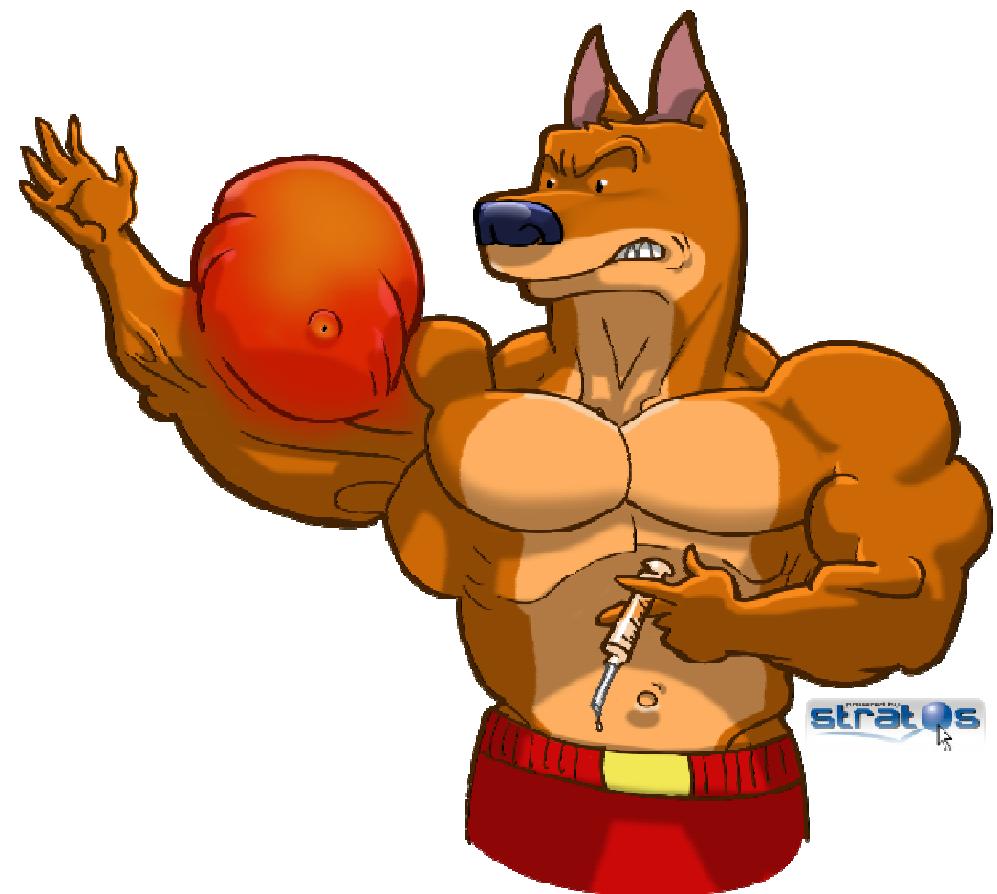
DOPING ORMONALE

S1 Agenti anabolizzanti

S2 Ormoni peptidici, fattori di crescita, sostanze correlate e mimetici

S3 Beta-2 agonisti

S4 Modulatori ormonali e metabolici



SOSTANZE SEMPRE PROIBITE: S1 AGENTI ANABOLIZZANTI

S1 Agenti anabolizzanti

→ Gli agenti anabolizzanti sono proibiti

1. Steroidi anabolizzanti androgeni (AAS)

proibiti quando somministrati per via esogena, inclusi, ma non limitati a:

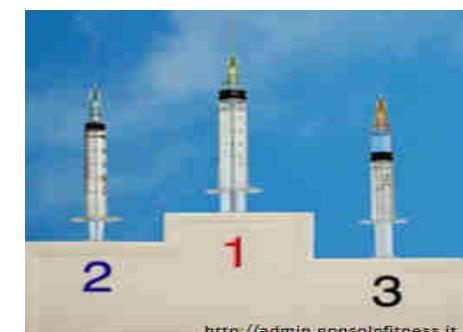
1-Androstenediol (5α-androst-1-ene-3β,17β-diol); 1-Androstenedione (5α-androst-1-ene-3,17-dione); 1-Androsterone (3α-hydroxy-5α-androst-1-ene-17-one); 1-Epiandrosterone (3β-hydroxy-5α-androst-1-ene-17-one); 1-Testosterone (17β-hydroxy-5α-androst-1-en-3-one); 4-Androstenediol (androst-4-ene-3β,17β-diol); 4-Hydroxytestosterone (4,17β-dihydroxyandrost-4-en-3-one); 5-Androstenedione (androst-5-ene-3,17-dione); 7α-hydroxy-DHEA; 7β-hydroxy-DHEA; 7-Keto-DHEA; 19-Norandrostenediol (estr-4-ene-3,17-diol); 19-Norandrostenedione (estr-4-ene-3,17-dione); Androstanolone (5α-dihydrotestosterone, 17β-hydroxy-5α-androstan-3-one); Androstenediol (androst-5-ene-3β,17β-diol); Androstenedione (androst-4-ene-3,17-dione); Bolasterone; Boldenone; Boldione (androsta-1,4-diene-3,17-dione); Calusterone; Clostebol; Danazol ([1,2]oxazolo[4',5':2,3]pregna-4-en-20-yn-17α-ol); Dehydrochlormethyltestosterone (4-chloro-17β-hydroxy-17α-methylandrosta-1,4-dien-3-one); Desoxymethyltestosterone (17α-methyl-5α-androst-2-en-17β-ol and 17α-methyl-5α-androst-3-en-17β-ol); Drostanolone; Epiandrosterone (3β-hydroxy-5α-androstan-17-one); Epi-dihydrotestosterone (17β-hydroxy-5β-androstan-3-one); Epitestosterone; Ethylestrenol (19-norpregna-4-en-17α-ol); Fluoxymesterone; Formebolone; Furazabol (17α-methyl[1,2]oxadiazolo[3',4':2,3]-5α-androstan-17β-ol); Gestrinone; Mestanolone; Mesterolone; Metandienone (17β-hydroxy-17α-methylandrosta-1,4-dien-3-one); Metenolone; Methandriol; Methasterone (17β-hydroxy-2α,17α-dimethyl-5α-androstan-3-one); Methyl-1-testosterone (17β-hydroxy-17α-methyl-5α-androst-1-en-3-one); Methylclostebol; Methyldienolone (17β-hydroxy-17α-methylestra-4,9-dien-3-one); Methylnortestosterone (17β-hydroxy-17α-methylestr-4-en-3-one); Methyltestosterone; Metribolone (methyltrienolone, 17β-hydroxy-17α-methylestra-4,9,11-trien-3-one); Mibolerone; Nandrolone (19-nortestosterone); Norboletone; Norclostebol (4-chloro-17β-ol-estr-4-en-3-one); Norethandrolone; Oxabolone; Oxandrolone; Oxymesterone; Oxymetholone; Prasterone (dehydroepiandrosterone, DHEA, 3β-hydroxyandrost-5-en-17-one); Prostanazol (17β-[(tetrahydropyran-2-yl)oxy]-1'H-pyrazolo[3,4:2,3]-5α-androstane); Quinbolone; Stanozolol; Stenbolone; Testosterone; Tetrahydrogestrinone (17-hydroxy-18α-homo-19-nor-17α-pregna-4,9,11-trien-3-one); Trenbolone (17β-hydroxyestr-4,9,11-trien-3-one);

e altre sostanze con simile struttura chimica o simile/i effetto/i biologico/i

2. Altri steroidi anabolizzanti

includono ma non sono limitati a:

Clenbuterolo, modulatori selettivi del recettore degli androgeni (SARM, ad es. Andarina, LGD-4033 (Ligandrol), Enonbosarm (Ostarine) e RAD140), Tibolone, Zeranolo e Zilpaterolo



STEROIDI ANABOLIZZANTI ANDROGENI (AAS)

Famiglia di farmaci ad attività ormonale costituita fondamentalmente da derivati sintetici del testosterone

Il testosterone può essere considerato come il capostipite degli AAS

La sua produzione endogena è regolata dall'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, stimolata dal rilascio di ormoni follicolostimolante (FSH) e luteinizzante (LH) e controllata, con un meccanismo di feedback negativo, dai suoi metaboliti estrogeni (principalmente il 17 β -Estradiolo o E2)

La produzione endogena del Testosterone segue un ritmo circadiano pulsatile, con livelli più elevati al risveglio e minori alla sera



L'attività fisica acuta causa aumento dei livelli di Testosterone, l'attività fisica cronica senza recupero e l'overtraining ne causano, invece, diminuzione

Per ogni molecola di Testosterone endogeno sintetizzata in vivo, ne viene sempre sintetizzata anche una del suo epimero inattivo dal punto di vista farmacologico Epitestosterone

AAS: METABOLISMO ED EFFETTI

METABOLISMO DEL TESTOSTERONE NELL'UOMO

- La maggior parte del Testosterone circola in forma inattiva coniugato a proteine (albumina e SHBG)
- Solo circa il 2% di tutti gli androgeni circolanti è in forma libera, quindi attiva
- Circa il 10% del Testosterone libero (responsabile degli effetti anabolizzanti) viene metabolizzato dalla 5- α reduttasi in Dihidrotestosterone (DHT), responsabile degli effetti virilizzanti
- Circa lo 0.1% del Testosterone libero viene convertito dall'aromatasi in 17 β -Estradiolo (ormone estrogeno, responsabile di effetti comportamentali e del feedback negativo sull'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi)

AAS sono utilizzati in terapia nelle patologie da insufficiente produzione (ipogonadismo) o, a dosaggi molto più elevati (non meno di 20-40 volte quelli terapeutici), a scopo di doping

Effetti:

- **Anabolizzanti:** stimolo della sintesi proteica in seguito a legame con recettori specifici
- **Anticatabolici:** inibizione degli effetti catabolici dei glucocorticoidi per competizione recettoriale
- **Spostamento dell'equilibrio dell'azoto:** aumento della ritenzione di azoto e suo utilizzo per la sintesi proteica
- **Androgenici:** favoriscono lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari maschili



→ **Per gli usi a scopo di doping sportivo la “ricerca” è orientata alla sintesi di molecole con maggiori effetti anabolizzanti e minori effetti androgenici (esempio classico è il Tetraidrogestrinone o THG)**

AAS: USO A SCOPO DI DOPING

Assunzione di AAS a scopo di doping

- **Via orale o iniettiva**

via orale preferita ove possibile, maggiore efficacia, ma effetti tossici epatici più marcati
eliminazione dopo assunzione per via orale più rapida

- **In base a protocolli empirici (sommministrazione piramidale)**

in genere in “cicli” di 6-8 settimane con aumento progressivo dei dosaggi fino ad un picco, per poi diminuire a scalare nell'imminenza della gara
al ciclo segue un periodo di astinenza variabile, per poi ricominciare con il ciclo successivo

Spesso si osserva uso contemporaneo di più AAS (per evitare fenomeni di tolleranza)
associati ad altre sostanze, sia per potenziarne gli effetti (HCG, LH, ACTH), che per
mascherarne l'uso (diuretici) o diminuirne gli effetti collaterali (antiestrogeni)

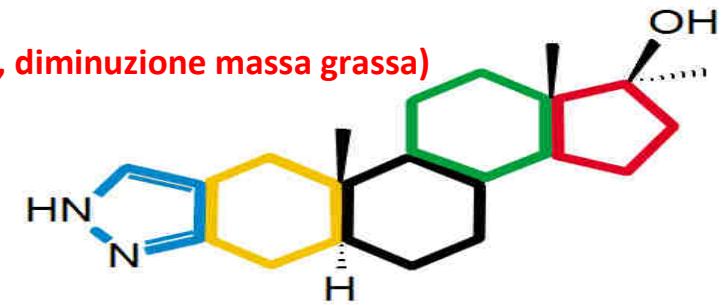
HCG è spesso somministrato subito dopo gli AAS per stimolare la produzione di Testosterone
endogeno soppressa dall'assunzione cronica di AAS esogeni



STEROIDI ANABOLIZZANTI ANDROGENI

Effetti ricercati a scopo di doping:

- Anabolizzanti (aumento massa corporea, aumento massa e forza muscolare, diminuzione massa grassa)
- Riduzione dei tempi di recupero
- Induzione di comportamenti “aggressivi” e di maggiore competitività
- Stimolo dell'eritropoiesi



<http://www.totalflexblog.com/olympic-stanozolol.png>

Effetti collaterali

- **Cardiovascolari:** ipervolemia, ipertensione, cardiomiopatia, aumento trigliceridi e colesterolo LDL, diminuzione colesterolo HDL ed aumentata aggregazione piastrinica, con aumento del rischio di coronaropatia ed eventi trombotici
- **Epato-renali:** ritenzione idrico-salina, ittero, carcinomi
- **Metabolici:** ridotta tolleranza glucidica e maggiore tendenza al diabete
- **Muscolo-tendinei:** indebolimento, maggiore predisposizione alle lesioni (sviluppo muscolare non sostenuto da un corrispondente sviluppo delle strutture di sostegno e connessione)
- **Cutanei:** acne, seborrea, calvizie, irtsutismo
- **Sessuali:** sterilità, calo della libido, ginecomastia negli uomini, mascolinizzazione nelle donne
- **Psico-comportamentali:** euforia, aggressività, depressione, in alcuni casi craving e dipendenza psichica

STEROIDI ANABOLIZZANTI ANDROGENI

Gli AAS rappresentano una delle classi di farmaci maggiormente abusate nello sport

Il loro metabolismo e le tempistiche di rilevazione nei fluidi biologici sono in buona parte noti

La tipologia di assunzione a scopo di doping (sommministrazione piramidale) ne rende complicata la determinazione di laboratorio, soprattutto fuori competizione

→ **Un campione biologico viene considerato positivo per un AAS di produzione endogena quando la concentrazione dei suoi metaboliti o marcatori differisce dai valori normalmente presenti nell'uomo in maniera tale da potere considerare improbabile che sia compatibile con una produzione endogena**



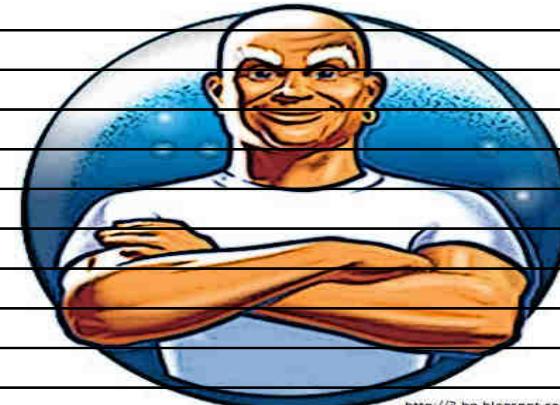
→ **Un campione biologico viene considerato positivo per un AAS esogeno in ogni caso e per qualsiasi concentrazione, quando vi è riscontro analitico di positività ottenuto sulla base di una metodica analitica affidabile**

Un campione biologico non deve essere considerato come contenente una sostanza proibita qualora l'atleta fornisca prova che i risultati rilevati siano attribuibili ad una sua propria situazione fisiologica o patologica

http://static.dnaindia.com

TEMPI MEDI DI RILEVAMENTO PER GLI AAS PIÙ DIFFUSI

BOLDENONE UNDECILENATO (<i>Ultragan 1000, Maxigan, Ganabol, Equipoise, Equigan</i>)	4-5 mesi
CLENBUTEROLO (<i>Novegam, Oxyflux, Monores</i>)	4-5 giorni
FLUOSSIMESTRONE (<i>Stenox, Halotestin</i>)	2 mesi
MESTEROLONE (<i>Proviron</i>)	5-6 settimane
METANDIENONE iniettabile (<i>Dianabol, D-Bol</i>)	5 mesi
METANDIENONE orale (<i>Dianabol Oral, D-Bol Oral</i>)	5-6 settimane
METENOLONE ENANTATO iniettabile (<i>Primobolan Depot</i>)	4-5 settimane
NANDROLONE DECANOATO/UNDECANOATO (<i>Deca-Durabolin, Norandren, Turinabol Depot, Anabolicum, Dynabolan</i>)	17-18 mesi
NANDROLONE FENILPROPIONATO (<i>Durabolin, Turinabol, Fenobolin, Anabolin</i>)	11-12 mesi
NORETANDROLONE (<i>Nilevar</i>)	5-6 settimane
OSSIMETOLONE (<i>Anadrol, Anapolon, Oxybolone, Hemogenin</i>)	2 mesi
OXANDROLONE (<i>Anavar, Lipidex</i>)	3 settimane
STANOZOLOLO iniettabile (<i>Winstrol, Strombaject, Stanolv</i>)	2 mesi
STANOZOLOLO orale (<i>Winstrol Tabs, Stanvol, Stromba</i>)	3 settimane
TESTOSTERONE CIPIONATO (<i>Cypionat, Cypoprime, Testabol Depot</i>)	3 mesi
TESTOSTERONE ENANTATO (<i>Primoteston Depot, Testosterone Depot</i>)	3 mesi
TESTOSTERONE in sospensione (<i>Testosus, Testosterone Aqueous</i>)	1-3 giorni
TESTOSTERONE PROPIONATO (<i>Tesosterona 50, Testoviron</i>)	2 settimane
TESTOSTRONE UNDECANOATO (<i>Andriol</i>)	1 settimana
TESTOSTERONE MIX (<i>Sten, Sustanon 250, Sostenon 250, Durateston 250</i>)	3 mesi
TREMBOLONE ACETATO (<i>Finaject, Finject, Finaplix</i>)	4-5 mesi
TREMBOLONE ESAIDROSSIBENZILCARBONATO (<i>Parabolan</i>)	4-5 settimane



<http://3.bp.blogspot.com>

Adattato da <https://teamolympusblog.wordpress.com/2017/04/22/steroidi-e-tempo-di-rilevamento/>

STRATEGIE ANTIDOPING PER AAS

Dosaggio Testosterone libero (frazione attiva), in funzione dei ritmi circadiani di produzione endogena e delle variazioni individuali e legate all'esercizio fisico

Ricerca ed identificazione di sostanze e/o metaboliti anomali

Valutazione del Rapporto Testosterone/Epitestosterone (T/E), normalmente $\leq 4:1$ (fisiologico intorno a 2:1)

Secondo la vigente normativa anti-doping:

- **un rapporto T/E $> 4:1$ richiede ulteriori controlli in quanto potrebbe suggerire l'assunzione di sostanze proibite**
- **un rapporto T/E $> 6:1$ costituisce sempre violazione, a meno che non vi sia prova che tale valore sia dovuto ad una condizione fisiologica o patologica propria dell'atleta**

Valutazione del Rapporto T/LH: un valore >30 viene considerato sospetto

Alterazione del normale rapporto 5- α /non 5- α C₁₉ steroidi



STRATEGIE ELUSIVE PER AAS

Uso di sostanze di difficile individuazione: sostanze di sintesi recente, poco note e/o poco studiate, a rapida clearance, ecc.

Tipologia di assunzione: somministrazione piramidale, periodi di astinenza di 6-12 mesi tra un ciclo ed il successivo, assunzione per via orale piuttosto che parenterale, ecc.

Uso di diuretici per diluire le urine e farmaci mascheranti che ne minimizzano l'escrezione renale

Alterazione dei campioni: sostituzione, additivazione, adulterazione, contaminazione, ecc.

Assunzione di Ketoconazolo: antimicotico che inibisce il Citocromo P-450, riducendo il metabolismo e l'eliminazione del Testosterone endogeno, restituendo un rapporto T/E nella norma



Assunzione di Epitestosterone esogeno: per normalizzare il rapporto T/E

Assunzione di Finasteride: inibitore della 5- α riduttasi, utilizzato per ridurre la produzione di metaboliti 5- α ridotti del Testosterone

La Finasteride (usata nella terapia dell'ipertrofia prostatica e della calvizie androgenetica) inibisce la conversione del Testosterone in DHT, per cui ne aumenta gli effetti anabolizzanti, diminuendone al contempo quelli androgenici

→ **Il valore del rapporto T/E potrebbe essere mascherato dalla contemporanea somministrazione di Epitestosterone esogeno o di Ketoconazolo**

Per ovviare è possibile dosare il rapporto 13C/12C nelle urine dell'atleta, in quanto gli steroidi sintetici commercializzati dall'industria farmaceutica hanno un basso quantitativo di 13C, essendo sintetizzati a partire da steroli vegetali a basso contenuto di questo isotopo

IL DOPING DI STATO... ...DIETRO LA CORTINA DI FERRO

Con la caduta del Muro di Berlino venne alla luce il “Piano di Stato 14.25” della Repubblica Democratica Tedesca: per dimostrare la superiorità del modello comunista orientale bisognava anche vincere attraverso lo sport

Si trattava di un sistema estremamente specializzato, con quartier generale presso l’Istituto Superiore di cultura fisica di Lipsia, in cui gli atleti venivano reclutati da bambini per essere “addestrati” a vincere

Sessantamila bambini della Germania dell'est vennero dirottati nelle scuole di addestramento: 30 ore a settimana di allenamento, ma soprattutto pillole di ogni tipo a colazione, pranzo e cena

Tra di esse spiccava la famigerata “pillola blu”, a base di “Oral Turinabol”, potente steroide anabolizzante prodotto dalla “Jenapharm”, la società farmaceutica di stato

Quanto detto potrebbe contribuire a spiegare come la DDR riuscì in sole 5 olimpiadi (da Città del Messico 1968 a Seul 1998, con l’esclusione di Los Angeles 1984 in cui vi fu il boicottaggio dei Paesi dell’Est) a portare a casa 437 medaglie di cui 153 d’oro, per il 40% grazie ad atlete di sesso femminile

Il dominio delle tedesche dell'est fu pressoché assoluto nelle discipline regine delle olimpiadi, l’atletica (il 47”60 di Marita Kock nei 400 metri piani stabilito nel 1985 è tuttora record del mondo) e il nuoto (Kornelia Ender, che a Montreal 1976 fu la prima donna a vincere 4 ori in una singola Olimpiade e Kristine Otto che vinse sei ori in tre stili diversi, stile libero, dorso e delfino, a Seul 1988)



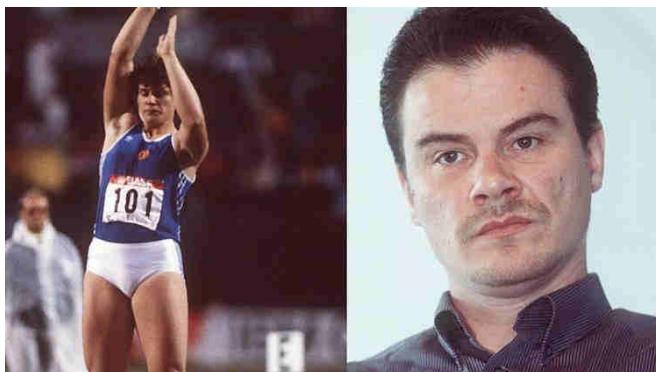
IL DOPING DI STATO... ...HEIDI KRIEGER

Sulle atlete di sesso femminile l'effetto virilizzante degli ormoni maschili è nettamente più marcato: la storia sportiva di quegli anni ci tramanda diverse atlete tedesche orientali che presentavano fattezze mascoline, con i loro corpi massicci e le loro voci dal profondo timbro maschile, donne chimicamente trasformate

Gli effetti collaterali, nel tempo, si riveleranno devastanti: leucemie e altre neoplasie ematologiche, carcinomi al seno, al pancreas e al fegato, infertilità, disfunzioni sessuali e mentali, allucinazioni e depressione che, in alcuni casi, ha condotto anche al suicidio

Caso emblematico è quello di **Heidi Krieger**, medaglia d'oro nel lancio del peso ai campionati Europei del 1986: Heidi nel 1986 ha 20 anni e ha già assunto in un solo anno 2590 milligrammi di anabolizzanti (il doppio di quelli di Ben Johnson quando fu trovato positivo a Seul 1988), dopo anni di questa "terapia" il suo corpo e la sua mente sono compromessi

"L'unico modo per continuare a vivere è trasformarmi in uomo, altrimenti penserei al suicidio" è il grido disperazione di Heidi che adesso si chiama Andreas dopo l'intervento chirurgico per il cambio di sesso nel 1997



Oggi Andreas Krieger è sposato con un'altra vittima del doping di stato della DDR, l'ex nuotatrice Ute Krause, a sua volta è diventata anorettica nel tentativo di eliminare tutta la massa muscolare causata dall'abuso di medicinali somministrateli a sua insaputa

Nel processo del luglio 2000 Manfred Ewald, il più alto dirigente sportivo della DDR, è stato condannato a soli 22 mesi con la condizionale, mentre il medico sportivo Manfred Hoppner a soli 18 mesi

ALTRI AGENTI ANABOLIZZANTI: SARM

MODULATORI SELETTIVI DEL RECETTORE DEGLI ANDROGENI (STEROIDAL ANDROGEN RECEPTOR MODULATOR, SARM)

Famiglia di sostanze che interagiscono con i recettori degli androgeni a diversi livelli in diversi tessuti

Sintetizzati per il trattamento di osteoporosi e stati catabolico/cachettici gravi legati soprattutto a patologie neoplastiche e/o infezione da HIV

La maggior parte dei SARM può essere assunta per via orale, non sempre utilizzabile, invece, per gli AAS

Molecole con effetti selettivi a livello dei tessuti osseo e muscolare e azione nulla o scarsa sulla prostata, sulle vie genitali ed a livello epatico

L'effetto netto della loro assunzione a livello dei tessuti osseo e muscolare è analogo a quello ottenuto attraverso l'assunzione di AAS, anche se, generalmente, con minore potenza d'azione

Differenza principale tra SARM ed AAS nel fatto che i primi, modulando l'attività del recettore per gli androgeni, riducono l'attività androgenica di questi ultimi, mantenendone al contempo quella anabolizzante e riducendone gli effetti collaterali legati all'abuso (virilizzazione, irtsutismo nelle donne, ginecomastia, calvizie, impotenza negli uomini ecc.)



ALTRI AGENTI ANABOLIZZANTI: SARM

La riduzione degli effetti collaterali è correlata all'incapacità dei SARM di essere substrato per la 5α -reduttasi e di subire aromatizzazione

Gli effetti collaterali, pur essendo ridotti rispetto a quelli degli AAS, possono comunque presentarsi soprattutto dopo utilizzo a dosaggi elevati, tipici dell'assunzione a scopo dopante

Tra i SARM maggiormente diffusi ad oggi abbiamo

- **Andarina** (con effetti pronunciati sulla crescita della massa muscolare)
- **Ostarina** (con effetti pronunciati sull'aumento e sul mantenimento/modellamento della massa magra)
- **Ligandrolo** (ad oggi il più potente per lo sviluppo della massa muscolare e la riduzione della massa grassa)
- **Cardarina** (con importanti effetti lipolitici ed anticatabolici)

I SARM sono attualmente contemplati dalla lista WADA delle sostanze sempre proibite (classe S.1.2 altri steroidi anabolizzanti)

Molto ricercati dagli sportivi per la difficoltà di rivelazione ai controlli antidoping (test ancora in fase di sviluppo/ottimizzazione, dato che si tratta di una classe eterogenea di sostanze con grosse differenze strutturali tra le diverse molecole)



ALTRI AGENTI ANABOLIZZANTI: CLENBUTEROLO

Agonista dei recettori β_2 -adrenergici a lunga durata d'azione, utilizzato come broncodilatatore nella terapia di asma bronchiale, enfisema polmonare e BPCO

Tra gli effetti si osservano stimolazione del SNC, ipertensione, aumento della capacità aerobica e del trasporto di ossigeno
Incrementa il metabolismo basale dell'organismo con effetti lipolitici

A dosaggi sovraterapeutici (4-5 volte più elevati) stimola i recettori del testosterone con effetti anabolici diretti, non androgenici: per questo motivo il Clenbuterolo è considerato il prototipo dei SARM

Usato a scopo di doping per gli effetti termogenici, lipolitici ed anabolizzanti

→ Spesso utilizzato in prossimità della gara, quando l'atleta sospende l'assunzione di AAS per risultare negativo ai test antidoping, con lo scopo di limitare la perdita di massa muscolare e di migliorarne la definizione



Il clenbuterolo, è classificato dalla WADA nella classe S.1.2 delle sostanze sempre proibite (altri steroidi anabolizzanti) e non in classe S.3 (beta2-agonisti)

Durante l'uso a scopo di doping di elevati dosaggi della sostanza, l'organismo sviluppa assuefazione e tolleranza, correlate alla down-regolazione dei recettori β -adrenergici, che impongono la sospensione dell'utilizzo per almeno 20 giorni al fine di ripristinarne gli effetti

ALTRI AGENTI ANABOLIZZANTI

ZILPATEROLO

Agonista β_2 -adrenergico che, in maniera analoga al clenbuterolo, possiede proprietà anabolizzanti
Usato come stimolante della crescita del bestiame e nel doping sportivo

TIBOLONE

Steroide sintetico, regolatore selettivo dell'attività estrogenica tissutale, con attività estrogenica, progestinica ed androgenica
Utilizzato in terapia per correggere gli squilibri ormonali della menopausa e per l'osteoporosi
Possiede effetti anabolizzanti, e può essere usato dalle atlete di sesso femminile per aumentare la massa muscolare
L'utilizzo a scopo di doping è infrequente, ma sono riportati casi recenti di positività ai controlli



ZERANOLO

Derivato sintetico dello zearalenone, micotossina ad attività estrogenica prodotta da funghi del genere *fusarium*
Si tratta di un agonista non steroideo degli estrogeni con effetti anabolizzanti, approvato in USA e Canada per l'uso come fattore di crescita per il bestiame da carne, ma proibito nella UE

SOSTANZE SEMPRE PROIBITE: S2 ORMONI, FATTORI DI CRESCITA E MIMETICI

S2 Ormoni peptidici, fattori di crescita, sostanze correlate e mimetici

→ Sono proibite le seguenti sostanze ed altre sostanze con struttura chimica simile o effetto/i biologico/i simile/i:

2. Ormoni peptidici, modulatori ormonali e loro fattori di rilascio

2.1 Gonadotropina corionica (GC) e ormone luteinizzante (LH) e loro fattori di rilascio sono proibiti negli uomini

Buserelina, Deslorelin, Gonadorelin, Goserelina, Leuprelrelina, Nafarelina e Triptorelin

2.2 Corticotropine e loro fattori di rilascio

Corticorelin

2.3 Ormone della crescita (GH), suoi frammenti e suoi fattori di rilascio

Inclusi ma non limitati a: frammenti del GH (es. AOD-9604 e hGH 176-191), ormone di rilascio del GH (GHRH) e suoi analoghi (es. CJC-1293, CJC-1295, Sermorelin e Tesamorelin), secretagoghi del GH (GHS) (es. Lenomorelin (Grelina) e suoi mimetici Anamorelin, Ipamorelin, Macimorelin e Tabimorelin), peptidi di rilascio del GH (GHRPs) (es. Alexamorelin, GHRP-1, GHRP-2 (Pralmorelin), GHRP-3, GHRP-4, GHRP-5, GHRP-6 e Examorelin (Exarelina))

3. Fattori di crescita e modulatori dei fattori di crescita

Inclusi ma non limitati a: fattori di crescita dei fibroblasti (FGFs), fattore di crescita degli epatociti (HGF), fattore di crescita insulino-simile (IGF-1) e suoi analoghi, fattori di crescita meccanici (MGFs), fattore di crescita di derivazione piastrinica (PDGF), Timosina- β 4 e suoi derivati (es. TB-500), fattore di crescita vascolare-endoteliale (VEFG) ed ogni altro fattore di crescita che influenzi la sintesi/degradazione di proteine, di muscoli, tendini o legamenti, la vascolarizzazione, l'utilizzo di energia, la capacità rigenerativa o la transdifferenziazione del tipo di fibra



<http://liberidalreflusso.it>

ORMONI PEPTIDICI E MODULATORI ORMONALI

GONADOTROPINA CORIONICA (HCG) E ORMONE LUTEINIZZANTE (LH)

Effetti analoghi a quelli degli steroidi anabolizzanti

Nei maschi promuovono la produzione endogena di Testosterone senza alterare il rapporto T/E

L'assunzione di HCG al termine di un ciclo di AAS favorisce il recupero della funzione gonadica, inibita dagli AAS esogeni

Effetti collaterali: blocco della crescita delle ossa lunghe ed inibizione della spermiogenesi (età pre-pubere), pubertà precoce (adolescenti), oligo/azoospermia, atrofia testicolare, ipertrofia prostatica, ginecomastia, alterazioni epatiche, iperlipidemia, euforia/depressione (adulti)



CORTICOTROPINA (ACTH)

Stimola la produzione di corticosteroidi da parte del surrene: azione anti-infiammatoria con aumento della capacità di resistenza a fatica, dolore e stress

Ad alti dosaggi induce aumenti transitori del GH

Effetti collaterali: ipertrofia corticosurrenale, osteoporosi, miopatie, danni gastrointestinali, fragilità cutanea, cefalea, ridotta tolleranza glucidica, obesità, euforia, insomnia, vertigini, infezioni secondarie

La presenza di concentrazioni anomale di queste sostanze e/o dei loro marcatori/metaboliti nelle urine di un atleta viene considerata infrazione a meno che non venga comprovato che tali valori siano dovuti esclusivamente ad una condizione fisiologica o patologica propria dello stesso atleta

→ **Trattandosi di sostanze naturalmente presenti nell'organismo, sorge il problema di provare che la loro presenza sia legata ad un'introduzione esogena a scopo di doping**

La HCG viene prodotta dagli uomini in quantità infinitesime, per cui la sua presenza nelle urine di un atleta di sesso maschile, escluse condizioni patologiche, può essere facilmente ascritta ad una somministrazione esogena

ORMONI PEPTIDICI E MODULATORI ORMONALI

SISTEMA GH-IGF

L'ormone della crescita (GH) è un polipeptide secreto dall'ipofisi anteriore e prodotto in maniera pulsatile con picchi durante il sonno REM (funzioni di crescita e riparazione)

Secrezione endogena di GH incrementata da diversi fattori: stress, attività fisica, digiuno, sonno, estrogeni, androgeni, beta-bloccanti, dopaminergici, diversi amminoacidi

GH stimola la produzione di somatomedine (IGF-1, insulina), che ne mediano gran parte degli effetti e possono essere, a loro volta, assunte come sostanze dopanti



Effetti anabolizzanti

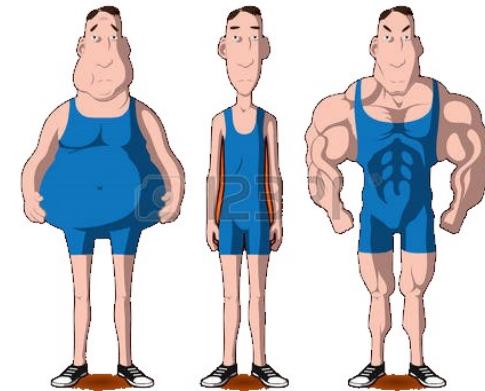
- aumento della sintesi proteica con associato aumento della massa muscolare
- aumento della lipolisi con associati miglioramento della definizione muscolare e diminuzione della massa grassa
- aumento dell'assorbimento del calcio con associato incremento di crescita ossea
- aumento della glicemia, favorendo l'approvvigionamento energetico di muscoli e cervello
- aumento dell'altezza (in bambini ed adolescenti)

ORMONI PEPTIDICI E MODULATORI ORMONALI

SISTEMA GH-IGF

Effetti collaterali (da abuso):

- alterazioni scheletriche (acromegalia), artropatie, miopatie e cardiomiopatie
- alterazioni metaboliche (iperglycemia e diabete) e cutanee (acne)
- ritenzione idrica ed edemi, ipertensione arteriosa
- impotenza



Uso a scopo di doping:

- GH determina aumento della massa muscolare solo se associato a dieta iperproteica e/o ad assunzione contemporanea di insulina e/o di ormoni androgeni
- Fino agli anni '90 veniva utilizzato GH umano estrattivo ottenuto da ipofisi di cadavere
- Dal 1996 è disponibile GH ricombinante umano di sintesi (rhGH), strutturalmente identico all'isoforma 22 kDa del GH endogeno

STRATEGIE ANTIDOPING ED ELUSIVE PER GH

STRATEGIE PER L'ACCERAMENTO ANTI-DOPING DEL GH

Valutazione del rapporto tra le isoforme

- In circolo esistono 3 isoforme di GH endogeno (22 kDa, 20 kDa e >22 kDa) fisiologicamente in un preciso rapporto tra loro
- Nel soggetto che assume rhGH esogeno si osserva alterazione di questo rapporto, sia per incremento dell'isoforma 22 kDa, che per inibizione della secrezione delle isoforme 20 kDa e >22 kDa

Valutazione della presenza di alterazioni della funzionalità dell'asse somatotropo

- Misura del GH durante la secrezione spontanea ed in risposta a sostanze stimolanti o inibenti la sua secrezione
- Valutazione ematochimica di parametri secondari alterati dall'assunzione di GH esogeno (es. aumento valori IGF-1, aumento rapporto IGF-1/IGF-2)

PROBLEMATICA NELL'ACCERTAMENTO ANTI-DOPING DEL GH

- Secrezione pulsatile *in vivo* con ampia variabilità interindividuale
- Breve emivita (15'-30')
- Notevole aumento fisiologico in seguito ad attività fisica e/o stress
- Scarsissima eliminazione per via urinaria (circa 0.01%)
- Il GH umano ricombinante (rhGH) è identico all'isoforma 22 kDa del GH endogeno
- L'introduzione di elevate quantità di amminoacidi GH-liberatori (soprattutto Arginina, Ornitina, Lisina e Triptofano) aumenta la secrezione di GH endogeno di tutte e 3 le isoforme (strategia elusiva, non proibita)
- L'utilizzo di secretagoghi sintetici del GH (greline sintetiche) aumenta la produzione di tutte e tre le isoforme di GH endogeno
- Utilizzo di GH estrattivo che contiene tutte e 3 le isoforme del GH endogeno e non ne altera il rapporto (procedura a rischio infettivo per contaminazioni da virus e prioni)



SOSTANZE SEMPRE PROIBITE: S3 BETA-2 AGONISTI

S3 Beta-2 agonisti

Tutti i beta-2 agonisti selettivi e non selettivi, inclusi i loro isomeri ottici sono proibiti

Inclusi, ma non limitati a Fenoterolo, Formoterolo, Higenamina, Indacaterolo, Olodaterolo, Procaterolo, Reproterolo, Salbutamolo, Salmeterolo, Terbutalina, Tretochinolo (Trimetochinolo), Tulobuterolo, Vilanterolo



con l'eccezione di salbutamolo per via inalatoria (massimo 1600 µg/die senza superare la dose di 800 µg ogni 12 ore), formoterolo per via inalatoria (massimo 54 µg/die) e salmeterolo per via inalatoria (massimo 200 µg/die)

La presenza nelle urine di salbutamolo in quantità superiore a 1000 ng/ml o di formoterolo in quantità superiore a 40 ng/ml fa presumere un uso non terapeutico della sostanza e dovrà essere considerata **esito avverso** al controllo antidoping, tranne nel caso in cui l'atleta provi, attraverso uno studio farmacocinetico controllato, che il risultato anomalo sia la conseguenza dell'uso di una dose terapeutica assunta per via inalatoria fino al valore massimo sopra indicato

BETA-2 AGONISTI

Classe di farmaci che agisce attivando selettivamente i recettori β_2 -adrenergici, utilizzati per via inalatoria nella terapia dell'asma e di altre patologie delle vie bronco-polmonari, grazie alle loro proprietà broncodilatatorie e rilassanti la muscolatura liscia

→ **Sono sempre proibiti, con l'eccezione di salbutamolo, formoterolo e salmeterolo per via inalatoria, qualora all'atleta sia stata concessa un'esenzione a fini terapeutici, con i seguenti limiti:** Salbutamolo per via inalatoria max 1600 $\mu\text{g}/\text{die}$ senza superare la dose di 800 μg ogni 12 ore, Formoterolo per via inalatoria max 54 $\mu\text{g}/\text{die}$, Salmeterolo per via inalatoria max 200 $\mu\text{g}/\text{die}$

!!! Circa il 25% degli atleti professionisti dichiara di essere asmatico e richiede esenzione terapeutica per l'uso di beta-2 agonisti

UTILIZZO A SCOPO DI DOPING

- **Effetti anabolizzanti e lipolitici, quando assunti per via sistemica ad elevati dosaggi**
- Gli effetti ricercati comprendono aumento della massa muscolare e della forza contrattile associati a diminuzione della massa grassa, in assenza dei gravi effetti collaterali degli AAS
- Utilizzati anche per la loro azione broncodilatatoria che favorisce la respirazione, migliorando l'ossigenazione dei tessuti, prevenendo l'asma indotta dall'esercizio fisico
- Risultati degli studi sugli effetti positivi sulla prestazione sportiva ad oggi controversi, con l'eccezione del clenbuterolo, per il quale sono stati provati in maniera certa gli effetti anabolizzanti
- Effetti collaterali: tremore marcato e spasmi muscolari, cefalea, tachicardia ed aritmie cardiache, capogiri e nausea, ipertensione e stato ansioso
- Queste sostanze rimangono determinabili nelle urine fino ad un massimo di 2-4 gg dall'assunzione dell'ultima dose, in dipendenza dei dosaggi e delle tempistiche di assunzione



SOSTANZE SEMPRE PROIBITE: S4 MODULATORI ORMONALI E METABOLICI

S4 Modulatori ormonali e metabolici

Sono proibiti i seguenti ormoni e modulatori metabolici:

1. Inibitori dell'aromatasi

Inclusi ma non limitati a: 2-Androstenolo (5 α -androst-2-en-17-olo); 2-Androstenone (5 α -androst-2-en-17-one); 3-Androstenolo (5 α -androst-3-en-17-olo); 3-Androstenone (5 α -androst-3-en-17-one); 4-Androstene-3,6,17 trione (6-oxo), Aminoglutetimide, Anastrozolo, Androsta-1,4,6-triene-3,17-dione (androstatrienedione), Androsta-3,5-diene-7,17-dione (arimistane), Exemestano, Formestano, Letrozolo, Testolattone



<http://vydiagnostica.com>

2. Modulatori selettivi del recettore degli estrogeni (SERM)

Inclusi ma non limitati a: Bazedoxifene, Ospemifene, Raloxifene, Tamoxifene, Toremifene

3. Altre sostanze antiestrogeniche

Incluse ma non limitate a: Clomifene, Ciclofenil, Fulvestrant

4. Agenti che prevengono l'attivazione del recettore dell'activina di tipo IIB

che includono, ma non sono limitati a: Anticorpi neutralizzanti l'activina A; Antagonisti funzionali dell'activina, come i recettori IIB dell'activina difettivi (es. ACE-031); Anticorpi anti recettore dell'activina di tipo IIB (ad es. bimagrumab); Inibitori della miostatina come gli agenti che riducono o aboliscono l'espressione della miostatina; Proteine leganti la miostatina (es. follistatina, propeptide della miostatina); Anticorpi neutralizzanti la miostatina (ad es. domagrozumab, landogrozumab, stamulumab)

5. Modulatori metabolici

5.1 Attivatori della protein chinasi AMP-attivata (AMPK) (es. AICAR, SR9009) e agonisti del recettore δ attivato dal proliferatore del perossisoma (PPAR δ) (es. acido 2-(2-metil-4-((4-metil-2-(4-(trifluorometil)fenil)tiazolo-5-il)metiltio)fenossi acetico (GW 1516, GW501516)

5.2 Insuline e insulino-mimetici

5.3 Meldonio

5.4 Trimetazidina

MODULATORI ORMONALI E METABOLICI

L'assunzione di modulatori ormonali a scopo di doping, da parte degli atleti (soprattutto maschi) avviene non tanto per i benefici "diretti" sulla prestazione, ma con il fine principale di sopprimere gli effetti collaterali causati dall'abuso di steroidi anabolizzanti androgeni

L'esempio classico è l'utilizzo di sostanze ad azione antiestrogenica per prevenire la ginecomastia indotta da AAS negli atleti maschi o l'iperestrogenismo derivante dall'aromatizzazione degli androgeni esogeni assunti in eccesso

Tra le classi di sostanze di sostanze ad azione antiestrogenica maggiormente utilizzate a scopo di doping abbiamo:

- Inibitori dell'aromatasi
- Modulatori selettivi del recettore per gli estrogeni (SERM)
- Altre sostanze ad azione antiestrogenica



MODULATORI ORMONALI E METABOLICI: ANTIESTROGENI

INIBITORI DELL'AROMATASI

Utilizzati come farmaci nel trattamento del carcinoma della mammella, inibiscono l'azione dell'aromatasi, enzima deputato alla conversione degli androgeni in estrogeni

Uso a scopo di doping per il blocco della conversione del Testosterone in 17 β -Estradiolo (E2) e suo conseguente accumulo

La diminuzione dei livelli di E2, inoltre, sopprime il feedback negativo sulle gonadotropine, con conseguente rilascio di LH e stimolo dell'ulteriore sintesi di Testosterone endogeno

MODULATORI SELETTIVI DEL RECETTORE DEGLI ESTROGENI (SERM)

Utilizzati come farmaci nel trattamento dell'osteoporosi e del carcinoma alla mammella, si tratta di sostanze che si legano ai recettori degli estrogeni con effetti diversificati (pro- o anti- estrogenici) a seconda della struttura, del tessuto e del contesto ormonale in cui agiscono

A scopo di doping, vengono ricercati gli effetti antiestrogenici di queste sostanze



ALTRE SOSTANZE ANTIESTROGENE (ad es. Clomifene)

Sostanze ad azione antagonista o agonista inversa degli estrogeni utilizzati in genere nel trattamento della sterilità anovulatoria in donne con asse ipotalamo-ipofisi-ovaio funzionante

A scopo dopante vengono sfruttati i loro effetti antiestrogenici

MODULATORI ORMONALI E METABOLICI: INSULINA

Ormone peptidico secreto dal pancreas che controlla il metabolismo del glucosio e ne regola la concentrazione ematica facilitandone l'ingresso nelle cellule

Prodotta come pro-ormone (proinsulina), una volta secreta viene scissa in insulina e peptide C in quantità equimolari

A livello sportivo, l'utilizzo dell'insulina esogena è consentito agli atleti affetti da diabete insulino-dipendente provvisti di esenzione a fini terapeutici, previa dichiarazione medica che ne attesti la condizione

UTILIZZO A SCOPO DI DOPING

- **Effetti anabolizzanti:** l'insulina favorisce la sintesi proteica, in presenza di un adeguato apporto di amminoacidi e glucosio. Quando somministrata insieme al GH si ottiene un effetto sinergico che determina ipertrofia muscolare
- **Effetti sul metabolismo glucidico:** l'insulina favorisce l'ingresso del glucosio nelle cellule, stimolando la sintesi di glicogeno (per il fabbisogno immediato e come "scorta"), con aumento netto della performance muscolare



STRATEGIE ANTI-DOPING

- L'insulina ricombinante umana è simile all'ormone endogeno e non è rilevabile direttamente
- L'uso di ormone esogeno può essere svelato attraverso il dosaggio del peptide C, purché il dosaggio avvenga in tempi prossimi alla somministrazione dell'insulina esogena

ALTRI MODULATORI ORMONALI E METABOLICI

AGENTI CHE PREVENGONO L'ATTIVAZIONE DEL RECETTORE DELL'ACTIVINA IIB

- Agiscono modificando/alterando, la funzione della miostatina
- La miostatina è una proteina prodotta dalle cellule dei muscoli scheletrici, con la funzione di limitare l'ipertrofia muscolare
- La sua azione è sotto il controllo di un fattore inibitorio, detto follistatina
- Gli inibitori della miostatina si comportano da regolatori della crescita e dello sviluppo del muscolo e possono essere utilizzati a scopo di doping con il fine di favorire l'aumento della massa muscolare



ATTIVATORI DELLA PROTEIN CHINASI AMP-ATTIVATA (AMPK) E AGONISTI DEL RECETTORE δ ATTIVATO DAL PROLIFERATORE DEL PEROSSISOMA (PPAR δ)

- AMPK è una protein-chinasi che modula il metabolismo cellulare: si attiva in caso di deficit di energia a livello cellulare (come durante l'esercizio fisico) ed agisce incrementando la lipolisi ed il consumo energetico, favorendo la perdita di peso
- PPAR δ appartiene ad una famiglia di recettori nucleari attivati da lipidi di origine dietaria o endogena, la cui attivazione produce effetti termogenici e lipolitici con diminuzione della massa grassa ed un miglioramento nell'efficienza energetica del muscolo

ALTRI MODULATORI ORMONALI E METABOLICI

MELDONIO (*Meldonium*®)

Chimicamente si tratta del mildronato, farmaco utilizzato in terapia per il trattamento delle coronaropatie e delle ischemie secondarie a gravi problemi cardiocircolatori

Recentemente sotto osservazione il suo uso come sostanza dopante da parte di diversi atleti dell'est europeo in quanto, favorendo la circolazione ematica e l'apporto di ossigeno al tessuto muscolare, sembrerebbe migliorare le capacità di resistenza allo sforzo fisico e velocizzare il recupero dopo l'attività fisica

I dati in proposito sono discordanti, in ogni caso il meldonio è stato aggiunto alla lista delle sostanze vietate e già diversi atleti dell'Europa dell'est sono stati sottoposti ad indagine e squalifica a causa del suo utilizzo



TRIMETAZIDINA (*Vastarel*®)

Farmaco anti-ischemico che agisce preservando il metabolismo energetico cellulare nelle situazioni di ipossia/ischemia, evitando il crollo dei livelli intracellulari di ATP e ritardando la comparsa di ischemia da sforzo

Utilizzato anche in ambito ORL per la sua azione antivertigini e nel trattamento della sindrome di Ménière ed in ambito oculistico per i suoi effetti sul miglioramento dell'attività funzionale della retina

A scopo di doping viene utilizzata per i suoi presunti effetti stimolanti

DOPING EMATICO

S2 Ormoni peptidici, fattori di crescita, sostanze correlate e mimetici

M1 Manipolazione del sangue e dei componenti del sangue



SOSTANZE SEMPRE PROIBITE: S2 ORMONI, FATTORI DI CRESCITA E MIMETICI

S2 Ormoni peptidici, fattori di crescita, sostanze correlate e mimetici

Sono proibite le seguenti sostanze ed altre sostanze con struttura chimica simile o effetto/i biologico/i simile/i:

1. Eritropoietina (EPO) ed agenti stimolanti l'eritropoiesi inclusi, ma non limitati a:

1.1 Agonisti del recettore dell'EPO

Darbepoetina (dEPO), Eritropoietine (EPO), costrutti EPO-basati (metossipolietilenglicol-epoetina beta o CERA, EPO-Fc), peptidi EPO-mimetici e loro costrutti (CNTO-530, Peginesatide)

1.2 Agenti attivanti del fattore ipossia-inducibile (HIF)

Cobalto, Daprodustat (GSK1278863), Molidustat (BAY 85-3934), Roxadustat (FG-4592), Vadadustat (AKB-6548), Xenon

1.3 Inibitori del GATA

K-11706

1.4 Inibitori della segnalazione del TGF-β

Luspatercept, Sotatercept

1.5 Agonisti del recettore per il meccanismo di riparazione naturale

Asialo EPO, EPO carbamilata (CEPO)



<http://www.adrianellis.co.uk>

ERITROPOIETINA (EPO)

Ormone di produzione renale con la funzione di stimolare la produzione midollare di eritrociti in condizioni carenziali

Produzione regolata dai livelli renali di ossigeno attraverso un fattore di trascrizione detto HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor), che ne aumenta l'espressione genica in situazioni di ipossia con un meccanismo a feedback

Azione legata all'interazione con un recettore (EPO-R) sulla superficie dei progenitori eritroidi ed alla sua successiva internalizzazione che, a sua volta, determina proliferazione, maturazione e maggiore sopravvivenza di queste cellule

Livelli fisiologici in condizioni normali: 2-25 mU/ml con variazioni circadiane

I valori possono aumentare fisiologicamente fino a 100-1000 volte in condizioni di ipossia

L'emivita dell'EPO è piuttosto breve, mentre l'effetto stimolante può permanere fino a 2 settimane

Gene dell'EPO isolato nel 1985

Dal 1987 è stata messa a punto una tecnica per la produzione in vitro di Eritropoietina ricombinante umana (rHuEPO) o Epoietina, disponibile commercialmente



ERITROPOIETINA E DOPING

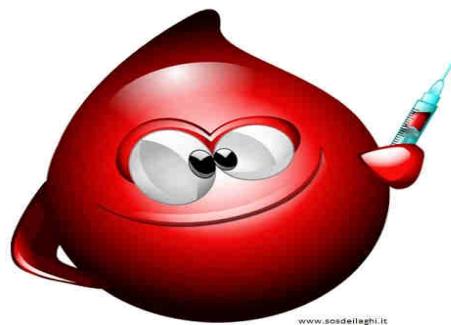
Importante diffusione come sostanza dopante negli ultimi anni, soprattutto tra atleti che gareggiano su lunghe distanze nell'atletica (fondisti) o in discipline aerobiche di resistenza (ciclismo, sci di fondo)

A scopo di doping vengono utilizzate le Eritropoietine sintetiche esogene (rHu-EPO, d-EPO, CERA)

Effetti ricercati a scopo di doping

Aumento del numero di globuli rossi e conseguente incremento dei livelli di ossigeno nei tessuti con miglioramento dei processi aerobici cellulari (aumento della forza e della resistenza)

Secondo alcuni studi l'EPO presenterebbe anche modeste attività anabolizzanti (aumento della velocità di riparazione delle cellule muscolari e della massa magra): il suo uso negli sport di potenza è comunque limitato a causa degli scarsi effetti sulle prestazioni



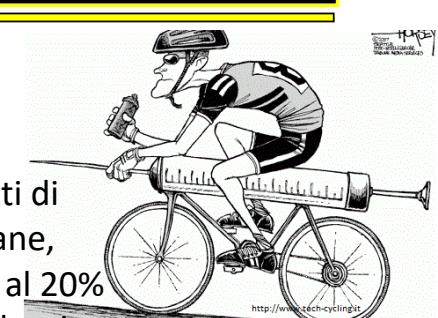
Effetti collaterali:

Aumento della viscosità del sangue (aumento del numero eritrociti e dell'ematocrito): ipertensione e formazione di trombi (aggravate dalla disidratazione durante la prestazione sportiva), ischemie cardiache e cerebrali (ictus), infarto miocardico e intestinale, shock emorragico, nefrite, ittero, reazioni allergiche, convulsioni, angina, e crampi muscolari. Aumentato rischio di neoplasie ematologiche (stimolo alla messa in circolo anche di cellule "imperfette" e/o immature)

ERITROPOIETINE ESOGENE

EPO UMANA RICOMBINANTE (rHu-EPO)

- Disponibile dal 1987, ha lievi differenze a livello delle catene di carboidrati dall'EPO endogena, che ne determinano diverse caratteristiche chimico-fisiche ed emivita dopo somministrazione e.v. di 8.5 h
- A scopo di doping, somministrata per via iniettiva ogni 2-3 gg a cicli di 3-4 settimane, associata a preparati di ferro per sostenere al contempo la sintesi di Hb, causa aumento del numero di RBC e di Hb per 3-4 settimane, migliorando la capacità aerobica dell'atleta (\uparrow VO₂ max), con effetti additivi a quelli dell'allenamento, fino al 20%
- Nella fase di mantenimento, l'assunzione può avvenire a dosaggi minori, con maggiori difficoltà di individuazione ai controlli antidoping



DARBEPOETINA (NESP: Novel Erythropoiesis Stimulating Protein o d-EPO)

- EPO sintetica iperglicata (5 catene glucidiche a elevato contenuto in acido sialico) con elevato p.m., e con clearance plasmatica e metabolismo rallentati, somministrabile 1 sola volta a settimana e.v. o s.c. (emivita plasmatica dopo somministrazione e.v. 25 h)
- Più costosa, ma fino a 10 volte più efficace: in circa 8 gg causa aumento dell'ematocrito fino al 60% e miglioramento della capacità aerobica fino al 20%, con effetti durevoli, ma più facilmente identificabile ai controlli antidoping per le caratteristiche strutturali differenti dall'EPO endogena e per la clearance rallentata

CERA (Continuous Erythropoietin Receptor Activator o EPO di III generazione)

- Introdotta nel 2007 per il trattamento dell'anemia in pazienti con grave insufficienza renale, è una molecola di EPO legata a una lunga catena di polimeri (metossi-polietilenglicole-epoetina beta) che le conferisce elevato pm (~60.000 Da) ed elevata emivita plasmatica (134 h dopo somministrazione e.v. e 139 h dopo somministrazione s.c.)
- CERA si comporta da attivatore continuo dei recettori dell'EPO, permettendo di ottenere i risultati desiderati con una somministrazione e.v. o s.c. limitata ad 1-2 volte al mese

ALTRI FATTORI EPO-MIMETICI

ATTIVATORI E STABILIZZATORI DEL FATTORE 1 IPOSSIA INDUCIBILE (HIF_a e HIF_s)

Classe di sostanze in grado di aumentare i livelli ematici di EPO endogena con 2 tipi di azione:

Mimano una condizione di ipossia a livello cellulare, stimolando la produzione e/o mantenendo attivo il fattore ipossia-inducibile (HIF), portando all'incremento della sintesi di EPO endogena

Inibiscono la funzione della proline-idrossilasi, enzima che, in presenza della fisiologica tensione di ossigeno, si attiva ed inibisce il fattore ipossia-inducibile e la sua azione

GATA-INIBITORI

L'espressione genica dell'EPO è controllata dall'HIF, a sua volta regolato negativamente da GATA

Sostanze in grado di inibire GATA (es. K-11706) possono determinare un aumento nella produzione di EPO endogena

EPO MIMETICI

Peptidi/proteine senza omologia di sequenza con l'EPO, ma in grado di legarsi al suo recettore e di mimare la funzione dell'ormone endogeno (es. CNTO 530, Emp1, Hematide ecc.).

Ricercati dagli sportivi a causa dell'assenza di metodiche specifiche per la loro rilevazione ai controlli antidoping

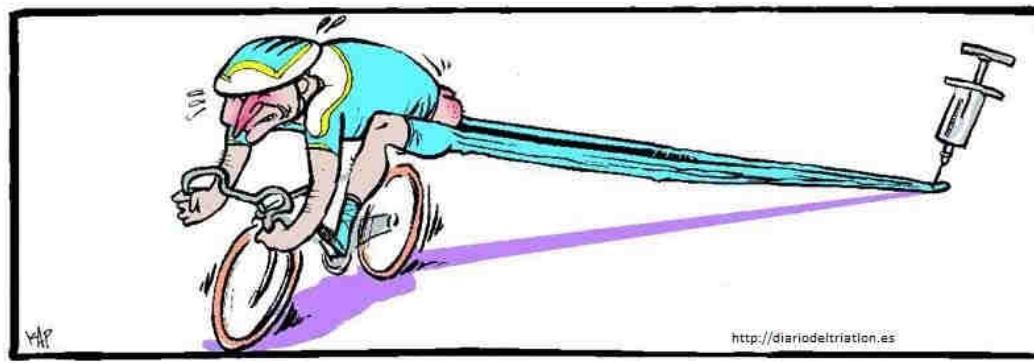


STRATEGIE ANTIDOPING PER EPO

DIFFICOLTÀ NEI CONTROLLI POST-GARA

- EPO viene assunta secondo protocolli precisi in periodi precedenti al verificarsi degli effetti desiderati sul numero di eritrociti
- Dopo assunzione di EPO esogena si osserva aumento di reticolociti nel giro di 7-10 gg, mentre il numero dei globuli rossi, l'emoglobina e l'ematocrito si innalzano tra le 2 e le 5 settimane successive
- L'ematocrito inizia a diminuire dopo 2 settimane dalla sospensione e torna normale nel giro di circa 4 mesi
- L'azione dell'EPO endogena è di durata minore, l'effetto fisiologico, infatti, si annulla nel giro di una settimana

→ Una strategia per il controllo anti-doping può essere quella di ripetere gli esami su un atleta con ematocrito elevato a distanza di un mese, se i valori permangono stabilmente alti (superiori al 50%) vi può essere sospetto di uso di EPO a scopo di doping



Per scoraggiare l'uso di EPO e di altre tipologie di doping ematico è stato sviluppato un programma di controlli crociati sangue/urine programmati e a sorpresa sugli atleti ed è stata predisposta la creazione del c.d. *"passaporto biologico"* dell'atleta

STRATEGIE ANTIDOPING PER EPO: MISURAZIONI INDIRETTE

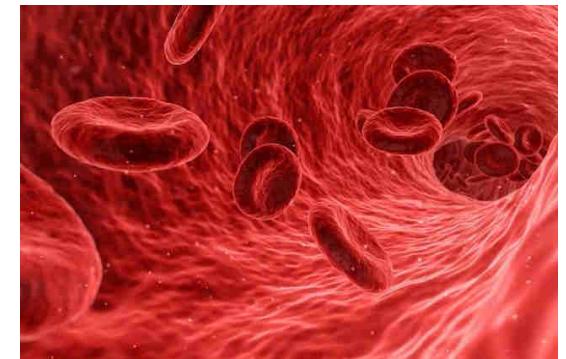
Analisi ematochimiche semestrali, strutturate in modo tale da costruire il c.d. *“passaporto biologico”* dell’atleta, per cui ogni variazione dei parametri (soprattutto dell’ematocrito in %) superiore alla media stagionale dell’atleta viene considerata “sospetta”

- Misurazione ematocrito HT (sospetto se mantenuto per lunghi periodi > 50%)
- Misurazione emoglobina Hb (sospetta se > 18.5 g/dl negli uomini e > 16.5 g/dl nelle donne)
- Valutazione del numero di Reticolociti (valori sospetti > 2.5%)
- Riduzione della sideremia e della ferritinemia, aumento della transferrinemia

A supporto: ricerca citofluorimetrica dei precursori eritroidi e valutazione di numero e parametri reticolocitari, che possono essere alterati negli assuntori di EPO esogena

- Nel ciclismo, valori di HT > 50% vengono ritenuti sospetti dal CIO, in questi casi l’atleta viene “sospeso” per motivi precauzionali, per la salvaguardia della sua salute
- La Federazione Internazionale di Sci ha imposto limiti per l’Hb di 18.5 g/dl per gli uomini e 16.5 g/dl per le donne: se questi limiti vengono superati prima di una gara, l’atleta viene “sospeso” per motivi precauzionali, per la salvaguardia della sua salute

→ **Le misurazioni indirette possono avere utilità a fini precauzionali, ma solo alle misure dirette è riconosciuta validità legale nell’ambito della vigente normativa antidoping**



STRATEGIE ANTIDOPING PER EPO: MISURAZIONI DIRETTE

→ Sono le sole a possedere valore legale ai fini dell'applicazione delle norme antidoping e delle sanzioni sportive e penali

Le Eritropoietine esogene presentano differenze nelle catene glucidiche rispetto a quella endogena, ciò gli conferisce una diversa carica elettrica e, di conseguenza, una diversa mobilità elettroforetica che ne permette la rilevazione

L'aumento nel numero di catene glucidiche (CERA > NESP > rhEPO) comporta un aumento dell'emivita e dell'attività biologica (maggiore potenza, maggior durata d'azione e minore numero di somministrazioni necessarie)

Di contro, l'aumento dell'emivita e delle differenze strutturali rispetto all'EPO endogena, ne facilitano la rilevazione ai controlli antidoping



L'EPO esogena può essere distinta da quella endogena con metodiche elettroforetiche di immunoisoelettrofocalizzazione (SDS-PAGE) disponibili, per campioni urinari, dai primi anni 2000

Questo approccio permette una valutazione diretta di un'eventuale assunzione a scopo di doping (i risultati sono, però, spesso soggetti a contestazione da parte degli atleti riscontrati "positivi", invocando una presunta aspecificità degli Ab monoclonali utilizzati per l'estrazione)

Nella realtà dei fatti, il problema operativo sembra maggiormente legato alla bassa sensibilità della metodica e, quindi, al rischio di falsi negativi

METODI SEMPRE PROIBITI: M1 MANIPOLAZIONE DEL SANGUE E DEI COMPONENTI DEL SANGUE

M1 Manipolazione del sangue e dei componenti del sangue

Sono proibiti i seguenti metodi:

1. La somministrazione o reintroduzione nel sistema circolatorio di qualsiasi quantità di sangue autologo, allogenico (omologo) o eterologo o di prodotti contenenti globuli rossi di qualsiasi origine
2. Potenziamento artificiale dell'assorbimento, del trasporto o del rilascio di ossigeno
Includono, ma non si limitano a: sostanze chimiche perfluoridiche; efaproxiral (RSR13) e prodotti di emoglobina modificata, ad es. sostituti del sangue basati sull'emoglobina, prodotti di emoglobina microincapsulata, ad esclusione dell'ossigeno supplementare per via inalatoria
3. Qualsiasi forma di manipolazione endovascolare del sangue o di componenti del sangue con mezzi fisici o chimici



MANIPOLAZIONE DEL SANGUE

DOPING EMATICO

- **Razionale scientifico: potenziare il trasporto di ossigeno ai tessuti aumentando volume di sangue circolante e numero di eritrociti**
- Agli atleti viene prelevata una certa quantità di sangue (~ 900 cc, 4-5 settimane prima della gara) che poi viene reinfusa, dopo centrifugazione, 1-2 giorni prima della gara, al fine di ottenere un temporaneo aumento del volume ematico e del numero degli eritrociti (fino al 20%), con un miglioramento delle prestazioni nelle gare di resistenza
- La tecnica nasce a Ferrara in Italia nei primi anni '80, con l'autoemotrasfusione (Francesco Moser, record dell'ora 1984)
- Doping ematico definito di natura autologa quando eseguito con sangue proprio dell'atleta (autoemotrasfusione), omologa quando eseguito con sangue ossigenato di un donatore (in genere un compagno di squadra) o eterologa nel caso di uso di sangue animale

→ **L'autoemotrasfusione, un tempo molto utilizzata soprattutto nel ciclismo, è quasi del tutto soppiantata dall'uso di EPO e derivati, per ritornare in auge negli ultimi anni, non essendo individuabile dai test antidoping**

- Tra i vantaggi del doping ematico autologo vi sono, oltre all'assenza di metodi di detezione, l'assenza di rischi di contagio di patologie infettive (AIDS, epatiti, ecc.) e di reazione da sangue non compatibile, tra gli svantaggi si osserva una diminuzione della performance sportiva in allenamento nei giorni immediatamente seguenti il prelievo di sangue
- Il vantaggio principale del doping ematico omologo è la mancanza di calo di performance in allenamento, ma tra gli svantaggi vi sono la possibilità di essere individuati (attraverso la ricerca degli antigeni minori degli eritrociti del donatore), oltre al rischio di contrarre malattie dal donatore e di andare incontro a reazioni da trasfusione



TRASPORTATORI ARTIFICIALI DI OSSIGENO

PERFLUORODERIVATI

- Perfluorocarburi (PFC) e perfluorottibromuro possono aumentare la disponibilità di ossigeno per i muscoli senza variazioni nell'emoglobina o nel numero degli eritrociti
- PFC aumentano la concentrazione di ossigeno gassoso dissolto come gas, con effetto immediato dopo la somministrazione e rapidissima eliminazione per via respiratoria
- Tra gli effetti collaterali febbre transitoria anche elevata ($> 40^{\circ}\text{C}$), piastrinopenia, tromboembolia, tossicità renale, epatica e polmonare



TRASPORTATORI DI OSSIGENO A BASE EMOGLOBINICA

- Hb di diversa origine: umana (*HemAssist, PolyHeme, HemoLink*), bovina (*HemoPure*) o ricombinante (*Optro*) modificate per renderle più stabili e meno tossiche, utilizzabili a scopo dopante per aumentare la disponibilità di ossigeno per i muscoli
- Hb sintetiche non rintracciabili nelle urine, ma solo nel sangue, purché il prelievo venga eseguito a ridosso della somministrazione, data la loro completa eliminazione entro 12-24 ore al massimo (recentemente messi a punto metodi elettroforetici per individuare questi prodotti nel sangue per tempi più lunghi)
- Tra gli effetti collaterali si osservano vasocostrizione, ipertensione, tossicità renale e sovraccarico marziale

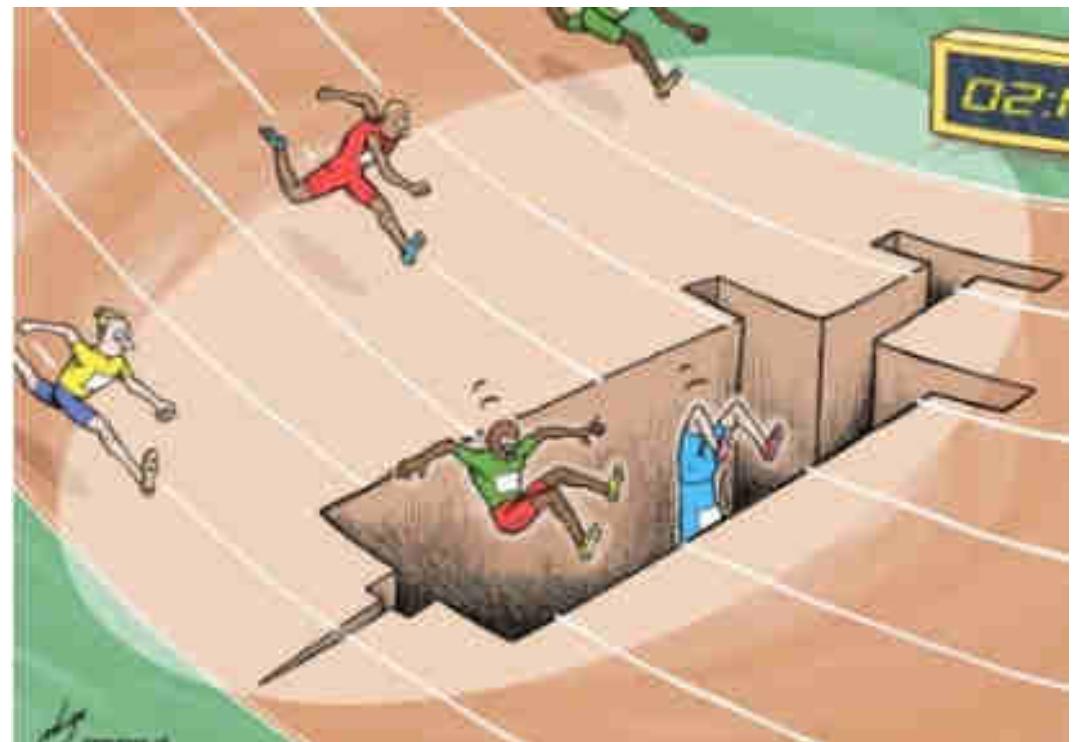
MODIFICATORI ALLOSTERICI DELL'EMOGLOBINA

- Sostanze (Efaproxiral/RSR13) in grado di legarsi in maniera allosterica al tetramero emoglobinico riducendone l'affinità di legame con l'ossigeno e favorendo il rilascio di quest'ultimo ai tessuti, amplificando gli effetti dei modicatori allosterici naturali (2,3-difosfoglicerolo, ioni H^+ , CO_2), aumentando l'ossigenazione dei tessuti in ipossia e durante l'esercizio fisico
- Possono essere utilizzati a scopo dopante per aumentare l'ossigenazione a livello del muscolo durante lo sforzo fisico
- Tra gli effetti collaterali si osservano cefalea, nausea e vomito: in caso di eccesso si può avere desaturazione del sangue arterioso e conseguente ipossiemia con conseguenze potenzialmente molto serie

ALTERAZIONE DEI CONTROLLI ANTI-DOPING

S5 Diuretici ed agenti mascheranti

M2 Manipolazione fisica e chimica



SOSTANZE SEMPRE PROIBITE: S5 DIURETICI E AGENTI MASCHERANTI

S5 Diuretici e agenti mascheranti

Sono proibiti i seguenti diuretici e agenti mascheranti, come altre sostanze con struttura chimica simile o effetto/i biologico/i simile/i

essi includono, ma non sono limitati a:

Desmopressina, probenecid, espansori del plasma (ad es. somministrazione endovenosa di albumina, destrano, amido idrossietilico e mannitollo)

Acetazolamide, amiloride; bumetanide, canrenone, clortalidone, acido etacrinico, furosemide, indapamide, metolazone, spironolattone, tiazidi (ad es. bendroflumetiazide, clorotiazide e idroclorotiazide), triamterene e vaptani (ad es. tolvaptan)

fanno eccezione:

Drosiprenone, parnabromo e inibitori dell'anidrasi carbonica per uso oftalmico (ad es. dorzolamide, brinzolamide)

Somministrazione locale di felipressina in anestesia dentale



La rilevazione nel campione di un atleta prelevato in/fuori competizione di qualsiasi quantità di una sostanza soggetta ad un valore soglia (formoterolo, salbutamolo, catina, efedrina, metilefedrina e pseudoefedrina) in associazione con un diuretico o agente mascherante, sarà considerata esito avverso a meno che l'atleta non abbia ottenuto un'esenzione a fini terapeutici (TUE) per quella sostanza, in aggiunta all'esenzione rilasciata per il diuretico o agente mascherante

DIURETICI E AGENTI MASCHERANTI

Famiglia di farmaci che, con meccanismi differenti, causano un aumento della produzione renale di urina

→ **L'utilizzo di diuretici o di sostanze mascheranti viene utilizzato dagli sportivi con il fine principale di mascherare l'utilizzo di sostanze proibite o per alterare i risultati dei controlli antidoping**

Accelerano la velocità di eliminazione e/o riducono la concentrazione delle sostanze proibite nelle urine, alcuni di essi alcalinizzano le urine, diminuendo l'escrezione delle basi deboli

I diuretici possono essere utilizzati anche per modificare in maniera rapida il peso corporeo negli sport in cui il peso determini l'appartenenza ad una specifica categoria (es. pugilato, judo, wrestling) o per ridurre la ritenzione di fluidi causata dall'abuso di AAS

Effetti collaterali:

aumentando il volume delle urine escrete, favoriscono la perdita di acqua e sali minerali e possono provocare disidratazione

aumentano il rischio trombotico, a causa dell'incremento della viscosità del sangue e possono causare danni gastrointestinali e renali



DIURETICI E AGENTI MASCHERANTI

Tra gli agenti mascheranti proibiti dalla lista WADA è compreso il **Probenecid**, farmaco utilizzato nella terapia dell'iperuricemia e della gotta, nonché in caso di gravi infezioni batteriche (*Probalan®*, *Benuryl®*, *Benemid®*)

Il Probenecid non è un diuretico, bensì un farmaco in grado di bloccare i trasportatori di anioni e cationi e di inibire al contempo il riassorbimento di acido urico e la secrezione attiva di alcuni farmaci

Inibendo l'escrezione di alcuni farmaci viene utilizzato in terapia per aumentare le concentrazioni plasmatiche di alcuni antibiotici (soprattutto beta-lattamici) in caso di gravi infezioni



L'uso del Probenecid a scopo di doping trova razionale nei suoi effetti inibenti l'escrezione di eventuali farmaci assunti dallo sportivo, impedendone, quindi, la rilevazione nelle sue urine

Tra gli altri agenti mascheranti utilizzati a scopo di doping ricordiamo gli **espansori di plasma** (idrossietilamido, albumine, destrano, mannitollo) che, aumentando il volume ematico totale, possono mascherare l'aumento dell'ematocrito causato, ad esempio, dall'assunzione fraudolenta di EPO

METODI SEMPRE PROIBITI: M2 MANIPOLAZIONE CHIMICA E FISICA

M2 Manipolazione fisica e chimica

Sono proibiti i seguenti metodi:

- 1. La manipolazione, o tentata manipolazione, per alterare l'integrità e la conformità dei campioni raccolti in occasione del controllo antidoping**
Questi includono ma non si limitano a: sostituzione e/o alterazione dell'urina, ad es. per aggiunta di proteasi al campione
- 2. Le infusioni e/o le iniezioni endovenose di più di 100 ml per un periodo di 12 ore ad eccezione di quelle legittimamente ricevute nel corso di ricoveri in ospedale, interventi chirurgici o di indagini cliniche**



MANIPOLAZIONE CHIMICA E FISICA

ADULTERAZIONE

→ Alterazione volontaria di un campione biologico raccolto a fini tossicologico-legali (compresi esami anti-doping sportivo) con lo scopo di falsare i risultati degli esami su di esso eseguiti



Le procedure di adulterazione più comuni sono:



- **Flushing:** ingestione di grandi volumi di liquidi allo scopo di diluire *in vivo* l'urina, diminuendo la concentrazione degli analiti ricercati (motivo per cui viene valutato il peso specifico come criterio di idoneità del campione)
- **Sostituzione;** scambio del campione di urina con un campione non contenente sostanze proibite
- **Additivazione:** aggiunta di sostanze chimiche al campione con lo scopo di alterarne i risultati analitici. Può trattarsi sia di sostanze interferenti che di sostanze che reagiscono in maniera specifica con gli analiti da ricercare

SOSTANZE PROIBITE IN COMPETIZIONE

→ In aggiunta alle categorie da S0 a S5 e da M1 a M3, sono proibite in competizione le seguenti categorie

S6 Stimolanti

S7 Narcotici

S8 Cannabinoidi

S9 Glucocorticoidi



SOSTANZE PROIBITE IN COMPETIZIONE: S6 STIMOLANTI

In aggiunta alle categorie da S0 a S5 e da M1 a M3, sono proibite in competizione le seguenti categorie

S6 Stimolanti

Sono proibiti tutti gli stimolanti, inclusi, ove pertinenti, entrambi gli isomeri ottici (ad es. d- e l-)

Gli stimolanti comprendono:

a) Stimolanti "non specificati"

Adrafinil, Amfepramone, Amfetamina, Amfetaminil, Amifenazolo, Benfluorex, Benzilpiperazina, Bromantan, Clobenzorex, Cocaina, Cropropamide, Crotetamide, Fencamina, Fendimetrazina, Fenetillina, Fenfluramina, Fenproporex, Fentermina, Fonturacetam [4-fenilpiracetam (carfedone)], Furfenorex, Lisdexamfetamina, Mefenorex, Mefentermina, Mesocarbo, Metamfetamina (d-), p-Metilamfetamina, Modafinil, Norfenfluramina, Prenilamina, Prolintano

uno stimolante non espressamente elencato in questa sezione è una *Sostanza "Specificata"*

b) Stimolanti "specificati"

includono ma non sono limitati a:

3-Metilexan-2-amina (1,2-Dimetilpentilamina), 4-Metilexan-2-amina (metilesanamina), 4-Metilpentan-2-amina (1,3-Dimetilbutilamina), 5-Metilexan-2 amina (1,4- Dimetilpentilamina), Benzfetamina, Catina**, Catinone e suoi analoghi (mefedrone, metedrone e l-pirrolidinovalerofenone), Dimetamfetamina (dimetilamfetamina), Efedrina***, Epinefrina**** (adrenalina), Eptaminolo, Etamivan, Etilamfetamina, Etilefrina, Famprofazone, Fenbutrazato, Fencamfamina, Fenetilamina e suoi derivati, Fenmetrazina, Fenprometamina, Idrossiamfetamina (paraiddrossiamfetamina), Isometeptene, Levometamfetamina, Meclofenossato, Metilenediossometamfetamina, Metilefedrina***, Metilfenidato, Nichetamide, Norfenefrina, Octodrina (1,5-dimetilesilamina), Octopamina, Oxilofrina (metilsinefrina), Pemolina, Pentetrazolo, Propilesedrina, Pseudoefedrina*****, Selegilina, Sibutramina, Stricnina, Tenamfetamina (metilendiossiamfetamina), Tuaminoeptano

ed altre sostanze con una struttura chimica simile o con simile/i effetto/i biologico/i

Fanno eccezione:

- Clonidina

- I derivati dell'imidazolo per uso topico/oftalmico e gli stimolanti inclusi nel Programma di Monitoraggio 2020*

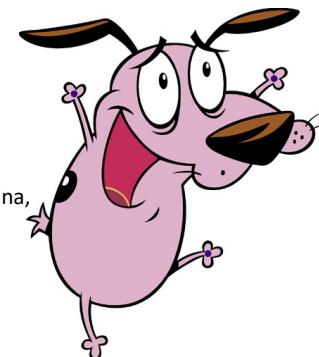
* Bupropione, caffea, nicotina, fenilefrina, fenilpropanolamina, pipradrolo e sinefrina: queste sostanze sono incluse nel Programma di Monitoraggio 2020 e non sono considerate Sostanze Proibite

** Catina: è proibita quando la sua concentrazione nelle urine è superiore a 5 microgrammi per millilitro

*** Efedrina e metilefedrina: sono proibite quando la loro concentrazione nelle urine è superiore a 10 microgrammi per millilitro

**** Epinefrina (adrenalina): non è proibita la somministrazione locale, ad es. nasale, oftalmologica, o in associazione ad agenti anestetici locali

***** Pseudoefedrina: è proibita quando la sua concentrazione nelle urine è superiore a 150 microgrammi per millilitro



SOSTANZE E METODI SPECIFICATI E SOSTANZE DA ABUSO

Dal Codice WADA 2021:

Art. 4.2.2 Sostanze o metodi specificati

“Ai fini dell’applicazione dell’art. 10 (sanzioni individuali) tutte le sostanze vietate devono essere specificate, con l’eccezione di quelle identificate dalla lista delle sostanze proibite. Nessun metodo proibito deve essere considerato metodo specificato a meno che non sia specificamente identificato come metodo specificato sulla lista delle sostanze proibite”

Art. 4.2.3 Sostanze da abuso

“Ai fini dell’applicazione dell’art. 10, le sostanze da abuso includono quelle sostanze proibite che sono specificamente identificate come sostanze da abuso sulla lista delle sostanze proibite, perché sono spesso abusati nella società al di fuori del contesto sportivo”

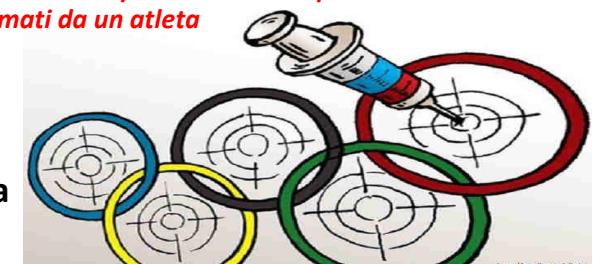
Le Sostanze “specificate” sono le sostanze proibite comprese nella Lista:

- per le quali può esservi una ragione che ne giustifichi l’assunzione, ulteriore rispetto a quella di incrementare le prestazioni sportive (ad es. per scopi terapeutici)
- che consentono, a determinate condizioni, l’applicazione di Esimenti o di Riduzioni alle sanzioni edittali stabilite dal Codice WADA e dalle Agenzie Sportive Nazionali

Il commento all’art. 4.2.2 del codice WADA specifica che:

“Le sostanze e i metodi specificati identificati nell’articolo 4.2.2 non dovrebbero in nessun modo essere considerati meno importanti o meno pericolosi di altre sostanze dopanti, piuttosto sono semplicemente sostanze e metodi che più probabilmente vengono usati o consumati da un atleta per uno scopo diverso dal miglioramento delle prestazioni sportive”

Le Sostanze “non specificate” sono le sostanze la cui assunzione non può mai essere giustificata, la cui semplice presenza nel campione biologico costituisce violazione delle norme antidoping, e rispetto alla quali l’incremento della prestazione dell’Atleta è l’unica giustifica all’assunzione



STIMOLANTI

Categoria che comprende numerosi farmaci di tipo diverso e con diversi meccanismi d'azione, con il tratto in comune di produrre una stimolazione del SNC (aumento della vigilanza, dell'aggressività e della competitività associati a riduzione del senso di fatica e di fame)

L'abuso può anche determinare una diminuzione della capacità di autocontrollo che può esporre l'atleta a situazioni di pericolo per sé e per gli altri

Amfetamina e derivati sono stati storicamente tra i farmaci maggiormente utilizzati a scopo di doping, rendendosi responsabili del decesso di diversi atleti

Altri stimolanti il cui uso è diffuso sono efedrina e derivati (presenti anche in diversi decongestionanti nasali) e cocaina

Effetti ricercati a scopo di doping:

Stimolazione del SNC con aumento dell'attenzione e della vigilanza

Aumento della competitività e dell'aggressività

Riduzione della percezione della fatica ed aumento del rendimento in allenamento ed in gara

Euforia

Effetti collaterali:

Insonnia, sindromi psicotiche, aggressività, anorexia, esaurimento fisico

Tolleranza e dipendenza (fisica e psichica), craving, tossicomania

Effetti cardiocircolatori: tachicardia, con rischio di infarto ed arresto cardiaco



SOSTANZE PROIBITE IN COMPETIZIONE NARCOTICI CANNABINOIDI GLUCOCORTICOIDI

S7 Narcotici

I seguenti narcotici ed i loro isomeri ottici, ad es. le isoforme d- ed l- dove rilevante, sono proibiti:

Buprenorfina, Destromoramide, Diamorfina (eroina), Fentanil e suoi derivati, Idromorfone, Metadone, Morfina, Nicomorfina, Ossicodone, Ossimorfone, Pentazocina, Petidina

S8 Cannabinoidi

Tutti i cannabinoidi naturali e sintetici sono proibiti, ad esempio:

Cannabis (hashish, marijuana) e prodotti della cannabis, Tetraidrocannabinoli (THCs) naturali e sintetici, Cannabinoidi sintetici che mimano gli effetti del THC

Fa eccezione: Cannabidiolo



S9 Glucocorticoidi

Sono proibiti tutti i glucocorticoidi quando somministrati per via orale, endovenosa, intramuscolare o rettale

Includono ma non sono limitati a: Betametasone, Budesonide, Cortisone, Deflazacort, Desametasone, Fluticasone, Idrocortisone, Metilprednisolone, Prednisolone, Triamcinolone

NARCOTICI

Classe di sostanze dalla potentissima azione analgesica rappresentate dalla morfina e dai suoi numerosi analoghi chimici oppiacei (eroina, metadone, burprenorfina) e dagli oppioidi sintetici, quali fentanyl e suoi derivati

Utilizzati a scopo di doping per i loro effetti sulla percezione del dolore (innalzamento della soglia di percezione), con conseguente aumento della resistenza e della tolleranza ad esso

L'uso di narcotici permette all'atleta di compiere sforzi importanti anche in presenza di dolore, di contro, però, si può avere un aggravamento delle lesioni fino alla produzione di danni permanenti

Gli effetti collaterali comprendono depressione dell'attività del SNC, con diminuzione delle capacità di concentrazione e coordinazione, miosi, depressione respiratoria e broncospasmo, nausea e vomito, stipsi e cambiamenti dell'umore, associati a tolleranza, assuefazione e fortissima dipendenza fisica e psichica



Oggi poco usati a scopo di doping, grazie alla sintesi di nuove molecole con marcati effetti analgesici (anestetici locali), prive degli importanti effetti collaterali degli oppiacei

CANNABINOIDI

Alcaloidi di origine naturale contenuti nella *Cannabis sativa* (marijuana, hashish) o ottenuti per sintesi (cannabinoidi sintetici), dagli effetti euforizzanti e rilassanti, utilizzati in terapia per combattere nausea e vomito indotte dalla chemioterapia antitumorale e per favorire il rilassamento nei trattamenti psicoanalitici

Gli effetti dei cannabinoidi, mediati dall'interazione con recettori cannabinergici nel SNC, sono caratterizzati da aumento del senso di benessere generale e da euforia psicologica

A scopo di doping, questi effetti, potrebbero essere ricercati per ridurre la tensione emotiva e l'ansia da prestazione pre-gara

L'atleta che gareggia sotto effetto di cannabinoidi presenta distorsioni della percezione del rischio che può non essere correttamente valutato e che possono portarlo a compiere azioni che non farebbe in condizioni normali

Nella maggior parte dei casi, gli atleti che utilizzano cannabinoidi lo fanno non per ottenere benefici sulla prestazione sportiva, bensì per un'abitudine al loro consumo al di fuori del contesto sportivo

Gli effetti collaterali comprendono riduzione della forza muscolare e delle capacità di concentrazione e coordinazione, aumento dei tempi di reazione, deficit della memoria a breve termine, ansia, agitazione, psicosi, attacchi di panico e confusione mentale, oltre a possibili effetti cancerogeni, legati principalmente alla via di assunzione



GLUCOCORTICOIDI

Ormoni steroidei di origine naturale o sintetica, con effetti a livello metabolico, utilizzati in terapia per il trattamento del dolore acuto, grazie ai loro effetti antinfiammatori ed analgesici

L'azione principale è sul metabolismo del glucosio, con azione gluconeogenetica a spese delle proteine (effetto catabolico), effetti si osservano anche sul metabolismo lipidico

L'utilizzo a scopo di doping trova razionale negli effetti euforizzanti e nell'attività antinfiammatoria e broncodilatatoria, con aumento della capacità di resistenza a stimoli nocivi o dolorosi e riduzione della percezione della fatica

Effetti collaterali dell'uso di glucocorticoidi: iperglicemia e diabete, ritenzione idrica, iperlipidemia, iperuricemia, ipertensione, ulcera gastrica, squilibrio elettrolitico, effetto catabolico sulle ossa (osteoporosi) e sui muscoli (atrofia muscolare), aumentata suscettibilità alle infezioni (effetto soppressivo sull'attività del sistema immunitario), insonnia

Un uso continuato di glucocorticoidi esogeni determina, inoltre, l'inibizione della produzione endogena di questi ormoni attraverso un meccanismo di feedback negativo sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrene con blocco della sintesi di CRH ed ACTH



SOSTANZE PROIBITE IN PARTICOLARI SPORT

P1 Beta-bloccanti

I beta-bloccanti sono proibiti solo in competizione, nelle seguenti discipline sportive e proibiti anche fuori competizione dove indicato

Tiro con l'arco (WA)*, Automobilismo (FIA), Biliardo (tutte le discipline) (WCBS), Frecce (WDF), Golf (IGF), Tiro (ISSF, IPC)*, Sci/Snowboard (FIS) nel salto con gli sci, nelle esibizioni aeree/halfpipe dello sci acrobatico e halfpipe/big air dello snowboard, Sport subacquei (CMAS) apnea in assetto costante con o senza pinne, apnea in assetto dinamico con e senza pinne, apnea libera, Jump Blue in apnea, pesca subacquea, apnea statica, tiro al bersaglio subacqueo e apnea in assetto variabile

* Proibiti anche Fuori-Competizione



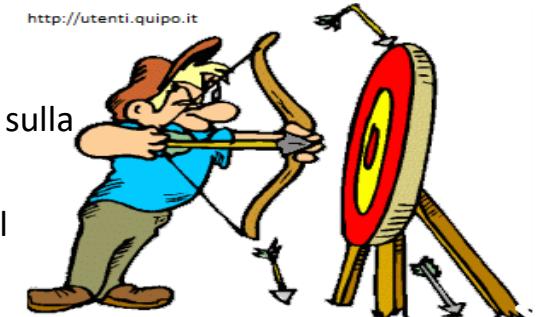
I beta-bloccanti includono, ma non sono limitati a: Acebutololo, Alprenololo, Atenololo, Betassololo, Bisoprololo, Bunololo, Carteololo, Carvedilolo, Celiprololo, Esmololo, Labetalolo, Metipranololo, Metoprololo, Nadololo, Oxprenololo, Pindololo, Propranololo, Sotalolo, Timololo

BETA-BLOCCANTI

Famiglia di farmaci utilizzati nel trattamento dell'ipertensione e di altre patologie cardiache che agiscono tramite il blocco dei recettori beta-adrenergici con effetti inibitori sul sistema simpatico e sull'azione degli ormoni da stress adrenalina e noradrenalina

Proibiti negli sport in cui l'aumento della frequenza cardiaca può influire sulla prestazione e sulla coordinazione (sport di destrezza)

Non utilizzati a scopo di doping negli sport di forza o resistenza, per gli effetti deprimenti sul cuore (\downarrow VO₂max) e per quelli ergolitici (ipoglicemia, antiglicogenolitici ed antilipolitici) che determinano, nel complesso, riduzione della tolleranza allo sforzo fisico



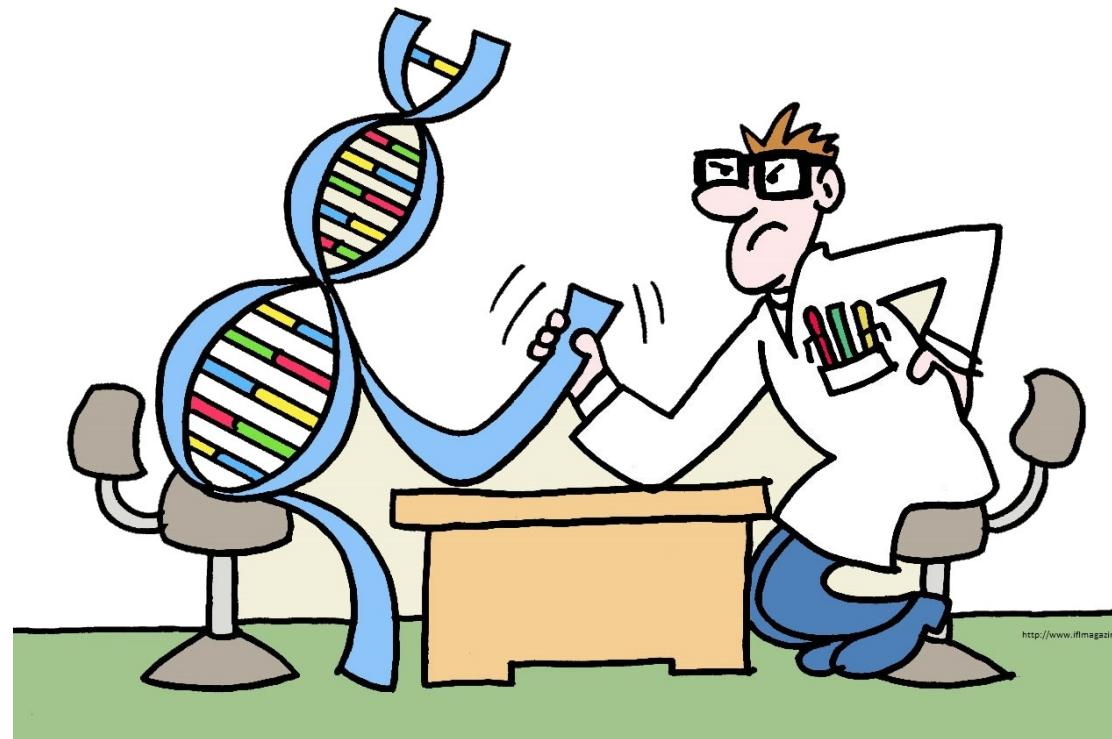
Effetti ricercati a scopo di doping: diminuzione delle funzioni cardiache, della pressione arteriosa e del consumo di ossigeno, riduzione del tremore e dell'ansia (effetto calmante)

Effetti collaterali: bradicardia con possibile arresto cardiaco, senso di fatica, ipoglicemia, asma, disturbi dell'umore, disfunzione erektil

→ **Utilizzo a scopo di doping non per migliorare le prestazioni, ma per ridurre i tremori delle mani e la frequenza cardiaca in alcuni sport di precisione e concentrazione (es. gare di tiro)**

DOPING GENETICO E CELLULARE

M3 Doping genetico e cellulare



METODI SEMPRE PROIBITI: M3 DOPING GENETICO E CELLULARE

M3 Doping genetico e cellulare

Sono proibiti i seguenti metodi, che hanno la potenziale capacità di migliorare la performance atletica:

1. L'utilizzo di acidi nucleici o di analoghi di acido nucleico che possono alterare la sequenza del genoma e/o l'espressione genica con qualsiasi meccanismo

Inclusi ma non limitati a tecnologie di modifica genica, silenziamento genico e trasferimento genico

3. L'utilizzo di cellule normali o geneticamente modificate



DOPING GENETICO E CELLULARE

→ Uso non terapeutico di cellule, elementi genici e di modulazione dell'espressione genica al fine di migliorare la prestazione sportiva

Vengono utilizzate le tecniche impiegate nella terapia genica con lo scopo di migliorare la performance sportiva



Il doping genetico e cellulare può essere previsto ed applicato a 3 differenti livelli:

- **Pre-competizione:** per indurre effetti anabolizzanti
- **Durante la competizione:** per il miglioramento della prestazione sportiva
- **Post-competizione:** per accelerare il recupero fisico e la riparazione di eventuali traumi

DOPING GENETICO: RAZIONALE SCIENTIFICO

Le capacità individuali di un atleta sono dipendenti da molteplici fattori, alcuni innati, altri adattativi:

- allenamento costante
- meccanismi adattativi dei sistemi cardiocircolatorio, respiratorio, muscolo-scheletrico ecc.
- caratteristiche geneticamente determinate

Il doping genetico può essere utilizzato per incidere su quest'ultima variante, in particolar modo per quello che concerne le caratteristiche legate alla forza muscolare, alla resistenza allo sforzo, alla velocità, al controllo emozionale ecc.

Modificare il genotipo dell'atleta, introducendo varianti genetiche correlate al miglioramento di queste caratteristiche potrebbe condurre al miglioramento della performance atletica

→ Il cambiamento di strategia è legato al passaggio da una somministrazione esogena (doping tradizionale), all'acquisizione della "capacità", da parte di un organismo, di produzione endogena di sostanze in grado di migliorare la performance sportiva (doping genetico)



DOPING GENETICO: APPROCCIO



Approcci possibili per trattamenti di doping genetico a fini sportivi:

EX-VIVO

Strategia basata sull'isolamento di cellule dall'atleta, seguito dalla manipolazione genetica in laboratorio, dalla selezione post-trasferimento e dalla reintroduzione nel corpo es. modifiche dell'emopoiesi (recettore dell'EPO, incremento del trasporto di ossigeno ecc.)

La strategia in-vivo, invece, prevede l'introduzione diretta del materiale genetico mutato direttamente nell'organismo dell'atleta attraverso un vettore

IN-VIVO LOCALE

Quando il materiale genetico mutato è veicolato localmente nel sito d'azione mediante, ad esempio, mediante iniezione intramuscolare o intra-articolare es. effetti sui muscoli (fattori di crescita muscolare, modicatori dello sviluppo delle fibre muscolari, miostatina, follistatina, cardiomodulatori ecc.) e sulle articolazioni (antidolorifici, fattori di riparazione, inibitori dell'infiammazione ecc.)

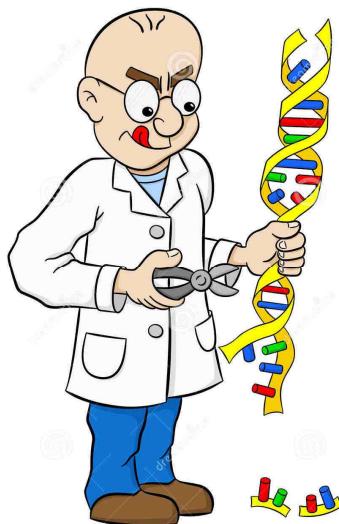
IN-VIVO SISTEMICO

Quando il materiale genetico mutato è inoculato per via sistemica nell'organismo, ad esempio, mediante somministrazione endovenosa es. anabolizzanti, fattori ormonali, antidolorifici, fattori di controllo vascolare ecc.

DOPING GENETICO: POSSIBILI GENI TARGET

→ GENI CORRELATI ALLA RESISTENZA ALLO SFORZO (ENDURANCE)

- ERITROPOIETINA (EPO)
- HYPOXIA INDUCED FACTOR (HIF-1)



- RECETTORE DELL'ATTIVATORE DELLA PROLIFERAZIONE DEI PEROSSISOMI (PPAR δ)
- FATTORI ANGIOGENETICI
 - FATTORE DI CRESCITA ENDOTELIALE VASCOLARE (VEGF)
 - FATTORE DI CRESCITA DEI FIBROBLASTI (FGF)
- GENI IMPLICATI NEL METABOLISMO DEL GLUCOSIO
 - GLUCAGONE-LIKE PEPTIDE (GLP)
 - FOSFOENOLPIRUVATO-DECARBOSSILASI (PCK1)

GENI CORRELATI ALLA RESISTENZA

ERITROPOIETINA (EPO) Locus 7q22

- Effetti ricercati: aumento del numero dei globuli rossi e conseguente incremento della capacità di trasporto di ossigeno con aumento della resistenza allo sforzo
- Rischi connessi all'eccessiva viscosità del sangue
- Mutazioni geniche legate all'EPO sono state ottenute sperimentalmente per iniezione i.m. utilizzando Adenovirus come vettore
- A scopo di doping viene introdotta nell'organismo, tramite un vettore virale, una copia aggiuntiva del gene EPO, determinandone un'iperespressione

HYPOXIA INDUCED FACTOR (HIF-1) Locus 14q23

- Effetti ricercati: aumento dei globuli rossi con incremento della capacità di trasporto di ossigeno per stimolo alla produzione di EPO e all'angiogenesi
- I rischi dell'overespressione di HIF-1 sono legati all'aumento della viscosità sanguigna, a severe reazioni immunitarie e a possibili neoplasie
- Il gene HIF-1 codifica per proteine coinvolte in adattamento a condizioni di ipossia, eritropoiesi e metabolismo del ferro, angiogenesi e regolazione del metabolismo del glucosio, la sua azione si esplica anche nella regolazione della proliferazione e delle interazioni cellulari e nell'apoptosi



GENI CORRELATI ALLA RESISTENZA

RECETTORE ATTIVANTE LA PROLIFERAZIONE DEI PEROSSISOMI (PPAR) Locus 6p21.2

- Famiglia di recettori, tra cui PPAR δ legato a riduzione di peso, accelerazione del metabolismo delle cellule muscolari scheletriche e incremento in sensibilità all'insulina e lipolisi con aumento del tasso metabolico e della resistenza muscolare
- Espressione di PPAR δ associata a formazione di nuove fibre muscolari di tipo I a contrazione lenta e alla loro transizione a fibre muscolari di tipo II a contrazione rapida, favorendo un aumento dello sforzo sostenibile con miglioramento nella resistenza e nella velocità dell'atleta
- PPAR δ riveste un ruolo importante nella differenziazione e nella maturazione degli adipociti e nel controllo dell'equilibrio energetico dell'organismo, contribuendo al controllo del peso corporeo
- Rischi correlati alla sua overespressione legati ad innalzamento eccessivo degli ormoni sessuali e neoplasie

FATTORI CORRELATI ALL'ANGIOGENESI

- VEGF (fattore di crescita endoteliale vascolare) e FGF (fattore di crescita dei fibroblasti), la cui espressione è correlata all'induzione della formazione di nuovi vasi sanguigni (angiogenesi)
- **Uso a fini di doping perché l'aumento della vascolarizzazione favorirebbe l'apporto di ossigeno ai tessuti con aumento della capacità di resistenza**
- Un'overespressione di questi fattori può causare rischio neoplastico e di severe reazioni immunitarie
- L'induzione dell'angiogenesi ricercata è sito-specifica e viene ottenuta per iniezione locale di materiale genetico codificante per questi fattori di crescita, utilizzando plasmidi a DNA e/o adenovirus come vettori



© If this message is present, or any other indicator that this image is being used without permission, a charge will be made to the user. Payment will be requested. IMAGE IS FOR USE ILLEGALLY

GENI CORRELATI ALLA RESISTENZA

GENI IMPLICATI NEL METABOLISMO DEL GLUCOSIO

GLP (glucagone-like peptide) e PCK1 (fosfoenolpiruvato carbossichinasi)

Nuovo possibile approccio legato a studi di terapia genica in corso con il fine di alterare il metabolismo del glucosio, ad esempio in caso di diabete

Si pensa che l'espressione locale in un organo bersaglio di determinate proteine sia in grado di migliorare l'efficienza di tale organo

Ad esempio il fegato è un organo fondamentale nella conservazione e nella sintesi di glucosio (glicogenosintesi e gluconeogenesi): mediante l'inserimento di geni particolari all'interno degli epatociti potrebbe essere possibile migliorare l'efficienza della conservazione e/o della produzione di glucosio

Tra i possibili geni target individuati a tale proposito vi sono GLP (glucagone-like peptide), implicato nella sensibilità cellulare all'insulina e nella gluconeogenesi epatica e PCK1 (fosfoenolpiruvato carbossichinasi), gene chiave nell'omeostasi del glucosio ed implicato nel ciclo di Krebs



DOPING GENETICO: POSSIBILI GENI TARGET

→ GENI CORRELATI ALL'AUMENTO ED ALLA RIGENERAZIONE DELLA MASSA MUSCOLARE

- FATTORI DI STIMOLO E CONTROLLO DELLA CRESCITA MUSCOLARE

- INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR (IGF1)
 - MUSCLE GROWTH FACTOR (MGF)

- FATTORI DI STIMOLO E CONTROLLO DELLA MASSA MUSCOLARE

- ORMONE DELLA CRESCITA (GH)

- FATTORI DI IPERTROFIA MUSCOLARE

- MIOSTATINA
 - FOLLISTATINA



<https://www.albanesi.it>

GENI CORRELATI ALL'AUMENTO DELLA MASSA MUSCOLARE

INSULINE-LIKE GROWTH FACTOR (IGF1) o SOMATOMEDINA C

- Prodotto dal fegato sotto stimolo del GH, la sua azione porta a ipertrofia scheletrica e del muscolo scheletrico con un associato effetto protettivo sulle cartilagini
- Il segnale di stop alla crescita incontrollata della massa muscolare dipende da un'altra proteina, la miostatina: la crescita muscolare viene regolata dal fine equilibrio tra questi fattori
- **L'introduzione di una copia extra del gene IGF1 potrebbe aggirare il sistema di controllo consentendo di aumentare la massa muscolare e favorirne la riparazione dopo microtraumi da sforzo: la fibra lesionata verrebbe riparata rapidamente e con un numero maggiore di miofibrille rispetto a quante ne possedeva prima della lesione**
- Tra gli effetti collaterali si osserva ipoglicemia, simile a quella causata dall'azione dell'insulina



<https://manuelgeronimo.wordpress.com>

MIOSTATINA

- Proteina della famiglia dei TGF- β prodotta dalle cellule muscolari implicata nella differenziazione del muscolo scheletrico, la cui funzione principale è di regolatore negativo della crescita muscolare
- Agisce per interazione con un recettore tipo activina II (ActRIIB) che viene inibita dalla follistatina
- Mutazioni nel gene della miostatina possono provocare crescita muscolare abnorme
- **Utilizzo a scopo di doping, inducendone iperespressione per mezzo di vettori adenovirali, per ottenere ipertrofia muscolare con diversi possibili approcci: mutazione del gene per la miostatina (con espressione di una proteina anomala ipofunzionante), inibizione del recettore della miostatina, aumento di espressione della follistatina (inibitore naturale dell'azione della miostatina)**
- Potenziali rischi legati al sovraccarico muscolo-scheletrico con il rischio di lesioni ossee e tendinee e allo sviluppo di cardiomiopatia ipertonica

DOPING GENETICO: ALTRI POSSIBILI GENI TARGET

→ GENI CORRELATI ALL'AUMENTO DI FORZA MUSCOLARE E VELOCITÀ

- PROTEIN CHINASI AMP-DIPENDENTE (AMPK): AICAR

→ GENI CORRELATI ALLA SUSCETTIBILITÀ A LESIONI

- GENI DI SUSCETTIBILITÀ ALLE LESIONI TENDINEE

- COLLAGENE I (COL1A1)

- COLLAGENE V (COL5A1)

- METALLOPROTEINASI DI MATRICE (MMP3)

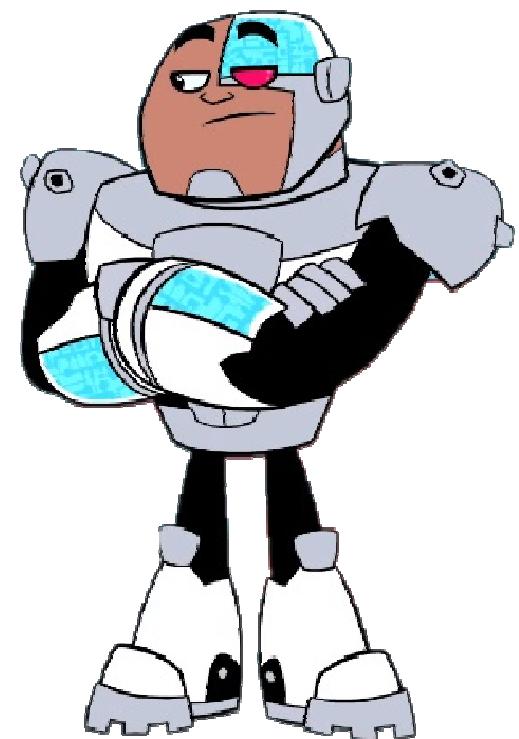
- TENASCINA-C (TNC)

→ GENI IMPLICATI NELLA PERCEZIONE DEL DOLORE

- PREPROENCEFALINE

→ GENI IMPLICATI NELLA GESTONE DELLO STRESS E DELLO STATO EMOTIVO

- TRASPORTATORE DELLA SEROTONINA (5HTT)
- BRAIN-DERIVED NEUTROPIRIC FACTOR (BDNF)



ALTRI POSSIBILI GENI TARGET

→ GENI CORRELATI ALL'AUMENTO DI FORZA MUSCOLARE E VELOCITÀ

STIMOLATORI DELL'ATTIVITÀ DELLA CHINASI AMP-DIPENDENTE (AMPK)

- Utilizzo possibile a scopo di doping per incrementare la velocità e la forza dell'atleta
- AICAR è un analogo dell'AMP in grado di stimolare l'attività della proteina chinasi AMP-dipendente (AMPK): si tratta di una molecola utilizzata nel trattamento e nella protezione dall'ischemia cardiaca causata da insufficiente flusso ematico al miocardio
- L'attivazione dell'AMPK può portare alla riduzione di processi anabolici (biosintesi di acidi grassi e proteine) ed all'incremento di vie cataboliche (glicolisi e β-ossidazione dei grassi) con conseguenti aumento di velocità e forza muscolare (fino al 20-40% secondo dati sperimentali)



→ GENI IMPLICATI NELA SUSCETTIBILITÀ ALLE LESIONI TENDINEE

COLLAGENE I (COL1A1) e COLLAGENE V (COL5A1), METALLOPROTEINASI DI MATRICE-3 (MMP3), TENASCINA-C (TNC)

- Utilizzo possibile a scopo di doping genetico con il fine di diminuire la possibilità di lesioni tendinee e tendinopatie
- Il gene del collagene (COL) codifica per la principale componente strutturale dei tendini e dei legamenti, mentre i geni per la metalloproteinasi di matrice-3 (MMP3) e per la tenascina-C (TNC) codificano per proteine che influenzano la struttura e le interazioni tra i tendini e la matrice extracellulare
- Questi geni possono essere, quindi, coinvolti nella predisposizione genetica al rischio di sviluppare tendinopatie e lesioni tendinee: polimorfismi dei geni del collagene I e V (COL1A1 e COL5A1) e dei geni MMP3 e TNC sono noti per essere associati a maggior rischio di lesioni del tendine di Achille nella popolazione fisicamente attiva

ALTRI POSSIBILI GENI TARGET

→ GENI IMPLICATI NELLA PERCEZIONE DEL DOLORE

PREPROENCEFALINA

- Precursore di oppioidi endogeni che agisce interagendo con i propri recettori oppioidi con effetti analgesici
- **Utilizzo possibile a scopo di doping per ridurre la percezione del dolore durante lo sforzo atletico e consentire all'atleta di spingere al massimo per ottenere prestazioni migliori**
- In corso studi sul gene della preproencefalina per la terapia genica del dolore usando come vettore il virus dell'HSV il cui neurotropismo verrebbe sfruttato per consegnare il transgene all'interno dei neuroni fino ai gangli delle radici dorsali, dove l'iperespressione della proteina ridurrebbe la risposta agli stimoli dolorifici e sulla valutazione di possibile utilizzo nella terapia genica del dolore cronico e nel dolore acuto ed intermittente tipico dello sportivo



→ GENI IMPLICATI NELLA GESTIONE DELLO STRESS E DELL'EMOTIVITÀ

- **Utilizzo possibile a scopo di doping per migliorare la resistenza allo stress e la gestione del carico emotivo nell'atleta, orientando il pensiero motivazionale dell'atleta durante l'allenamento e in competizione**

TRASPORTATORE DELLA SEROTONINA (5HTT)

- Neurotrasmettore implicato nel controllo di diverse attività neurologiche (stato dell'umore, sonno, appetito), esiste in 2 varianti alleliche (S short e L long) con effetti diversi sull'attività trascrizionale del promotore associato al gene della 5HT: omozigoti S/S ed eterozigoti S/L hanno ridotta attività con minore espressione e minore efficienza nella ricaptazione della 5HT (parrebbe che atlete S/S sarebbero meno irritabili e pessimiste rispetto ad atlete S/L e L/L) e che differenti polimorfismi nei 5' fiancheggianti le regioni regolatorie del gene 5HTT sarebbero associati con diverse capacità di controllo delle emozioni

BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF)

- Fattore neurotrofico coinvolto nella vitalità e nel funzionamento di diversi sottotipi neuronali
- È iperespresso dopo esercizio fisico e i suoi livelli permangono elevati per circa 2 settimane, di contro il sovrallenamento ne riduce i livelli e si accompagna ad ansia, irritazione e senso di sconforto.
- È dimostrata una correlazione tra alcuni polimorfismi del gene BDNF e la risposta psicologica allo stress, all'esercizio e alla motivazione

RISCHI CORRELATI AL DOPING GENETICO

- Possibilità di reazioni immunitarie fino all'anafilassi potenzialmente fatale
- Possibilità di contaminazione dei vettori utilizzati (patogeni, allergeni), di ripristino di virulenza dei vettori virali o di uso di vettori o di vie di somministrazione inadeguati
- Possibilità di effetti dannosi su tendini, ossa e muscoli correlati all'eccessivo sviluppo delle masse muscolari non associati a contestuale sviluppo delle strutture di sostegno
- Possibilità di danneggiamento di geni endogeni o di mutazioni inserzionali legate all'integrazione del DNA portato dal vettore nel genoma del soggetto
- Possibilità di aumento del rischio neoplastico per mutagenesi inserzionale o per iperespressione di geni codificanti per proteine ad azione pro-mitotica o anti-apoptotica (es. GH, EPO)
- Possibilità di essere scoperti ai controlli antidoping



CONTROLLI ANTI-DOPING GENETICO: IL PASSAPORTO MOLECOLARE

Dal punto di vista dei controlli antidoping vi sono criticità che rendono difficile la rilevazione del doping genetico:

- il DNA esogeno introdotto potrebbe dirigere la sintesi di una proteina identica a quella endogena
- la proteina esogena introdotta potrebbe essere identica a quella endogena
- il DNA esogeno è riscontrabile solo localmente quando introdotto per via iniettiva
- per la rilevazione e l'individuazione di una proteina artificiale è necessario conoscerne l'esatta sequenza
- il prodotto di un gene modificato potrebbe essere identico a quello del gene non mutato
- si tratta di una nuova tipologia di doping con associate difficoltà nel riconoscimento e nell'individuazione



IL PASSAPORTO MOLECOLARE

- Una delle proposte per individuare questa tipologia di doping è l'introduzione nel Passaporto Biologico dell'Atleta di un modulo molecolare per tracciare l'espressione genica tipica di ogni atleta, il c.d. "Passaporto Molecolare"
- Il Passaporto Molecolare potrebbe favorire l'individuazione di eventuali geni estranei introdotti nell'organismo a fini del miglioramento delle prestazioni sportive
- La determinazione periodica dei livelli di espressione genica potrebbe permettere la definizione di pattern specifici di espressione per l'atleta, che permetterebbero il riscontro di eventuali alterazioni potenzialmente ascrivibili a doping genetico

Grazie per l'attenzione



Dott. Luigi Sabbatella

Biologo Laboratorista e Forense

Consulente Tecnico per la Tossicologia Forense

3383207793

l.sabbatella@email.it