

*(BIOCHIMICA, FISIOLOGIA,
FISIOPATOLOGIA E DIAGNOSTICA
DEL) DOPING*



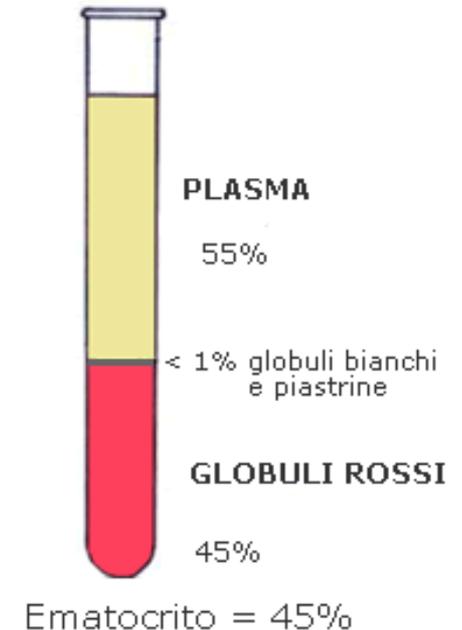
DOPING: CHI, IO?

“Non c’è supermarket dove si compra la grinta: o ce l’hai, o non ce l’hai . Puoi avere il tecnico migliore, lo stipendio più alto e tutti gli stimoli di questo mondo, ma quando sei al limite della fatica sono le tue doti ad aiutarti” M. Pantani



Lo strano caso di P.M.

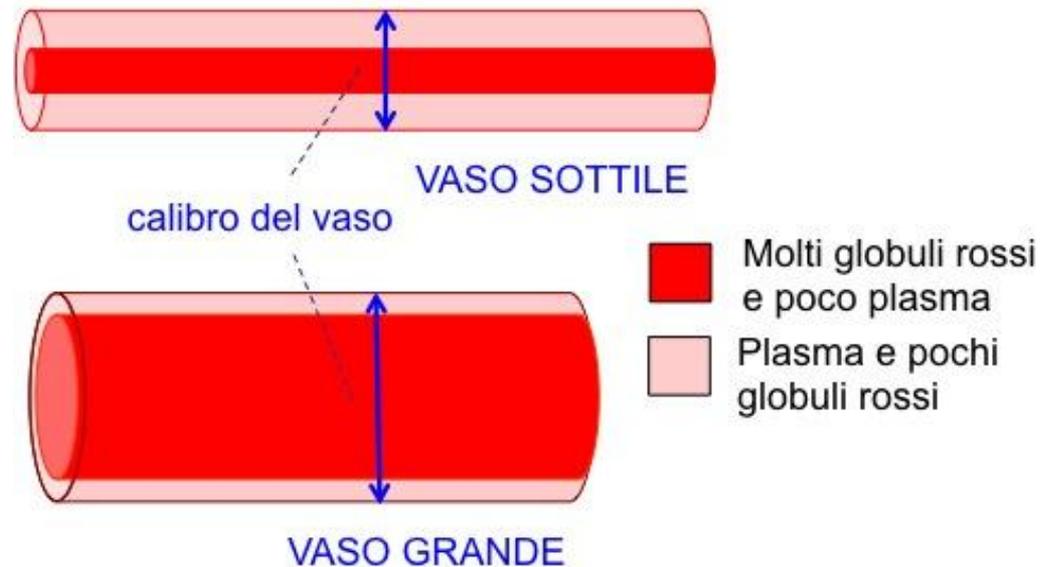
- P.M. – 13 gennaio 1970
- Età: 29 anni (al 5/6/1999)
- Ematocrito: 52% (40 – 50 %)
- Diagnosi: sospetta **policitemia poliglobulica**



Lo strano caso di P.M.

I soggetti affetti da policitemia sono a **rischio** di **trombosi** ed **ischemie** (infarto del miocardio, ictus) soprattutto se posti **sotto sforzo**

EFFETTO
FÅHRÆUS-LINDQVIST



Lo strano caso di P.M.

POLICITEMIA: aumento della componente corpuscolata del sangue, specialmente della serie “rossa” (**eritrociti**)

- **Primitive**
 - sindrome mielo-proliferativa (m. di Osler-Vaquez)
- **Secondarie**
 - da ipossia cronica (enfisema, BPCO, cardiopatie congenite)
 - da inappropriata secrezione EPO (IRC, t. epatici)

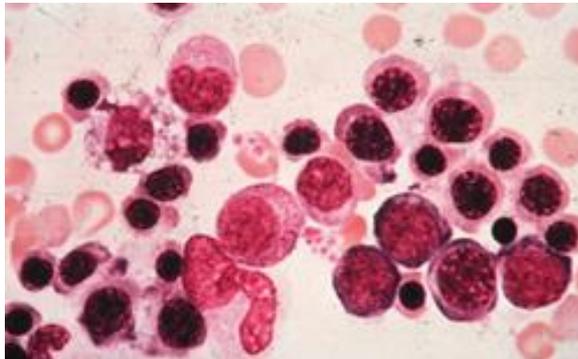
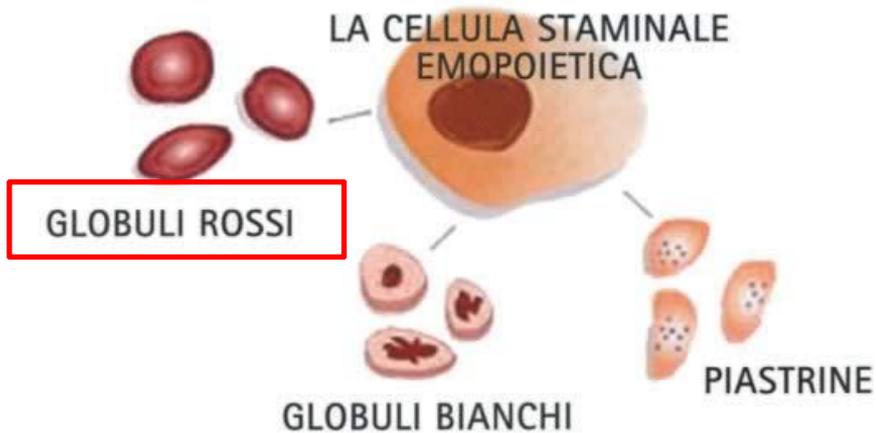
Lo strano caso di P.M.

DIAGNOSI DIFFERENZIALE:

- **Formula emocromo-citometrica**
 - RBC, WBC, PLT, Ret%
 - Hgb, Fe
- **EPO**
- **Anamnesi**
 - Età, sintomi e segni

Lo strano caso di P.M.

Sospetto 1: policitemia essenziale?



EPO EMATICA ED URINARIA DEVONO ESSERE SCARSE O ASSENTI

I VALORI DI EPO RINVENUTI IN P.M. ERANO BEN ELEVATI

L'eritropoietina o EPO è un ormone glicoproteico prodotto negli esseri umani dai reni e in misura minore dal fegato e dal cervello, che ha come funzione principale la regolazione dell'eritropoiesi

Lo strano caso di P.M.

Sospetto 2: policitemia secondaria?

Adattamento all'ipossia d'alta quota (>2500 m)

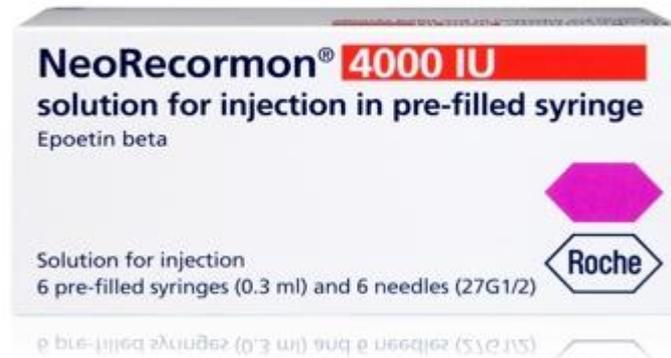


IL SOGGETTO NELLA
SETTIMANA
PRECEDENTE LA
RILEVAZIONE HA
VISSUTO A QUOTE DI
GRAN LUNGA
INFERIORI AI 2500 m

Lo strano caso di P.M.

Sospetto 3: doping?

Assunzione di un farmaco contenente **Eritropoietina (EPO) Umana Ricombinante (rHuEPO)**

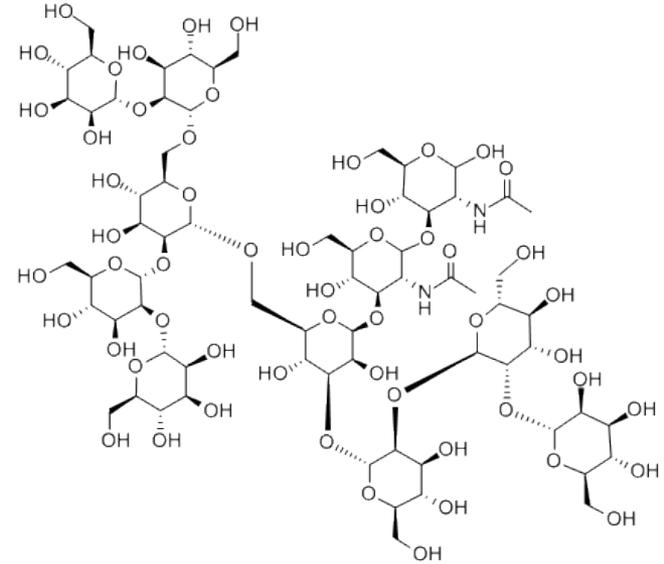
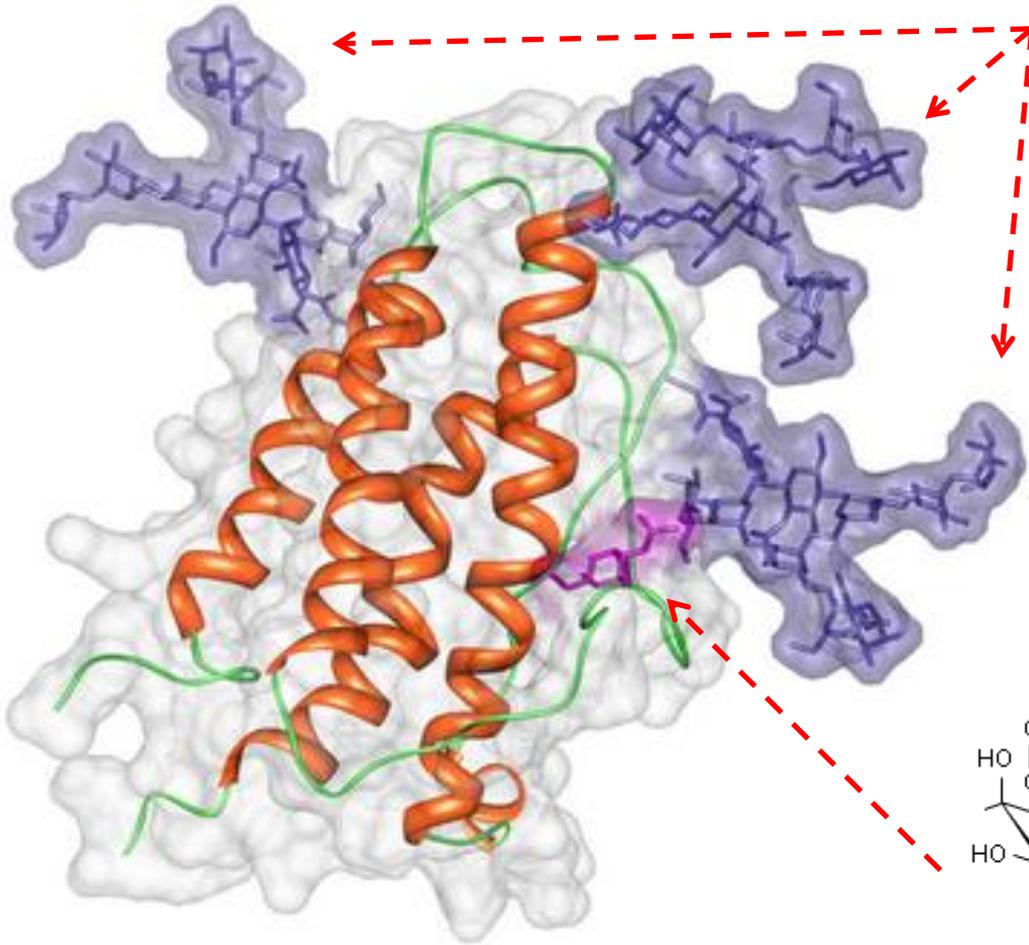


Il **test di screening** condotto nelle urine di Marco Pantani dimostra la presenza di una molecola ormonale **EPO-simile** di natura **sintetica esogena**

EPO

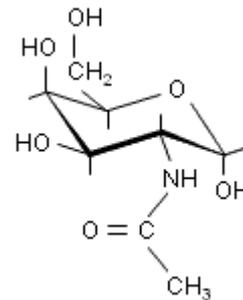
- L'Eritropoietina (EPO) è un **ormone glicoproteico** di 165 aminoacidi prodotto a livello **renale** da **cellule sensibili** alle **variazioni dell'ossigenazione del sangue (pO_2)** e
- stimola **selettivamente** la **proliferazione** delle cellule della **linea rossa**
- La produzione di EPO può aumentare fino a **1000 volte** oltre il valore fisiologico in condizioni di **estrema ipossia** (da un massimo fisiologico di 25 mU/mL a quasi 30000 mU/mL)
- L'**emivita** dell'ormone è dell'ordine di 4-5 ore

EPO



Mannononaose-di(N-Acetyl-D-Glucosamine)
(Man)₉(GlcNAc)₂

http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB3398869.htm

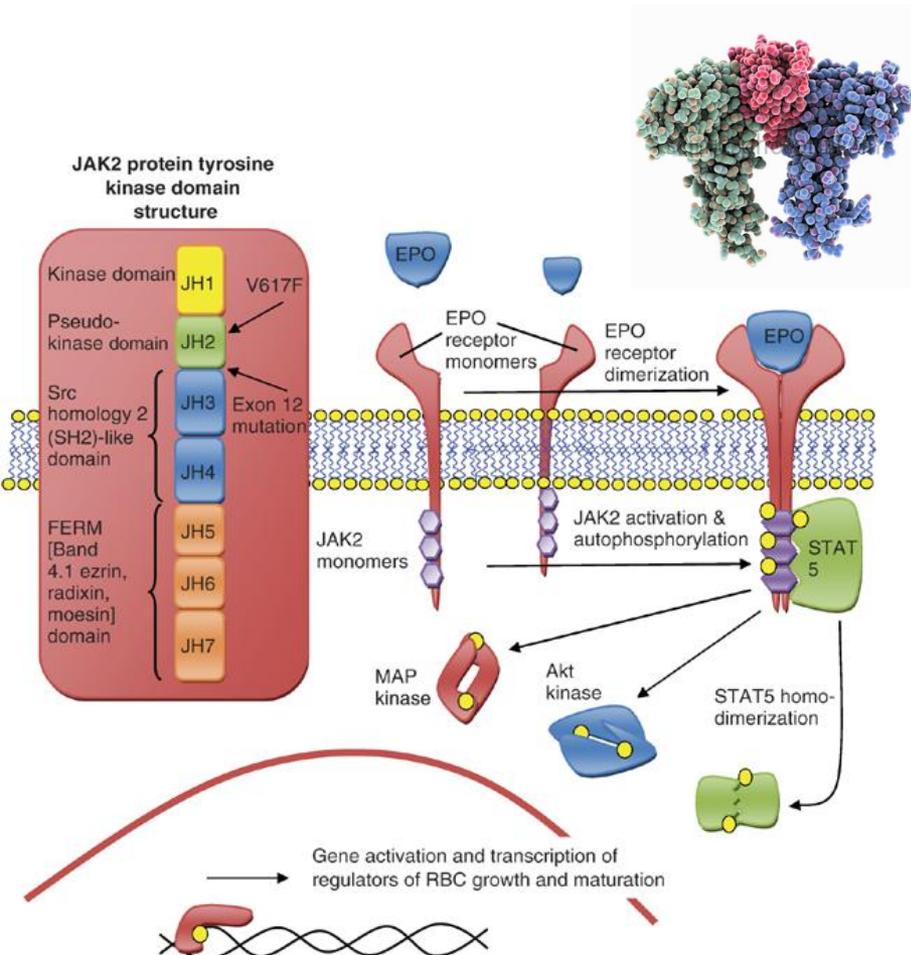


Alpha-N-acetylgalactosamine
(GalNAc)

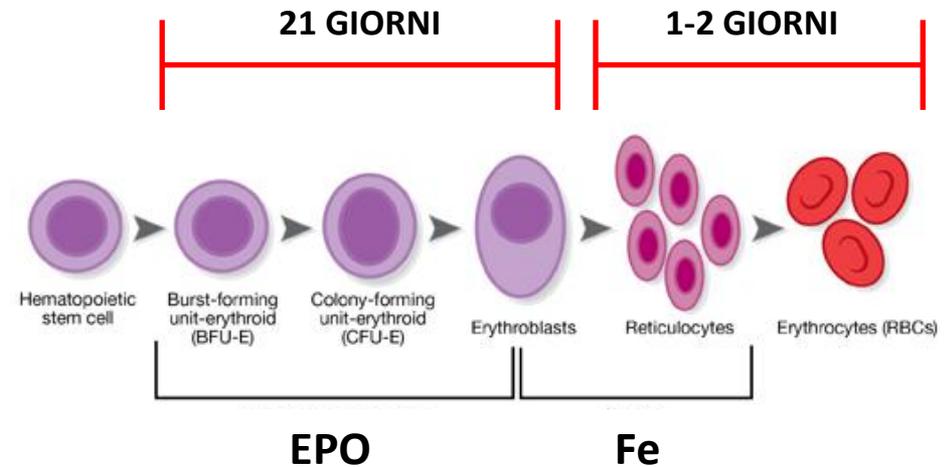
<http://glycam.ccruc.uga.edu/ccrc/>

http://sugarbind.expasy.org/sugarbind/help/help_sugars.html;jsessionid=219E8EDA488219315DA75E340BDBEAC1

EPO



EPO spinge il progenitore immaturo a differenziare verso una cellula capace di impiegare il ferro



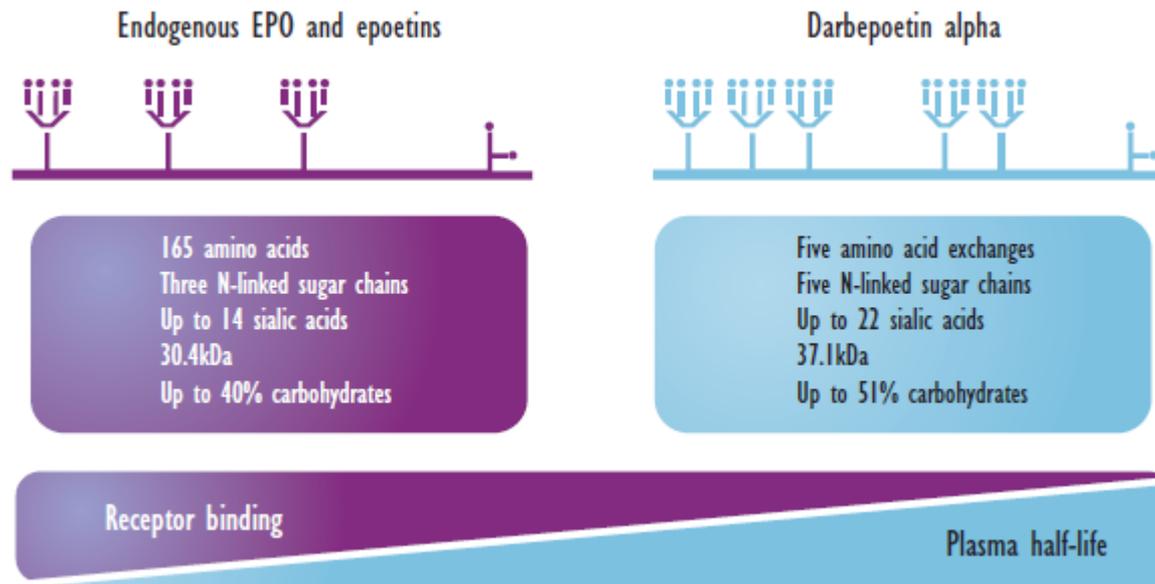
<http://www.idanemia.com/importance/index.html>

http://theoncologist.alphamedpress.org/content/14/suppl_1/22/F2.expansion

rHuEPO

Le EPO ricombinanti hanno la **stessa sequenza aminoacidica** della EPO umana (>95%), ma differiscono nella **componente glucidica**

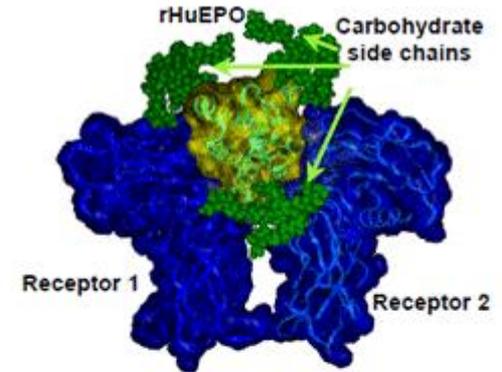
La diversa **glicosilazione** delle rHuEPO ne modifica l'**emivita** e in misura minore l'**attività biologica**



rHuEPO (epoetine)

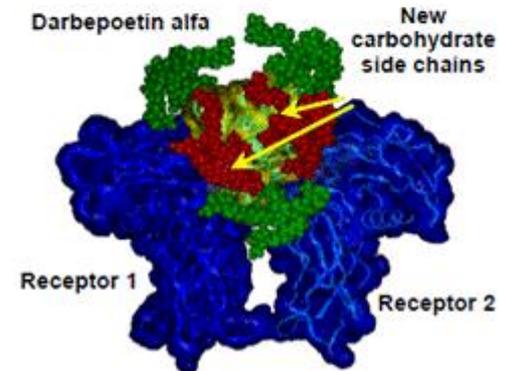
PRIMA GENERAZIONE

- rHuEPO-alpha (Eprex) **6-19 h**
- rHuEPO-beta (NeoRecormon) **9-24 h**
- rHuEPO-delta (Dynepo)



SECONDA GENERAZIONE

- Dabepoetina-alpha (Aranesp) **25-48 h**



TERZA GENERAZIONE

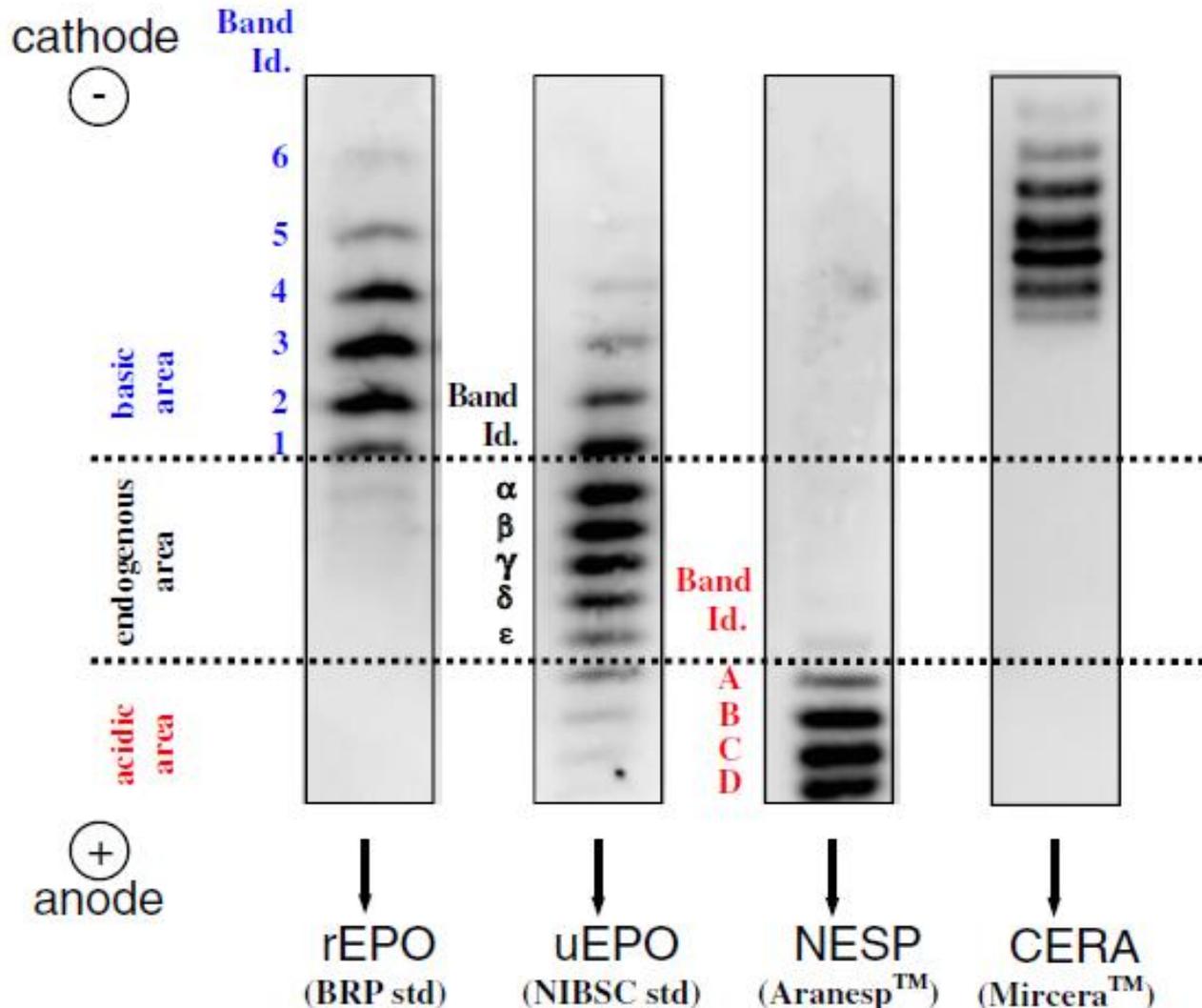
- metossipolietilenglicole Epoetina-beta (Mircera) **133-139 h**

“DIAGNOSTICA” DELLE EPOETINE

I TEST ANTI-DOPING:

- Sono basati su **anticorpi** che riconoscono le **differenze di struttura** tra la EPO e le epoetine
- Sono basati su **tecniche analitiche** che differenziano per epoetine dalla EPO per le **proprietà fisico-chimiche (carica e peso)**

“DIAGNOSTICA” DELLE EPOETINE



NEL DOPING SONO PRESENTI TANTO L'EPO ENDOGENA CHE LA rHuEPO CHE I RISPETTIVI METABOLITI

IL PROFILO E' PERTANTO ASSAI PIU' COMPLESSO DI QUELLO DELLE MOLECOLE ANALIZZATE SINGOLARMENTE

HEMATIDE

La **Peginesatide** è un glico-peptide di sintesi che **mima** l'azione dell'EPO al recettore della linea eritroide

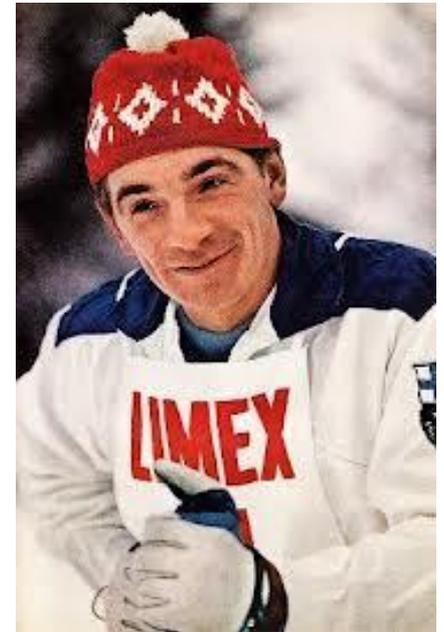
Non avendo **analogie strutturali** con l'EPO non può essere **dimostrato** con le metodiche **antidoping** attualmente esistenti



Eero Mäntyranta

Vicinitore negli anni '60 di **tre ori olimpici** e **due mondiali** nello sci di fondo

Accusato di doping (efedrina e ormoni), soffriva di una **forma familiare di policitemia eritroide** dovuta ad una **mutazione del recettore dell'EPO** a cui si associava un **aumento del 50%** della sua **attività stimolatrice sull'eritropoiesi**



I suoi valori circolanti di **EPO** erano assolutamente nella **norma**

Eero Mäntyranta

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 90, pp. 4495–4499, May 1993
Genetics

Truncated erythropoietin receptor causes dominantly inherited benign human erythrocytosis

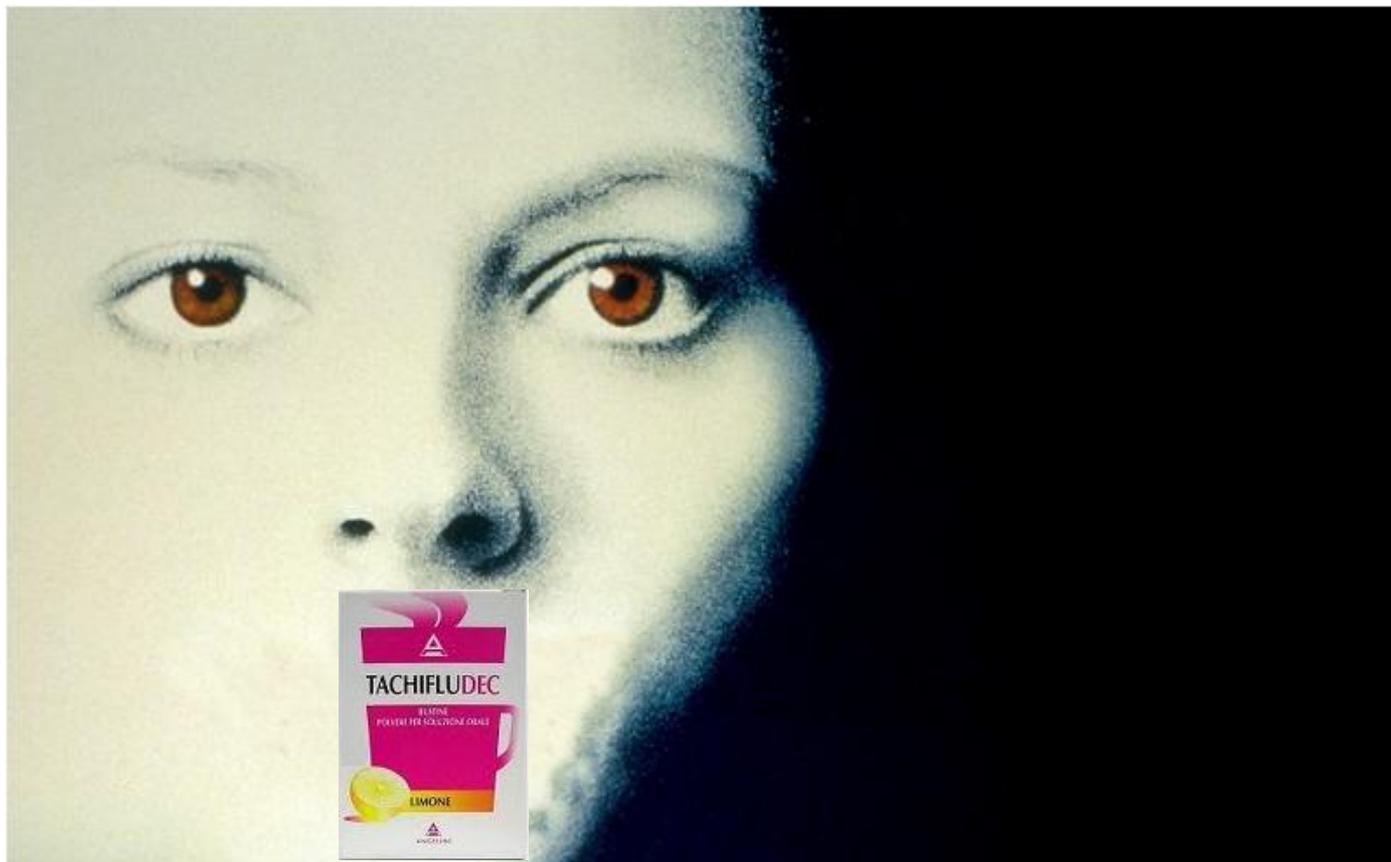
ALBERT DE LA CHAPELLE*†‡, ANN-LIZ TRÄSKELIN*†, AND EEVA JUVONEN§

*Department of Medical Genetics and ‡Third Department of Medicine, University of Helsinki, 00290 Helsinki, Finland; and †Folkhälsan Institute of Genetics, 00250 Helsinki, Finland

Communicated by Rolf Luft, January 27, 1993 (received for review November 30, 1992)



IL DOPING DEGLI INNOCENTI



IL DOPING DEGLI INNOCENTI

“Tachifludec è un farmaco ad attività analgesica, antipiretica e decongestionante nasale”

“Tachifludec si usa per il trattamento sintomatico dell’influenza, del raffreddore e degli stati febbrili e dolorosi ad essi correlati, con azione decongestionante sulle prime vie aeree superiori”

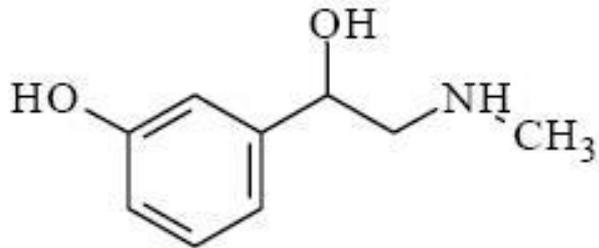
Ogni bustina contiene:

- Paracetamolo 600 mg
- Acido ascorbico 40 mg
- **Fenilefrina cloridrato** 10 mg

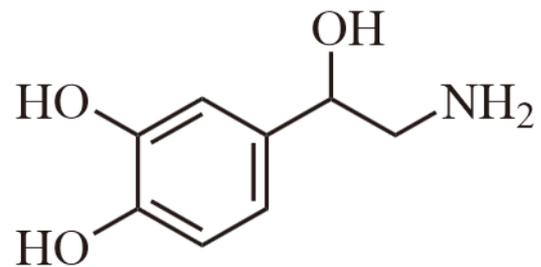
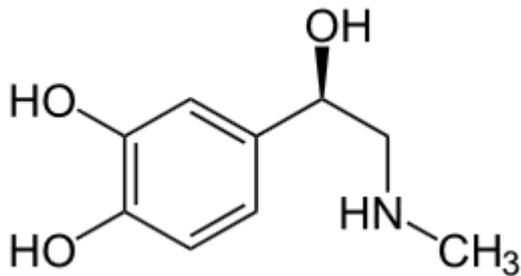


IL DOPING DEGLI INNOCENTI

La **Fenilefrina** è un **agonista selettivo** dei recettori **α 1-adrenergici**



E' un **analogo** di sintesi delle **catecolamine** **adrenalina** e **noradrenalina**



IL DOPING DEGLI INNOCENTI

I recettori **α 1-adrenergici** sono responsabili di parte dei meccanismi della risposta da stress detta “**fight-or-flight**” controllata dalle catecolamine

La Fenilefrina causa **aumento della pressione sistemica** mediante **vasocostrizione** specialmente nei distretti cutaneo, cerebrale, renale, gastrointestinale e degli sfinteri

Ha **limitati effetti stimolanti** sul SNC e **non causa rilascio** della noradrenalina a livello delle terminazioni adrenergiche

IL DOPING DEGLI INNOCENTI

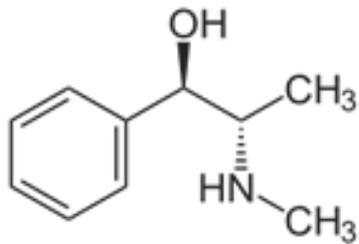
LA FENILEFRINA QUINDI NON E' DOPANTE?

**PER LA WADA NON LO E' PIU' DAL 2010 MA
CONTINUA AD ESSERE MONITORATA**

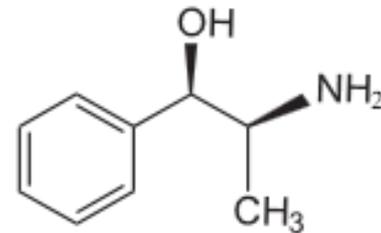
E' UN FARMACO POTENZIALMENTE DOPANTE

AMINE SIMPATICOMIMETICHE

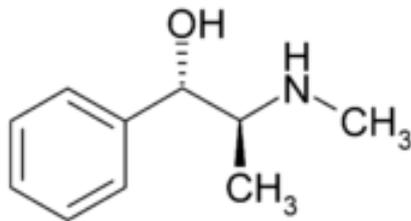
La Fenilefrina fa parte della famiglia delle **ammine simpaticomimetiche** derivate dalla **feniletilamina**



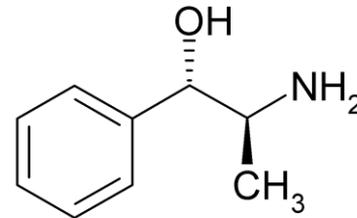
efedrina



norefedrina



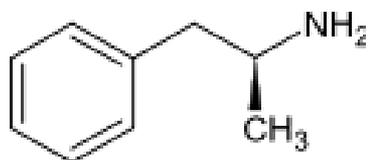
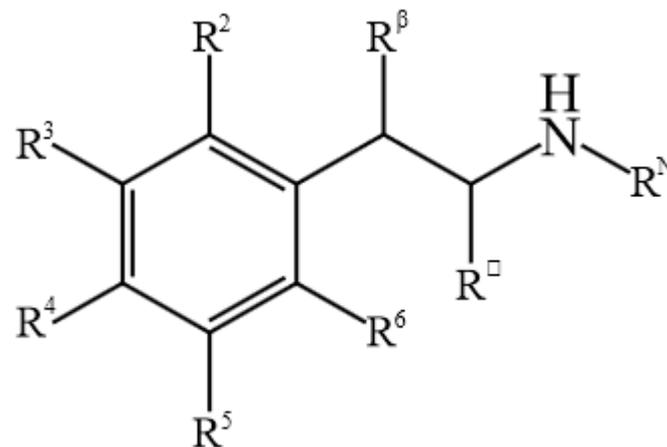
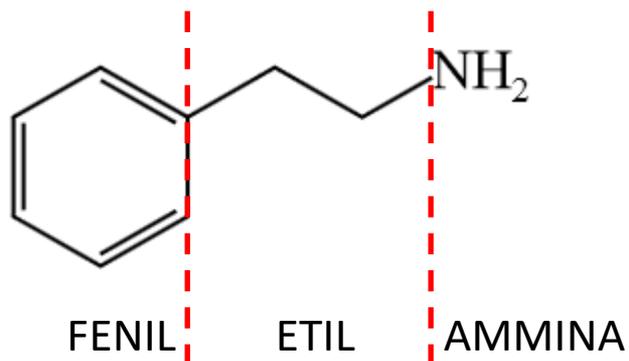
pseudoefedrina



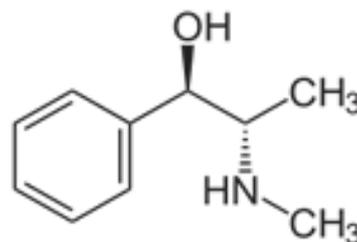
norpseudoefedrina
(catina)

AMINE SIMPATICOMIMETICHE

Le **ammine simpaticomimetiche** sono parenti strette delle amfetamine



D-AMFETAMINA

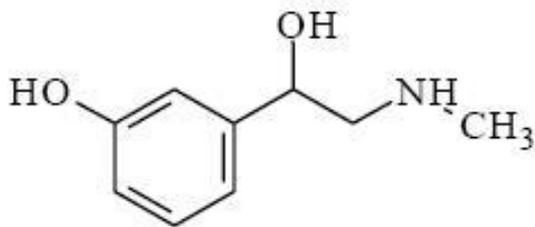


EFEDRINA

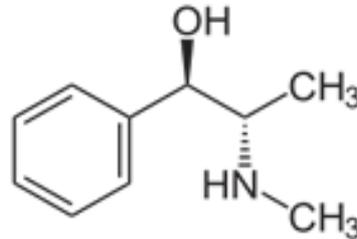
AMINE SIMPATICOMIMETICHE

La loro **natura chimica** ne determina la **capacità** di passare la **barriera emato-encefalica** raggiungendo il sistema nervoso centrale (**effetto stimolante**)

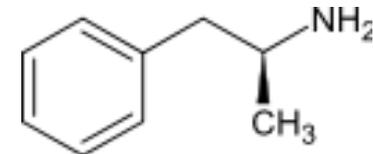
FENILEFRINA



EFEDRINA



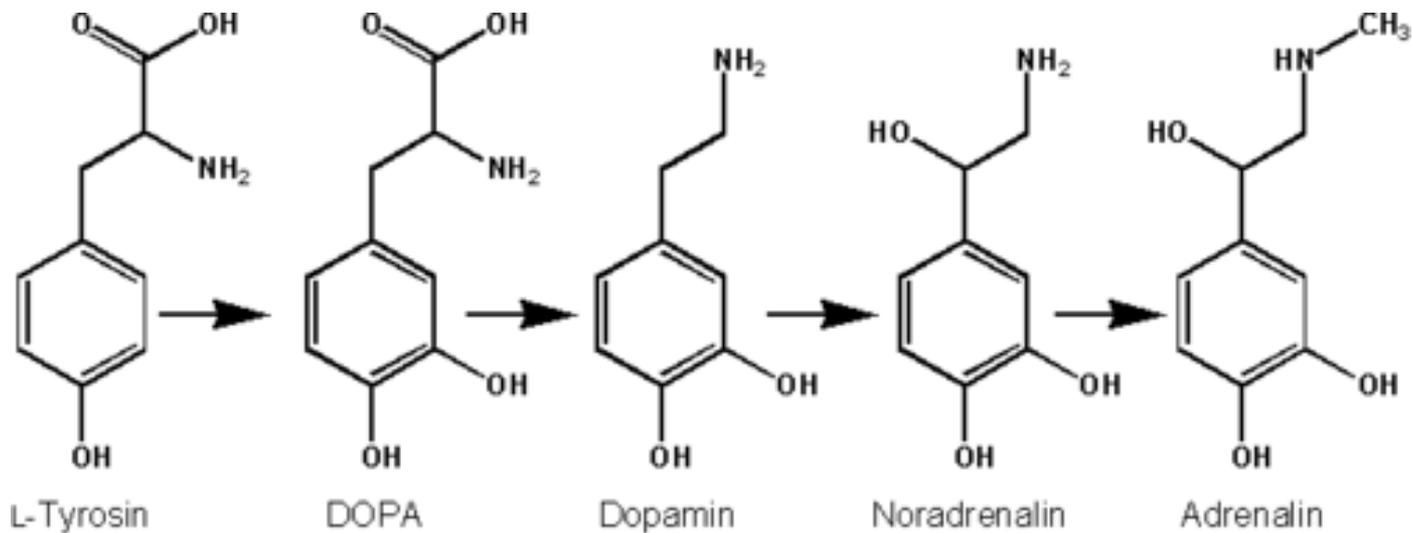
AMFETAMINA



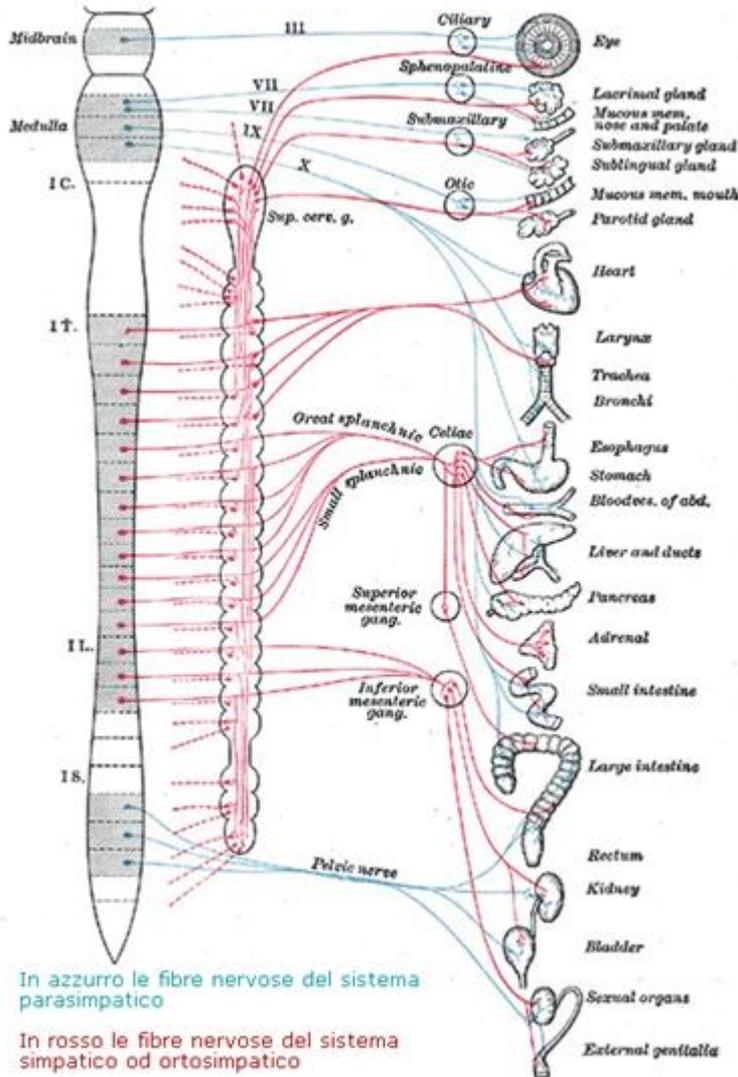
PASSAGGIO AL SNC

AMINE SIMPATICOMIMETICHE

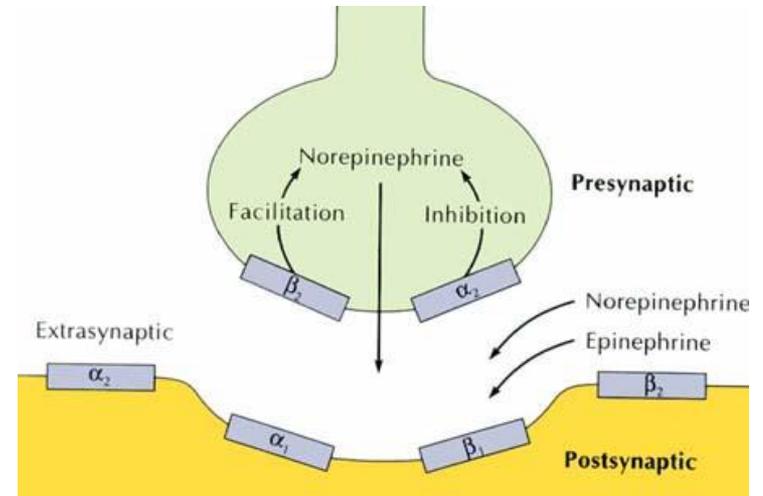
Tutte queste molecole mimano l'azione delle amine biogene catecolamine a livello sistemico e centrale



AMINE SIMPATICOMIMETICHE

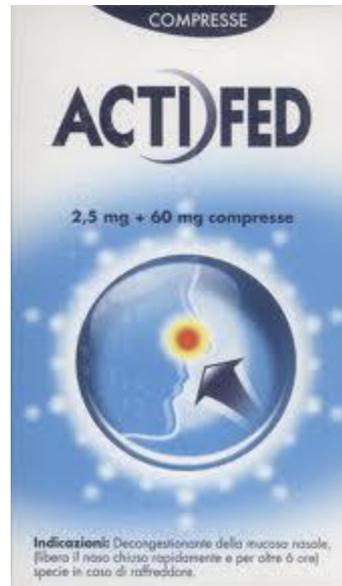


SIMPATICO	PARASIMPATICO
<p>Tende ad essere attivo durante una situazione di emergenza (reale o immaginaria):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Attacco - Fuga - Paura 	<p>Tende ad essere attivo in situazioni quali:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Digestione - Crescita - Difese immunitarie - Immagazzinamento energia



DOPING DA BANCO

La loro diffusione come **agenti dopanti** (volontari o meno) dipende dalla loro giustificabilità come presenti in molti **prodotti farmaceutici da banco**, in associazione o meno ad altri principi attivi (come gli antiinfiammatori)



- **farmaco da banco**
(no ricetta)
- Decongestionante della mucosa nasale
- in associazione con un anti-istaminico (rinite allergica)
- una compressa contiene **60 mg** di **pseudoefedrina**

DOPING DA BANCO

La campionessa olimpica di Sydney 2000 **Andreea Răducan** ha visto il suo oro revocato per essere stata trovata positiva alla pseudoefedrina



Ha giustificato la positività dicendo di aver assunto due pasticche di Nurofen (**30 mg pseudoefedrina ciascuna**) per curare uno stato di malessere influenzale accusato la sera prima della gara

DOPING DA BANCO



**POSITIVA PURE
LEI MA CON UN
VOLUME DI
DISTRIBUZIONE
MAGGIORE DEL
FARMACO
RISULTA SOTTO IL
LIMITE
ACCETTATO**

Maria Olaru
(163 cm per 48 Kg)

Andreea Răducan
(149 cm per 41 Kg)

Simona Amânar
(158 cm per 44 Kg)

FARMACOLOGIA DA BANCO

$$\text{CLEARANCE} = \frac{\text{CONCENTRAZIONE NELLE URINE}}{\text{CONCENTRAZIONE NEL PLASMA}} \times \text{FLUSSO URINARIO}$$

$$\text{CLEARANCE} = \text{VOLUME DI DISTRIBUZIONE} \times \text{EMIVITA}$$

FARMACOLOGIA DA BANCO

$$\text{CONCENTRAZIONE NELLE URINE} = \frac{\text{VOLUME DI DISTRIBUZIONE} \times \text{EMIVITA} \times \text{CONCENTRAZIONE NEL PLASMA}}{\text{FLUSSO URINARIO}}$$



**CHI HA MENO
PROBABILITA' DI
ESSERE SCOPERTA?**



ARMSTRONG

CREDIT
YON

UNITED STATES
POSTAL SERVICE

It's How you
Work that
Makes the
Difference

LANCE EDWARD ARMSTRONG

- atleta di triathlon passato alle corse ciclistiche
- dal 1992 al 1996 vince solo tre tappe in due competizioni maggiori (1 alla Vuelta e 2 al Tour)
- nel 1993 vince “quasi per sbaglio” l’oro mondiale
- nel 1996 si piazza sesto e dodicesimo alle olimpiadi
- 1996: diagnosi di embriocarcinoma testicolare in stadio avanzato con metastasi polmonari, addominali e cerebrali

LANCE EDWARD ARMSTRONG

TERAPIA DELL'EMBRIOCARCINOMA TESTICOLARE:

- ETOPOSIDE
 - IFOSFAMIDE
 - CISPLATINO
- le metastasi cerebrali vengono rimosse chirurgicamente
 - riceve l'ultimo ciclo chemoterapico il 13 dicembre del 1996
 - **TORNA ALLE CORSE NEL 1998: DAL 1999 AL 2005 VINCE 7 TOUR DE FRANCE CONSECUTIVI**

LANCE EDWARD ARMSTRONG

- **177 cm per 75 Kg**
- **CAPACITA' AEROBICA: 83.8 mL/kg/min (VO_2 max)**
 - Miguel Indurain 88 – 94 mL/kg/min (VO_2 max)
 - Greg LeMond 92.5 mL/kg/min (VO_2 max)
- **FREQUENZA CARDIACA A RIPOSO: 32-34 bpm**
- **FREQUENZA MASSIMALE SOSTENUTA: 204 bpm**

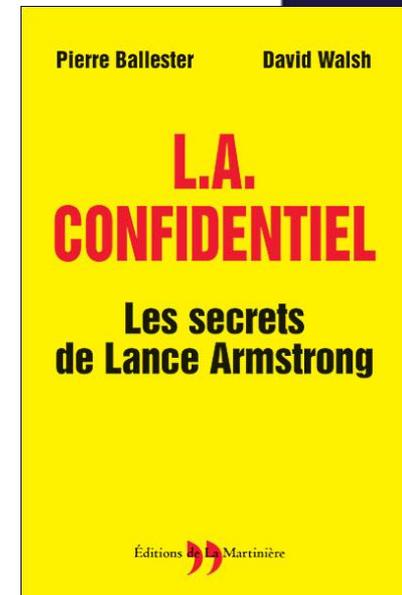
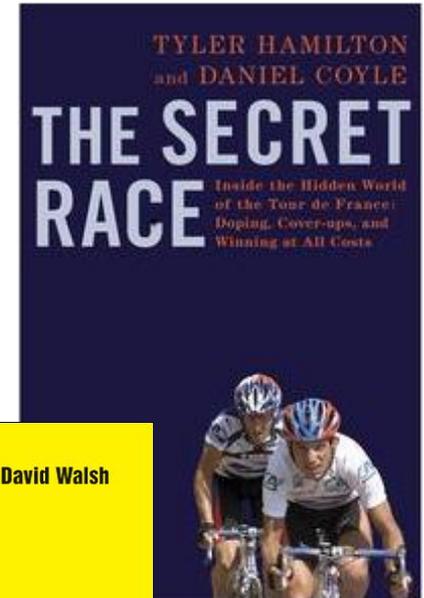
LANCE EDWARD ARMSTRONG

NELLE SUE VITTORIE AL TOUR NON SCENDE MAI SOTTO I 6 MINUTI DI DISTACCO DAL SECONDO IN CLASSIFICA GENERALE



**NEL 2000 POLEMICA
CON PANTANI, CHE
PER DUE VOLTE LO
BATTE IN MONTAGNA**

LANCE EDWARD ARMSTRONG



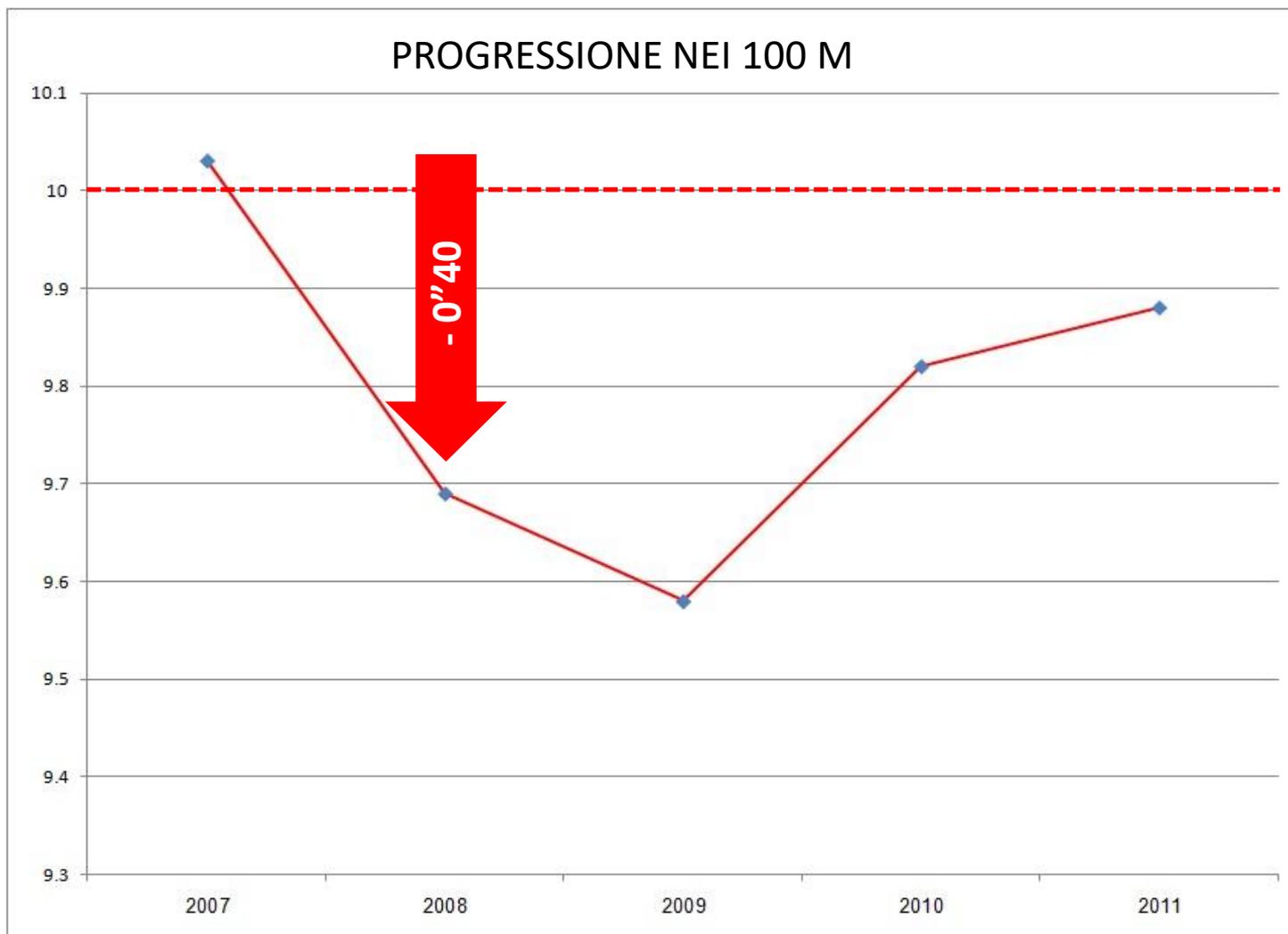
LANCE EDWARD ARMSTRONG

- Nel giugno del 2012 la **USADA** accusa Armstrong di doping (il dossier è reperibile a <http://usat.ly/VQoFq5>)
- Il 22 ottobre 2021 la **UCI** gli revoca tutti i titoli vinti dal 1998 in poi

**IL PIU' GRANDE
CORRIDORE DELLA
STORIA DEL CICLISMO
ESCE DALLA STORIA
DELLO SPORT**



AVANTI UN ALTRO?



IL PIU' GRANDE VELOCISTA DI TUTTI I TEMPI (?)



ANCHE LUI LO ERA!



TROVATE LE DIFFERENZE

