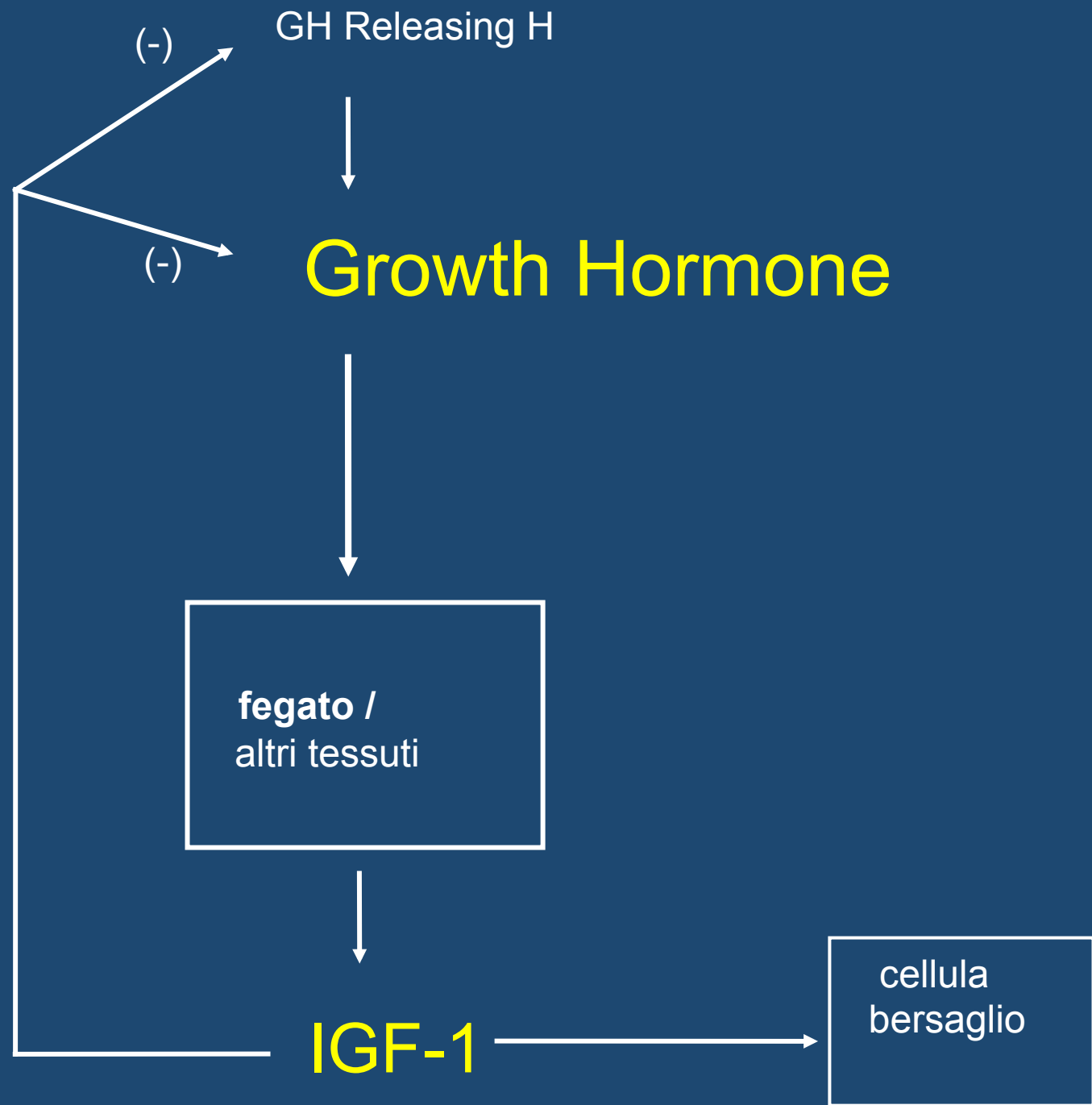




**C. CHIAMULERA**  
**Università degli Studi di Verona**

**Corso di**  
**“Farmacologia”**  
**ORMONE DELLA CRESCITA**  
**E DOPING GENETICO**

**Capitolo 36 Conforti (Sorbona ed.)**



# AZIONI DEL GH SULL'OSSO EPIFISARIO

GH



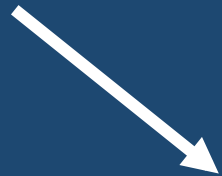
precondrocita



differenziazione  
cellulare



produzione  
IGF-1



maturazione e  
proliferazione condrociti



## Effetti dell'Ormone della Crescita

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

## EFFETTI GENERALI DEL SISTEMA GH/IGF-I

- Effetti sul metabolismo osseo
  - stimolo condrogenesi
  - stimolo apposizione ossea
  - aumento assorbimento intestinale calcio
  
- Effetti sul metabolismo intermedio
  - aumento sintesi proteica (az. anabolica)
  - aumento lipolisi e chetogenesi
  - aumento gluconeogenesi
  - modulazione azione insulinica
- Stimolo proliferazione cellulare
- Aumento massa magra e riduzione grasso viscerale
- Effetti cardiovascolari
  - aumento contrattilità
  - stimolo ipertrofia miocardica
  - riduzione natriuresi
  
- Modulazione benessere psico-fisico

# Effetti metabolici del GH

## Effetto acuto (<2h)

azione insulinosimile

## Effetti cronici

stimolo sintesi proteica

stimolo gluconeogenesi epatica

inibizione utilizzazione periferica del glucosio

stimolo lipolisi

# GH ed esercizio fisico

L'esercizio acuto aumenta la secrezione di GH, tanto più precocemente quanto maggiore è la sua intensità

La risposta è proporzionale a intensità e durata dell'esercizio

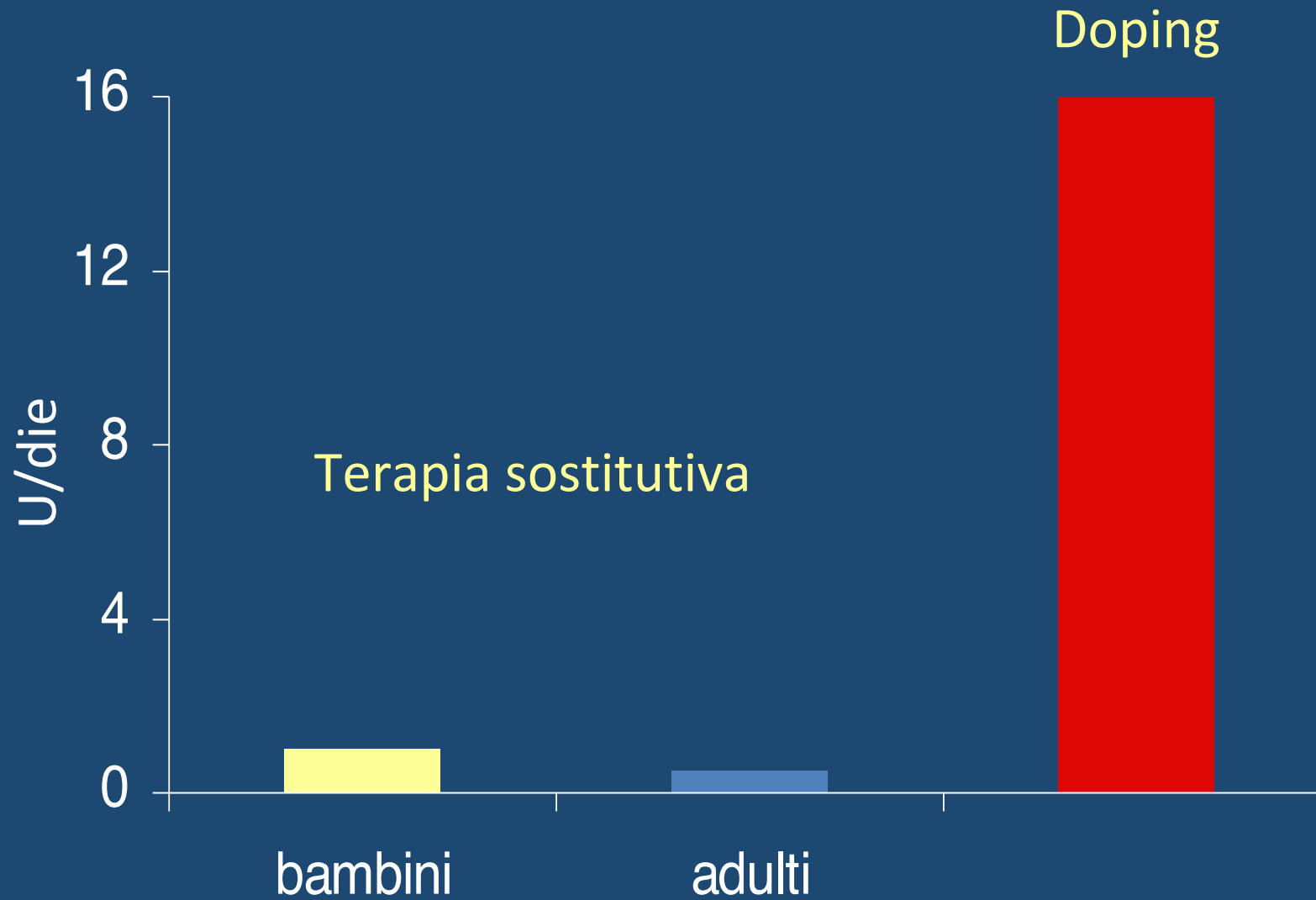
L'allenamento sembra aumentare la secrezione di GH e la sua risposta all'esercizio acuto, con aumento dell'IGF-1

## Razionale all'uso di GH nello sport

- Stimola la sintesi proteica, incrementa la massa magra. Azione lipolitica: riduce la massa grassa.
- Effetto complessivo di entità pari a quello degli steroidi anabolizzanti con possibile azione additiva e sinergica con steroidi anabolizzanti.



# Posologia media del GH



## Effetti di trattamenti con dosi sovralfisiologiche di GH su composizione corporea e apparato muscolare

- aumento massa magra e riduzione massa grassa
- aumento tessuto connettivo
- aumento massa muscolare ?
- aumento forza muscolare?

# Fonti di GH esogeno

Sintesi (costo elevato)

Estrazione da cadavere (rischio di malattia di Creutzfeldt-Jacob)

# Uso di GH nello sport

- L'Underground Steroid handbook" –California- già conteneva le informazioni sul hGH prima che se ne parlasse nella letteratura scientifica. L'uso del GH è iniziato con il GH estrattivo, ancora oggi esistono traffici al mercato nero di **ipofisi umane**.
- L'approvvigionamento di GH umano ricombinante (rhGH) deriva da furti, ricette false, vendita da genitori di bambini affetti da GHD.

# Abuso di GH nei bodybuilders

L'eccesso di GH determina ipertrofia muscolare, facilita la lipolisi.

L'eventuale perdita di efficienza del muscolo è di secondaria importanza in questa categoria di soggetti.

# EFFETTI ACUTI DELLA SOMMINISTRAZIONE DI GH SUL SISTEMA CARDIOVASCOLARE

┌ frequenza (azione diretta?)

┌ output

| resistenze vascolari



**SINDROME IPERCINETICA**

# Effetti avversi di dosi sovrafisiologiche di GH

- ritenzione idrica con edemi
- dolori muscolari e articolari, sindrome del tunnel carpale
- ipersudorazione
- aumento dei valori pressori
- insulinoresistenza con alterazioni della tolleranza ai carboidrati (diabete)
- aumentato rischio cardiovascolare
- aumentato rischio di neoplasie maligne (?)

# Effetti avversi dell'eccesso di IGF-1 (oltre a quelli dell'eccesso di GH)

- Lipodistrofia (in sede di iniezione)
- Ingrossamento milza, reni, linfonodi
- Ipoglicemia



# Rischi associati alla somministrazione di dosi sovrafisiologiche di GH

## ACROMEGALIA

Malattia determinata da ipersecrezione di GH nell'età adulta, caratterizzata da eccessiva crescita ossea e da ispessimento dei tessuti molli, ad andamento insidioso e progressivo, disabilitante, associata ad aumentata mortalità cardiovascolare e neoplastica. Se il quadro si realizza prima della saldatura delle cartilagini epifisarie si ha il gigantismo.

# Il GH effettivamente incrementa le capacità muscolari degli atleti?

Non ci sono dati che dimostrano l'efficacia

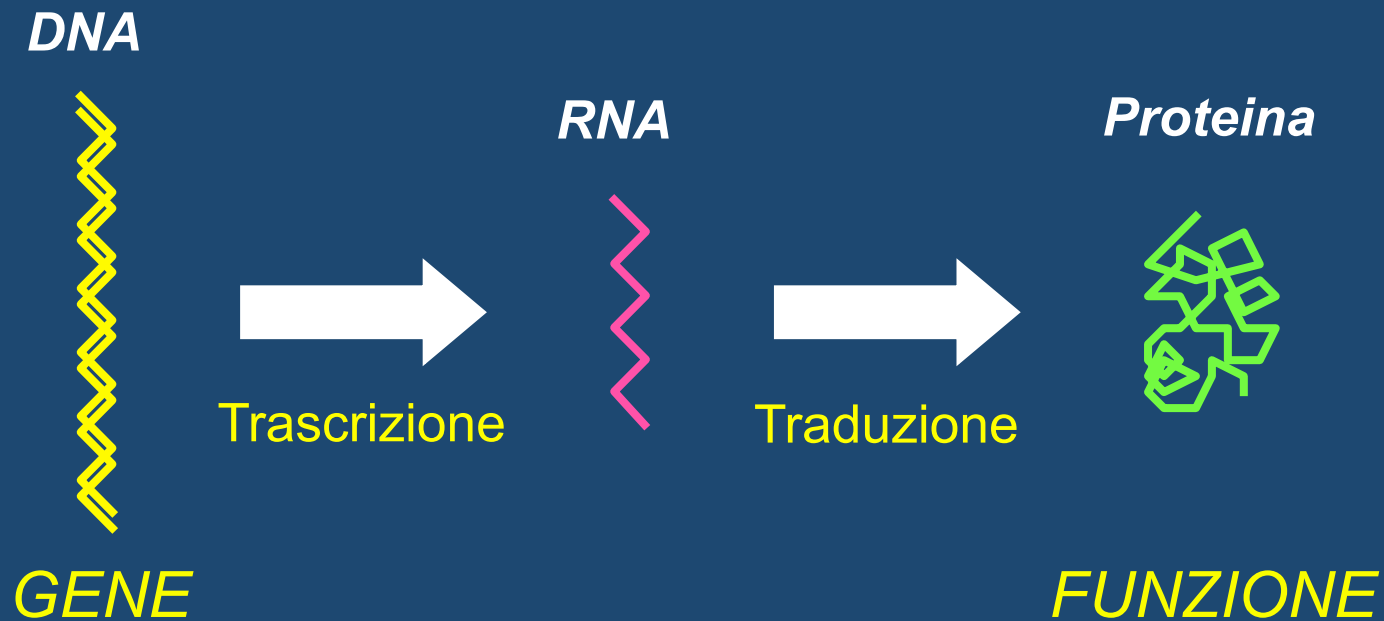
Pelissier-Alicot Al., Leonetti G. Am Bio Clin 2003; 61:41-8

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

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

# *Il futuro del doping: i geni?*

- **Doping genetico**
  - I progressi nell'ambito della genetica con la definizione del genoma umano (circa 30.000 differenti geni) aprono prospettive molto interessanti per il trattamento di diverse patologie
  - Il timore è che la manipolazione genetica venga applicata anche per cercare di migliorare la performance sportiva
  - Segnali in questo senso sono già emersi. E' già stato inserito nella lista WADA dei metodi proibiti
  - Non bisogna credere che la manipolazione genetica delle cellule somatiche sia una pratica esente da rischi



Per Terapia Genica si intende il trasferimento di materiale genetico (DNA o RNA) alle cellule somatiche umane allo scopo di prevenire o trattare patologie.

Il Doping genetico usa le stesse tecniche della Terapia Genica allo scopo di migliorare la prestazione sportiva.

# Ingegneria genetica / tecniche di manipolazione

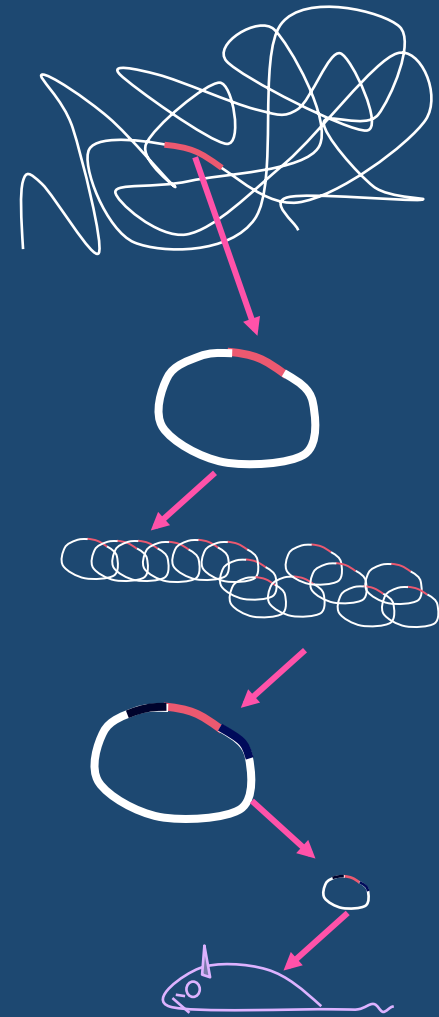
Segmenti specifici di DNA possono essere tagliati e isolati

I segmenti isolati si possono ricombinare con un vettore plasmidico

Il plasmide è trasferito in un batterio dove viene moltiplicato

Il DNA ricombinato può essere ricombinato ulteriormente per ottenere la molecola finale desiderata

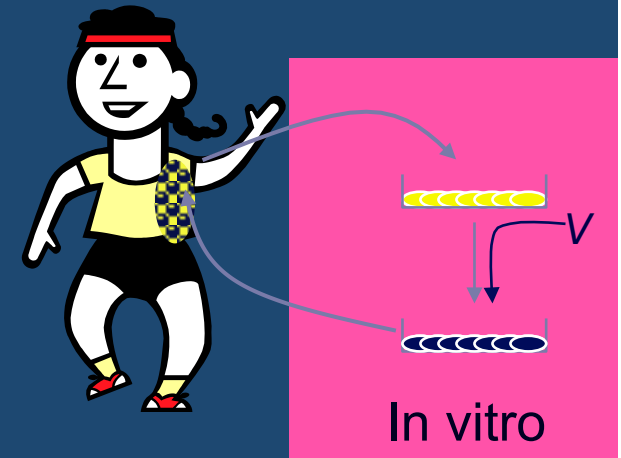
La molecola finale è trasferita nelle cellule o nell'organismo



# Tre diverse modalità di trasferire materiale genetico

## EX-VIVO

*Le cellule target vengono isolate dal soggetto, coltivate, modificate geneticamente in vitro e quindi reimpiantate nello stesso soggetto*



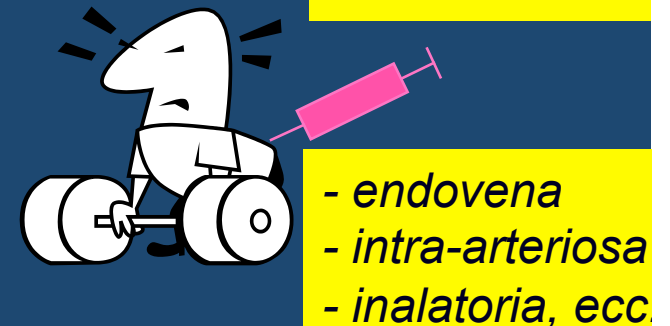
## IN-VIVO topico

*Introdurre dei vettori contenenti materiale genetico in una specifica localizzata sede del corpo*



## IN-VIVO sistemico

*Introdurre dei vettori contenenti materiale genetico nel sangue*



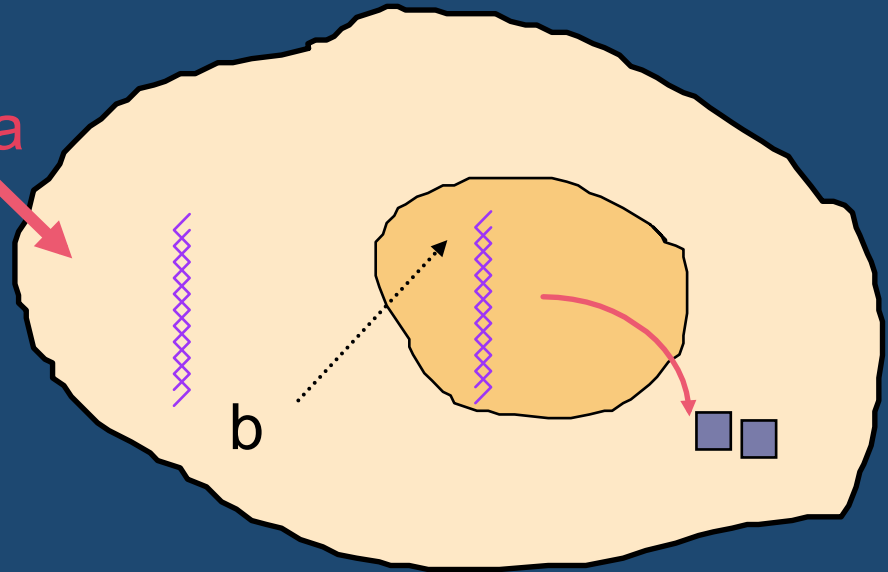
# Due tipi di vettori per il trasferimento di materiale genetico

## Trasferimento non-virale (transfettazione)

DNA nudo, liposomomi, oligonucleotidi

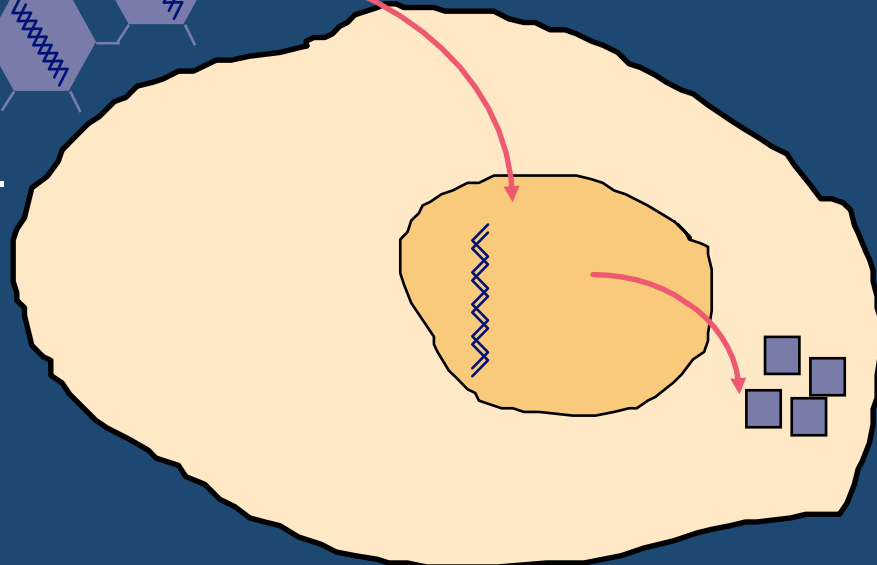
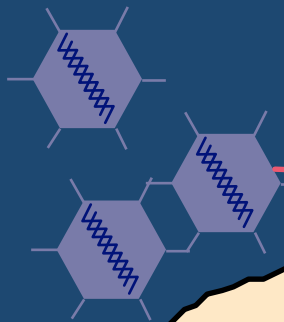


a



## Trasferimento virale (infezione)

Adenovirus, retrovirus, ecc.



## Quali approcci di ingegneria genetica si possono ipotizzare come doping?

- ex vivo, tessuto emopoietico:  
modificare l'emopoiesi (recettore EPO, trasporto O<sub>2</sub>...)
- in vivo locale (es. muscolo):  
fattori di crescita, modificatori fibre muscolari  
cardio-modulatori, ecc.
- in vivo locale (es. articolazioni):  
sostanze antidolorifiche, inibitori dell'infiammazione,  
fattori di riparo, ecc.
- in vivo sistemico:  
anabolizzanti, fattori ormonali, killer del dolore, controllo  
vascolare, ecc.



# Approcci al doping genetico

## ➔ Eritropoietina

- Inserire il gene dell'eritropoietina in cellule da impiantare o iniettare sottocute o inalare e che poi producono EPO.

Esperimenti su animali (topi e scimmie) con inserimento del gene per l'EPO hanno portato ad aumenti del 80% dell'ematocrito (Gene Ther 1998; 5:665)

Potremmo diventare tutti come Eero Mäntyranta!!

## Esempi di approcci al doping genetico

### ➔ Ormone della crescita umano (hGH)

- Transfettazione in vivo: geni che producono hGH posti in uno speciale involucro proteico
- Utilizzati come spray da inalare nel sistema bronchiale
- Iniettati direttamente nel sangue

### ➔ Incrementata produzione di hGH

## Approcci al doping genetico

- ➔ Geni produttori hGH posti in mioblasti da iniettare nel muscolo scheletrico. Le cellule vengono integrate dalla struttura muscolare e cominciano a produrre hGH
- Sono stati effettuati esperimenti su animali iniettando tali cellule nel muscolo, dopo 3 mesi i livelli di hGH nel sangue erano 8 volte superiori
- Con una metodica simile sono stati trattati (trial sperimentali) pazienti con la distrofia di Duchenne. Il gene mancante della distrofina è stato posto in mioblasti poi iniettati nel muscolo dei pazienti

# Approcci al doping genetico

## ➔ Gene della miostatina

- La miostatina è una proteina regolatrice della crescita muscolare. Appartiene alla superfamiglia dei TGF-beta
- E' responsabile del differenziamento dei muscoli scheletrici
- Ha una funzione inibitoria della proliferazione delle cellule satelliti alle fibre muscolari. Mutazioni genetiche (es. ceppo bovino Belgium blue bull) provocano abnormi crescite dei muscoli

➔ Due strade: modificare il gene che codifica la miostatina o somministrare inibitori della miostatina (es. follistatina)

## *Esperimenti su topi*

*Topi privati del gene della miostatina (topi knock out) sviluppano una muscolatura ipertrofica:*



T. Hertrampf et al, FIT 1/2004

**Gli inibitori della miostatina sono già in vendita!!!**

**BIOTEST MYOSTAT (BT-Myostat) (80 Capsules)**

**MYOSTATIN – INHIBITOR  
CSP3, Alga: Cystoseira carnariensis**



**Special Offer!**  
**(Inc. V.A.T.) £66.99**  
**Suggested Retail Price:**  
**(Inc. V.A.T.) £84.99**  
**Our Regular Price:**  
**(Inc. V.A.T.) £84.99**



**„... Biotest Myostat Supplement helps promote muscle growth, company claims.“**

# Rischi ipotizzabili con il doping genetico

## A breve-medio termine

- Autoimmunità
- Sindrome simil-influenzale
- Shock tossico

## A lungo termine

- Fibrosi
- Tumori
- Effetti avversi tipici dei fattori stimolati
- Impossibilità di terapia genica futura (immunità)

## Legati alle modalità di trattamento

- Malpratica (vettore o via somministrazione inadeguati)
- Materiale contaminato (patogeni o allergeni)
- Mancanza di follow-up