



**Facoltà di Scienze Motorie
Università degli Studi di Verona**

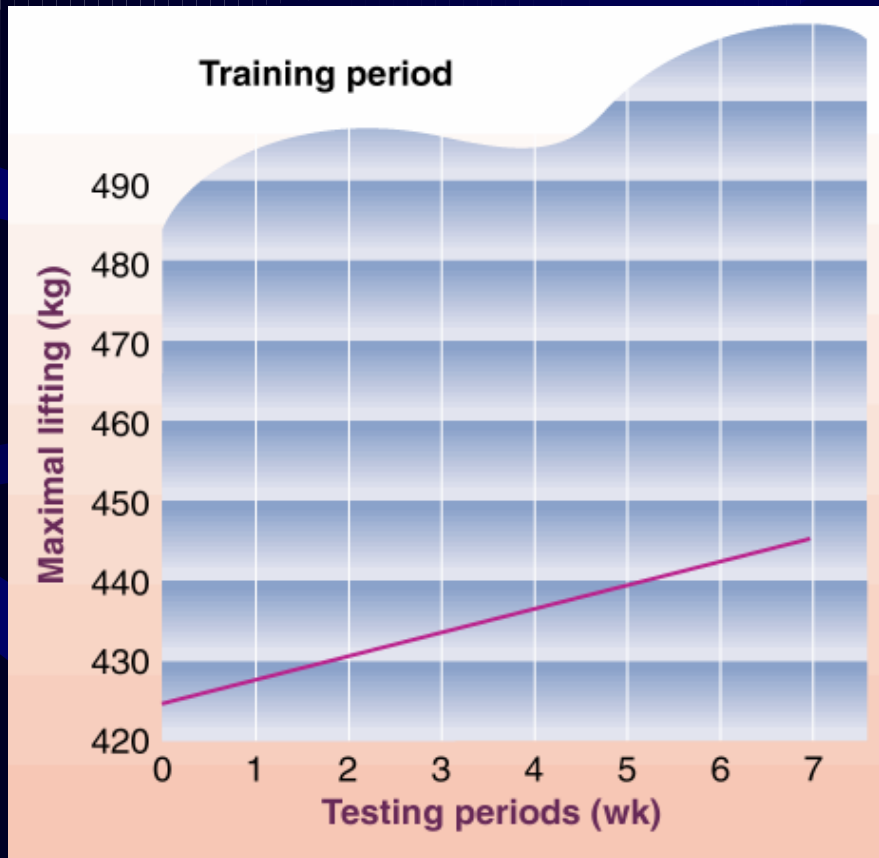
**Corso di
“Farmacologia”
Lezione “Steroidi Androgeni Anabolizzanti”**

Docenti:

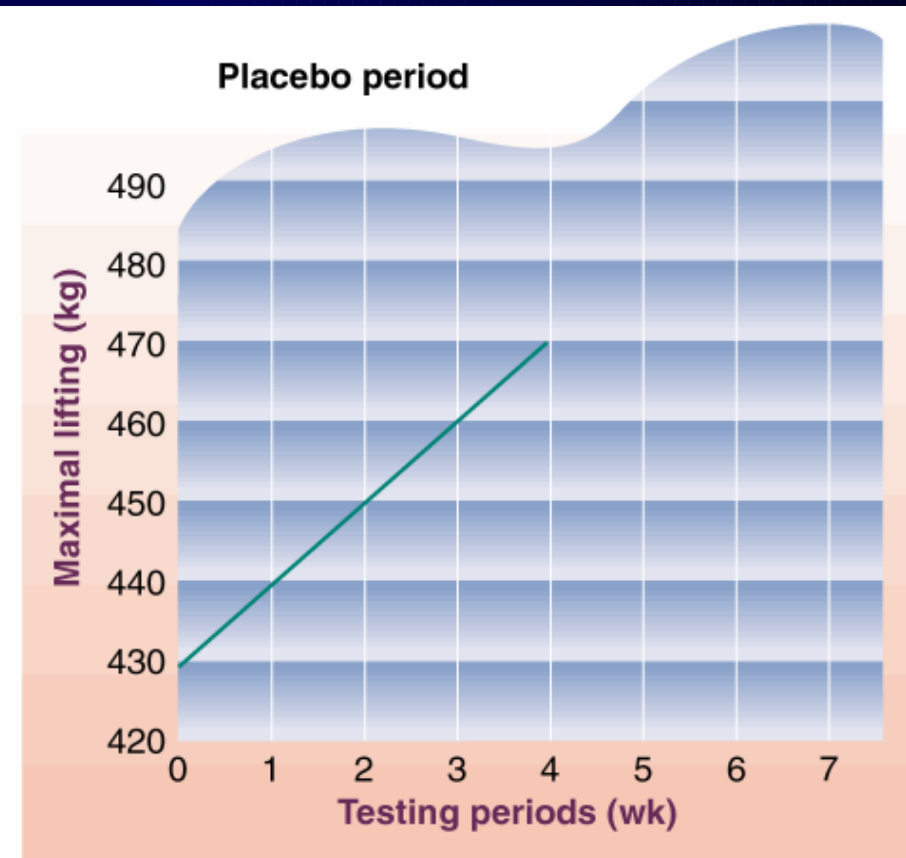
Guido Fumagalli e Roberto Leone

L'effetto placebo

Effetto dell'allenamento
nel sollevamento pesi



Effetto dell'allenamento +
placebo* nel sollevamento pesi



*Gli atleti pensavano di assumere Dianabol

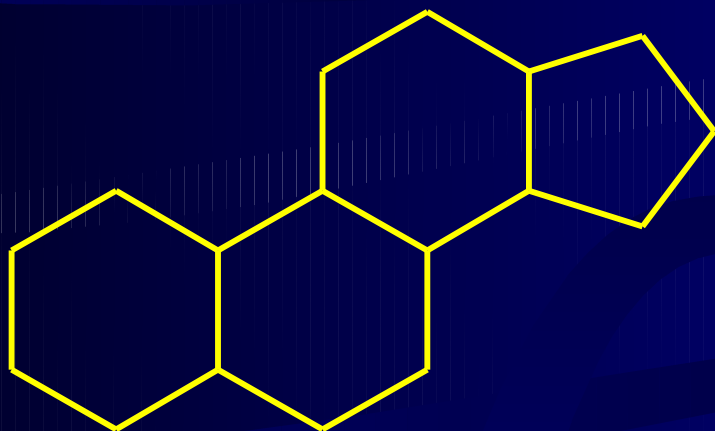
Ariel & Savill, *MSSE*, 1972

Steroidi Androgeni Anabolizzanti (AAS)

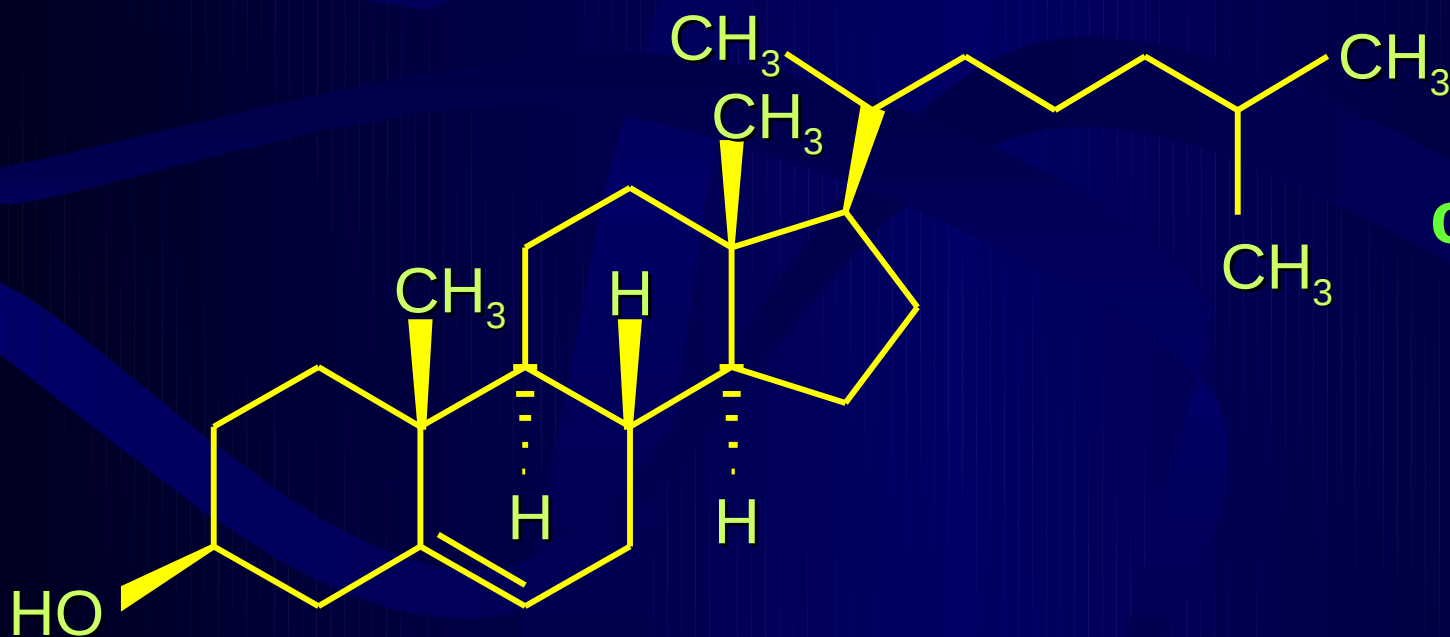


- **Ormoni maschili endogeni** (es. testosterone)
 - Hanno effetti anabolizzanti cioè aumentano la massa muscolare, attraverso regolazione genica e aumento della sintesi proteica del tessuto muscolare. Inibiscono anche la disgregazione proteica

- **Derivati esogeni** (con struttura chimica simile al testosterone, es. nandrolone, danazolo, THG, ecc.)
 - Con questi farmaci si è cercato di massimizzare gli effetti anabolizzanti del testosterone minimizzando allo stesso tempo gli effetti androgenici. Impresa non riuscita

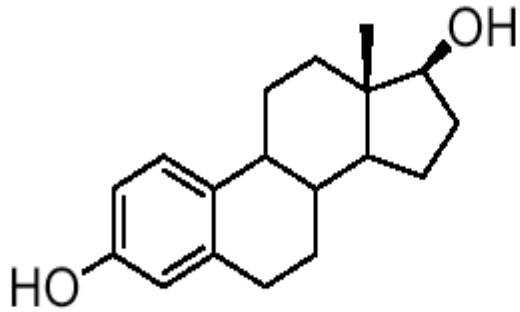


- struttura tetraciclica
fondamentale degli steroidi -

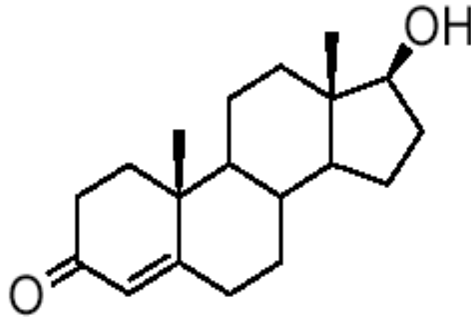


colesterolo

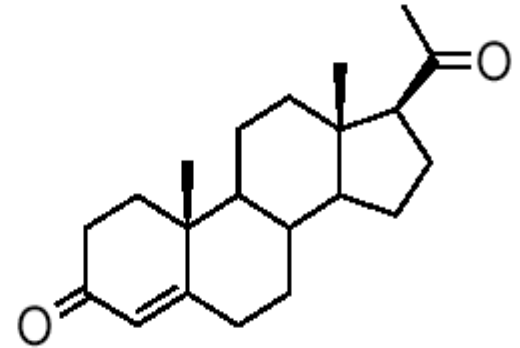
Ormoni steroidei propriamente detti



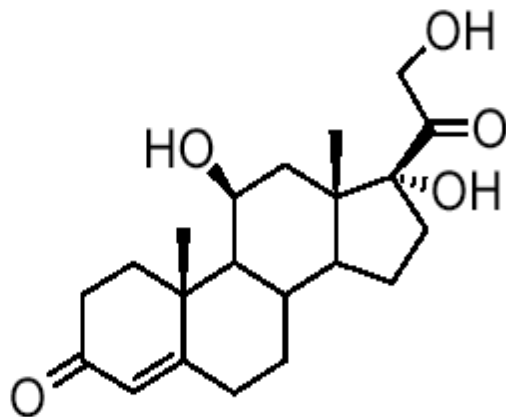
17-β estradiol (**ER**)



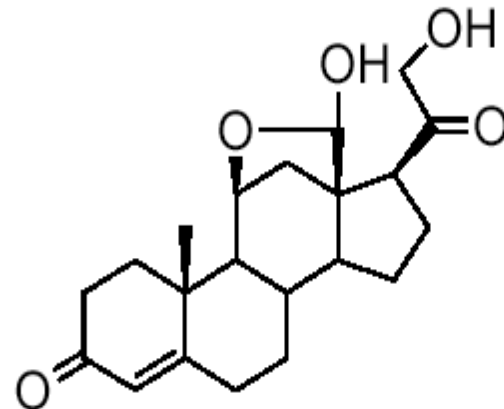
testosterone (**AR**)



progesterone (**PR**)



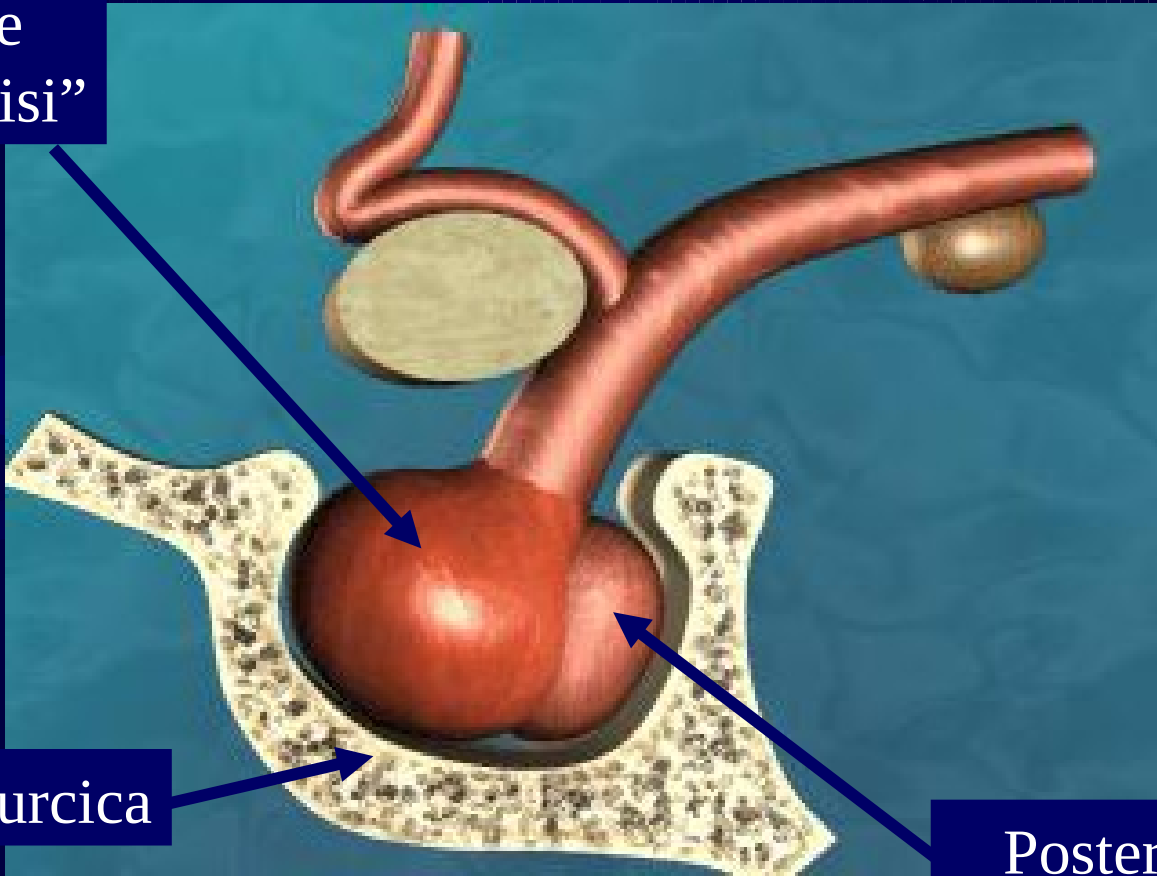
cortisol (**GR**)



aldosterone (**MR**)

Ghiandola pituitaria

Anteriore
“adenoipofisi”

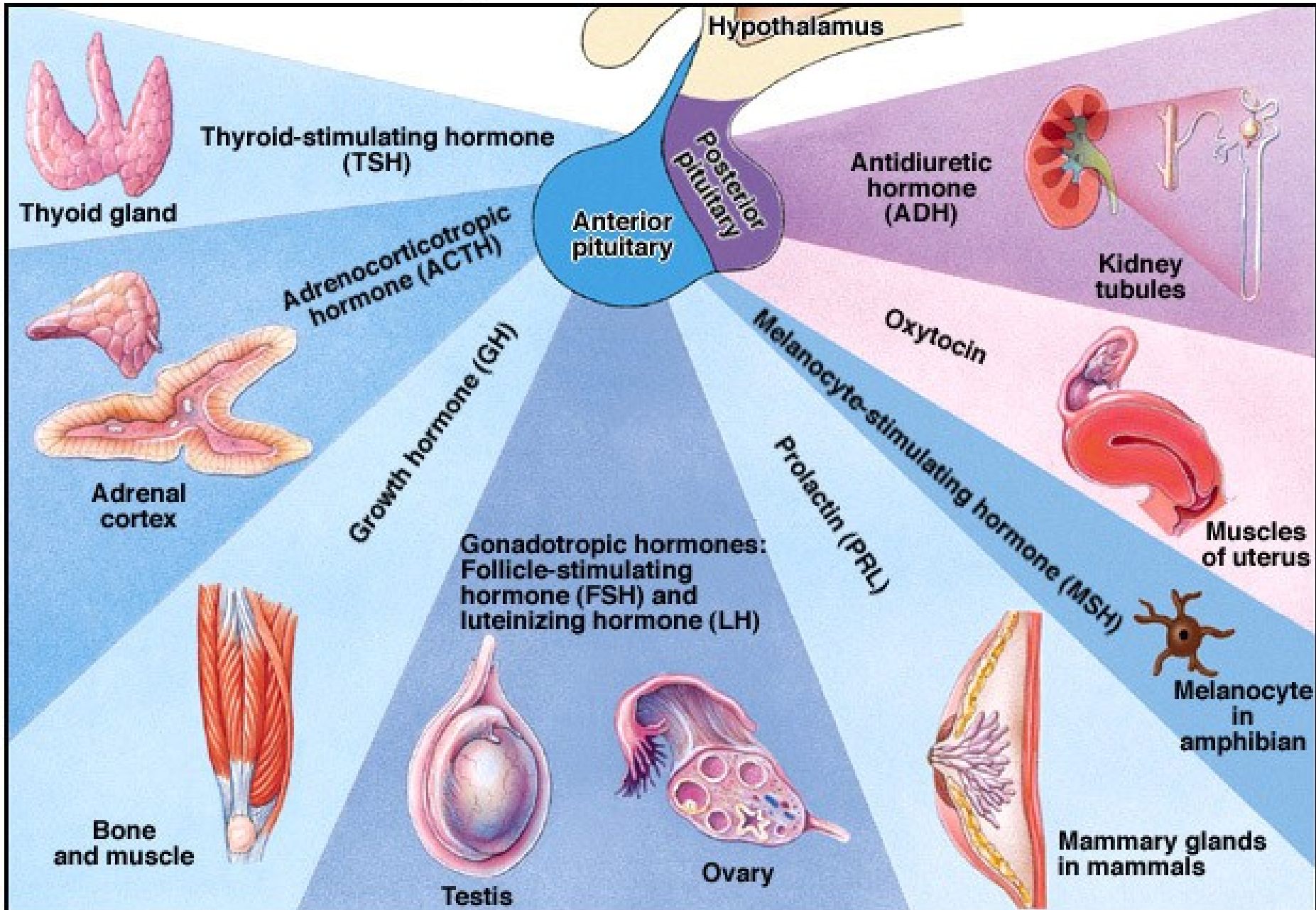


Sella Turcica

Posteriore
“neuroipofisi”

Ciascuna delle due parti ha un ruolo distinto nella regolazione ormonale

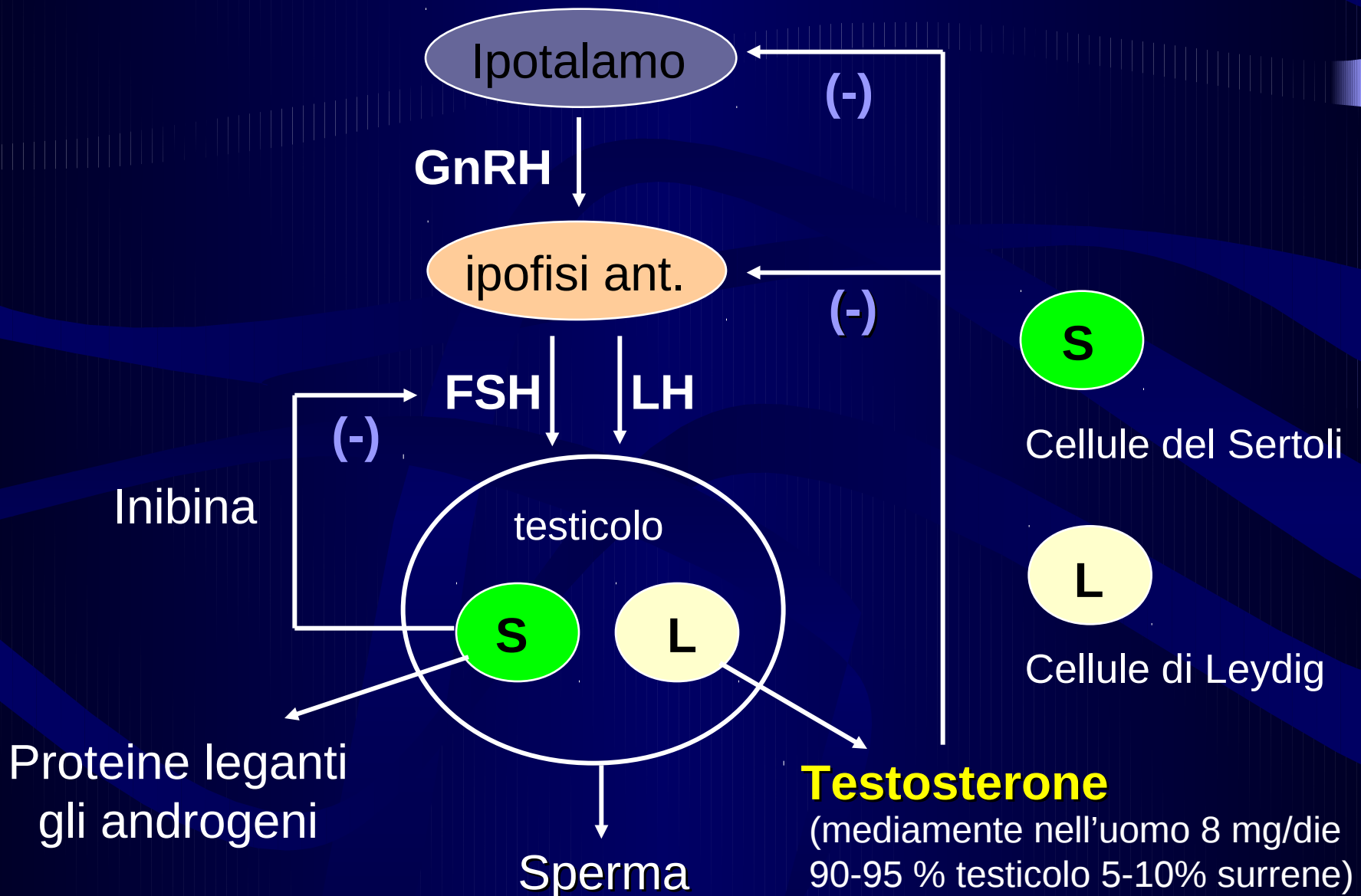
Pituitary Gland Hormones



Robert Wadlow — Gigantism Caused by Pituitary Tumor



Produzione del testosterone



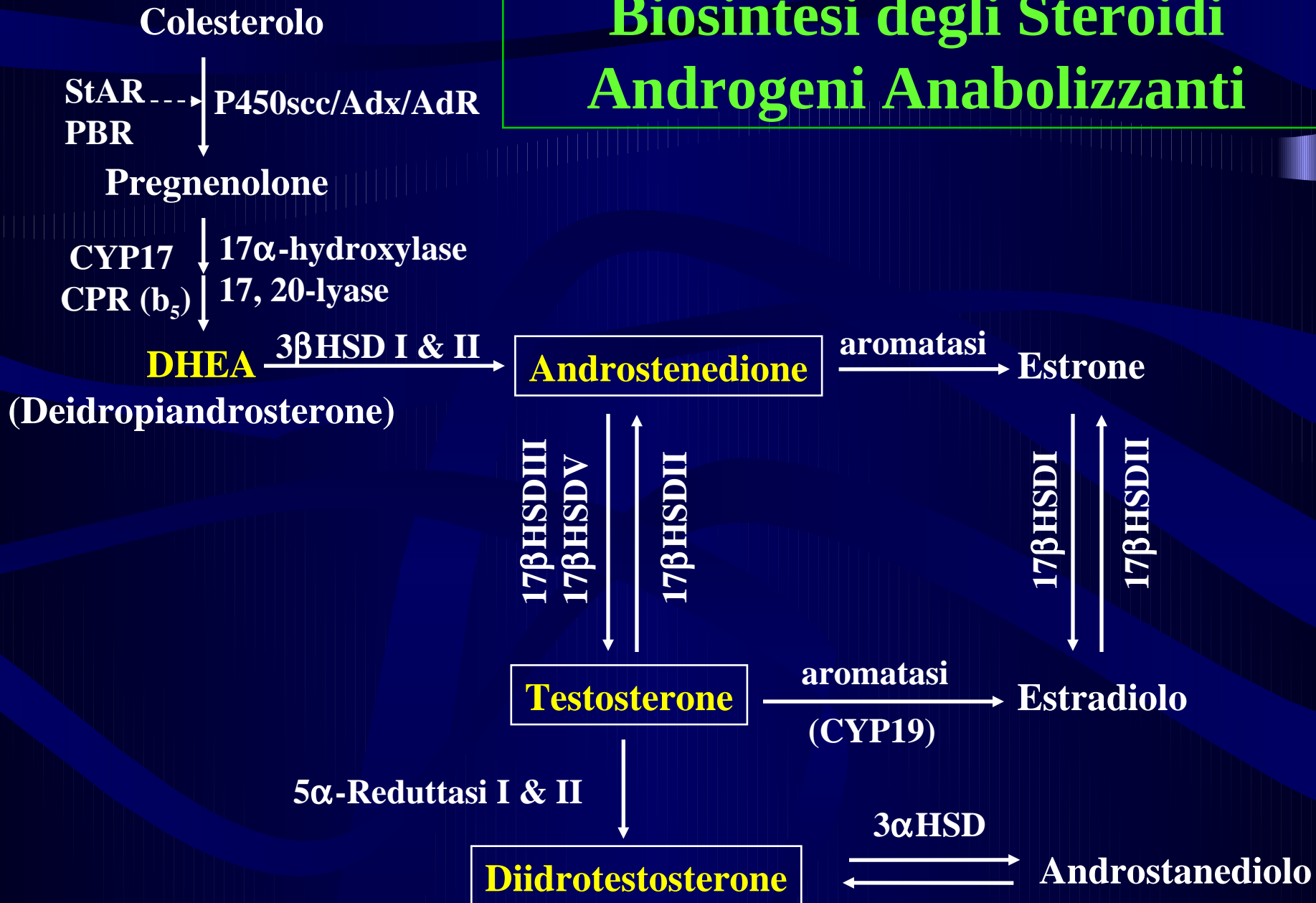
Proteine leganti gli ormoni

Sia androgeni che estrogeni si legano alle proteine plasmatiche; solo il 2% degli ormoni circolanti non sono legati: tale quota è quella biologicamente attiva. L'elevato legame prolunga l'emivita degli ormoni

Albumine: non specifiche; bassa affinità; (58% legame)

Gamma globuline: globuline leganti gli ormoni sessuali (SHBG); specifiche; alta affinità; (40% legame)

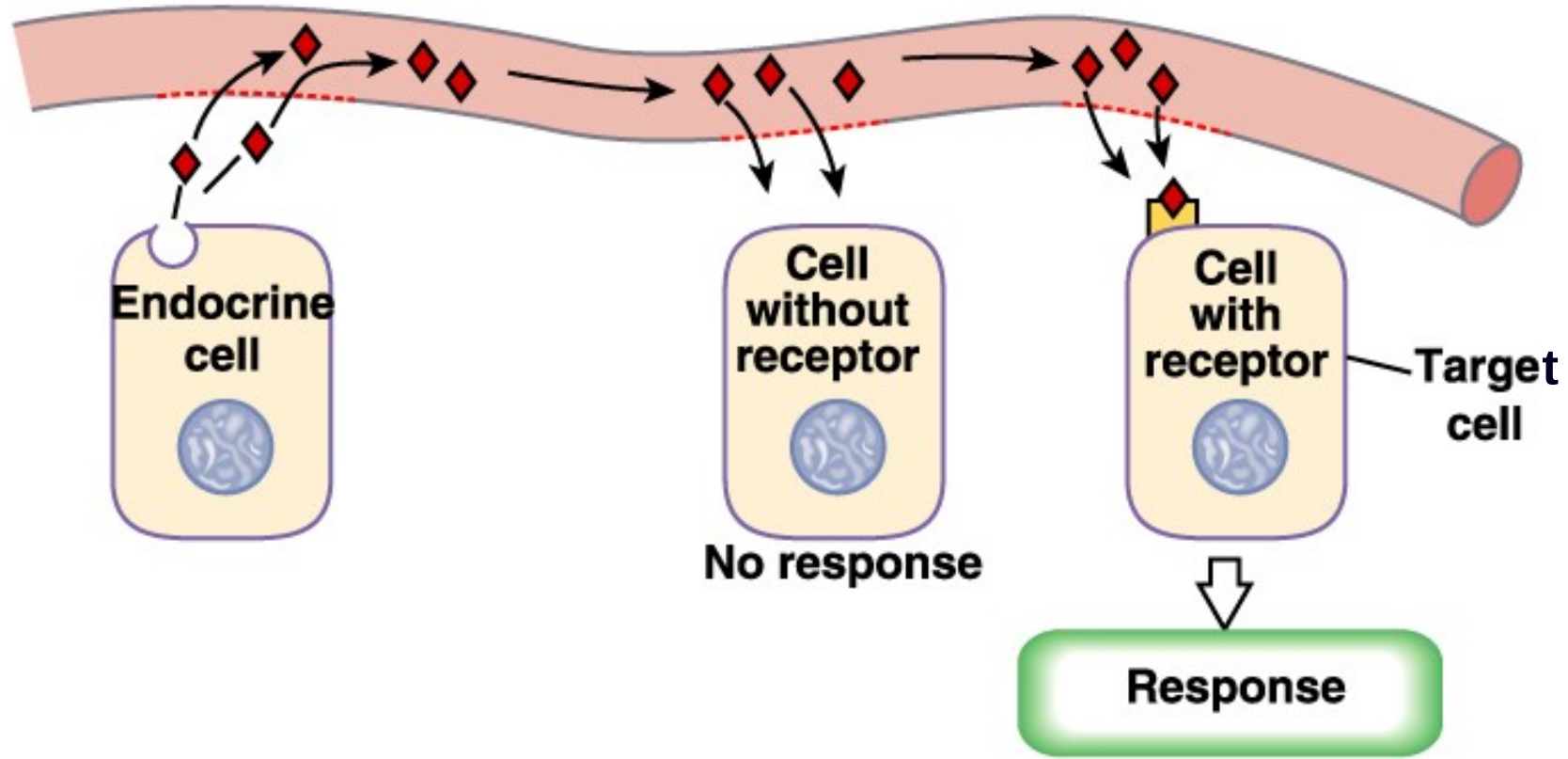
Biosintesi degli Steroidi Androgeni Anabolizzanti



Meccanismo d'azione del testosterone

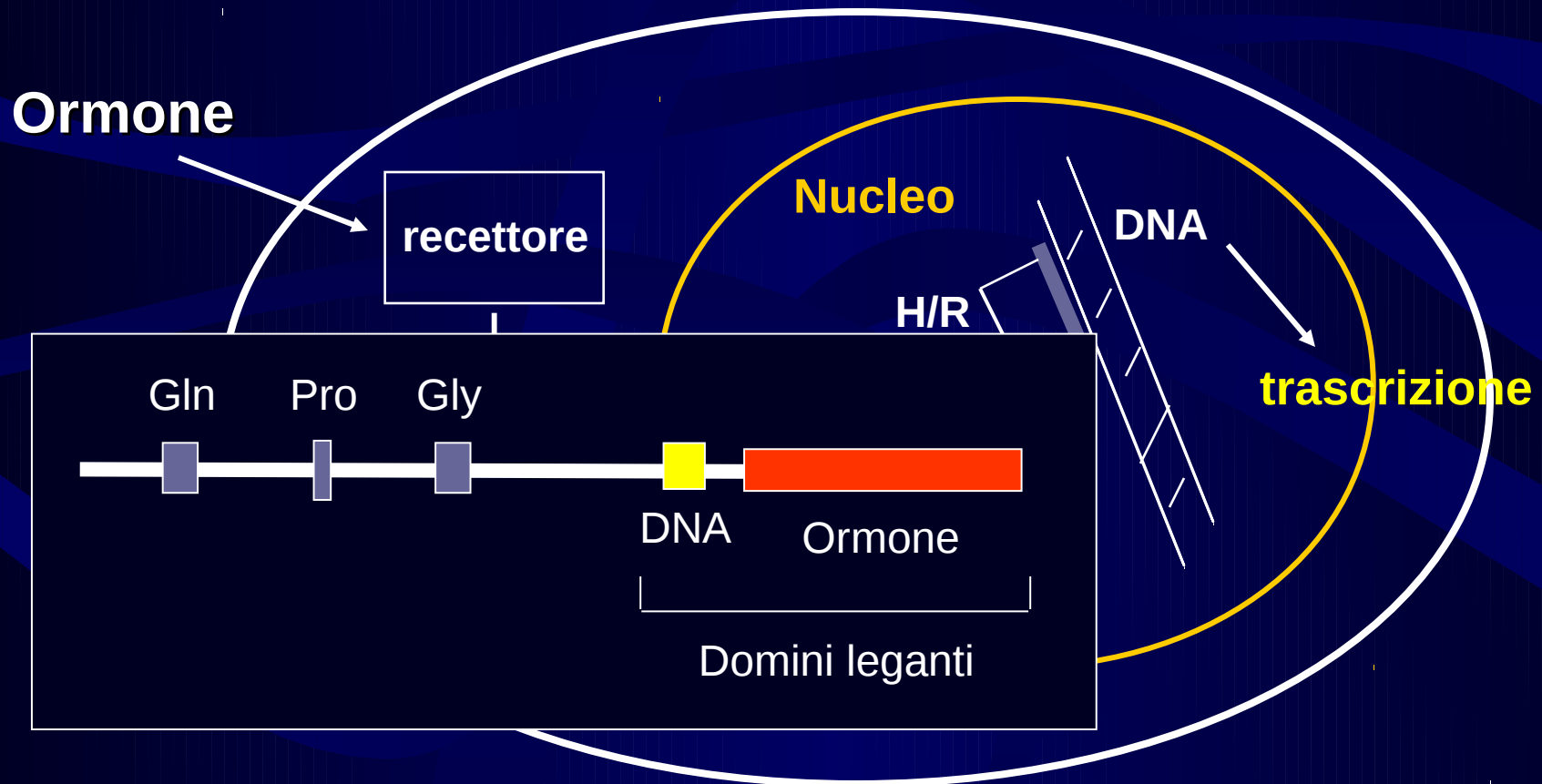
- Diffonde nelle cellule target
- Metabolizzato a **diidrotestosterone**
- Si lega a recettori citoplasmatici
- Il complesso attivo trasloca nel nucleo legandosi a livello del DNA in regioni promotrici (siti di fattori di trascrizione) e altera la trascrizione genetica

Segnali ormonali



Schema semplificato del meccanismo d'azione ormonale

CELLULA BERSAGLIO



TESTOSTERONE

5-alfa reduttasi

CYP19 (aromatasi)

Diidrotestosterone

Estradiolo

Recettore androgeni
(NR3A)

Recettore androgeni
(NR3A)

Recettore estrogeni

Genitali esterni

*Differenziamento nella gestazione
Maturazione durante la pubertà
Patologie prostatiche*

Follicoli piliferi

*Incrementata crescita
durante la pubertà*

Genitali interni

Sviluppo durante la gestazione

Muscolo scheletrico

*Aumento massa e forza
durante la pubertà*

Eritropoiesi

? Osso

Osso

*Chiusura epifisi,
aumentata densità*

? Libido

Organi bersaglio ed effetti fisiologici del testosterone e dei suoi metaboliti

- SNC (↑ libido, benessere, aggressività)
- Ipotalamo/Pituitaria (↓ GnRH, LH, FSH; ↑ GH)
- Laringe (abbassamento voce)
- Petto (↑ dimensione)
- Fegato (↓ SHBG, HDL)
- Rene (↑ eritropoietina, ritenzione idrosalina)
- Genitali (↑ sviluppo, spermatogenesi, funzione erettile)
- Cute (↑ peli, produzione di sebo con conseguente acne)
- Ossa (↑ densità ossea)
- Muscolo (↑ massa magra, forza)
- Tessuto adiposo (↑ lipolisi, ↓ grasso addominale)
- Sangue (↑ ematocrito)
- Sistema immunitario (↓ produzione auto-anticorpi)
- Prostata (↑ dimensione)

Raggruppamento azioni farmacologiche

- **Azioni morfogeniche:** irreversibili; si verificano durante l'embriogenesi
- **Azioni stimolatorie:** pubertà (peli, corde vocali, ossa)
- **Azioni di mantenimento:** reversibili; comportamento, libido, funzione riproduttiva
- **Altre azioni:** diminuzione tessuto linfoide; stimolazione eritropoiesi.

Raggruppamento azioni farmacologiche

- **Effetti virilizzanti:** regolazione gonadotropine; spermatogenesi; sviluppo sessuale
- **Effetti anabolici proteici:** incremento densità ossea, massa muscolare, globuli rossi

Usi clinici

Terapia sostitutiva

Ipogonadismo

prepuberale: congenito e acquisito; terapia per 2-3 anni fino alla pubertà; dosi basse di mantenimento

postpuberale: disfunzione testicolare primaria; secondario alla distruzione dell'adenoipofisi

Invecchiamento e impotenza

Usi clinici

Tumore mammella; endometriosi

uso limitato a causa degli effetti virilizzanti

Azione anabolica proteica:

aumentato uptake aminoacidi; incremento RNA polimerasi nel muscolo scheletrico; antagonismo delle azioni dei glucocorticoidi; utilizzato per persone di bassa statura (19-nortestosterone)

Specialità medicinali, contenenti steroidi anabolizzanti, per uso terapeutico in Italia

- **Clobestol**: Alfatrofodermin[®], Trofodermin[®]
- **DHEA**: Gynodian depot[®]
- **Nandrolone**: Deca-Durabolin[®], Dynabolon[®]
- **Mesterolone**: Proviron[®]
- **Ossandrolone**: Oxandrolone[®]
- **Testosterone**: Andriol[®], Androderm[®], Androgel[®], Facovit[®], TestoEnant[®], Testogel[®], Testovis[®], Testoviron[®], Sustanon[®]

AAS e doping

Steroidi anabolizzanti di uso comune



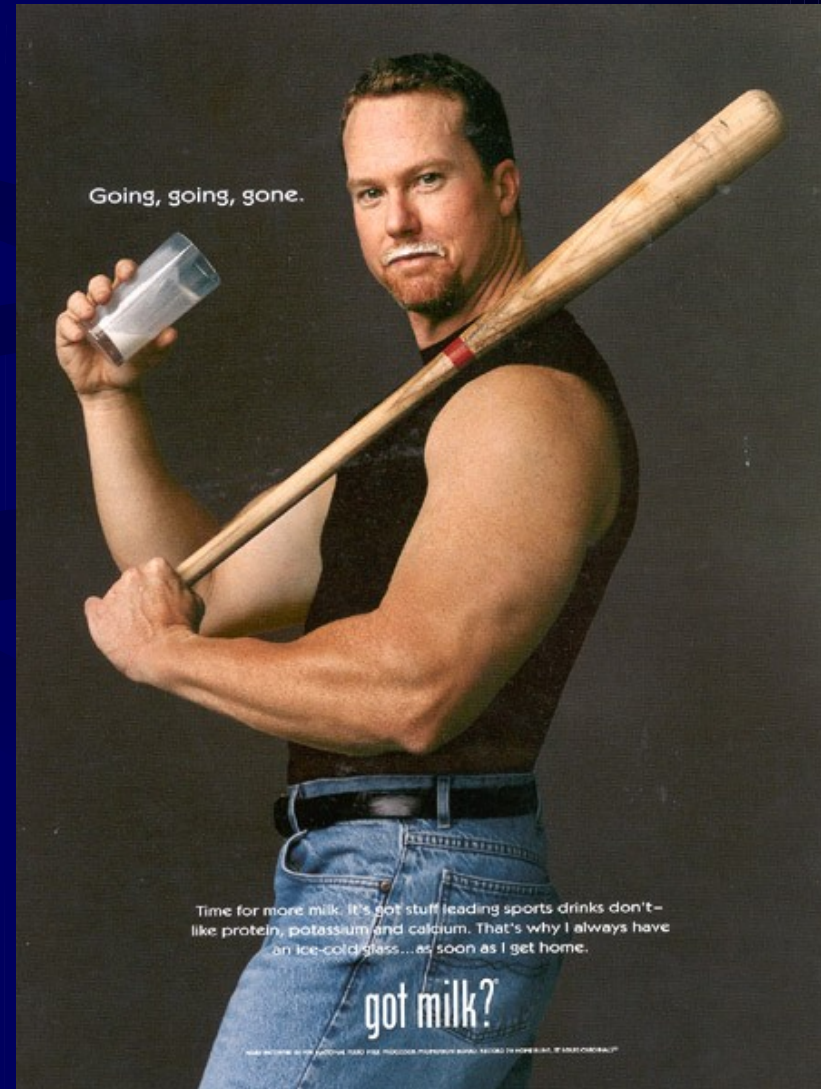
- Testosterone*
- Stanazolo
- Danazolo
- Nandrolone
- Diidrotestosterone (DHT)
- Deidropiandrosterone (DHEA)
- Androstenedione
- Metandienone
- Tetraidrogestrinone (THG)
- Ecc. ecc.

C.J. Hunter: positivo per nandrolone (2000)

*In giallo gli ormoni naturali

Atleti come promotori del doping

- I produttori dichiaravano che l'androstenedione è un "proormone" che può aiutare a costruire i muscoli
- La sua popolarità iniziò nel 1998 "grazie" a Mark McGwire, uno dei più famosi giocatori di baseball americani, che ne promuoveva l'uso "Well, I didn't endorse it. I didn't promote it. It's just something that helped me through my workouts. Period. That's it. Everybody takes supplements when they work out. You need to." -Mark McGwire on Androstene, ESPN Magazine May 17, 1999
- Disponibile come prodotto OTC sia negli USA che in UK



Tetraidrogestrinone (THG)

- Il tetraidrogestrinone (THG) è uno steroide anabolizzante specificatamente sviluppato come sostanza per aumentare la performance fisica e per cercare di evitare la sua individuazione nei test antidoping (**Nature 2003; 425:752**)
- Atleti del baseball negli USA, quali Barry Bonds, Jason Giambi e Gary Sheffield, hanno testimoniato nel corso di un processo contro la Bay Area Laboratory Co-Operative (BALCO)
- Negli USA si è svolta una vera e proprio guerra prima di mettere al bando questa sostanza, particolarmente utilizzata e non proibita nel baseball (ora lo è)
- Il caso del THG evidenzia la continua necessità di migliorare i metodi per la detenzione delle sostanze dopanti
- Per la prima volta il THG è stato testato alle Olimpiadi di Atene

**Efficacia del
tetraidrogestrinon
e (Labrie F et al. J
Endocrinol 2005;
184:427)**

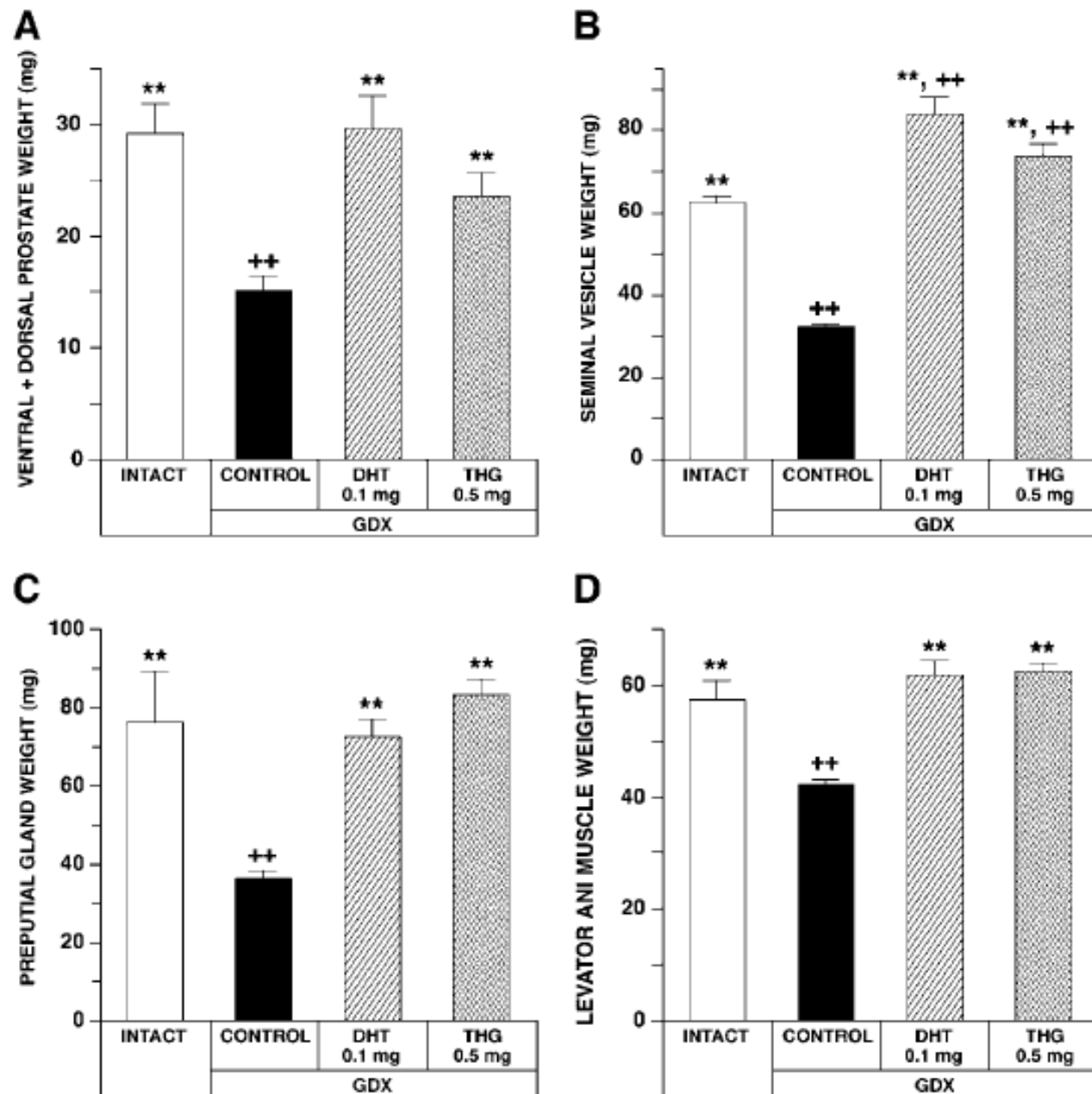
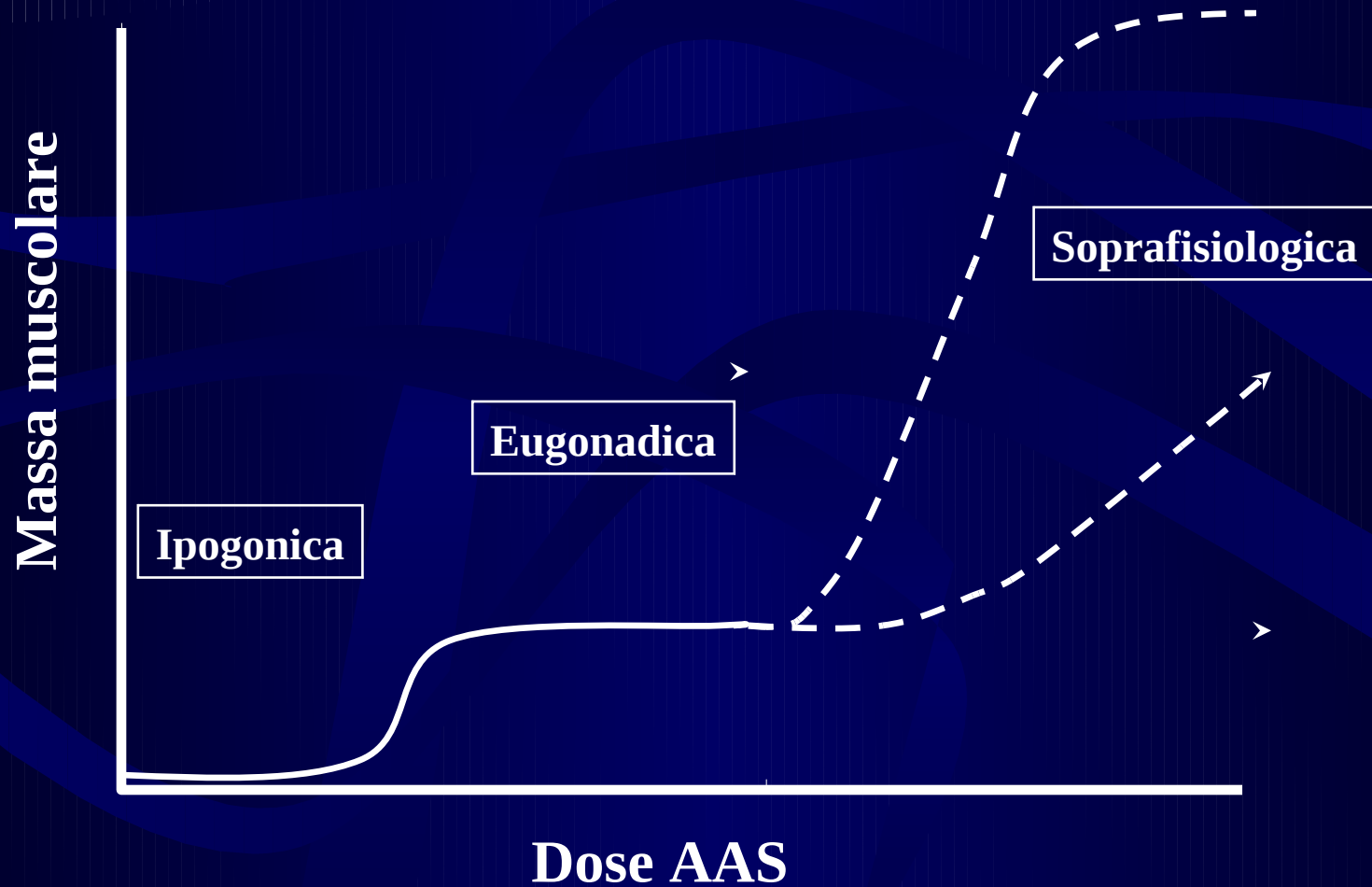


Figure 2 Effect of 7-day daily treatment with DHT or THG on the weights of (A) prostate, (B) seminal vesicle, (C) preputial gland and (D) levator ani muscle in gonadectomized (GDX) male C57BL6 mice. Data are expressed as the mean \pm s.e.m. of 10 animals per group. ** $P < 0.01$, experimental versus GDX-control mice, ++ $P < 0.01$, experimental versus intact control mice.

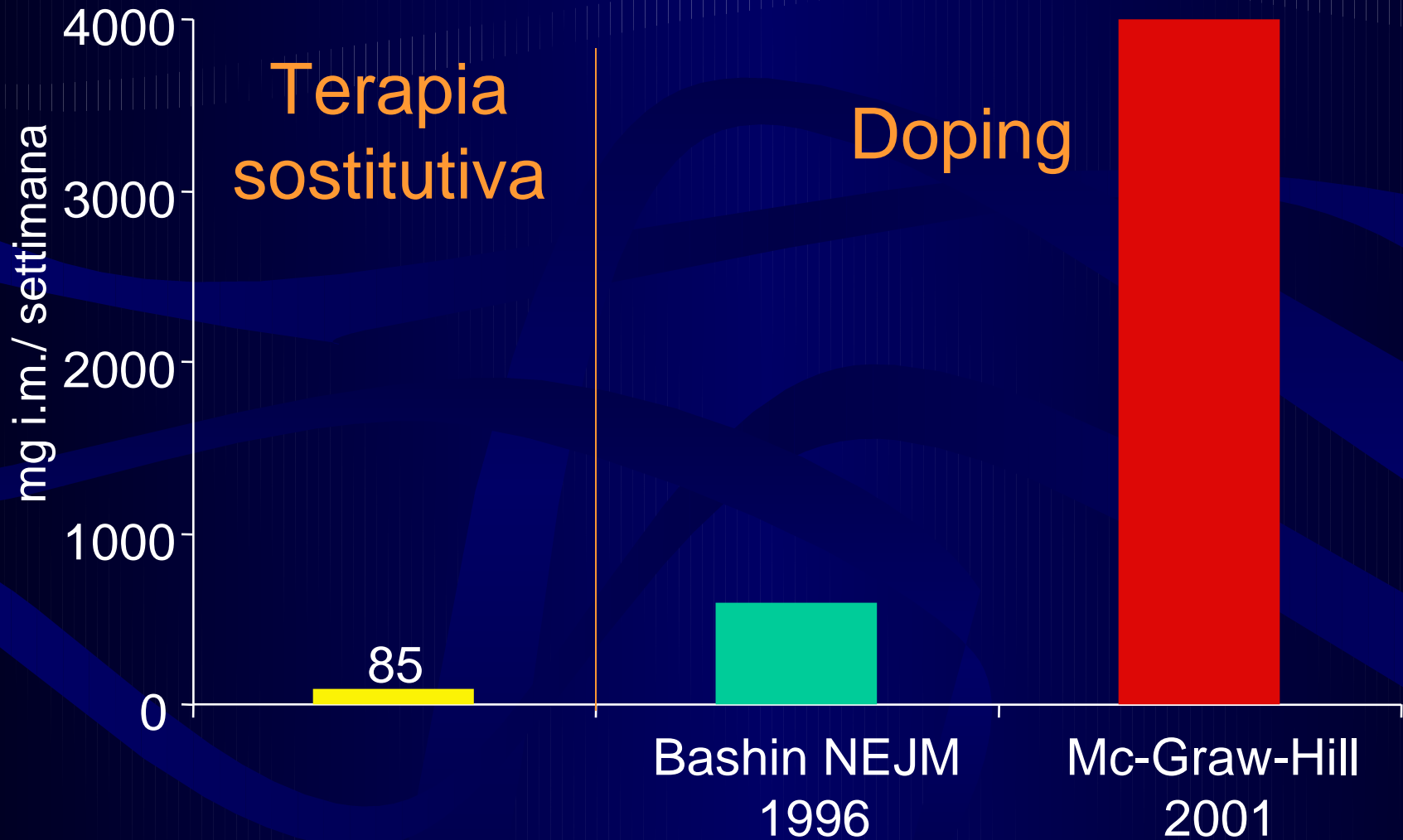
Modalità di assunzione degli AAS come doping

- Via somministrazione: orale o parenterale
- Ciclica: tipicamente 6-8 settimane con uguale intervallo libero
- A dosi (10-40 volte quelle terapeutiche) crescenti e poi decrescenti (regime piramidale)
- Stacking: uso contemporaneo di più anabolizzanti (tipicamente uno per os e uno iniettivo) per evitare la tolleranza a un particolare steroide
- Solleventori di peso e culturisti arrivano ad utilizzare dosi fino a 100 volte superiori a quelle terapeutiche
- Spesso si fa seguire agli steroidi anabolizzanti la gonadotropina corionica umana (hCG) per stimolare la produzione di testosterone endogeno soppresso dall'assunzione cronica degli steroidi
- L' aumento della forza muscolare da AAS è potenziato da adeguati protocolli di allenamento

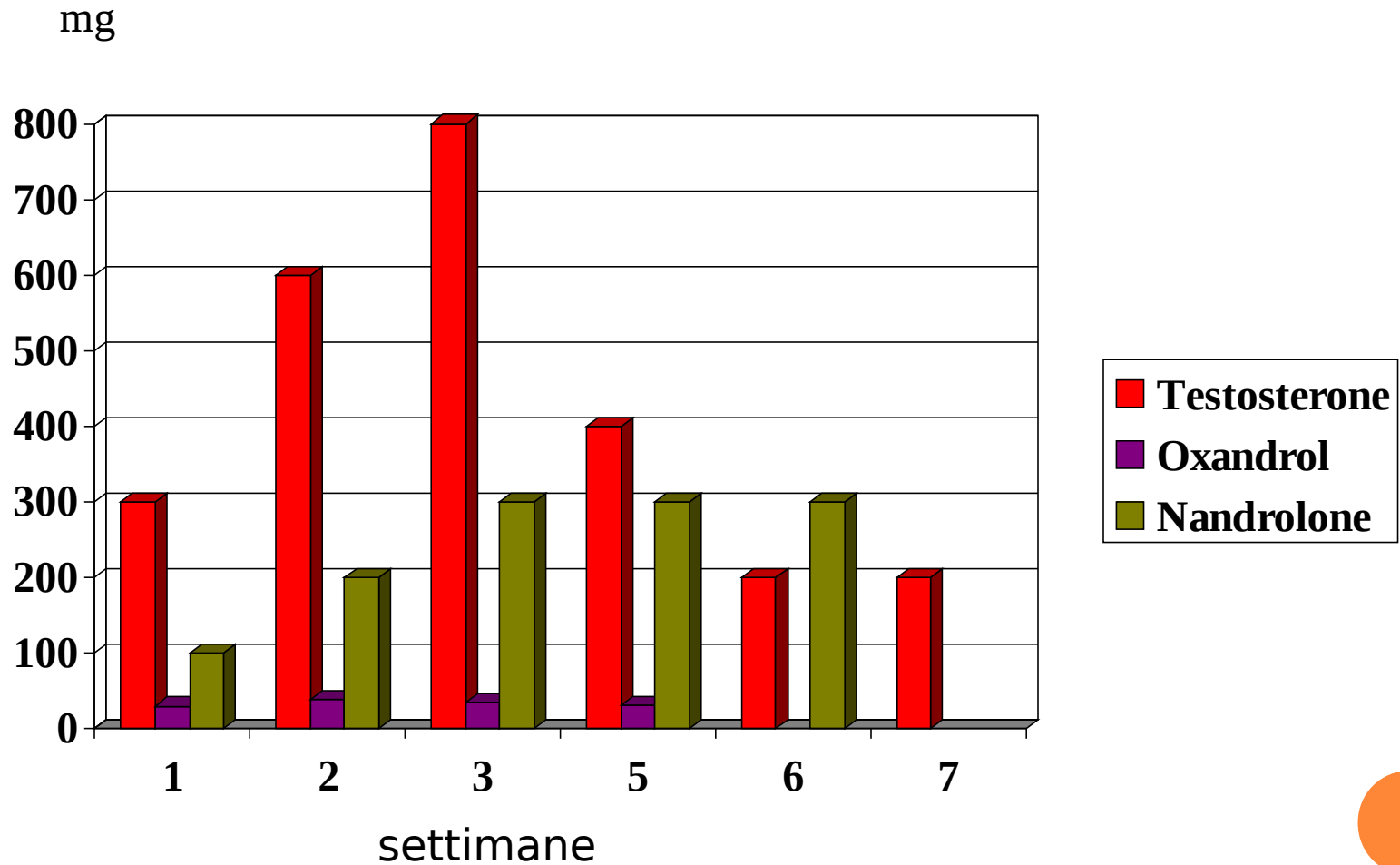
Curve Dose-Risposta AAS



DOSI TERAPEUTICHE E DOPANTI DEGLI ANDROGENI NEL MASCHIO

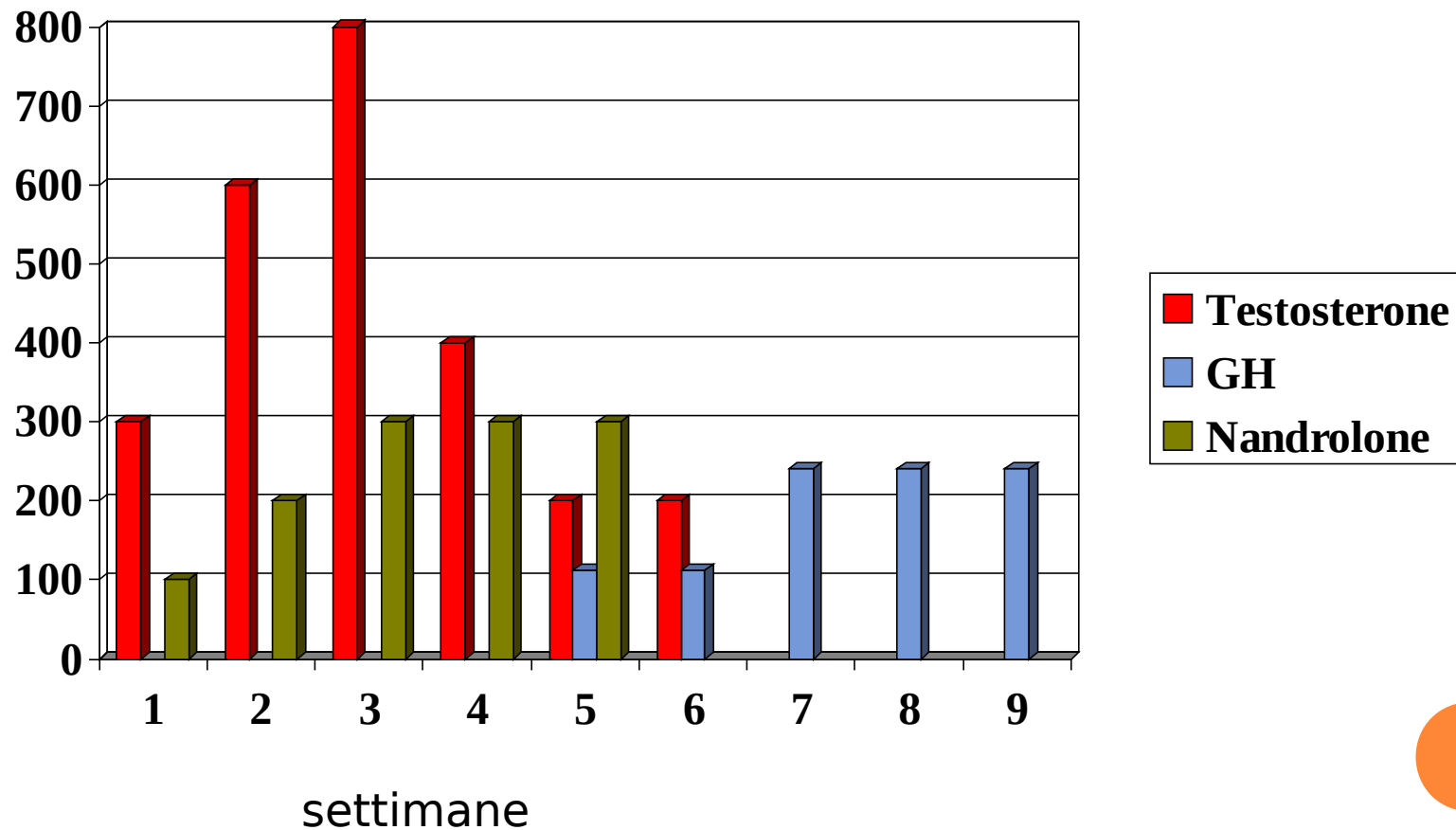


STERIODI ANABOLIZZANTI PROTOCOLLO PIRAMIDALE



STEROIDI ANABOLIZZANTI PROTOCOLLO SEQUENZIALE

mg e Unità



Gli AAS come doping funzionano!

- Aumentano la forza e la massa muscolare. Aumentano l'aggressività, la resistenza agli allenamenti e il recupero dopo carichi di lavoro intensi
- I giovani e le donne: risentono maggiormente dell'effetto anabolizzante degli steroidi in termini di performance, ma sono anche coloro che hanno il maggior rischio di effetti collaterali

The New England Journal of Medicine

©Copyright, 1996, by the Massachusetts Medical Society

VOLUME 335

JULY 4, 1996

NUMBER 1



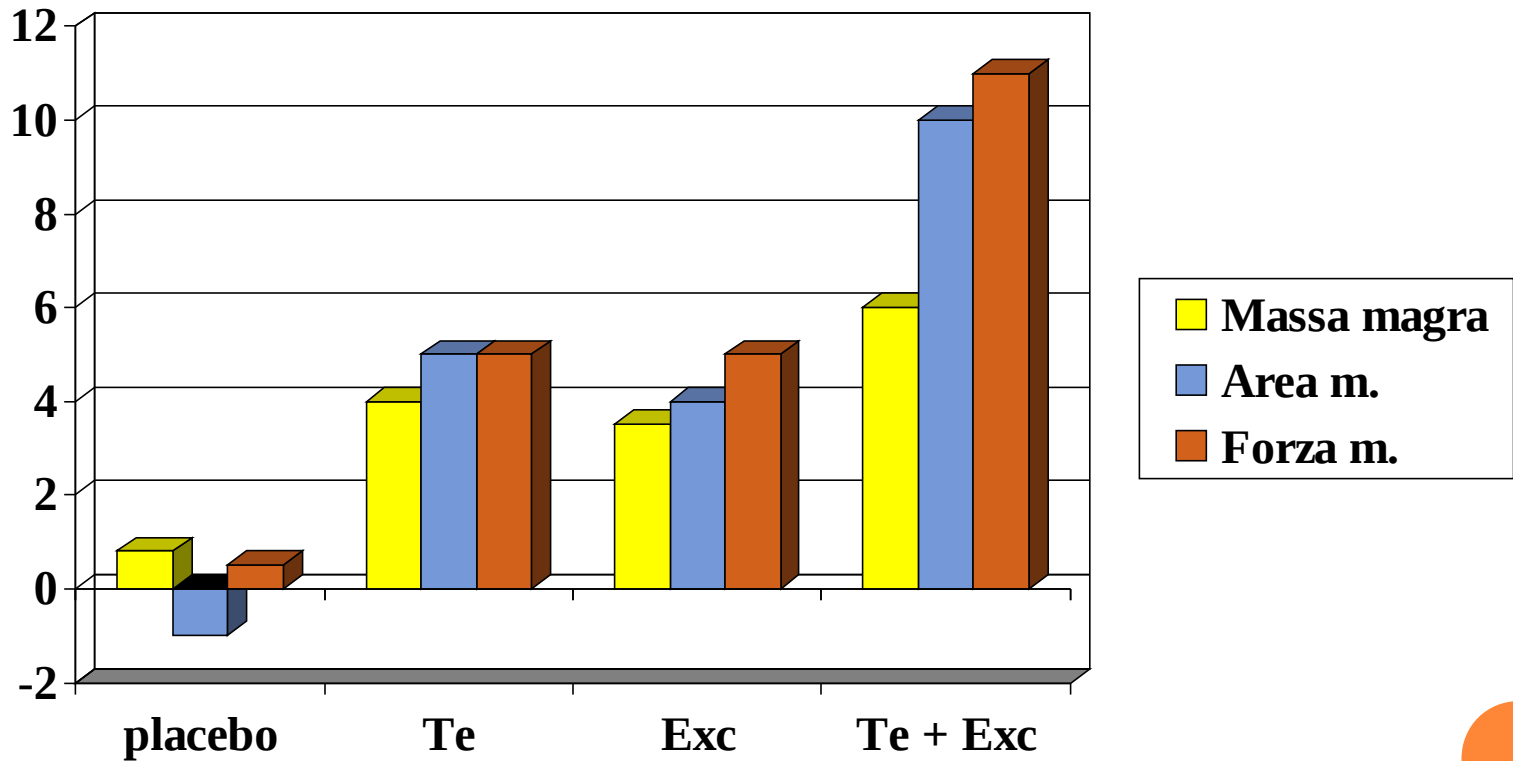
THE EFFECTS OF SUPRAPHYSIOLOGIC DOSES OF TESTOSTERONE ON MUSCLE SIZE AND STRENGTH IN NORMAL MEN

SHALENDER BHASIN, M.D., THOMAS W. STORER, PH.D., NANCY BERMAN, PH.D., CARLOS CALLEGARI, M.D.,
BRENDA CLEVINGER, B.A., JEFFREY PHILLIPS, M.D., THOMAS J. BUNNELL, B.A., RAY TRICKER, PH.D., AIDA SHIRAZI, R.Ph.,
AND RICHARD CASABURI, PH.D., M.D.

Caratteristiche dello studio di Bhasin S. et al. (NEJM 1996)

- Studio randomizzato in doppio cieco su 43 soggetti
- Quattro bracci: 1) Placebo 2) Testosterone 3) Esercizio fisico + placebo 4) Esercizio fisico + testosterone
- Dosaggio di testosterone: 600 mg/settimana per 10 settimane
- Misurazione massa muscolare con Risonanza Magnetica
- Misurazione della forza muscolare con esercizi alla panca e allo squatting
- Tutte le misurazioni prima e dopo il trattamento (placebo o testosterone)

EFFETTI DEL TE SOMMINISTRATO A DOSI SOPRAFISIOLOGICHE

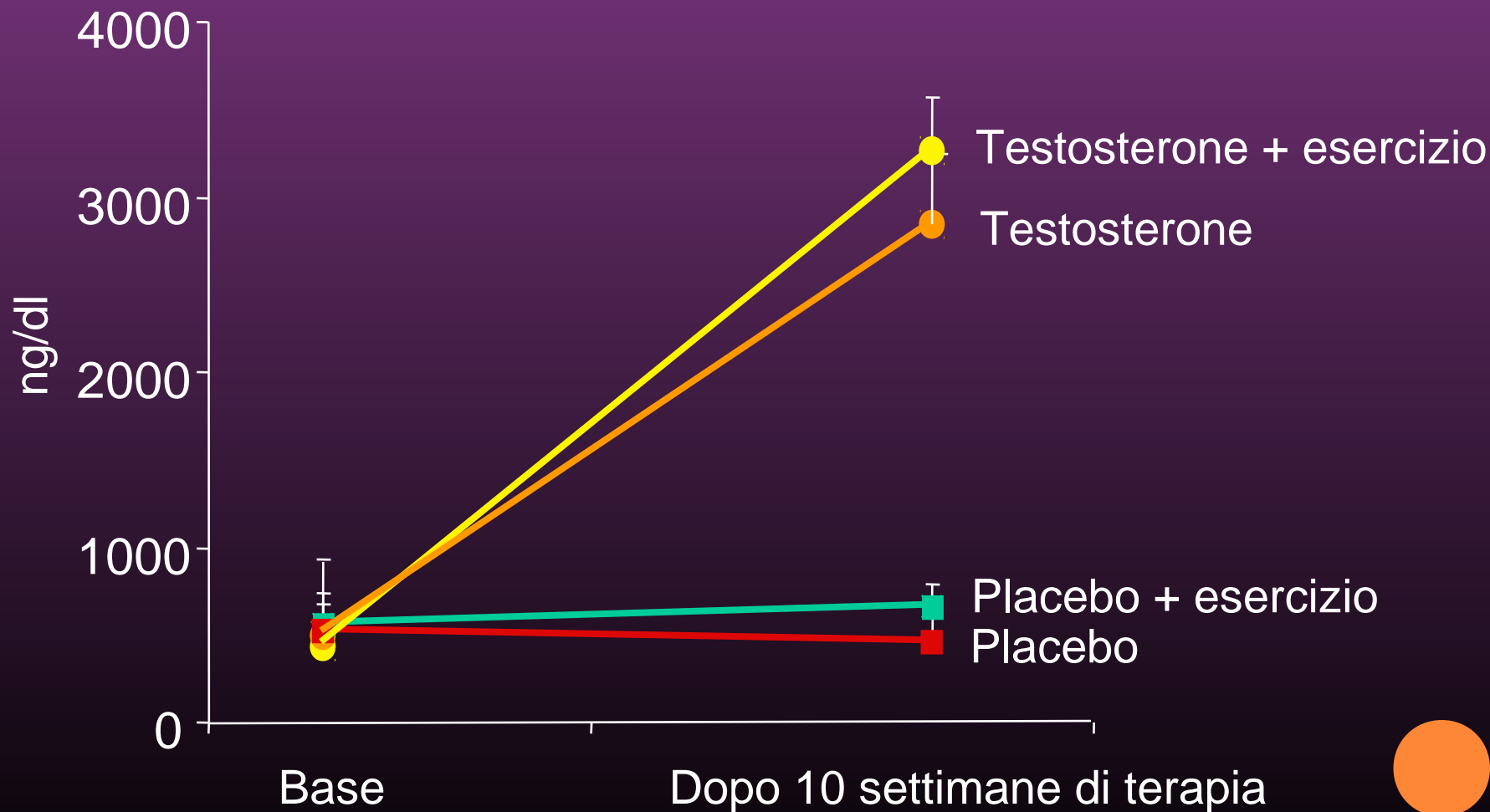


“Occhio” ai numeri

	<u>No Exercise</u>		<u>+ Exercise</u>	
	Placebo	Test.	Placebo	Test.
<u>Δ Bench</u>	0	2.2	8.4	2.8
Δ Wt				
<u>Δ Squat</u>	1.8	2.9	18	4.7
Δ Wt				

Bhasin et al NEJM 335:1-7 (1996)

VARIAZIONE DEI LIVELLI DI TESTOSTERONE TOTALE DOPO SOMMINISTRAZIONE DI TESTOSTERONE ENANTATO (600 mg/settimana) O PLACEBO



Relazione dose-risposta degli steroidi anabolizzanti

Am J Physiol Endocrinol Metab
281: E1172–E1181, 2001.

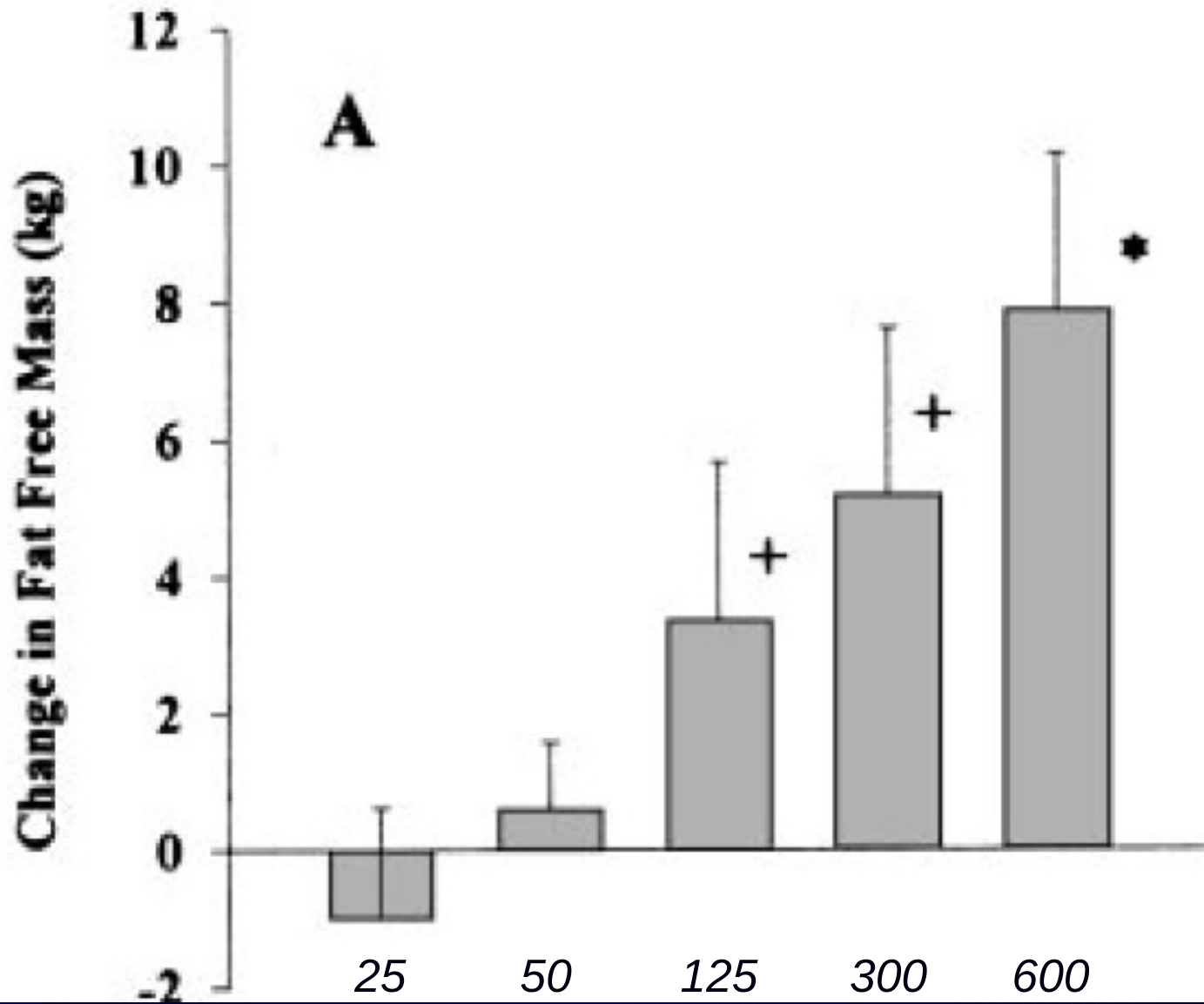
Testosterone dose-response relationships in healthy young men

SHALENDER BHASIN,¹ LINDA WOODHOUSE,¹ RICHARD CASABURI,³ ATAM B. SINGH,¹
DIMPLE BHASIN,³ NANCY BERMAN,³ XIANGHONG CHEN,⁴ KEVIN E. YARASHESKI,⁴
LYNNE MAGLIANO,² CONNIE DZEKOV,¹ JEANNE DZEKOV,¹ RACHELLE BROSS,³
JEFFREY PHILLIPS,³ INDRANI SINHA-HIKIM,¹ RUOQUING SHEN,¹
AND THOMAS W. STORER²

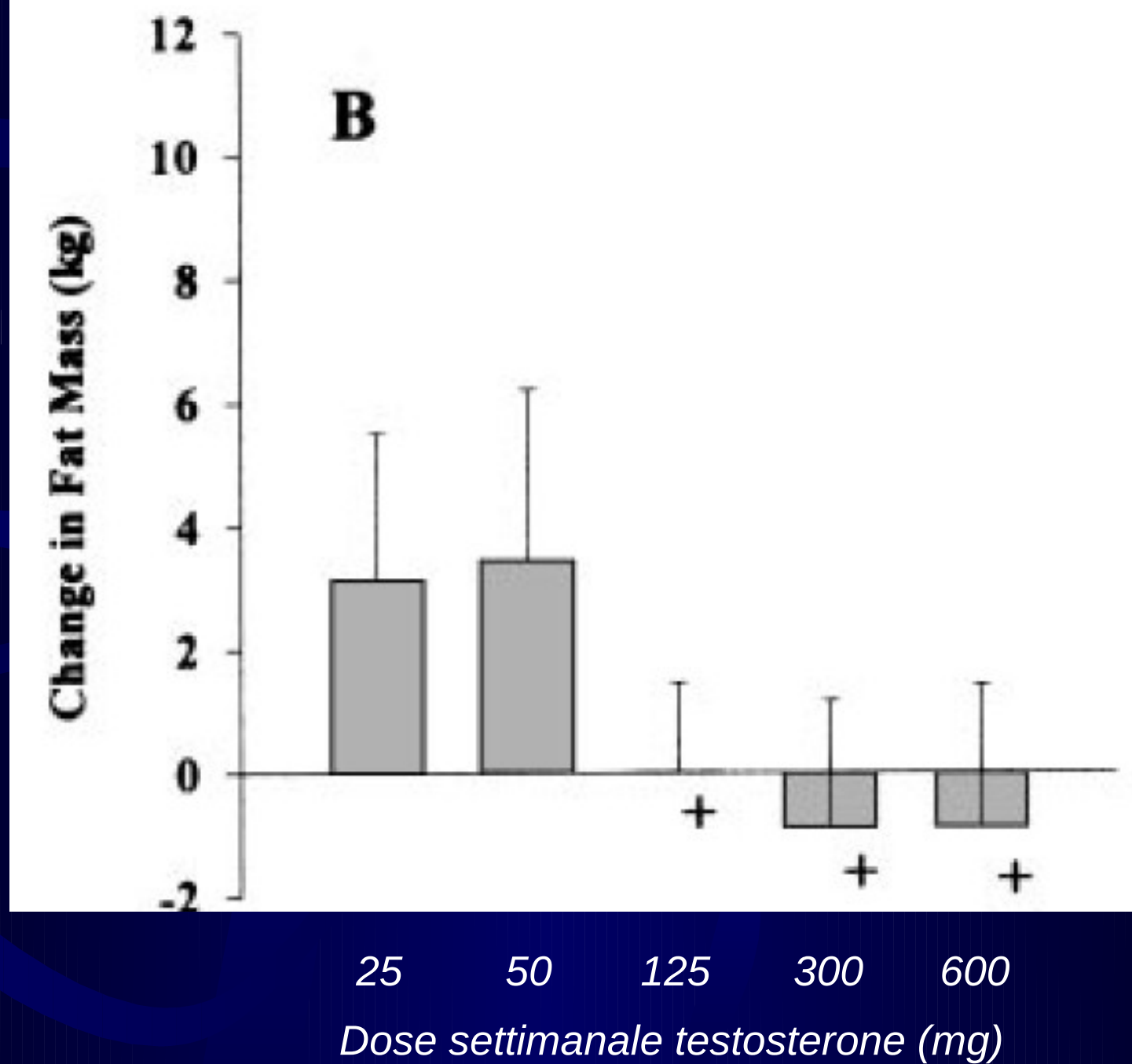
¹*Division of Endocrinology, Metabolism, and Molecular Medicine, Charles R. Drew University of Medicine and Science, Los Angeles 90059;* ²*Laboratory for Exercise Sciences, El Camino College, and* ³*Harbor-University of California Los Angeles Medical Center, Torrance, California 90502; and* ⁴*Biomedical Mass Spectrometric Research Resource, Department of Internal Medicine, Washington University, School of Medicine, St. Louis, Missouri 63110*

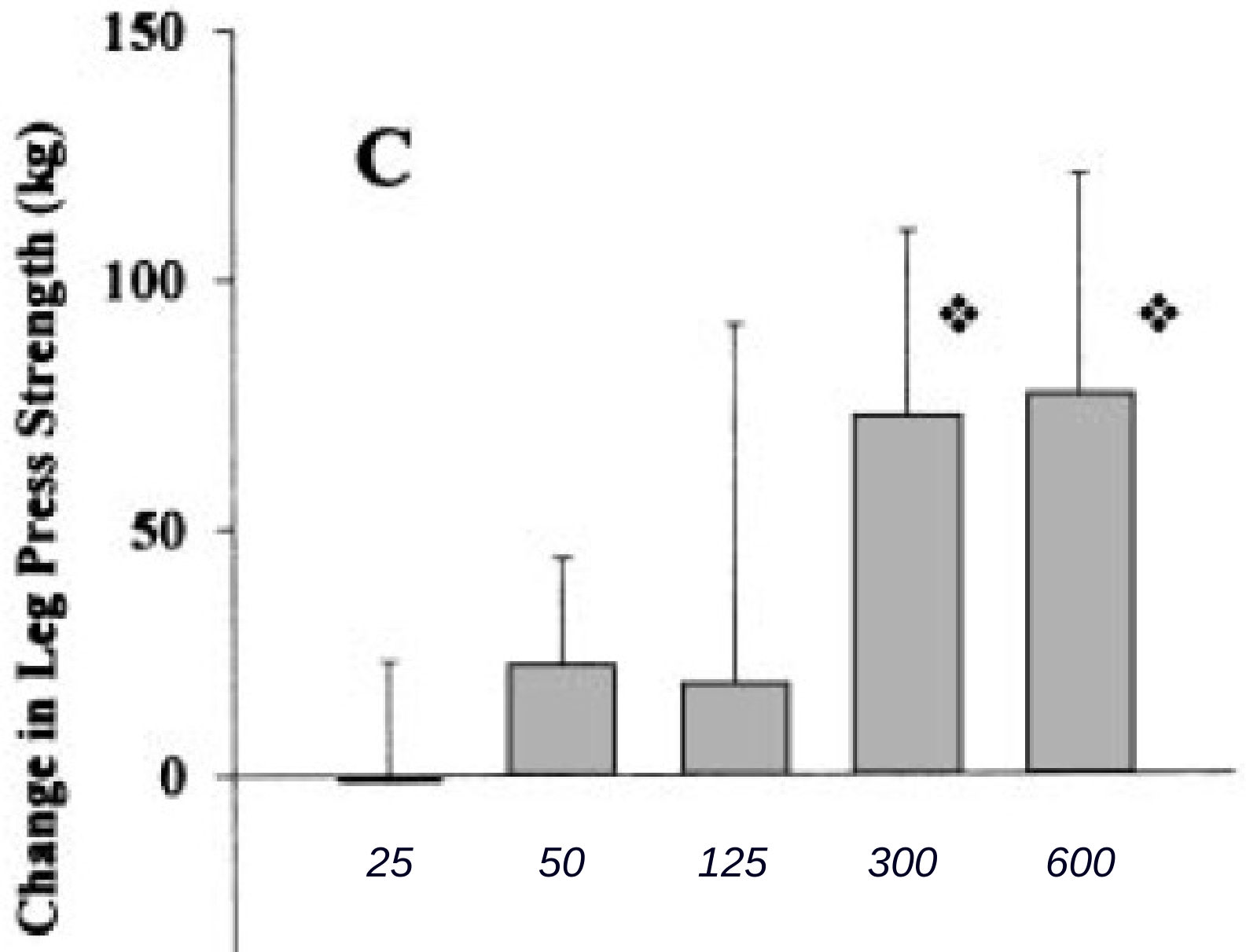
Caratteristiche dello studio di Bashin S. et al. (Am J Physiol Endocrinol Metab 2001)

- Studio randomizzato in doppio cieco su 61 soggetti (18-35 anni) trattati con diverse dosi di testosterone
- Cinque gruppi: 1) 25 mg/sett. 2) 50 mg/sett. 3) 125 mg/sett. 4) 300 mg/sett. 5) 600 mg/sett.
- Durata trattamento 20 settimane
- Misurazioni: ad inizio e alla 20^a settimana. Il volume della coscia misurato con RM. La forza misurata con un esercizio allo squatting

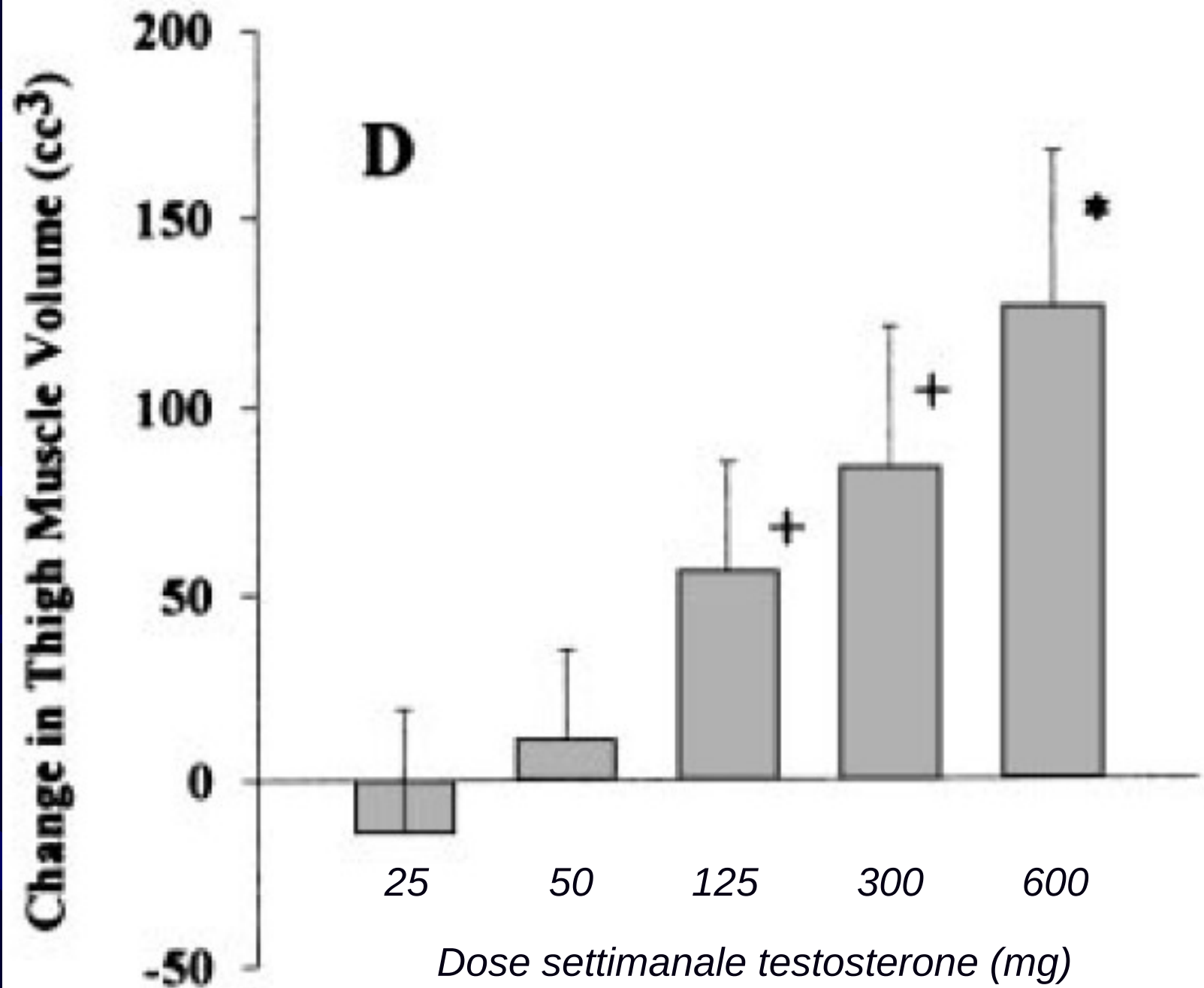


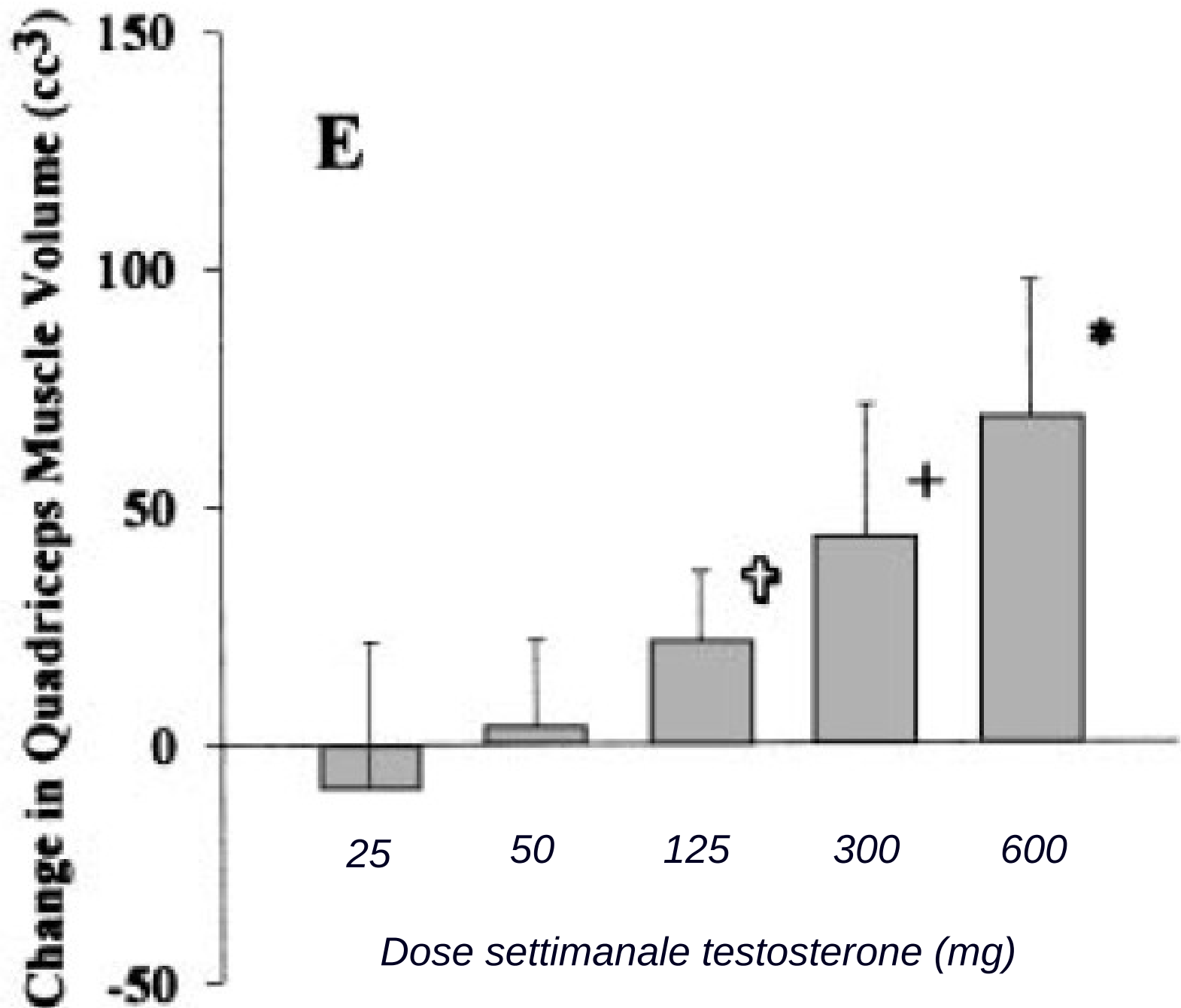
Dose settimanale testosterone (mg)



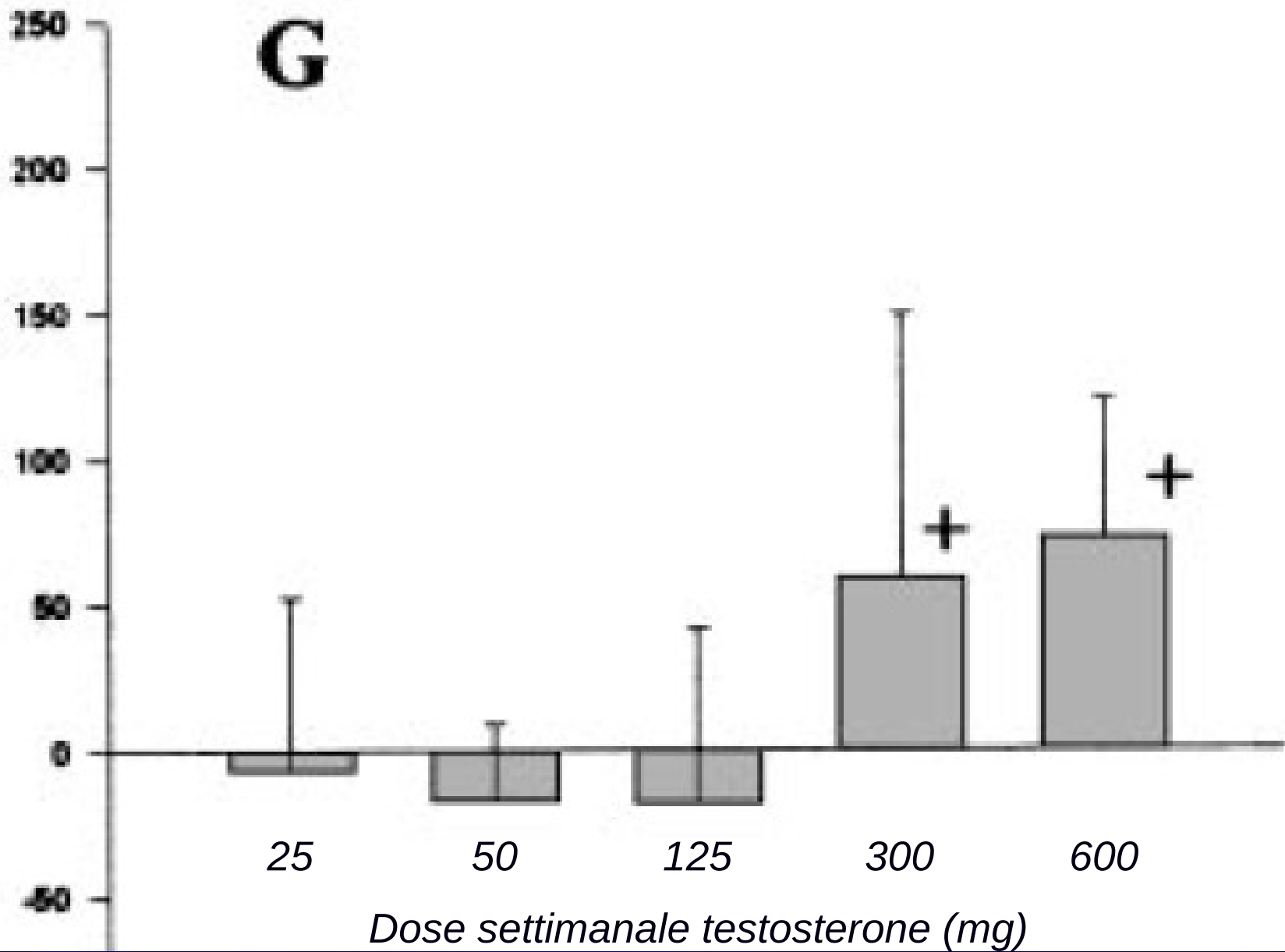


Dose settimanale testosterone (mg)

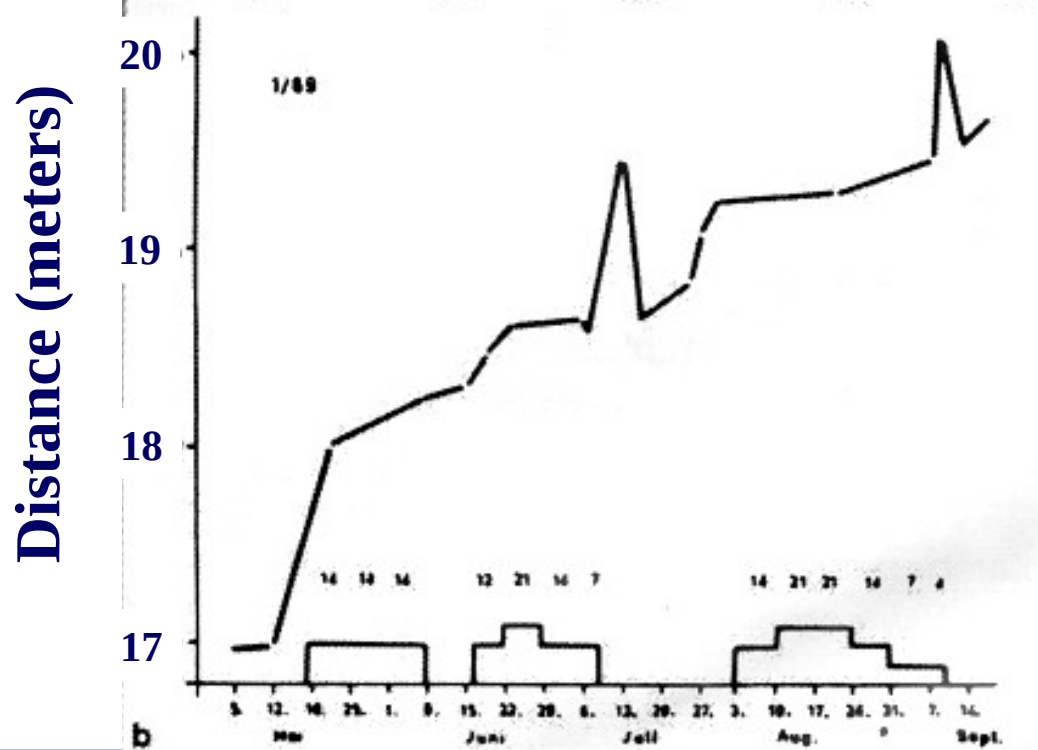
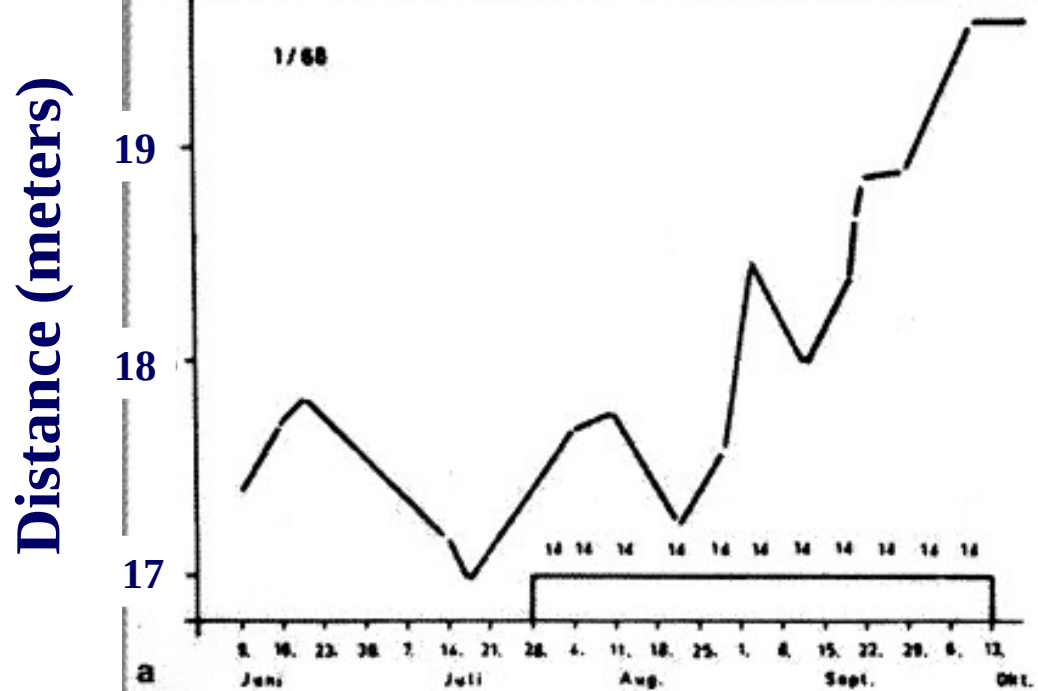




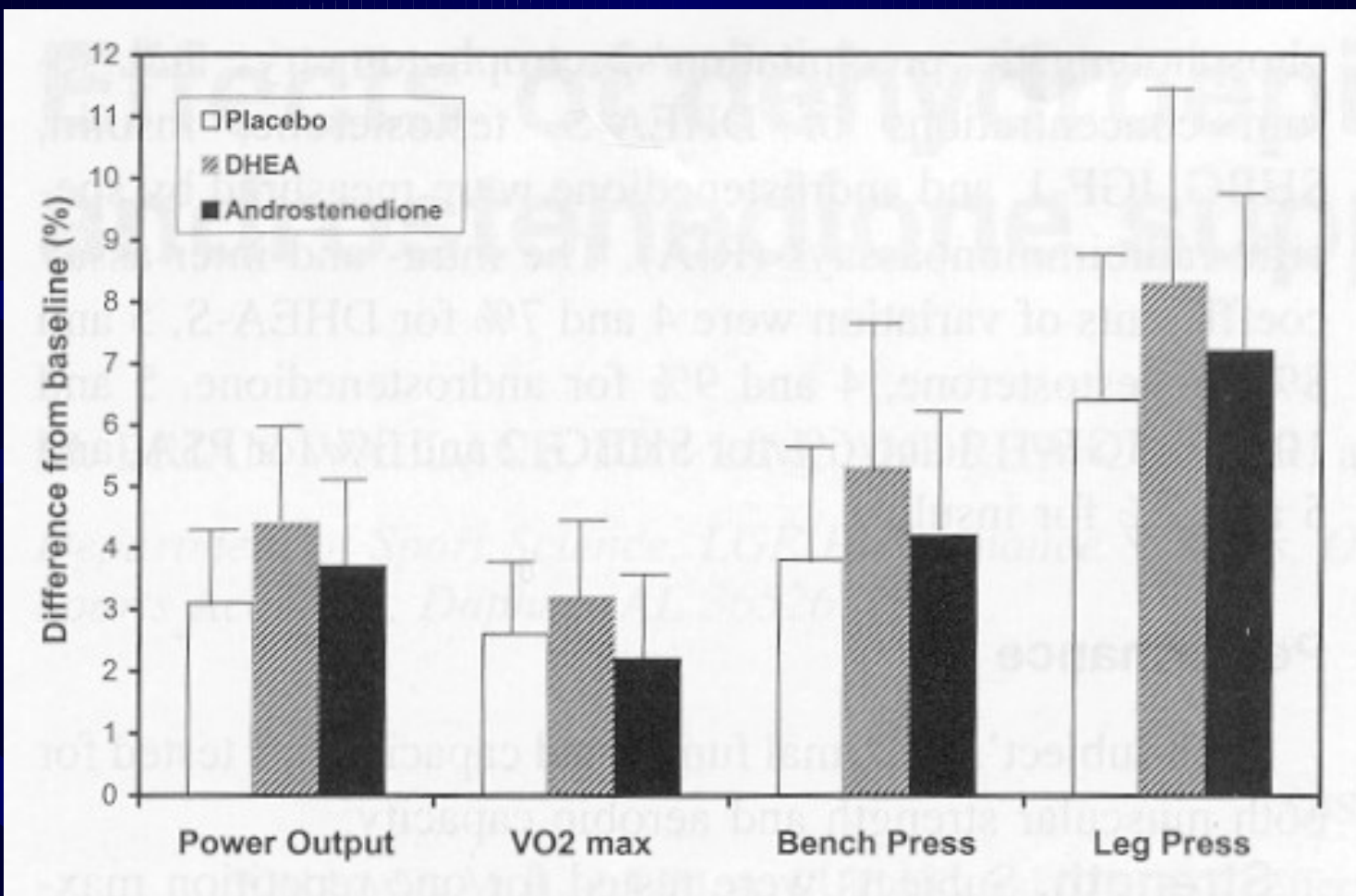
Change in Insulin-like Growth Factor 1 (ng/ml)



Turinabol orale: effetto sul lancio del peso in un atleta donna della DDR




Non sempre funzionano: effetti del DHEA e androstenedione dopo 12 settimane di allenamento



Tecniche antidoping per AAS

- **Steroidi sintetici: individuabili con gascromatografia o spettrofotometria di massa**
 - **HPLC-MS di metaboliti coniugati**
- **Per indagare la somministrazione esogena di testosterone viene usato il rapporto testosterone/epitestosterone nelle urine**
- **Un T/E > 4 è considerato sospetto (normale < 2)**
- **Altro rapporto indicativo: T/LH > 30**
- **Rapporto di 5 α /non-5 α C₁₉ steroidi**

RAPPORTO TESTOSTERONE/EPITESTOSTERONE

- Rapporto T/E: è il valore su cui più di frequente si fa diagnosi di doping
 - Occorre considerare che possono esserci casi di rapporto T/E > 6 anche in individui “sani”
 - Oggi il CIO e la WADA richiedono l'esecuzione di studi di follow-up per atleti con T/E > di 4 come strumento per la definizione dell'assunzione dopante di anabolizzanti
 - Gli studi di follow-up servono anche per definire il range individuale di variazione di T/E
 - Definito tale range, una misurazione fuori limite superiore del range individuale (media + 3 SD) è considerata dimostrazione di avvenuto doping
- 

RAPPORTO TESTOSTERONE/EPITESTOSTERONE

Fattori che possono influenzare i valori di T/E

- Problemi tecnici di determinazione analitica
- Fattori endogeni
- Fattori esogeni



RAPPORTO

TESTOSTERONE/EPITESTOSTERONE

Aspetti analitici

Metodologici

- Si ritiene che in individui con elevato TE/EG di base vi sia bassa escrezione di epitestosterone glucuronide (EG) ed elevata escrezione di epitestosterone solfato (ES)

Inter and intralaboratory variation

- Variazioni **intra**-laboratorio= 8,3%
- Variazioni **tra** laboratori= 11,7 %

Degradazione da contaminazione microbiologica

- La presenza di flora batterica nel campione (urine) può causare importanti modifiche del profilo chimico degli steroidi presenti



RAPPORTO

TESTOSTERONE/EPITESTOSTERONE

Fattori endogeni

- Età e sviluppo
- Malattie endocrine
- Motivi etnici
- Ciclo mestruale
- Ritmo circadiano
- Gravidanza
- Attività fisica



RAPPORTO

TESTOSTERONE/EPITESTOSTERONE

Fattori endogeni

Età e sviluppo: riferimenti bibliografici

- The excretion rates of T e E as glucuronides or sulfates ↑ during pubertal development with no significant change in T/E ratio

• *(Dehennin L et al, Eur j Endocrinol, 1994; Raynaud et al, Clin Endocrinol, 1993)*

- The changes in T/E ratio during different pubertal stages are not significant but there is a higher T/E instability during prepubertal stages

• *(Schweizer et al, 1997)*

- A study performed in a group of adolescent girls has been demonstrated a higher increased of E excretion than T excretion at higher Tanner stages and, consequently, a decreasing T/E ratio during development

(Schweizer et al, 1999)

RAPPORTO

TESTOSTERONE/EPITESTOSTERONE

Malattie endocrinologiche

- Nessun rapporto tra T/E e **irsutismo** idiopatico (*Pal, , 1979*)
- **Altre patologie endocrinologiche** (adenoma surrenalico, carcinoma, iperplasia, tumori surrenalici o ovarici virilizzanti) sono associate ad alterazioni del T/E ma non sono stati condotti studi specifici sul T/E
- **Ipogonadismo**: alcune indicazioni di ridotta escrezione di T ed E in maschi senza importanti variazioni del T/E

Cause etniche

- Gli asiatici secernono T a livelli inferiori rispetto ai Caucasici, con ridotto T/E basale
- Negli Asiatici dopati, maggiore probabilità di falsi-negativi

Ciclo mestruale

- Dati contraddittori in letteratura



RAPPORTO

TESTOSTERONE/EPITESTOSTERONE

Ritmo Circadiano

- T is prodotto con variazioni diurne del 20-40%; concentrazione ematica massima intorno alle 6-8 del mattino e minima verso le 20-22
- Ritmo circadiano (diurno) anche per E
- Variazioni del T/E intorno o < al 30%

Attività fisica

- Nessuna influenza su T/E attribuibile all'attività fisica
- In alcune pubblicazioni viene riportata ridotta concentrazione urinaria di T ed E nei periodi di allenamento e aumentata concentrazione durante la competizione

Farmaci

- Alcool
- Steroidi anabolizzanti
- Alcuni antifungini (ketoconazolo)



Antidoping AAS

Strategie per evitare di essere individuati

- Utilizzo di sostanze difficili da individuare
- Periodi di astinenza
 - AAS sintetici iniettabili individuali fino ad oltre 6 mesi
- Diuretici per diluire le urine
- Uso di **ketoconazolo**: riduce l'eliminazione del testosterone endogeno fornendo così un rapporto T/E "normale"
- Uso di **finasteride** per diminuire la formazione dei metaboliti 5 α -ridotti
- Assunzione di epitestosterone
- Contaminanti batterici
- Alterare i campioni (sostituzione, ecc.)

Individuare il diidrotestosterone (DHT)

- **Problemi: breve emivita DHT endogeno**
- **Isotope Ratio Mass Spectrometry**
 - ^{13}C contenuto di DHT endogeno vs esogeno
 - $\delta^{13}\text{C}\% < -29$ suggerisce una fonte esogena
- **Ratio of 5α :non- 5α C_{19} steroidi**
 - 5α -/ 5β - Androsterone- $3\alpha,17\beta$ -dioli
 - Sviluppato dalla Mitsubishi Chemical Co.
 - Utilizzato nei campionati di nuoto asiatici (1994) per individuare ricorso al doping nelle atlete cinesi

Reazioni avverse degli AAS

- **Cardiovascolari**
 - Cardiomiopatia, ictus, infarto miocardio
- **Fegato**
 - Danno epatocellulare, colestasi
 - Tumori
- **Dislipidemia**
 - Aumento LDL, diminuzione HDL
 - Attivazione lipasi epatiche

AAS: reazioni avverse a livello del SNC



- **Euforia, mania, paranoia**
- **Aggressività, ira, tendenza all'omicidio, abusi sessuali**
- **Depressione, tendenza al suicidio durante l'astinenza**

Dipendenza dagli AAS

- Dipendenza psicologica comune
- Dipendenza fisica controversa

Sindrome d'astinenza da AAS (modello bifasico)

- **Prima fase (1-2 settimane)**
 - agitazione, instabilità vasomotoria
 - Può essere necessaria ospedalizzazione
- **Seconda fase (mesi)**
 - depressione, debolezza
 - Esacerbazione sintomatologia da stato ipogonadale

Altre reazioni avverse degli AAS

- **Bambini**
 - Fusione piastra epifisaria
 - Arresto della crescita
- **Infezioni**
 - Ascessi/cellulite, HIV, epatiti virali
- **Rotture tendini (superallenamento?)**
- **Edemi per ritenzione idrica**
- **Policitemia**

Reazioni avverse degli AAS specifiche per l'uomo



- **Infertilità**
 - Incidenza incrementata durante l'uso
 - Reversibile alla sospensione e con uso di gonadotropine corioniche
- **Ginecomastia**
 - Si può utilizzare il testolattone (derivato del testosterone)
- **Iperplasia prostatica, tumori prostata**

Reazioni avverse degli AAS specifiche per la donna

- **Amenorrea**
- **Atrofia del seno**
- **Irsutismo**
- **Ispessimento del clitoride**
- **Abbassamento della voce**
- **Effetti spesso irreversibili**



Abuso di steroidi anabolizzanti

Polifarmacia per mascherare gli effetti avversi

Effetti avversi

Ginecomastia

Acne

Atrofia testicolare

Edemi

Aumento peso

Farmaci

Tamoxifene

Testolattone

Tretinoina o antibiotici

hCG

Diuretici

Tiroxina



Altri anabolizzanti: es. il tibolone

- Il tibolone (Livial[®]) abbina un'attività estrogenica e progestinica con una debole attività androgenica
- Usato per la terapia dei sintomi vasomotori post menopausali e per la profilassi della osteoporosi