

Andrzej Pokrywka, Dorota Kwiatkowska, Damian Gorczyca

Możliwe przyczyny obecności metabolitów nandrolonu w moczu

Possible reasons for the presence of nandrolone metabolites in urine

Z Zakładu Badań Antydopingowych Instytutu Sportu, Warszawa
Kierownik: dr inż. Dorota Kwiatkowska

W pracy opisano przypadek zawodniczki, która oskarżyła swojego trenera, m.in. o podawanie jej środków dopingujących. W postępowaniu wyjaśniającym pobrano od zawodniczki próbki biologiczne (moczu i włosów) w celu przebadania ich na obecność środków dopingujących. W próbce moczu zawodniczki wykryto metabolity nandrolonu, natomiast analiza próbek włosów dała wynik negatywny. W pracy przedstawiono możliwe przyczyny obecności 19-norandrosteronu w moczu i problemy związane z interpretacją wyników badań antydopingowych związanych z wykryciem tego związku w trakcie kontroli antydopingowej.

The report presents the case of a sportswoman who accused her coach of having administered to her doping substances. During the judicial proceedings, biological samples of urine and hair were collected from this sportswoman. In the urine sample, a nandrolone metabolite was detected, but the result of hair analysis was negative. The paper presents possible reasons for the presence of 19-norandrosterone in urine, as well as the difficulties associated with interpretation of 19-norandrosterone detection during the doping control.

Słowa kluczowe: doping, steroidy anaboliczno-androgenne, nandrolon, 19-norandrosteron

Key words: doping, anabolic-androgenic steroids, nandrolone, 19-norandrosterone

WSTĘP

W ostatnich latach Zakład Badań Antydopingowych Instytutu Sportu w Warszawie (ZBA) coraz częściej, oprócz wykonywania działań rutynowych – tj. analiz próbek moczu i krwi sportowców pod kątem stosowania przez nich dopingu – prowadzi badania na zlecenie prokuratury, sądu czy policji. Z reguły dotyczą one przypadków użycia środków lub metod uznanych za dopingujące w sporcie bądź też nielegalnego handlu tymi substancjami. O tym, co jest zabronione w sporcie, decyduje Światowa Agencja Antydopingowa (WADA – World Anti-Doping Agency), która corocznie publikuje *Listę substancji i metod zabronionych w sporcie*. W 2009 roku do zabronionych substancji należą: środki anaboliczne (steroidy anaboliczno-androgenne i inne środki anaboliczne, np. klenbuterol i selektywne modulatory receptora androgenowego), hormony i substancje pokrewne (erytropoetyna, hormon wzrostu, insulino-podobne czynniki wzrostu, mechaniczne czynniki wzrostu, gonadotropina łożyskowa, hormon luteinizujący, insuliny, kortykotrofiny), beta-2 agoniści, antagoniści i modulatory hormonów (inhibitory aromatazy, selektywne modulatory receptora estrogenowego, inne środki antyestrogenowe – np. kłomifen, środki modyfikujące funkcje miostatyny), diuretyki i inne środki maskujące, stymulanty, narkotyki (narkotyczne środki przeciwbólowe), kanabinoidy i glukokortykosteroidy. Zabronionymi metodami dopingu są: metody poprawiające transport tlenu, manipulacje

chemiczne i fizyczne oraz doping genetyczny. Sytuacje niezwiązane bezpośrednio z kontrolą antydopingową, w których ZBA proszony jest o opinię lub przeprowadzenie badań próbek biologicznych, dotyczą najczęściej steroidów anaboliczno-androgennych, które są nadużywane nie tylko w sporcie wyczynowym. Ich stosowanie może wywołać wiele efektów niepożądanych i doprowadzić do nagłej śmierci [1-4].

Opis przypadku

W 2007 roku Sąd Rejonowy w M. zwrócił się do Zakładu Badań Antydopingowych z prośbą o opinię z zakresu badań antydopingowych. Miała ona dać odpowiedź, m.in. na pytanie: czy na podstawie wyników badań laboratoryjnych próbek moczu i włosów przeprowadzonych kilka lat wcześniej, można stwierdzić, że osoba pći żeńskiej X, od której pobrano próbki biologiczne do badań, przyjmowała środki dopingujące?

Analizując wyniki badań próbki moczu X, przeprowadzonych w ZBA na przełomie sierpnia i września 2001 roku, oraz odnosząc je wyłącznie do regulacji antydopingowych należałoby stwierdzić, że badana X nie naruszyła przepisów antydopingowych. Tym samym nie można jednoznacznie wskazać na fakt przyjmowania przez nią środków dopingujących. Co prawda w badanej próbce moczu, przy zastosowaniu metody GC/MS (chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas), stwierdzono obecność zakazanego w sporcie związku, tj. metabolitu nandrolonu – 19-norandrosteronu. Jednak oznaczone stężenie tejże substancji ($1,12 \text{ ng/ml} \pm 0,19$) nie przekroczyło dopuszczalnej wartości. W 2001 roku za dopuszczalne limity stężeń 19-norandrosteronu w próbkach moczu sportowców uznawano następujące wartości: 2 ng/ml – u mężczyzn, 5 ng/ml – u kobiet (zgodnie z przepisami Komisji Medycznej Międzynarodowego Komitetu Olimpijskiego). W aktualnie obowiązujących regulacjach antydopingowych, wprowadzonych przez Światową Agencję Antydopingową, zarówno u kobiet jak i u mężczyzn, obowiązuje dopuszczalny poziom 2 ng/ml dla 19-norandrosteronu w moczu sportowca.

Ponieważ jednak badanie próbki nie było związane z rutynową kontrolą antydopingową, a odbyło się w ramach trwającego postępowania (dochodzenia/śledztwa), które miało miejsce jakiś czas po przypuszczalnym przyjmowaniu przez X środków dopingujących, należy spojrzeć na wyniki badań w nieco szerszym aspekcie. W tym przypadku nie można jednoznacznie stwierdzić, że X nie przyjmowała środków dopin-

gujących. Obecność w moczu 19-norandrosteronu może wskazywać na przyjmowanie przez badaną preparatów nandrolonu lub prohormonów nandrolonu. Fakt wykrycia w próbce moczu 19-norandrosteronu, w stężeniu mieszczącym się w granicach normy przyjętej w sporcie, w żaden sposób nie wyklucza stosowania dopingu, nie powoduje jedynie naruszenia przepisów antydopingowych.

Dopuszczalny poziom 19-norandrosteronu w próbkach moczu sportowców wyznaczono na podstawie wyników prac wielu badaczy [5-7], którzy wykazali, że w moczu osób poddanych intensywnym wysiłkom możliwe jest oznaczenie śladowych ilości 19-norandrosteronu, zwykle w granicach od 0,05 do 0,6 ng/ml. Przykładowo, w badaniach przeprowadzonych podczas Zimowych Igrzysk Olimpijskich w Nagano (1998), jedynie u 5 zawodników (na 370 badanych) stężenie 19-norandrosteronu przekroczyło wartość 0,1 ng/ml. W moczu żadnego z badanych nie stwierdzono wartości powyżej 0,4 ng/ml.

Z powyższego wynika, że oznaczony w próbce moczu X 19-norandrosteron mógł być rezultatem fizjologicznych procesów zachodzących w jej organizmie. Należy także wziąć pod uwagę inne niezwiązane z dopingiem przyczyny obecności 19-norandrosteronu w moczu kobiet, np. przyjmowanie preparatów antykoncepcyjnych zawierających noretisteron, a także procesy fizjologiczne zachodzące podczas ciąży [8].

Ponieważ próbkę moczu, którą analizowano w ZBA, pobrano od X nie bezpośrednio po zawodach sportowych a w trakcie trwającego postępowania (kilka miesięcy od momentu ewentualnego przyjmowania przez X środków dopingujących), można także domniemywać, że oznaczony 19-norandrosteron w próbce moczu X mógł być efektem przyjmowania przez nią środków dopingujących, tj. nandrolonu lub jego prekursorów. Wyniki wielu badań naukowych wskazują, że 19-norandrosteron może zostać zidentyfikowany w próbce moczu osoby, która przyjęła nandrolon (bądź jego prekursor) w dość odległym czasie przed pobraniem próbki do badań. Nandrolon jest metabolizowany w organizmie człowieka do dwóch zasadniczych związków: 19-norandrosteronu i 19-noretiocholanolonu. Metabolity nandrolonu mogą utrzymać się w organizmie nawet do 13 miesięcy od wstrzyknięcia Deca-Durabolinu (preparatu, zawierającego 50 mg nandrolonu) [9]. Po doustnym zażyciu jednej tabletki z 50 mg 19-norandrostendionu lub 19-norandrostendiolu pojawiają się w moczu te same metabolity, co

po wstrzyknięciu nandrolonu, a ich wykrycie możliwe jest nawet po 7-10 dniach. W pierwszych godzinach po przyjęciu 19-norsteroidów w moczu pojawia się również nandrolon, który powstaje w procesie przemiany tych związków [10].

Z kolei analiza próbek włosów pobranych od X w październiku 2001 roku, dała wynik negatywny, tj. w badanych próbkach nie stwierdzono obecności środków dopingujących. Włosy miały stanowić alternatywny dla moczu materiał biologiczny do poszukiwania dowodów dopingowania, szczególnie, gdy wyniki analizy podstawowego materiału (mocz) są wątpliwe [11]. Jednak negatywny wynik badań próbek włosów X w żaden sposób nie wyklucza stosowania przez nią środków dopingujących, w szczególności steroidów anaboliczno-androgennych (SAA). W piśmiennictwie opisano przypadki osób, u których zidentyfikowano SAA w próbce moczu, a badanie próbek włosów dało rezultat negatywny. Przykładowo, nie stwierdzono nandrolonu we włosach 37-letniego mężczyzny, który otrzymał domięśniowo pojedynczą dawkę tego związku (50 mg), mimo że przez 8 miesięcy od podania zidentyfikowano w próbkach moczu tego mężczyzny metabolity nandrolonu. W tym przypadku próbki włosów ochotnika były pobierane i analizowane w okresie od 2 do 6 miesięcy od momentu aplikacji nandrolonu. Podobne wyniki uzyskano przy badaniu próbek włosów i moczu osoby, która doustnie przyjęła nandrolon w pojedynczej dawce [12]. Stąd też w medycynie sądowej zostało przyjęte, że negatywna analiza włosów nie może wykluczyć przyjmowania substancji farmakologicznych przez osobę, od której pobrano próbki, a także nie może negować pozytywnego wyniku badań próbki moczu.

W tym miejscu konieczne jest podkreślenie, że obecność 19-norandrosteronu w próbce moczu nie musi być wynikiem żadnej z dwóch przedstawionych powyżej możliwości, tj. procesów fizjologicznych zachodzących w organizmie człowieka lub świadomego dopingowania (w tym pojęciu mieści się również podawanie środków zabronionych w sporcie przez osoby trzecie, przy jednoczesnej niewiedzy osoby, której środki zabronione podano). Równie prawdopodobną hipotezą może być nieświadome przyjęcie zabronionych substancji, przy okazji spożywania różnych odżywek czy suplementów, których przyjmowanie jest standardowym postępowaniem sportowców. Na przełomie XX i XXI wieku w wielu krajach odnotowano wzrost przypadków

wykrycia nandrolonu w próbkach moczu sportowców pobranych do badań antydopingowych. Przykładowo, w Wielkiej Brytanii w 1999 roku nandrolon stwierdzono w 0,29% badanych próbek. W poprzednich 11 latach wskaźnik ten mieścił się w granicach 0,02-0,22% (średnia wynosiła 0,10%). Także w Polsce zaobserwowano w tym okresie więcej próbek pozytywnych z nandrolonem. Podobnie było we Włoszech, co tłumaczono, m.in. przyjmowaniem przez sportowców bardzo wysokich dawek odżywek zanieczyszczonych prohormonami i steroidami anaboliczno-androgennymi [13]. Na zlecenie Międzynarodowego Komitetu Olimpijskiego, w okresie od października 2000 roku do listopada 2001 roku, w laboratorium antydopingowym w Kolonii przeanalizowano 634 produkty oferowane sportowcom jako suplementy. Aż 94 z nich zawierały niedeklarowane przez producentów steroidy anaboliczno-androgenne, co stanowiło 14,8% przebadanych próbek [14]. Przykładowo, w preparacie kreatyny, którego producent deklorował w składzie wyłącznie kreatynę i dekstrozę, zidentyfikowano także prohormony: 4-norandrostendion (4,4 μg /tabletkę) i 4-norandrostendiol (10,9 μg /tabletkę). Zażycie takiego preparatu przez ochotnika spowodowało pozytywny wynik badania antydopingowego, gdyż oznaczone stężenie metabolitu nandrolonu w próbce moczu ochotnika było na poziomie 19,8 ng/ml (przy dopuszczalnym progu 2 ng/ml).

Kolejną hipotezą (której nie sposób zarówno wyeliminować, jak i uznać za jedyną możliwą) mogącą pomóc w wyjaśnieniu przyczyn obecności 19-norandrosteronu w próbce moczu X, jest spożycie przez X mięsa, które mogło zawierać nandrolon. Karmienie zwierząt hodowlanych hormonami i promotorami wzrostu oraz import mięsa traktowanego hormonami zostały zakazane w Unii Europejskiej w 1988 roku. Może się jednak zdarzyć, że spożyte przez sportowca mięso będzie pochodziło z nielegalnego uboju lub od zwierząt leczonych substancjami anabolicznymi, co może skutkować wykryciem zabronionych substancji u zawodnika poddanego kontroli antydopingowej. Ponadto zaobserwowano także, że niektóre produkty naturalne, takie jak mięso z dzika, mogą zawierać nandrolon w takich ilościach, że po ich spożyciu uzyskano pozytywne wyniki kontroli antydopingowych [15].

Podsumowując, na podstawie analizy wyników badań laboratoryjnych, każda z przedstawionych hipotez, dotyczących obecności 19-norandrosteronu w próbce moczu X, wydaje się prawdopodobna. Trudno jednoznacznie

uznać którąkolwiek z przedstawionych hipotez za bardziej wiarygodną od pozostałych. Gdyby podobny przypadek miał miejsce dzisiaj, przy jego wyjaśnianiu analitycy skorzystaliby zapewne z innej nowoczesnej techniki analitycznej, tj. układu GC/C/IRMS (chromatografii gazowej połączonej z komorą spalania i sprzężonej z izotopową spektrometrią mas). W większości przypadków pozwala ona na stwierdzenie czy wykryty w próbce moczu sportowca steroid anaboliczno-androgenny jest pochodzenia endo- czy też egzogenne, tzn. czy jest wynikiem procesów fizjologicznych lub patologicznych zachodzących w organizmie sportowca, czy też został dostarczony do organizmu z zewnątrz [16]. W przypadku opisanej powyżej sprawy sądowej badanie przy pomocy GC/C/IRMS mogłoby pomóc w odpowiedzi na pytanie sędziego czy X przyjmowała środki dopingujące, czy też pochodzenie stwierdzonego w próbce moczu badanej 19-norandrosteronu miało podłoże endogenne.

PIŚMIENNICTWO

1. Gross A.: Nagły zgon związany z nadużywaniem steroidów anaboliczno-androgennych w celach dopingowych. *Medicina Sportiva*, 1999, 3 (Suppl. 1), 9-13.
2. Fineschi V., Baroldi G., Monciotti F., Paglicci Reattelli L., Turillazzi E.: Anabolic steroid abuse and cardiac sudden death: a pathologic study. *Arch Pathol Lab Med*, 2001, 125, 253-255.
3. Fineschi V., Riezzo I., Centini F., Silingardi E., Licata M., Beduschi G., Karch S. B.: Sudden cardiac death during anabolic steroid abuse: morphologic and toxicologic findings in two fatal cases of bodybuilders. *Int J Legal Med*, 2007, 121, 48-53.
4. Di Paolo M., Agozzino M., Toni C., Luciani A. B., Molendini L., Scaglione M., Inzani F., Passotti M., Buzzi F., Arbustini E.: Sudden anabolic steroid abuse – related death in athletes. *Int J Cardiol*, 2007, 114, 114-117.
5. Dehennin L., Bonnaire Y.: Urinary excretion of 19-norandrosterone of endogenous origin in man: quantitative analysis by gas chromatography – mass spectrometry. *J Chromatogr B*, 1999, 721, 301-307.
6. Saugy M., Robinson N., Cardis C., Schweizer C., Rivier L., Mangin P., Ayotte C., Dvorak J.: Nandrolone metabolites in football players: utility for in and out of competition tests. *Recent Advances in Doping Analysis (7)*, Sport und Buch Strauß, Cologne, 1999, 95-107.
7. Reznik Y., Dehennin L., Coffin C., Mahoudeau J., Leymarie P.: Urinary nandrolone metabolites of endogenous origin in man: a confirmation by output regulation under human chorionic gonadotropin stimulation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86, 146-150.
8. Kwiatkowska D., Chrostowski K., Partyka E., Wójcikowska-Wójcik B.: Nandrolon – metody wykrywania. *Sport Wyczynowy*, 2001, 7-8, 67-76.
9. Marek-Engelke U., Gayer H., Schänzer W.: 19-norandrosterone – criteria for the decision making process. *Recent Advances in Doping Analysis (6)*. Sport und Buch Strauß, Cologne, 1998, 119-129.
10. Earnest C.P.: Dietary androgen „Supplements”: Separating substance from hype. *Phys Sports Med*, 2001, 29, 63-79.
11. Kintz P.: Criteria that can affect the detection of doping agents in hair. *Progress in Hair Analysis for Illegal Drugs*. Sport und Buch Strauß, Köln, 2000, 79-89.
12. Kintz P., Cirimele V., Ludes B.: Testing for 19-norsteroids in hair. *Progress in Hair Analysis for Illegal Drugs*. Sport und Buch Strauß, Köln, 2000, 111-119.
13. Pokrywka A., Kwiatkowska D., Obmiński Z., Turek-Lepa E., Grucza R.: Problem zanieczyszczenia odżywek środkami uznanymi za dopingujące w sporcie. *Med Sport Pract*, 2004, 5, 115-120.
14. Geyer H., Parr M. K., Mareck U., Reinhart U., Schrader Y., Schänzer W.: Analysis of non-hormonal nutritional supplements for anabolic androgenic steroids – results of an international study. *Int J Sports Med*, 2004, 25, 124-129.
15. Pokrywka A.: Nieświadome użycie substancji zabronionych. *Doping zabija sport*. Towarzystwo Lekarskie Warszawskie, Warszawa, 2006, 29-47.
16. Cawley A. T., Flenker U.: The application of carbon isotope ratio mass spectrometry to doping control. *J Mass Spectrom*, 2008, 43, 854-864.

Adres do korespondencji:
Dr n. farm. Andrzej Pokrywka
Zakład Badań Antydopingowych
Instytut Sportu
Trylogii 2/16
01-982-Warszawa