

Dopage à la testostérone

Une méthode de dépistage fondée sur les concentrations en radio-isotopes.

Aujourd'hui, le dopage par les stéroïdes anabolisants administrés aux sportifs pour que leurs muscles se développent est assez facile à dépister. Toutefois, des stéroïdes anabolisants, notamment la testostérone, l'hormone mâle, sont naturellement présents dans l'organisme : comment différencier l'hormone naturelle et l'anabolisant frauduleux ? Une nouvelle méthode semble plus fiable que celle utilisée par le Comité international olympique.

Pour dépister un fraudeur, on détermine le rapport entre la concentration en testostérone et la concentration en épitestostérone, isomère de la testostérone (deux isomères ont la même formule chimique, mais la géométrie des deux molécules diffère). La testostérone et l'épitestostérone sont éliminées dans les urines.

Le Comité olympique admet qu'un rapport supérieur à six prouve que le sujet s'est dopé avec de la testostérone, mais on a trouvé des rapports compris entre six et neuf chez des sujets non dopés (la valeur moyenne est voisine de un). De surcroît, des valeurs comprises entre quatre et six, considérées comme normales, peuvent aussi correspondre à l'élimination de testostérone exogène, administrée plusieurs jours auparavant. Ainsi cette méthode ne

prouve pas formellement l'administration de testostérone.

Afin de pallier ces inconvénients, nous avons mis au point une méthode fondée sur la spectrométrie de masse isotopique, où l'on détermine le rapport des concentrations en carbone 12 (^{12}C) et en un de ses isotopes, le carbone 13 (^{13}C). Cette méthode précise l'origine de la testostérone urinaire : naturelle ou endogène, d'une part, synthétique ou exogène, d'autre part. Pourquoi le carbone est-il un marqueur de l'origine de la testostérone ? La testostérone naturelle humaine est biosynthétisée à partir du cholestérol, lequel a deux origines : il est présent dans certains aliments, mais est aussi synthétisé par l'organisme. Au contraire, la testostérone exogène est obtenue par voie chimique à partir de stéroïdes végétaux.

DES RAPPORTS DIFFÉRENTS

Le carbone contenu dans les plantes a pour origine le dioxyde de carbone atmosphérique fixé lors de la photosynthèse. Deux mécanismes de fixation du dioxyde de carbone existent, de sorte que, selon le type de plante, l'enrichissement en ^{13}C change. Le rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dans

les stéroïdes végétaux utilisés pour la synthèse de la testostérone est différent du rapport qui caractérise les molécules biosynthétisées par l'homme à partir de l'alimentation.

Par cette méthode, on analyse le dioxyde de carbone, CO_2 , formé par la combustion de la molécule étudiée ; on obtient diverses molécules issues de la combinaison des isotopes du carbone ^{12}C et ^{13}C , et des isotopes de l'oxygène ^{16}O , ^{17}O et ^{18}O , et l'on détermine l'abon-

dance relative de chacune de ces formes de dioxyde de carbone. Un logiciel traite les données et fournit directement les valeurs du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. Cette méthode de détection donne des dosages indiscutables de la testostérone endogène et de la testostérone exogène ; elle n'est pas toujours en accord avec les résultats fournis par le rapport testostérone/épitestostérone, préconisé par le Comité olympique. Ainsi, nous avons décelé de la testostérone exogène dans des urines dont le rapport était inférieur à six, et de la testostérone naturelle pour des urines dont ce rapport était supérieur à six.

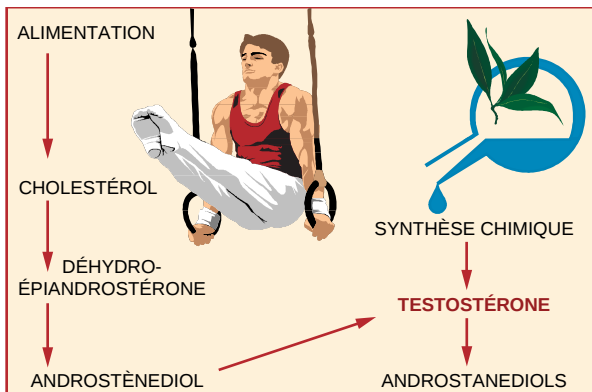
Il nous reste à préciser le rôle de l'alimentation dans les résultats obtenus. La nature de l'alimentation influe notablement sur la valeur du rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ des stéroïdes, mais cela ne devrait pas fausser les résultats : l'analyse isotopique est réalisée tant sur la testostérone elle-même que sur ses précurseurs (le cholestérol, la déhydroépiandrosterone) et sur ses métabolites, notamment les androsténoles. En comparant les rapports isotopiques obtenus pour ces différentes étapes, on détecte aisément toute variation notable du rapport, laquelle signe un apport exogène de testostérone. Les stéroïdes précurseurs servent, en quelque sorte, d'«étalons internes», propres à chaque personne.

Cette méthode exige un matériel plus onéreux que le simple dosage effectué jusqu'à présent, mais elle serait particulièrement adaptée à la confirmation des résultats ambigus obtenus par la mesure des rapports testostérone sur épitestostérone lors des compétitions sportives. Une trentaine de millilitres d'urine suffisent à l'analyse.

Michel BECCHI
CNRS - Service central d'analyse



Ben Johnson a été privé de sa médaille d'or aux Jeux olympiques de Séoul, en 1988, pour dopage aux stéroïdes anabolisants.



La testostérone dosée dans les urines peut être l'hormone mâle endogène provenant du cholestérol, lui-même issu de l'alimentation. Elle peut aussi être d'origine exogène : la testostérone de synthèse ne se distingue de la testostérone endogène que par sa composition en carbone 12 et en carbone 13.

Oxygène dopant

Le dépistage de l'érythropoïétine, une hormone censée améliorer l'oxygénation des muscles, serait désormais possible.

L'érythropoïétine est une hormone sécrétée notamment par le rein. Cette hormone stimule la production et la maturation des globules rouges, ou érythrocytes, les transporteurs d'oxygène dans le sang. Une augmentation de la concentration sanguine en érythropoïétine accroît la concentration en oxygène du sang, ce qui facilite l'effort. Depuis quelques années, certains sportifs se dopent avec de l'érythropoïétine ; nous avons mis au point une méthode qui en autorise le dépistage.

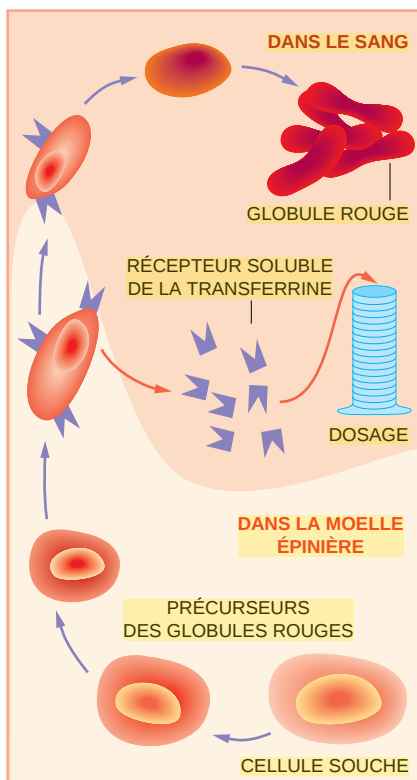
En 1983, les laboratoires AMGEN ont utilisé le gène codant l'érythropoïétine et produit l'hormone par génie génétique. Si l'érythropoïétine humaine de synthèse a permis de traiter les patients déficients en érythropoïétine, elle a aussi été abusivement utilisée par certains sportifs. Dès 1990, on enregistrait les premiers décès de sportifs dopés à l'érythropoïétine. En 1991, le Comité international olympique inscrivait cette substance sur la liste des produits interdits.

Au cours de tous les sports d'endurance, les cellules musculaires consomment de l'oxygène. Peut-on augmenter, chez le sportif, la quantité d'oxygène transportée par le sang jusqu'aux cellules musculaires ? Pour ce faire, on a essayé d'augmenter le nombre de transporteurs d'oxygène en administrant, par voie intraveineuse, du sang ou des globules rouges, quelques jours avant une compétition. Le dopage par l'érythropoïétine humaine de synthèse tente de parvenir artificiellement au même résultat ; l'hormone de synthèse augmente le nombre de transporteurs d'oxygène, c'est-à-dire la quantité d'oxygène délivrée aux muscles.

Toutefois, cette utilisation abusive se heurte à plusieurs difficultés. Sur le plan physiologique, la quantité d'oxygène transportée dans le sang n'est qu'un des maillons de la limitation de la consommation d'oxygène : dans les poumons, tout l'oxygène respiré ne diffuse pas dans le sang des capillaires pulmonaires ; tout l'oxygène contenu dans les capillaires pulmonaires n'est pas transféré dans les capillaires musculaires ; tout l'oxygène véhiculé par les capillaires musculaires n'atteint pas les mitochondries intramusculaires,

qui produisent l'énergie cellulaire. En outre, l'utilisation de l'érythropoïétine humaine de synthèse présente des risques. La viscosité sanguine augmente avec le nombre des globules rouges, de sorte que la circulation sanguine et le transport de l'oxygène ralentissent, et que la quantité d'oxygène mis à la disposition des muscles diminue, résultat inverse de celui recherché. De surcroît, le risque d'obstruction des capillaires et d'embolie pulmonaire ou cérébrale augmente. Ces conséquences pathologiques sont responsables des décès dus à l'utilisation abusive de l'érythropoïétine humaine de synthèse.

Enfin, si l'utilisation de l'érythropoïétine de synthèse chez les personnes anémiques améliore effectivement la quantité



Les globules rouges résultent de la maturation des cellules souches de la moelle. Plusieurs précurseurs se modifient progressivement, et deux d'entre eux libèrent dans le sang des molécules, les récepteurs de la transferrine. Le rapport des concentrations en récepteurs de la transferrine et en ferritine dans le sang est anormal chez les sujets dopés avec de l'érythropoïétine de synthèse.

d'oxygène utilisée par les muscles, cela n'a pas été montré chez le sujet sain. Avec l'équipe de Raynald Gareau, à l'Université du Québec, nous avons cherché un test biologique visant à détecter un dopage à l'érythropoïétine. À cette fin, nous avons étudié les récepteurs solubles de la transferrine présents à la surface de la membrane des précurseurs des globules rouges ; ces récepteurs captent la ferritine, le transporteur du fer. Au cours de la transformation de ces précurseurs en globules rouges, les récepteurs de la transferrine sont libérés et solubilisés dans le sang. Ils reflètent l'augmentation de la concentration sanguine en précurseurs des érythrocytes.

DOSER L'ÉRYTHROPOÏÉTINE

L'érythropoïétine humaine de synthèse modifie aussi la captation du fer par les érythrocytes. Nous avons cherché si le rapport de la concentration en récepteurs de la transferrine sur la concentration en ferritine pouvait détecter un dopage par l'érythropoïétine. Effectivement, nous avons constaté que l'administration d'érythropoïétine humaine de synthèse pendant dix jours à des sujets jeunes, sportifs et sains, augmente ce rapport.

Au contraire, les exercices physiques et l'entraînement en altitude ne semblent pas modifier ce rapport chez les sujets non dopés. Une hypothèse explicative serait que, au cours d'un entraînement, l'organisme s'adapte progressivement à l'augmentation du nombre des globules rouges et à la modification des concentrations en récepteurs de la transferrine et en ferritine : le rapport resterait constant.

Ainsi, nous pensons que le rapport des récepteurs de la transferrine sur la ferritine est un moyen de détecter le dopage à l'érythropoïétine de synthèse. Toutefois, avec ce test de dépistage, on ne dose pas directement l'érythropoïétine exogène, tandis que les tests acceptés aujourd'hui pour dépister un abus sont fondés sur des preuves directes ; en outre, ce dosage exige une prise de sang, tandis que les autres dosages sont effectués sur les urines. Quelques dosages ont pourtant été effectués lors des Jeux olympiques d'hiver de Lillehammer.

Pour lutter contre le dopage, on devra se donner les moyens légaux de pratiquer des dosages sanguins, où l'on pourra rechercher aussi bien l'érythropoïétine que d'autres substances, telle l'hormone de croissance. La solution ne sera pas seulement scientifique ; elle sera le reflet de la volonté de la société et des acteurs du sport.

A. DUVALLET, J.-L. CAYLA, Université Paris V
M. AUDRAN, Université Montpellier I,
R. GAREAU, Université du Québec.