

FINALITÀ, APPLICAZIONE E STANDARDIZZAZIONE DEI CONTROLLI ANTIDOPING

Giuseppe Lippi, Gian Cesare Guidi

*Istituto di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche,
Università degli Studi di Verona*

INTRODUZIONE

La principale funzione della medicina di laboratorio consiste nella produzione di informazioni mediche specifiche (esami) che assistano il clinico nei processi decisionali, nella formulazione di prognosi e nel monitoraggio e cura dei pazienti. Per garantire accuratezza, coerenza e comparabilità nel tempo dei dati prodotti da laboratori di una stessa organizzazione sanitaria, e ancor più da laboratori di differenti aziende sanitarie, è necessario un processo di standardizzazione che riguardi processi, strumenti e materiali. Secondo la definizione di ISO/IEC (1) la standardizzazione è “l’attività di stabilire, rispetto a problemi attuali o futuri, soluzioni per uso comune e ripetuto, volte al raggiungimento di un grado di ordine ottimale in uno specifico contesto”. A ciò consegue che il processo di standardizzazione attivo in un contesto di laboratorio è la descrizione di sistemi uniformi e riproducibili di misura, atti a garantire precisione, accuratezza, specificità ed armonizzazione di risultati di test e riguarda sia standard scritti che materiali standard. Uno standard di consenso è il prodotto dello sforzo combinato di varie componenti che operano nell’ambito professionale specifico (Università, Ospedali, Industrie, ecc.). Non era facilmente immaginabile da parte degli estensori della definizione di standardizzazione ISO/IEC la situazione che si sarebbe presentata anni dopo a proposito delle indagini di laboratorio per esigenze di medicina sportiva e doping. Essi avevano tuttavia previsto la possibilità di “problemi potenziali”, che il processo di standardizzazione avrebbe dovuto affrontare e risolvere. Per tale motivo la definizione conserva pienamente il suo valore quando si tratta di “raggiungere il grado di ordine ottimale in uno specifico contesto”. La situazione che si è venuta a creare in questi ultimi anni nell’ambito della medi-

cina sportiva e dei test antidoping necessita di ulteriori precisazioni. Malgrado si tratti pur sempre d'attività di laboratorio spesso analoghe a quelle prestate per la popolazione generale e la gran parte degli esami richiesti rientri nella routine quotidiana, la necessità di definire nuovi standard, in aggiunta o come evoluzione di quelli precedenti, emerge prepotentemente in seguito alla peculiarità del contesto. Nello specifico, quattro problematiche generali contribuiscono ad alimentare incertezze: (a) i valori osservati sono spesso al limite dei ϵ /o oltre i valori di riferimento della popolazione generale (2), (b) sono emerse pratiche illecite volte ad alterare la fisiologia dell'atleta a scopo di migliorare la prestazione che si riflettono sui dati di laboratorio, alcuni dei quali suscettibili di svelare la frode, (c) vi può essere sovrapposizione fra dati derivanti da variabilità biologica individuale e dati dovuti a pratiche fraudolente e (d) sussistono specifici, oggettivi problemi di standardizzazione della fase preanalitica, che precede l'arrivo del campione biologico in laboratorio. L'adeguata e competente conoscenza di queste peculiarità ha portato a sviluppare procedure antidoping che hanno visto negli ultimi anni notevoli progressi.

FINALITÀ DELLO SCREENING ANTIDOPING

Inteso screening in termini di “complesso di prestazioni che la Struttura Sanitaria Pubblica offre ad una popolazione apparentemente sana con fini di prevenzione secondaria”, si comprende come l'attuazione di test antidoping s'integri pienamente in questa definizione e come tale dovrebbe essere interpretata. Malgrado lo screening per sostanze dopanti non rivesta strettamente i crismi dell'indagine volta ad identificare malattie o predisposizione alle stesse, esso ha comunque la valenza di prevenire i danni alla salute che potrebbero conseguire alla somministrazione incongrua di sostanze, farmaci o pratiche mediche. Malgrado si tenda spesso a banalizzare o sottovalutare il problema, esistono problematiche oggettive nell'attuazione dei test antidoping.

Il problema centrale è l'ambiguità, l'eterogeneità e l'incompletezza dei pannelli antidoping adottati dalle diverse Federazioni sportive. La natura delle prestazioni atletiche è diversa, giacché gli sport si dividono sostanzialmente in sport di resistenza (sci di fondo, ciclismo su strada), potenza (sollevamento pesi, boxe, velocità su pista) concentrazione (tiro a segno) o abilità (pattinaggio, curling, tennis) (3). È evidente che la diffusione di sostanze dopanti tra gli atleti è eterogenea. In sintesi, è alquanto improbabile (e sconsigliabile per l'economia del gesto atletico), che un sollevatore di pesi faccia uso di sostanze eritrostimolanti ed un maratoneta di sostanze anabolizzanti. In linea generale, i pannelli antidoping non dovrebbero quindi essere univer-

salizzati, ma contestualizzati nello specifico ambito delle diverse federazioni, mirati all'identificazione di pratiche illecite in grado di promuovere vantaggi concreti nel singolo (4). Esistono alcune eccezioni a questa regola, come nel caso di discipline sportive nelle quali è prevedibile la contemporanea assunzione di molteplici classi di sostanze dopanti, con effetti anche molto diversi (ad esempio, un calciatore deve poter calciare forte, ma anche correre ininterrottamente per 90 minuti ed oltre). Il costante progresso della ricerca scientifica e le nuove frontiere aperte dalle moderne applicazioni della biotecnologia dischiudono poi scenari inquietanti, che sconfinano nell'uso di agenti farmacologici insospettabili, quale il cloruro di cobalto (5), finanche nella manipolazione genetica, con tutte le problematiche analitiche e medico-legali che conseguono all'identificazione di queste pratiche (6).

Ulteriori fonti di problemi sono le circostanze, spaziali e temporali, nelle quali collocare i controlli. In tempi di massima contrazione delle risorse economiche a disposizione delle Federazioni sportive, è sconsigliabile ed inopportuno dissipare fondi per effettuare analisi in tempi e luoghi inadatti. Ciò presuppone un'adeguata conoscenza delle caratteristiche farmacocinetiche e biologiche delle diverse sostanze assunte a scopo di doping. A titolo esemplificativo, le sostanze eritrostimolanti producono effetti ritardati (un aumento significativo della massa eritrocitaria si manifesta dopo 48-72 ore dall'assunzione) e protratti (l'effetto può perdurare anche due o tre mesi). Per tale motivo, controlli volti ad identificare la positività di atleti per sostanze eritrostimolanti durante le competizioni hanno scarsa probabilità di riuscita, mentre troverebbero idonea collocazione in periodi precedenti l'inizio della stagione agonistica (8). Al contrario, l'effetto di altre sostanze illecite, tra le quali le amfetamine, è breve ed immediato. Pertanto, esse andrebbero ricercate nel contesto agonistico, non al di fuori dello stesso, ove la probabilità d'assunzione da parte dell'atleta è trascurabile (9).

La scelta del luogo in cui eseguire i controlli è essenziale. La massima ricaduta in termini di rapporto costo/beneficio si avrebbe attuando controlli durante le competizioni o nelle palestre, ove la concentrazione degli atleti è maggiore. Nondimeno, la probabilità d'identificare atleti dopati in queste circostanze può essere meno probabile per talune discipline sportive. E' quindi essenziale attuare controlli occasionali (e mirati) in diverse località, comprendendo controlli "a sorpresa" nei luoghi d'allenamento abituale o residenza. Ad esempio, per molti atleti è prassi consolidata ultimare il periodo di preparazione alle competizioni in località precise, che, per ragioni climatiche (temperatura, piovosità, altitudine), meglio s'adattano alla rifinitura della condizione atletica. A questo scopo, molte Federazioni sportive (la Federazione Ciclistica Italiana, ad esempio) richiedono espressa documentazione agli atleti sui loro

movimenti, anche al di fuori del territorio nazionale, al fine di poter essere raggiungibili con controlli a sorpresa.

L'accurata selezione dei soggetti rappresenta un ulteriore aspetto essenziale per razionalizzare l'applicazione dei protocolli antidoping. Malgrado i professionisti siano maggiormente esposti al pericolo di cadere nella rete del doping, sarebbe riduttivo pensare che atleti dilettanti ed amatoriali siano estranei al problema. Il ricorso a pratiche illecite o nocive nell'ambito di competizioni amatoriali e giovanili è tutt'altro che trascurabile (3). Poiché si riveli efficace, anche solo come deterrente, lo screening antidoping dovrebbe essere promosso a partire dalle competizioni giovanili ed esteso, in misura mirata e razionale, a competizioni amatoriali, soprattutto quelle più importanti ed in grado di riunire numerosi gli atleti (raduni, granfondo, stracittadine). Le caratteristiche analitiche nell'ambito dei test antidoping rappresentano un aspetto peculiare della biochimica clinica applicata alla tossicologia forense, nella quale lo scopo non è generalmente la quantificazione precisa della sostanza (con qualche eccezione, come nel caso della caffeina), quanto l'identificazione della stessa in campioni biologici (generalmente urine o sangue) (8). Le tecniche analitiche impiegate nei test antidoping non debbono pertanto mutuare presupposti d'efficienza analitica, intesa soprattutto in termini di sensibilità, confrontabili a quelle utilizzate di routine in laboratorio. Per la maggior parte delle sostanze può essere sufficiente produrre risultati qualitativi o semi-quantitativi (positivo/negativo), il che presuppone l'impiego di tecniche meno raffinate e sovente più economiche. Per altre sostanze possono essere invece richiesti processi analitici esclusivi, che non hanno riscontro nella routine diagnostica dei laboratori (ricerca urinaria delle sostanze eritrostimolanti). Il fatto che spesso la sostanza illecita non possa essere agevolmente individuata con le tecniche diagnostiche tradizionali, perché troppo simile o identica a prodotti del metabolismo endogeno, e sia quindi necessario ricorrere ad indagini indirette, accresce ancor più la necessità di ottenere risultati accurati, standardizzati ed universalmente riconosciuti, tali da poter costituire insieme indice incontestabile di frode. Per tali motivi, gli sforzi dei ricercatori e degli organismi internazionali sono rivolti ad individuare procedure, tecniche e materiali idonei a garantire la correttezza della pratica sportiva e la tutela degli atleti onesti (8). Nondimeno, ciò rappresenta un processo complesso ed in costante evoluzione. Malgrado la costante evoluzione delle tecniche analitiche e della strumentazione consenta un approccio sempre più efficace al problema, l'introduzione di sostanze o pratiche dopanti è assidua ed il feedback tra nuove tecniche di doping e metodi di laboratorio efficaci per smascherarle non è sempre immediato. Il paradosso tutt'altro che apparente di atleti professionisti in possesso di farmaci ben prima dei pazienti per cui essi sono stati concepiti

vanifica molti degli sforzi compiuti dai ricercatori.

Problemi analitici molto più complessi connaturano l'identificazione del doping genetico, eventualità tutt'altro che remota, secondo quanto recentemente enfatizzato dalla WADA (9). La circostanza di atleti modificati geneticamente al fine di ottimizzare le prestazioni atletiche, ancorché solo ipotizzabile, rappresenta una sfida aperta, un'incognita per il laboratorio, poiché presuppone l'impiego di tecniche di biologia molecolare costose, complesse e non universalmente disponibili, personale specializzato. Non vi è soprattutto univocità di vedute sui geni potenzialmente coinvolti (geni regolatori l'eritropoiesi o l'espressione di enzimi e proteine muscolari). Inoltre, trattandosi di tecniche di transfezione che prevedono l'utilizzo di comuni vettori virali, ampiamente diffusi nella popolazione, (adenovirus), la loro identificazione può non essere possibile a causa del considerevole numero di potenziali "falsi positivi". L'applicazione di tecniche di ibridizzazione *in situ* richiederebbe inoltre il prelievo di tessuti, anziché di campioni biologici, ben superando i limiti tollerabili d'invasività dell'esame in rapporto allo scopo.

Un ultimo problema rilevante concerne l'identificazione della idonea struttura deputata all'esecuzione di esami antidoping. Ciò ha rappresentato per molto tempo una seria fonte di contenzioso, allorquando i campioni degli atleti venivano indirizzati indipendentemente a laboratori "sul campo", strutture pubbliche o private, centralizzati in strutture accreditate o eseguiti da agenzie espressamente concepite per questo ruolo (WADA). Se, infatti, la tradizionale diagnostica di laboratorio si attua tra le mura dei laboratori clinici, con infrastrutture e strumentazione spesso molto sofisticate e strettamente monitorate, la traslazione alla medicina sportiva richiede sovente l'attuazione di prestazioni diagnostiche "sul campo", utilizzando supporti logistici e strumentazione che devono possedere requisiti di facile mobilità e trasferibilità. Tutto ciò poiché, a differenza d'altri ambiti della medicina di laboratorio, i test antidoping richiedono per consuetudine l'espletamento degli esami in tempo relativamente breve dal momento del prelievo. Ciò non toglie che, pur operando in condizioni apparentemente più complesse, è necessario comunque mantenere sotto stretto controllo tutte le operazioni diagnostiche, dalle modalità di prelievo alla calibrazione ed alla verifica del corretto funzionamento della strumentazione analitica. In particolare, è necessario verificare che gli standard qualitativi offerti dalla strumentazione "da campo" siano confrontabili o sovrapponibili a quelli garantiti dalla strumentazione residente. Se, al contrario, l'esecuzione degli esami si attua in Centri di riferimento, siti in prossimità del punto di prelievo dei campioni, è necessario garantire che tutte le procedure di trattamento, trasporto ed eventuale conservazione del campione siano rigorosamente rispettate, per non incorrere in er-

tori che potrebbero avere serie ricadute sul destino civile e professionale dell'atleta, mettendo in dubbio l'autorevolezza e la competenza delle Associazioni che dispongono i controlli. In questa ottica, non è pensabile che la programmazione delle procedure dei controlli antidoping sugli atleti non contempli la partecipazione di professionisti della medicina di laboratorio, i quali hanno una competenza specifica in materia e possono più concretamente analizzare gli eventuali problemi legati alle fasi analitica e, soprattutto, preanalitica (10). In sintesi, le linee guida di laboratorio per i test antidoping devono contemplare chiare indicazioni sulle procedure d'identificazione dell'atleta, modalità di richiesta dell'esame, preparazione al prelievo, procedure di raccolta del campione, trattamento dello stesso campione dopo il prelievo, procedure analitiche e relativi controlli di qualità, refertazione dell'esame e tracciabilità globale delle informazioni prodotte.

RISCONTRI ANALITICI

Dall'entrata in vigore della legge n. 376 sul doping del 2000, i controlli antidoping promossi dal CONI sul territorio nazionale si sono inaspriti. I primi risultati disponibili attestano una stridente eterogeneità nell'applicazione del protocollo antidoping nell'ambito delle diverse Federazioni sportive italiane, dipendente in larga misura dal diverso numero dei tesserati e della numerosità dei controlli eseguiti (11). Alcune Federazioni hanno promosso un considerevole numero di controlli (calcio, ciclismo, atletica leggera), mentre altre sono state in parte (canottaggio, sport invernali, triathlon) o totalmente refrattarie (cultura fisica). Alla luce di questa premessa, un'analisi superficiale dei risultati può portare alla conclusione approssimativa, ampiamente condivisa dai media, che alcune discipline siano più inclini al doping rispetto ad altre. Il bersagliamento mediatico di questi ultimi anni ha radicato l'erronea convinzione che il ciclismo sia lo sport "dopato" per eccellenza, mentre automobilismo e motociclismo, ad esempio, siano discipline poco o per nulla coinvolte. Analizzando i dati in dettaglio s'evince che, mentre i ciclisti non negativi ai controlli sono all'incirca l'1.5%, la percentuale di controlli risultati non-negativi oscilla dal 4.3% al 7.0% nei piloti. Anche nel rugby, sport maestro di fair-play per cultura e tradizione, la percentuale d'atleti risultati positivi ai controlli è tre volte superiore a quella del ciclismo. Per quanto concerne i risultati relativi alle sostanze illecite identificate negli atleti, emerge con sconcerto il dato relativo all'utilizzo d'anestetici locali, lidocaina *in primis*. L'utilizzo di questa categoria di farmaci non è ovviamente legato al tentativo di produrre un artificioso miglioramento delle prestazioni atletiche, quanto piuttosto per consentire all'atleta di gareggiare in condizioni di meno-

mazione fisica (aumento della soglia di sopportazione del dolore). Malgrado sia proprio in quest'ottica che il dato va interpretato, resta il fatto che consentire all'atleta di gareggiare in evidente menomazione fisica può essere un rischio, esacerbando la patologia di base. L'eventuale atto sanzionatorio comminato ad atleti positivi per queste sostanze dovrebbe tener conto di queste considerazioni. Un secondo aspetto riguarda la percentuale di positività per assunzione d'ormoni polipeptidici. Il dato, ovviamente sottostimato, non riflette il quadro reale, mascherato in larga misura dalla relativa inefficienza delle attuali tecniche analitiche nell'identificare le molecole ricombinanti, soprattutto rHuEPO e GH. Appare poi molto allarmante la percentuale di positività per sostanze stupefacenti, le cosiddette "droghe sociali" (7.6% cocaina e 29.5% cannabis) che obbliga ad inquadrare il problema doping in una cornice sociale diversa, più ampia (11).

L'ETICA DELLO SCREENING

Lo screening antidoping e soprattutto l'eventuale riscontro di positività a sostanze proibite, ha rilevanti conseguenze etiche e medico-legali. Il quesito saliente è: fino a che punto è morale e legittimo sottoporre un atleta, soggetto presumibilmente sano, ad analisi di laboratorio non altrimenti giustificate da quadri clinici o biochimici suggestivi di patologia? Le risposte sono molteplici, alcune valide, altre opinabili. Stabilito che l'esercizio di pratiche mediche non giustificate è deplorabile, oltre che rappresentare un reato penalmente perseguibile, è evidente che la tutela della salute dell'atleta assurga a finalità prima e giustificazione palese per l'attuazione di valide politiche antidoping (principio analogo alla coercizione sancita per legge al rispetto dei limiti di velocità, all'obbligo di indossare caschi e cinture di sicurezza). Un secondo motivo è la corruzione e la distorsione dei risultati delle competizioni in conseguenza d'espediti proibiti. Lo sport, soprattutto quello professionistico, muove ingenti capitali, in forma di media, pubblicità, retribuzione degli atleti, scommesse lecite o clandestine; alcune importanti società sportive sono oggi quotate in borsa ed è impensabile che il loro destino sia influenzabile da motivazioni che poco hanno a che vedere con lo sport. Infine, lo sport racchiude in sé per definizione il principio della lealtà agonistica e non può essere contaminato da pratiche illecite. Nondimeno, esistono riflessi aggiuntivi nell'attuazione di test antidoping che non possono essere trascurati. Primo fra tutti l'aspetto coercitivo. Da anni s'inflammo dibattiti su legittimità ed opportunità d'obbligare gli atleti a sottoporsi allo screening o se sia piuttosto conveniente basare le campagne antidoping sull'adesione libera e volontaria. Sarebbe riduttivo liquidare l'argomento asserendo che atleti "pu-

liti” non avrebbero nulla da perdere, poiché si tratta pur sempre d’analisi che potrebbero evidenziare alterazioni biochimiche (fisiologiche o anche patologiche) di cui l’atleta può voler legittimamente occultare la presenza. La positività per HCG in un’atleta di sesso femminile può essere spia d’assunzione di farmaci a base dell’ormone ricombinante, ma anche una gravidanza, il cui accertamento potrebbe comportare serie conseguenze professionali, sovente ingiustificate (esclusione dalle competizioni, congelamento dello stipendio, rescissione del contratto). In aggiunta a ciò, i test antidoping, che sono pur sempre analisi di laboratorio, sono passibili d’errori durante tutte le fasi, preanalitica (soprattutto), analitica e postanalitica. L’inadeguata attuazione di rigidi protocolli all’atto di raccolta, trattamento e conservazione del campione può comportare immotivate sanzioni ad atleti, i cui parametri ematocinici possono apparire anomali per cause che nulla hanno a che vedere con il ricorso a pratiche illecite.

Un ulteriore problema, emerso di recente, è rappresentato dall’analisi genetica degli atleti, la quale si presta a considerazioni etiche e medico-legali che trascendono le finalità dello screening antidoping, evidenziando mutazioni o polimorfismi che consentirebbero di caratterizzare gli atleti, evidenziando genotipi particolarmente favorevoli, e sostituendosi in ultima analisi alla “selezione naturale” dei migliori (12).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Il doping, inteso come assunzione di sostanze illecite in grado di migliorare il benessere psicofisico ed ottimizzare le prestazioni atletiche, è oggi un problema di salute pubblica. Il ricorso a mezzi artificiosi per alterare il risultato delle competizioni può generare gravi danni alla salute e corrompe la lealtà del gesto atletico, costituendo altresì un illecito sportivo ed un reato penale, come sancito dalla legislazione italiana corrente. Nondimeno, l’attuazione di necessari controlli antidoping presuppone peculiarità che richiedono un forte e deciso intervento della medicina di laboratorio. A prescindere da conoscenza e rispetto delle variabili in comune alla tradizionale diagnostica di laboratorio, i problemi legati all’attuazione dello screening antidoping possono essere sintetizzate nell’ambiguità ed incompletezza della composizione degli attuali pannelli antidoping, necessità di identificare le circostanze logistiche e temporali idonee per l’attuazione, identificazione e selezione dei soggetti da sottoporre allo screening, implementazione e rispetto di rigorose procedure preanalitiche, utilizzo di tecniche analitiche idonee, identificazione di idonei intervalli di riferimento dei risultati di laboratorio negli atleti, tutela legale e civile dell’atleta (8).

BIBLIOGRAFIA

1. ISO/IEC Guide 2. General terms and their definitions concerning standardization and related activities. 1986.
2. Lippi G, Brocco G, Franchini M, Schena F, Guidi G. Comparison of serum creatinine, uric acid, albumin and glucose in male professional endurance athletes compared with healthy controls. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:644-7.
3. Lippi G, Guidi G. *Doping and sports*. Minerva Med 1999;90:345-57.
4. Lippi G, Mattiuzzi C, Guidi G. Prevention of doping in sports: epidemiological issues and ethical implications. *Epidemiol Prev* 2004;28:178-83.
5. Lippi G, Franchini M, Guidi GC. Cobalt chloride administration in athletes: a new perspective in blood doping? *Br J Sports Med* 2005;39:872-3.
6. Lippi G, Guidi G. New scenarios in antidoping research. *Clin Chem* 2003;49:2106-7.
7. Lippi G, Guidi G. Laboratory screening for erythropoietin abuse in sport: an emerging challenge. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:13-9.
8. Lippi G. Medicina di Laboratorio e Doping. *Biochim Clin* 1999;23:131-41.
9. Lippi G, Guidi GC. Gene manipulation and improvement of athletic performances: new strategies in blood doping. *Br J Sports Med* 2004;38:641.
10. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2006 (in stampa).
11. Lippi G, Banfi G, Dolci A, Mattiuzzi C, Guidi G.C. Recenti sviluppi degli esami antidoping. Presupposti giuridici e ricadute pratiche. *Biochim Clin* 2005;29:360-66.
12. Lippi G, Solero GP, Guidi G. Athletes genotyping: ethical and legal issues. *Int J Sports Med* 2004;25:159.

