

7. Goossens MMC, Meyer HP, Voorhout G, Sprang EPM. Urinary excretion of glucocorticoids in the diagnosis of hyperadrenocorticism in cats. *Domest Anim Endocrinol* 1995; 12: 355-362.
8. Selman PJ, Mol JA, Rutteman GR, Rijnberk A. Progestin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland. *Endocrinology* 1994; 134: 287-292.
9. Mol JA, Garderen E van, Selman PJ, Wolfswinkel J, Rijnberk A, Rutteman GR. Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats. *J Clin Invest* 1995; 95: 2028-2034.
10. Mol JA, Henzen-Logmans SC, Hageman P, Misdorp W, Blankenstein MA, Rijnberk A. Expression of the gene encoding growth hormone in the human mammary gland. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3094-3096.
11. Mol JA, Garderen E van, Rutteman GR, Rijnberk A. New insights in the molecular mechanism of progestin-induced proliferation of mammary epithelium: Induction of the local biosynthesis of growth hormone (GH) in the mammary gland of dogs, cats and humans. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1996; 57: 67-71.
12. Garderen E van, Schalken JA. Morphogenic and tumorigenic potentials of the mammary growth hormone/growth hormone receptor system. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197: 153-165.
13. Raccurt M, Lobie PE, Moudilou E, Garcia-Caballero T, Frappart L, Morel G, Mertani HC. High stromal and epithelial human GH gene expression is associated with proliferative disorders of the mammary gland. *J Endocr* 2002; 175: 307-318.
14. Rijnberk A, Kooistra HS, Mol JA. Endocrine diseases in dogs and cats: similarities and differences with endocrine diseases in humans. *Growth Horm IGF Res* 2003; in press.
15. Wijk PA van, Rijnberk A, Croughs RJM, Wolfswinkel J, Selman PJ, Mol JA. Responsiveness to corticotrophin-releasing hormone and vasopressin in canine Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* 1994; 130: 410-416.
16. Lacroix A, N'Diaye N, Tremblay J, Hamet P. Ectopic and abnormal hormone receptors in adrenal Cushing's syndrome. *Endocr Rev* 2001; 22: 75-110.
17. Schoemaker NJ, Mol JA, Lumeij JT, Rijnberk A. Plasma concentrations of adrenocorticotrophic hormone and γ -melanocyte-stimulating hormone in ferrets (*Mustela putorius furo*) with hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res* 2002; 63: 1395-1399.
18. Schoemaker NJ, Teerds KJ, Mol JA, Lumeij JT, Thijssen JHH, Rijnberk A. The role of luteinizing hormone in the pathogenesis of hyperadrenocorticism in neutered ferrets. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197: 117-125.

Ned Tijdschr Klin Chem 2003; 28: 187-188

Steroïden in de sport

D. de BOER*

Sport en steroïden zijn onverbrekelijk met elkaar verbonden. Terwijl in de oudheid de consumptie van teelballen de atleet tot betere sportprestaties moest leiden, neemt de moderne atleet steroïde-bevattende voedingssupplementen. De teelballen spelen overigens nog steeds rol in de sport, omdat de consumptie ervan bepaalde positieve resultaten bij een dopingcontrole zou verklaren.

Omdat het gebruik van anabole androgene steroïden in de moderne sport sinds jaar en dag verboden is, wordt het gebruik tegenwoordig als een overtreding van de sportreglementen beschouwd (1). Door middel van een dopinganalyse wordt op een dergelijk misbruik gecontroleerd. Als het gaat om lichaamsvreemde steroïden, is het aantonen van het misbruik relatief eenvoudig. Aan de hand van een urinemonster wordt van het steroïde zelf en/of een karakteristiek metaboliet een massaspectrum opgenomen, dat als ondubbelzinnig bewijs wordt beschouwd voor het gebruik van het betreffende steroïde. Het urinemonster wordt zodoende positief verklaard en de atleet wordt daarmee in staat van beschuldiging gesteld.

Bij lichaamseigen steroïden is het aantonen van het misbruik veel lastiger, omdat met de gangbare massa-

spectrometrische technieken geen onderscheid gemaakt kan worden tussen zelf aangemaakte en toegevoerde lichaamseigen steroïden. Andere indicators moeten aangesproken worden om te kunnen bewijzen, dat er sprake is van misbruik (2). Dopingcontroleurs hebben bijvoorbeeld eind jaren tachtig in dat verband voor de detectie van testosteron (T) het tweelingbroertje "epitestosteron" (E) van stal gehaald en de inmiddels beruchte T/E-verhouding ingevoerd. Ontdekt in de jaren zestig door de endocrinologen, had epitestosteron reeds een geschiedenis achter zich liggen. Omdat epitestosteron geen diagnostische waarde had en schijnbaar ook geen biologische functie, was het door diezelfde endocrinologen even snel in de jaren zeventig van het toneel geschoven. De endocrinologische wereld heeft de tweede jeugd van epitestosteron in de dopinganalyse zeer kritisch gevolgd, wat zeker ook geleid heeft tot bijstellingen van het dopingbeleid t.a.v. de T/E-verhouding (3). Als aangename bijkomstigheid is het onderzoek naar epitestosteron weer opgepakt (4) en is ook o.a. de oorsprong van epitestosteron uitgebreid bestudeerd (5, 6). Naast de T/E-verhouding zijn inmiddels diverse andere endocrinologische parameters en testen aangevoerd als aanvullend bewijs van testosteronmisbruik. Ondanks deze ontwikkeling is gebleken dat de T/E-verhouding op zich sterker in zijn schoenen staat dan menigeen had gedacht.

**Instituto do Desporto, Laboratório de Análises de Doping e Bioquímica, Lissabon, Portugal*

Testosteron is niet het enige lichaamseigen steroïde, welke atleten toepassen. Een hele reeks van klassieke androgenen, zoals o.a. 5 α -dihydrotestosteron, 5 α -androstaandiol, dehydro-epiandrosteron, 4-androsteendion, 4-androsteendiol en 5-androsteendiol, zijn op de markt gebracht als zijnde voedingssupplementen (7). Sommige van deze steroïden worden omgezet in testosteron en zullen zodoende ook de T/E-verhouding direct beïnvloeden. Daarmede is de T/E-verhouding niet meer specifiek voor testosteronmisbruik. De dopingreglementen houden daar inmiddels rekening mee en beschouwen de T/E-verhouding als een meer algemene indicator voor steroïdenmisbruik.

Een verwante ontwikkeling op het gebied van steroïden en voedingssupplementen, is het op de markt brengen van aan nandrolon (19-nortestosteron) verwante 19-norandrogenen: 19-nor-4-androsteendion, 19-nor-5-androsteendion en 19-nor-5-androsteendiol (7). Als nevenproducten van de omzetting van androgenen naar estrogenen, zijn 19-norandrogenen ook lichaamseigen steroïden. Het aantonen van het misbruik van 19-norandrogenen is hoofdzakelijk gericht op de detectie van het urinaire hoofdmetafoliet 19-norandrosteron. Indien een normaalwaarde in urine wordt overschreden, wordt een atleet beschuldigd van het misbruik van 19-norandrogenen. Helaas heeft deze ontwikkeling tot gevolg dat door relatief lage eisen aan de productiekwaliteit van voedingssupplementen i.h.a., niet-steroïde-voedingssupplementen vervuild kunnen raken met 19-norandrogenen. Atleten lopen zodoende het risico onbewust 19-norandrogenen te consumeren en positief te worden bevonden op 19-norandrosteron.

De nieuwste ontwikkeling is die van voedingssupplementen en Δ^1 -androgenen (1-androsteendion en 1,4-androsteendion). Hoewel de consumptie van Δ^1 -androgenen tot karakteristieke lichaamsvreemde metaboliëten in urine leidt, zijn er bij een dopinganalyse interpretatieproblemen. Micro-organismen in de darmen kunnen nl. klassieke androgenen omzetten in Δ^1 -androgenen en via de enterohepatische kringloop deze Δ^1 -androgenen in het lichaam introduceren (8). Ook op deze manier lopen atleten risico's beschuldigd te worden van het misbruik van Δ^1 -androgenen en dus positief te worden bevonden bij een dopingcontrole. De vraag of het hier echt gaat om lichaamseigen steroïden is nog niet definitief beantwoord, maar het illustreert wel enerzijds de complexiteit van de detectie van het misbruik van lichaamseigen steroïden en anderzijds het gevaar van het ten onrechte beschuldigen van atleten van dopinggebruik.

Het nieuwste antwoord van dopingcontroleurs op deze problematiek is het toepassen van een tot nu toe

minder gangbare massaspectrometrische techniek, te weten isotoopverhoudingsmassaspectrometrie (IRMS) (2, 7, 9-11). Er zijn namelijk wel degelijk analytische verschillen tussen zelf aangemaakte en toegediende lichaamseigen steroïden en hoewel deze minimaal zijn, zijn deze verschillen analytisch zichtbaar te maken. De massaspectrometrische techniek IRMS lijkt dopinganalytisch gezien veelbelovend, maar zal zeker niet het laatste hoofdstuk zijn in het verhaal van sport en steroïden.

Literatuur

1. Lijst van verboden dopinggeduide middelen en methoden, Internationaal Olympisch Comité, Lausanne, Zwitserland.
2. Kerkhof DH van de, Boer D de, Thijssen JHH, Maes RAA. Evaluation of testosterone/epitestosterone ratio influential factors as determined in doping analysis. *J Anal Tox* 2000; 24: 102-115.
3. Dehennin L, Scholler R. Detection of self-administration of testosterone as an anabolic by determination of the ratio of urinary testosterone to urinary epitestosterone in adolescents. *Pathol Biol (Paris)* 1990; 38: 920-922.
4. Boer D de, Vervoorn C, Waasdorp TJA, Vries WR de, Thijssen JHH. Effect of exercise or dexamethasone on the T/E ratio, in Profiling anabolic androgens and corticosteroids in doping analysis. Proefschrift, Universiteit Utrecht, p. 136, 1992.
5. Dehennin L. Secretion by the human testis of epitestosterone, with its sulfoconjugate and precursor androgen 5-androstene-3 beta,17 alpha-diol. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; 44: 171-177.
6. Thijssen JHH, Heeswijk R van, Donker T, Boer D de. Peripheral production of epitestosterone by metabolism of androstenedione and testosterone, in Proceedings of the 10th International Congress of Endocrinology. [Abstract no. A488] San Francisco, USA, 1996.
7. Ayotte C, Levesque JF, Cleroux M, Lajeunesse A, Goudreault D, Fakirian A. Sport nutritional supplements: quality and doping controls. *Can J Appl Physiol* 2001; 26: S120-S129.
8. Kerkhof DH van de, Voort PM van der, Boer D de, Maes RAA. Confirmation of endogenous boldenone production: a procedure for an in vitro experiment, in Proceedings of the 17th Cologne Workshop on Dope Analysis 1999, Recent Advances on Dope Analysis 2000: 161.
9. Aguilera R, Becchi M, Grenot C, Casabianca H, Hatton CK. Detection of testosterone misuse: comparison of two chromatographic sample preparation methods for gas chromatographic-combustion/isotope ratio mass spectrometric analysis. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1996; 687: 43-53.
10. Mathurin JC, Herrou V, Bourgogne E, Pascaud L, Ceaurriz J de. Gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry analysis of 19-norsteroids: application to the detection of a nandrolone metabolite in urine. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001; 759: 267-275.
11. Aguilera R, Hatton CK, Catlin DH. Detection of epitestosterone doping by isotope ratio mass spectrometry. *Clin Chem* 2002; 48: 629-636.