

Maison de l'Unesco, 20 janvier 2005

## Signature biologique du dopage : un avenir pour la détection ?

### Biological signature of doping: a future for detection

A. Paris <sup>a,\*</sup>, M.E. Dumas <sup>b</sup>, J. Vercauteren <sup>c</sup>, F. André <sup>d</sup>, C. Canlet <sup>a</sup>, G. Gottardi <sup>a</sup>

<sup>a</sup> UMR 1089–Xénobiotiques, Inra/ENVT, 180, chemin de Tournefeuille, BP 3, 31931 Toulouse cedex 09, France

<sup>b</sup> Biological Chemistry Section, Imperial College London, Sir Alexander-Fleming Building, South Kensington, London SW7 2AZ, Grande Bretagne

<sup>c</sup> Laboratoire de pharmacognosie, université Montpellier-I, 15, avenue Charles-Flahault, BP 14491, 34093 Montpellier cedex 5, France

<sup>d</sup> Laberca, école nationale vétérinaire, BP 50707, 44307 Nantes cedex 03, France

Accepté le 20 janvier 2005

Disponible sur internet le 22 août 2005

#### Résumé

**Introduction.** – La lutte antidopage repose sur la détection de molécules prohibées mais non sur le repérage de déviations métaboliques qu'elles induisent, ce que permet la métabonomique.

**Synthèse des faits.** – Des études conduites chez l'animal, des bovins traités par différents anabolisants, donnent, à partir d'un profil métabolique urinaire obtenu par RMN-2D, des cartes factorielles résumant l'information métabolique. À partir des signatures biologiques spécifiques du renforcement de l'anabolisme, il est possible d'interpréter certains « déplacements métaboliques » ainsi détectés.

**Conclusion.** – Le dépistage du dopage chez les sportifs pourrait être renforcé de la même manière par le repérage préalable des familles de substances suspectées.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

#### Abstract

**Introduction.** – Fighting doping is permitted thanks to detection of forbidden molecules, not on detection of induced metabolic deviations, what is possible now using metabonomics.

**Results.** – From studies performed on bovines treated with different anabolics, it is possible with urinary fingerprinting obtained by 2D-NMR, to produce factorial maps summarising main part of the relevant metabolic information. From such a specific biological signature of anabolic response, it is possible to interpret some of these biochemical disruptions.

**Conclusion.** – Tracking down doping in sportsmen could be reinforced as promisingly shown in cattle thanks to a prior detection of the suspected family of anabolics.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

**Mots clés :** Anabolisants ; Stéroïdes ; RMN ; Métabonomique ; Chimométrie

**Keywords:** Anabolics; Steroids; NMR; Metabonomics; Chemometrics

#### 1. Introduction

Que ce soit dans le domaine sportif, celui de l'élevage ou des courses hippiques, le recours à des substances anaboli-

santes a toujours eu pour objectif de renforcer la masse musculaire et, ainsi, les performances sportives ou zootechniques. Cette déviation métabolique d'origine hormonale « infligée » à l'organisme doit être chronique pour produire un effet biologique mesurable, le plus souvent la puissance musculaire ou la vitesse de croissance. Nécessairement, cet effet sur l'organisme doit trouver une traduction au plan de la

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [aparis@toulouse.inra.fr](mailto:aparis@toulouse.inra.fr) (A. Paris).

biochimie métabolique. En déceler une signature spécifique dans les fluides biologiques comme l'urine ou le plasma est tout l'enjeu de la méthode de production des signatures biologiques, aussi appelée métabonomique [1], qui est décrite ci-après. Elle sera illustrée par des résultats expérimentaux obtenus en élevage bovin.

## 2. Méthodes

### 2.1. Les animaux

Une base de données expérimentales a été préparée à partir de prélèvements urinaires effectués sur bœufs et vaches tout venants (abattoir) et sur des animaux (mâles castrés ou vaches laitières) traités expérimentalement par des préparations anabolisantes [2]. Les bouvillons âgés d'environ un an (groupe des mâles castrés traités) ont reçu en sous-cutané de un à quatre implants de Révalor<sup>®</sup> contenant l'association androgène-œstrogène suivante : acétate de trenbolone (TBA, 140 mg) et œstradiol (E<sub>2</sub>, 24 mg), et ont été traités pendant 90 jours. Des vaches laitières ont reçu une injection intramusculaire d'un androgène, l'énanthate de testostérone (TE, 250 mg). Pour l'ensemble des animaux traités, des prélèvements urinaires ont été effectués à 90 jours pour les bouvillons et à 23 jours pour les vaches laitières [2].

### 2.2. L'analyse chimométrique

Les urines ont été concentrées par lyophilisation pour obtenir une quantité en analytes d'environ 500 mg dans l'échantillon à analyser, repris dans 1 ml de tampon phosphate contenant 10 % de D<sub>2</sub>O. Les analyses par résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été réalisées à 303 ± 0,1 K sur un spectromètre Bruker AMX-500 à 500,13 MHz pour la fréquence de résonance du proton, avec un dispositif de gradient de champ et une sonde inverse. Le signal de l'eau a été éliminé par une séquence Watergate et des expériences de RMN-2D (<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC) ont été effectuées sur un temps d'acquisition de deux heures par échantillon. Les cartes RMN ont été retraitées avec le logiciel Aurelia/Amix (Bruker SA, Wissembourg, France) puis une routine écrite en C++ pour importer les données dans le logiciel Splus 2000 (Mathsoft Inc., Seattle, WA) avec lequel les traitements statistiques multivariés ont été effectués [2].

## 3. Résultats

### 3.1. Les empreintes analytiques urinaires

L'analyse spectroscopique par RMN-2D permet d'obtenir des images de la distribution des analytes urinaires (Fig. 1a). Un certain nombre d'entre eux est aisément repérable : la créatinine, la créatine, l'hippurate, l'allantoïne, le citrate parmi les plus importants quantitativement. L'analyse

par RMN-2D permet d'éclater l'information sur deux dimensions, diminuant ainsi le recouvrement des raies et donc l'imprécision des mesures quantitatives effectuées [2]. Les taches ainsi délimitées en RMN-2D sont ensuite intégrées pour être soumises à un traitement statistique particulier combinant filtration des variables redondantes et analyse de données.

### 3.2. Le repérage des animaux traités

Des 180 empreintes analytiques obtenues par RMN-2D, il est possible, après une analyse factorielle discriminante, de résumer près de 80 % de l'information initiale en une seule carte factorielle (Fig. 1b). Le 1<sup>er</sup> axe (LD1) permet de séparer les animaux en fonction du sexe, les mâles à une extrémité, les femelles à l'autre. Le 2<sup>e</sup> axe révèle les déviations métaboliques communes pour les mâles et les femelles résultant du traitement anabolisant, quelle que soit la préparation hormonale utilisée de façon adaptée, physiologiquement, pour chacun des deux sexes. Les métabolites qui signent la réponse anabolisante sont, parmi ceux qui ont été identifiés, l'hippurate, la TMAO (triméthylamine N-oxyde) et le glucose dont la part augmente dans l'urine et la DMA (diméthylamine), la créatinine et la créatine dont les proportions diminuent chez ces mêmes animaux (Fig. 1b). Le 3<sup>e</sup> axe (non montré) décrit la réponse métabolique spécifique à chaque sexe.

### 3.3. L'interprétation des signatures métaboliques

La réponse métabolique au traitement anabolisant commune aux deux sexes fait apparaître une diminution des concentrations excrétées en créatinine, en créatine et en urée (RMN-1D), avec une augmentation corrélée de la quantité d'hippurate. De ces étapes retraduites sur une carte métabolique (Fig. 1c), on peut noter que l'excrétion favorisée d'hippurate chez les animaux traités correspondrait à une forme de « bypass » de l'excrétion de l'azote à partir de la glycine, le pool de glycine pouvant être alors augmenté pour, ainsi, favoriser certaines voies métaboliques importantes dans l'anabolisme.

## 4. Discussion

Bien que réalisée à partir d'un jeu d'essai relativement limité, cette méthode a démontré son efficacité pour repérer les individus soumis à un traitement anabolisant d'une part et les animaux témoins d'autre part, quel qu'en soit le sexe. De plus, une « validation par le sens » de la démarche a pu être obtenue en interprétant les différents réajustements métaboliques consécutifs au traitement anabolisant appliqué, cela en confrontant les observations obtenues par cette méthode aux nombreux éléments bibliographiques décrits dans ce domaine depuis plus de quarante ans [3].

Malgré la nécessité de construire une base de données à partir d'échantillons positifs ou négatifs dûment caractérisés

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/9359015>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/9359015>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)