

## ANABOLICKÉ ANDROGENNÍ STEROIDY – NEBEZPEČÍ V DOPLŇCÍCH STRAVY

LUCIE FOJTÍKOVÁ, SANDRA GÖSELOVÁ  
a BARBORA HOLUBOVÁ

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6  
barbora.holubova@vscht.cz

Došlo 28.4.15, přijato 23.6.15.

Klíčová slova: anabolické androgenní steroidy, testosteron, doplňky stravy, doping

## Obsah

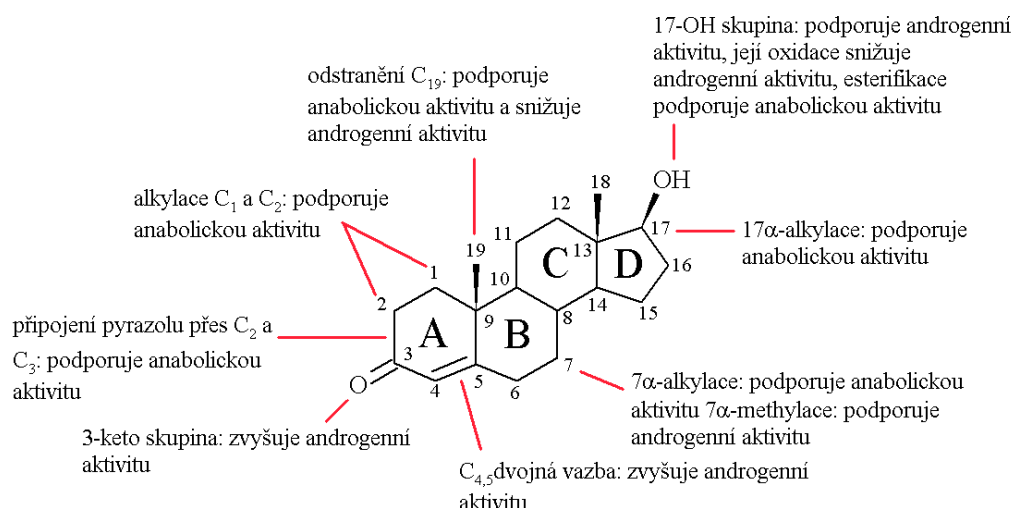
1. Úvod
2. Anabolické androgenní steroidy (AAS)
  - 2.1. Lékařské využití AAS
  - 2.2. AAS a sport
  - 2.3. Vedlejší účinky při užívání AAS
3. Doplnky stravy
  - 3.1. Legislativa doplňků stravy
  - 3.2. Otázka kontaminovaných doplňků stravy ve světě a u nás
4. Metody stanovení
5. Závěr

## 1. Úvod

Anabolické androgenní steroidy (AAS) jsou v dnešní době využívány nejen v lékařství na podporu léčebných postupů, ale i ve sportu jako nepovolený doping na podporu rychlého nárůstu svalové hmoty a celkového zesílení organismu. Volný prodej těchto látek je zakázán, přesto se mohou nelegálně dostat do prodeje například ve formě doplňků stravy, aniž je to uvedeno na etiketě obalu. Toto jednání ohrožuje především zákazníky, kteří kupují produkt bez deklarovaného obsahu anabolik, a tudíž tyto látky užívají nevědomky. Užívání AAS s sebou nese závažné vedlejší účinky jak po stránce fyziologické, tak psychologické. Kromě toho se spotřebitelé vystavují riziku pozitivního dopingového testu. Z těchto důvodů je vhodné, aby existoval dohled nad zdravotní nezávadností doplňků stravy a byly k dispozici metody, jež by umožnily AAS v doplňcích stravy spolehlivě odhalit.

## 2. Anabolické androgenní steroidy

Anabolické androgenní steroidy (AAS) jsou syntetické deriváty testosteronu. Ovlivňují vývoj a funkci mužských pohlavních orgánů, spermatogenezi v Sertolihových buňkách a vývoj sekundárních pohlavních znaků, což je souhrnně označováno jako „androgenní“ působení. Vyznačují se však i tzv. „anabolickým“ efektem, kdy působí periferně a stimulují retenci dusíku v těle a syntézu proteinů především ve svalech<sup>1</sup>.



Obr. 1. Vliv změn struktury anabolických androgenních steroidů na biologickou funkci (převzato z cit.<sup>2</sup>)

Strukturální modifikací testosteronu je možné ovlivnit poměr anabolických a androgenních vlastností (zvýšit účinnost a biologickou aktivitu) a způsob, jakým bude daný steroid aplikován do organismu (obr. 1)<sup>2</sup>. V současné době však není dostupný žádný steroid, který by měl pouze anabolické nebo pouze androgenní vlastnosti.

Obecně lze říci, že rozeznáváme tři typy analogů testosteronu. První typ je charakterizován esterifikací 17 $\beta$ -hydroxylové skupiny karboxylovou kyselinou, která má za následek zvýšenou odolnost vůči biodegradaci a delší biologickou aktivitu steroidů. Esterifikované steroidy jsou lépe rozpustné v nepolárním prostředí, čehož je využito např. při intramuskulárním podání. Délka působení jednotlivých preparátů závisí na druhu kyseliny použité k esterifikaci. Může se pak jednat o acetát, propionát, fenylpropionát, cyklopentylpropionát, dekanóat aj. příslušného steroidu. Nejznámějším zástupcem této skupiny je testosteron propionát. Druhý typ látek se vyznačuje alkyací atomu uhlíku v pozici 17 $\alpha$ , která umožňuje příjem steroidů orální cestou. Bez této modifikace by byly orálně podávané steroidy prakticky neúčinné, neboť by část podané dávky byla ještě před vstupem do systémové cirkulace metabolizována v játrech a došlo by ke snížení účinku steroidů<sup>3</sup>. Pomalejší odbourávání je ovšem spjato s jejich zvýšenou jaterní toxicitou. Jako příklad lze uvést methyltestosteron, stanozol, či oxandrolon. Poslední typ vzniká modifikací A, B, nebo C kruhu. Příkladem může být boldenon, který obsahuje dvojnou vazbu v poloze C<sub>1</sub>. Druhý a třetí typ látek je polárního charakteru, což má za následek renální exkreci.

### 2.1. Lékařské využití AAS

AAS jsou součástí tradiční medicíny již řadu let a hrají důležitou roli v léčbě mnoha chorob. Od 40. let 20. století jsou předepisovány především při stavech celkového oslabení organismu v důsledku lidské imunitní nedostatečnosti (HIV), při rozsáhlých popáleninách, po operacích a radiační léčbě, při anemiích, jaterních a ledvinových selháních, plicních obtížích i při onemocnění rakovinou<sup>4,5</sup>. Asi nejčastěji jsou aplikovány u pacientů dlouhodobě trpících svalovou dystrofií, kdy je anabolická funkce steroidů nesporným kladem ve srovnání s jejich vedlejšími účinky. Jsou známy i případy podávání anabolických steroidů pro zlepšení psychického stavu pacientů trpících depresemi<sup>4</sup>.

Vzhledem k tomu, že s užíváním AAS se pojí široké spektrum negativních vedlejších účinků (jak bude popsáno v kapitole 2.3.), je při terapii AAS nutné dobře zvážit, zdali příznivý účinek na zdravotní stav pacienta dostatečně převyšuje negativní dopady a velmi důkladně hlídat dávkování a stav pacienta během léčby<sup>4</sup>.

### 2.2. AAS a sport

Původním účelem syntézy anabolických steroidů bylo jejich využití v medicíně při léčbě závažných onemocnění. Pro své již zmiňované účinky však našly uplatnění i v řadě sportovních odvětví. Očekávání sportovců od uží-

vání AAS se odlišuje podle sportu, který provozují. Vzpěrači chtějí zvýšit svou fyzickou sílu, kulturisté zvýšit nárůst objemu svalové hmoty a snížit obsah tuku v těle, rychlostní sportovci, jako plavci a běžci, hledají možnost zvýšit intenzitu tréninku na maximum bez fyzického kolapsu<sup>6</sup>. Otázka anabolik se ovšem netýká pouze vrcholových sportovců, čím dál více po nich sahají zejména mladší vyznavači bodybuildingu, jejichž cílem je snadné dosažení „vysněných tvarů“ svalových partií těla.

#### Užívání AAS

Nejběžněji se AAS užívají orálně a intramuskulárně. V dnešní době bývají dostupné také ve formě krémů či gelů. Použití těchto neobvyklých aplikačních forem souvisí se snahou přelstít antidopingové testy. Uživatelé často aplikují několik různých typů AAS najednou, čímž se snaží předejít vypěstování si tolerance vůči jednomu z nich. Ve snaze získat co největší objem svalové hmoty dochází velmi často k „předávkování“. Jsou podávány dávky 10× až 100× větší než pro léčebné účely<sup>7</sup>.

#### Legislativa AAS ve sportovní oblasti

Za zachování ducha fair play ve sportu začal mezi prvními bojovat Mezinárodní olympijský výbor a to již v roce 1967, kdy vydal první listinu zakázaných látek a metod dopingů ve sportu. Dnes na dodržování sportovních ustanovení daných dokumenty, jako jsou „Světový antidopingový kodex“ či „Směrnice pro kontrolu a postih dopingů ve sportu“, dohlíží na mezinárodním poli Světová antidopingová agentura (WADA, z angl. World Anti-Doping Agency), na poli tuzemském Antidopingový výbor České republiky (ADV ČR). Ty také provádí samotné antidopingové testy u sportovců. Pro ně je každoročně vydáván aktualizovaný „Seznam zakázaných látek a metod dopingů“. Anabolické steroidy na tomto seznamu figurují od roku 1975.

Plošné omezení anabolik pouze pro terapeutické užití bylo před sedmi lety začleněno i do českého trestního zákoníku. Přesto i dnes velké množství webových stránek obhájí „bezpečné“ užívání steroidů, obsahuje mylné informace o AAS a bagatelizuje rizika jejich užívání. Mnohé z nich také nabízejí internetový prodej AAS bez lékařského předpisu.

### 2.3. Vedlejší účinky při užívání AAS

Nebezpečí AAS spočívá v řadě vedlejších účinků a rizik z nich plynoucích. Rizika užívání jsou závislá na věku, pohlaví, fyzických dispozicích, individuální toleranci, typu AAS, celkové dávce expozice a reverzibilitě či ireverzibilitě změn.

AAS jsou podle mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny IARC (z angl. International Agency for Research on Cancer) zařazeny do třídy 2A (cit.<sup>8</sup>). Do této kategorie patří látky pravděpodobně karcinogenní pro člověka, tzn., že epidemiologické důkazy nejsou jednoznačně průkazné, avšak karcinogenita těchto látek byla dostatečně prokázána na experimentálních zvířatech.

K nejzávažnějším vedlejším účinkům patří poruchy plodnosti, hypertenze<sup>9</sup>, poruchy koagulace<sup>10</sup>, poškození jater<sup>11</sup>, poruchy lipidového metabolismu<sup>12</sup>, ruptury svalů a šlach<sup>13</sup>.

Nadměrné dávky AAS mohou u mužů vlivem přeměny na estrogenu podnítit růst prsní tkáně a vznik gynékomastie<sup>14</sup>. U žen přílišné dávky steroidů snižují endogenní tvorbu progesteronu a estrogenů, s čímž souvisí poruchy menstruačního cyklu, které mohou vyústit v neplodnost<sup>15</sup>.

Byly prováděny také studie zabývající se vlivem AAS na lidskou psychiku, přičemž byla zaznamenána souvislost mezi agresivitou, úzkostí a dlouhodobým užíváním AAS. Osoby na počátku užívání popisovaly stavy euforie a mánie, dlouhodobí uživatelé pociťovali úzkost, podrážděnost, pocity nepřátelství a tendence negativně hodnotit sami sebe i své okolí<sup>16,17</sup>.

### 3. Doplnky stravy

Vzhledem k současnému trendu v oblasti životního stylu a masivní reklamě zaměřené na užívání široké škály preparátů „zajišťujících“ formování postavy nebo hubnutí dochází v posledních letech k značnému rozvoji obchodu s těmito produkty.

#### 3.1. Legislativa doplňků stravy

Podle zákona o potravinách č. 456/2004 Sb. (úplné znění zákona č. 110/1997 Sb.) jsou doplňky stravy definovány jako potraviny určené k přímé spotřebě, které se odlišují od potravin pro běžnou spotřebu vysokým obsahem vitamínů, minerálních látek nebo jiných látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem a které byly vyrobeny za účelem doplnění běžné stravy spotřebitele na úroveň příznivě ovlivňující jeho zdravotní stav<sup>18</sup>.

Požadavky na doplňky stravy stanovuje Vyhláška č. 352/2009 Sb.<sup>19</sup>. V doplňcích stravy nesmí být přítomny anabolické látky.

Od začátku roku 2010 platí nový trestní zákoník, podle kterého spadá mezi trestné činy přechovávání, výroba, dovoz, nabízení a prodej látek s anabolickými nebo jinými hormonálními účinky za jiným než léčebným účinkem. V minulosti byly nálezy příměsí anabolických steroidů v doplňcích stravy řešeny jako správní delikt distribuce nebezpečné potraviny, avšak podle současné legislativy hrozí tomu, kdo neoprávněně distribuuje ve větším množství anabolické steroidy, odnětí svobody až na jeden rok. V České republice podléhají doplňky stravy, stejně jako potraviny, doзору Státní zemědělské a potravinářské inspekce (SZPI). Při řešení případů nálezů AAS v doplňcích stravy spolupracuje SZPI s Národní protitdrogovou centrálou.

Tabulka I

Přehled zakázaných potravinových doplňků v ČR, v kterých byla Státní zemědělskou a potravinářskou inspekcí potvrzena přítomnost steroidních látek (sledované období 2004–2014)<sup>26</sup>

Rok	Název výrobku	Zakázaná látka	Typ	Množství
2006	MULTIPOWER MUSCLE PROFESSIONAL	nandrolon, testosteron, DHEA <sup>a</sup>	AAS <sup>b</sup>	neuveдено
	Creatine Pyruvate	19-norandrostenedion a androstandion	AAS	neuveдено
2007	Young Star	dehydroepiandrosteron	AAS	13000 mg/kg
2008	San ATTITUDE	androstenedion a DHEA	AAS	5460 mg/kg a 630 mg/kg
2009	Animal cuts	progesteron	SH <sup>c</sup>	neuveдено
2014	Tribulus Terrestris 90% saponins	1-dehydroandrostenedion	AAS	0,103 mg/kg
	Amix Per4max booster	progesteron	SH	13,8 mg/kg
	WEIDER TRIBULUS TERRESTRIS	1-dehydroandrostenedion	AAS	1,34 mg/kg
	TRIBULUS FORTE	1-dehydroandrostenedion	AAS	0,256 mg/kg
	VEMOHERB BULGARIAN TRIBULUS	1-dehydroandrostenedion	AAS	0,103 mg/kg
	COMPRESS FEVER	progesteron	SH	1,76 mg/kg
	AMIX Shake 4 Fit & Slim	progesteron	SH	4,70 mg/kg
	AMIX Anabolic Masster	progesteron	SH	3,16 mg/kg
	TRIBU	1-dehydroandrostenedion	AAS	neuveдено
	SURVIVAL Tribulus Terrestris 90%	1-dehydroandrostenedion	AAS	0,476 mg/kg

<sup>a</sup> Dehydroepiandrosteron, <sup>b</sup> anabolický androgenní steroid, <sup>c</sup> steroidní hormon

### 3.2. Otázka kontaminovaných doplňků stravy ve světě a u nás

Stále častěji je v literatuře diskutována otázka potravinových doplňků, zejména doplňků stravy, u kterých byl nalezen obsah nepovolených anabolických steroidů<sup>20–23</sup>. V rámci první velké studie probíhající v letech 2001 a 2002 bylo testováno 634 doplňků stravy, které byly volně dostupné ke koupi ve 13 různých zemích. Třináct procent z těchto nehormonálních přípravků bylo kontaminováno anabolickými androgenními steroidy. Od roku 2002 byla celá řada dalších přípravků označena za nebezpečné, protože u nich byla prokázána kontaminace vysokými koncentracemi AAS např. methandienonem, stanozolem, boldenonem, testosteronem a oxandrolonem<sup>24</sup>. Tyto látky samozřejmě nebyly deklarovány na etiketě výrobku a mohly způsobit nejen pozitivní dopingový test, ale především velké množství zdravotních problémů<sup>25</sup>.

V ČR byl opakovaně zaznamenán výskyt doplňků stravy určených pro sportovce, které obsahovaly anabolické steroidy. SZPI se začala doplňky stravy zabývat jako samostatnou skupinou od roku 2004. Od té doby zakázala během svého šetření prodej hned několika doplňků stravy<sup>26</sup>. V tab. I je přehledně zpracován seznam zakázaných výrobků doplňků stravy, ve kterých byla od roku 2004 potvrzena SZPI přítomnost AAS.

Výše uvedené výsledky zmíněných studií poukazují na nutnou obezřetnost při koupi potravinových doplňků, zejména doplňků stravy pro sportovce. Je třeba mít na paměti bezpečnost, resp. možnou nebezpečnost související s jejich užíváním.

## 4. Metody stanovení

Na analýzu anabolických androgenních steroidů lze obecně pohlížet dvěma způsoby. Buď z pohledu epidemiologických studií, které jsou spíše zaměřeny na analýzu konkrétní látky, nebo alespoň konkrétní skupiny látek, anebo z pohledu „screeningu“ (antidopingové kontroly, kontrola potravin), kdy je cílem identifikovat co možná nejvíce zakázaných látek ze vzorku.

Kontrola výskytu steroidů v různých biologických matricích se běžně provádí pomocí plynové chromatografie (GC) nebo kapalinové chromatografie (LC) v kombinaci s vhodným detektorem. Běžně používané UV detektory nejsou schopny splnit požadavky kladené na detekční limity metod, a proto jsou při analýzách nejčastěji používány detektory hmotnostní spektrometrie (MS), nebo tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS).

V posledních letech získala metoda LC-MS/MS oproti GC-MS či GC-MS/MS na popularitě. Důvodem jejího zvýšeného používání je poměrně snadná automatizace, která činí tuto metodu ideální pro rutinní diagnostiku. Další výhodou je možnost detegovat při analýze vzorků krve a moči konjugáty steroidů i nekonjugované steroidy bez předchozí derivatizace, s čímž souvisí nižší časová náročnost metody. Oproti tomu při plynové chromatografii je

derivatizace nutná<sup>27</sup>. Běžně je možno dosáhnout limitu kvantifikace v řádech desítek  $\text{pg ml}^{-1}$  (cit.<sup>28</sup>).

V České republice je při kontrole potravin na průkaz anabolických steroidů využívána laboratoří SZPI metoda plynové chromatografie, konkrétně dvojrozměrné plynové chromatografie<sup>29</sup>.

K detekci nízkomolekulárních látek (mezi které patří AAS) lze rovněž aplikovat imunochemické metody, jako je enzymová imunoanalýza (ELISA) nebo imunochromatografie v laterálním toku na membráně (LFIA)<sup>30,31</sup>. Metody pro stanovení AAS jsou založeny na specifické interakci steroid-protilátka. K jejich výhodám patří citlivost (mez detekce pro stanovení steroidů se pohybuje v rozmezí 10 až 500  $\text{pg ml}^{-1}$ ), jednoduchost, rychlost a možnost použití přímo v terénu. Tyto výhody z nich činí vhodnou screeningovou metodu. Publikována byla například imunoanalýza pro detekci anabolického steroidu nortestosteronu v doplňcích stravy<sup>32</sup>. Metoda ELISA byla využita také ve studiích pro stanovení anabolického steroidu boldenonu<sup>33,34</sup>.

## 5. Závěr

V současné době je povoleno, aby anabolické androgenní steroidy mohly být pouze součástí léčiv, jejichž užívání je možné výhradně na lékařský předpis. Přesto jsou v ČR i v zahraničí opakovaně zaznamenávány nezákonné výskytů těchto látek v doplňcích stravy určených nejen pro sportovce. Jak bylo zmíněno v tomto přehledu, AAS jsou pro lidský organismus velmi škodlivé, a proto je potřeba tyto nebezpečné kontaminované výrobky rychle odhalit a zamezit jejich prodeji. Instituce dohlížející na zdravotní nezávadnost doplňků stravy mají k dispozici chromatografické metody, jež tyto látky spolehlivě prokáží. Požadavky na rychlou a spolehlivou detekci splňují i nově vyvíjené imunochemické metody. Tyto metody jsou mnohem méně náročné na přístrojové vybavení a kvalifikaci personálu než chromatografické. V budoucnu by je v podobě uživatelsky přívětivých testů mohly využít nejen zákonodárné instituce, ale i laická veřejnost.

*Autoři děkují Grantové agentuře MV ČR za finanční podporu projektu MV0 VG20112015045.*

## LITERATURA

1. Yesalis C. E., Bahrke M. S.: *Sports Med.* 19, 326 (1995).
2. Fragkaki A. G., Angelis Y. S., Koupparis M., Tsantili-Kakoulidou A., Kokotos G., Georgakopoulos C.: *Steroids* 74, 172 (2009).
3. De Souza G. L., Hallak J.: *BJU Int.* 108, 1860 (2011).
4. Basaria S., Wahlstrom J. T., Dobs A. S.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 5108 (2001).
5. Shahidi N. T.: *Clin. Ther.* 23, 1355 (2001).
6. Bahrke M. S., Yesalis C. E.: *Curr. Opin. Pharmacol.* 4, 614 (2004).

7. Brower, K. J.: *Current Psychiatry Reports* 4, 377 (2002).
8. Oda S. S., El-Ashmawy I. M.: *Int. J. Exp. Pathol.* 93, 172 (2012).
9. Ferenchick G. S.: *N. Engl. J. Med.* 322, 476 (1990).
10. Achar S., Rostamian A., Narayan S. M.: *Am. J. Cardiol.* 106, 893 (2010).
11. Velazquez I., Alter B. P.: *Am. J. Hematol.* 77, 257 (2004).
12. Friedl K. E.: *NIDA Res. Monogr.* 102, 142 (1990).
13. Laseter J. T., Russell J. A.: *Med. Sci. Sports Exercise* 23, 1 (1991).
14. Babigian A., Silverman R. T.: *Plast. Reconstr. Surg.* 107, 240 (2001).
15. Kanayama G., Hudson J. I., Pope H. G.: *Horm. Behav.* 58, 111 (2010).
16. Oberlander J. G., Henderson L. P.: *Trends Neurosci.* 35, 382 (2012).
17. Jenssen I. H., Johannessen K. B.: *Body Image* 12, 6 (2015).
18. *Zákon o potravinách č. 456/2004 Sb.* (§ 2, odst. j). Sbírka zákonů 2004, částka 153, str. 9015.
19. *Vyhláška č. 352/2009 Sb.* Sbírka zákonů 2009, částka 110, str. 4910.
20. Martello S., Felli M., Chiarotti M.: *Food Addit. Contam.* 24, 258 (2007).
21. Petroczi A., Naughton D. P.: *J. Occup. Med. Toxicol.* (London, U. K.) 2, 1 (2007).
22. Petroczi A., Taylor G., Naughton D. P.: *Food Chem. Toxicol.* 49, 393 (2011).
23. Van Poucke C., Detavernier C., Van Cauwenberghe R., Van Peteghem C.: *Anal. Chim. Acta* 586, 35 (2007).
24. Geyer H., Parr M. K., Koehler K., Mareck U., Schanzer W., Thevis, M.: *J. Mass Spectrom.* 43, 892 (2008).
25. Geyer H., Parr M. K., Mareck U., Reinhart U., Schrader, Y., Schanzer W.: *Int. J. Sports Med.* 25, 124 (2004).
26. <http://www.szpi.gov.cz>, staženo 18.6.2015.
27. Krone N., Hughes B. A., Lavery G. G., Stewart P. M., Arlt W., Shackleton C. H.: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 121, 496 (2010).
28. Guo F., Shao J., Liu Q., Shi J. B., Jiang G. B.: *Talanta* 125, 432 (2014).
29. Stepan R., Cuhra P., Barsova S.: *Food Addit. Contam.* 25, 557 (2008).
30. Goselová S., Blažková M., Holubová B., Karamonová L., Rauch P.: *Chem. Listy* 108, 114 (2014).
31. Goselová S., Holubová B., Blažková M., Fukal L.: *Chem. Listy* 107, 875 (2013).
32. Holubová B., Goselová S., Ševčíková L., Vlach M., Blažková M., Lapčík O., Fukal L.: *Czech J. Food Sci.* 31, 514 (2013).
33. Hagedorn H. W., Schulz R., Jaeschke G.: *Biomed. Chromatogr.* 8, 63 (1994).
34. Lu H., Conneely G., Pravda M., Guilbault G. G.: *Steroids* 71, 760 (2006).

**L. Fojtíková, S. Göselová, and B. Holubová**  
*(Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague): Anabolic Androgenic Steroids – Hazard in Food Supplements*

In the last decade, several immunoassays have been published as the alternative/complementary rapid methods for steroid analysis in food supplements. The present review shows a significant amount of food supplements containing banned anabolic androgenic steroids that are not declared as ingredients thus presenting risk for consumers and may lead to positive results in anti-doping controls. Traditional methods for analysis of steroids such as LC/MS and GC/MS were used for monitoring suspect food supplements.