

*UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ, FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE „GEORGE EMIL PALADE”
DIN TÂRGU MUREȘ
ȘCOALA DE STUDII DOCTORALE*

**Manipularea androgenică a forței și esteticii musculare – model animal „in vivo”.
O perspectivă farmacologică și analitică.**

Rezumatul tezei de doctorat

Doctorand: **Amalia Miklos**

Conducător de doctorat: **Prof. dr. Daniela-Lucia Muntean**

**Târgu Mureș
2020**

Interesul populației pentru substanțe destinate îmbunătățirii aspectului fizic constituie un trend cu alură ascendentă, motivat de modelele impuse de mass-media, fiind omise riscurile posibile asociate expunerii la aceste substanțe.

Modulatorii selectivi ai receptorilor androgenici (SARM) sunt compuși cu efect anabolizant, acționând selectiv la nivelul receptorilor androgenici din țesutul muscular și osos, cu influență minimă asupra receptorilor androgenici localizați în țesuturile androgen-dependente, spre deosebire de derivații androgenici clasici.

SARM-urile reprezintă o categorie a substanțelor de interes pentru manipularea forței în rândul sportivilor, dar mai ales a esteticii musculare în rândul tinerilor cu personalitate narcisică. Deși au fost dezvoltati de peste două decenii, acești compuși nu au obținut autorizație de punere pe piață și sunt utilizați pe scară largă, în doze suprafarmacologice de către indivizi tineri, sănătoși, fără ca acest risc să fi fost evaluat în prealabil.

Teza de doctorat pune față în față aspecte analitice, farmacologice și biochimice ale unor compuși aflați în studii clinice de fază II și III, intens deturnați de la uzul medical, studiile respective fiind la interfața între cercetarea analitică și cercetarea experimentală medicală.

Scopul lucrării este evaluarea din punct de vedere analitic (calitativ/cantitativ) a doi compuși de tip SARM (andarină, respectiv ostarină) din suplimente alimentare, ca premisă *a priori* investigării tropismului farmacotoxicologic al acestora asupra unor țesuturi androgen-dependente (testicul, prostată), asupra căilor de epurare a medicamentelor (ficat, rinichi) și a potențialului de a influența axul hipotalamo-hipofizo-gonadal prin determinarea nivelului testosteronei și a gonadotropinelor hipofizare în plasmă, în modele animale de dopaj la șobolanul mascul.

Primul studiu al tezei a avut ca obiectiv evaluarea critică din punct de vedere calitativ, cantitativ, dar și farmacotehnic a suplimentelor alimentare cu andarină, respectiv ostarină, fiind dezvoltate și validate două metode UHPLC pentru dozarea conținutului în substanță activă a acestora. Scopul dezvoltării acestor metode a fost de a doza cu exactitate cantitatea de substanță activă din suplimentele care urmau a fi administrate animalelor de experiență în vederea realizării modelelor de dopaj animal. Suplimentele cu andarină s-au dovedit a fi subdozate de aproximativ 5 ori față de conținutul declarat de producător, deși au fost conforme în ceea ce privește testarea uniformității masei. Suplimentele cu ostarină s-au dovedit a fi conforme cu reglementările actuale privind testarea uniformității masei și conținutului pentru preparate unidoză, având un conținut de ostarină foarte apropiat de cel declarat de către producător (92.91%).

Al doilea studiu constă în dezvoltarea și validarea a două metode LC-MS/MS cu scopul profilării concentrației substanțelor active (andarina și ostarina) în serul șobolanilor tratați cu suplimentele evaluate anterior, în vederea testării absorbției substanței active „in vivo”. Metodele LC-MS/MS dezvoltate și validate în acest studiu oferă acuratețe și precizie pentru determinarea celor două SARM-uri în serul de șobolan, demonstrând faptul că substanțele prezintă o biodisponibilitate orală favorabilă. Metodele oferă o analiză rapidă și simplă a SARM-urilor în probele de ser, folosind o tehnică economică și rapidă de preparare a probelor (precipitare de proteine), un volum de doar 2 μ L de probă și un timp scurt de analiză (2 minute/probă analizată).

Studiul trei al prezentei teze a avut ca obiectiv evaluarea concentrației unor hormoni relevanți ai capacității reproductive (testosterona, FSH și LH) din probele de plasmă provenite de la modelele de dopaj animal, cu scopul de a evalua posibila influență a SARM-urilor asupra funcționalității axului hipotalamo-hipofizo-gonadal, în comparație cu androgenii clasici. În vederea determinării cantitative a testosteronei din probele de plasmă, s-a dezvoltat o metodă LC-MS/MS cu standard intern marcat izotopic, aplicabilă pe un domeniu larg de concentrații (50-50000 pg/mL) și utilizată în evaluarea concentrației testosteronei în modelele de dopaj animal cu andarină, ostarină și testosteronă (steroid clasic). Modelul animal dopat cu testosteronă a prezentat o creștere marcată a testosteronei plasmatice, cu o scădere consecutivă și semnificativă din punct de vedere statistic a concentrației de LH, ceea ce demonstrează faptul că steroizii anabolizanți inhibă axul hipotalamo-hipofizo-testicular. În schimb, andarina și ostarina nu au influențat funcționalitatea axului hipotalamo-hipofizo-testicular în modelele de dopaj propuse.

În studiul patru s-a investigat tropismul farmacotoxicologic al compușilor la nivelul căilor de epurare a medicamentelor (ficat, rinichi), respectiv la nivelul țesuturilor androgen-dependente (testicul, prostată) în cadrul modelelor animale de dopaj. S-a urmărit prezența sau absența modificărilor morfologice în secțiunile histologice ale țesuturilor, colorate cu hematoxină-eozină (HE), în loturile de studiu, comparativ cu lotul martor. Referitor la studierea toxicității reproductive, s-a propus și efectuarea spermogramei în vederea determinării numărului și morfologiei spermatozoizilor. S-a concluzionat faptul că la nivel hepatic, testosterona, andarina și ostarina pot induce modificări distrofice proteice, dar carioliza este mai evidentă în cazul testosteronei. La nivel renal, testosterona și ostarina pot induce hiperemie renală, fiind mai evidentă la ostarină, pe când andarina asociază modificări glomerulare. În ceea ce privesc țesuturile androgen-dependente, testosterona poate induce hiperplazie glandulară prostatică, care vizează îndeosebi periferia prostatei, pe când andarina și ostarina induc hiperplazie prostatică difuză. La nivel testicular, nu s-au produs modificări, ceea ce denotă faptul că SARM-urile prezintă selectivitate de acțiune și nu afectează fertilitatea. În schimb, spermograma a relevat faptul că dopajul cu testosteronă ar putea produce oligospermie în timp (scăderea numărului de spermatozoizi) față de andarină și ostarină, care nu afectează fertilitatea.

În concluzie, privind interesul tot mai crescut al tinerilor pentru îmbunătățirea aspectului fizic, interes susținut de publicitatea agresivă din mediul online și facilitatea achiziționării substanțelor destinate acestui scop, lucrarea prezintă un semnal de alarmă asupra calității unor produse autointitulate suplimente alimentare care conțin, în proporții variabile, compuși farmacologic activi și sunt folosite ca „body image enhancing drugs”.

Metodele analitice LC-MS/MS dezvoltate în cadrul tezei sunt metode economice, rapide și fezabile, putând fi aplicate atât pentru studii farmacocinetice, cât și pentru demascarea dopajului în diverse matrici biologice.

Lucrarea este o sinteză a unor determinări analitice sofisticate, interpretate prin prisma riscului de abuz cuantificabil în toxicitate de organ și toxicitate reproductivă, într-un model animal extrapolabil la om.

Acestea sunt aspectele în care teza de doctorat aduce cuvenitele clarificări, fiind un material util pentru analist (dezvoltare de metode), cercetător (modele animale), medicul de medicină sportivă (aspecte de toxicitate/legalitate), autoritățile de reglementare (compuși de pe lista interzisă WADA).