

Anabola androgena steroider vanligare i samhället än i idrotten

Missbruk av anabola androgena steroider är nu ett etablerat samhällsproblem. Laboratorieanalyser visar en ökning av antalet positiva prov från företag och sjukvård. Preparaten finns på den illegala marknaden och säljs öppet via internet.

ALEXANDROS CHRISTAKOPOULOS, fil dr, missbrukslaboratoriet alexandros.christakopoulos@karolinska.se
MAGNUS ERICSSON, fil dr, dopninglaboratoriet
MATS GARLE, fd chef, dopinglaboratoriet

TOMAS VILLÉN, fil kand, missbrukslaboratoriet
OLOF BECK, adj professor; samtliga farmakologiska laboratoriet, Klinisk farmakologi, Karolinska universitetssjukhuset, Stockholm

Analys av anabola androgena steroider i kroppsvätskor började utföras på 1970-talet sedan det blivit känt att preparaten användes av idrottare i prestationshöjande syfte [1]. Under lång tid låg fokus på användningen inom elitidrotten. Senare uppmärksammades att preparaten även används inom motionsidrott, av kriminella och av patienter inom beroendevården. Dessutom finns fynd från hälsokontroller på arbetsplatser. Dopning med anabola androgena steroider har i flera sammanhang varit väl organiserad. Dopningsprogrammet i forna DDR [2] och omständigheterna kring fallet Lance Armstrong är två exempel.

Bioanalytiska tekniker har utvecklats starkt sedan 1970-talet. Tidigt användes radioimmunanlys (RIA) för screening i urin [3]. Presumtivt positiva prov verifierades därefter med flera komplicerade och tidskrävande masspektrometriska metoder. Därefter utvecklades en direkt gaskromatografisk-masspektrometrisk (GC-MS) metod med kapillärkolonn-kromatografi. Denna metodik har varit i bruk fram till nu då ytterligare teknikutveckling skett [4].

Dopningsmedel: lättillgängliga och vanligt förekommande

Användningen av dopningsmedel började uppmärksammas som ett samhällsproblem i slutet av 1980-talet [5]. Under 1990-talet genomfördes några riksrepresentativa enkäter bland skolelever och i befolkningen i stort [6]. Cirka 1 procent av männen och nära 0,5 procent av kvinnorna uppgav att de någon gång hade använt anabola androgena steroider. Utifrån den senaste enkäten som genomfördes av Statens folkhälsoinstitut uppskattades att minst 10 000 personer använde dopningsmedel under år 2008 [6].

Preparaten finns tillgängliga på den illegala marknaden. Tidigare var flera anabola androgena steroider registrerade som läkemedel – nu bara testosteron, enligt Fass 2013. Statistik från Tullverket för åren 2010–2012 visar att beslagen av anabola androgena steroider har nära tredubblats [Eva Mitlid, Tullverkets laboratorium, Stockholm, pers medd; 2013]. De preparat som 2012 dominerade i beslagen var metandienon, testosteron, stanozolol, oxandrolon, metyltestosteron och mesterolon. Dopningsmedel säljs öppet på webbplatser som är lätta att hitta med vanliga sökmotorer. Den illegala tillverk-

TABELL 1. Analysresultatet i prov som analyserats för anabola androgena steroider i olika sammanhang.

Period	Totalt antal analyserade prov	Positiva prov, antal (procent)
Idrott (2005–2011) ¹	1 435 483	16 985 (1,2)
Sjukvård (2006–2012)	8 851	580 (6,6)
Företag (2006–2012)	7 774	133 (1,7)
Kriminalvård (2006–2012)	4 747	872 (18,4)
Utanför idrott, totalt (2006–2012)	21 372	1 585 (7,4)

¹ Resultat från WADA:s 31 ackrediterade laboratorier under perioden 2005–2011. Observera att 2007 års resultat är exkluderade då det saknas uppgifter från WADA.

ningen medför att god tillverkningssed inte följs och att etiketternas innehållsdeklARATIONER kan vara felaktiga.

Anabola androgena steroider i kriminella kretsar

Missbruket av anabola androgena steroider i kriminella kretsar har liksom i samhället i övrigt ökat de två senaste årtiondena [6]. Tullen och polisen har rapporterat ökad import av rena anabola steroidsubstanser de senaste åren [7]. Det finns studier som visar att det finns en signifikant risk att bli inblandad i våldsbrott om man missbrukar anabola androgena steroider [8]. Nandrolon är tillsammans med testosteron, metandienon och stanozolol de vanligast förekommande preparaten i dessa kretsar. Det är dessutom vanligt med samtidigt missbruk av narkotika. I hela 60 procent av mindre drogrelaterade brott i Sverige under åren 1999–2009 påvisades blandmissbruk [7].

Lagstiftning

Dopningslagen (SFS 1991:1969) förbjuder innehav och försäljning av bl a syntetiska anabola steroider samt testosteron och dess derivat. Dopningslagen trädde i kraft 1 juli 1992. Lagen skärptes 1999 till att också innefatta bruk av dopningsmedel, och straffskalan höjdes till fyra års fängelse. Våren 2010 föreslogs att maximistraffet för grovt dopningsbrott skulle höjas till fängelse i sex år. En ytterligare skärpning av dopningslagen gjordes hösten 2010 rörande kemiska substanser som

SAMMANFATTAT

Förekomsten av anabola androgena steroider har analyserats i prov inom idrotten sedan 1970-talet. Test utförs nu inom sjukvården och andra delar av samhället.

I dag är bruket utanför idrotten etablerat och klassat som ett samhällsproblem. Anabola androgena steroider är lättillgängliga på en växande illegal marknad.

Det saknas säkra data om antalet användare av anabola androgena steroider i Sverige. Statistik från Tullverket visar att beslagen nära tredubblats bara de tre senaste åren. Minst 10 000

personer bedöms bruka anabola androgena steroider.

Detektionstiden för anabola androgena steroider i kroppen varierar beroende på substans, dos och administrationsätt, men kan vara mycket lång.

Resultat från elitidrottsprov visar att ca 1 procent är positiva för anabola androgena steroider, medan resultat från företag och sjukvård under perioden 2006–2012 visar att ca 7 procent varit positiva.

De analysmetoder som används för anabola androgena steroider baseras på masspektrometri och är resurskrävande.

ökar produktionen eller frisättningen av testosteron [9]. Dessa lagändringar trädde i kraft den 1 april 2011. På Folkhälsoinstitutets webbplats [10] finns en förteckning av de substanser som omfattas av dopningslagen.

WADA och dopningslistan

World Anti-Doping Agency (WADA) tillkom 1999 och ansvarar för att årligen uppdatera listan över förbjudna preparat och dopningsmetoder. Listan [11] omfattar för närvarande 46 exogena och 27 endogena substanser och innehåller information om vilka som är förbjudna inom respektive idrott samt vid tävling och träning. WADA har också till uppgift att hjälpa laboratorier med regelverk och tekniska dokument för att säkra analysernas legala och vetenskapliga tillförlitlighet. WADA är det enda ackrediterade organet för idrottens dopningslaboratorier.

Anabola androgena steroider inom idrotten

Dopinglaboratoriet i Stockholm har under perioden 1981–2011 analyserat 70 064 prov från svenska idrottsutövare med avseende på anabola androgena steroider. Av dessa prov har 454 rapporterats som positiva till Riksidrottsförbundet. Det motsvarar en prevalens på 0,65 procent. Det är således hormon doping som dominerar i idrottsvärlden.

För att jämföra vilka anabola androgena steroider som påträffas i och utanför idrotten kan WADA:s sammanställning av resultaten från de 33 laboratorier som ingår i organisationens ackreditering användas (Tabell 1). Under perioden 2006–2011 [12] analyserades ca 1,5 miljoner prov inom idrotten. Av dessa var 16 985 positiva (1,2 procent). Det finns inga uppgifter om antal analysfynd per prov i WADA:s statistik [12], men enligt information från deltagande laboratorier förekommer det uteslutande en steroid per prov. Totalt har 23 olika anabola androgena steroider hittats i prov från denna period (Fakta 1). De steroider som svarar för ca 90 procent av fynden är testosteron, stanozolol, nandrolon, boldenon, metandienon, drostanolon, metenolon och trenbolon.

Anabola androgena steroider utanför idrotten

Farmakologiska laboratoriet analyserar anabola androgena steroider i prov från företag och sjukvård. Företagsprov tas ofta vid nyanställning men även slumpmässigt på anställda. Proven analyseras för ca 50 anabola androgena steroider (metaboliter inkluderade), både endogena och exogena. De anabola androgena steroider som proven kontrolleras för är med få undantag de som ingår i WADA:s lista och som analyseras av dopinglaboratoriet.

Under perioden 2006–2012 har totalt 21 372 prov analyserats. Av dessa kom 7 774 från företag, 4 747 från sjukvård, socialtjänst och behandlingshem och 8 851 från kriminalvård. På årsbasis innebär det att ca 3 500 prov inkommer till laboratoriet. Enligt beräkningar som omfattar alla prov mellan 2006 och 2012 påvisades steroider i 1 585 prov (7,4 procent). I dessa positiva prov gjordes 2 468 analytiska fynd, vilket innebär att en individ kan använda flera anabola androgena steroider samtidigt. Cirka 75 procent av de positiva proven innehöll bara en anabol androgen steroid, medan ca 20 procent innehöll spår av två. Som mest har sex steroider hittats i ett och samma prov. Frekvensen positiva prov är högre i sjukvården än inom företag och idrott (Tabell 1) [Farmakologiska laboratoriet, missbruksenheter, opubl resultat]. De anabola androgena steroider som påträffats i de positiva proven ses i Fakta 1. Analysresultaten visar att de vanligaste steroiderna är nandrolon (35 procent), testosteron (25 procent), metandienon (15 procent), stanozolol (10 procent) och boldenon (5 procent).

Vad analyserar man?

Anabola androgena steroider metaboliseras i kroppen, och

FAKTA 1

Anabola androgena steroider påträffade i positiva prov inom och utanför idrott, i fallande ordning efter förekomst.

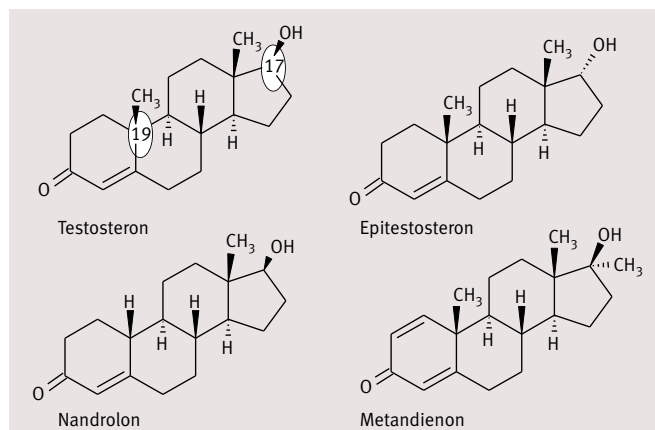
Inom idrott (WADA)

Testosteron
Nandrolon
Stanozolol
Metandienon
Boldenon
Metenolon
Metyltestosteron
Drostanolon
Oxandrolon
Mesterolone
Trenbolon
Dehydroklormetyltestosteron (DHCMT)
Mestanolon
Oximetolon
Oximesteron
Metasteron

Clostellol
Danazol
Fluoximesteron
Prostanozolol
1-Testosteron
1-Androstendion
Metandiol

Utanför idrott (Sverige)

Testosteron
Nandrolon
Metandienon
Stanozolol
Boldenon
Metyltestosteron
Metenolon
Drostanolon
Oxandrolon
Mesterolone
Trenbolon
DHCMT
Oximetolon
Oximesteron



Figur 1. Anabola androgena steroider består av två huvudgrupper, 19-nor- och 17α-metylsteroider. Nandrolon och metandienon (»ryssfemman») är exempel på dem. 17α-metylsteroider återfinns ofta i orala beredningar och 19-norsteroider i injektionspreparat. Epitestosteron är en isomer av testosteron som bildas endogent och vars halt används vid kvotberäkning (T/E).

många gånger är det metaboliterna som analyseras i proven. Metabolismen av anabola androgena steroider sker i två steg [13]. Under fas I sker oxidation, reduktion och hydroxylering av olika positioner i steroidstrukturen (Figur 1). I fas II sker konjugeringar, som gör steroiden mer polär för att underlätta utsöndring. Av dessa är bildning av glukuronsyrakonjugat vanligast [13]. Även om anabola androgena steroider generellt genomgår en omfattande metabolism gäller det inte för alla. I flera fall detekteras även modersubstansen i urinen. I kromatografiska resultat kan modersubstansen 19-nortestosteron (nandrolon) påvisas och även de båda metaboliterna 19-norandrosteron och 19-noretiokekolanolon.

Detektionstider och analysmetodik

Den tid under vilken en anabol androgen steroid finns kvar i kroppen efter intag varierar beroende på dos, beredningsform, administrationssätt och metabolism. Det innebär att detektionstiden i kroppen till viss del är individuell. Generellt gäller att anabola androgena steroider som intagits i tablettform har kortare detektionstid än de som injicerats intramuskulär. I de flesta fall kan en eller flera steroidmetaboliter de-

tekteras under betydligt längre tid än moderssubstansen, i många fall flera månader efter intag [14].

Bestämning av anabola androgena steroider utförs i urinprov. Proven analyseras främst med gaskromatografi/masspektrometri (GC-MS) och i specifika fall med vätskekromatografi/tandemmasspektrometri (LC-MS/MS). Resultaten utvärderas från kromatogram, där signalen är specifik för en viss steroids massa och proportionell mot provets koncentration. För att kunna analysera steroiderna kvantitativt med GC-MS måste konjugaten först hydrolyseras med β -glukuronidas från *E. coli*. Därefter sker vätske/vätskeextraktion med ett organiskt lösningsmedel och kemisk modifiering (derivatisering) med ett reagens för att bilda ett silylderivat [15]. Derivatiseringen stabiliserar steroiderna och förhindrar termisk degradering i analysinstrumentet. Dessutom ökar steroiderna i massa, vilket ger förbättrad känslighet och säkrare detektion. Utvärderingen av resultatet görs manuellt och är komplicerad och kompetenskrävande. Komplexiteten ligger oftast i tolkningen av resultaten, speciellt att kunna skilja ett endogent hormon från ett exogent. Ett exempel är testosteron (Figur 1), som är ett vanligt syntetiskt dopingpreparat.

Osäkerhetsfaktorer

Att påvisa och haltbestämma anabola androgena steroider i urin är förknippat med en rad svårigheter, som alla kan bidra till mätosäkerhet [16]. Provberedningen är tidsödande; en beredningsssekvens tar cirka fyra timmar, med en rad manuella steg. Tillsats av internstandard och beredning av kalibratorsubstanter är andra moment som kan leda till felaktiga beräkningar. Dessutom är det analystekniskt svårt att skilja endogena steroider från exogena.

För att påvisa exogent testosteron i missbruksprov utanför idrotten sambestäms epitestosteron och luteiniserande hormon (LH). Kvoten av utsöndrat testosteron-glukuronid/epitestosteron-glukuronid (T/E) brukar vara ca 1, men det finns individer med låg produktion av epitestosteron, vilket ger en högre kvot (upp till 4) utan att individen behöver vara dopad med testosteron. En testosteron/epitestosteronkvot >10 i kombination med ett lågt LH-värde samt en testosteron/LH-kvot >350 nmol/IU anses vara ett relativt säkert tecken på dopning med testosteron [17]. Även mängden av testosteron och epitestosteron i urinen måste beaktas vid bedömningen då individen kan ha injicerat epitestosteron, som i sig inte är ett dopningspreparat men som gör att T/E-kvoten ser normal ut. Egna opublicerade laboratorieresultat och en studie [18] visar att koncentrationen av testosteron hos friska män i aktiv ålder ligger på ca 25–75 ng/ml.

Inom idrotten används den lägre gränsen T/E >4 . Detta relativt låga värde gör att många falskt positiva dopningstest skulle kunna rapporteras, men i stället för den något subjektiva tekniken med LH används en säker instrumentell teknik, isotopkvotsmasspektrometri (IRMS) [19]. Analysprincipen bygger på att tillfört testosteron har ett annat $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -förhållande än endogent testosteron på grund av olika syntesvägar för testosteron, endogen syntes eller exogen syntes från en växtsterol, diosgenin. Med IRMS kan detta mätas mer noggrant, och skillnaden mellan endogent och exogent testosteron kan därmed bestämmas. Tekniken är kostsam på grund av den tidskrävande provberedning som krävs. Sedan 2012 används denna teknik på dopinglaboratoriet.

Diskussion och framtid

Missbruk av anabola androgena steroider är i första hand ett samhällsproblem och i andra hand ett idrottsproblem. Det är svårt att uppskatta hur många som dopar sig med anabola androgena steroider i Sverige i dag. Sannolikt konsumeras merparten av anabola androgena steroider som införs i Sverige av användare utanför elitidrotten. Uppskattningsvis 5–10 procent av dessa dopningsmedel utnyttjas av aktiva idrottare [20].

Det är uppenbart att bara en liten del av det uppskattade antalet brukare av anabola androgena steroider hittas. Beslagsstatistiken talar i samma riktning. Den ökade internethandeln har dessutom ökat tillgängligheten till dessa och nya substanser. Avregistrerade steroidpreparat kan tillverkas utomlands och importeras i pulverform. Tabletter och injektionslösningar kan tillverkas i hemmalaboratorier och säljas vidare. Ett hinder för att till fullo utnyttja laboratoriebaserad diagnostik är kostnaden. En viktig ambition för framtiden är därför en kostnadseffektiv analysmetodik.

En jämförelse av resultaten av de anabola androgena steroider som rapporteras inom respektive utanför idrotten (Tabell I) och beslag av tullen visar att samma steroider toppar listorna vad gäller de vanligast förekommande. En tydlig skillnad är att en högre procent positiva prov påvisats utanför idrotten. En annan tydlig skillnad är att prov utanför idrotten ofta innehåller mer än en steroid, medan idrottare i regel bara använder en steroid.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

- Ljungqvist A, Björkhem I, Eriksson B, et al. Doping – ett medicinskt och etiskt problem. *Läkartidningen*. 1982;79:1239–49.
- Franke W, Berendonk B. Hormonal doping and androgenization of athletes. *Clin Chem*. 1997;43(7):1262–79.
- Björkhem I, Ek H, Lantto O. Dopinganalys av anabola steroider. *Läkartidningen*. 1982;79:1242–5.
- Hemmersbach P. History of mass spectrometry at the Olympic games. *J Mass Spectrom*. 2008;43:839–53.
- Sjöqvist F, Garle M, Rune A. Use of doping agents, particularly anabolic steroids, in sports and society. *Lancet*. 2008;371:1872–82.
- Mickelsson K. Dopningen i Sverige – en inventering av utbredning, konsekvenser och åtgärder. Östersund: Statens folkhälsoinstitut. Rapport nr R 2009:15.
- Lood Y, Eklund A, Garle M, et al. Anabolic androgenic steroids in police cases in Sweden 1999–2009. *Forensic Sci Int*. 2012;219:199–204.
- Klötz F, Garle M, Granath F, et al. Criminality among individuals testing positive for the presence of anabolic androgenic steroids. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63:1274–9.
- Regeringskansliet. En effektivare narkotika- och dopningslagstiftning. Proposition 2010/11:4. <http://www.regeringen.se/sb/d/13344/a/154909>.
- Statens folkhälsoinstitut. Dopningen i Sverige. <http://www.fhi.se/Publikationer/Alla-publikationer/Dopningen-i-Sverige---en-inventering-av-utbredning-konsekvenser-och-atgarder/>
- World Anti-Doping Agency. Prohibited list. [http://www.wada-ama.org/en/World-Anti-Doping-Program/Sports-and-Anti-Doping-Organizations/International-Standards/Prohibited-](http://www.wada-ama.org/en/World-Anti-Doping-Program/Sports-and-Anti-Doping-Organizations/International-Standards/Prohibited-List/)
- World Anti-Doping Agency. Laboratory statistics. <http://www.wada-ama.org/en/Anti-Doping-Community/Anti-Doping-Laboratories/Laboratory-Statistics/>
- Schänzer W. Metabolism of anabolic androgenic steroids. *Clin Chem*. 1996;42:7:1001–20.
- Gärevik N, Strahm E, Garle M, et al. Long term perturbation of endocrine parameters and cholesterol metabolism after discontinued use of anabolic androgenic steroids. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011;127:295–300.
- Donike M, Geyer H, Gotzmann A, et al. Official proceedings: international athletics foundation world symposium on doping in Sport, Florens, 1987. Florens: International Athletics Foundation; 1988. p. 53–80.
- World Anti-Doping Agency. Technical documents for decision limits. <http://www.wada-ama.org/en/Science-Medicine/Anti-Doping-Laboratories/Technical-Documents/>
- Kicman AT, Brooks RV, Collyer SC, et al. Criteria to indicate testosterone administration. *Br J Sp Med*. 1990;24:4:253–64.
- Donike M, Barvald KR, Klostermann K, et al. The detection of exogenous testosterone. In: Heck H, et al (editors). *Sport: Leistung und Gesundheit*. Köln: Deutscher Ärzteverlag; 1983. p. 293–300.
- Aguilera R, Becchi M, Casabianca H, et al. Improved method of detection of testosterone abuse by gas chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry analysis of urinary steroids. *J Mass Spectrom*. 1996;31:169–76.
- Göteborgs stad, Social resursförvaltning, Social utveckling. Fakta och forskning – doping. <http://www.prevu.goteborg.se/prod/SocialResurs/dalisprevu.nsf/vy-Publicerade/>