

NUOVE STRATEGIE E PROSPETTIVE DI RICERCA PER L'ANALISI ANTI-DOPING

Mercolini L.¹, Protti M.¹, Sberna P.M.², Mandrioli R.³, Sberna A.E.⁴, Ferrante R.⁵

¹ *Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie (FaBiT), Alma Mater Studiorum – Università di Bologna,*

² *Department of Microelectronics, Delft University of Technology (TU Delft), Delft (NL);*

³ *Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita (QuVi), Alma Mater Studiorum – Università di Bologna - Rimini*

⁴ *Medicina dello Sport, Unità Sanitaria Locale di Enna, Viale A. Diaz 7, 94100 Enna, Italia*

⁵ *Comando Carabinieri per la Tutela della Salute - N.A.S. di Firenze, Italia*

Una delle aree tossicologiche in cui vi è stata una recente significativa crescita in termini di ricerca scientifica è quella relativa alle analisi anti-doping nello sport. La costante evoluzione delle strategie di doping, di tipo sia chimico-farmacologico sia biologico, rappresenta una difficile lotta e una continua sfida per le autorità competenti e per tutti gli attori coinvolti. In questo quadro estremamente fluido, si possono individuare spunti per una ricerca applicativa innovativa, ad esempio relativa alle fasi di raccolta, trasporto, conservazione e analisi dei campioni biologici, prevalentemente di tipo urinario, sottoposti a indagine nell'ambito dei controlli anti-doping.

Presso il *Pharmaco-Toxicological Analysis Laboratory (PTALab)* del Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie (FaBiT) sono allo studio nuove metodiche di campionamento e analisi, basate sul concetto di *microsampling*, da impiegare per identificare e quantificare composti proibiti nello sport, insieme a metaboliti e *biomarker* indici di assunzione di agenti dopanti. La forma più nota di microcampione in forma essiccata è il DBS (*dried blood spot*), ma questa tecnica può essere ampliata ed estesa con ottimi risultati ad altre matrici biologiche oltre al sangue intero, quali urina, plasma, siero e saliva, producendo così diverse tipologie di DMS (*dried matrix spots*). Questi campioni offrono numerosi vantaggi rispetto ai fluidi biologici classici in termini di raccolta, pre-trattamento, trasporto, stoccaggio e stabilità. Quest'ultimo aspetto è particolarmente rilevante nelle analisi anti-doping, dove sono frequenti i casi in cui si rendono necessarie controanalisi anche a distanza di tempo. Molto più recente è l'introduzione della tecnologia VAMS (*volumetric absorptive microsampling*) che permette il microcampionamento in forma essiccata tramite l'utilizzo di speciali supporti polimerici, per ottenere microvolumi di matrice biologica (10-20 µL) con alta accuratezza e precisione, permettendo inoltre di semplificare e automatizzare tutti i passaggi pre-analitici. Queste procedure di microcampionamento sono accoppiate a tecniche strumentali avanzate di cromatografia liquida e spettrometria di massa (LC-MS/MS) per la convalida di metodiche *high-throughput*, mirate alla determinazione di sostanze proibite per gli sportivi *in-competition* e *out-of-competition*. Nell'ambito di questo studio, infatti, tali metodiche originali sono state applicate con successo per la determinazione delle principali classi di sostanze vietate in ambito sportivo e incluse nella *Prohibited List* pubblicata annualmente dalla *World Anti-Doping Agency (WADA)*: steroidi anabolizzanti, diuretici e agenti mascheranti, stimolanti, narcotici e glucocorticoidi. I risultati ottenuti finora hanno confermato le ottime prestazioni delle metodiche in termini di stabilità a medio e lungo termine e di affidabilità del dato analitico, oltre a vantaggi logistici e di riduzione di tempi e costi dell'analisi.

Dai risultati di questi promettenti studi ha preso il via un nuovo progetto di ricerca in collaborazione con WADA, mirato all'ampliamento della *detection window* urinaria di numerose sostanze vietate in ambito sportivo e dei loro *biomarker* di assunzione [*World Anti-Doping Agency 2017 Science Research Grants*, Codice del progetto 17A20LM].