

Revue générale

## Facteurs biologiques influençant les concentrations urinaires en stéroïdes anabolisants lors de contrôles antidopage

## Biological factors influencing urinary anabolic steroid concentrations in doping control analysis

C. Enéa\*, N. Boisseau, B. Dugué

*Laboratoire des adaptations physiologiques aux activités physiques (EA 3813), faculté des sciences du sport,  
université de Poitiers, 4, allée Jean-Monnet, 86000 Poitiers, France*

Reçu le 15 septembre 2008 ; accepté le 28 octobre 2008  
Disponible sur Internet le 13 février 2009

### Résumé

**Objectifs.** – Recenser les facteurs biologiques qui peuvent modifier les concentrations urinaires de certains stéroïdes anabolisants lors des contrôles antidopage.

**Actualités.** – D'après les statistiques de l'Agence mondiale antidopage, la prise de stéroïdes anabolisants constitue la principale infraction dans le monde sportif. L'utilisation de substances naturellement produites par l'organisme (testostérone, nandrolone) rend de plus en plus difficile l'interprétation des analyses urinaires. De plus, de nombreux facteurs biologiques (âge, alimentation, cycle menstruel, prise de contraceptifs oraux...) peuvent modifier leurs concentrations chez les sportifs.

**Perspectives.** – La recherche de marqueurs indirects du dopage à travers la mise en place d'un passeport biologique offre une alternative intéressante à la méthode de dépistage utilisée actuellement. L'objectif n'est plus de détecter la présence de substances exogènes dans les matrices biologiques, mais plutôt d'examiner les paramètres biologiques qui peuvent être modifiés par la prise du produit dopant.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

### Abstract

**Objective.** – To review the biological factors that may influence the urinary concentrations of anabolic steroids in doping controls.

**Topics.** – According to the World Anti-Doping Agency statistics, the use of anabolic steroids represents the main offence carried out by the athletes. The use of substances naturally produced by the body (such as testosterone, nandrolone) makes the interpretation of urine analyses very difficult. Furthermore, many biological factors (age, diet, menstrual cycle, oral contraceptives...) may modify these concentrations.

**Perspectives.** – The search of indirect markers of doping through the setting of the biological passport offers a powerful alternative to the current anti-doping method. Detecting the presence of the exogenous substances in biological matrices would not be the main purpose in that kind of strategy, but rather the examination of the spectra of biological variances that can be affected by doping substances.

© 2008 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Mots clés :** Dopage ; Stéroïdes ; Androgènes ; Testostérone ; Nandrolone ; Facteurs biologiques ; Alimentation ; Contraceptifs oraux ; Cycle menstruel

**Keywords:** Doping; Steroids; Androgens; Testosterone; Nandrolone; Biological factors; Diet; Oral contraceptives; Menstrual cycle

### 1. Introduction

La détection de l'administration exogène de molécules naturellement présentes dans les fluides biologiques constitue un véritable défi analytique pour les acteurs de la lutte antidopage. Aussi, pour déterminer une utilisation illicite de stéroïdes anabolisants (testostérone, nandrolone...), les laboratoires accrédités

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : carina.enea@hotmail.fr (C. Enéa).

par le Comité international olympique (CIO) établissent le profil stéroïdien du sportif ou de la sportive suspecté(e) de dopage. Les concentrations et les ratios urinaires de plusieurs stéroïdes anabolisants endogènes, déhydroépiandrosterone (DHEA), testostérone (T), épitestostérone (EpiTe), dihydrotestostérone (DHT) et de leurs nombreux métabolites sont alors déterminés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Plusieurs facteurs biologiques peuvent modifier la production naturelle et l'élimination des ces stéroïdes dans les urines, rendant ainsi l'interprétation des tests anormaux difficile pour les experts et constituant alors une ligne de défense imparable pour les avocats en charge de défendre les sportifs. L'objectif de cette revue est de recenser et d'expliquer comment certains facteurs biologiques peuvent modifier le profil stéroïdien urinaire des sportifs lors des contrôles antidopage.

## 2. Historique

Les stéroïdes androgènes anabolisants (SAA) font partie des substances prohibées par le CIO depuis 1974. Cependant, les tests permettant la détection de leur usage n'ont été instaurés qu'à partir de 1976, lors des Jeux Olympiques de Montréal. Malgré leur interdiction, les SAA restent depuis des années des substances de choix pour les sportifs qui souhaitent améliorer de façon illicite leur performance et/ou faciliter leur récupération. C'est au cours des années 1980 que ces stéroïdes ont été les produits phares dans le domaine du dopage et que leur usage a été largement répandu. En dépit des nombreuses campagnes de prévention, la consommation de SAA n'a pas été remise en cause et ils demeurent les produits les plus utilisés par les sportifs. Selon les statistiques annuelles de l'Agence mondiale antidopage (AMA) de 2007, sur 4850 cas positifs déclarés par les 32 laboratoires antidopages accrédités, 2322 témoignent de l'utilisation illicite de SAA, soit près de 50 % (les stimulants et les cannabinoïdes ne représentant respectivement que 16 et 12 % des cas de dopages avérés). Les conséquences physiques et psychologiques de la prise répétée de SAA par les sportifs sont pourtant désastreuses [27,56], pouvant même conduire à une diminution de l'espérance de vie [14].

Il existe deux catégories de SAA utilisées par les sportifs : les SAA de synthèse, dont la formulation est mise au point – entre autre – par les laboratoires pharmaceutiques, et les SAA endogènes qui sont naturellement produits par l'organisme. Selon leur origine, la problématique de la détection des SAA sera très différente. La détection des stéroïdes de synthèse est simple à condition que la molécule soit connue. C'est le cas par exemple de la tétrahydrogestrinone (THG), un *designer steroid* devenu célèbre lors de l'affaire du laboratoire Balco. La situation est un peu plus complexe lorsque les sportifs utilisent des stéroïdes que l'organisme est lui-même capable de synthétiser. D'après les statistiques de l'AMA, la testostérone et la nandrolone sont depuis plus de vingt ans les substances les plus détectées lors des contrôles antidopage. De ce fait, nous nous intéresserons plus particulièrement à ces deux stéroïdes d'origine endogène.

## 3. Détection du dopage aux SAA

Lors d'un contrôle antidopage, une analyse est considérée comme positive si elle révèle la présence d'une molécule interdite dans les urines. Afin de déceler la présence de SAA, les laboratoires antidopage ont développé des méthodes d'extraction chimique et de détection avec la chromatographie en phase gazeuse ou liquide couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS, HPLC-MS).

Pour la majeure partie des SAA de synthèse, la présence de traces de la substance mère ou de ses métabolites dans les urines est suffisante pour déclarer un cas positif. La problématique est différente pour les composés exogènes qui ont une composition chimique identique à celle des substances naturellement produites par l'organisme, comme c'est le cas pour la testostérone ou la nandrolone. Afin de confirmer l'utilisation illicite de stéroïdes naturellement produits par l'organisme, les laboratoires ont mis au point une technique validée en 1997 par la Commission médicale du CIO. Il s'agit de la spectrométrie de masse isotopique du carbone (IRMS) [9]. Cette méthode d'analyse, aujourd'hui utilisée pour confirmer un dopage à la testostérone, repose sur la détermination du rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  permettant de déterminer l'origine du stéroïde urinaire : naturelle (endogène) ou pharmaceutique (exogène). Cette différence dans l'abondance isotopique du carbone vient du fait que les stéroïdes naturels humains sont synthétisés par l'organisme, le précurseur étant le cholestérol, alors que les stéroïdes pharmaceutiques sont obtenus par hémisynthèse à partir des stéroïdes végétaux.

### 3.1. La testostérone

#### 3.1.1. Détection du dopage à la testostérone

L'analyse GC-MS du ratio urinaire entre les formes glucuro-conjuguées de la testostérone et de l'EpiTe est utilisée de manière routinière (technique de *screening*) par les laboratoires antidopage pour détecter une utilisation illicite de testostérone [24]. Classiquement le rapport T/EpiTe est proche de 1, mais plusieurs facteurs biologiques peuvent modifier les concentrations en androgènes, notamment chez la femme [29]. Aussi, un rapport T/EpiTe supérieur à 4 est nécessaire pour suspecter un dopage à la testostérone. Lorsque ce ratio est supérieur à 4, une analyse complémentaire par IRMS (basée sur le ratio isotopique du carbone) est effectuée dans le but de déterminer l'origine de la testostérone et des ses précurseurs [2].

Si le métabolisme de la testostérone est aujourd'hui bien connu chez l'Homme, celui de l'EpiTe reste encore pour le moins obscur. L'EpiTe est un 17  $\alpha$ -épimère de la testostérone pour lequel on ne connaît pas d'effet biologique. En dépit de son rôle central dans la détection de l'utilisation illicite de stéroïdes anabolisants, les mécanismes à l'origine de la production d'EpiTe sont méconnus. L'interconversion métabolique entre la T et l'EpiTe étant quasi nulle [26], l'EpiTe n'est ni un précurseur ni un métabolite de la testostérone. Ainsi, l'administration de testostérone et d'androstènedione marquées n'induit pas d'augmentation de la concentration en EpiTe [69,76]. En 1993, Dehennin et Matsumoto observent que l'administration répétée

de testostérone conduit à une diminution de l'excrétion d'EpiTe par rétroaction négative [23].

Chez le sujet masculin, 50 % de la production d'EpiTe semble être d'origine testiculaire [21]. Bien que Kicman et al. [41] suggèrent que la contribution des surrénales soit minime chez l'homme eugonadique [41], elles semblent jouer un rôle dans la production d'EpiTe puisque l'injection de corticotrophine (ACTH) entraîne une augmentation de son excrétion urinaire [67]. Chez la femme, la présence d'EpiTe a été mise en évidence dans le fluide folliculaire provenant de follicules pré-ovulatoires [22], suggérant ainsi une production ovarienne de ce stéroïde. Bien que l'excrétion urinaire de l'EpiTe soit similaire dans les deux sexes (80 à 500 nmol par jour), le ratio T/EpiTe semble légèrement inférieur chez la femme comparée à l'homme, et cela probablement en raison d'une moindre excrétion urinaire de testostérone chez le sujet féminin.

*3.1.1.1. Influence de l'âge.* Plusieurs auteurs observent une variation importante du ratio T/EpiTe au cours de la période péripubertaire [33,58] pouvant conduire à des tests faussement positifs [58]. Dans les deux sexes, la concentration sérique d'EpiTe augmente au cours de la puberté, jusqu'à un pic observé à l'âge de 20 ans chez les femmes et 35 ans chez les hommes [33]. La concentration d'EpiTe diminue ensuite dans les deux sexes, puis un nouveau pic apparaît chez la femme ménopausée. Les mécanismes à l'origine de cette augmentation tardive ne sont pas élucidés. Cependant, il semblerait que comme pour la testostérone, les ovaires soient impliqués [44].

*3.1.1.2. Influence génétique.* L'excrétion urinaire de testostérone dépend largement de l'enzyme de conjugaison uridine diphosphate-glucuronosyltransférase (UGT) 2B17 qui catalyse l'addition d'un acide glucuronique à la molécule de testostérone, permettant ainsi son élimination dans les urines. Cette enzyme résulte de l'expression du gène portant le même nom. En étudiant la répartition de ce gène chez 145 hommes, Schulze et al. [64] ont constaté que 52 % des sujets avaient un seul allèle de ce gène (insertion/suppression), 33 % avaient deux allèles (insertion/insertion) et 15 % aucun allèle (suppression/suppression) [64]. Dans cette même étude, les auteurs ont observé une très grande variabilité inter-individuelle dans l'excrétion urinaire de testostérone glucuronide après injection intramusculaire de 500 mg de testostérone énanthate. En effet, 40 % des sujets ne possédant aucun allèle du gène présentaient un ratio T/EpiT qui aurait été jugé normal au cours d'une analyse antidopage. Une étude s'intéressant au polymorphisme de ce gène a montré que le génotype (suppression/suppression) était sept fois plus fréquent chez les asiatiques (67 % de la population coréenne) que chez les caucasiens (9 % chez les suédois), entraînant ainsi des niveaux de testostérone bien plus élevés chez ces derniers [36]. Ainsi, Schulze et al. [64] ont constaté que 14 % des hommes possédant les deux allèles du gène UGT2B17 dépassaient le ratio autorisé par le CIO, sans injection préalable de testostérone [64].

*3.1.1.3. Influence de l'alimentation.* Bien que le régime alimentaire n'ait pas d'effet connu sur le ratio T/EpiT (mis à part l'ingestion d'alcool qui sera traitée ultérieurement), il influence

considérablement la valeur du rapport  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  des stéroïdes endogènes. Ainsi, l'interprétation du ratio  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  obtenu par analyse IRMS peut s'avérer difficile en fonction du type de régime de l'individu. En effet, les populations se nourrissant essentiellement de plantes de type C4 telles que le maïs, la canne à sucre et le millet (ratio isotopique compris entre -22 et -30 ‰) présentent des valeurs légèrement supérieures en  $^{13}\text{C}$  comparées aux individus dont l'alimentation est riche en plantes de types C3 (riz, pomme de terre, blé, orge...) [10]. Néanmoins, cette influence ne suffit pas pour fausser les résultats des analyses antidopages. Afin de s'affranchir des variations inter-individuelles dues au régime alimentaire, il est recommandé de rapporter ces valeurs isotopiques à un composé endogène de référence dont le ratio isotopique n'est pas modifié par la prise exogène de testostérone ou de l'un de ses précurseurs (androstènedione, DHEA). Le cholestérol et le 5-prégnandiol sont actuellement utilisés comme stéroïdes endogènes de référence [1,2]. Ainsi, l'administration de stéroïdes exogènes est confirmée lorsque la valeur de delta  $^{13}\text{C}$  des stéroïdes diffère de manière significative du composé endogène de référence d'au moins 3 ‰.

*3.1.1.4. Influence du cycle menstruel.* Il existe une grande variabilité intra-individuelle du ratio T/EpiTe chez les sportives comparées à leur homologue masculin [5]. En effet, chez des volontaires féminines, des fluctuations aléatoires de 10 à 64 % ont été observées tout au long du cycle menstruel alors que chez les hommes les variations individuelles normales n'excèdent pas 30 %. Les mécanismes à l'origine de ces fluctuations aléatoires ne sont à ce jour pas élucidés. Lors d'une étude réalisée chez des sportives et des sédentaires sous activité ovarienne, Bricout et al. [13] n'observent pas de différence significative du ratio T/EpiT entre la phase folliculaire et la phase lutéale du cycle menstruel [13]. À l'inverse, d'autres auteurs observent une excrétion urinaire d'EpiTe plus élevée lors des 22<sup>e</sup> et 23<sup>e</sup> jours du cycle menstruel [49].

*3.1.1.5. Effet de la grossesse.* Bien que l'administration exogène de gonadotrophine chorionique (hCG) induise une augmentation (indirecte) de la production de testostérone chez l'homme [40], l'augmentation naturelle de la concentration sanguine en hCG observée au cours de la grossesse semble sans effet sur la force musculaire de la sportive [65]. De ce fait, ce peptide a été retiré de la liste des substances prohibées chez le sujet féminin par le CIO en 2006.

*3.1.1.6. Influence des contraceptifs oraux.* Dans les pays occidentaux, l'utilisation d'une contraception orale est une pratique très répandue, y compris chez les sportives. Selon une étude norvégienne, plus de 40 % des sportives de haut niveau (13–39 ans) utilisent un contraceptif oral, contre 27 % chez les sujets non sportifs [71]. L'éventuelle action des contraceptifs oraux sur le métabolisme des hormones stéroïdes et plus particulièrement des androgènes est à ce jour peu étudié. Les travaux de Mareck-Engelke et al. [50] mettent en évidence une augmentation du ratio T/EpiTe à la suite d'un traitement contraceptif oral, due à une diminution de l'excrétion urinaire de l'EpiTe

[50]. Les mécanismes à l'origine de cette diminution sont mal connus. Cependant, il semblerait que la production d'EpiTe par les ovaires et/ou les surrénales soit diminuée par la prise de contraceptifs oraux alors que celle de la testostérone et de l'androstènedione ne seraient pas modifiées [50].

*3.1.1.7. Effet de l'ingestion d'alcool.* L'ingestion d'éthanol en grande quantité induit une augmentation du ratio T/EpiTe et une diminution du ratio And/EpiTe [31,39]. Cet effet de l'alcool est plus important chez la femme que chez l'homme, sans toutefois entraîner un contrôle antidopage positif. Toute modification du ratio due à l'alcool est de toute façon accompagnée d'une augmentation de la concentration urinaire d'éthanol.

*3.1.1.8. Effet de l'activité physique.* L'exercice physique induit une diminution de l'excrétion urinaire de la testostérone et de l'EpiTe (ng/mg de créatinine) [70], sans toutefois affecter le ratio T/EpiT chez l'homme [40,57]. Chez la femme, aucune étude n'a été réalisée à ce jour.

### 3.2. La nandrolone (19-nortestostérone)

Les 19-norstéroïdes exercent leurs actions biologiques de la même façon que tous les autres SAA. Cependant, la 19-nortestostérone est un SAA « de premier choix » puisqu'elle possède une activité anabolisante plus importante et occasionne moins d'effets androgéniques que les autres. La 5 $\alpha$ -réductase, responsable de la transformation de la testostérone en DHT, transforme également la nortestostérone en DHN. La DHN, contrairement à la DHT, ne possède qu'une faible affinité pour le récepteur aux androgènes (RA) [43]. Ainsi, la 19-nortestostérone n'exerce que peu d'influence sur l'activité androgénique du RA s'exprimant dans les organes avec une forte activité de 5 $\alpha$ -réductase. À l'opposé, les muscles striés squelettiques présentent une faible activité de la 5 $\alpha$ -réductase. La 19-nortestostérone n'est par conséquent quasiment pas transformée en DHN au niveau musculaire. Étant donné que la nandrolone présente une plus grande affinité avec le RA que la testostérone, les effets anabolisants spécifiques aux muscles striés squelettiques sont plus importants [72].

#### 3.2.1. Détection du dopage à la nandrolone

Dès la fin des années 1950, Engel et al. [30] ont observé que l'administration de 19-nortestostérone conduit à l'excrétion urinaire de 19-norandrostérone (NA) et de 19-norétiocolanolone (NE) [30]. Un troisième métabolite, la 19-norépiandrostérone (NEA), a par la suite été identifié après administration intramusculaire de nandrolone decanoate [52]. La 19-NEA est excrétée exclusivement sous la forme sulfoconjuguée alors que les deux autres métabolites (19-NA et 19-NE) sont principalement excrétés sous la forme glucuroconjuguée. Les dérivés sulfates, généralement persistants, peuvent être majoritaires en fin de période d'excrétion. Suite à l'administration intramusculaire de nandrolone à effet prolongé, les métabolites peuvent être détectés pendant des mois. Toutefois, les métabolites formés après une ingestion orale sont excrétés massivement dès les premières heures (5 à 7 heures après l'ingestion) [6]. Il est

cependant intéressant de noter que l'on retrouve chez certains sujets quelques traces de ces métabolites plusieurs jours après l'ingestion [6]. Lors d'un contrôle antidopage, ces observations peuvent poser problème dans la mesure où deux individus précédemment traités avec le même dosage et au même moment peuvent avoir des concentrations urinaires en 19-NA et 19-NE très différentes. Cependant, les causes de la variabilité interindividuelle du métabolisme de la nandrolone n'ont pas encore été identifiées.

La détection d'un dopage à la nandrolone se fait grâce à la présence de ses deux principaux métabolites urinaires et plus particulièrement de la 19-NA. En 1996, le CIO fixait le seuil de positivité de 19-NA urinaire à 2 ng/ml pour les hommes et à 5 ng/ml pour les femmes. Depuis 2004, cette limite est à 2 ng/ml dans les deux sexes. Les deux autres métabolites (19-NE et 19-NEA) sont quantifiés dans le but d'avérer un dopage à la nandrolone bien qu'aucun seuil de positivité n'ait été établi à ce jour pour ces métabolites.

*3.2.1.1. Biosynthèse des norstéroïdes.* La 19-nortestostérone n'est pas seulement un stéroïde de synthèse, mais également une substance naturellement produite en infime quantité par l'organisme (Fig. 1), ce qui peut conduire dans certains cas à des contrôles faussement positifs. La biosynthèse de la 19-nortestostérone, et des norstéroïdes en général, découlerait d'une réaction secondaire se produisant lors du processus d'aromatation des androgènes en estrogènes [47,60]. L'aromatation des androgènes par l'aromatase est contrôlée par un complexe enzymatique, le P450arom, dont l'activité a été observée dans de nombreux tissus. Cependant, ceux qui expriment la plus grande activité de l'aromatase sont les follicules ovariens chez la femme prémenopausée [22] et le placenta chez la femme enceinte [42]. Dans ces tissus, la biosynthèse de l'estrone (E1) à partir de l'androstènedione et du 17 $\beta$ -estradiol (E2) à partir de la testostérone, conduit à la formation de 19-norandrostènedione (19-N $\Delta$ 4) et de 19-nortestostérone (19-NT), respectivement [22]. Les travaux de Kao et al. [38] ont permis d'établir que l'aromatation de la testostérone dans le placenta humain conduit à la formation de 17 $\beta$ -estradiol et de 19-nortestostérone dans un rapport de 92/8 % [38]. Des réactions cataboliques pourraient ensuite transformer les norstéroïdes en 19-norandrostérone et 19-norétiocolanolone et provoquer la présence de ces deux métabolites dans les urines [12].

*3.2.1.2. Effet de l'alimentation.* L'alimentation doit être considérée comme un facteur non négligeable lors de la détection urinaire de 19-NA et 19-NE chez les sportifs. En effet, plusieurs études ont reporté que la consommation de viande issue d'animaux traités avec des hormones [20] ou de porcs non castrés [46], représentait une source potentielle de consommation involontaire de nandrolone. Toutefois, quelques auteurs soulignent que la probabilité statistique d'une contamination fortuite suite à un usage illégal d'anabolisant dans l'élevage est quasi nulle [35].

De plus, la consommation de certains compléments alimentaires, parfois contaminés avec des hormones ou des prohormones, peut induire la présence dans les urines des

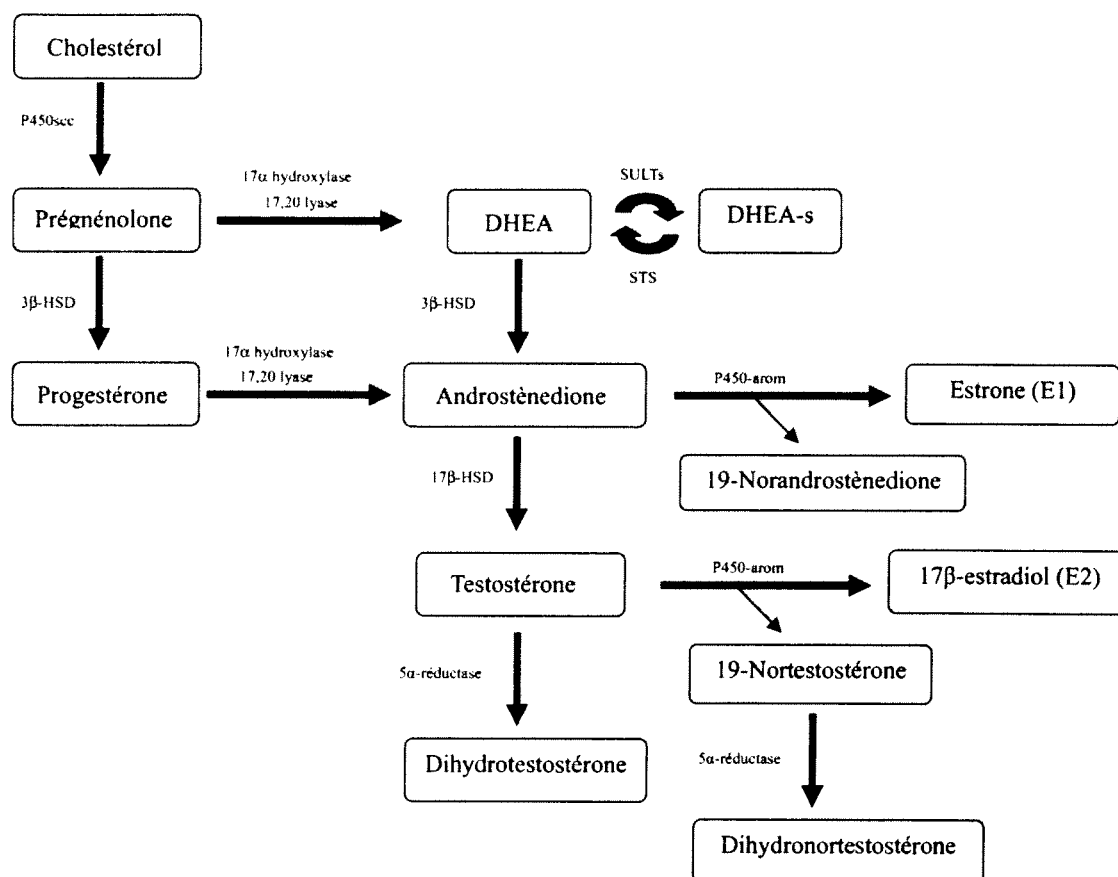


Fig. 1. Biosynthèse des SAA et des norstéroïdes.

métabolites de la nandrolone à des concentrations supérieures au seuil autorisé [8,18,32]. Pour éviter toute contamination fortuite, l'AMA met en place depuis quelques années une vaste campagne de prévention sur les conséquences de l'utilisation de compléments alimentaires chez les sportifs.

**3.2.1.3. Effet du cycle menstruel.** Dehennin et al. [22] sont les premiers à mettre en évidence une production endogène de norstéroïdes dans le liquide folliculaire humain [22]. Les auteurs observent des concentrations intrafolliculaires de 16,2 ng/ml de norandrosténone (19NΔ4) en présence de taux d'estrone (E1) atteignant 96 ng/ml et des taux de 9,7 ng/ml de nandrolone (19-NT) lorsque les taux d'estradiol (E2) atteignent 997 ng/ml. De plus, il est bien établi que la concentration plasmatique en estradiol varie au cours du cycle menstruel avec un pic lors de la phase ovulatoire, une diminution rapide en début de phase lutéale puis de nouveau un pic en milieu de phase lutéale. Doody et al. [25] ont démontré que le niveau d'estradiol sérique peut être déterminé par le niveau d'expression de l'ARNm du cytochrome P450arom dans l'ovaire humain [25]. Cette observation est corroborée par Lephart et al. [48] qui observent chez la rate une forte corrélation entre la concentration en ARNm de l'aromatase, l'activité de cette enzyme et les niveaux sanguins d'estradiol [48]. Ces résultats suggèrent que les variations périodiques de la concentration sérique en estradiol au cours du cycle menstruel chez la femme sont dues à des modifications de l'activité enzymatique de l'aromatase. Les niveaux physiolo-

giques de 19-norandrosténone mesurés à partir d'échantillons urinaires provenant de femmes sous activité ovarienne sont inférieurs à 1 ng/ml et sont positivement corrélés avec les niveaux d'estrogènes [34,74]. Au cours d'un cycle menstruel « normal », les valeurs d'E2 plasmatiques sont aux alentours de 40–190 pg/ml en phase folliculaire pour atteindre 500 pg/ml au moment de l'ovulation et entre 50 et 310 pg/ml en phase lutéale [16]. La question du devenir de ces substances se pose encore, puisque le follicule ovarien n'est pas vascularisé avant l'ovulation [68].

**3.2.1.4. Effet de la grossesse.** L'hypothèse d'une régulation hormonale de la production de norstéroïdes est renforcée par des résultats obtenus chez la femme en gestation. En effet, Reznik et al. [60] mettent en évidence une augmentation des concentrations plasmatiques en 19-NT à partir du second trimestre d'aménorrhée [60]. Au niveau urinaire, les femmes enceintes présentent des concentrations en 19-NA comprises entre 2 et 5 ng/ml avec un maximum rapporté à 16,5 ng/ml [51]. L'apparition du placenta, qui se comporte comme une véritable glande endocrine, provoque des changements hormonaux importants, parmi lesquels une augmentation des niveaux d'estrogènes sanguins. Kitawiki et al., ont notamment montré que l'activité du complexe P450arom dans le placenta humain augmente de plus de 16 fois entre la 10<sup>e</sup> et la 40<sup>e</sup> semaine de gestation [42].

L'activité du complexe aromatasé semble également varier au cours du cycle menstruel, avec un faible niveau lors de la phase folliculaire et une augmentation progressive et marquée au cours du phénomène de lutéinisation [62,66].

**3.2.1.5. Effet des contraceptifs oraux.** Dans le contexte de la lutte antidopage, la légitimité de l'utilisation de certains traitements contraceptifs a longtemps été débattue. L'ingestion de pilules contenant des dérivés norstéroïdes tels que la noréthistérone induit une augmentation des concentrations urinaires en 19-NA au-delà de 2 ng/ml [17]. Toutefois, la présence de l'isomère majeur glucuroconjugué de la THG dans les urines permet de différencier une prise exogène à visée de dopage d'un banal traitement contraceptif.

**3.2.1.6. Effet de l'activité physique.**

**3.2.1.6.1. Chez l'homme.** Plusieurs auteurs ont cherché à évaluer l'effet de l'exercice physique sur les concentrations urinaires des métabolites de la nandrolone [19,45,61,63]. Les résultats sont cependant équivoques.

Le Bizec et al. [47] sont les premiers à mettre en évidence une augmentation de la production endogène de nandrolone chez un footballeur après un exercice prolongé intense (match de football) [47]. Dans cette étude de cas, la valeur de 19-NA était multipliée par un facteur de 3 après l'exercice. Les auteurs avancent l'hypothèse d'une déshydratation à l'exercice qui aurait conduit à une augmentation de la concentration des solutés urinaires et par conséquent, à une analyse antidopage faussement positive. En raison de ces résultats, la Fédération internationale de football amateur (FIFA) a financé une étude qui permettait de vérifier, sur un échantillon de footballeurs plus important, les observations de Le Bizec et al. [61]. Ainsi, les échantillons urinaires de 137 footballeurs amateurs ont été recueillis avant et après compétition. Les dosages de 19-NA et 19-NE ont été réalisés sur chacun des échantillons urinaires par deux laboratoires accrédités par le CIO. Les résultats montrent qu'après l'effort, huit échantillons contenaient des traces de 19-NA (supérieures à 0,2 ng/ml) alors qu'avant l'effort, aucun des échantillons ne présentait de valeur détectable de ce métabolite. Dans la même étude, les urines de 358 footballeurs professionnels ont été recueillies après compétition. Parmi ces échantillons, deux d'entre eux présentaient des valeurs de 19-NA supérieures à la limite autorisée (2,2 et 2,5 ng/ml). Toutefois, ces observations ont été réalisées sans les contrôles adéquats qui auraient permis d'exclure une possible administration de norstéroïdes avant la compétition. Toujours chez les footballeurs, Le Bizec et al. [45] mettent en évidence une augmentation des concentrations urinaires en 19-NA après un match de football, qui restent cependant toujours inférieures à la limite autorisée par le CIO (valeur maximale détectée à 1,79 ng/ml) [45].

Les mécanismes à l'origine de cette augmentation restent inconnus, d'autant plus que chez l'homme, l'exercice musculaire intense et prolongé (course de 100 km) est associé à une baisse de la production des androgènes testiculaires [55]. Deux hypothèses ont néanmoins été proposées pour expliquer l'augmentation de la production endogène de 19-NT à l'exercice.

Indépendamment du sexe, l'activité musculaire intense entraîne une sécrétion d'ACTH, responsable de la biosynthèse des androgènes surrénaliens [73,75]. Bien que la glande surrénale ait été identifiée comme un site d'aromatase chez le porc [15], aucune étude n'a montré l'activité de l'enzyme aromatasé dans le cortex surrénalien de l'homme sain [77]. Il est par conséquent peu probable que les norstéroïdes produits lors d'un exercice musculaire puissent être d'origine surrénalienne. Cependant, plusieurs études montrent que la DHEA et l'androstènedione peuvent être métabolisées respectivement en androstènedione et en testostérone dans les tissus périphériques [4,78], puis être aromatisées in situ. Il semble alors possible que l'augmentation de la production des androgènes surrénaliens à l'exercice entraîne une augmentation de l'excrétion urinaire en 19-NA. Reznik et al. [59] sont les premiers à tester cette hypothèse en induisant un stress hypoglycémique chez dix sujets masculins [59]. Les auteurs observent une très nette augmentation du cortisol urinaire et plasmatique, ainsi qu'une diminution de la testostérone plasmatique (–30 %) pendant les deux heures qui suivent l'injection d'insuline (0,1 UI/kg). En revanche, bien qu'elle ait tendance à augmenter, la concentration urinaire en 19-NA ne varie pas significativement après un stress insulinaire. Toutefois, McTernan et al. [54] observent que le cortisol et l'insuline stimulent l'activité de l'aromatase dans les adipocytes matures [54].

De plus, l'exercice physique intense de type aérobie (simulation d'un entraînement de football) pourrait induire la libération de norstéroïdes stockés dans le tissu adipeux et ainsi entraîner des concentrations urinaires de 19-NA supérieures à 2 ng/ml [7]. Plus récemment, des protocoles standardisés effectués chez des sportifs ont réfuté l'hypothèse d'une augmentation de la production endogène de nandrolone à l'exercice [19,64]. En effet, dans une étude réalisée par notre laboratoire, Schmitt et al. [63] n'observent aucune variation des concentrations urinaires en 19-NA et 19-NE après deux types d'exercice exhaustif sollicitant des filières énergétiques très différentes (course à 85 % du  $\dot{V}O_2$  max et test de Wingate). Cette étude, réalisée sur deux groupes de sportifs (judoka et coureurs de longue distance), n'a pas révélé d'effet du type d'entraînement sur la concentration de ces métabolites au repos, et après 30, 60 minutes et 24 heures de récupération. Afin d'évaluer un éventuel effet du mode d'exercice (concentrique versus excentrique), de Geus et al. [19], réalisent le même type d'expérimentation chez 15 joueurs de hockey sur gazon de niveau amateur. Sur les 45 échantillons d'urine recueillis (pré-, une et deux heures post-exercice), seul un échantillon avait une concentration détectable de 19-NA (0,13 ng/ml) [19].

Bien que les métabolites urinaires de la nandrolone semblent faire l'objet de variations biologiques importantes chez le sujet sportif [47], aucune hypothèse n'a été avancée pour expliquer cette observation. En effet, Le Bizec et al. [47] observent une variation de 680 % de l'excrétion urinaire de 19-NA chez un sportif dont les urines ont été recueillies sur une période de trois mois (valeurs extrêmes : 0,06–0,47 ng/ml). Cependant, ces données doivent être interprétées avec prudence car les auteurs ne précisent pas la gravité spécifique urinaire des échantillons recueillis. En effet, pour éviter les cas faussement positifs dus à

des urines trop concentrées, l'AMA établit en 2004 un facteur de correction que les laboratoires doivent appliquer lorsque la gravité spécifique des urines dépasse 1,020 [3]. Toutes les études réalisées à l'exercice étant antérieures à la publication de l'AMA, aucune d'entre elles ne tient compte ce facteur de correction.

**3.2.1.6.2. Chez la femme.** L'exercice physique de type aérobie est associé à une augmentation des concentrations plasmatiques en estradiol chez la femme sous activité ovarienne [53]. Pour une même intensité relative d'exercice, cette augmentation est plus importante en phase lutéale qu'en phase folliculaire [37,53], suggérant ainsi une plus grande sensibilité de l'ovaire aux hormones gonadotropes lors du phénomène de lutéinisation. Une étude statistique réalisée lors des Jeux Olympiques de Nagano [11] a montré, sur 251 échantillons urinaires provenant de sportives, que seulement 37 (13,7%) contenaient des concentrations détectables des métabolites de la nandrolone. Huit de ces échantillons avaient des concentrations de 19-NA comprises entre 2 et 5 ng/ml d'urine, ce qui, à l'époque, ne constituait pas une violation du code antidopage. En revanche, si quatre de ces échantillons provenaient de femmes enceintes (concentration urinaire en hCG supérieure à 5 mIU/ml) ou de femmes « traitées » à la noréthistérone, aucune explication n'a été proposée pour les quatre autres échantillons. Afin d'examiner si l'exercice physique pouvait être responsable d'une augmentation des concentrations urinaires des métabolites de la nandrolone chez la femme, une étude a récemment été réalisée dans notre laboratoire [28]. Nos résultats, ne montrent pas d'effet de l'exercice (temps-limite à 75 % de VO<sub>2</sub> max et Wingate-test) sur les concentrations urinaires de 19-NA et 19-NE, et ce quel que soit le statut hormonal ou le niveau d'entraînement des jeunes femmes participant. Bien que ces résultats soient à interpréter avec prudence, il semblerait que le seuil de 2 ng/ml soit approprié pour la détection de l'utilisation frauduleuse de norstéroïdes chez la femme.

#### 4. Conclusion

Aujourd'hui encore, la détection d'une utilisation illicite de substances naturellement produites par l'organisme constitue une grande difficulté pour les acteurs de la lutte antidopage. En effet, apporter la preuve irréfutable qu'un athlète s'est dopé en éliminant la moindre possibilité d'une production endogène s'avère plus complexe qu'il n'y paraît. Aussi, lors de l'analyse d'un échantillon urinaire, la prise en considération de facteurs tels que le sexe, l'âge, l'origine ethnique, ... la comparaison avec les valeurs antérieures du sportif (chaque individu constituant sa propre référence), la diminution de la variabilité d'origine pré-analytique et analytique contribueront à augmenter l'efficacité des contrôles.

Dans cette lutte, l'utilisation du profil stéroïdien urinaire comme marqueur indirect d'un dopage aux stéroïdes anabolisants constitue une perspective intéressante. En effet, il ne s'agit plus de retrouver dans les urines la substance incriminée ou ses métabolites mais plutôt d'étudier comment la prise exogène de cette substance peut modifier un certain nombre de paramètres biologiques.

#### Conflits d'intérêts

Aucun.

#### Remerciements

Les auteurs remercient l'AMA pour son récent soutien financier sur cette thématique.

#### Références

- [1] Aguilera R, Catlin D, Becchi M, Phillips A, Wang C, Swerdloff R, et al. Screening urine for exogenous testosterone by isotope ratio mass spectrometric analysis of one pregnanediol two androstanediols. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1999;727:95–105.
- [2] AMA. Document technique de l'AMA - Guide au rapport et à l'évaluation de résultats pour la testostérone, l'épitéstostérone, le rapport T/E et autres stéroïdes endogènes, edited by Antidopage AM2004.
- [3] AMA. Document technique de l'AMA - Rapport de résultats à la norandrostérone., edited by Anti-dopage AM2004.
- [4] Arlt W, Callies F, van Vlijmen J, Koehler I, Reincke M, Bidlingmaier M, et al. Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency. *N Engl J Med* 1999;341:1013–20.
- [5] Ayotte C. Suivi des profils de stéroïdes urinaires dans le contrôle antidopage des sportifs. *Rev Francophone des Laboratoires* 2008;401:39–46.
- [6] Baume N, Avois L, Schweizer C, Cardis C, Dvorak J, Cauderay M, et al. [<sup>13</sup>C]Nandrolone excretion in trained athletes: interindividual variability in metabolism. *Clin Chem* 2004;50:355–64.
- [7] Baume N, Avois L, Sottas P, Dvorak J, Cauderay M, Mangin P, et al. Effects of high-intensity exercises on <sup>13</sup>C-nandrolone excretion in trained athletes. *Clin J Sport Med* 2005;15:158–66.
- [8] Baume N, Mahler N, Kamber M, Mangin P, Saugy M. Research of stimulants and anabolic steroids in dietary supplements. *Scand J Med Sci Sports* 2006;16:41–8.
- [9] Becchi M, Aguilera R, Farizon R, Flament M, Casabianca H, James P. Gas chromatography/combustion/isotope-ratio mass spectrometry analysis of urinary steroids to detect misuse of testosterone in sport. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1994;8:304–8.
- [10] Benson S, Lennard C, Maynard P, Roux C. Forensic applications of isotope ratio mass spectrometry - A review. *Forensic Sci Int* 2006;157:1–22.
- [11] Bowers L. Abuse of performance-enhancing drugs in sport. *Ther Drug Monit* 2002;24:178–81.
- [12] Bricout V, Wright F. Update on nandrolone and norsteroids: how endogenous or xenobiotic are these substances? *Eur J Appl Physiol* 2004;92:1–12.
- [13] Bricout V, Wright F, Lagoguey M. Urinary profile of androgen metabolites in a population of sportswomen during the menstrual cycle. *Int J Sports Med* 2003;24:197–202.
- [14] Bronson FH, Matherne CM. Exposure to anabolic-androgenic steroids shortens life span of male mice. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29:615–9.
- [15] Conley A, Corbin C, Hinshelwood M, Liu Z, Simpson E, Ford J, et al. Functional aromatase expression in porcine adrenal gland and testis. *Biol Reprod* 1996;54:497–505.
- [16] Coussieu C. Exploration de la fonction de reproduction. Paris: Egoprime; 2004.
- [17] de Boer D, de Jong E, Maes R, van Rossum J. The problems of oral contraceptives in dope control of anabolic steroids. *Biomed Environ Mass Spectrom* 1988;17:127–8.
- [18] De Cock K, Delbeke F, Van Eenoo P, Desmet N, Roels K, De Backer P. Detection and determination of anabolic steroids in nutritional supplements. *J Pharm Biomed Anal* 2001;25:843–52.
- [19] de Geus B, Delbeke F, Meeusen R, Van Eenoo P, De Meirleir K, Busschaert B. Norandrosterone and noretiocanolone concentration before and after submaximal standardized exercise. *Int J Sports Med* 2004;25:528–32.
- [20] Debruyckere G, Van Peteghem C. Influence of the consumption of meat contaminated with anabolic steroids on doping tests. *Anal Chim Acta* 1993;275:495–6.

- [21] Dehennin L. Secretion by the human testis of epitestosterone, with its sulfoconjugate and precursor androgen 5-androstene-3 beta,17 alpha-diol. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;44:171–7.
- [22] Dehennin L, Jondet M, Scholler R. Androgen and 19-norsteroid profiles in human preovulatory follicles from stimulated cycles: an isotope dilution-mass spectrometric study. *J Steroid Biochem* 1987;26:399–405.
- [23] Dehennin L, Matsumoto A. Long-term administration of testosterone enanthate to normal men: alterations of the urinary profile of androgen metabolites potentially useful for detection of testosterone misuse in sport. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;44:179–89.
- [24] Donike M, Barwald K, Klostermann K, Schanzer W, Zimmermann J. The detection of exogenous testosterone. In: Schanzer WGH, Gotzmann A, Mareck-Engelke U, editors. *In Recent Advances in Doping Analysis*. Köln: Sport und Buch Straub; 1983. p. 293.
- [25] Doody K, Lorence M, Mason J, Simpson E. Expression of messenger ribonucleic acid species encoding steroidogenic enzymes in human follicles and corpora lutea throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1041–5.
- [26] Dray F, Ledru M. Metabolism of epitestosterone. Absence of peripheral interconversion of epitestosterone and testosterone and existence of a production of epitestosterone sulfate in normal adult men. *CR Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* 1966;262:679–81.
- [27] Duclos M. Les effets du dopage sur la fonction de reproduction. *Science et Sports* 2005;20:247–55.
- [28] Enéa C, Boisseau N, Bayle ML, Flament-Waton MM, Grenier-Loustalot MF, Diaz V, et al. Nandrolone excretion in sedentary versus physically trained young women. *Scan J Med Sci Sports* 2008; In press. DOI: 10.1111/j.1600-0838.2008.00877.
- [29] Enea C, Boisseau N, Diaz V, Dugue B. Biological factors and the determination of androgens in female subjects. *Steroids* 2008;73:1203–16.
- [30] Engel L, Alexander J, Wheeler M. Urinary metabolites of administered 19-nortestosterone. *J Biol Chem* 1958;231:159–64.
- [31] Falk O, Palonek E, Bjorkhem I. Effect of ethanol on the ratio between testosterone and epitestosterone in urine. *Clin Chem* 1988;34:1462–4.
- [32] Geyer H, Parr M, Mareck U, Reinhart U, Schrader Y, Schanzer W. Analysis of non-hormonal nutritional supplements for anabolic-androgenic steroids - results of an international study. *Int J Sports Med* 2004;25:124–9.
- [33] Havlikova H, Hill M, Hampl R, Starka L. Sex- and age-related changes in epitestosterone in relation to pregnenolone sulfate and testosterone in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2225–31.
- [34] Hemmersbach P, Hagensen Jetne A, Lund H. Determination of urinary norandrosterone excretion in females during one menstrual cycle by gas chromatography/mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 2006;20:710–7.
- [35] Hemmersbach P, Tomten S, Nilsson S, Oftebro H, Havrevoll O, Oen B, et al. Illegal use of anabolic agents in animal fattening - Consequences for doping analysis, in: Donike M GH, Gotzmann A, Mareck-Engelke U., (Eds.), *Proceedings of the 12th Cologne workshop on dope analysis*, Köln: 1995, p. 185–191.
- [36] Jakobsson J, Ekström L, Inotsume N, Garle M, Lorentzon M, Ohlsson C, et al. Large differences in testosterone excretion in Korean and Swedish men are strongly associated with a UDP-glucuronosyl transferase 2B17 polymorphism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:687–93.
- [37] Jurkowski J, Jones N, Walker C, Younglai E, Sutton J. Ovarian hormonal responses to exercise. *J Appl Physiol* 1978;44:109–14.
- [38] Kao Y, Higashiyama T, Sun X, Okubo T, Yarborough C, Choi I, et al. Catalytic differences between porcine blastocyst and placental aromatase isozymes. *Eur J Biochem* 2000;267:6134–9.
- [39] Karila T, Kosunen V, Leinonen A, Tahtela R, Seppala T. High doses of alcohol increase urinary testosterone-to-epitestosterone ratio in females. *J Chromatography* 1996;687:109–16.
- [40] Kicman A, Brooks R, Collyer S, Cowan D, Nanjee M, Southan G, et al. Criteria to indicate testosterone administration. *Br J Sp Med* 1990;24:253–64.
- [41] Kicman A, Coutts S, Cowan D, Handelsman D, Howe C, Burring S, et al. Adrenal and gonadal contributions to urinary excretion and plasma concentration of epitestosterone in men—effect of adrenal stimulation and implications for detection of testosterone abuse. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50:661–8.
- [42] Kitawaki J, Inoue S, Tamura T, Yamamoto T, Noguchi T, Osawa Y, et al. Increasing aromatase cytochrome P-450 level in human placenta during pregnancy: studied by immunohistochemistry and enzyme-linked immunosorbent assay. *Endocrinology* 1992;130:2751–7.
- [43] Kuhn C. Anabolic steroids. *Recent Prog Horm Res* 2002;57:411–34.
- [44] Laughlin G, Barrett-Connor E, Kritiz-Silverstein D, von Muhlen D. Hysterectomy, oophorectomy, and endogenous sex hormone levels in older women: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:645–51.
- [45] Le Bizec B, Bryand F, Gaudin I, Monteau F, Poulain F, Andre F. Endogenous nandrolone metabolites in human urine. Two-year monitoring of male professional soccer players. *J Anal Toxicol* 2002;26:43–7.
- [46] Le Bizec B, Gaudin I, Monteau F, Andre F, Impens S, De Wasch K, et al. Consequence of boar edible tissue consumption on urinary profiles of nandrolone metabolites. I. Mass spectrometric detection and quantification of 19-norandrosterone and 19-noretiocholanolone in human urine. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2000;14:1058–65.
- [47] Le Bizec B, Monteau F, Gaudin I, Andre F. Evidence for the presence of endogenous 19-norandrosterone in human urine. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1999;723:157–72.
- [48] Lephart E, Simpson E, McPhaul M. Ovarian aromatase cytochrome P-450 mRNA levels correlate with enzyme activity and serum estradiol levels in anestrous, pregnant and lactating rats. *Mol Cell Endocrinol* 1992;85(3):205–14.
- [49] Longhino N, Tajić M, Vedris M, Janković D, Drobnjak P. Urinary excretion of androstenedione, testosterone, epitestosterone and dehydroepiandrosterone during the normal menstrual cycle. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1968;59:644–51.
- [50] Mareck-Engelke U, Flenker U, Schanzer W. Stability of steroid profiles: the influence of oral contraceptives on steroid profiles. In: Schanzer WGH, Gotzmann A, Mareck-Engelke U, editors. *In Recent Advances in Doping Analysis*. Köln: Sport und Buch Straub; 1996. p. 139.
- [51] Mareck-Engelke U, Schultze G, Geyer H, Schänzer W. 19-Norandrosterone in Pregnant Women. In: Schänzer W, Geyer H, Gotzmann A, Mareck-Engelke U, editors. *Recent Advances in Doping Analysis (8)*. Köln: Verlag Sport und Buch Strauss; 2000. p. 145–54.
- [52] Massé R, Laliberté C, Tremblay L, Dugal R. Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of 19-nortestosterone urinary metabolites in man. *Biomed Mass Spectrom* 1985;12:115–21.
- [53] Mastrogiacono I, Toderini D, Bonanni G, Bordin D. Gonadotropin decrease induced by prolonged exercise at about 55 % of the VO<sub>2</sub> max in different phases of the menstrual cycle. *Int J Sports Med* 1990;11:198–203.
- [54] McTernan P, Anwar A, Eggo M, Barnett A, Stewart P, Kumar S. Gender differences in the regulation of P450 aromatase expression and activity in human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:875–81.
- [55] Morville R, Pesquies P, Guezennec C, Serrurier B, Guignard M. Plasma variations in testicular and adrenal androgens during prolonged physical exercise in man. *Ann Endocrinol (Paris)* 1979;40:501–10.
- [56] Perry P, Kutscher E, Lund B, Yates W, Holman T, Demers L. Measures of aggression and mood changes in male weightlifters with and without androgenic anabolic steroid use. *J Forensic Sci* 2003;48:646–51.
- [57] Pucsek JM, Gyore I, Hollosi I, Soos E, Ali Ghasemi NR, Frenkl R. Urine steroid profile of judo competitors affected by acute physical exercises. *J Chromatogr Sci* 2005;43:438–40.
- [58] Raynaud E, Audran M, Pagès J, Fédo C, Brun J, Chanal J, et al. Determination of urinary testosterone and epitestosterone during pubertal development: a cross-sectional study in 141 normal male subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993;38:353–9.
- [59] Reznik Y, Dehennin L, Coffin C, Mahoudeau J, Leymarie P. Urinary nandrolone metabolites of endogenous origin in man: a confirmation by output regulation under human chorionic gonadotropin stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:146–50.
- [60] Reznik Y, Herrou M, Dehennin L, Lemaire M, Leymarie P. Rising plasma levels of 19-nortestosterone throughout pregnancy: determination by radioimmunoassay and validation by gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1086–8.



- [61] Robinson N, Taroni F, Saugy M, Ayotte C, Mangin P, Dvorak J. Detection of nandrolone metabolites in urine after a football game in professional and amateur players: a Bayesian comparison. *Forensic Sci Int* 2001;122: 130–5.
- [62] Sano Y, Suzuki K, Arai K, Okinaga S, Tamaoki B. Changes in enzyme activities related to steroidogenesis in human ovaries during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;52:994–1001.
- [63] Schmitt N, Flament M, Goubault C, Legros P, Grenier-Loustalot M, Denjean A. Nandrolone excretion is not increased by exhaustive exercise in trained athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34:1436–9.
- [64] Schulze J, Lundmark J, Garle M, Skilving I, Ekström L, Rane A. Doping test results dependent on genotype of uridine diphospho-glucuronosyl transferase 2B17, the major enzyme for testosterone glucuronidation. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2500–6.
- [65] Stenman UH, Hotakainen K, Alfthan H. Gonadotropins in doping: pharmacological basis and detection of illicit use. *Br J Pharmacol* 2008;154:569–83.
- [66] Suzuki T, Sasano H, Sasaki H, Fukaya T, Nagura H. Quantitation of P450 aromatase immunoreactivity in human ovary during the menstrual cycle: relationship between the enzyme activity and immunointensity. *J Histochem Cytochem* 1994;42:1565–73.
- [67] Tamm J, Apostolakis M, Voigt K. The effects of ACTH and HCG on the urinary excretion of testosterone in male patients with various endocrine disorders. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1966;53:61–72.
- [68] Tan S, Campbell S, Doyle P, Collins W. Blood flow changes in the ovarian and uterine arteries during the normal menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:625–31.
- [69] Thijssen J, de Boer D, van Heeswijk R, Donker G. Peripheral production of epitestosterone by metabolism of androstenedione and testosterone. Abstract of the 10th International Congress of Endocrinology 1996;2: 876.
- [70] Timon R, Maynar M, Munoz D, Olcina G. Variations in urine excretion of steroid hormones after an acute session and after a 4-week programme of strength training. *Eur J Appl Physiol* 2007;99:65–71.
- [71] Torstveit M, Sundgot-Borgen J. Participation in leanness sports but not training volume is associated with menstrual dysfunction: a national survey of 1276 elite athletes and controls. *Br J Sports Med* 2005;39:141–7.
- [72] Tóth M, Zakár T. Relative binding affinities of testosterone, 19-nortestosterone and their 5 alpha-reduced derivatives to the androgen receptor and to other androgen-binding proteins: a suggested role of 5 alpha-reductive steroid metabolism in the dissociation of "myotropic" and "androgenic" activities of 19-nortestosterone. *J Steroid Biochem* 1982;17:653–60.
- [73] Tremblay M, Copeland J, Van Helder W. Influence of exercise duration on post-exercise steroid hormone responses in trained males. *Eur J Appl Physiol* 2005;94:505–13.
- [74] Van Eenoo P, Delbeke F, de Jong F, De Backer P. Endogenous origin of norandrosterone in female urine: indirect evidence for the production of 19-norsteroids as by-products in the conversion from androgen to estrogen. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001;78:351–7.
- [75] Velardo A, Pantaleoni M, Valerio L, Barini A, Marrama P. Influence of exercise on dehydroepiandrosterone sulphate and delta 4-androstenedione plasma levels in man. *Exp Clin Endocrinol* 1991;97:99–101.
- [76] Wilson H, Lipsett M. Metabolism of epitestosterone in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1966;26:902–14.
- [77] Young J, Bulun S, Agarwal V, Couzinet B, Mendelson C, Simpson E, et al. Aromatase expression in a feminizing adrenocortical tumor. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3173–6.
- [78] Young J, Couzinet B, Nahoul K, Brailly S, Chanson P, Baulieu E, et al. Panhypopituitarism as a model to study the metabolism of dehydroepiandrosterone (DHEA) in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82: 2578–85.