

La traque aux molécules dopantes

Jean-Luc Veuthey est professeur de chimie analytique à l'École de pharmacie de Genève-Lausanne (EPGL). Il mène des travaux de recherche sur des techniques de séparation en phases liquides comme l'électrophorèse capillaire et la chromatographie liquide, méthodes adaptées notamment à l'analyse de médicaments.

On ne peut aborder le sport de haut niveau sans évoquer le problème du dopage qui l'entache malheureusement. Pour gagner une compétition, il faut faire preuve de grandes qualités, tant physiques que mentales. Il arrive que des sportifs se laissent tenter par l'absorption de substances ou par l'utilisation d'actes médicaux (comme oxygéner le sang) permettant de stimuler ou d'augmenter artificiellement leurs capacités.

Devant ce phénomène de société qui touche notamment les très médiatisées compétitions sportives, la lutte antidopage s'est mise en ordre de bataille et ne cesse

Le dopage est la pratique consistant à absorber des substances ou à utiliser des actes médicaux afin d'augmenter artificiellement ses capacités physiques ou mentales.

d'évoluer face à un dopage de plus en plus difficile à déceler. Quel est donc ce phénomène, jusqu'où peut-il aller (cette réflexion est menée dans les [Chapitres d'I. Queval](#) et [J.-F. Toussaint](#)), et jusqu'où peut-on le traquer ?

1 Histoire du dopage, un phénomène de société

Le dopage est une pratique très ancienne : dès l'Antiquité, des manuscrits faisaient état de ce comportement, notamment chez les guerriers. Ceux d'Alexandre le Grand cherchaient à augmenter leurs capacités, mais également à diminuer leur peur...



Figure 1

Le tour de France n'échappe pas au dopage, et ce, depuis les toutes premières courses à la fin du XIX^e siècle.

même chez les guerriers aguerris qu'ils étaient ! D'ailleurs le mot « dopage » vient sans doute du néerlandais « dop », qui désigne une boisson alcoolisée à base de peaux de raisin que les guerriers zoulous en Afrique consommaient pour augmenter leurs prouesses au combat.

Dès le VI^e siècle av. J.-C., les Jeux olympiques furent l'occasion de prises de produits dopants par certains athlètes grecs, comme le racontent également des manuscrits de l'époque. Ces produits provenaient principalement d'extraits de substances animales, le plus souvent du taureau ou d'autres animaux démontrant une grande virilité ; des sauteurs se nourrissaient de viande de chèvre pour « bondir » plus haut... Des molécules extraites de plantes étaient également utilisées telles la strychnine, la caféine ou la cocaïne.

Pendant toute la période s'étalant du Moyen-Âge à la Renaissance, le sport ne fut quasiment pas véhiculé. Il fallut attendre la fin du XIX^e siècle pour que les compéti-

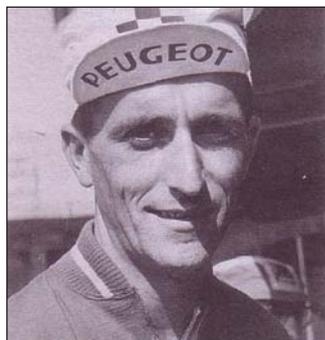
tions sportives se développent avec une forte médiatisation. Avec comme événements sportifs importants les Jeux olympiques, les premières courses cyclistes – comme ce Paris-Roubaix du XIX^e siècle qui vit le décès d'un cycliste dû au dopage (Figure 1).

De tout temps, l'homme a ainsi essayé d'améliorer ses performances, de surpasser ses adversaires, que ce soit par ses capacités propres ou en essayant d'utiliser des moyens « moins propres », autres qu'un entraînement régulier et un travail physique acharné. Après la Seconde Guerre mondiale, la télévision et les journaux prirent une importance considérable dans la société. Un événement choc, à l'origine de débats sur le sport, fut la mort en direct de Tom Simpson en 1967, lors du très médiatisé Tour de France (Figure 2). Ce drame eut un impact majeur sur la politique antidopage qui commença alors à se mettre en place.

Elle se concrétisa dès 1968 avec les premiers contrôles, officialisés par le Comité international olympique (CIO) et pratiqués au cours des Jeux olympiques d'hiver à Grenoble et ceux d'été à Mexico. Par la suite, de nombreux cas de dopage décelés à l'occasion de Jeux olympiques aboutirent à des retraits de médailles. L'un des plus célèbres est celui de l'athlète canadien Ben Johnson, champion du cent mètres, testé positif au stanozolol, un stéroïde anabolisant (voir le paragraphe 2.3.2) aux Jeux olympiques de Séoul en 1988. Le cyclisme est également touché par le fléau ; on se souvient de l'affaire Festina

Figure 2

En 1967, le champion du monde de cyclisme Tom Simpson meurt en pleine ascension du col du Ventoux.



en 1998 où toute l'équipe fut incriminée dans la prise d'EPO (voir le paragraphe 3.2). Le dopage a donc une longue histoire derrière lui et s'est propagé au point de devenir un phénomène de société, suscitant beaucoup d'intérêt auprès du public qui suit les événements sportifs. Relayés par les médias, les cas de dopage lors des compétitions font toujours sensation, mais l'on oublie qu'ils ne concernent pas seulement les sportifs. Alessandro Donati, directeur du centre de recherche sur la méthodologie de l'entraînement au Comité national olympique italien, a récemment décrit les cinq catégories de consommateurs de produits dopants : les sportifs, les culturistes (voir le [Chapitre d'I. Queval](#)), les militaires, les artistes et « les autres »... Plus de 30 millions de personnes dans le monde consommeraient ainsi des produits dopants de toutes catégories, induisant un marché clandestin le plus souvent dirigé par des organismes mafieux. Il faut donc traiter le problème du dopage comme le trafic des

drogues, déclare-t-il. C'est un véritable problème de santé publique. Outre les sportifs, les plus grands consommateurs déclarés, ou en tout cas prouvés, sont les militaires, et ce, depuis l'Antiquité, comme nous l'évoquions précédemment. Un grand nombre de produits dopants ont été testés durant divers conflits, que ce soit pour augmenter la vigilance et éviter l'endormissement, ou encore pour diminuer la peur et augmenter l'agressivité ([voir aussi le Chapitre de C.-Y Guezennec](#)).

2 La lutte antidopage s'organise

2.1. La naissance de l'agence mondiale antidopage

À l'origine, en 1968, la lutte antidopage était principalement menée par le comité olympique. C'est en 1999 qu'a été mise en place l'Agence mondiale antidopage (AMA), « world antidoping agency » ([Encart : « L'Agence mondiale antidopage \(AMA\) »](#)) ; cet organisme international est reconnu par toutes les associations sportives.

L'AGENCE MONDIALE ANTIDOPAGE (AMA)

La mission de l'Agence mondiale antidopage (AMA) est de promouvoir, coordonner et superviser la lutte contre le dopage dans le sport sous toutes ses formes, et à encourager une culture du sport sans dopage.

L'AMA, organisation internationale indépendante, a été fondée en 1999. Elle est composée et financée à parts égales par le Mouvement sportif* et les gouvernements. Ses activités principales comprennent la recherche scientifique, l'éducation, le développement antidopage et la supervision de la conformité au Code mondial antidopage (le Code) – le document harmonisant les règles liées au dopage dans tous les sports et tous les pays. Son siège est à Lausanne (Suisse), et son bureau principal à Montréal (Canada).**

* Le Mouvement sportif est composé de l'ensemble des fédérations sportives et des groupes sportifs qui leur sont affiliés. Parmi les fédérations sportives, on peut trouver : les fédérations unisport olympiques ou non olympiques, les fédérations multisports affinitaires, handicapés, scolaires ou universitaires, etc.

** <http://www.wada-ama.org/>

2.2. La liste des produits dopants et le code antidopage

L'AMA établit chaque année une liste des produits dopants, la « Liste des interdictions », dont la première date de 2004 ; elle recense aujourd'hui près de deux cents composés. Il existe un code antidopage mis à jour et révisé chaque année, contenant de nombreuses informations que tout sportif doit connaître. Il n'a cessé d'évoluer et de s'affiner (*Encart : « Le code antidopage de l'AMA »*) : toute personne sera en faute non seulement si elle a absorbé l'une des substances interdites, mais également si elle refuse de participer à un contrôle, que ce soit en compétition ou hors compétition. Les falsifications de tests sont aussi concernées, et tout acteur d'un trafic de substance dopante ou toute personne de l'entourage du sportif, médecin, entraîneur, coéquipier, ou toute autre personne extérieure à la compétition, qui serait complice de dopage sera condamnée.

LE CODE ANTIDOPAGE DE L'AMA

Le code antidopage de l'AMA a remplacé en 2004 celui du mouvement olympique. Il ne propose plus de définition du dopage, mais le considère comme une violation des dispositions en vigueur, c'est-à-dire que ce qui n'est pas interdit est autorisé :

- Présence d'une substance interdite.
- Usage ou tentative d'usage.
- Refus d'un contrôle.
- Violation des exigences de disponibilité.
- Falsification ou tentative de falsification du contrôle.
- Possession de substances ou méthode interdites.
- Administration ou tentative d'administration de telles substances ou administration de telles méthodes.

2.3. Quels sont les produits dopants les plus utilisés ?

2.3.1. Les drogues récréatives

Les substances les plus fréquemment décelées lors des contrôles sont les *drogues récréatives*, utilisées pour leur effet désinhibant et psychotrope (« qui agit, qui donne une direction (trophe) à l'esprit ou au comportement (psycho) ») : ils agissent sur le système nerveux central (*Encart : « Les drogues récréatives »*). Le football fait généralement l'objet d'une politique antidopage sévère. Or, un nombre relativement important de jeunes joueurs de 17 à 19 ans a été à ce jour contrôlé positif aux drogues récréatives, à croire qu'ils n'avaient pas conscience du risque qu'ils encouraient.

2.3.2. Les stéroïdes anabolisants

Les stéroïdes anabolisants constituent une classe d'hormones similaires à la testostérone, hormone sexuelle mâle humaine. Ils agissent sur la synthèse des protéines dans les cellules, entraînant une augmentation de tissus cellulaires, en particulier dans les muscles. Ainsi, des molécules telles que le stanozolol, le danazol, la nandrolone ou l'anadrol augmentent efficacement la performance musculaire ; elles stimulent également l'agressivité et aident à la récupération. Ces substances, que l'on ne se procure que sur ordonnance pour des besoins médicaux, sont malgré tout utilisées par des sportifs à des fins de dopage, et l'ont surtout été dans les années

LES DROGUES RÉCRÉATIVES

Toutes les drogues récréatives, qu'elles soient d'origine naturelle ou synthétique, sont interdites (hors et en compétition). Quelles sont les plus couramment consommées ?

Les **amphétamines** sont des substances psychotropes aux effets psychostimulants et anorexigènes (coupe-faim). Leurs structures dérivent de la phényléthylamine (**Figure 3**), molécule synthétisée pour la première fois par le chimiste roumain Lazar Edeleanu, en 1887 à l'université de Berlin. Mais elle ne suscita un réel intérêt que plusieurs années après, au moment où l'on cherchait une substance bronchodilatatrice en substitution à l'adrénaline, qu'il était impossible d'administrer par voie orale. En 1920, un chercheur de la compagnie pharmaceutique Lilly découvrit qu'un extrait de plante *Ephedra vulgaris* avait cet effet ; il en isola le principe actif, qu'il nomma « éphédrine » ; sa structure était proche de celle de l'adrénaline (voir le **Chapitre de C.-Y. Gezenec**), mais comportait l'avantage de ne pas se dégrader au cours de la digestion. Cependant, la plante étant rare, l'extraction de l'éphédrine était coûteuse. En 1927, Gordon Alles de l'université de Los Angeles réussit la synthèse chimique d'un produit proche, qu'il appela amphétamine. Elle fut rapidement diffusée sous forme d'inhalateurs et utilisée à différentes fins, notamment par les étudiants qui appréciaient de pouvoir se passer de sommeil en période d'examens. Suite à la mort de Tom Simpson lors du Tour de France de 1967, les amphétamines firent l'objet d'un contrôle plus sévère en Europe et aux États-Unis dans les années 1970, et elles furent répertoriées dans la liste des substances interdites par la convention sur les substances psychotropes de 1971.



Figure 3

Les amphétamines ont des structures chimiques dérivées de la phényléthylamine (structure sur la figure).

La **cocaïne** est un puissant stimulant de la famille des alcaloïdes, extrait de la coca (**Figure 4**). La feuille de coca était utilisée de très longue date par les Indiens des Andes qui la mâchaient



Figure 4

Alcaloïde extrait de la feuille de coca, la cocaïne est un puissant stimulant du système nerveux central.

ou la consommaient en infusion pour les aider à résister à la fatigue et à l'altitude. Un spécimen fut rapporté en Europe par l'apothicaire Laurent de Jussieu en 1750, puis en 1855, le chimiste allemand Friedrich Gaedcke obtint, en réduisant des feuilles de coca, des cristaux d'une substance qu'il nomma erythroxyline. C'est en 1860 que le chimiste Albert Niemann décrivit l'action anesthésique de cette molécule, dont la structure fut élucidée par Wilhem Lossen en 1865 ; ses propriétés psychotropes furent ensuite démontrées sur un modèle animal par le physiologiste Wassili von Anrep en 1879.

La cocaïne était largement employée en ophtalmologie en tant qu'anesthésique local ou dans le traitement de maladies respiratoires. Devenue populaire, elle fut introduite dans des cigarettes et divers produits de consommation tels que des chewing-gums, du vin (le vin Mariani, **Figure 5**), et, pendant une courte période, d'autres boissons comme le Coca-Cola (**Figure 6**). L'apparition de nombreux cas de dépendance et d'intoxication conduisit à une interdiction de son usage non-médical, avec la convention sur les stupéfiants de 1961 convoquée par l'ONU, portant sur la coca, l'opium et le cannabis.

D'un point de vue pharmacologique, la cocaïne agit sur le système nerveux central en bloquant la recapture de la dopamine (pour plus de détail sur les neurotransmetteurs, voir le **Chapitre de C.-Y. Guezennec**).

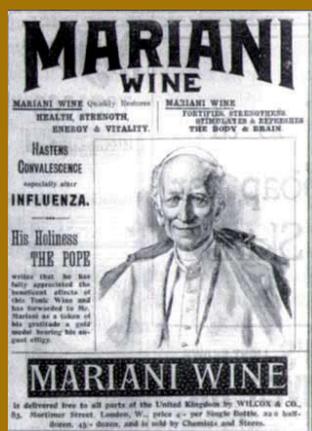


Figure 5

Le vin Mariani contenait de la cocaïne jusqu'en 1957.



Figure 6

Né en 1887, le Coca-Cola tire son nom de sa première composition : la feuille de coca et la noix de kola. Après 1910, l'extrait de feuille de coca a été retiré de la composition de ce soda.

Le **cannabis** (*Cannabis sativa L.*) ou chanvre a longtemps été utilisé par l'homme, que ce soit comme matériau (isolation phonique et thermique dans la construction, textile, papeterie) ou pour ses propriétés psychotropes : selon les doses, il provoque euphorie, détente, plaisir, parfois hallucinations, et peut conduire à une dépendance et un repli sur soi. En tant que narcotique, il provoque un sommeil profond et un état léthargique.

Il existe une soixantaine de molécules cannabinoïdes, selon les espèces de chanvre, dont la plus connue est le tétrahydrocannabinol (*Figure 7*). Certaines sont sécrétées par notre corps. Ces substances chimiques activent nos récepteurs cannabinoïdes, déclenchant la production de dopamine, un neuromodulateur qui contrôle l'émotivité, la motricité, la mémoire et l'attention (voir également le *Chapitre de C.-Y. Guezennec*).

La détention, le commerce, la promotion et la consommation du cannabis sont actuellement interdits dans la majorité des pays du monde, selon la convention unique sur les stupéfiants de 1961.



Figure 7

Le tétrahydrocannabinol, molécule la plus connue du cannabis, est souvent consommé après broyage de feuilles de cannabis et mélangé avec du tabac : on obtient la marijuana.

1970-1980. Aujourd'hui, il est relativement aisé de s'en procurer par Internet (*Figure 8*). Des cas de contrôles positifs aux stéroïdes anabolisants ont été relevés ces dernières années dans le milieu du football : certains joueurs en ont consommé, consciemment ou non, lors de prises de compléments alimentaires pouvant être contaminés par des substances interdites.

2.4. Le dopage évolue

Jusqu'à la fin des années 1970, on se dopait principalement avec des **molécules exogènes**, c'est-à-dire celles que notre corps ne produit pas. Il s'agit généralement

de petites molécules (dont les masses molaires sont de l'ordre de 200 à 500 grammes par mole) telles que les amphétamines ou des dérivés de la morphine, produits stimulants ou analgésiques (*Figure 9*).

Depuis les années 1980, des **molécules endogènes** sont de plus en plus utilisées et brouillent les pistes ; ce sont



Figure 8

Les stéroïdes anabolisants sont les substances les plus utilisées dans le dopage sportif.



Figure 9

Produits stimulants, produits analgésiques... les molécules exogènes ont longtemps été utilisées dans le dopage.



Figure 10

L'apport externe de testostérone chez les sportifs de compétition est interdit depuis 1984.

Figure 11

Des molécules exogènes aux molécules endogènes, et demain, des manipulations génétiques dans le dopage ?

celles que notre corps synthétise déjà, comme la testostérone (Figure 10, voir le paragraphe 2.3.2). Apparaissent également de grosses molécules telles que l'EPO (voir le paragraphe 3.2), l'hormone de croissance (paragraphe 3.3), etc., dont les masses molaires sont supérieures à 10 000 grammes par mole. Ces molécules endogènes compliquent le contrôle antidopage : comment les laboratoires d'analyse vont-ils savoir si une molécule provient de notre organisme ou d'un apport extérieur ?

Ainsi le dopage n'a cessé de se diversifier, d'évoluer (Figure 11), de jouer de la confusion entre ce qui provient de notre corps et ce qui est apporté artificiellement. Au point de se demander si nous en arriverons aux manipulations génétiques (à ce sujet, voir le Chapitre d'I. Queval) ? Ce que l'on a pu faire avec des manipulations génétiques sur des organismes vivants, le fera-t-on chez l'homme afin de créer des super athlètes ?

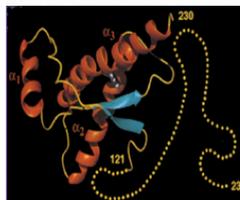
3 L'analyse du dopage

Afin d'asseoir et d'appliquer la législation sur le dopage, il était nécessaire de développer la connaissance des produits et de pouvoir les détecter, mais aussi détecter les molécules issues de leurs transformations dans l'organisme, ce que l'on appelle les métabolites. Pour faire face aux pratiques de dopage qui ne cessent d'évoluer, les laboratoires ont besoin de méthodes d'analyse séparative et de détection de plus en plus performantes et donc plus coûteuses, et de personnel de plus en plus compétent. Les responsabilités de l'AMA sont larges et touchent non seulement la législation, mais aussi les domaines de la recherche scientifique et de la médecine ; elle accrédite des laboratoires antidopage hautement spécialisés et accorde des autorisations d'usage à des fins thérapeutiques. Il n'existe que quelques laboratoires antidopage dans le monde : à Châtenay-Malabry en France,

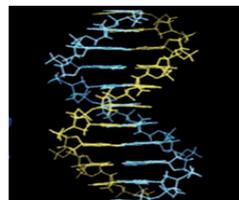
Hier ———> Aujourd'hui et Demain...



Petites molécules pharmaceutiques exogènes



Petites molécules, molécules endogènes, protéines...
Ex : testostérone, EPO



Manipulations génétiques ?



à Barcelone, à Cologne, à Lausanne... tous agréés par l'AMA, ce sont des laboratoires utilisant les techniques les plus sensibles et les plus spécialisées, mises au point pour l'analyse chimique (Figure 12).

3.1. Les techniques d'analyse

3.1.1. Séparer les petites molécules : la chromatographie

Lors d'un test de dopage, on analyse soit des prélèvements sanguins, soit de l'urine. Quelque soit la matrice biologique à analyser, les substances à détecter s'y trouvent en faibles, voire très faibles concentrations dans des mélanges complexes contenant des sels, de l'eau, souvent des protéines ou autres grosses molécules qui rendent le tri difficile.

Différentes méthodes sont utilisées, parmi lesquelles celles utilisant la chromatographie, technique qui n'a cessé de se répandre et de se perfectionner depuis son invention en 1901 par le botaniste russe Mikhail Semyonovich Tswett (Encart : « La chromatographie »). Aujourd'hui, la technique est largement utilisée dans les

laboratoires d'analyse, que ce soit pour vérifier la qualité d'un produit, lors de contrôles de matrices environnementales, lors de tests cliniques (mesure des taux de glucose, de cholestérol, de globules rouges, etc.), lors d'investigations en police scientifique ou lors d'analyses antidopage.

3.1.2. Identifier les produits dopants dans un mélange

La difficulté majeure des analyses antidopage réside dans l'identification d'une molécule parmi une multitude – parfois plusieurs centaines, et généralement en très faible concentration ! Il s'agit donc de disposer de puissants détecteurs. Des avancées spectaculaires ont été réalisées ces vingt dernières années dans les techniques de détection. Il est en outre possible aujourd'hui de coupler des chromatographes avec des spectromètres de masse (Encart : « La spectrométrie de masse »). Ces appareils d'analyse permettent d'obtenir les structures des composés analysés, grâce à des méthodes élaborées pour déchiffrer des spectres de masse complexes comme des sortes d'empreintes de

Figure 12

Dans des laboratoires à la pointe de la recherche scientifique et technologique, les experts traquent le dopage !

LA CHROMATOGRAPHIE

Au cours de ses recherches sur les pigments végétaux en 1901, le botaniste Mikhail Semyonovich Tswett (*Figure 13*) voulait séparer les pigments d'une fleur en la dissolvant dans de l'éthanol et il fit percoler le mélange obtenu au travers d'un support solide (du carbonate de calcium) : les pigments, chlorophylle et carotène, en sortirent purs l'un après l'autre. C'est ainsi qu'il inventa la « chromatographie ». Ce terme vient du grec *khroma* = couleur, et signifie « écriture des couleurs ». On remarque aussi que *tswett* est le mot russe pour « couleur ».

La première description imprimée de cette méthode séparative paraît en 1903, dans les comptes rendus de la Société des naturalistes de Varsovie, section de biologie. La première utilisation du terme de « chromatographie » apparaît en 1906 dans deux articles sur la chlorophylle dans le journal de botanique de langue allemande *Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft*. En 1907, il fait la démonstration de l'utilité de son chromatographe devant la Société botanique allemande.



Figure 13

Mikhail Semyonovich Tswett (1872-1919)
a inventé la chromatographie.

Aujourd'hui, la chromatographie permet d'effectuer des analyses qualitatives et quantitatives, grâce à un détecteur. L'échantillon de mélange étudié est entraîné par un courant appelé « phase mobile » (un liquide, un gaz ou un fluide supercritique) le long d'un support solide : la « phase solide » (du papier, de la gélatine, un polymère, etc.). Chaque constituant du mélange se déplace à une vitesse propre dépendant de son affinité avec chacune de ces deux phases : les différents constituants seront donc séparés par différence de *temps de rétention* par la phase stationnaire (*Figure 14*).

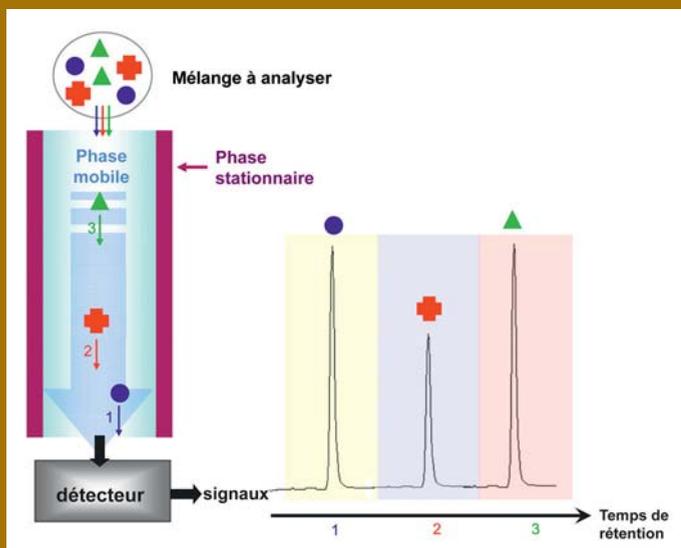


Figure 14

Entraînées par la phase mobile, les molécules migrent le long de la colonne de phase stationnaire et en sortent à une vitesse différente selon leurs propriétés : plus une molécule s'« accroche » à la colonne et/ou a peu d'affinité pour la phase mobile, plus elle tardera à sortir. À la fin de l'opération, toutes les molécules sont recueillies séparément et un détecteur donne des signaux caractéristiques que l'on peut analyser : le chromatogramme.

LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE (SM)

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse conçue par le physicien britannique Joseph John Thomson (*Figure 15*) qui permet de détecter et d'identifier des molécules ou fragments de molécules par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). La spectrométrie de masse est utilisée dans pratiquement tous les domaines scientifiques : physique, astrophysique, chimie en phase gazeuse, chimie organique, dosages, biologie, médecine...



Figure 15

Découvreur des électrons et des isotopes, le physicien Joseph John Thomson (1856-1940) est l'inventeur de la spectrométrie de masse.

Un spectromètre de masse comporte une **source d'ions** (utilisant par exemple un faisceau d'électrons) suivie d'un ou plusieurs **analyseurs** qui séparent les ions obtenus selon leur rapport m/z , d'un **détecteur** qui compte les ions et amplifie le signal, et enfin d'un système informatique pour traiter ce signal. Le résultat obtenu est un spectre de masse représentant les rapports m/z (ou m/q , q représentant la charge) des ions détectés selon l'axe des abscisses et l'abondance relative de ces ions selon l'axe des ordonnées (*Figure 16*).

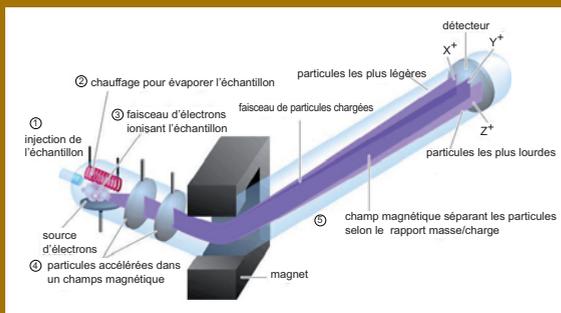


Figure 16

Les spectromètres de masse sont des instruments d'analyse puissants qui, couplés à la chromatographie, permettent des analyses fines de mélanges complexes, notamment lors d'un contrôle antidopage.

D'immenses progrès ont été effectués depuis les années 1950-1960, où l'utilisation des spectromètres de masse s'est développée dans de nombreux domaines.

Les progrès ont concerné particulièrement les sources d'ions et les analyseurs, qui ont été adaptés et transformés de manière à pouvoir traiter des besoins de plus en plus variés avec des machines dédiées à tel ou tel type de problème. On connaît maintenant six grands types de sources, dont l'objectif est toujours de passer de la molécule à l'ion qui, seul, est accéléré et détectable. Cette ionisation, étape initiale incontournable, peut être très difficile dans le cas de molécules de grande taille, comme les molécules biologiques, protéines, polysaccharides,

etc., qui se vaporisent difficilement et sont facilement dégradées dans la source. Suivant le type d'ionisation utilisé, un spectre de masse peut être caractéristique d'une molécule. En effet, la molécule ionisée est fragmentée de manière très spécifique par des réactions et dans des conditions d'analyse désormais très bien connues. Ainsi en comparant le spectre avec des banques de spectres, il est possible d'identifier la molécule. Si la molécule est trop dégradée, notamment dans la source d'ionisation, le spectre perd sa spécificité et n'est plus interprétable.

Les analyseurs sont également très variés, plus ou moins complexes, selon le type d'analyse, quadri ou octopolaires, temps de vol, FT-ICR... Un progrès important a été réalisé avec le couplage SM/SM de deux ou plus spectromètres de masse.

Figure 17

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode d'analyse usuellement utilisée par les chimistes pour déterminer la structure d'un composé. Mais elle rencontre des limites lorsque l'on a affaire à un mélange complexe, avec de faibles concentrations de produit à caractériser. Photo : spectromètre RMN 800 MHz utilisé en biologie structurale.



molécules, que l'on retrouve dans des bases de données préalablement établies.

On peut aussi coupler la chromatographie avec la résonance magnétique nucléaire⁴² (RMN, **Figure 17**), outil idéal des chimistes pour déterminer directement la structure d'un composé ; grâce à l'application d'un champ magnétique puissant, les spectromètres RMN « réveillent » les noyaux des atomes d'hydrogène

42. La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique d'analyse chimique et structurale non destructive et très utilisée en physique, chimie ou biochimie.

constitutifs de quasiment toutes les molécules, notamment les molécules biologiques comme les protéines, les polysaccharides⁴³... On peut aussi révéler la présence des atomes de carbone et savoir quels sont leurs hydrogènes voisins, voire même établir les structures en trois dimensions de grosses molécules comme les protéines. C'est plus exactement l'isotope⁴⁴ 13 du carbone qui est réveillé sous l'effet du champ magnétique. Cela a permis, dans certains cas, de différencier les molécules endogènes des exogènes (comme les stéroïdes). Mais la RMN souffre encore de problèmes

43. Les polysaccharides (ou polysides) sont des polymères constitués par l'enchaînement de plusieurs unités appelées « oses », molécules de la famille des sucres (comme le glucose, le fructose, le mannose etc.). Les polysaccharides les plus répandus du règne végétal sont la cellulose (voir le **Chapitre d'Y. Rémond et J.-F. Caron**) et l'amidon, tous deux polymères du glucose.

44. Deux atomes sont dits isotopes s'ils ont le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différent (un atome est constitué d'un noyau – comportant neutrons et protons – autour duquel gravite son cortège d'électrons).

de sensibilité, contrairement à la spectrométrie de masse. Cette dernière a également connu un essor considérable ces dix dernières années, notamment avec l'essor de la protéomique, cette science qui étudie l'ensemble des protéines dans notre organisme (voir l'ouvrage *La chimie et la santé, au service de l'homme* [2]), mais son avantage réside dans sa grande sensibilité d'analyse.

Il est effectivement important de disposer d'appareils d'analyse assez sensibles pour détecter des concentrations toujours très faibles de produits dopants, qui sont non seulement de plus en plus variés, mais de plus en plus actifs et sont donc absorbés à des doses de plus en plus faibles pour les mêmes effets recherchés. Il s'agit souvent de détecter des traces de composés, de l'ordre du ppb (partie par milliard), ou l'on peut aussi dire du milliardième de gramme par millilitre ; par analogie, c'est comme détecter un morceau de sucre dissous dans une piscine olympique... Il faut non seulement être capable de dire que la piscine contient du sucre, mais il faut aussi pouvoir déterminer si l'on y

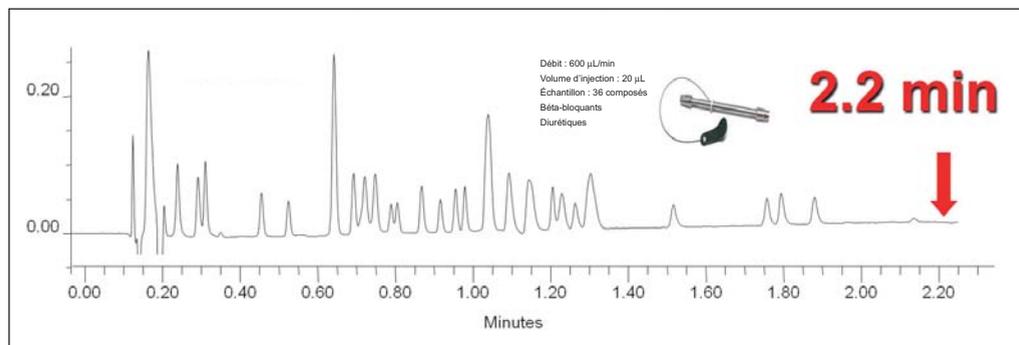
a dissous un, deux ou trois morceaux !

Enfin, les analyses doivent souvent répondre à un troisième besoin : la rapidité. Alors que dans le football, les joueurs ne disputent les matchs que tous les trois à quatre jours, laissant largement le temps pour effectuer les tests entre deux événements, ce n'est pas le cas pour le Tour de France où les participants courent tous les jours. Or, il faut prendre le temps d'effectuer les deux séries d'analyses que requiert tout contrôle antidopage : une première série visant à détecter la présence éventuelle d'un ou plusieurs composés de la Liste des interdictions (le criblage), puis une analyse confirmatoire.

Les techniques et méthodes chromatographiques ont connu un développement considérable en matière de rapidité, puisque l'analyse complexe qui nécessitait 24 heures dans les années 1945, demandait 25 minutes dans les années 1980-1990, et se réduit aujourd'hui à 2-3 minutes pour obtenir la même qualité de séparation et donc l'identification rapide des composés recherchés (Figure 18). En moins de six

Figure 18

Un échantillon d'urine est analysé lors de la première étape du contrôle : au cours du criblage rapide, plusieurs centaines de molécules passent en chromatographie et l'on doit traquer les agents dopants présents sous forme de traces dans ces mélanges complexes !



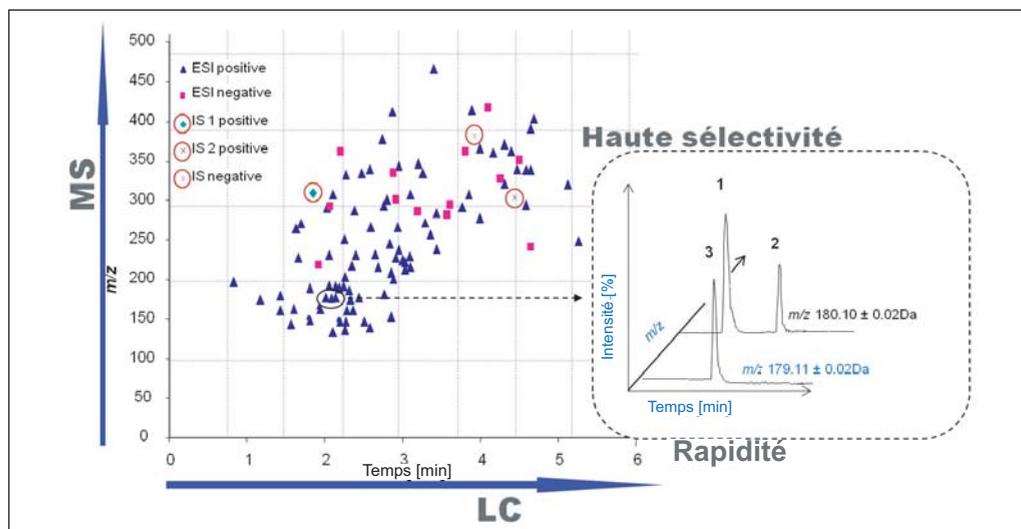


Figure 19

L'analyse par chromatographie en phase liquide (« liquid chromatography », LC) ultra performante couplée à la spectrométrie de masse (« mass spectrometry », MS) permet d'obtenir des spectres en 2D ou 3D qui facilitent leur exploitation [1].

minutes, on est maintenant capable d'analyser plus de cent cinquante composés et, en mode criblage, de détecter la présence ou l'absence d'un produit dopant de la Liste des interdictions. Le laboratoire d'analyse du dopage de Lausanne combine ainsi la chromatographie ultra rapide avec la spectrométrie de masse afin d'obtenir des graphiques où l'on peut lire les masses des molécules en fonction de leurs temps de rétention (Figure 19).

Une fois que l'on a détecté la présence de produits dopants, on réalise une analyse confirmatoire, précaution nécessaire pour éviter les faux positifs. Il est même possible de garder des échantillons un à deux ans après l'évènement sportif pour les analyser de nouveau. Dans tous les cas, il est toujours possible de revenir sur des résultats en réexaminant les spectres archivés, surtout si l'on travaille avec un analyseur à temps de vol (voir l'Encart : « La spectrométrie de masse »).

3.1.3. Analyser des grosses molécules : l'électrophorèse

La chromatographie est peu adaptée à l'analyse de grosses molécules car elles migrent difficilement au travers d'un support solide, ne permettant pas de bonnes séparations, contrairement à l'électrophorèse (Encart : « L'électrophorèse »). Couramment utilisée par les biologistes et biochimistes, cette méthode d'analyse a montré une grande efficacité dans les études menées sur le décodage des génomes, notamment du génome humain, ainsi que dans l'analyse de l'ensemble des protéines humaines (le protéome : à propos du génome et du protéome, voir l'ouvrage *La chimie et la santé, au service de l'homme* [2]).

3.2. Analyse de l'EPO

L'EPO, ou érythropoïétine, est une hormone de nature glycoprotéique (constituée d'une partie protéique liée à un glucide) (Figure 22). Sécrétée par les reins et le foie, elle stimule la production de

L'ÉLECTROPHORÈSE

Méthode analytique de séparation développée en 1937 par le biochimiste suédois Arne Wilhelm Kaurin Tiselius (Figure 20), l'électrophorèse consiste à séparer les éléments d'un mélange en fonction de leurs charges électriques et, pour des charges électriques identiques, en fonction de leurs tailles.

Dans une solution appelée électrolyte, les espèces chargées (ions) se déplacent sous l'effet d'un courant produit par un champ électrique appliqué entre deux électrodes, l'anode et la cathode (Figure 21). Les ions vont migrer plus ou moins rapidement, en fonction de leurs tailles et de leurs charges respectives : les espèces chargées positivement (cations) migrent vers la cathode, tandis que celles chargées négativement (anions) migrent vers l'anode. C'est ainsi qu'elles sont séparées les unes des autres ; puis révélées au moyen d'une technique appropriée (Figure 21).



Figure 20

Arne Wilhelm Kaurin Tiselius (1902-1971), prix Nobel de chimie en 1948, est l'inventeur de l'électrophorèse.

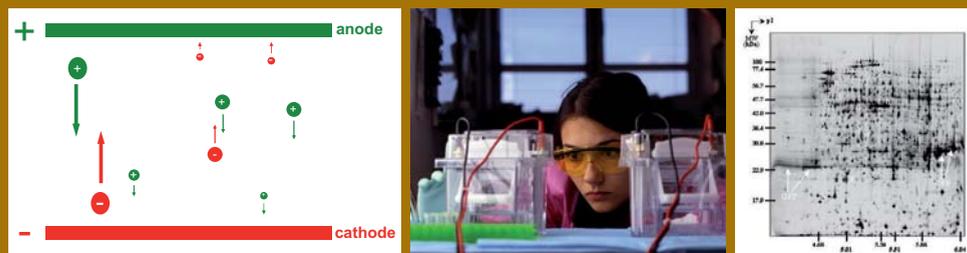


Figure 21

Au cours d'une analyse par électrophorèse, des espèces chargées migrent à travers une solution d'électrolyte, sous l'effet d'un champ électrique appliqué entre l'anode et la cathode. Elles sont séparées en fonction de leur charge et de leur masse. En combinant deux techniques électrophorétiques, il est possible d'obtenir une séparation en deux dimensions.

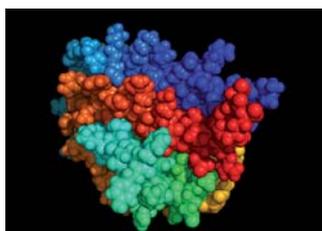


Figure 22

L'EPO ou érythropoïétine est une grosse molécule biologique comportant une partie protéique de 165 acides aminés.



Figure 23

L'hormone de croissance humaine est une protéine comportant 191 acides aminés.

Figure 24

Tyler Hamilton a mis un terme à sa carrière suite à plusieurs contrôles positifs au dopage.



globules rouges par la moelle osseuse, augmentant ainsi la capacité respiratoire : nous la sécrétions dès que l'oxygène sanguin diminue.

Depuis 1988, une molécule de synthèse ayant la même action que l'EPO endogène, l'EPO recombinante, est disponible et a été utilisée par des sportifs, notamment dans le cyclisme (affaire Festina), la natation ou le ski de fond, pour augmenter la capacité respiratoire et donc l'endurance, et faciliter la récupération.

L'électrophorèse est une méthode de choix pour détecter l'EPO, molécule de masse molaire 37 000 grammes par mole. Depuis juin 2000, le laboratoire de Châtenay-Malabry a développé une méthode d'analyse à l'occasion des Jeux olympiques de Sydney, encore appliquée aujourd'hui : elle permet de détecter l'EPO recombinante et de la distinguer de l'EPO endogène [3]. Mais d'autres types d'EPO recombinantes sont conçus de plus en plus semblables à l'EPO humaine pour mieux brouiller les analyses !

3.3. Analyse de l'hormone de croissance

Une autre grosse molécule utilisée dans le dopage est l'hormone de croissance (Figure 23). Cette protéine est sécrétée par l'hypophyse et stimule la croissance chez les humains et autres vertébrés. Elle peut être synthétisée artificiellement (elle est alors appelée somatotropine). Utilisée comme produit dopant, elle augmente la masse musculaire et aide à la récupération ; mais elle présente des effets secondaires en provoquant

une augmentation de la taille des os.

Sa détection est difficile car il faut la différencier de l'hormone de croissance naturellement sécrétée par l'organisme. Le premier test de dépistage à grande échelle a été effectué lors des Jeux olympiques d'Athènes en 2004 ; il utilise l'électrophorèse capillaire (les ions migrent à l'intérieur d'un tube capillaire, à peine plus gros qu'un cheveu) couplée à un spectromètre de masse.

3.4. Déceler le dopage par transfusion sanguine

La *transfusion autologue* est une technique qui consiste à se faire prélever du sang dans le but de se le réinjecter, beaucoup plus tard si nécessaire, après congélation. Ainsi, lorsque le sportif aura effectué son prélèvement, il va synthétiser du sang pour remplacer celui qui a été prélevé. Quand on lui réinjecte son propre sang, qui contiendra davantage de globules rouges (qui sont les transporteurs d'oxygène dans le sang), ce sera comme s'il était en pleine possession de ses moyens, capable de transporter une plus grande quantité de l'oxygène nécessaire pour un effort soutenu ou à haute altitude. Cette méthode a été très utilisée, notamment lors des Jeux olympiques d'été de 1984 aux États-Unis. Elle est difficile voire impossible à détecter.

Lors d'une *transfusion homologe*, le sang provient d'un donneur humain dont le groupe sanguin est compatible avec celui du receveur. Ces cas de dopage sont

plus faciles à déceler, cela a été le cas pour le coureur cycliste américain Tyler Hamilton (*Figure 24*). Les tests font intervenir des interactions antigènes-anticorps qui permettent de mettre rapidement en évidence une prise de sang externe. En effet, même du sang compatible mais provenant d'un autre individu possède des caractéristiques, qui comme dans le cas de la transplantation d'un organe, produit des réactions de type immunitaire.

4 Le dopage et demain ?

4.1. Traquer le dopage : de plus en plus complexe

Si les techniques d'analyse pour le contrôle antidopage ont progressé, le dopage lui-même devient de plus en plus complexe et joue à cache-cache avec les laboratoires et les autorités. Molécules plus grosses de type biologique, molécules endogènes, transfusions sanguines autologues... les difficultés d'analyse sont nombreuses et la frontière entre le naturel et le synthétique est parfois indétectable. On peut craindre de voir apparaître bientôt des manipulations génétiques à des fins de dopage. Les techniques de la génétique, qui, appliquées à des plantes ou des animaux, ont permis de nombreux progrès notamment dans l'agronomie (voir l'ouvrage *La chimie et l'alimentation, pour le bien-être de l'homme* [4]), pourraient en inspirer plus d'un qui serait tenté de les appliquer à l'homme pour augmenter ses performances sportives...

Parmi les exploits réalisés sur des animaux, on peut citer la création d'une race de bœuf dans les années 1990, le Bleu-Blanc-Belge (*Figure 25*), qui possède un gène lui permettant de devenir déficient en myostatine, une protéine qui régule la croissance des muscles. L'absence de cette protéine conduit à une croissance hors norme de l'animal (sans effet secondaire décelé à ce jour). Mais la déficience en myostatine peut être naturelle et créer spontanément des surhommes, comme en témoigne le cas de Liam Hoekstra, né en 2005 avec une déficience de ce gène, issue d'une mutation génétique rarissime qui inhibe sa production de myostatine.

Chez l'homme, on assiste de plus en plus à des phénomènes qui ouvrent la porte à de sérieuses interrogations sur de nombreux plans, et tout particulièrement celui de l'éthique (voir le *Chapitre d'après la conférence de D. Masseglia*). Ce fut le cas aux Jeux olympiques d'hiver de 2006 à Turin, avec une athlète inscrite aux Jeux féminins alors qu'elle avait un gène de caractère masculin. De même, un test de féminité pratiqué sur l'indienne Santhi Soundarajan s'est révélé anormal et l'athlète a été privée de sa médaille d'argent du 800 mètres des Jeux asiatiques de Doha.

5 Quel futur pour la lutte antidopage ?

Malgré les performances de plus en plus remarquables, en termes de spécificité, de sensibilité et de rapidité des techniques d'analyse, le dopage

Figure 25

Le Blanc-Bleu-Belge, un bœuf génétiquement créé pour être particulièrement musclé !



est de plus en plus difficile à dépister, souvent planifié scientifiquement chez les professionnels, profitant des failles dans les protocoles, ou utilisant des substances ou des méthodes de plus en plus transparentes pour les appareils, avec des concentrations de plus en plus faibles. Face à ces difficultés, une nouvelle stratégie a été mise en place par l'AMA, consistant non plus à détecter un produit dopant (ou ses métabolites), ponctuellement pendant ou hors compétition mais à en suivre régulièrement et systématiquement les effets en mesurant les variations qu'il induit dans l'organisme sur des marqueurs dits indirects. En effet, chaque métabolisme et chaque système endocrinien étant unique et caractéristique d'un individu, la seule comparaison avec une norme établie à partir de la communauté sportive dans son ensemble, peut conduire, par exemple, à des accusations de dopage infondées. Pour cela, l'AMA a mis en place un programme de suivi longitudinal et systématique au cours duquel ces marqueurs, qui sont des variables pertinentes et déterminantes d'une classe de subs-

tances en fonction de l'objectif recherché (module hématologique ou urinaire) seront systématiquement recherchés. La collecte et le suivi des valeurs mesurées constituent alors le profil du sportif, permettant la constitution du *Passeport biologique de l'Athlète*, en vigueur depuis décembre 2009 (**Encart : « Le concept de passeport biologique »**).

Mais jusqu'à quel point peut-on entrer dans la sphère privée de l'athlète ? On note qu'actuellement, les footballeurs en Ligue des champions de l'UEFA⁴⁵ sont déjà tenus de signaler leur localisation 365 jours par an, afin d'être joignables en permanence en moins de trois heures pour pouvoir être testés aux molécules dopantes à tout instant ou presque !

Certains vont jusqu'à proposer de légaliser et médicaliser le dopage, en disant qu'après tout, on n'y échappera pas (**Encart : « Légaliser le dopage ? »**). Or, il y a lieu d'être prudent à ce sujet, car il y a un problème éthique fondamental [5].

45. UEFA : Union des associations européennes de football.

LÉGALISER LE DOPAGE ?

« Mon point de vue, c'est que s'il est utilisé de manière adéquate par un médecin ou sous l'autorité de la recherche scientifique, même un médicament comme l'EPO peut trouver un équilibre dans son emploi. Je ne comprends pas les instances de la lutte antidopage qui disent qu'elles veulent rendre les choses équitables, car le sport n'est, par essence, pas un terrain de jeu équitable. Si vous voulez rendre les choses équitables, alors tout doit devenir légal... »

Propos du skieur Bode Miller, 2005

LE CONCEPT DE PASSEPORT BIOLOGIQUE

Ce concept a initialement été proposé par l'Agence mondiale antidopage (AMA) en 2002. L'approche du *contrôle du dopage* basée sur la détection de *marqueurs* d'une substance ou de ses *métabolites* demeure efficace et perdurera. Cependant, cette approche atteint ses limites lorsqu'un sportif fait usage de substances illicites de façon intermittente ou à faibles doses. Il se pourrait que ces substances ne soient pas détectées, en dépit de la robustesse des programmes de contrôle du dopage hors compétition. La nature des substances interdites, plus particulièrement les substances endogènes, et les méthodes de plus en plus sophistiquées de prise de substances auxquelles les sportifs ont recours soulignent le besoin de concevoir une nouvelle approche méthodologique.

Le concept de passeport repose sur la connaissance des effets principaux ou secondaires des médicaments dans un cadre médical. Un suivi régulier des données de contrôle du dopage facilite la détection indirecte de substances et de méthodes dopantes sur une base longitudinale. Dans ce contexte, ce n'est pas la substance en soi qui est détectée, mais ses effets. En règle générale, les effets d'un médicament sont perceptibles et détectables plus longtemps dans l'organisme que la substance elle-même, laquelle peut être excrétée rapidement.

Pour mettre en place un programme de suivi longitudinal systématique et robuste, les variables pertinentes et déterminantes d'une classe de substances (par exemple les substances pouvant améliorer le transfert d'oxygène, comme l'EPO) doivent être identifiées et vérifiées régulièrement chez le sportif. Les valeurs correspondant à ces variables constitueront le profil individuel et longitudinal du sportif. Ces profils sont la pierre angulaire du **Passeport biologique de l'Athlète** dont il devient sa propre référence, contrairement à l'approche traditionnelle, qui compare les variables d'un individu donné avec celles, moyennées, de la communauté sportive en général. En effet, chaque personne est unique, avec un métabolisme particulier, et ses caractéristiques biologiques peuvent, sans qu'il y ait eu dopage, s'éloigner de la norme définie statistiquement.

Les variables hématologiques seront évaluées afin de confirmer une éventuelle manipulation sanguine ou l'amélioration de la performance aérobique. Les marqueurs de stéroïdes dans l'urine pourront être utilisés pour détecter l'usage de stéroïdes anabolisants.

Le mode de collecte des données, leur traitement tant biologique que mathématique, leur contrôle, etc., sont prévus de manière très précise et standardisée, comme l'est le contrôle antidopage, afin de parer à toute possibilité de dérive.

Exemple : le **module hématologique**

Le module hématologique doit avoir la sensibilité permettant de reconnaître les différentes méthodes de dopage, dont l'amélioration du transfert d'oxygène (y compris l'abus d'érythropoïétine recombinante et toute forme de transfusion ou de manipulation sanguine). Les marqueurs suivants, connus et dont le dosage est au point, sont :

HTC (hématocrite) ; HCB (hémoglobine [Hb]) ; RBC (numération érythrocytaire ; RET% (pourcentage de réticulocytes) ; RET# (numération des réticulocytes) ; MCV (volume corpusculaire moyen VCM) ; MCH (hémoglobine corpusculaire moyenne TCMH) ; MCHC (concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine) ; OFF-hr-Score (index de stimulation score du profil sanguin).

D'après le *Code mondial antidopage*,

Lignes directrices opérationnelles pour le Passeport Biologique de l'Athlète et liste des exigences. Janvier 2010.

Une course sans fin ?

Course contre la montre, course au record, course à la performance, dépassement de soi, dans le sport comme dans la vie personnelle ou professionnelle... jusqu'où ira le dopage ? Utilisant des structures chimiques et des méthodes de plus en plus variées, complexes et indétectables, le dopage tente continuellement d'échapper aux contrôles. La chimie analytique, elle-même engagée dans une course à la performance, se trouve aussi dans l'obligation de se dépasser. Les manières de créer des inégalités entre individus dans le sport sont de plus en plus subtiles, si bien que l'on en revient finalement à une question fondamentale : où commence le dopage ? Et jusqu'à quel point des inégalités peuvent-elles être naturelles ou artificielles, justes ou injustes, alors même que les compétitions sportives sont un lieu de rassemblement d'individus d'exception dans toute leur diversité ? Le débat est loin d'être clos, comme en témoignent les chapitres de cet ouvrage, notamment ceux d'**I. Queval**, **D. Maseglia** et **J.-F. Toussaint**. L'instauration d'un Passeport biologique de l'Athlète rendra à chacun son droit à être différent de l'autre.

Bibliographie

[1] a) Badoud F., Grata E., Perrenoud L., Avois L., Saugy M., Rudaz S., Veuthey J.-L. (2009). Fast analysis of doping agents in urine by ultra-high-pressure liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry I. Screening analysis. *Journal of Chromatography A*, **1216** : 4423-4433 ; b) Badoud F., Grata E., Perrenoud L., Saugy M.,

Rudaz S., Veuthey J.-L. (2010). Fast analysis of doping agent in urine by ultra-high-pressure liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry. II: Confirmatory analysis. *Journal of Chromatography A*, **1217** : 4109-4119.

[2] *La chimie et la santé, au service de l'homme*, coordonné par Minh-Thu Dinh-Audouin, Rose Agnès Jacquesy, Danièle Olivier et Paul Rigny, EDP Sciences, 2009.

[3] Lasne F., de Ceaurriz J. (2000). Recombinant erythropoietin in urine. *Nature*, **405** : 635.

[4] *La chimie et l'alimentation, pour le bien-être de l'homme*, coordonné par Minh-Thu Dinh-Audouin, Rose Agnès Jacquesy, Danièle Olivier et Paul Rigny, EDP Sciences, 2010.

[5] Kayser B., Mauron A., Miah A. (2005). Legalisation of performance enhancing drugs. *Lancet*, **366** : S21.

Crédits photographiques

Fig. 3 : Amphétamine : Licence CC-BY-SA-3.0., Christian « VisualBeo » Horvat.

Fig. 19 : D'après Badoud P. *et al.* (2009). *J. Chromatography*, **1216** : 4423-4433.

Fig. 24 : Licence CC-BY-2.0, Rob Annis, Indianapolis, USA.

Fig. 25 : Licence CC-BY-2.0, Agriflanders.