

MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CULTURA  
Consejo Superior de Deportes

# *CONTROL DEL DOPAJE*

## *Aspectos analíticos de los esteroides anabolizantes*

17

INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DEL DEPORTE

*icd*

# **CONTROL DEL DOPAJE**

*Aspectos analíticos de los esteroides  
anabolizantes*

**17**

***icd***

## SERIE ICd DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DEL DEPORTE

La Serie ICd, de Investigación en Ciencias del Deporte, es una publicación del Consejo Superior de Deportes que pretende satisfacer la demanda de información científica especializada, difundiendo los trabajos que, por su calidad, actualidad y rigor científico, pueden ser de interés para los especialistas.

Los trabajos que se publican en ICd son seleccionados por un Comité Científico, están sujetos a la «Normativa General para la presentación de trabajos» del Programa de publicaciones del Consejo Superior de Deportes y, en la mayoría de los casos, son producto de las becas y ayudas a la investigación que concede el C.S.D.

“Los artículos publicados en la serie ICd se encuentran referenciados en la base de datos bibliográfica sobre deporte ATLANTES, fruto de la colaboración entre distintos centros de documentación e información y bibliotecas deportivas españolas e iberoamericanas. Esta nueva base de datos se encuentra en el CD-ROM de Silver Platter junto a SPORTDISCUS y HERACLES y también puede consultarse a través de Internet: (<http://www.uida.es/basedatos/atlantis.html>)”.

### **Director Editorial:**

José Luis Hernández Vázquez

### **Coordinación Editorial:**

Miguel Angel Gutiérrez Medina

### **Consultores científicos:**

Fernando Andrés Pérez, Alicia Canda, Javier Durán, Amelia Ferro, Mónica de la Fuente, Manuel García Ferrando, Esteban González, Rafael Manso, Agustín Meléndez, Cecilia Rodríguez Bueno, Ramiro Merino Merchán, Cristóbal Moreno Palos, Enrique Navarro Cabello, Silvio Rubio, Luis M. Ruiz Pérez, Fernando Sánchez Bañuelos, Benilde Vázquez

### **Edita:**

Ministerio de Educación y Cultura  
Consejo Superior de Deportes  
© 1997

### **Edición no venal.**

**N.I.P.O.:** 663-09-021-4

**Depósito Legal:** M-14322-2009

### **Distribución e información:**

Centro Nacional de Investigación  
y Ciencias del Deporte  
C/ del Greco s/n Tl. 91/589 05 50  
28040 Madrid Fax 91/544 81 22

**Web:** <http://www.mec.es/csd>

**e-mail:** [secinfo.dep@csd.mec.es](mailto:secinfo.dep@csd.mec.es)

### **Venta:**

Librería del B.O.E.  
C/ Trafalgar, 29 Tel. 91/538 22 95  
28071 Madrid Fax 91/538 22 67

**NOTA:** Los trabajos presentados expresan el criterio y valoraciones de sus autores sin que el Consejo Superior de Deportes comparta necesariamente las tesis o conceptos expuestos en ellos. Permitida la reproducción parcial citando la fuente.

# **CONTROL DEL DOPAJE**

## **Aspectos analíticos de los esteroides anabolizantes**

**Optimización del análisis por GC/MS de esteroides anabolizantes no fisiológicos y sus metabolitos urinarios. Estudio específico de la fluoximesterona**

*Rodríguez Cano, A.F.*

**Factores actuantes sobre el perfil hormonal esteroideo**

*Rodríguez Bueno, C.*

**Índices aplicados y propuestos en el control del dopaje para detectar la utilización de testosterona como sustancia dopante**

*Rodríguez Bueno, C..*

**Efectos del salbutamol en ratas sometidas a entrenamiento aeróbico**

*Cepero González, M.*

**ICd** NÚM. 17

---



# INDICE

## CONTROL DE DOPAJE Aspectos analíticos de los esteroides anabolizantes

	<u>Pág.</u>
<b>I. OPTIMIZACIÓN DEL ANÁLISIS POR GC/MS DE ESTEROIDES ANABOLIZANTES NO FISIOLÓGICOS Y SUS METABOLITOS URINARIOS. ESTUDIO ESPECÍFICO DE LA FLUOXIMESTERONA</b> .....	9
1. Introducción .....	11
2. Material utilizado .....	14
2.1. Instrumentos analíticos .....	14
2.2. Reactivos y disolventes comerciales .....	14
2.3. Reactivos y disoluciones preparados .....	14
2.4. Columnas cromatográficas .....	14
2.5. Gases purificados .....	14
2.6. Muestras de orina .....	14
3. Métodos desarrollados .....	15
3.1. Preparación de muestras .....	15
3.2. Procedimientos cromatográficos .....	15
4. Resultados .....	15
4.1. Datos analíticos obtenidos para identificar anabolizantes en orinas analizadas por GC/EM .....	15
4.2. Estudio de la detección, identificación y confirmación de los productos urinarios de degradación originados tras la utilización de fluoximesterona .....	35
5. Conclusiones .....	61
6. Bibliografía .....	65
7. Bibliografía .....	29
<b>II. FACTORES ACTUANTES SOBRE EL PERFIL HORMONAL ESTEROIDEO</b> .....	67
1. Evaluación de la detección de la testosterona en el control del dopaje .....	73
2. <i>Modificaciones que diversos factores, endógenos y exógenos, pueden producir en el perfil hormonal esteroideo</i> .....	73
2.1. Estudio de la posible influencia que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo (P.H.E.) pueden ejercer algunos factores intrínsecos .....	73
2.1.1. Influencia del sexo .....	73
2.1.2. Influencia del ritmo circadiano hormonal .....	75
2.1.3. Influencia de la edad .....	75

2.2. Estudio de los posibles efectos que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo (P.H.E.) pueden ejercer algunos factores extrínsecos .....	78
2.2.1. Influencia de la intensidad de la actividad física realizada .....	78
2.2.2. Influencia del efecto producido por el entrenamiento .....	84
2.2.3. Influencia del tipo de entrenamiento .....	85
2.2.3. Influencia de la práctica deportiva .....	87
2.2.4. Influencia del deporte específico practicado .....	90
2.3. Estudio de los posibles efectos que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo (P.H.E.) pueden producir algunos fármacos .....	93
2.3.1. Efecto producido por administración de testosterona .....	93
2.3.2. Efecto producido por administración de gonadotrofina coriónica humana .....	95
2.3.3. Efecto producido por la administración de anabolizantes .....	111
2.3.4. Efecto producido por la administración de clomifeno .....	116
3. Conclusiones .....	118
4. Bibliografía .....	119

**III. ÍNDICES APLICADOS Y PROPUUESTOS EN EL CONTROL DEL DOPAJE PARA DETECTAR LA UTILIZACIÓN DE TESTOSTERONA COMO SUSTANCIA DOPANTE .....**

121

1. Introducción .....	123
2. Perfil hormonal esteroideo (P.H.E.) .....	124
3. Estudio de parámetros del perfil hormonal esteroideo en función del valor de la relación testosterona / epitestosterona .....	127
3.1. Resultados y discusión .....	127
3.2. Conclusiones .....	137
4. Estudio y discusión de 25 casos prácticos con diferentes anomalías en el perfil hormonal .....	138
4.1. Conclusiones .....	142
5. Bibliografía .....	142

**IV. EFECTOS DEL SALBUTAMOL EN RATAS SOMETIDAS A ENTRENAMIENTO AERÓBICO .....**

145

1. Introducción .....	147
2. Revisión bibliográfica .....	148
2.1. Sistema adrenérgico. Agonistas $\beta$ -adrenérgicos .....	148
2.1.1. Aspectos bioquímicos de los receptores $\beta$ -adrenérgicos .....	149
2.2. Agonistas $\beta$ -adrenérgicos y ejercicio físico .....	151
2.2.1. Modificaciones respiratorias .....	152
2.2.2. Modificaciones cardiovasculares .....	152
2.2.3. Modificaciones de la musculatura esquelética .....	153
2.2.4. Modificaciones metabólicas .....	153
2.3. Metabolismo y poliaminas .....	154

	<b>Pág.</b>
3. Materiales y métodos .....	156
3.1. Materiales .....	156
3.1.1. Reactivos .....	156
3.1.2. Material biológico .....	157
3.2. Métodos .....	157
3.2.1. Tratamiento continuado con $\beta$ -adrenérgicos .....	157
3.2.2. Entrenamiento aeróbico de los animales .....	158
3.2.3. Obtención y preparación de los órganos .....	158
3.2.4. Estimación de parámetros plasmáticos .....	159
3.2.5. Determinación de poliaminas .....	159
3.2.6. Tratamiento estadístico de los datos y programas informáticos ..	159
4. Resultados y discusión .....	159
4.1. Efectos sobre la ganancia de peso corporal .....	160
4.2. Efectos sobre el tejido adiposo suprarrenal .....	162
4.3. Efectos sobre los parámetros plasmáticos relativos al tejido graso: Lípidos totales, Triglicéridos, Colesterol y Glucosa .....	164
4.4. Efectos sobre la masa muscular estriada .....	173
4.4.1. Efectos sobre la masa muscular esquelética .....	173
4.4.2. Efectos sobre la musculatura cardíaca .....	177
4.5. Efectos sobre los parámetros plasmáticos relativos a la musculatura estriada: Creatín fosfoquinasa (CK) y su isoenzima cardíaca Creatín fosfoquinasa MB (CKMB), la Lactato deshidrogenasa (LDH), la Aspar- tato Amino Transferasa (ASAT), la Alanino Amino Transferasa (ALAT) y la Fosfatasa Alcalina (ALP) .....	180
4.6. Efectos sobre el contenido de poliaminas en musculatura estriada y plasma .....	192
4.6.1. Efecto sobre el contenido muscular acardíaco de poliaminas ....	192
4.6.2. Efecto sobre el contenido muscular esquelético, en el gastroc- nemio, de poliaminas .....	192
4.6.3. Efectos sobre el contenido plasmático de poliaminas .....	192
5. Conclusiones .....	197
6. Bibliografía .....	197



**OPTIMIZACIÓN DEL ANÁLISIS POR GC/MS  
DE ESTEROIDES ANABOLIZANTES  
NO FISIOLÓGICOS Y SUS  
METABOLITOS URINARIOS.  
ESTUDIO ESPECÍFICO DE  
LA FLUOXIMESTERONA**

*Rodríguez Cano, A.F.*

**Dirección para correspondencia:**

Agustín Francisco Rodríguez Cano  
Laboratorio de Control del Dopaje  
Consejo Superior de Deportes  
C/ Greco s/n  
28040 Madrid (España)



**Agustín-Francisco Rodríguez Cano.** Doctor en Ciencias Químicas. Jefe de Analítica del Laboratorio de Control del Dopaje del Consejo Superior de Deportes. Miembro de la Comisión Nacional Antidopaje. Profesor de doctorado en la Universidad de Granada. Profesor de Masters en las Universidades Complutense y Autónoma de Madrid. Profesor de cursos del Comité Olímpico Español. Miembro de Tribunales de doctorado en las Universidades de Badajoz y La Laguna. Profesor invitado de Cursos de dopaje en Suramérica (Argentina, Colombia, Costa Rica, Uruguay, Chile y Perú). Autor y coautor de más de 50 publicaciones en revistas nacionales e internacionales. Medalla de oro individual al Mérito Ciclista de la Real Federación Española de Ciclismo. Supervisor de control de dopaje de FIFA en Campeonatos del Mundo 1986, 1990 y 1994.

**Resumen:** El tema objeto de este estudio se centra en la optimización de la detección en el control del dopaje de los esteroides anabolizantes androgénicos prohibidos en el deporte por su utilización como sustancias, potencialmente peligrosas para la salud en determinadas condiciones, influyentes en el rendimiento físico y/o en el resultado de las competiciones.

Se presentan los resultados en forma de tablas esquemáticas de referencia para 22 esteroides anabolizantes prohibidos, y específicamente para las moléculas detectadas tras su administración, en la forma química idónea para la misma al analizar las muestras fisiológicas de orina obtenidas tras dicha utilización.

Se presenta el estudio completo sólo en el caso de uno de los esteroides, la fluoximesterona .

Se completa el estudio con las conclusiones obtenidas tras el mismo, aplicables al análisis de control del dopaje y a otras áreas analíticas de control e investigación..

**Palabras clave:** dopaje, control del dopaje, esteroides anabolizantes androgénicos, espectrometría de masas, fluoximesterona.

**Abstract:** This study is based on the optimization of the detection of androgenic anabolic steroids in doping control. Such substances are forbidden in sports because of their potential danger for health in specific conditions as well as their influence in physical performance and for in the competition results.

Result tables with reference data are shown for 22 forbidden anabolic steroids. Further studies have been carried out for fluoximesterone including all detected metabolites after administration, as well as their appropriate chemical structure for their analyses in physiological urine samples.

In conclusion, the results we have obtained are applicable to doping control analysis and to other analytical areas of control and investigation.

**Key words:** doping, doping control, androgenic anabolic steroids, mass spectrometry, fluoximesterone.

## 1. INTRODUCCION

Los **esteroides anabolizantes** son derivados sintéticos de la hormona fisiológica testosterona. La estructura básica de los **esteroides anabolizantes** es la de un anillo de fenantreno completamente reducido (perhidrofenantreno) que, fusionado a un anillo de cinco componentes, forma el núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno, el cual origina el esqueleto del androstano, común a todos ellos. Una característica notable en la estructura de la mayoría de los **esteroides anabolizantes** es la presencia de sendos grupos metilo angulares sobre los átomos de carbono C10 y C13, numerándose estos carbonos como 18 y 19. Sin embargo en ocasiones puede faltar el grupo metilo de la posición C10, específicamente cuando el anillo A, o el B, es aromático, o cuando está sustituido por otro grupo. También se debe destacar principalmente la presencia de sustituyentes oxigenados en las posiciones 3 y 17. Los sustituyentes más característicos (figura 1) son:

- # Grupos ceto en las posiciones 3 (saturado; 4-en-3-ceto; 1,4-dien-3-ceto; 4,6-dien-3-ceto), 17 y 20.
- # Grupos hidroxilos, libres o esterificados, en los carbonos 3, 11 y 17.
- # Grupos metilos en los carbonos 6 y 17.
- # Grupo etinilo en el carbono 17.
- # Dobles enlaces ( $\Delta^1$ ,  $\Delta^4$ ,  $\Delta^5$ ).

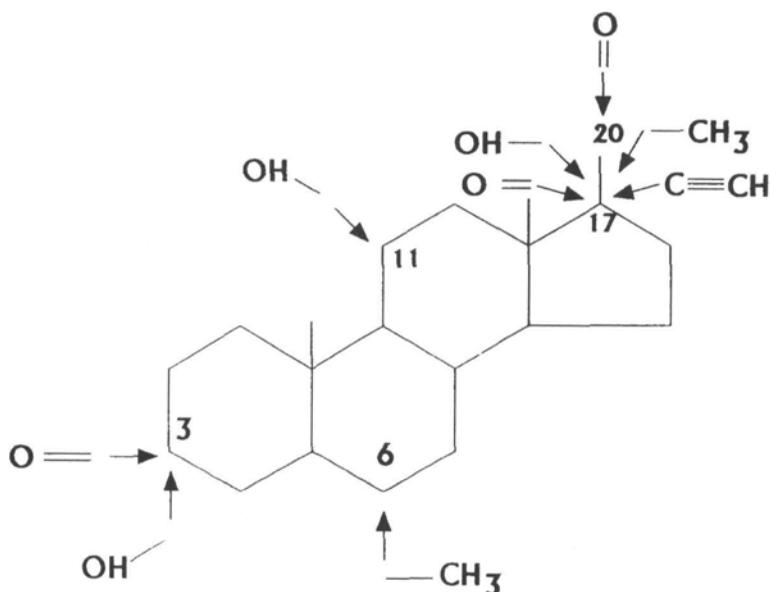


Figura 1. Estructura base de los esteroides anabolizantes y sustituyentes más característicos.

Los **esteroides anabolizantes** constituyen el grupo farmacológico que se puede considerar como más destacable entre los integrantes de las listas de sustancias dopantes prohibidas en el deporte. Esta importancia se debe a:

- a) la extensión del uso de los **esteroides anabolizantes** a la mayoría de las modalidades deportivas;
- b) el alto índice de su utilización entre los deportistas, tanto en términos absolutos como relativos con respecto al resto de las sustancias dopantes;
- c) los potenciales peligros que pueden originar en el organismo del deportista a corto, medio y largo plazo.

A partir de 1.964 los **esteroides anabolizantes** empezaron a utilizarse frecuentemente en el deporte como "productos ergogénicos farmacológicos", útiles para modificar la composición corporal e incrementar la fuerza y la potencia. Desde entonces la posibilidad de su detección en las muestras fisiológicas se convirtió en uno de los objetivos del control del dopaje. Sin embargo, hasta el inicio de los años ochenta el análisis de estos compuestos sólo se efectuaba en centros médicos especializados en detecciones hormonales y en centros de investigación química, no realizándose análisis sistemáticos a causa de: a) el alto coste de los instrumentos y de los reactivos necesarios para estas determinaciones; b) el excesivo tiempo que se debía emplear en las mismas; y c) que no se podían conseguir todas las garantías exigibles y exigidas en la realización de dichos análisis, en su resultado y en su evaluación. Sólo el desarrollo de nuevos métodos de aislamiento y extracción, más fáciles y rápidos, y el auge experimentado por la electrónica y la informatización en los instrumentos analíticos, permitió el relativo abaratamiento de los análisis y el incremento de la garantía analítica y, en consecuencia, la posibilidad de instalación en los laboratorios de una metodología de rutina para el análisis de estas sustancias químicas. Este es el caso de los laboratorios de control del dopaje, los cuales desde entonces se encuentran en su conjunto equipados con el instrumental técnico que posibilita la realización de estos análisis por medios reproducibles y precisos.

Aunque desde entonces se han ido modificando progresivamente las técnicas analíticas con el fin de mejorarlas y adecuarlas a las circunstancias de cada momento, lo cierto es que existe una continua investigación que trata de actualizar la metodología analítica aplicable a la detección de estas sustancias dopantes, buscando ampliar las garantías fundamentalmente en lo que respecta no ya a los resultados positivos, siempre garantizables, sino en lo que concierne a los posibles falsos negativos y en lo referente a minimizar los tiempos de análisis y los costos económicos. Este es el objetivo del presente trabajo.

Para ello se parte del supuesto de reconocer que el control del abuso de los **esteroides anabolizantes** por los deportistas sólo es efectivo si se utilizan métodos *sensibles, específicos y fiables* para detectar e identificar estas drogas y sus metabolitos en la orina. El tradicionalmente utilizado en el análisis de esteroides en el control del dopaje es básicamente el de **cromatografía de gases** acoplado a la **espectrometría de masas**, que es la más sensible, rigurosa y específica técnica analítica para incluir en el control del dopaje. Precisamente el original propósito para desarrollar esta técnica de "fragmentometría de masas" fué el poder identificar, con una alta sensibilidad y selectividad en la detección, compuestos

presentes, en concentraciones mínimas o incluso como trazas, en mezclas complejas de origen biológico.

En consecuencia, y con el fin de establecer las condiciones analíticas óptimas que permitan detectar en orina, como medio biológico analizado, y utilizando básicamente la técnica analítica de cromatografía de gases/espectrometría de masas, se han analizado muestras de orina, las cuales se han recogido tras administrar a voluntarios esteroides anabolizantes no fisiológicos prohibidos en el deporte. Y ello con el fin de obtener:

- los procedimientos óptimos para el aislamiento de los analitos de interés en la orina como fluido biológico;
- los parámetros cromatográficos para separar idóneamente los analitos, eliminando al máximo las interferencias;
- la selección de los iones más significativos para conseguir el máximo de espectros exactos y precisos de los anabolizantes y sus metabolitos presentes en la orina;
- las posibles modificaciones sobre la metodología tradicional de análisis de anabolizantes.

El estudio realizado ha sido individual para cada **esteroide anabolizante**, del cual previamente se han recopilado los datos bibliográficos correspondientes a estructura, nombre químico abstracto, nombres químicos alternativos, marcas registradas, fórmula molecular, composición porcentual, peso molecular y categoría terapéutica, además de las notas adjuntas que se consideran químicamente interesantes y de los procesos de biotransformación que se conoce sufren en el organismo tras su administración.

Basándose en las posibles biotransformaciones que puede sufrir cada **esteroide anabolizante** tras su administración a una persona y en los correspondientes productos químicos previsiblemente excretados en la orina, se han estudiado analíticamente las moléculas eliminadas en el caso de cada esteroide, utilizando métodos analíticos que resulten aplicables a la mayoría de los **anabolizantes** estudiados. Y a continuación, se ha recopilado en una tabla:

- El nombre de cada sustancia química detectada.
- La relación fisiológica existente entre el compuesto detectado y el esteroide anabolizante prohibido; es decir, si la molécula identificada es el compuesto padre o un metabolito suyo.
- La estructura química desarrollada de este compuesto excretado.
- La forma de excreción (libre o conjugada).
- La estructura del correspondiente derivado.
- Los iones seleccionados ( $m/z$ ), entre los que se incluyen el correspondiente al peso molecular y al pico base de la molécula identificada.

La complejidad del trabajo, de aplicación inmediata en los análisis de control del dopaje, obliga a presentar sólo el resumen en tablas, exponiendo el desarrollo completo del estudio realizado a uno de los esteroides anabolizantes, concretamente la fluoximesterona.

## **2. MATERIAL UTILIZADO**

### **2.1. Instrumentos analíticos**

Se han utilizado varios sistemas de cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM y CG/DSM "Hewlett Packard" 5995, 5970, 5971 y 5972). Además se han empleado otros equipos complementarios, tales como evaporadores rotatorios "Büchi, multibloques calefactores "Selecta", refrigerador criostático "Julabo", centrífugas "Beckman", agitadores-mezcladores "Lab-line", plataformas agitadoras horizontales "Janke-Kunkel" e "Ika-Labortechnik", así como desecadores, evaporadores, bidestiladores, balanzas, densímetro y pehachímetro.

### **2.2. Reactivos y disolventes comerciales**

Se han empleado acetato de etilo, ácido metilborónico, amberlita XAD-2, bicarbonato sódico, bórax, carbonato potásico, l-cisteína, estanozolol, çeter dietílico, fosfato potásico, \_glucuronidasa arilsulfatasa,  $\beta$ -glucuronidasa, metanol, metiltestosterona, MBHFBA, MSHFBA, MSTFA y penbutolol sulfato, de las casas Merck, Fluka, Serva, Sigma, Zambow, Carlo Erba, Boehringer Mannheim, Machery-Nagel y Roussel Ucla F.

### **2.3. Reactivos y disoluciones preparados**

Se ha preparado disoluciones de tampón pH=9.2, de tampón pH=7, de tampón bórax pH=9, de penbutolol y de MBA de 2000 pp.

Asímismo se han preparado patrones internos de cromatografía de gases de metiltestosterona y estanozolol, así como columnas de XAD-2

### **2.4. Columnas cromatográficas**

Se han utilizado columnas CP-SIL 5B, de Chrompack, y ULTRA-1, de Hewlett Packard.

### **2.5. Gases purificados**

Se ha utilizado hidrógeno N-55, nitrógeno N-52, aire sintético puro y Helio N-55.

### **2.6. Muestras de orina**

Se han utilizado muestras de orina recogidas tras la administración de las sustancias estudiadas. En forma comparativa se han analizado muestras anónimas desechables de control del dopaje.

### **3. METODOS DESARROLLADOS**

#### **3.1. Preparación de muestras**

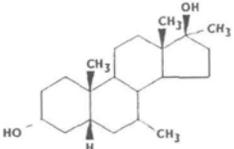
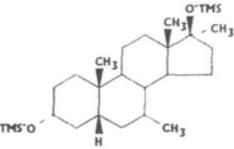
Se han realizado procesos de extracción (paso de la orina a través de columna XAD-2. adición de 50 µl de una disolución de 10 ppm de metiltestosterona como ISTD, lavado con H<sub>2</sub>O, elución con 2 ml. de MeOH, sequedad, adición de 1 ml. de tampón de fosfato 0.2M a pH=7, 5 ml. de éter y 1 gr. de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, agitación, reposo y decantación de la fase etérea para llevar a sequedad total), hidrólisis (enzimática, con β-glucuronidasa) y derivatización (con MSHFBA, TMSCl, TMSim, MBHFBA y MSTFA para obtener los O-TMS-éteres, los O-TMS-enol-éteres y los TFA-derivados.

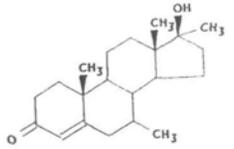
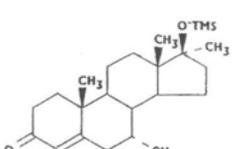
#### **3.2. Procedimientos cromatográficos**

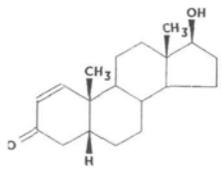
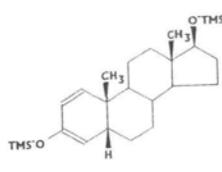
Los parámetros CG/EM han sido: gas portador 1 ml/min a T=180°C; split 1:10; columna espesor 0.12µ, diámetro interno 0.25 mm., longitud 25 m.; temperatura detector 300°C; temperatura inyector 280°C; temperatura programada 180°C-4.5 min.-3°C/min.-230°C-20°C/min.-300°C-10 min.; tiempo de adquisición de 6.5 a 26.5 min.

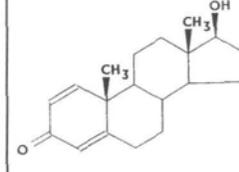
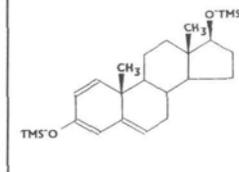
### **4. RESULTADOS**

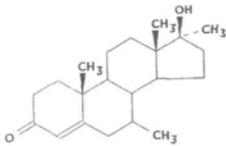
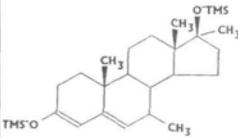
#### **4.1. Datos analíticos obtenidos para identificar esteroides anabolizantes en orinas analizadas po GC/EM.**

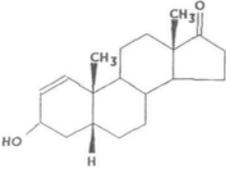
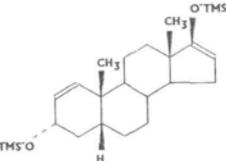
BOLASTERONA	
Datos analíticos (2)	
Sustancia química detectada	7 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -dimetil-5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	464 = M 449 = M-15 374 = M-90 284 = M-90-90 143 (PB)
Iones seleccionados (m/z)	143 284 374

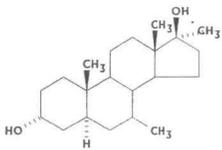
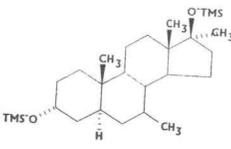
BOLASTERONA	
Datos analíticos (1)	
Sustancia química detectada	7 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -dimetilandros-4-en-17 $\beta$ -ol-3-ona
Compuesto excretado	Padre 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	mono-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	460 = M 445 (PB) = M-15 355 = M-90-15 315
Iones seleccionados (m/z)	445 460 315

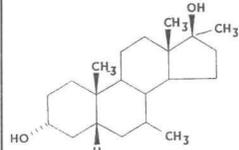
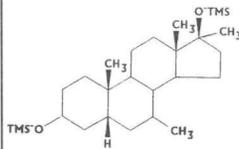
BOLDENONA	
Datos analíticos (2)	
Sustancia química detectada	5 $\beta$ ,-androst-1-en-17 $\beta$ -ol-3-ona
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	432 = (M) 417 = (M-15) 194 = (PB)
Iones seleccionados (m/z)	194 432 417

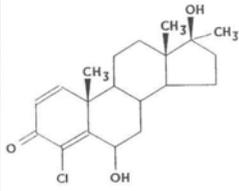
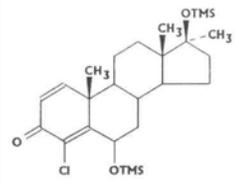
BOLDENONA	
Datos analíticos (1)	
Sustancia química detectada	7 $\beta$ ,-hidroxiandrostan-1,4-dien-3-ona
Compuesto excretado	Padre 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	430 = (M) 415 = (M-15) 325 = (M-15-90) 206
Iones seleccionados (m/z)	206 430 415

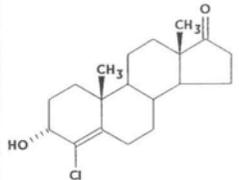
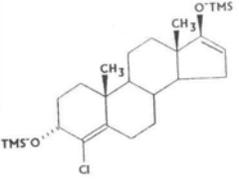
CALUSTERONA	
Datos analíticos (1)	
Sustancia química detectada	17 $\beta$ , -hidroxi-7 $\beta$ -17 $\alpha$ -dimetil-androst-4-en-3-ona
Compuesto excretado	Padre 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	495 = (M) 460 445 = (PB) 355 315 = M-90-90 143
Iones seleccionados (m/z)	445 460 315

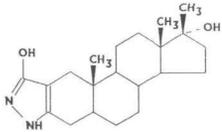
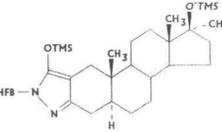
BOLDENONA	
Datos analíticos (3)	
Sustancia química detectada	5 $\beta$ , -andros-1-en-3 $\alpha$ -ol-17-ona
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	432 = (M) 417 = M-15 290 = M-142 275 = M-142-15
Iones seleccionados (m/z)	432 275 290

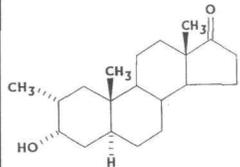
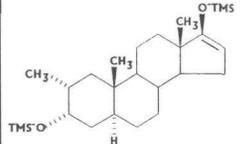
CALUSTERONA		
Datos analíticos (3)		
Sustancia química detectada	7β,17α-dimetil-5α-androstan-3α,17β-diol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	464 = (M) 374 332 269 143 (PB) 130	
Iones seleccionados (m/z)	143 284 374	

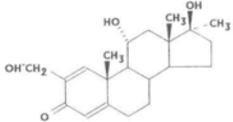
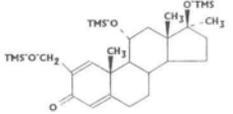
CALUSTERONA		
Datos analíticos (2)		
Sustancia química detectada	7β,17α-dimetil-5β-androstan-3α,17β-diol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	464 = (M) 374 332 284 229 143 (PB)	
Iones seleccionados (m/z)	143 284 374	

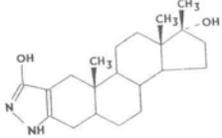
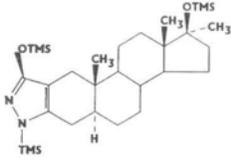
DEHIDROCLORMETILTESTOSTERONA		
Datos analíticos		
Sustancia química detectada	6 $\beta$ , -Hidroxi-dehidroclormetiltestosterona	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Libre	
Derivado fracción libre	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	494 = M 317 315 243 143 (PB)	
Iones seleccionados (m/z)	143 315 317	

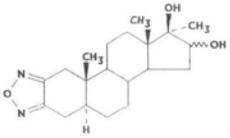
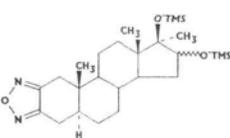
CLOSTEBOL		
Datos analíticos		
Sustancia química detectada	4-clor-androst-4-en-3 $\alpha$ -ol-17-on	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	468 466 (PB) = M 453 451 = M-15 431 361 = M-15-90 169	
Iones seleccionados (m/z)	466 451 468	

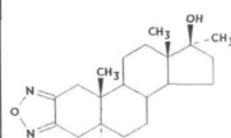
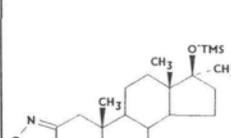
ESTANOZOLOL		
Datos analíticos (1)		
Sustancia química detectada	3'-Hidroxi-estanozolol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Libre	
Derivado fracción libre	N-HFB-O-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	143 (PB) 378 552 594 = M-15-90 669 = M-15	
Iones seleccionados (m/z)	143 552 594	

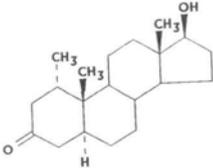
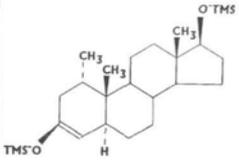
DROSTANOLONA (DROMOSTANOLONA)		
Datos analíticos		
Sustancia química detectada	2 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ -ol-17-ona	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	448 = M 433 (PB) = M-15 343 = M-15-90 253 = M-15-90-90 169	
Iones seleccionados (m/z)	443 448 169	

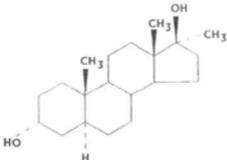
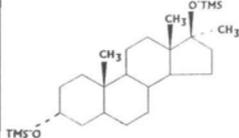
FORMEBOLONA		
Datos analíticos		
Sustancia química detectada	2-hidroximetil-17 $\alpha$ -metilandro-1,4-dien-11 $\alpha$ , 17 $\beta$ -diol-3-ona	
Compuesto excretado	Metabólito	
Forma de excreción	Libre	
Derivado fracción conjugada	tri-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	143 = (PB) 351 385 562 = M	
Iones seleccionados (m/z)	143 222 367	

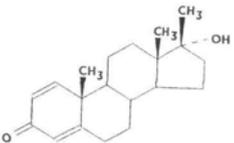
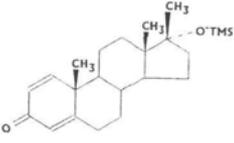
ESTANOZOLOL		
Datos analíticos (2)		
Sustancia química detectada	3'-Hidroxi-estanozolol	
Compuesto excretado	Metabólito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción libre	tris-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	143 = (PB) 254 545 = M-15 560	
Iones seleccionados (m/z)	143 545 560	

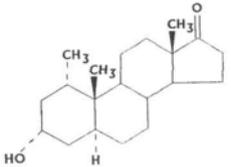
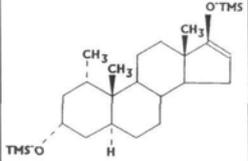
FURAZABOL	
Datos analíticos (2)	
Sustancia química detectada	16z-hidroxifurazabol
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	490 = M 400 = M-90 311 295 = M-90-90-15 231 218 (PB)
Iones seleccionados (m/z)	218 231 490

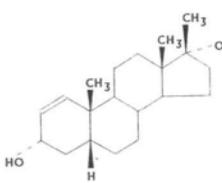
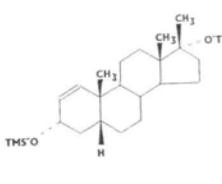
FURAZABOL	
Datos analíticos (1)	
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ , -metil-5 $\alpha$ -androstan[2,3-c]-[1,2,5]oxadiazol-17 $\beta$ -ol
Compuesto excretado	Padre 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	TMS 
Fragmentos principales (m/z)	402 = M 387 - M-15 143 (PB)
Iones seleccionados (m/z)	143 387 402

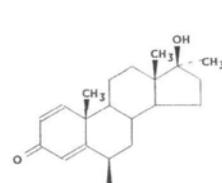
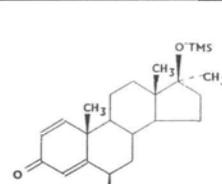
MESTEROLONA		
Datos analíticos (1)		
Sustancia química detectada	17-Hidroxi-1-metilandrostan-3-ona	
Compuesto excretado	Padre	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	253 = M-15-90-90) 343 = M-15-90 433 (PB) = M-15 448 = M	
Iones seleccionados (m/z)	433 448 343	

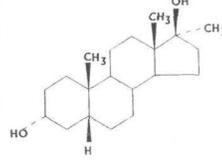
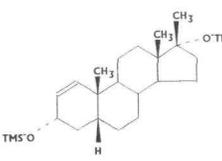
MESTANOLONA		
Datos analíticos		
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ -17 $\beta$ -diol	
Compuesto excretado	Metabólito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	130 143 (PB) 360 = M-90 435 = M-15 450 = M	
Iones seleccionados (m/z)	143 435 360	

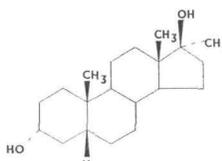
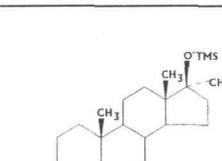
METANDIENONA (METANDROSTENOLONA)		
Datos analíticos (1)		
Sustancia química detectada	17-epimetandienona	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Libre	
Derivado fracción libre	mono-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	372 = M 315 302 282 = M-90 219 194 161 143 (PB) 122	
Iones seleccionados (m/z)	143 282 372	

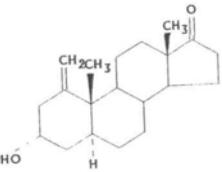
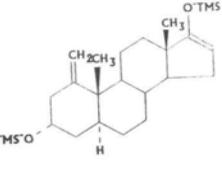
MESTEROLONA		
Datos analíticos (2)		
Sustancia química detectada	3-Hidroxi-1-metilandrostan-17-ona	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	253 = M-15-90-90 343 = M-15-90 433 (PB) = M-15 448 = M	
Iones seleccionados (m/z)	433 448 343	

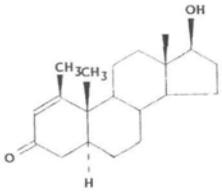
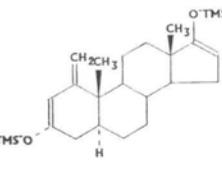
METANDIENONA (METANDROSTENOLONA)		
Datos analíticos (3)		
Sustancia química detectada	17 $\beta$ -metil-5 $\beta$ -andros-1-en-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -diol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción libre	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	448 = M 433 = M-15 358 = M-90 343 = M-90-15 268 = M-90-90 253 = M-90-90-15 216 196 143 (PB)	
Iones seleccionados (m/z)	143 358 448	

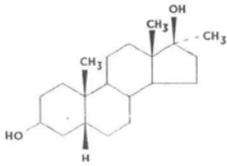
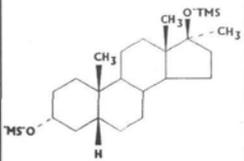
METANDIENONA (METANDROSTENOLONA) (2)		
Datos analíticos		
Sustancia química detectada	6 $\beta$ -hidroximetandienona	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Libre	
Derivado fracción libre	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	460 = M 455 = M-15 370 = M-90 281 209 143 (PB)	
Iones seleccionados (m/z)	143 281 209	

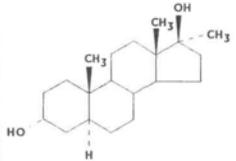
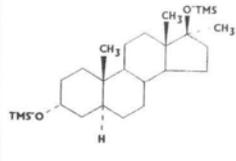
METANDRIOL		
Datos analíticos		
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -metil-5 $\beta$ -androstán-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción libre	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	448 = M 433 = M-15 358 = M-90 343 = M-90-15 268 = M-90-90 253 = M-90-90-15 216 196 143 (PB) 130	
Iones seleccionados (m/z)	143 358 448	

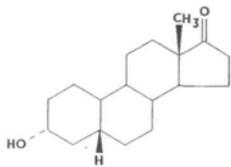
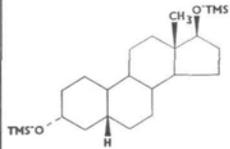
METANDIENONA (METANDROSTENOLONA)		
Datos analíticos (4)		
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -metil-5 $\beta$ -androstán-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción libre	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	450 = M 435 = M-15 345 = M-90-15 270 = M-90-90 255 = M-90-90-15 143 (PB) 130	
Iones seleccionados (m/z)	143 435 450	

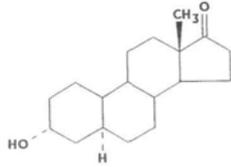
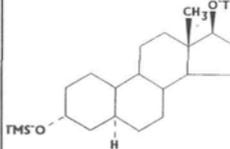
METENOLONA		
Datos analíticos (2)		
Sustancia química detectada	1-Metilen-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ -ol-17-ona	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	446 = M 431 (PB) = M-15 341 = M-15-90 251 = M-15-90-90 195 169 105	
Iones seleccionados (m/z)	431 446 169	

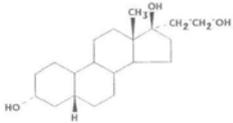
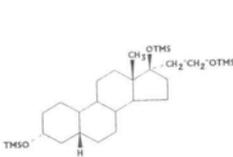
METENOLONA		
Datos analíticos (1)		
Sustancia química detectada	17 $\beta$ -Hidroxi-1 $\beta$ -metil-5 $\alpha$ -androst-1-en-3-ona	
Compuesto excretado	Padre	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	446 = M 431 = M-15 356 = M-90 208 195 (PB) 179	
Iones seleccionados (m/z)	195 208 446	

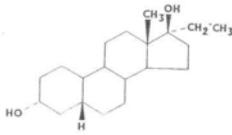
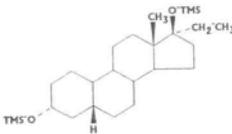
METILTESTOSTERONA		
Datos analíticos (2)		
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -metil-5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	4506 = M 435 = M-15 360 = M-90 345 = M-15-90 270 = M-90-90 143 (PB) 130	
Iones seleccionados (m/z)	143 435 360	

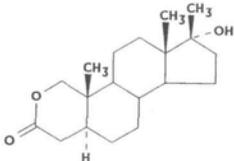
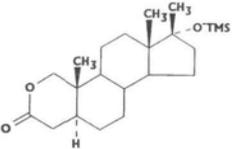
METILTESTOSTERONA		
Datos analíticos (1)		
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	450 = M 435 = M-15 360 = M-90 345 = M-15-90 270 = M-90-90 255 = M-15-90-90 143 (PB) 129 73	
Iones seleccionados (m/z)	143 435 360	

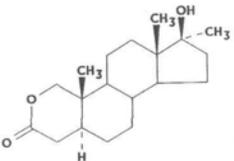
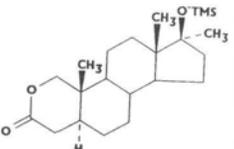
NANDROLONA	
Datos analíticos (2)	
Sustancia química detectada	5 $\beta$ -Estran-3 $\alpha$ -ol-17-ona
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	420 = M 405 (PB) = M-15 315 = M-15-90 225 = M-15-90-90
Iones seleccionados (m/z)	405 420 315

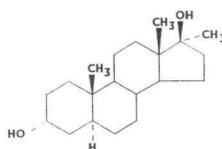
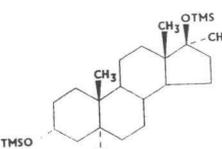
NANDROLONA	
Datos analíticos (1)	
Sustancia química detectada	5 $\alpha$ -Estran-3 $\alpha$ -ol-17-ona
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	420 = M 405 (PB) = M-15 315 = M-15-90 225 = M-15-90-90
Iones seleccionados (m/z)	405 420 315

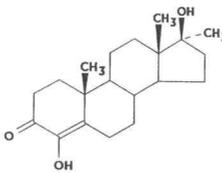
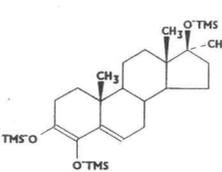
NORETANDROLONA		
Datos analíticos (2)		
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -Etil-5 $\beta$ -estran-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ ,20-triol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	421 = M-117 331 = M-117-90 245 (PB) 217	
Iones seleccionados (m/z)	245 421 331	

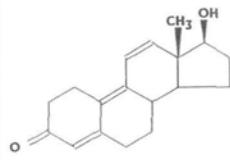
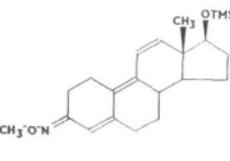
NORETANDROLONA		
Datos analíticos (1)		
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -Etil-5 $\beta$ -estran-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	bis-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	435 = M-15 421 = M-29 331 = M-29-90 241 = M-29-90-90 157 (PB) 144	
Iones seleccionados (m/z)	157 331 421	

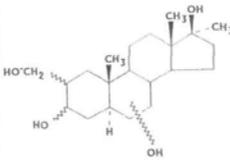
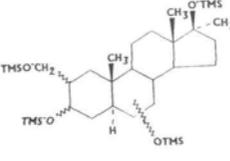
OXANDROLONA	
Datos analíticos (2)	
Sustancia química detectada	17-Epi-oxandrolona
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Libre
Derivado fracción libre	mono-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	378 = M 363 = M-15 321 = M-57 308 = M-70 288 = M-90 143 (PB)
Iones seleccionados (m/z)	143 308 321

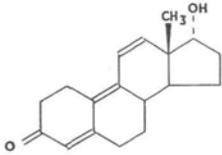
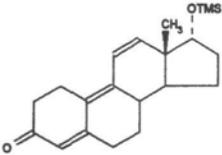
OXANDROLONA	
Datos analíticos (1)	
Sustancia química detectada	17-Hidroxi-17-metil-2-oxo-androstan-3-ona
Compuesto excretado	Padre 
Forma de excreción	Libre
Derivado fracción libre	mono-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	378 = M 363 = M-15 321 = M-57 308 = M-70 288 = M-90 143 (PB)
Iones seleccionados (m/z)	143 308 321

OXIMETOLONA	
Datos analíticos (1)	
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ -17 $\beta$ -diol
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	bis-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	450 = M 435 = M-15 360 = M-90 143 (PB) 130
Iones seleccionados (m/z)	143 435 360

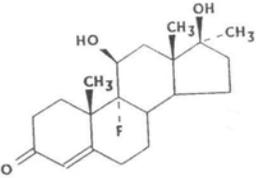
OXIMESTERONA	
Datos analíticos	
Sustancia química detectada	4B-17 $\beta$ -Dihidroxi-17 $\alpha$ ,metilandro-4-en-3-ona
Compuesto excretado	Padre 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	tris-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	534 (PB) = M 519 = M-15 444 = M-90 389
Iones seleccionados (m/z)	534 389 519

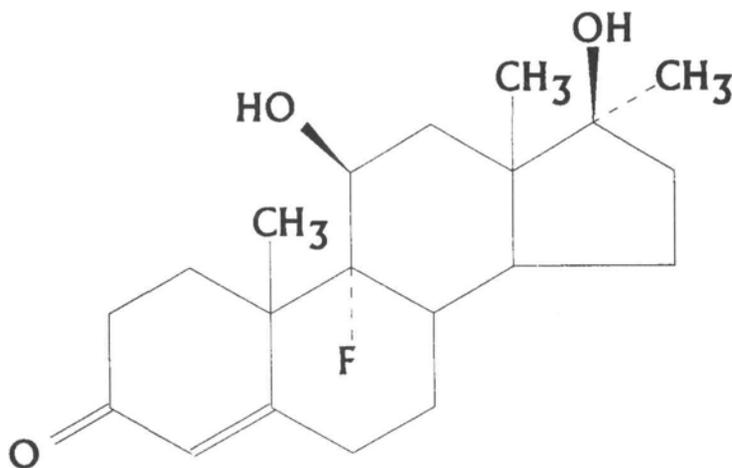
TREMBOLONA	
Datos analíticos (1)	
Sustancia química detectada	17 $\beta$ -hidroxi-estra-4,9,11-trien-3-ona
Compuesto excretado	Padre 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado	MO-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	371 = M 356 = M-15 281 = M-90 266 = M-15-90 255 253 240 (PB) 238
Iones seleccionados (m/z)	240 371 266

OXIMETOLONA	
Datos analíticos (2)	
Sustancia química detectada	2z-Hidroximetil-17 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3z,4z,17-triol
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción conjugada	tetra-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	640 = M 625 = M-15 550 = M-90 460 = M-90-90 405 370 = M-90-90-90 315 143 (PB)
Iones seleccionados (m/z)	143 495 550

TREMBOLONA		
Datos analíticos (2)		
Sustancia química detectada	17 $\alpha$ -hidroxi-estra-4,9,11-trien-3-ona	
Compuesto excretado	Epímero	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado	MO-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	371 = M 356 = M-15 281 = M-90 266 = M-15-90 255 253 240 (PB) 238	
Iones seleccionados (m/z)	240 371 266	

#### 4.2. Estudio de la detección, identificación y confirmación de los productos urinarios de degradación originados tras la utilización de fluoximesterona

FLUOXIMESTERONA	
Datos analíticos <sup>1, 2, 3, 4, 5, 6</sup>	
Estructura	
Grupo esteroideo estructural	Androstan-4-en-3-ona
Nombre químico abstracto	9-Fluoro-11,17-dihidroxi-17-metilandro-4-en-3-ona
Nombres químicos alternativos	11 $\beta$ ,17 $\beta$ -Dihidroxi-9 $\alpha$ -fluoro-17 $\alpha$ -metil-androst-4-en-3-ona 9 $\alpha$ -Fluoro-11 $\beta$ -hidroxi-17 $\alpha$ -metiltestosterona
Marcas registradas	"Android-F" "Androsterolo" "Androfluorene" "Androfluorone" "Fluotestin" "Halotestin" "Oralsterone" "Oratestin" "Ora Testryl" "Testoral" "Ultandren"
Fórmula molecular	C <sub>20</sub> H <sub>29</sub> FO <sub>3</sub>
Composición porcentual	C 71,40% H 8,69% F 5,65% O 14,27%
Peso molecular	366,45
Categoría terapéutica	Andrógeno
Síntesis <sup>6</sup>	En 1.956



FLUOXIMESTERONA

9alfa-flúor-11beta, 17beta-dihidroxi-17alfa-metilandro-4-en-3-ona

### Material y método

Tras la administración de 20 mg. de **fluoximesterona** (*9 $\alpha$ -fluoro-17 $\alpha$ -metilandro-4-en-11 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol-3-ona*), se recogieron diversas fracciones urinarias entre las 0 y 24 horas posteriores a dicha administración.

Con las condiciones cromatográficas generales presentadas, se han realizado los TIC de las diferentes muestras, de las cuales se han elegido para la identificación de los productos de eliminación las que ofrecen más posibilidad de identificación de los metabolitos.

Teniendo en cuenta los procesos de biotransformación de la **fluoximesterona** descritos en la bibliografía<sup>1, 2</sup>, su estructura<sup>1, 3, 4, 5</sup> y las posibles estructuras de los metabolitos urinarios que pueden excretarse, se han realizado los TIC correspondientes a las fracciones libre y conjugada.

### Fracción libre

En el correspondiente TIC de la fracción libre de la muestra de orina correspondiente a las 9 horas tras la administración de **fluoximesterona** (figura 2), se han identificado, entre todos los eluidos, los picos siguientes, obteniéndose de cada uno de ellos, por SCAN, el correspondiente espectro de masas EI:

- Pico I, eluido a un  $t_R=11.7$ , que corresponde al tetra-TMS derivado del *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrahidroxi-17 $\alpha$ -metil-4-androsteno*, uno de los metabolitos (metabolito 1, M1) de la **fluoximesterona** que se excreta en forma libre.

Este metabolito posee un grupo hidroxilo 6 $\beta$ , hidroxilación que corresponde a una de las principales rutas metabólicas de eliminación de esteroides para excretarse generalmente

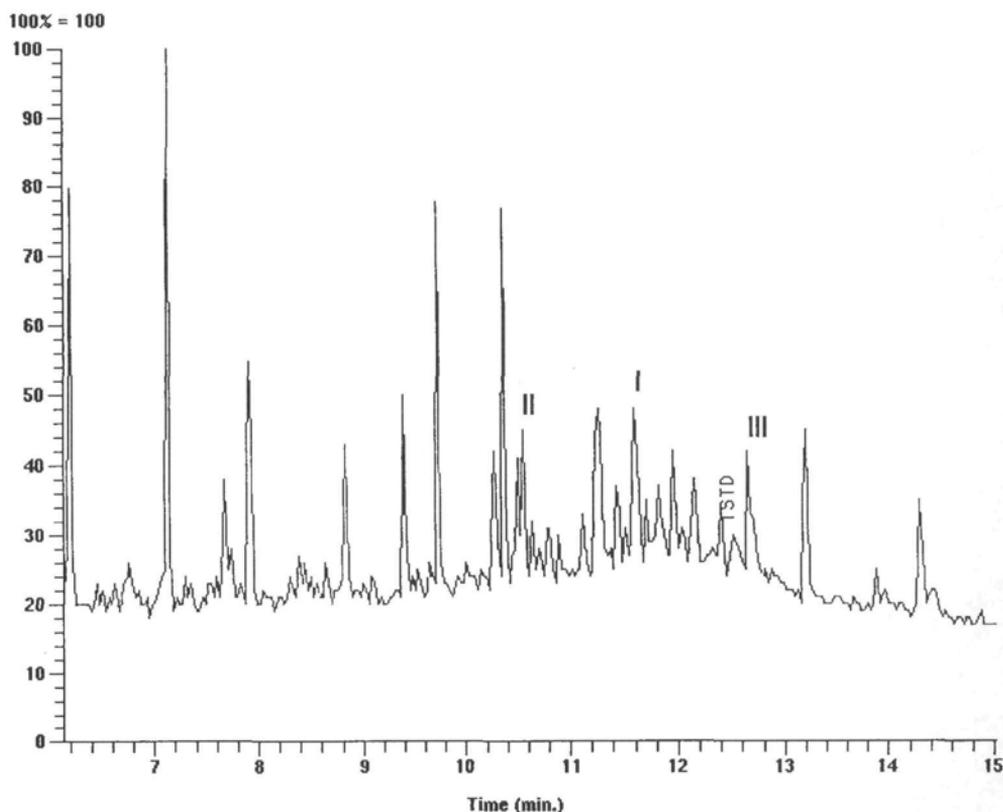


Figura 2. TIC de la fracción libre de una orina recogida a las 9 horas tras la administración de fluoximesterona.

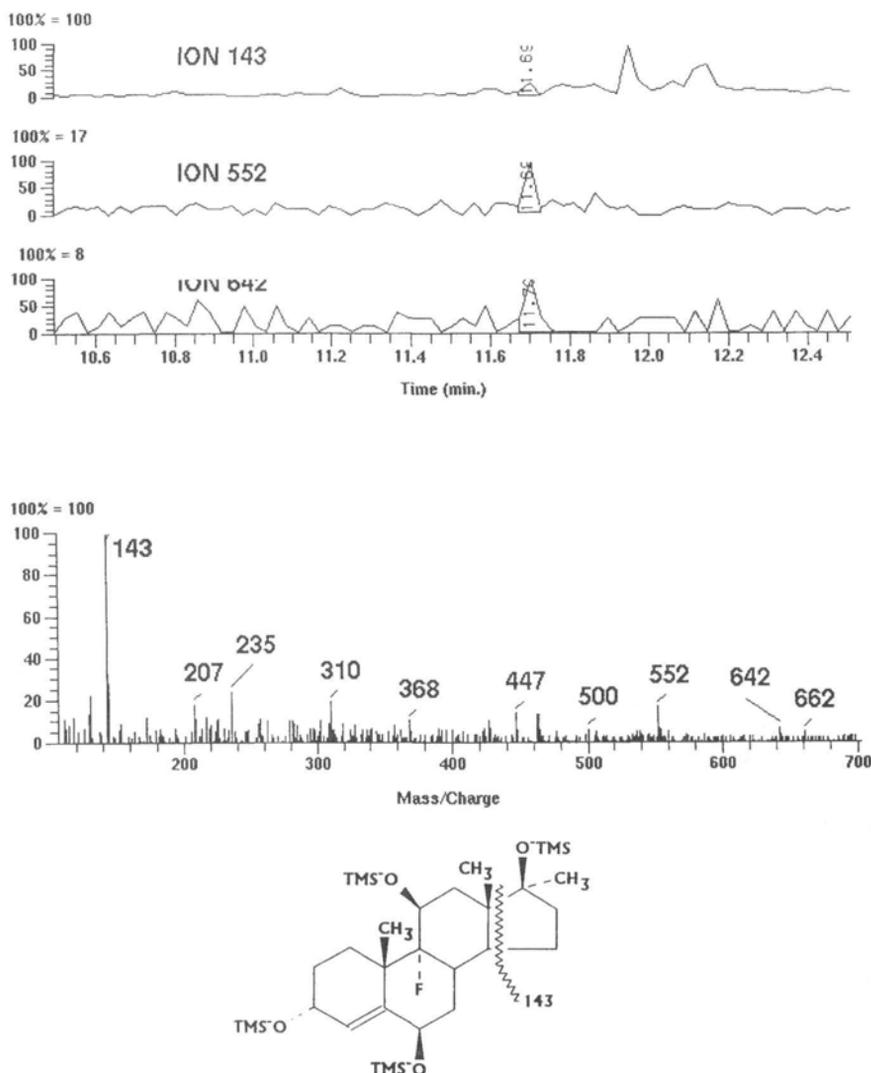
- I. tetra-TMS derivado del  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,11\beta,17\beta$ -tetrahidroxi- $17\alpha$ -metil-4-androsteno
- II. tri-TMS derivado de la  $9\alpha$ -flúor- $6\alpha,11\alpha,17\alpha$ -trihidroxi- $17\alpha$ -metil-androstan-3-ona
- III. di-TMS derivado de la  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,17\beta$ -trihidroxi- $17\alpha$ -metil-androstan-4-en-11-ona

en forma libre; su espectro, en consecuencia, y al igual que los de otros hidroxisteroides TMS-derivados, debe poseer abundantes iones procedentes de la pérdida de sucesivos radicales metilo [ $M-CH_3$ ] y moléculas de trimetilsilanol [ $M-TMSOH$ ]. En dicho espectro aparecen los siguientes fragmentos característicos:

- Ión molecular  $m/z=642$ .
- Ión  $m/z=552$ , procedente de la pérdida de una molécula de trimetilsilanol del ión molecular, M-90, producido porque al poseer este esteroide grupos OTMS axiales existe una interacción 1,3-diaxial con los hidrógenos de estas posiciones.
- Ión  $m/z=462$ , correspondiente a la pérdida sucesiva de dos moléculas de trimetilsilanol, M-90-90, debida a que al ser este esteroide un  $3\alpha,6\beta$ -bis-O-TMS esteroide posee dos sustituyentes OTMS axiales que provocan dicha fragmentación.

- Ión  $m/z=143$ , muy característico y abundante, que es el pico base, y que es propia de los  $17\alpha$ -metil- $17\beta$ -OTMS-esteroides, procedente de la fragmentación del anillo D.
- Ión  $m/z=532$ , característico aunque no muy abundante, que proviene de la pérdida de una molécula de TMSOH seguida de una de FH para dar un ión [M-TMSOH-FH], M-90-20.

Seleccionados los iones **143**, **552** y **642**, se ha obtenido por GC/SIM el correspondiente cromatograma. (Figura 3).



**Figura 3.** Cromatograma GC/SIM y espectro de masas EI del tetra-TMS derivado del  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,11\beta,17\beta$ -tetrahidroxi- $17\alpha$ -metil-4-androsteno.

- Pico II, eluido a un  $t_R=10.5$ , que corresponde al tris-TMS derivado de la  $9\alpha$ -flúor- $6\beta, 11\beta, 17\beta$ -trihidroxi- $17\alpha$ -metil-androstan-3-ona, metabolito también excretado en forma libre, (metabolito 2, M2), sin que el reactivo de derivatización produzca enolización del grupo cetónico, con un hidroxilo en posición  $6\beta$ .

Los fragmentos más característicos que aparecen en el espectro son los correspondientes a los iones  $m/z=406$  (resultante de la pérdida de una molécula de trimetil silanol del ión molecular, M-90),  $m/z=391$  (correspondiente a la pérdida de una molécula de trimetil-silanol y de un grupo metilo, M-90-15) que es el pico base, y  $m/z=303$ .

Seleccionados los iones **391**, **303** y **406**, se ha obtenido por GC/SIM el correspondiente cromatograma. (Figura 4).

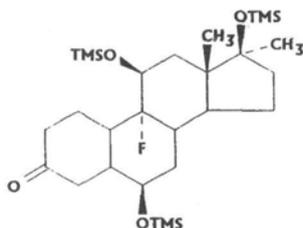
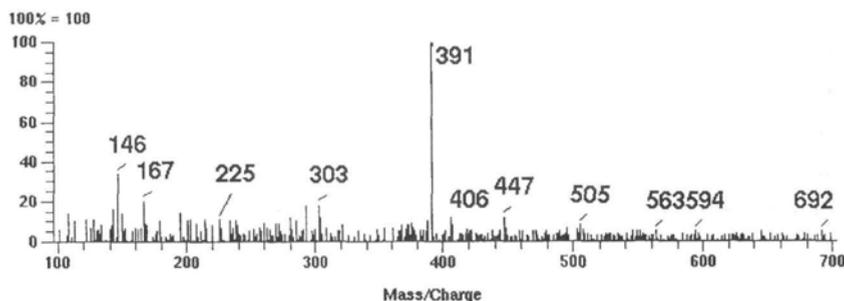
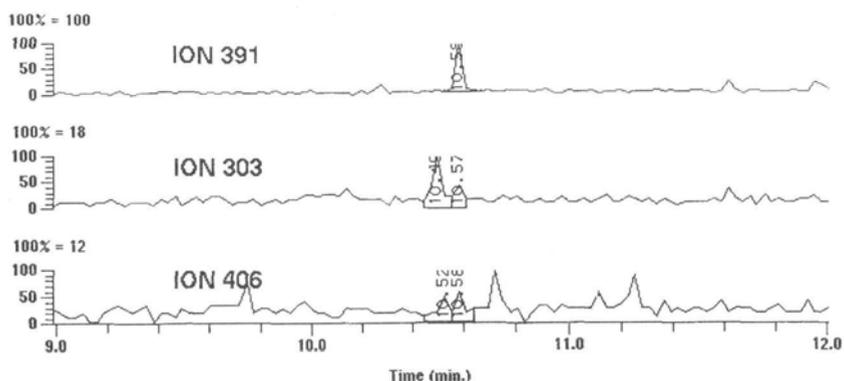


Figura 4. Cromatograma GC/SIM y espectro de masas El del tris-TMS derivado de la  $9\alpha$ -flúor- $6\beta, 11\beta, 17\beta$ -trihidroxi- $17\alpha$ -metil-androstan-3-ona.

\*Pico III, eluído a un  $t_R=12.6$ , que corresponde al tri-TMS derivado de la *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,17 $\beta$ -trihidrox-17 $\alpha$ -metil-androstan-4-en-11-ona*, metabolito de la **fluoximesterona** (metabolito 3, M3) asimismo excretado en forma libre y en el que tampoco se enoliza el grupo cetónico, siendo también un *3 $\alpha$ ,6 $\beta$*  dihidroxilado.

Los fragmentos más característicos son los correspondientes a los iones  $m/z=143$ , que es el pico base, y en menor concentración los iones  $m/z=283$ ,  $m/z=284$ ,  $m/z=498$  y  $m/z=568$ , que es el ión molecular.

Seleccionados los iones **143**, **283** y **284**, se ha obtenido por GC/SIM el correspondiente cromatograma. (Figura 5).

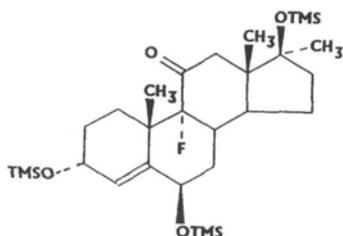
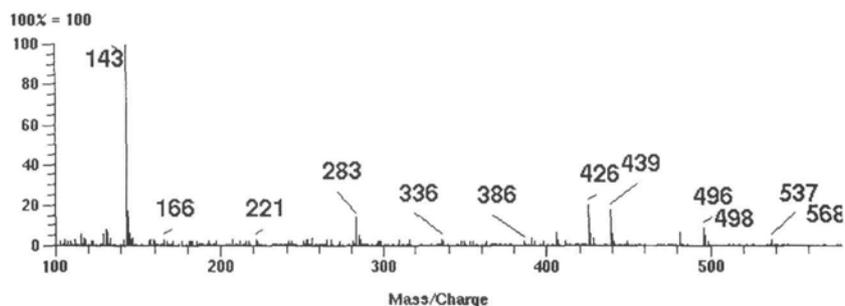
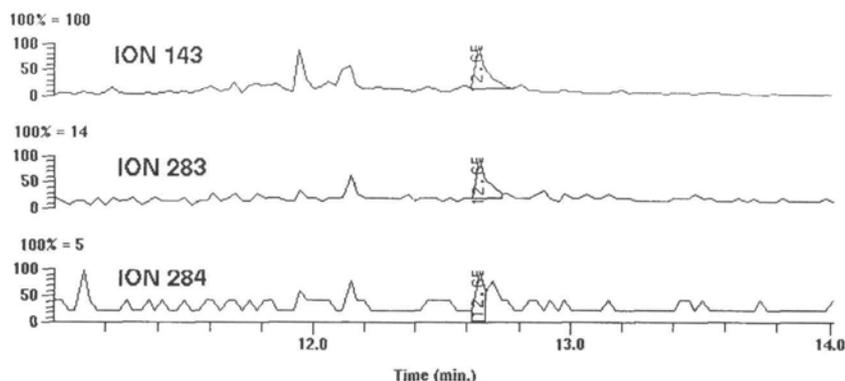


Figura 5. Cromatograma GC/SIM y espectro de masas EI del tri-TMS derivado de la *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,17 $\beta$ -trihidrox-17 $\alpha$ -metil-androstan-4-en-11-ona*.

### Fracción conjugada

En el correspondiente TIC de la fracción conjugada de la orina recolectada a las 24 horas de la administración de fluoximesterona (figura 6), se han identificado, entre todos los picos eluidos, los siguientes:

- Pico I, eluído a  $t_R=23.9$ , correspondiente al tetra-TMS-derivado del *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrahidroxi-17 $\alpha$ -metil-4-androsteno*, metabolito de la fluoximesterona que además de eliminarse en forma libre también se elimina en forma conjugada (metabolito 1, M1).

Los fragmentos más característicos son los correspondientes a los iones  $m/z=642$  (que es el ión molecular),  $m/z=552$  (correspondiente a la pérdida de una molécula de trimetilsilanol por el ión molecular),  $m/z=462$  (correspondiente a la pérdida sucesiva de los molé-

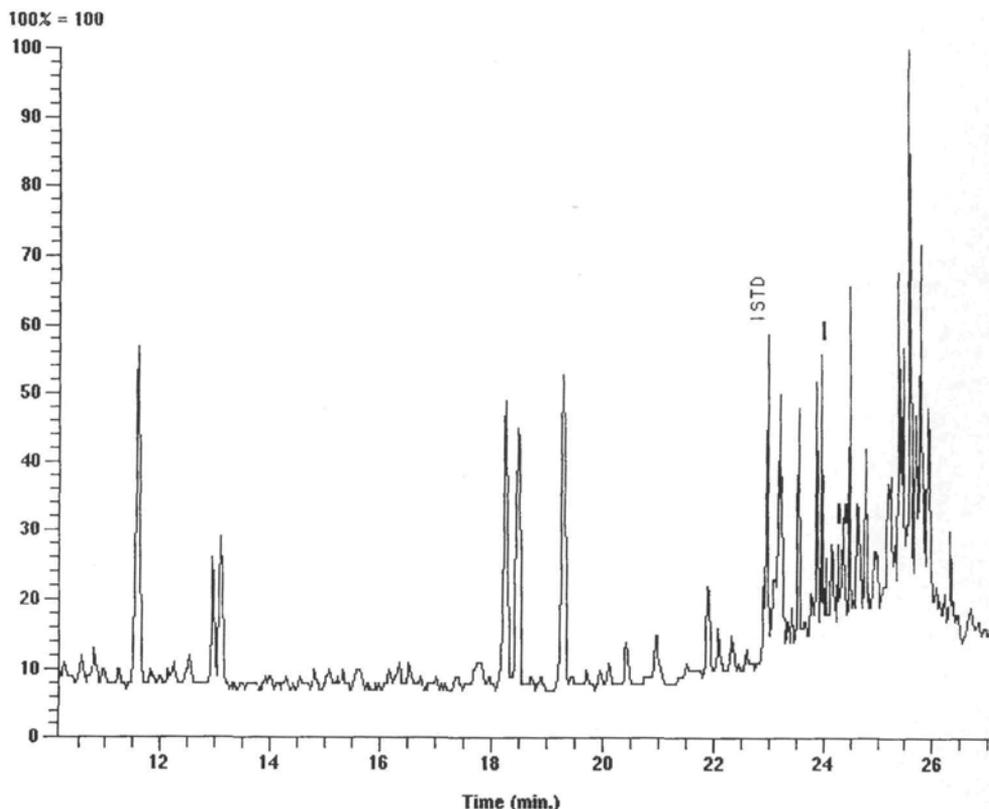


Figura 6. TIC de la fracción conjugada de una orina recogida a las 24 horas tras la administración de fluoximesterona.

- I. tetra-TMS derivado del *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrahidroxi-17 $\alpha$ -metil-4-androsteno*
- II. tetra-TMS derivado de la *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrahidroxi-17 $\alpha$ -metil-androstano*

culas de trimetil silanol),  $m/z=283$  (característico de los 3,6-bis-OTMS- $\Delta^4$ -esteroides) y  $m/z=143$ , procedente de la fragmentación del anillo D.

Seleccionados los iones **143**, **552** y **642**, se han obtenido por GC/SIM los correspondientes cromatogramas. (Figura 7).

- Pico II, eluido a  $t_R=24.2$ , correspondiente al tetra-TMS-derivado del 9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -tetrahidroxi-17 $\alpha$ -metilandrosten o (metabolito 4, M4).

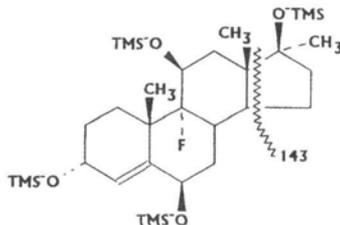
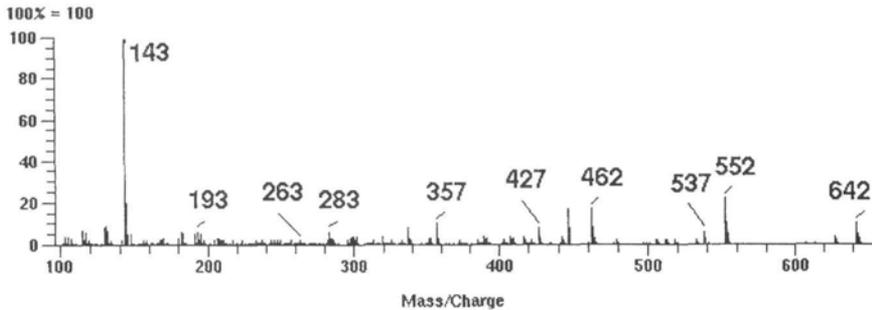
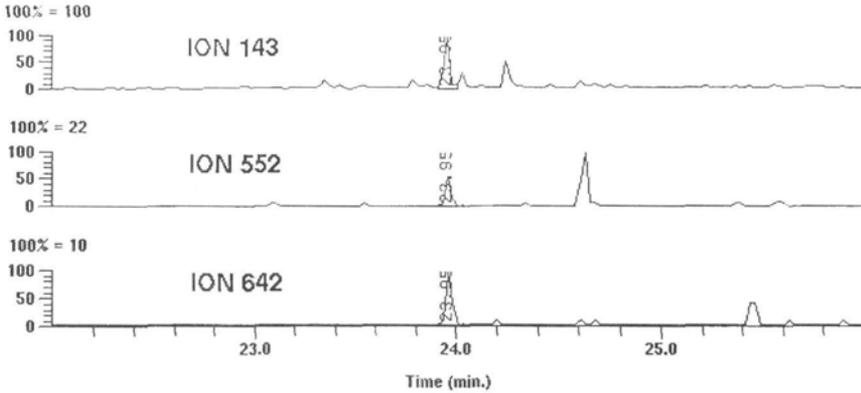


Figura 7. Cromatograma GC/SIM y espectro de masas EI del tetra-TMS derivado del 9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrahidroxi-17 $\alpha$ -metil-4-androsteno.

Los fragmentos más significativos son los que corresponden a los iones  $m/z=143$ , que es el pico base (procedente de la característica ruptura del anillo D),  $m/z=644$  (que es el ión molecular),  $m/z=554$  (correspondiente a la pérdida por el ión molecular de una molécula de trimetilsilanol, M-90),  $m/z=534$  (que resulta de la pérdida por el ión molecular de una molécula de trimetilsilanol más FH, M-90-20),  $m/z=464$  (pérdida por el ión molecular de dos moléculas de trimetilsilanol), y  $m/z=313$ .

Seleccionados los iones 143, 534 y 554, se han obtenido por GC/SIM los correspondientes cromatogramas. (Figura 8).

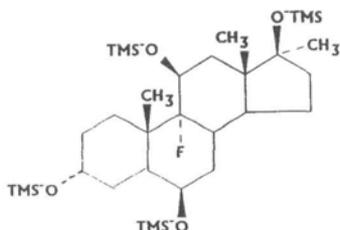
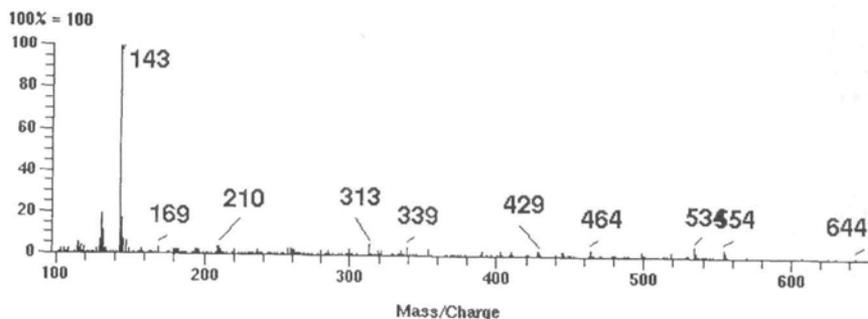
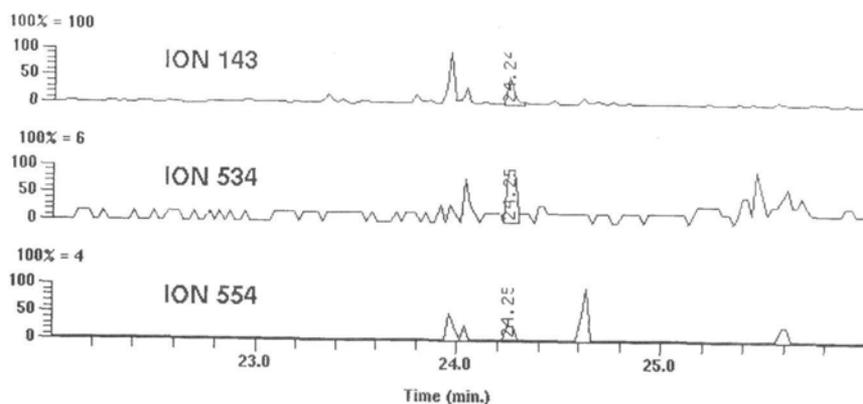
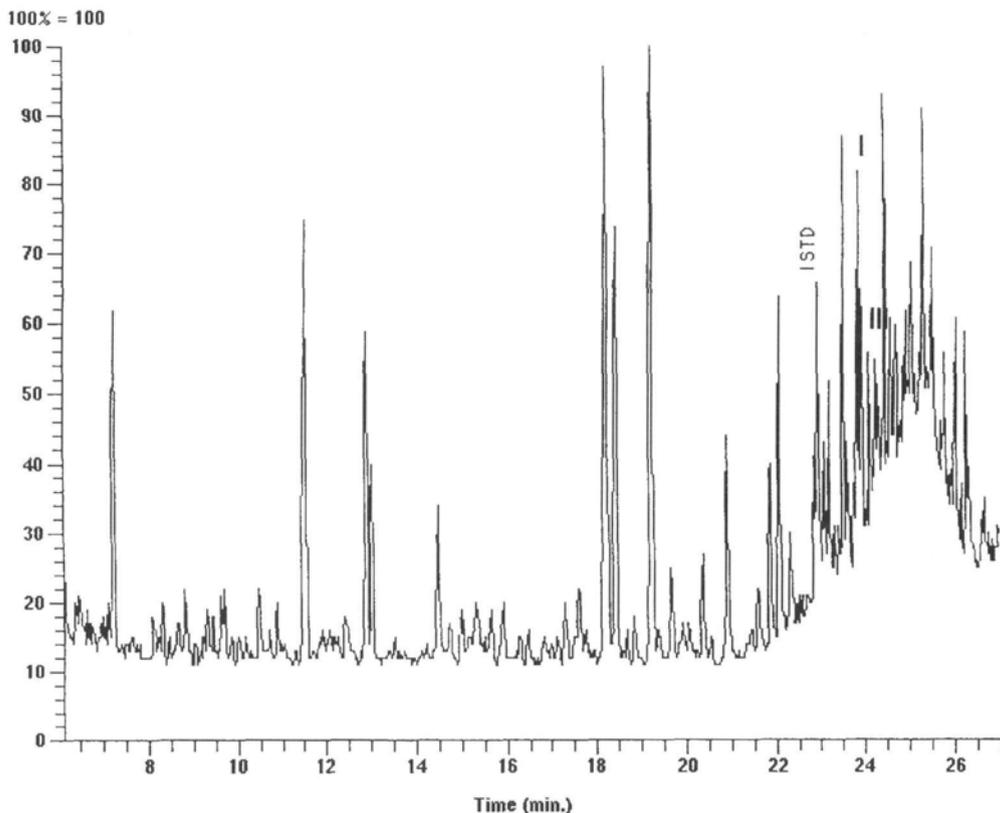


Figura 8. Cromatograma GC/SIM y espectro de masas EI del tetra-TMS derivado de la 9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrahidroxi-17 $\alpha$ -metil-androstano.

En el TIC de la orina recolectada a las 5 horas (figura 9), se han identificado entre los eluidos los siguientes picos:

- Pico I, eluido a  $t_R=23.9$ , nuevamente correspondiente al tetra-TMS-derivado del *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrahidroxi-17 $\alpha$ -metil-4-andros teno* (metabolito 1, M1).



**Figura 9.** TIC de la fracción conjugada de una orina recogida a las 5 horas tras la administración de fluoximesterona.  
I. tetra-TMS derivado del *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrahidroxi-17 $\beta$ -metil-4-androsteno*  
II. tri-TMS derivado de la *9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,17 $\beta$ -trihidroxi-17 $\beta$ -metil-androst-11-ona*

Los fragmentos significativos y los cromatogramas obtenidos tras seleccionar los iones son similares a los obtenidos anteriormente. (Figura 10).

- Pico II, eluido a  $t_R=24.2$ , correspondiente al tri-TMS-derivado de la  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,17\beta$ -trihidroxi- $17\alpha$ -metilandro- $11$ -ona, un nuevo metabolito de la **fluoximesterona** eliminado en forma conjugada (metabolito 5, M5).

Los fragmentos más significativos son:  $m/z=570$ , ión molecular con una relativa abundancia;  $m/z=480$ , procedente de la pérdida de una molécula de trimetilsilanol por el ión mole-

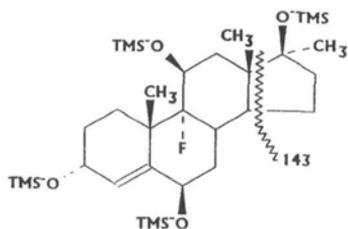
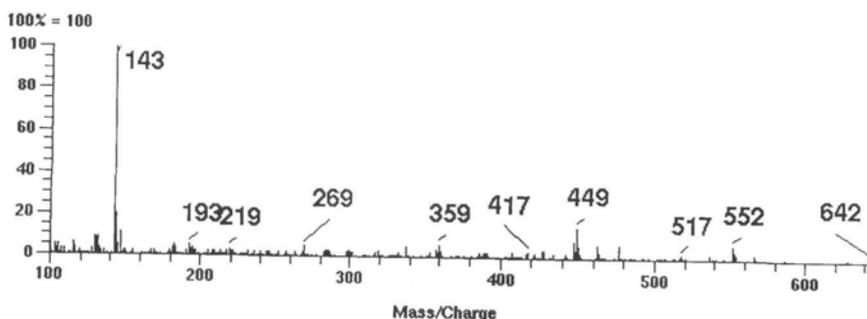
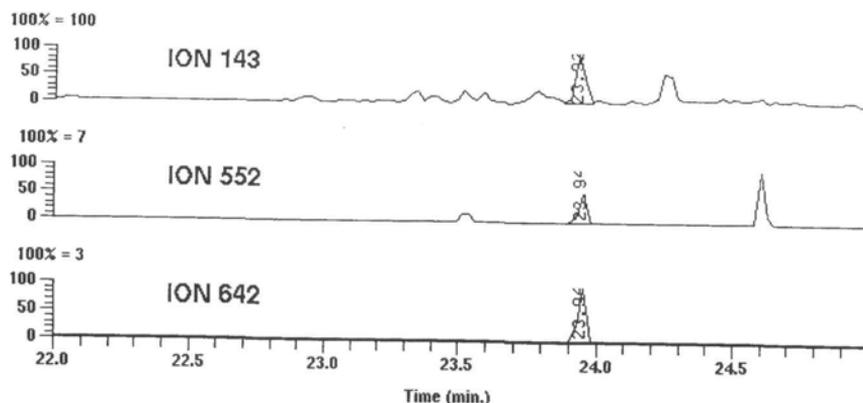


Figura 10. Cromatograma GC/SIM y espectro de masas EI del tetra-TMS derivado del  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\alpha,11\alpha,17\alpha$ -tetrahidroxi- $17\alpha$ -metil-4-androsteno.

cular (M-90);  $m/z=465$ , que resulta de una pérdida de una molécula de trimetilsilanol y de un grupo metilo en el ión molecular (M-90-15);  $m/z=390$ , que procede de la pérdida en el ión molecular de dos moléculas de trimetilsilanol (M-90-90); y  $m/z=143$ , procedente de la fragmentación del anillo D, y que es el pico base.

Seleccionados los iones 143, 480 y 570, se han obtenido por GC/SIM los correspondientes cromatogramas. (Figura 11).

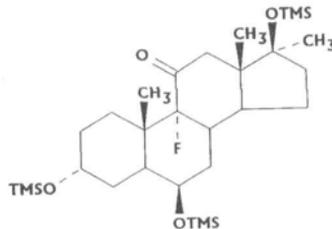
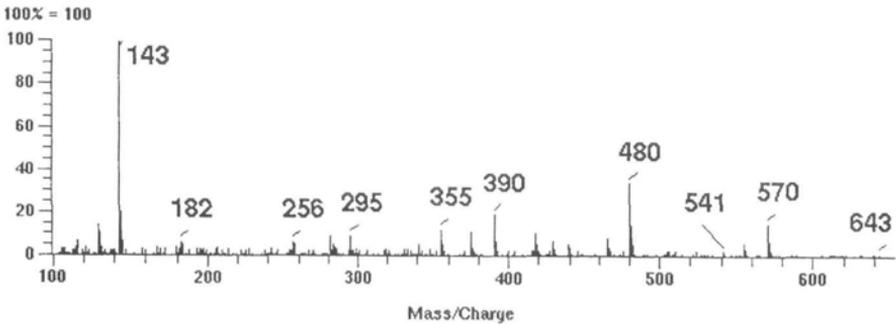
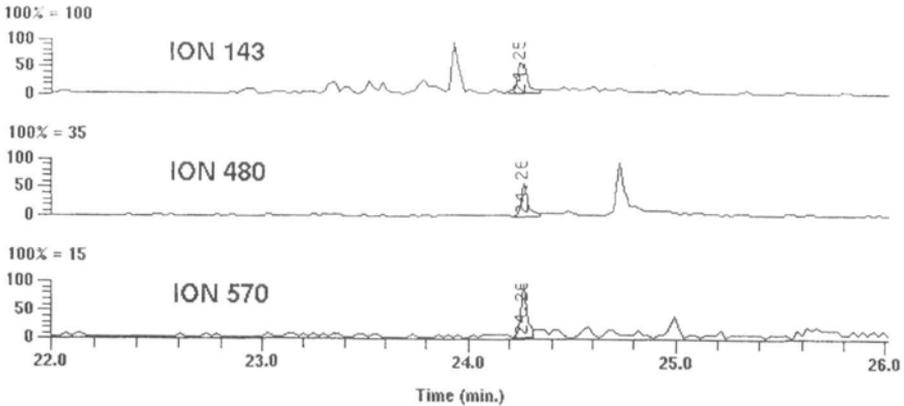
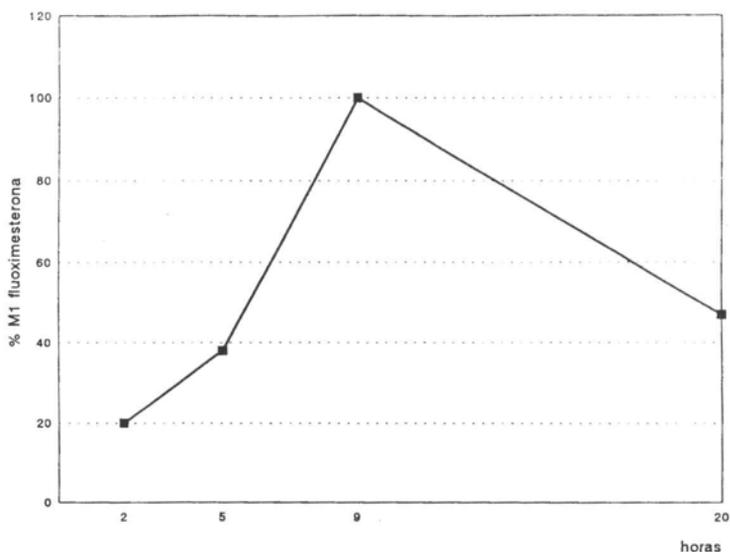


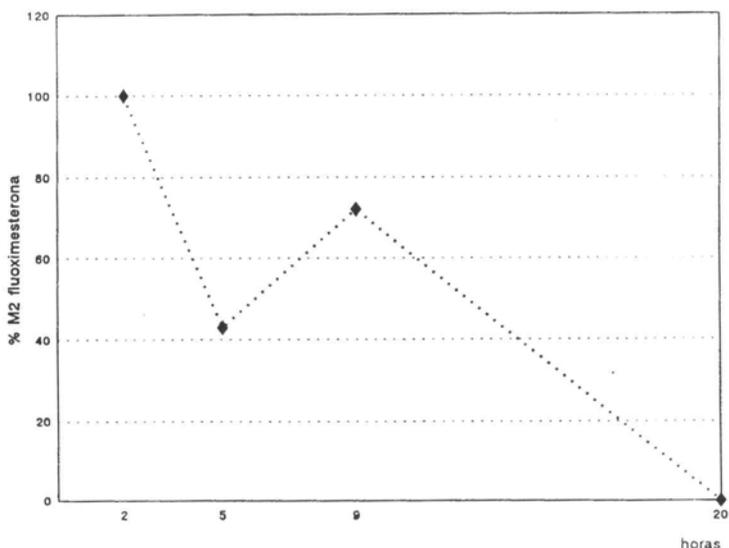
Figura 11. Cromatograma GC/SIM y espectro de masas EI del tri-TMS derivado de la 9 $\alpha$ -flúor-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,17 $\beta$ -trihidroxi-17 $\alpha$ -metil-androst-11-ona.

### Estudio cinético de excreción

En las figuras 12, 13 y 14 se muestra el perfil de eliminación por orina de los tres metabolitos excretados en la fracción libre que se han identificado. La figura 15 representa la com-



**Figura 12.** Perfil de eliminación por orina del  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,11\beta,17\beta$ -tetrahidroxi- $17\alpha$ -metil-4-androsteno, metabolito excretado en forma libre tras la administración de 20 mg. de fluoximesterona.



**Figura 13.** Perfil de eliminación por orina de la  $9\alpha$ -flúor- $6\beta,11\beta,17\beta$ -trihidroxi- $17\alpha$ -metil-4-androstan-3-ona, metabolito excretado en forma libre tras la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

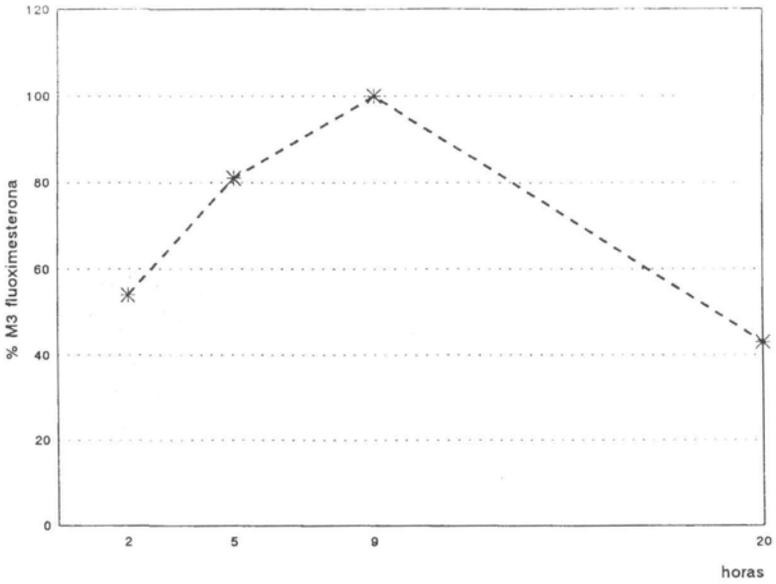


Figura 14. Perfil de eliminación por orina de la  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,17\beta$ -trihidroxi- $17\alpha$ -metil-androst-4-en-11-ona, metabolito excretado en forma libre tras la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

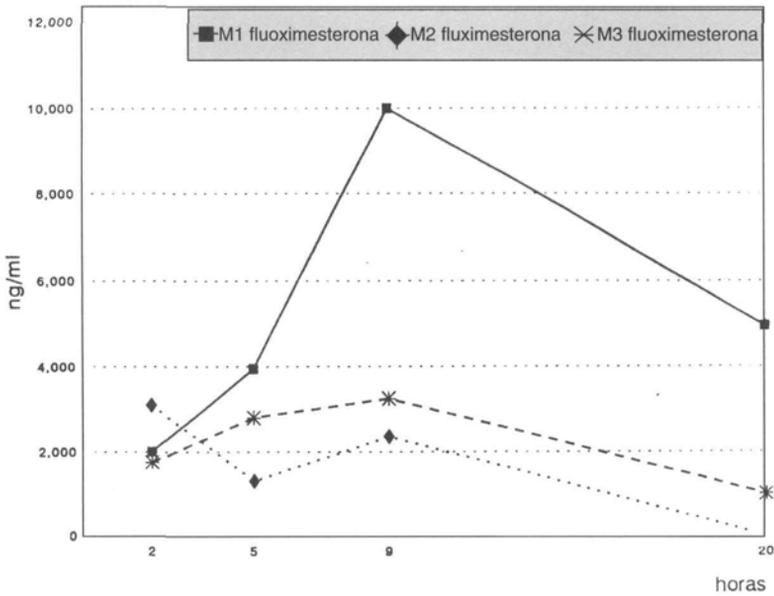


Figura 15. Comparación en valores absolutos de la eliminación en el tiempo de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados entre los que se excretan en forma libre tras la administración de 20 mg. de este esteroide.

paración en valores absolutos de la eliminación, a lo largo del tiempo, de estos metabolitos. En estas gráficas se pone de manifiesto que, salvo en el caso de la dihidro-3,11-diona (metabolito M2), que tiene un máximo de eliminación a las 2 horas, los otros metabolitos presentan dicho máximo a las 9 horas. En la orina correspondiente a las 20 horas sólo se han podido detectar dos de los tres metabolitos, la tetrahidrofluoximesterona (metabolito M1) y la trihidroxifluoximesterona (metabolito M3). Además estos dos últimos metabolitos son los que se eliminan en mayor cantidad absoluta y parcial. En las figuras 16, 17, 18 y 19,

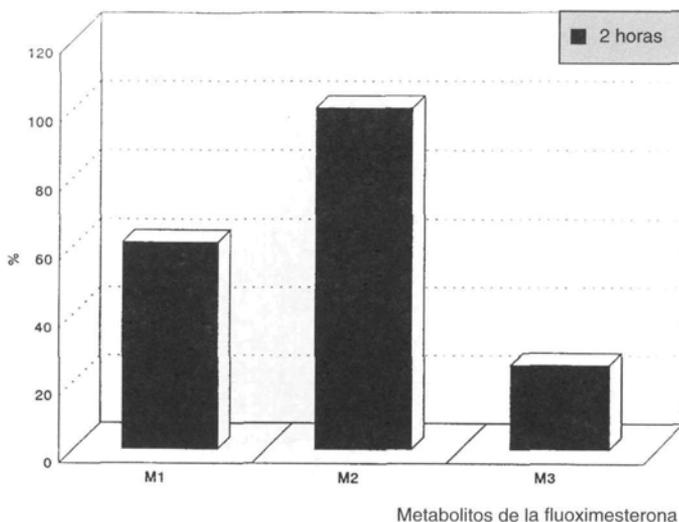


Figura 16. Distribución de la eliminación de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados en la fracción libre a las 2 horas de la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

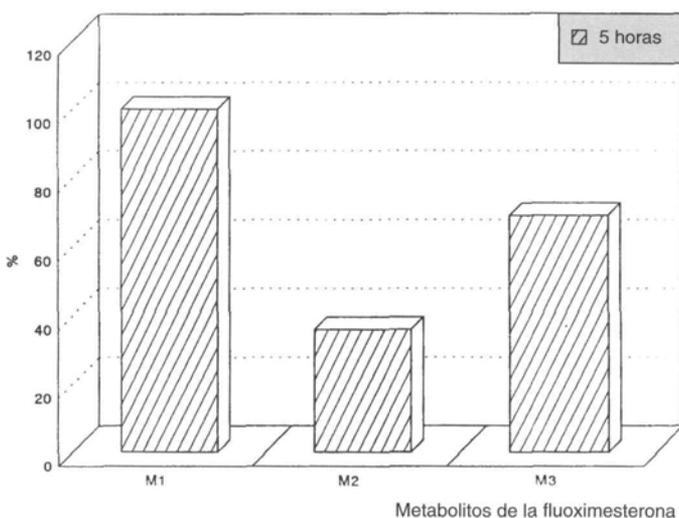


Figura 17. Distribución de la eliminación de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados en la fracción libre a las 5 horas de la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

en las que se representa la distribución de los tres metabolitos en cuatro intervalos de tiempo diferentes (2, 5, 9 y 20 horas) se observa que la tetrahydrofluoximesterona (M1) y la 3 $\alpha$ -trihidroxifluoximesterona (M3) son los metabolitos más abundantes a partir de las 5 horas de la administración de la **fluoximesterona**.

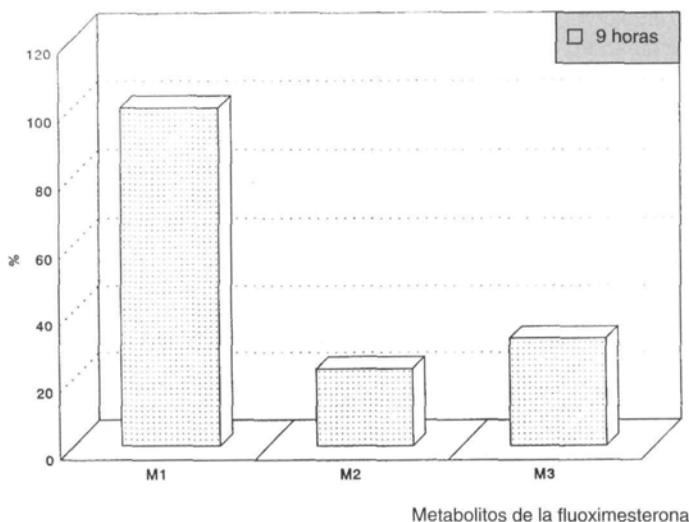


Figura 18. Distribución de la eliminación de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados en la fracción libre a las 9 horas de la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

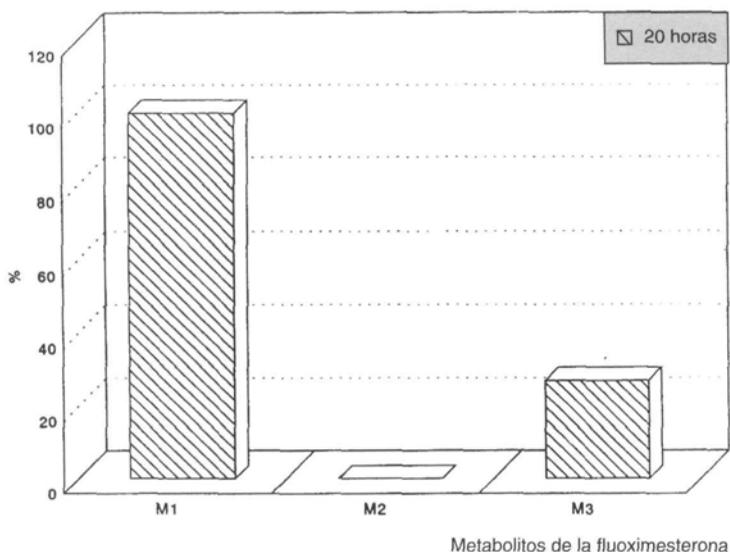


Figura 19. Distribución de la eliminación de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados en la fracción libre a las 20 horas de la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

En las figuras 20, 21 y 22 se presentan los perfiles de eliminación en orina de cada uno de los tres metabolitos identificados en la fracción conjugada. En la figura 23 se presenta la comparación en valores absolutos de la eliminación de dichos metabolitos. En contra de lo que ocurría en la fracción libre, en la que los metabolitos se empezaban a detectar a partir

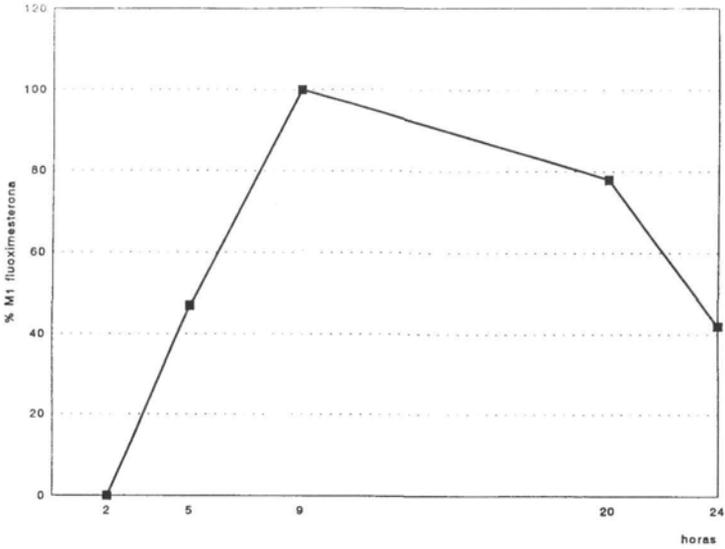


Figura 20. Perfil de eliminación por orina del  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,11\beta,17\beta$ -tetrahidroxi- $17\alpha$ -metil-4-androsteno, metabolito excretado en forma conjugada tras la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

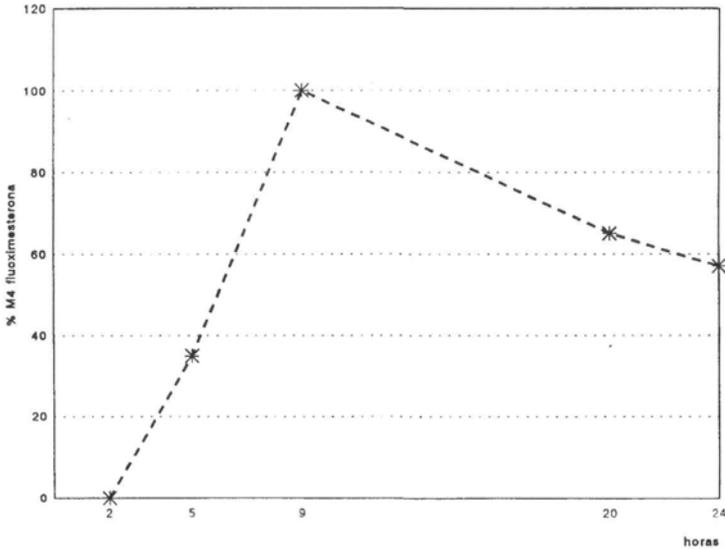


Figura 21. Perfil de eliminación por orina del  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,11\beta,17\beta$ -tetrahidroxi- $17\alpha$ -metilandrostando, metabolito excretado en forma conjugada tras la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

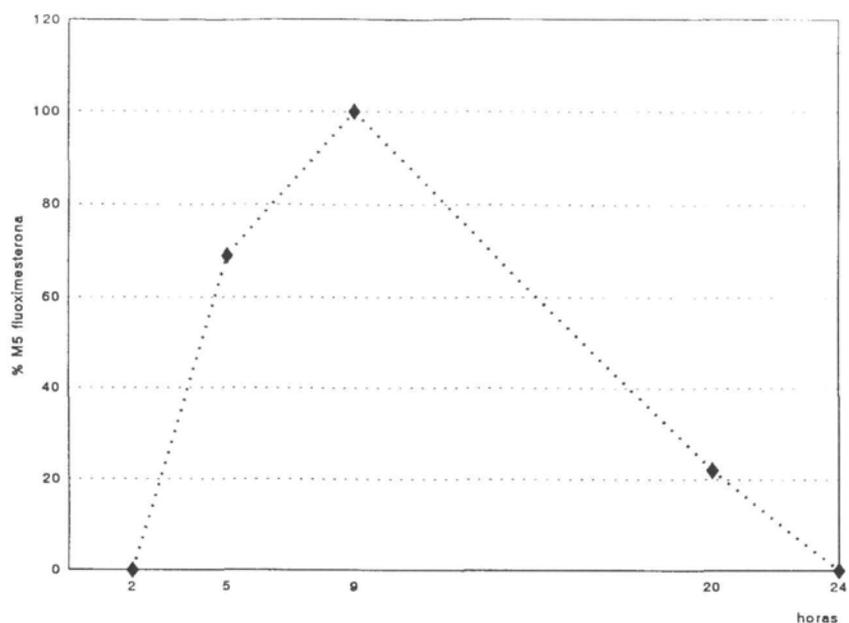


Figura 22. Perfil de eliminación por orina de la  $9\alpha$ -flúor- $3\alpha,6\beta,17\beta$ -trihidroxi- $17\alpha$ -metilandro- $11$ -ona, metabolito excretado en forma conjugada tras la administración de 20 mg. de fluximesterona.

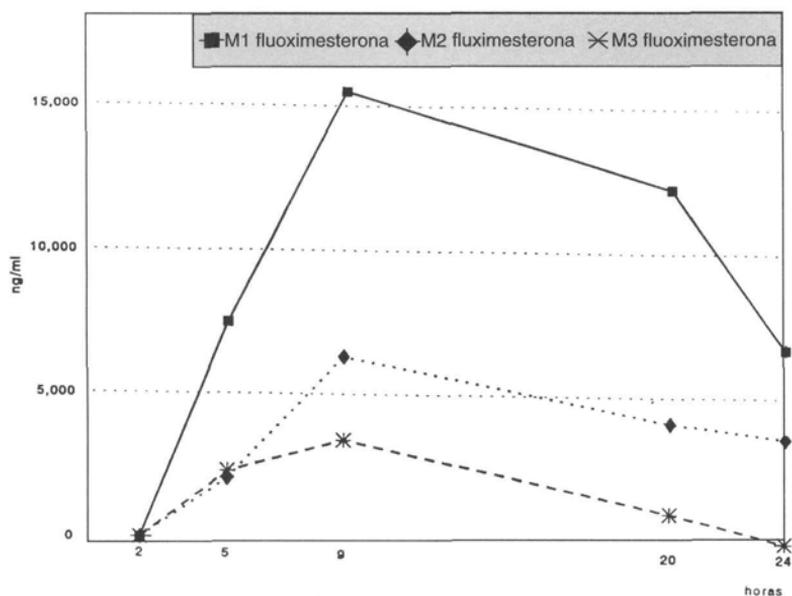
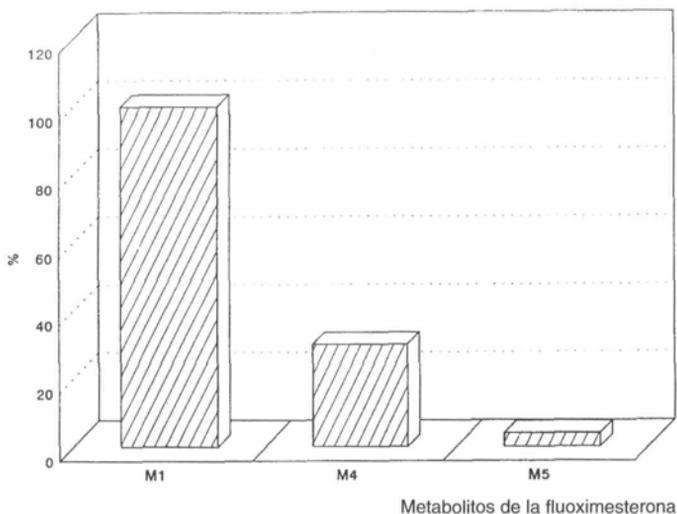
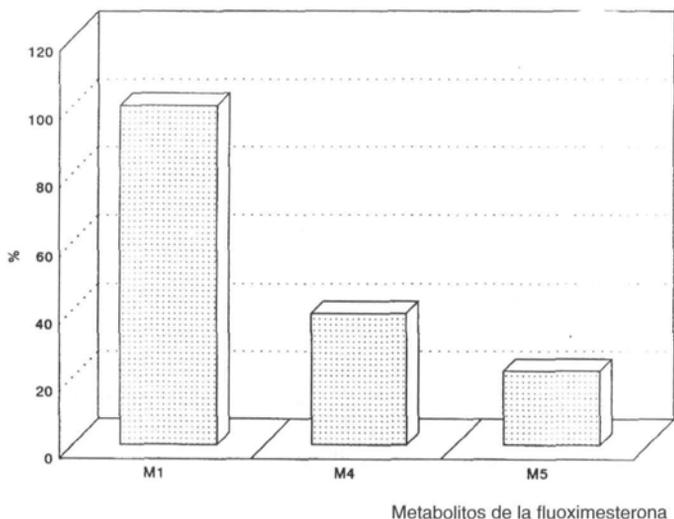


Figura 23. Comparación en valores absolutos de la eliminación en el tiempo de los tres metabolitos de la fluximesterona detectados, entre los que se excretan en forma conjugada, tras la administración de 20 mg. de este esteroide.

de las 2 horas de la administración de la **fluoximesterona**, en esta fracción los metabolitos se empiezan a detectar a las 5 horas, teniendo un máximo de eliminación a las 9 horas. Sólo la tetrahidroxifluoximesterona (M1) y la dihidrotetrahidroxifluoximesterona (M4) se siguen detectando pasadas las primeras 24 horas tras la administración del esteroide; y además son los que se excretan en mayor cantidad tanto absoluta como parcial, como se puede observar en las figuras 24, 25, 26 y 27, en las que se muestra la distribución de los tres metabolitos en diferentes intervalos de tiempo (5, 9, 20 y 24 horas).



**Figura 24.** Distribución de la eliminación de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados en la fracción conjugada a las 5 horas de la administración de 20 mg. de fluoximesterona.



**Figura 25.** Distribución de la eliminación de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados en la fracción conjugada a las 9 horas de la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

En definitiva, al ser el el  $9\alpha$ -flúor- $3\beta,6\beta,11\beta,17\beta$ -tetrahidroxi- $17\beta$ -metil-4-androsteno el metabolito (M1) que se excreta tanto libre como conjugado y que se elimina en mayor cantidad y durante más tiempo, es este metabolito el de elección para detectar una administración de **fluoximesterona**.

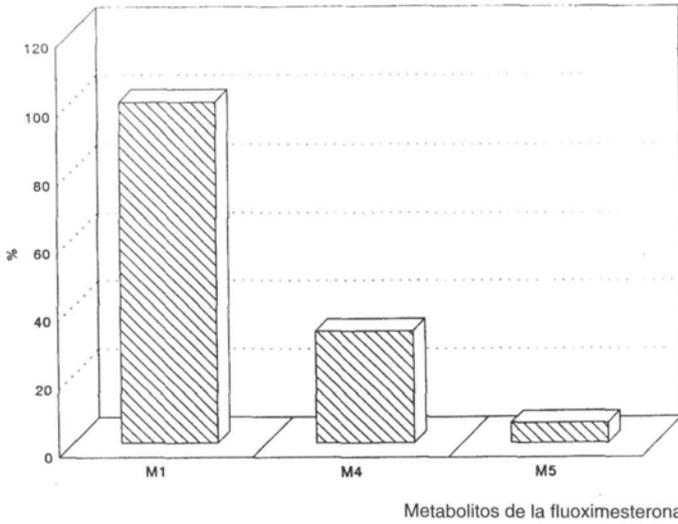


Figura 26. Distribución de la eliminación de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados en la fracción libre a las 20 horas de la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

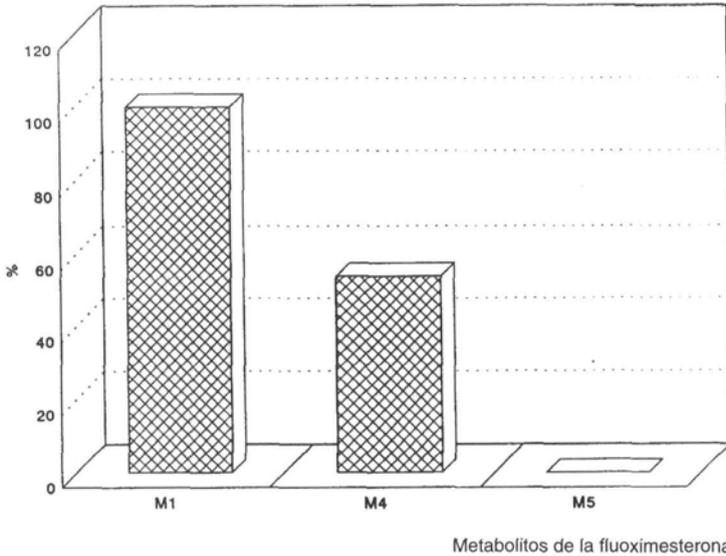
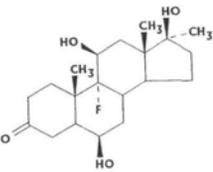
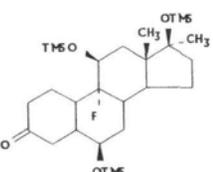
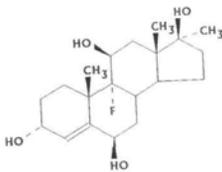
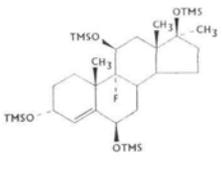
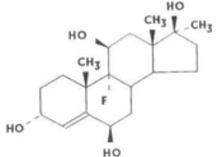
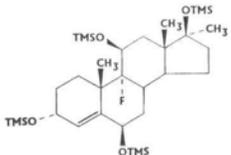


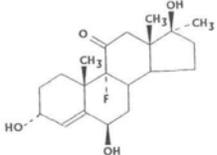
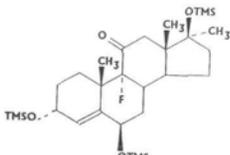
Figura 27. Distribución de la eliminación de los tres metabolitos de la fluoximesterona detectados en la fracción conjugada a las 24 horas de la administración de 20 mg. de fluoximesterona.

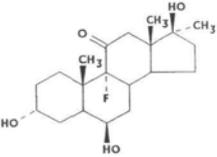
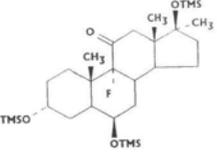
FLUOXIMESTERONA		
Datos analíticos (2)		
Sustancia química detectada	9 $\alpha$ -Flúor-17 $\alpha$ -metil-androstan-3-ona-6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -triol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Libre	
Derivado fracción libre	tri-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	406 = M-90 391 (PB) = M-90-15 303	
Iones seleccionados (m/z)	391 303 416	

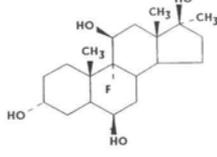
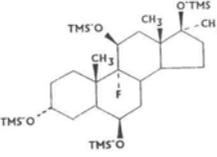
RESUMEN DE LOS DATOS ANALITICOS

FLUOXIMESTERONA		
Datos analíticos (1)		
Sustancia química detectada	9 $\alpha$ -Flúor-17 $\alpha$ -metil-androst-4-en-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Libre	
Derivado fracción libre	tetra-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	642 = M 552 = M-90 532 = M-90-20 462 = M-90-90 143 (PB)	
Iones seleccionados (m/z)	143 552 642	

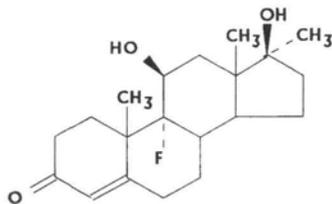
FLUOXIMESTERONA	
Datos analíticos (4)	
Sustancia química detectada	9 $\alpha$ -Flúor-17 $\alpha$ -metil-androst-4-eno-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ -17 $\beta$ -trotol
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Conjugada
Derivado fracción libre	tetra-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	462 = M 552 = M-90 462 = M-90-90 283 143 (PB)
Iones seleccionados (m/z)	143 552 642

FLUOXIMESTERONA	
Datos analíticos (3)	
Sustancia química detectada	9 $\alpha$ -Flúor-17 $\alpha$ -metil-androstan-4-en-11-ona-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ -17 $\beta$ -trotol
Compuesto excretado	Metabolito 
Forma de excreción	Libre
Derivado fracción libre	tri-TMS 
Fragmentos principales (m/z)	568 = M 498 284 283 143
Iones seleccionados (m/z)	143 283 284

FLUOXIMESTERONA		
Datos analíticos (6)		
Sustancia química detectada	9 $\alpha$ -Flúor-17 $\alpha$ -metil-androst-11-ona-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ -17 $\beta$ -triol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción libre	tri-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	570 = M 480 = M-90 465 = M-90-15 390 = M-90-90 143 (PB)	
Iones seleccionados (m/z)	143 480 570	

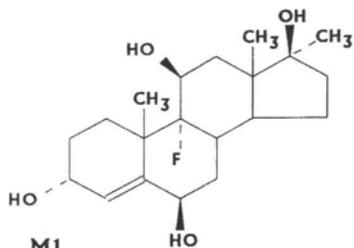
FLUOXIMESTERONA		
Datos analíticos (5)		
Sustancia química detectada	9 $\alpha$ ,-Flúor-17 $\alpha$ -metil-androstano-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrol	
Compuesto excretado	Metabolito	
Forma de excreción	Conjugada	
Derivado fracción conjugada	tetra-TMS	
Fragmentos principales (m/z)	644 = M 554 = M-90 534 = M-90-20 464 = M-90-90 313 143 (PB)	
Iones seleccionados (m/z)	143 534 554	

## METABOLITOS DE LA FLUOXIMESTERONA



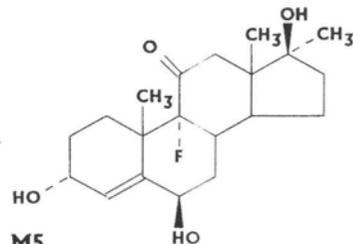
## FLUOXIMESTERONA

9alfa-flúor-11beta,  
17beta-dihidroxi-17alfa-metilandro-4-en-3-ona



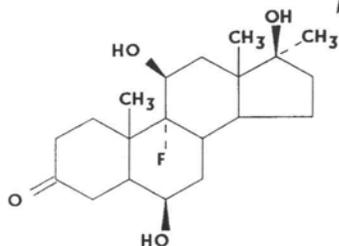
M1

9alfa-flúor-3alfa,6beta,11beta,  
17betatetrahidroxi-17alfa-metilandro-



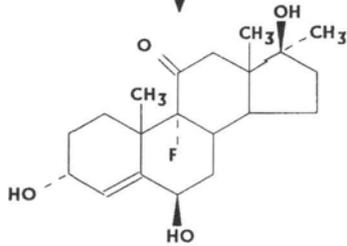
M5

9alfa-flúor-3alfa,6beta,  
17beta-trihidroxi-17alfa-metilandrostan-11-ona



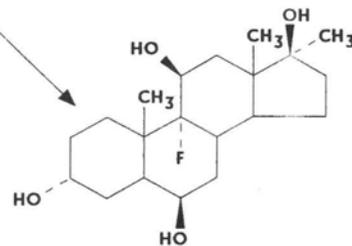
M2

9alfa-flúor-6beta,11beta,  
17beta-trihidroxi-17alfa-metilandrostan-3-ona



M3

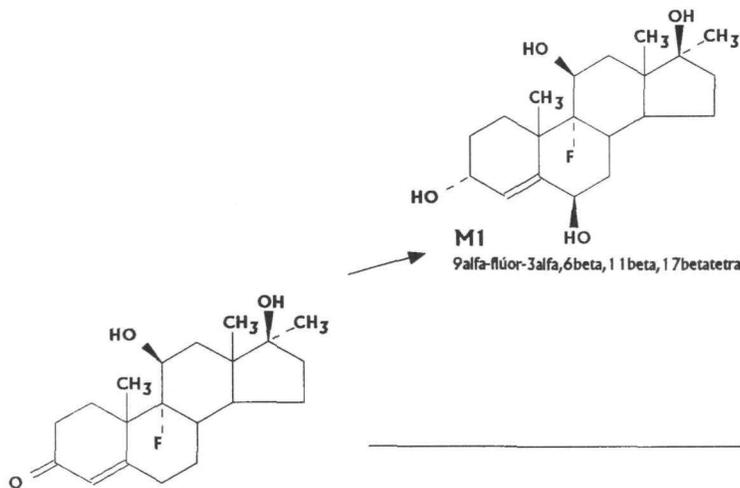
9alfa-flúor-3alfa,6beta,  
17beta-trihidroxi-17alfa-metilandro-4-en-11-ona



M4

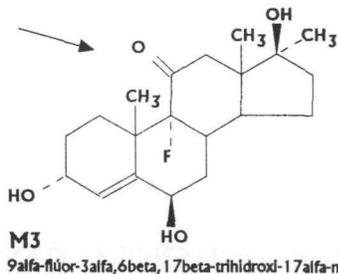
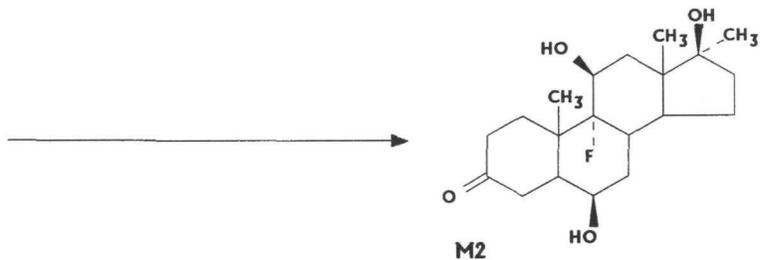
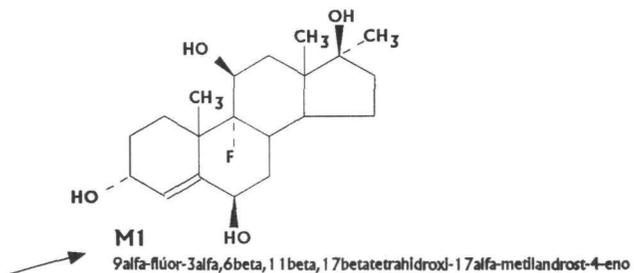
9alfa-flúor-6beta,11beta,  
17beta-tetrahidroxi-17alfa-metilandro-

## METABOLISMO DE LA FLUOXIMESTERONA (fracción libre)

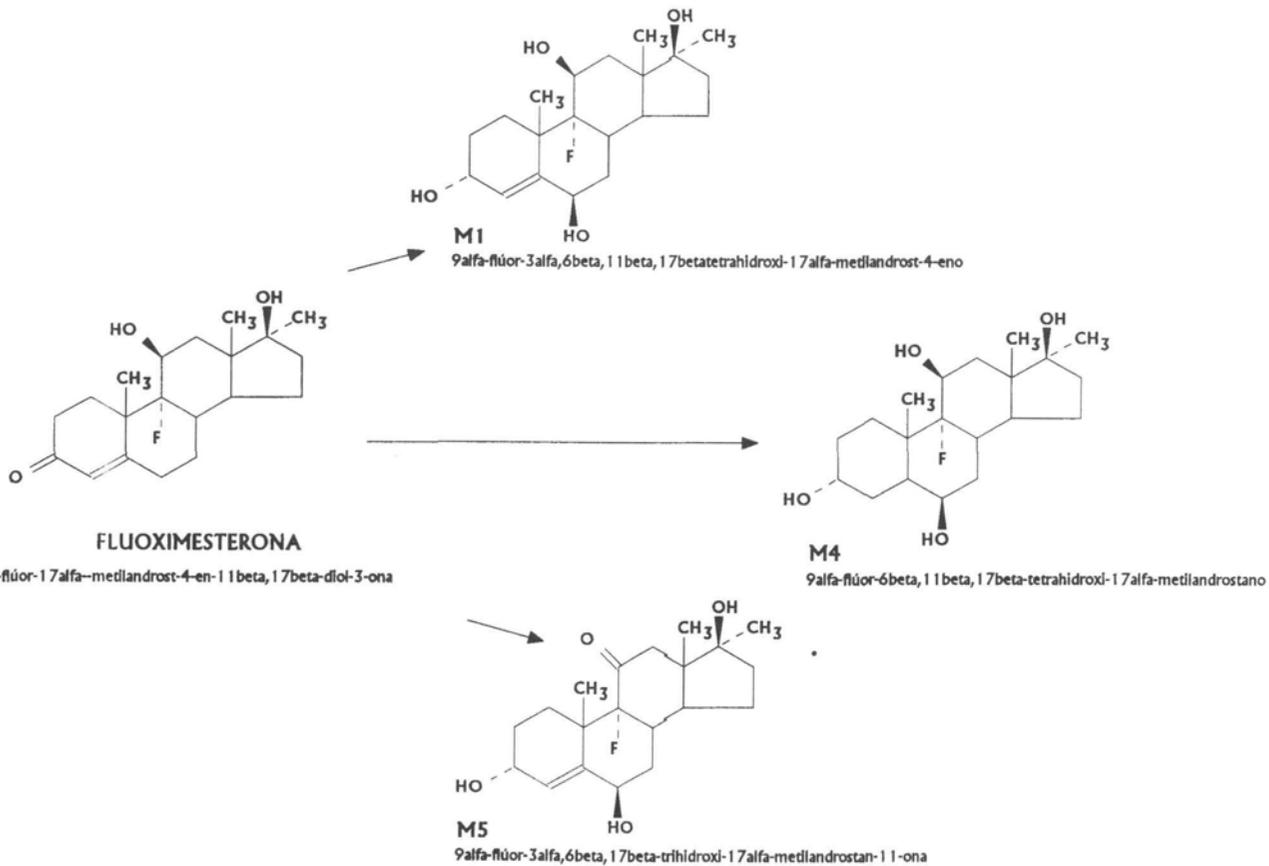


**FLUOXIMESTERONA**

9alfa-flúor-11beta,17beta-dihidroxi-17alfa-metilandroster-4-en-3-ona



## METABOLISMO DE LA FLUOXIMESTERONA (fracción conjugada)



## 5. CONCLUSIONES

1. Tras la administración oral de dosis terapéuticas de los esteroides anabolizantes, sus productos de biotransformación eliminados se han encontrado en todos los casos en bajas concentraciones, del orden de nanogramos/mililitro.
2. En el medio fisiológico estudiado estas mismas sustancias se encuentran, en su mayor parte, excretadas en forma conjugada con el ácido glucurónico o sulfúrico.
3. Con la metodología desarrollada se han detectado, según los esteroides, tanto compuestos padre como metabolitos. Y asimismo se detectan tanto si se excretan libres como conjugados.
4. Los productos de biotransformación de los esteroides anabolizantes administrados en dosis terapéuticas por vía oral se han detectado, por término medio, durante los primeros 3-4 días posteriores a la administración, presentándose mayoritariamente su máximo de eliminación entre las primeras 6-12 horas, aunque puede haber casos extremos por defecto y por exceso en función de diversos condicionantes.
5. Los productos eliminados correspondientes a cada esteroide anabolizante no se detectan simultáneamente en todas las muestras recogidas tras la administración del esteroide.
6. Consecuentemente a la similitud estructural de los esteroides anabolizantes se han detectado vías metabólicas comunes, siendo las más destacables las correspondientes a:

a) **Epimerización:**                    *Metandienona* (M1)  
    *Oxandrolona* (M1)  
    *Trembolona* (M1)

b) **Hidroxilación:**

b<sub>1</sub>) *En 6β:*                                *Dehidroclormetiltestosterona* (M1)  
    *Fluoximesterona* (M1, M2, M3, M4 y M5)  
    *Metandienona* (M2)

b<sub>2</sub>) *En 16:*                                *Furazabol* (M1)

b<sub>3</sub>) *Indeterminada:*                    *Oximetolona* (M2)

c) **Reducción del anillo A:**

c<sub>1</sub>) *3-ceto a 3-hidroxi:*                *Bolasterona* (M1)  
    *Boldenona* (M2)  
    *Drostanolona* (M1)  
    *Fluoximesterona* (M1, M3, M4 y M5)  
    *Mesterolona* (M1)  
    *Metandienona* (M3 y M4)

**Metiltestosterona** (M1 y M2)  
**Nandrolona** (M1 y M2)  
**Noretandrolona** (M1 y M2)  
**Oximetolona** (M1 y M2)

c<sub>2</sub>: Otras: **Boldenona** (M1)  
**Metandienona** (M3 y M4)  
**Noretandrolona** (M1 y M2)

d) **Oxidación**

d<sub>1</sub>) 17-OH a 17-ona: **Boldenona** (M2)  
**Clostebol** (M1)  
**Drostanolona** (M1)  
**Mesterolona** (M1)

d<sub>2</sub>) 11-OH a 11-ona: **Fluoximesterona** (M2, M3 y M5)

7. Se han detectado e identificado los siguientes productos de eliminación no descritos en la bibliografía:

**Fluoximesterona** (M2, M3, M4 y M5)  
**Mesterolona** (PC)

Además se han estudiado las fragmentaciones, no descritas bibliográficamente, de los siguientes productos de eliminación:

**Bolasterona** (PC)  
**Boldenona** (M2)  
**Calusterona** (PC, M1 y M2)  
**Furazabol** (PC y M1)  
**Noretandrolona** (M2)

8. Se han detectado metabolitos comunes a los siguientes grupos de esteroides anabolizantes:

- a) **Metandienona - Metandriol - Metiltestosterona**  
b) **Mestanolona - Metiltestosterona - Oximetolona**

Y metabolitos comunes entre la nandrolona y la noretindrona, cuya identificación individual es resoluble analíticamente.

9. En función principalmente de la estructura química y de los TMS-derivados formados, se han encontrado fragmentaciones moleculares, intensas y específicas, comunes a diversas moléculas eliminadas tras la administración oral de esteroides anabolizantes. Las fragmentaciones más características han sido las siguientes:

i) **Fragmentos procedentes de rupturas en el anillo D**

- Ión  $m/z=143$ , característico de los  $17\alpha$ -metil,  $17\beta$ -OTMS esteroides, que se produce tras una fuerte fragmentación del anillo D esteroideo por los enlaces 13-17 y 14.15, y que se corresponde con uno de los principales e intensos iones considerados en la detección de:

**Bolasterona** (M1)  
**Calusterona** (M1 y M2)  
**Dehidroclormetiltestosterona** (M1)  
**Estanozolol** (M1)  
**Fluoximesterona** (M1, M3, M4 y M5)  
**Formebolona** (M1)  
**Furazabol** (PC)  
**Mestanolona** (M1)  
**Metandienona** (M1, M2, M3 y M4)  
**Metandriol** (M1)  
**Metiltestosterona** (M1 y M2)  
**Noretandrolona** (M1) (En este caso,  $m/z=157$ ,  $143+14$ )  
**Oxandrolona** (PC y M1)  
**Oximetolona** (M1 y M2)

- Ión  $m/z=130$ , producida por la ruptura del enlace 15-16, y que ha conducido a un ión a considerar en la detección de las siguientes moléculas:

**Calusterona** (M1 y M2)  
**Metandienona** (M4)  
**Metandriol** (M1)  
**Metiltestosterona** (M2)  
**Noretandrolona** (M1) (En este caso,  $m/z=144$ ,  $130+14$ )  
**Oximetolona** (M1)

## ii) Fragmentos procedentes de rupturas en el anillo A

- Ión  $m/z=129$ , característico de los TMS-derivados de los  $\Delta^5$ -3-hidroxiesteroides, de los C19-hidroxiesteroides y de los  $6\beta$ -hidroxiesteroides, hidroxiesteroides todos en los que los sustituyentes trimetilsilano, además de mejorar las propiedades cromatográficas, ejercen un gran poder direccional en la fragmentación, originando fragmentaciones del anillo A por los enlaces 1-6 y 3-4. Este ión, como fragmento a considerar, se ha encontrado en las siguientes moléculas detectadas:

**Boldenona** (PC, M1 y M2)  
**Calusterona** (PC)  
**Metiltestosterona** (M1)

- Ión  $m/z=231$ , fragmento característico de una estructura bis-TMS-17-metil-16,17-diol, y que se ha encontrado en:

**Furazabol** (M1)

- Ión  $m/z=308$ , que se origina tras la ruptura del anillo A por los enlaces 1-10 y 4-5, y que se ha encontrado como característica en:

**Oxandrolona** (PC y M1)

### iii) Otros fragmentos

Los fragmentos más abundantes y característicos encontrados en las moléculas estudiadas han sido, además de los mencionados, los que resultan de la pérdida por el ión molecular de sucesivos radicales metilo y moléculas de trimetilsilanol (M-CH<sub>3</sub> y M-TMSOH).

Estas fragmentaciones se producen más o menos extensamente en todas las moléculas identificadas como hidroxisteroides TMS-derivados, excepto en el caso del metabolito M3 de la **fluoximesterona**.

Cuando los esteroides poseen grupos OTMS axiales se han encontrado fragmentos M-TMSOH abundantes, debido a que existe una interacción 1-3-diaxial con los hidrógenos de estas posiciones. Asimismo, cuando la molécula del esteroide posee sustituyentes OTM axiales se produce un fragmento muy abundante, que en ocasiones es el pico base del espectro, y que corresponde a la pérdida sucesiva de dos moléculas de trimetilsilanol, como es el caso de los 3 $\alpha$ ,6 $\beta$ -bis-OTMS-esteroides siguientes:

**Bolasterona** (M1)

**Calusterona** (PC, M1 y M2)

**Fluoximesterona** (M1, M4 y M5)

**Metandienona** (M3 y M4)

**Metandriol** (M1)

**Metilt testosterona** (M1 y M2)

**Oximetolona** (M2)

Por el contrario, cuando el esteroide posee dos sustituyentes OTMS, uno axial y uno ecuatorial, se hace más difícil la pérdida de dos moléculas de TMSOH, debido a la falta de disponibilidad de protones a una distancia adecuada, siendo en este caso posible la pérdida de una molécula de TMSOH y de un radical OTMS para dar un fragmento M-TMSOH-TMSO, que es lo que se ha encontrado que ocurre con:

**Furazabol** (M1)

**Metandienona** (M2)

10. Las moléculas detectadas se encuentran en una matriz orgánica en la que aparecen también secretados un elevado número de moléculas endógenas con estructuras similares, lo cual ha conducido a encontrar algunas impurificaciones en los picos eluidos, como por ejemplo en el caso de la nandrolona.

## **6. BIBLIOGRAFIA**

1. SCHÄNZER, W.; DONIKE, M.: "Metabolism of anabolic steroids in man; synthesis and use of reference substances for identification of anabolic steroid metabolites". *Analytica Chimica Acta*, 275:23-48, (1993).
2. KAMMERER, R.C.; MERDINK, J.L.; JAGELS, M.; CATLIN, D.H.; HUI, K.K. J. *STEROID BIOCHEM.*, 36:659, (1990).
3. "THE MERCK INDEX", Eleventh edition. Merck @ Co., Inc. (1989).
4. "MARTINDALE THE EXTRA PHARMACOPOEIA". 29th Edition. (1989).
5. CLARKE'S ISOLATION AND IDENTIFICATION OF DRUGS. The Pharmaceutical Press, (1986).
6. HERR, M.E.; HOFF, J.A.; LEVIN, R.H. *J. Am. Chem. Soc.*, 78:501, (1956).



# FACTORES ACTUANTES SOBRE EL PERFIL HORMONAL ESTEROIDEO

*Rodríguez Bueno, C.*

**Dirección para correspondencia:**

Cecilia Rodríguez Bueno  
Laboratorio de Control de Dopaje  
Consejo Superior de Deportes  
C/ Martín Fierro, s/n  
28040 Madrid



**Cecilia Rodríguez Bueno.** Doctora en Ciencias Químicas. Directora del Laboratorio de Control del Dopaje del Consejo Superior de Deportes. Secretaria de la Comisión Nacional Antidopaje. Miembro de la Comisión Médica de los Juegos del Mediterráneo. Experta acreditada para análisis de control de dopaje en el Laboratorio Nacional de Análisis de Dopaje de Francia. Profesora de cursos de doctorado, masters y especialidad de Medicina deportiva en diversas Universidades (Complutense, Autónoma y Politécnica de Madrid, de Granada y Autónoma de Barcelona). Profesora invitada por diversas Universidades y por el Comité Olímpico Español. Directora y conductora de varias tesis doctorales y miembro del Tribunal de Tesis doctorales.

Medalla de oro individual al Mérito Ciclista de la Real Federación Española de Ciclismo. Autora del libro "DOPAJE".

**Resumen:** El tema objeto de este trabajo se centra en el estudio que diversos factores, endógenos y exógenos, pueden producir sobre el Perfil Hormonal Esteroideo (P.H.E.). Estos factores pueden ser:

- a) intrínsecos, como el sexo, el ritmo circadiano hormonal o la edad;
- b) extrínsecos, como es la intensidad de la actividad física, el entrenamiento e incluso el tipo del mismo, la práctica deportiva en competición o el deporte específico practicado;
- c) farmacológicos, como puede suceder con agentes relacionados con las hormonas del perfil hormonal esteroideo, tales como la misma testosterona, la gonadotropina coriónica humana y los anabolizantes. Y en este caso, específicamente, el clomifeno.

La muestra total fue diversa, pero obtenida principalmente de sujetos deportistas de alto nivel practicantes de diferentes deportes, aunque también se han realizado estudios comparativos con otras poblaciones, todas ellas anónimas.

Los resultados demuestran, con alta incidencia significativa en algunos casos, la influencia que estos factores ejercen sobre las concentraciones de las hormonas integrantes del P.H.E. y sobre las relaciones entre ellas mismas. Por lo que como conclusión se demuestra la dificultad de resolver la evaluación del parámetro T/E en un control del dopaje sin considerar el resto de los parámetros integrantes de dicho perfil.

**Palabras clave:** dopaje, control del dopaje, testosterona, perfil hormonal esteroideo, clomifeno

**Abstract:** This study is based on the influence of several endogenous and exogenous factors on the Steroid Hormone Profile (S.H.P.). These factors can be:

- a) Intrinsic ones, such as sex or the age.
- b) Extrinsic ones, such as the intensity of physical activity, the kind of training and sport, and the sport in competition.
- c) Pharmacological ones, as those agents related to steroid hormone profile, such as testosterone, human chorionic gonadotrophin and anabolic steroid (specifically, the clomiphe-  
ne).

The total sampling was diverse, but mainly consisted of high level sportsmen who practise different sports, although comparative studies have been carried out with other populations. Populations were anonymous in all cases.

Results show the influence of these factors on the concentrations of S.H.P. hormones and relation among them, where a high significant repercussion can be noticed in some cases. We come to the conclusion that there is a difficulty of the T/E ratio evaluation in doping control when all the factors mentioned above, are not taken into account.

**Key words:** doping, doping control, testosterone, steroid hormone profile, clomiphene.



## 1. EVALUACIÓN DE LA DETECCIÓN DE LA TESTOSTERONA EN EL CONTROL DEL DOPAJE

Incuestionablemente la modificación en la frecuencia cualitativa y cuantitativa en la detección de los **esteroides anabolizantes androgénicos** es el reflejo de la variación de su uso, el cual está incrementándose año tras año, aunque no puede dejarse de tener en cuenta que en la evolución estadística de la detección analítica de estas sustancias igualmente puede influir:

- a) *el avance de las posibilidades instrumentales, lo que permite la detección de cantidades progresivamente inferiores de los metabolitos de los esteroides utilizados, y*
- b) *la obtención sintética en los laboratorios de metabolitos de algunos de los esteroides, que no se encuentran disponibles comercialmente, lo que ha supuesto un incremento en las posibilidades de confirmación de algunos de ellos (**estanozolol** por ejemplo), y ha revertido en una nueva posibilidad de detección no existente en épocas anteriores en las que no se contaba con dichos metabolitos sintéticos.*

Pero a la vez que el número general de **esteroides anabolizantes androgénicos** detectados en el control del dopaje se incrementa frente a la cuantificación del resto de las sustancias dopantes identificadas<sup>1</sup>, también aumenta la proporción de los resultados positivos por **testosterona** frente a los basados en la detección de los otros **EAA**. Las razones de la actual elección de la **testosterona** como sustancia dopante anabolizante pueden quizá "justificarse" por los indeseables efectos secundarios producidos por los **EAA** sintéticos -en particular por los riesgos de hepatotoxicidad, hepatoma y carcinoma prostático asociados a la administración de los esteroides  $17\alpha$ -alquilados-, junto con el reconocimiento de las indudables garantías que ofrece la CG/EM en la sistemática detección de estos agentes farmacológicos<sup>2</sup>. Esta situación resalta la importancia progresiva que en el dopaje alcanza actualmente la **testosterona**, así como que su determinación analítica, directa o indirecta, como confirmación de su administración o de una manipulación, sea un tema de alto interés en el control del dopaje.

En relación al control de la administración de **testosterona**, el parámetro inicial estadísticamente significativo es la **relación testosterona/epitestosterona** medida en los controles analíticos de dopaje. Para discernir un caso positivo con **testosterona** se ha establecido internacionalmente el límite de 6 en el cociente **T/E**<sup>3</sup>, límite fijado con un amplio margen sobre valores fisiológicos estadísticamente normales. Sin embargo, la determinación del cociente **T/E** para resolver entre una administración exógena de **testosterona** o una manipulación frente a una situación fisiológica normal puede conducir a **falsos positivos (T/E > 6** con concentraciones de testosterona endógena superiores a la media normal) o **falsos negativos (T/E < 6**, a pesar de existir por causas exógenas un incremento en la concentración de la testosterona medida). El límite de 6 en el cociente **T/E** no es por tanto tan incuestionable como se pretendió al determinar su valor numérico, ya que esta relación puede depender de:

- 1) Las dosis administradas de ésteres de la testosterona.
- 2) Factores intrínsecos y extrínsecos que acompañan a la administración.
- 3) La programación de la misma.

Si por otra parte se considera:

1º) que los niveles urinarios de testosterona y epitestosterona difieren sustancialmente según los individuos, especialmente en el caso de los varones<sup>4</sup>, y

2º) que el incremento que sufre la concentración de testosterona después de que se administran ésteres de esta hormona, no es proporcional a la cantidad administrada y varía específicamente según el individuo que los utiliza,

puede discutirse la adopción del cociente **T/E** como la *única relación aplicable para detectar una posible administración de **testosterona*** en los siguientes casos:

**A. Muestras con T/E < 6, evaluadas como negativas.** Puede ocurrir que en determinadas muestras, recogidas tras una competición, se midan cocientes T/E inferiores al límite de 6, siendo sin embargo muestras procedentes de sujetos en los que se ha producido:

**a<sub>1</sub>) Una administración de testosterona exógena en época de entrenamiento, previamente a la competición.** Esta administración se realiza:

- 1) Programándose durante un tiempo más o menos prolongado, generalmente en período de entrenamiento, durante el cual se eleva la concentración del esteroide, obteniéndose efectos que influirán en el rendimiento en la competición.
- 2) Regulándose de tal forma que en la analítica realizada tras la competición el índice T/E queda, aunque sea muy ligeramente, por debajo de 6.

**a<sub>2</sub>) Una administración conjunta de testosterona y epitestosterona que conduzca a un normal cociente urinario de T/E de aproximadamente 1.** Basándose en que sólo el 1% de la testosterona se excreta inalterada (aparte de la conjugada con ácido glucurónico) mientras que de la epitestosterona el correspondiente porcentaje se eleva al 30%, una administración intramuscular de estas dos hormonas en una respectiva relación de 30:1 puede conducir a un normal cociente urinario de 1, siendo posible evadir la detección si sólo se depende del cociente T/E<sup>5</sup>.

**a<sub>3</sub>) Una administración de otras sustancias, que incidiendo en el equilibrio del sistema hormonal, provoque determinados efectos como puede ser la obtención de un incremento de la concentración en sangre de la testosterona sin que se sobrepase el límite de 6 en el cociente urinario T/E.** Por ejemplo, si se administra **gonadotropina coriónica humana (hCG)** a varones adultos normales, se estimula la producción endógena de **testosterona** y **epitestosterona**, con la consiguiente "beneficiosa" elevación de la concentración de la testosterona en sangre *sin que se altere el cociente T/E urinario*.

**B. Muestras con T/E > 6, evaluadas como positivas.** En algunas muestras en las que mide un cociente T/E superior al límite de 6 no puede descartarse la normalidad para este valor por algunas posibles razones:

**b<sub>1</sub>)** Haber existido una posible ingesta de alcohol, que puede incrementar el índice de T/E<sup>6</sup>.

- b<sub>2</sub>) Encontrarse el sujeto en una fase del desarrollo puberal masculino, el cual puede inducir a que el equilibrio fisiológico entre la testosterona y la epitestosterona se desplace hacia la segregación de la primera hormona<sup>7, 8</sup>.
- b<sub>3</sub>) Posea el individuo unas características fisiológicas tales que su cociente T/E > 6 no pueda considerarse como demostración de una administración de testosterona.
- b<sub>4</sub>) El incremento anormal de testosterona provenga de una causa patológica.
- b<sub>5</sub>) El sujeto haya tenido que utilizar alguna sustancia específica, como el **ketoconazol**, que es un antifúngico, inhibidor del citocromo P-450, que suprime la síntesis de los esteroides andrógenos<sup>9</sup>, pudiendo producir una baja en la epitestosterona superior a la inducida en la testosterona, y por consiguiente elevar el cociente T/E.

Es evidente que los problemas generados por "falsos positivos" de relaciones T/E > 6 pueden resolverse, en un plazo de tiempo más o menos largo, tras las oportunas reclamaciones y mediante largos y costosos procedimientos analíticos y endocrinológicos. Pero en el caso de los posibles "falsos negativos" en los que se ha incrementado anormalmente la testosterona, pero con el resultado en el correspondiente análisis de control de dopaje de un cociente T/E < 6 aparentemente normal, no puede conocerse, "a priori", si el **incremento de testosterona**, no detectable en relación a la epitestosterona, ha sido debido a un **aporte exógeno de testosterona** o a una **manipulación** con el mismo objetivo.

En consecuencia, se presenta como necesario para iniciar otras investigaciones conocer los factores que pueden influir en el cociente T/E, en las concentraciones de **testosterona** y **epitestosterona** e incluso en otros parámetros del **perfil hormonal**.

## 2. MODIFICACIONES QUE DIVERSOS FACTORES, ENDÓGENOS Y EXÓGENOS, PUEDEN PRODUCIR EN EL PERFIL HORMONAL ESTEROIDEO

Al estar directamente relacionada la **testosterona** con el resto de las hormonas del perfil hormonal, se presupone que cualquier alteración artificial en la concentración de esta hormona, que en principio debería ser un caso de dopaje, puede no ser detectada mediante la medida del cociente T/E, y que por tanto se deberían considerar otros procedimientos, posiblemente complementarios, al actual de detección de **testosterona** como causa de dopaje.

### 2.1. Estudio de la posible influencia que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo (P.H.E.) pueden ejercer algunos factores intrínsecos

#### 2.1.1. Influencia del sexo

Se ha realizado el estudio de la posible influencia del sexo en los valores de los parámetros del P.H.E., teniendo además en cuenta la posibilidad de que a su vez influyera la circunstancia de que las muestras fueran recogidas fuera de competición o en competición.

El único condicionante impuesto al estudio estadístico, además de estudiar muestras de deportistas con resultado negativo en el control del dopaje, fué el de considerar los casos en los que la **T/E** era inferior a 3, por ser éste el límite que se empieza a considerar como normal y para que no haya en los resultados influencias de otro género.

Los resultados, con los valores medios del **P.H.E.** obtenidos se presentan en las tablas I y II.

**Tabla I.** Valores medios de concentraciones urinarias de endógenos y sus relaciones medidas en muestras recogidas a deportistas de diferente sexo en época de entrenamiento, preolímpica.

Concentraciones de endógenos	Varones (n=390)	Mujeres (n=44)
T (ng/ml)	66,1±61,1	12,0±15,3 **
E (ng/ml)	64,9±71,6	14,8±14,3 **
An (ng/ml)	1981,1±1599,9	1456,7±1284,7 +
Et (ng/ml)	2400,2±1728,7	2114,6±1593,6
OHAn (ng/ml)	384,9±370	282,7±286,7
OHET (ng/ml)	214,4±332,6	348,8±1124,7
<b>Relaciones de endógenos</b>		
T/E	1,4±1,2	1,1±0,9
An/Et	0,9±0,4	0,7±0,3 *
OHAn/OHET	2,8±3,4	1,9±1,5

\*\* p<0,001; \* p<0,01; + p<0,05 (Test de la t de Student)

**Tabla II.** Valores medios de concentraciones urinarias de endógenos y sus relaciones medidas en muestras de deportistas de diferente sexo recogidas en competición.

Concentraciones de endógenos	Varones (n=390)	Mujeres (n=44)
T (ng/ml)	28,6±23,0	6,6±4,3 **
E (ng/ml)	14,9±11,0	4,4±2,8
An (ng/ml)	3814,7±2931,7	2227,8±2120 +
Et (ng/ml)	3008,3±1577,3	2211,8±1324,6
OHAn (ng/ml)	401,3±230,3	284,2±207,1
OHET (ng/ml)	286,3±189,5	226,6±220,5
<b>Relaciones de endógenos</b>		
T/E	2,1±1,3	1,3±0,6 *
An/Et	1,2±0,6	0,9±0,3 *
OHAn/OHET	1,9±1,1	1,2±2,4

\*\* p<0,001; \* p<0,01; + p<0,05 (Test de la t de Student)

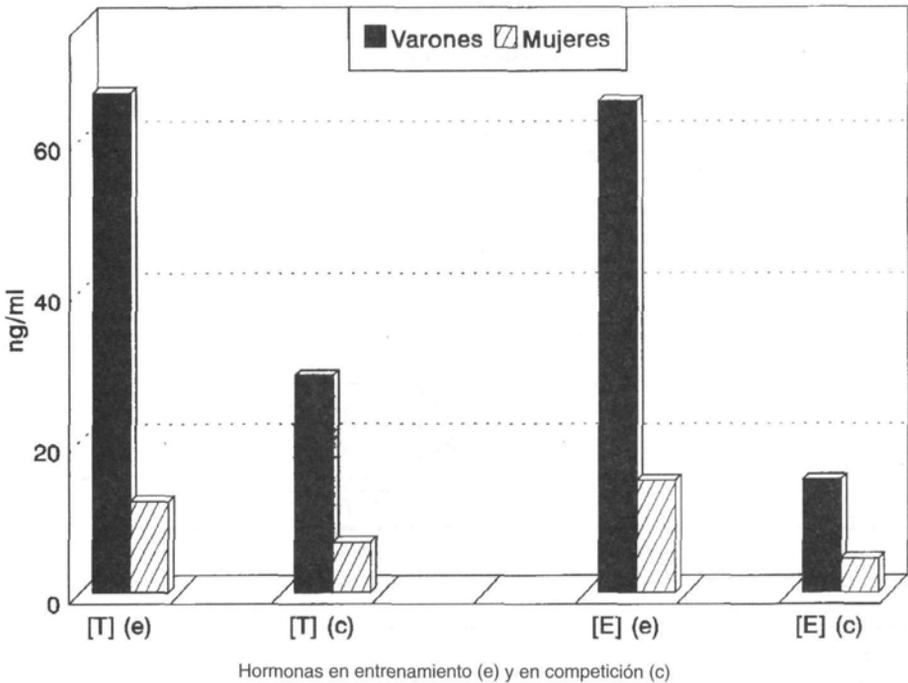


Figura 1. Concentraciones medias de relaciones entre endógenos en varones y mujeres en fase de entrenamiento preolímpico y en competición.

### 2.1.2. Influencia del ritmo circadiano hormonal

Ante la influencia que el ritmo circadiano ejerce en diversos parámetros fisiológicos humanos, se consideró que se debería estudiar si también influía sobre los componentes del P.H.E. Para ello se recogieron orinas puntuales a lo largo de un ciclo de 24 horas, diferenciando el estudio entre varón (1) y mujer (1).

Como resultados, en la tabla III se presentan los valores medidos en el caso del ritmo circadiano del varón, y en la tabla IV los correspondientes al de la mujer. En ellas se observa cómo existen variaciones en todos los parámetros a lo largo de las diferentes tomas, tanto en el varón como en la mujer.

### 2.1.3. Influencia de la edad

Dadas las posibles alteraciones hormonales fisiológicas que los varones sufren durante su desarrollo puberal, se ha estudiado la posible influencia de este factor en la relación T/E. Para esta investigación se eligió un grupo de 96 adolescentes, desglosados por edades de la forma siguientes:

Estudiantes de 14 años      n=30

**Tabla III.** Concentraciones de endógenos y sus relaciones en muestras de orina recogidas a un varón durante un ciclo circadiano.

Concentración de endógenos (ng/ml)	7 h.	10 h.	15 h.	16 h.	24 h.	5 h.	Mezcla
Testosterona	44,0	67,0	72,3	69,2	54,7	44,6	58,9
Epitestosterona	45,4	54,4	66,6	55,5	37,8	39,9	46,9
Androsterona	2811,5	2657,4	3669,3	3014,3	2598,8	1465,2	2176,3
Etiocolanolona	2945,4	2977,1	3013,3	2690,1	2843,0	1536,5	2110,9
OHAndrosterona	1135,3	964,1	2255,0	1475,2	629,3	894,7	831,0
OHETiocolanolona	949,4	847,9	553,9	701,6	750,6	498,4	346,5
<b>Relaciones de endógenos</b>							
T/E	0,97	1,23	1,09	1,25	1,45	1,12	1,26
An/Et	0,95	0,89	1,22	1,12	0,91	0,95	1,03
OHAn/OHEt	1,20	1,14	4,07	2,10	0,84	1,80	2,40
An/T	63,9	39,66	50,75	43,56	47,51	32,85	36,95

**Tabla IV.** Concentraciones de endógenos y sus relaciones en muestras de orina recogidas a una mujer durante un ciclo circadiano.

Concentración de endógenos (ng/ml)	7 h.	9 h.	15 h.	18 h.	22 h.	24 h.	2 h.	5 h.	Mezcla
Testosterona	1,9	8,8	3,1	2,9	4,2	10,2	5,2	5,8	3,5
Epitestosterona	4,3	13,6	5,5	6,8	10,7	23,1	9,1	13,7	8,2
Androsterona	803,7	2441,7	1418,1	1531,3	1986,7	4727,4	2375,7	3140,7	1360,8
Etiocolanolona	767,0	2502,2	1127,5	1185,2	2118,7	5430,4	2386,8	2925,4	1405,1
OHAndrosterona	146,2	358,1	227,3	305,8	176,0	378,1	344,9	631,1	124,7
OHETiocolanolona	188,4	501,6	196,8	329,7	335,3	700,0	454,1	587,9	131,4
<b>Relaciones de endógenos</b>									
T/E	0,45	0,64	0,56	0,42	0,40	0,44	0,57	0,43	0,42
An/Et	1,05	0,97	1,26	1,29	0,94	0,87	1,00	1,07	0,97
OHAn/OHEt	0,78	0,71	1,16	0,93	0,52	0,54	0,76	1,07	0,95
An/T	423	277,4	457,4	528	473	463,5	453,4	541,5	388,8

Estudiantes de 15 años            n=33

Estudiantes de 16 años            n=18

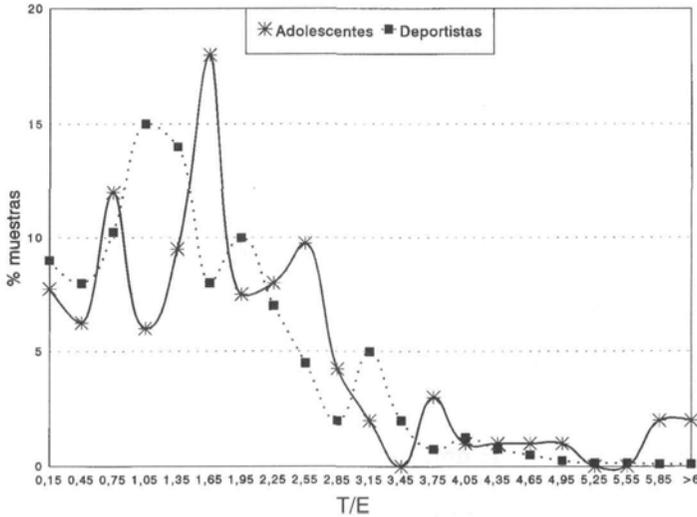
Estudiantes de 17-19 años        n=16

El estudio comparativo de los valores **T/E** medidos en estas muestras se realizó con los valores de T/E medidos en las muestras de 3.201 deportistas federados de 8 deportes diferentes (atletismo, ciclismo, esgrima, fisicoculturismo, fútbol, halterofilia, piragüismo y taekwondo).

En la figura 2 se representa gráficamente la distribución porcentual de los valores de T/E en ambos grupos:

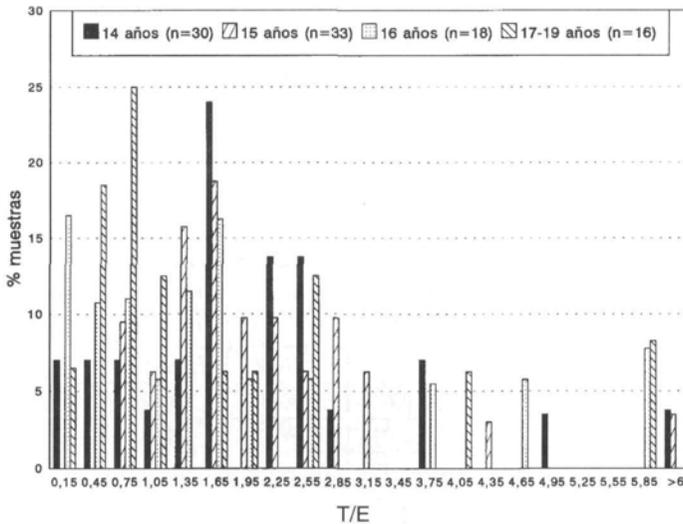
\* **Adolescentes** de 14 a 19 años (n=96).

\* **Deportistas federados** de 8 deportes (n=3.201).



**Figura 2.** Comparación entre las curvas de distribución porcentual de las relaciones T/E medidas en adolescentes puberales y en deportistas federados.

En la figura 3 se presenta la distribución de las relaciones T/E medidas en los subgrupos puberales diferenciados por la edad (14, 15, 16 y 17-19 años).



**Figura 3.** Distribución de las relaciones T/E medidas en subgrupos puberales de diferente edad.

En estas dos últimas figuras se observa cómo en la relación **T/E** influye positivamente la edad, durante el proceso de crecimiento (aproximadamente hacia los 20 años).

Los resultados obtenidos en los dos estudios realizados descubren la posibilidad de que algunos casos de  $R_{T/E}$  superiores a 6 no sean debidos a un dopaje por administración de **testosterona** o a inducción de su secreción endógena por medios artificiales, sino que fisiológicamente puede ocurrir que en algún momento del desarrollo puberal, específicamente del varón, las intensas modificaciones hormonales que se producen pueden causar una descarga de **testosterona** que no es paralela a la de **epitestosterona**, originando un pasajero y reversible desequilibrio entre las concentraciones de ambas hormonas endógenas<sup>7, 8</sup>.

En consecuencia se puede deducir que en estos casos no es suficiente, ni por consiguiente válida, la sola medida de **T/E** para discernir la posibilidad de una **[T]** artificialmente alta, ya que siendo anormalmente elevada puede constituir un problema fisiológico que descarte un caso de dopaje, pero siempre que esto ocurra a deportistas en edad de desarrollo (competiciones de cadetes e incluso juveniles), y no en competiciones de adultos, salvo ¿posibles? rarísimas excepciones.

## 2.2. Estudio de los posibles efectos que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo (P.H.E.) pueden ejercer algunos factores extrínsecos

### 2.2.1. Influencia de la intensidad de la actividad física realizada

Para realizar este estudio en principio se investigó la distribución porcentual de las relaciones entre las concentraciones de los andrógenos endógenos medidos en el **perfil hormonal esteroideo** en las siguientes tres poblaciones:

- 11 varones con actividad física baja;
- 26 varones con una actividad física media;
- 38 varones con una alta actividad física (deportistas profesionales).

En las tablas V, VI, VII, VIII, IX y X se presentan las **descripciones estadísticas** de las concentraciones de esteroides endógenos y de las relaciones de dichas concentraciones.

**Tabla V.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de esteroides endógenos del P.H.E. medidas a una población de 11 varones con escasa actividad física (sedentarios).

ESTEROIDE ENDOGENO	Media (ng/ml)	Desviación estándar	Mínimo (ng/ml)	Máximo (ng/ml)	Mediana (ng/ml)
Testosterona (T)	62,49	46,48	30,01	180,5	44,41
Epitestosterona (E)	76,04	50,58	19,72	193,2	64,98
cis-Androsterona (An)	3189,91	1527,6	1440	6016	2711
Etiocolanolona (Et)	2058,45	1054,47	1218	5090	1928
11hidroxiandrosterona (OHAn)	550,26	848,05	48,6	2981	234,6
11hidroxietiocolanolona (OHET)	401,36	553,56	61,1	2027	275,3

**Tabla VI.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de esteroides endógenos del P.H.E. medidas a una población de 26 varones con una actividad física media (estudiantes de Educación Física).

ESTEROIDE ENDOGENO	Media (ng/ml)	Desviación estándar	Mínimo (ng/ml)	Máximo (ng/ml)	Mediana (ng/ml)
Testosterona (T)	44,74	5,94	8,82	153,3	39,68
Epitestosterona (E)	44,80	24,87	3,89	91,29	41,24
cis-Androsterona (An)	3194,56	2116,89	431,1	8507	2884,5
Etiocolanolona (Et)	3720,82	2272,6	627,1	9999,9	3465
11hidroxiandrosterona (OHAn)	334,09	480,41	10,8	2527	218,5
11hidroxietiolanolona (OHET)	558,31	376,24	6	1528	547,9

**Tabla VII.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de esteroides endógenos del P.H.E. medidas a una población de 38 varones con una intensa actividad física (deportistas federados)

ESTEROIDE ENDOGENO	Media (ng/ml)	Desviación estándar	Mínimo (ng/ml)	Máximo (ng/ml)	Mediana (ng/ml)
Testosterona (T)	41,39	24,85	1,54	101,4	39,72
Epitestosterona (E)	29,32	18,85	4,22	89,6	25,29
cis-Androsterona (An)	1581,98	948,91	258	4498	1450
Etiocolanolona (Et)	1416,67	948,91	420,9	4205	1326
11hidroxiandrosterona (OHAn)	421,60	315,09	19,9	1491	331,8
11hidroxietiolanolona (OHET)	205,58	150,54	24	699,7	163,9

**Tabla VIII.** Descripción estadística de los cocientes entre las concentraciones urinarias de endógenos medidas dentro del P.H.E. a una población con una escasa actividad física.

COCIENTES DE ESTEROIDES	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Mediana
T/E	0,93	0,52	0,48	2,25	0,82
An/Et	1,70	0,94	0,72	3,57	1,32
OHAn/OHET	1,55	1,53	0,15	5,79	1,08

**Tabla IX.** Descripción estadística de los cocientes entre las concentraciones urinarias de endógenos medidas dentro del perfil hormonal esteroideo a una población con una actividad física media.

COCIENTES DE ESTEROIDES	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Mediana
T/E	1,41	0,94	0,28	4,04	1,02
An/Et	0,68	0,24	0,28	1,45	0,66
OHAn/OHET	0,64	0,48	0,20	1,73	0,42

**Tabla X.** Descripción estadística de los cocientes entre las concentraciones urinarias de endógenos medidas dentro del perfil hormonal esteroideo a una población con una intensa actividad física.

COCIENTES DE ESTEROIDES	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Mediana
T/E	1,90	1,28	0,13	4,75	1,48
An/Et	1,18	0,49	0,24	2,42	0,61
OHA <sub>n</sub> /OHE <sub>t</sub>	2,21	1,27	0,78	5,98	1,89

Estudiando los valores presentados se puede concluir que, por lo general y con algunas excepciones, las concentraciones de los esteroides andrógenos endógenos son más bajas en los grupos que desarrollan alguna actividad física que en el integrado por una población sedentaria, mientras que las relaciones entre dichas concentraciones se elevan a la inversa.

Realizado un estudio estadístico de multivariantes, de correlación de la t de Student, se ha encontrado que:

a) Entre el grupo de *intensa actividad física* y el de *actividad física moderada* existe:

- un alto nivel de significación ( $p < 0,001$ ) para las concentraciones de **etiocolanolona** y de **11-hidroxietiocolanolona**, y para las relaciones **An/Et** y **OHA<sub>n</sub>/OHE<sub>t</sub>**;
- un nivel de significación bueno ( $p < 0,01$ ) para las concentraciones de **androsterona**,
- un moderado nivel de significación ( $p < 0,05$ ) para las concentraciones de la **epitestosterona**.

b) Entre el grupo de *actividad física moderada* y el *sedentario* existe:

- un alto nivel de significación ( $p < 0,001$ ) para las relaciones **An/Et**;
- un nivel de significación bueno ( $p < 0,01$ ) para las relaciones **OHA<sub>n</sub>/OHE<sub>t</sub>**;
- un moderado nivel de significación ( $p < 0,05$ ) para las concentraciones de **epitestosterona** y **etiocolanolona**.

c) Entre el grupo de *intensa actividad física* y el *sedentario* existe:

- un alto nivel de significación ( $p < 0,001$ ) para las concentraciones de **etiocolanolona** e **11-hidroxietiocolanolona**, y para las relaciones **An/Et**;
- un nivel de significación bueno ( $p < 0,01$ ) para las relaciones **OHA<sub>n</sub>/OHE<sub>t</sub>**;
- un moderado nivel de significación ( $p < 0,05$ ) para las concentraciones de **androsterona**.

Para representar gráficamente estos valores, se han elegido los dos grupos más significativos (los de intensa y escasa actividad física) para comparar con el grupo sedentario los **valores medios** urinarios de las concentraciones de los esteroides andrógenos endógenos identificados (figuras 4, 5 y 6) y de los cocientes entre estas concentraciones (figura 7).

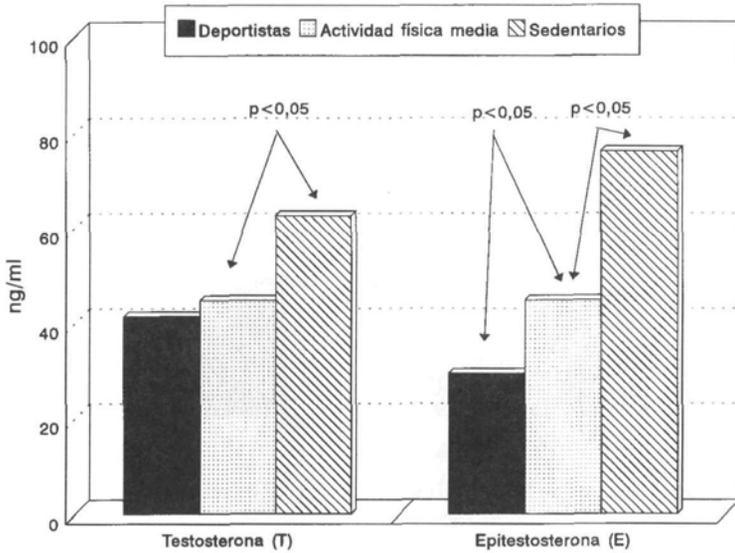


Figura 4. Valores medios urinarios de [T] y [E] en tres grupos de población con distinto grado de actividad física

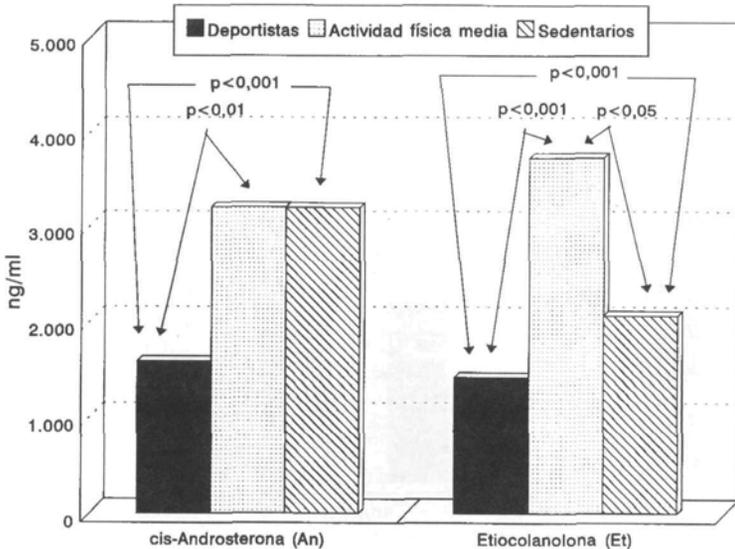


Figura 5. Valores medios urinarios de [An] y [Et] en tres grupos de población con distinto grado de actividad física.

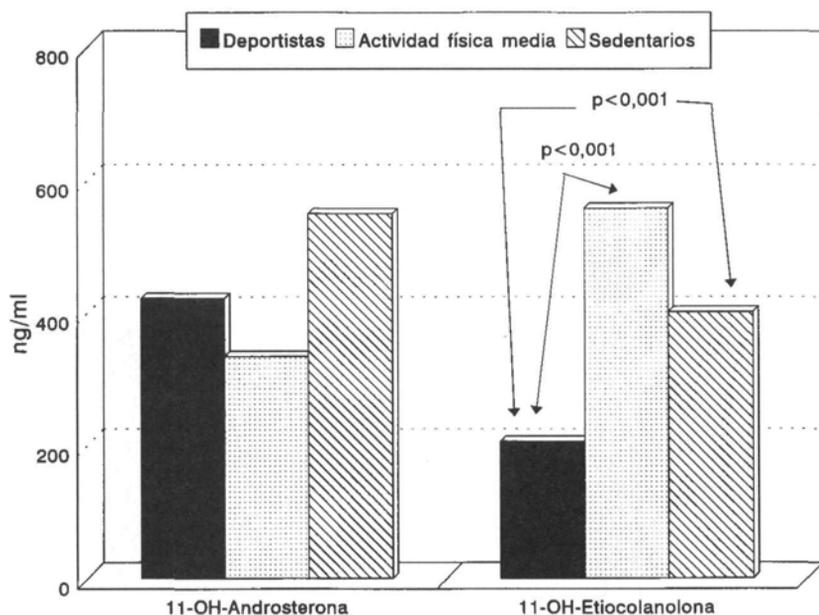


Figura 6. Valores medios urinarios de [OHA<sub>n</sub>] y [OHE<sub>t</sub>] en tres grupos de población con distinto grado de actividad física.

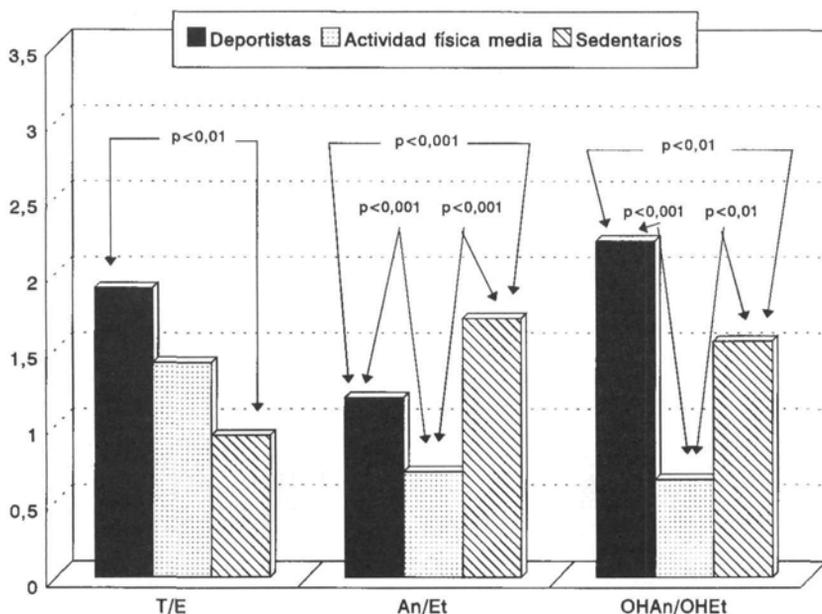


Figura 7. Valores medios de los cocientes entre las concentraciones urinarias de endógenos en tres grupos de población con distinto grado de actividad física.

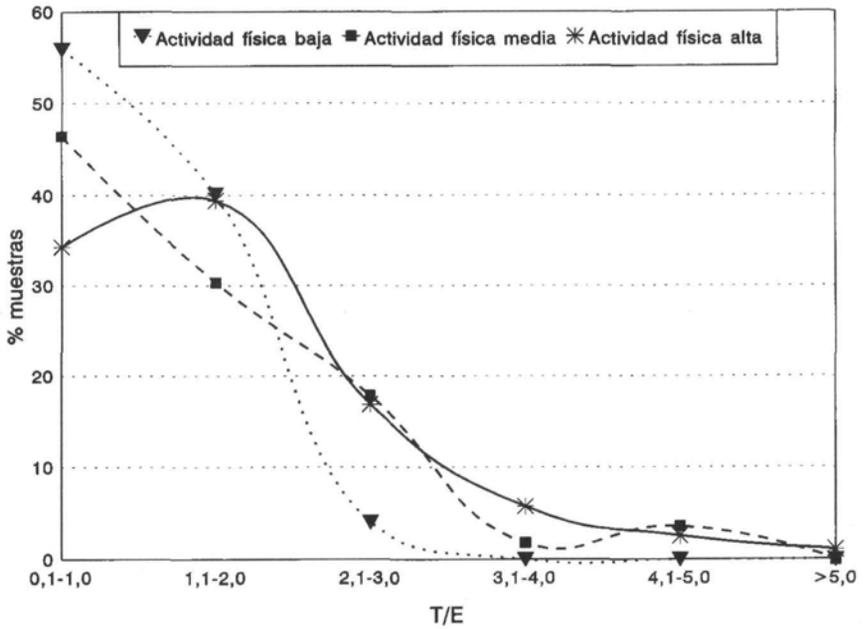


Figura 8. Distribución porcentual de los valores de T/E urinarios medidos en tres grupos de población con diferente grado de actividad física.

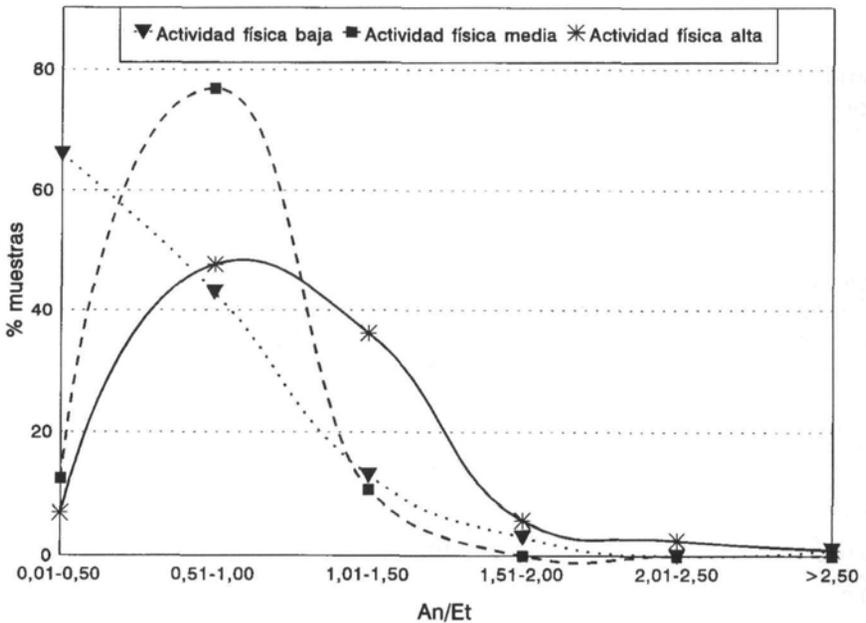
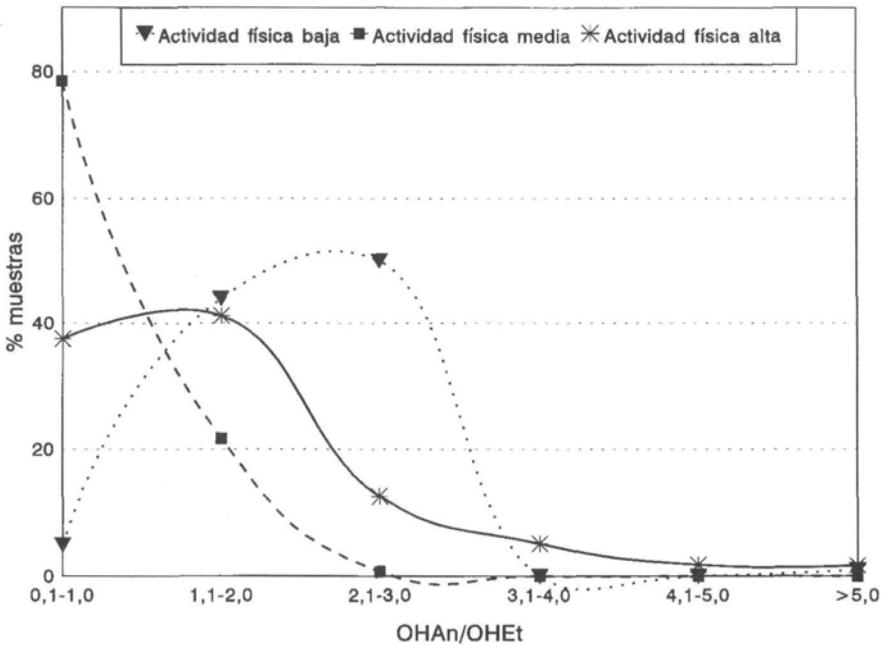


Figura 9. Distribución porcentual de los valores urinarios de An/ET medidos en tres grupos de población con diferente grado de actividad física.



**Figura 10.** Distribución porcentual de los valores urinarios de OHAn/OHEt medidos en tres grupos de población con diferente grado de actividad física.

Los valores urinarios de los cocientes **T/E**, **An/Et** y **OHAn/OHEt** correspondientes a su distribución porcentual en cada población de los tres grupos, se representan en las figuras 8, 9 y 10.

### 2.2.2. Influencia del efecto producido por el entrenamiento

Por otra parte, ante la constancia que el entrenamiento deportivo produce modificaciones hormonales, y ya que el entrenamiento de fuerza en las mujeres de ha incrementado en los últimos 5 años, se consideró importante estudiar las respuestas de este tipo de entrenamiento en mujeres, realizándose con este objetivo un trabajo con la siguiente población:

n = 11 mujeres

Edad media (años)	17,36±2,69
Talla media (centímetros)	159±0,08
Peso medio (Kilogramos)	56,64±9,19
Peso muscular medio	46,60±131,02
Porcentaje grasa corporal	16,71±1,64
Media práctica deportiva (años)	4,3±1,5

Los resultados se presentan en la tabla XI.

Tabla XI. Variaciones producidas por el entrenamiento de fuerza en el perfil hormonal esteroideo.

	Valores medios iniciales	Valores medios en períodos de máximo entrenamiento	Correlación (t del test de Student)
T plasmática (ng/ml)	0,36±0,26	0,41±0,24	p<0,05
T urinaria (ng/ml)	10,87±12,03	9,21±11,97	p<0,001
E urinaria (ng/ml)	11,21±7,49	7,15±8,65	p<0,01
An urinaria (ng/ml)	1920,5±1678,3	2501,0±2323,1	p<0,05
Et urinaria (ng/ml)	2113,4±1924,2	2430,8±2528,8	sin sig.
OHAn urinaria (ng/ml)	304,0±288,0	345,2±367,9	sin sig.
OHet urinaria (ng/ml)	194,7±198,7	213,6±258,7	sin sig.
T/E	1,5±1,4	1,9±1,3	p<0,01
An/Et	0,9±0,2	1,1±0,3	p<0,05
OHAn/OHET	1,8±1,4	1,4±1,2	sin sig.

Se puede observar que en este grupo el entrenamiento ha producido un incremento en las concentraciones de endógenos (excepto en la **testosterona** y la **epitestosterona**), incrementándose sus cocientes, excepto en el caso de **OHAn/OHET**.

### 2.2.3. Influencia del tipo de entrenamiento

Con el fin de estudiar si las diferencias en el entrenamiento pueden influir en las variables del **perfil hormonal esteroideo**, se han comparado los valores medios de las concentraciones de endógenos y sus cocientes obtenidos en el análisis de:

1º) Cinco grupos de muestras de orina recogidas, en época de entrenamiento (fase de control de dopaje preolímpico Barcelona'92), a practicantes de deportes que realizan técnicas de entrenamiento diferentes (*atletismo, baloncesto, ciclismo, fútbol y halterofilia*).

2º) Un grupo de muestras recogidas en las mismas condiciones a deportistas practicantes de 12 deportes diferentes (*atletismo, baloncesto, boxeo, ciclismo, fútbol, halterofilia, hockey sobre hierba, judo, lucha, penthalón moderno, piragüismo, y remo*).

Las características de las poblaciones estudiadas son las siguientes:

- *Deportistas varones*
- *En época de entrenamiento* (inmediata a los JJ.OO. 1.992)
- *Con resultado negativo en los análisis de control del dopaje*

En la *tabla XII* se presentan los valores obtenidos.

**Tabla XII.** Valores urinarios medios de endógenos del P.H.E. medidos en muestras recogidas a deportistas en fase de entrenamiento (preolímpica).

	Atletismo (n=27)	Baloncesto (n=28)	Ciclismo (n=11)	Fútbol (n=20)	Halterofilia (n=248)	Deportes (varios) (n=432)
Testosterona	68,5±52,4	63,9±47,4	90,7±76,2	107,8±78,7	59,8±58,2	60,6±60,5
Epitestosterona	63,8±79,4	55,9±42,9	61,8±41,6	118,2±62,1	61,2±76,3	60,0±69,7
Androsterona	2298,1±1701,5	2622,4±1868,9	3119,1±2381,4	2957,2±1448,6	1451,4±949,0	1932,2±1579,9
Etiocolanolona	2584,4±1624,0	2527,8±1313,2	4423,1±2523,6	3427,1±1707,0	1860,6±972,0	2373,5±1719,4
OHAndrosterona	296,9±369,0	443,6±495,1	513,2±584,4	518,2±349,6	328,8±313,5	375,5±363,9
OHEtiocolanolona	526,1±953,3	163,7±169,7	172,3±113,9	428,0±353,5	141,0±118,4	228,4±477,1
T/E	1,7±1,2	1,6±1,2	1,8±1,7	1,0±0,6	1,4±1,3	1,3±1,1
An/Et	0,9±0,3	1,0±0,5	0,7±0,2	0,9±0,4	0,8±0,4	0,8±0,4
OHAn/OHEt	3,6±9,5	3,0±3,3	3,6±3,5	1,0±0,8	3,0±2,5	2,8±3,3

Al efectuar un estudio de correlación de la **t de Student** se han encontrado los siguientes resultados:

- a)  $p < 0,001$**
- [OHEt] Deportistas en general y practicantes de *Atletismo*
  - [Et] Deportistas en general y practicantes de *Ciclismo*
  - [An] Deportistas en general y practicantes de *Halterofilia*
  - [Et] Deportistas en general y practicantes de *Halterofilia*
  - [OHEt] Deportistas en general y practicantes de *Halterofilia*
- b)  $p < 0,01$**
- [T] Deportistas en general y practicantes de *Fútbol*
  - [E] Deportistas en general y practicantes de *Fútbol*
  - [An] Deportistas en general y practicantes de *Fútbol*
  - [Et] Deportistas en general y practicantes de *Fútbol*
  - [OHEt] Deportistas en general y practicantes de *Fútbol*
- c)  $p < 0,05$**
- [An] Deportistas en general y practicantes de *Baloncesto*
  - [An] Deportistas en general y practicantes de *Ciclismo*
  - [OHAn/OHEt] Deportistas en general y practicantes de *Fútbol*
  - [OHAn] Deportistas en general y practicantes de *Halterofilia*

### 2.2.4. Influencia de la práctica deportiva

Para realizar este estudio, se han elegido poblaciones practicantes de 5 deportes característicos, con diferencias en prácticas aeróbicas y anaeróbicas, y se han medido las concentraciones de endógenos del **P.H.E.**, y sus cocientes, en muestras de orina recogidas sin una actividad física inmediata anterior (*fuera de competición*) o tras haber realizado una intensa actividad (*en competición*). Se han utilizado las muestras recogidas en el control del dopaje de España en 1.992 en la *fase preolímpica* y parte de las recogidas en *competiciones nacionales*. Todas las muestras corresponden a:

- deportistas federados;
- varones;
- con resultado negativo en los análisis de control del dopaje.

En las tablas XIII-XVIII se presentan los resultados.

**Tabla XIII.** Comparación estadística de los valores medios de las concentraciones de endógenos y de sus cocientes en muestras recogidas en fases de entrenamiento y competición a poblaciones masculinas practicantes del mismo deporte (Atletismo).

DEPORTE: ATLETISMO			
	Fuera de competición (n=27)	En competición (n=17)	Correlación (test de Student)
Testosterona	68,5±52,4	47,4±126,3	n.s.
Epitestosterona	63,8±79,4	25,8±66,6	n.s.
Androsterona	2298,1±1701,5	1663,7±2664,3	n.s.
Etiocolanolona	2584,4±1624,0	1660,3±2377	n.s.
OHAndrosterona	296,9±369	394,3±807,2	n.s.
OHEtiocolanolona	526,1±953,3	226,6±413,3	n.s.
T/E	1,7±1,2	1,8±1,6	n.s.
An/Et	0,9±0,3	1,0±0,4	n.s.
OHAn/OHEt	3,6±9,5	1,7±13	n.s.

**Tabla XIV.** Comparación estadística de los valores medios de las concentraciones de endógenos y de sus cocientes en muestras recogidas en fases de entrenamiento y competición a poblaciones masculinas practicantes del mismo deporte (Baloncesto).

<b>DEPORTE: BALONCESTO</b>			
	<b>Fuera de competición</b> (n=28)	<b>En competición</b> (n=52)	<b>Correlación</b> (test de la t de Student)
<b>Testosterona</b>	63,9±47,4	65,4±54,2	n.s.
<b>Epitestosterona</b>	55,9±42,9	50,8±51	n.s.
<b>Androsterona</b>	2622,4±1868,9	2425,5±1732,1	n.s.
<b>Etiocolanolona</b>	2527,8±1313,2	2640,6±1954	n.s.
<b>OHAndrosterona</b>	443,6±495,1	257,8±348,2	n.s.
<b>OHEtiocolanolona</b>	163,7±169,7	282±372,7	n.s.
<b>T/E</b>	1,6±1,2	1,4±0,8	n.s.
<b>An/Et</b>	1,0±0,5	1,1±0,6	n.s.
<b>OHAn/OHEt</b>	3±3,3	1,2±1,1	p<0,001

**Tabla XV.** Comparación estadística de los valores medios de las concentraciones de endógenos y de sus cocientes en muestras recogidas en fases de entrenamiento y competición a poblaciones masculinas practicantes del mismo deporte (Ciclismo).

<b>DEPORTE: CICLISMO</b>			
	<b>Fuera de competición</b> (n=11)	<b>En competición</b> (n=82)	<b>Correlación</b> (test de la t de Student)
<b>Testosterona</b>	90,7±76,2	53±55	p<0,05
<b>Epitestosterona</b>	61,8±41,6	27,5±20,3	p<0,001
<b>Androsterona</b>	3119,1±2381,4	1611±1083	p<0,001
<b>Etiocolanolona</b>	4423,1±2523,6	1368±803,8	p<0,001
<b>OHAndrosterona</b>	513,2±584,4	477,2±997,4	n.s.
<b>OHEtiocolanolona</b>	172,3±113,9	168,6±156	n.s.
<b>T/E</b>	1,8±1,7	2,3±1,4	n.s.
<b>An/Et</b>	0,7±0,2	1,2±0,5	p<0,001
<b>OHAn/OHEt</b>	3,6±3,5	2,6±1,7	n.s.

**Tabla XVI.** Comparación estadística de los valores medios de las concentraciones de endógenos y de sus cocientes en muestras recogidas en fases de entrenamiento y competición a poblaciones masculinas practicantes del mismo deporte (Fútbol).

DEPORTE: FUTBOL			
	Fuera de competición (n=20)	En competición (n=47)	Correlación (test de la t de Student)
Testosterona	107,8±78,7	72,3±58,5	p<0,05
Epitestosterona	118,2±62,1	45,8±28,5	p<0,001
Androsterona	2957,2±1448,6	2781,8±1713,2	n.s.
Etiocolanolona	3427,1±1707	2429,5±1373,6	p<0,05
OHAndrosterona	518,2±349,6	235,8±198,3	p<0,001
OHEtiocolanolona	428±353,5	266,8±184,5	p<0,05
T/E	1±0,6	1,7±1,1	p<0,01
An/Et	0,9±0,4	1,2±0,5	p<0,05
OHAn/OHEt	1±0,8	1,6±3,3	n.s.

**Tabla XVII.** Comparación estadística de los valores medios de las concentraciones de endógenos y de sus cocientes en muestras recogidas en fases de entrenamiento y competición a poblaciones masculinas practicantes del mismo deporte (Halterofilia).

DEPORTE: HALTEROFILIA			
	Fuera de competición (n=248)	En competición (n=62)	Correlación (test de la t de Student)
Testosterona	59,8±58,2	43,3±36,9	p<0,05
Epitestosterona	61,2±76,3	33,0±38,9	p<0,01
Androsterona	1451,4±949,0	2788,1±2819,2	p<0,001
Etiocolanolona	1860,6±972,0	3043,1±2935,2	p<0,001
OHAndrosterona	328,8±313,5	354,8±432,4	n.s.
OHEtiocolanolona	141±118,4	243,3±214,0	p<0,001
T/E	1,4±1,3	1,6±1,1	n.s.
An/Et	0,8±0,4	1,2±1,1	p<0,001
OHAn/OHEt	3±2,5	1,5±1,0	p<0,001

**Tabla XVIII.** Comparación estadística de los valores medios de las concentraciones de endógenos y de sus cocientes en muestras recogidas en fases de entrenamiento y competición a poblaciones masculinas practicantes de diferentes deportes.

<b>DEPORTES: ATLETISMO + BALONCESTO + BOXEO + CICLISMO + FUTBOL + HALTEROFILIA + HOCKEY HIERBA + JUDO + LUCHA + PENTHALON M. + PIRAGÜISMO + REMO</b>			
	<b>Fuera de competición</b> (n=434)	<b>En competición</b> (n=270)	<b>Correlación</b> (test de la t de Student)
<b>Testosterona</b>	60,7±60,3	55,9±58,9	n.s.
<b>Epitestosterona</b>	59,8±69,7	36,4±38,4	p<0,001
<b>Androsterona</b>	1927,9±1577,5	2242,8±1987,7	p<0,05
<b>Etiocolanolona</b>	2371,2±1715,9	2200,3±2002,6	n.s.
<b>OHAndrosterona</b>	374,5±363,4	360,7±651,9	n.s.
<b>OHEtiocolanolona</b>	228,0±476,0	228,5±249,5	n.s.
<b>T/E</b>	1,4±1,2	1,8±1,2	p<0,001
<b>An/Et</b>	0,8±0,4	1,2±0,7	p<0,001
<b>OHAn/OHET</b>	2,7±3,3	1,8±1,4	p<0,001

En las figuras 11, 12, 13 y 14 se presentan gráficamente mediante histogramas los resultados más significativos.

### 2.2.5. Influencia del deporte específico practicado

Con el objetivo de estudiar si las características propias de cada deporte practicado pueden influir en las variables del **perfil hormonal esteroideo**, y aprovechando los resultados del anterior estudio, se han comparado concretamente los valores medios de las concentraciones de endógenos y sus cocientes obtenidos en el análisis de:

- 1º) Cinco grupos de muestras de orina recogidas, en el marco del control del dopaje, tras competir, a deportistas federados practicantes de 5 deportes específicamente distintos (*atletismo, baloncesto, ciclismo, fútbol y halterofilia*).
- 2º) Un grupo de muestras recogidas en las mismas condiciones a deportistas practicantes de 10 deportes diferentes (*atletismo, baloncesto, ciclismo, duatlón, fútbol, halterofilia, judo, piragüismo, remo y triatlón*).

Las características de las poblaciones estudiadas son las siguientes:

- *Deportistas varones*
- *En competición*
- *Con resultado negativo en los análisis de control del dopaje*

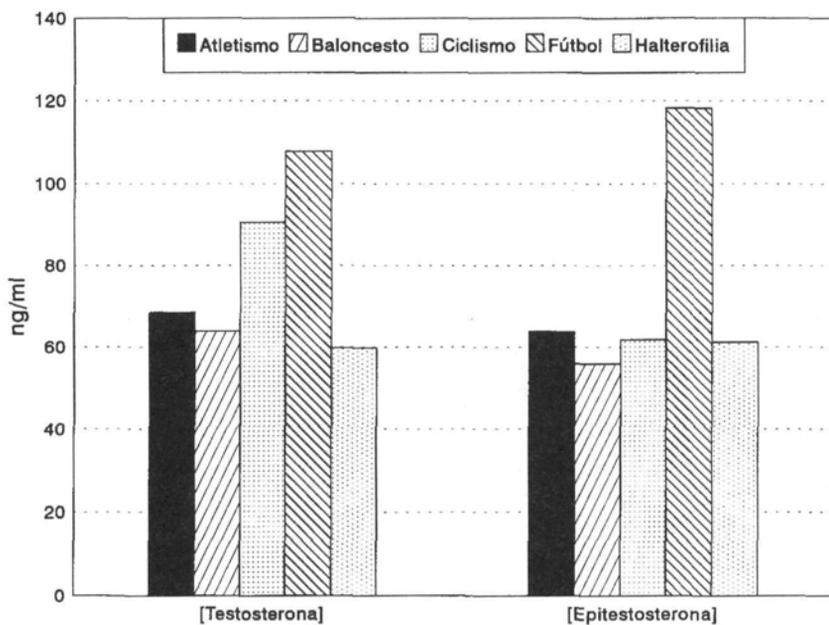


Figura 11. Concentraciones medias de T y E en muestras, recogidas en fase de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes.

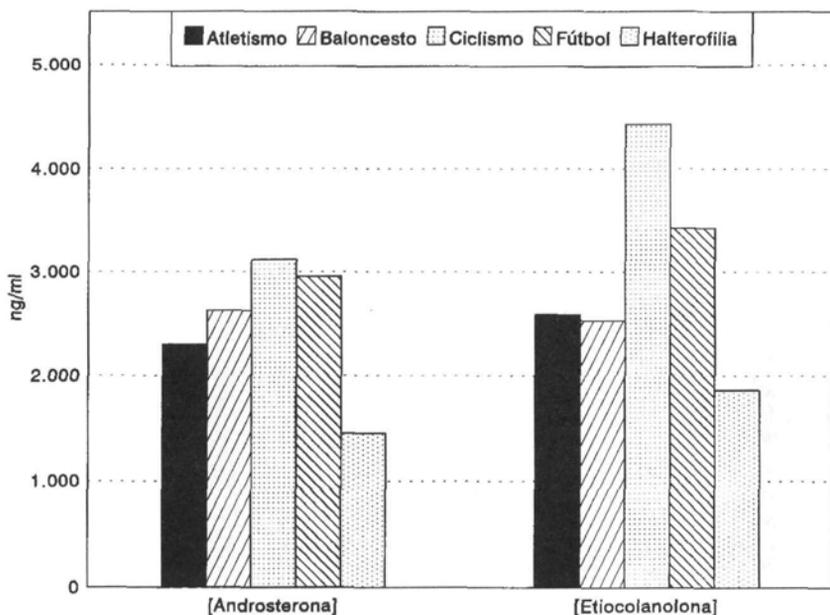


Figura 12. Concentraciones medias de An y Et en muestras, recogidas en fase de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes.

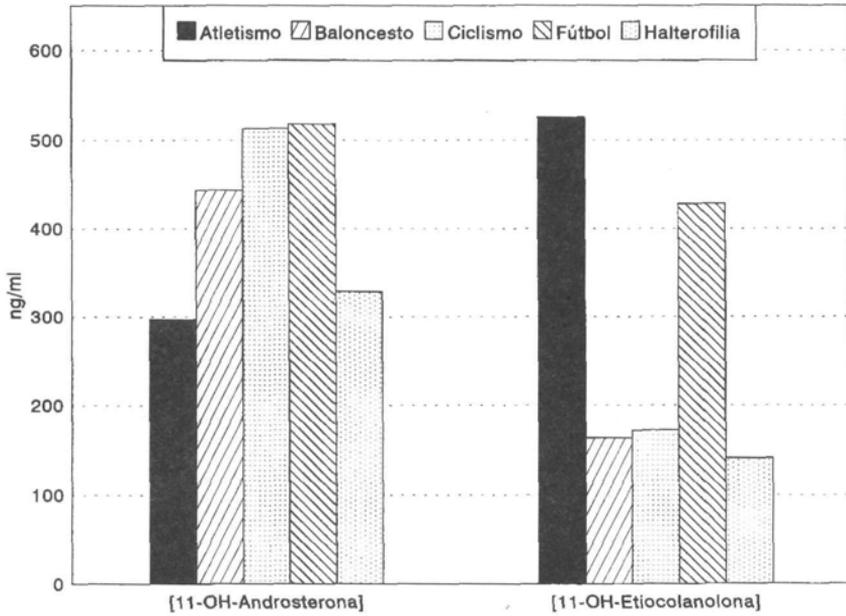


Figura 13. Concentraciones medias de OHAn y OHET en muestras, recogidas en fase de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes.

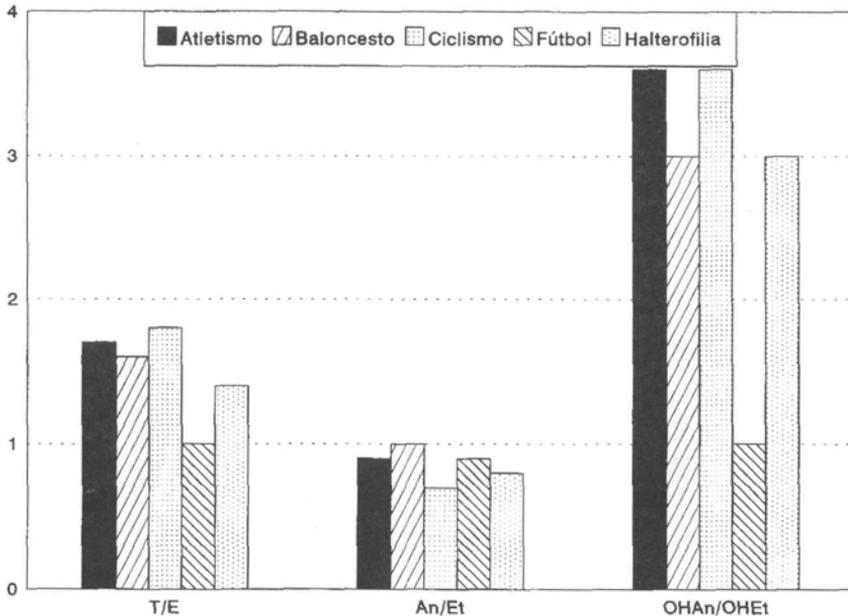


Figura 14. Concentraciones medias de cocientes de endógenos en muestras, recogidas en fase de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes.

En la tabla XIX se presentan, recopilados de las tablas XIII - XVIII, los valores obtenidos en estas poblaciones, aunque se ha elegido otra muestra de deportes en general.

**Tabla XIX.** Valores urinarios medios de endógenos del P.H.E. medidos en muestras recogidas a deportistas en competición

	Atletismo (n=17)	Baloncesto (n=52)	Ciclismo (n=82)	Fútbol (n=47)	Halterofilia (n=62)	Deportes (varios) (n=38)
Testosterona	47,4±126,3	65,4±54,2	53,0±54,9	72,3±58,5	43,3±36,9	41,4±24,9
Epitestosterona	25,8±66,6	50,8±51,0	27,5±20,3	45,8±28,5	33,0±38,9	29,3±18,9
Androsterona	1663,7±2664,3	2425,5±1732,1	1610,9±1082,9	2781,8±1713,2	2788,1±2819,2	1582,0±948,9
Etiocolanolona	1660,3±2376,9	2640,6±1953,9	1368,1±803,8	2429,5±1373,6	3043,1±2935,2	1416,7±782,3
OHAndrosterona	394,4±807,2	257,8±348,2	477,2±997,4	235,8±198,3	354,8±432,4	421,6±315,1
OHEtiocolanolona	226,6±413,3	282,0±372,7	168,6±155,6	266,8±184,5	243,3±214,0	205,6±150,5
T/E	1,8±1,6	1,5±0,8	2,3±1,4	1,7±1,1	1,6±1,1	1,9±1,3
An/Et	1,0±0,4	0,9±0,6	1,2±0,5	1,2±0,5	1,2±1,1	1,2±0,5
OHAn/OHEt	1,7±1,3	1,2±1,1	2,6±1,7	1,6±3,3	1,5±1,0	2,2±1,3

### 2.3. Estudio de los posibles efectos que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo (P.H.E.) pueden producir algunos fármacos

#### 2.3.1. Efecto producido por administración de testosterona

La forma básica más simple de elevar la concentración de testosterona en el organismo es administrar directamente **testosterona** exógena. Para conocer la incidencia media en el tiempo por las modificaciones que produce, se ha realizado un estudio con 3 voluntarios, varones con una edad media de 23±0.7 años, a los que se les ha inyectado una dosis única de 250 mg. de enantato de testosterona. Los datos correspondientes a la evolución de la [T], de la [E] y del cociente T/E durante los 20 días siguientes a la inyección de la monodosis indicada se representan gráficamente en las figuras 15, 16 y 17.

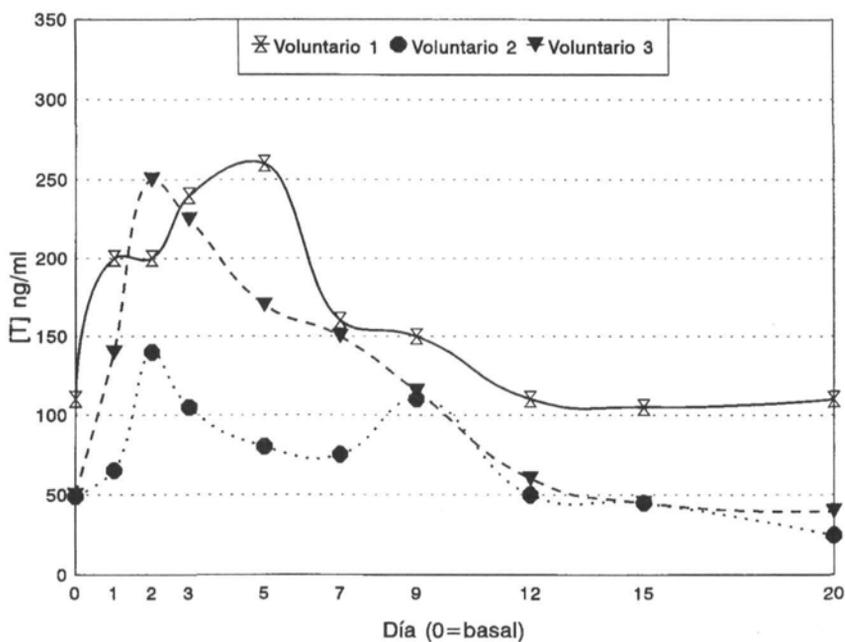


Figura 15. Efecto de la administración de testosterona sobre la [T] urinaria.

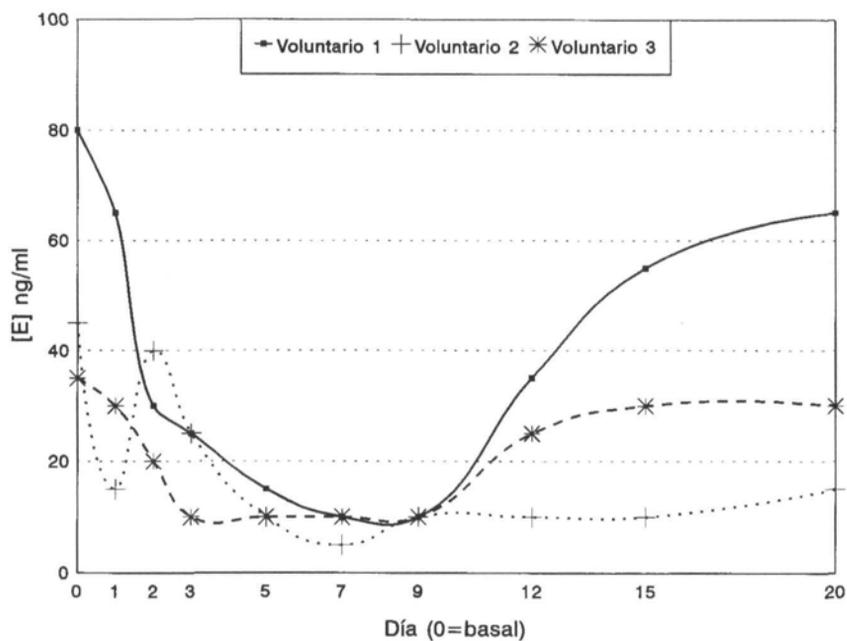


Figura 16. Efecto de la administración de testosterona sobre la [E] urinaria.

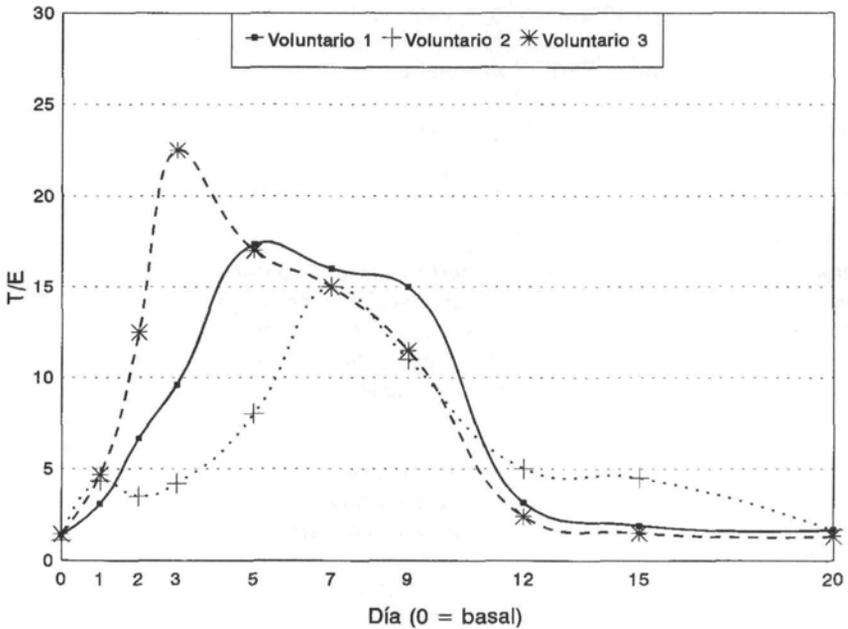


Figura 17. Efecto de la administración de testosterona sobre el cociente T/E urinario.

El efecto obtenido es el siguiente:

1º) La concentración de **testosterona** se incrementa desde un 136,4% hasta un 400,0% a partir de los niveles basales, decreciendo desde el 2º-5º día y recuperándose, en todos los voluntarios, los niveles basales alrededor de duodécimo día.

2º) La concentración de **epitestosterona** decrece hasta valores de un 88,9 % inferiores a los basales, alcanzando valores mínimos entre el 3º y 9º día, y no llegándose en ningún caso a recuperar los niveles basales ni siquiera en el vigésimo día, último día de control tras la administración de testosterona.

3º) El cociente **T/E** se eleva, desde valores medios normales de 1,3 hasta valores máximos de a) 17,3; b) 15,0 y c) 22,5 en el 5º, 7º y 3º día respectivamente en cada voluntario. Hasta aproximadamente el décimo día el cociente es superior a 6 en los tres casos, y no se recuperan valores basales hasta el décimoquinto día de la administración de testosterona.

### 2.3.2. Efecto producido por administración de gonadotrofina coriónica humana

La hormona peptídica **hCG** funciona como agonista de la **LH**, estimulando la producción de andrógenos y endógenos. Se utiliza como sustancia dopante porque tras su administración incrementa la concentración de la **testosterona** endógena, pero por otra parte enmascara el uso de **testosterona** exógena porque al incrementar también la concentración de **epitestosterona** reduce el cociente **T/E**.

En consecuencia se ha considerado que esta hormona puede constituirse en uno de los factores de mayor incidencia en el problema de la **testosterona** como sustancia dopante, a través de su influencia en el **Perfil Hormonal Esteroideo**. Se han realizado diversos estudios tratando de encontrar los resultados de dicha influencia y de los efectos producidos, mediante parámetros convencionales e innovadores.

### i. Primer estudio

Se realizó un estudio preliminar sobre la posible influencia que la **gonadotropina coriónica humana, hCG**, podría ejercer sobre el **perfil hormonal esteroideo**, tanto sobre las concentraciones de las principales y más características hormonas endógenas andrógenas detectadas como sobre sus cocientes. Para ello se tuvo en cuenta que aunque la **hCG** sólo posee unas 8 horas de vida biológica, se puede detectar en la orina durante los tres o cuatro días siguientes a su administración, por la modificación que sufre en el plasma antes de la excreción.

Se realizó la medida de las concentraciones urinarias de **T, E, An, Et, OHAn, OHEt**, de los cocientes **T/E, An/Et y OHAn/OHEt** y de la **densidad urinaria** en muestras de deportistas en general, sin ninguna distinción específica, salvo haberse recogido a varones que habían participado en una competición deportiva y resultar negativas en un análisis de control del dopaje convencional, diferenciadas por tener reacción negativa a la **hCG** (25 deportistas) o por ser positivas a dicha hormona (22 deportistas).

Los resultados se presentan en la tabla XIX.

**Tabla XIX.** Valores de concentraciones medias de hormonas endógenas, sus cocientes y la densidad, en orinas con diferente respuesta al análisis de hCG

	hCG(-) (n=25)	hCG(+) (n=22)
T (ng/ml)	35,23±18	19,85±11 *
E (ng/ml)	30,68±23	17,74±11 +
An (ng/ml)	4601±2120	2063±1728 *
Et (ng/ml)	3555±1727	1946±1320 *
OHAn(ng/ml)	622,4±530	351,6±115 +
OHEt (ng/ml)	357,2±408	177±131 +
T/E	1,55±1,01	1,64±1,58
An/Et	1,34±0,50	1,19±0,34
OHAn/OHEt	2,36±1,94	2,06±1,81
Densidad	1,022±0,004	1,004±0,005

\*\* p<0.001; \* p<0.01; + p<0.05 (Test de la t de Student)

Es evidente que no se pueden establecer conclusiones al comparar las concentraciones de los andrógenos endógenos medidas en los dos grupos, por ser éstos generales. Pero sí es interesante tener en cuenta que *no exista significación* en la variación de los cocientes entre dichos andrógenos, ya que en principio la relación **T/E** no sirve en este caso como medida del incremento en la producción de andrógenos, por no diferenciar esta acción sobre la **testosterona** de la ejercida sobre la **epitestosterona**.

## ii. Segundo estudio

Al no poder sacar conclusiones en la anterior investigación, salvo la posible influencia de la **hCG** en el **P.H.E.** y en la **densidad**, pero teniendo en cuenta las correlaciones significativas encontradas, se realizó un segundo trabajo sobre el tema, incluyendo un factor diferenciador en los grupos de estudio: el **sexo** de los deportistas que constituían la población a estudiar.

Se investigó la influencia de la hormona peptídica en una muestra de 67 deportistas de alto nivel, de los cuales 29 (47.5%) eran mujeres y 32 (52.4%) varones. De todos ellos, 11 casos (18.0%), 4 mujeres y 7 varones, presentaron una reacción positiva a la hormona gonadotrofina coriónica humana.

Los resultados se presentan en la tabla XX, constituida por los valores medios de las concentraciones de andrógenos medidas en los diferentes subgrupos de la población estudiada, así como de sus cocientes.

**Tabla XX.** Valores medios de las concentraciones de andrógenos endógenos y de sus relaciones medidas en poblaciones de distinto sexo y con diferente respuesta al análisis de la hCG.

	VARONES (n=32)		MUJERES (n=29)	
	hCG (-) (n=25)	hCG (+) (n=7)	hCG (-) (n=25)	hCG (+) (n=4)
T (ng/ml)	35,23±9,7	19.85±12,1 +	7,47±3,2	3,35±2,1 +
E (ng/ml)	30,68±11,4	17.74±8,2 *	14,4±8,3	2,86±1,5
An (ng/ml)	4601±1203	2063±945 *	2468±1129	1217±920
Et (ng/ml)	3555±2101	1946±730	2282±943	1730±1111
OHA <sub>n</sub> (ng/ml)	622±130	352±78,3 +	314±213	154±97 +
OH <sub>Et</sub> (ng/ml)	357±233	177±81,2	252±187	115±101
T/E	1,65±1,1	1,64±1,2	1,26±0,9	1,30±0,9
An/Et	1,34±0,7	1,19±1,1	0.89±0,4	0,76±0,5
OHA <sub>n</sub> /OH <sub>Et</sub>	2,36±1,3	2,06±1,5	1,47±0,9	1,27±1,1

\* p<0.01; + p<0.05 (Test de Student)

En las figuras 18 - 25 se representan gráficamente las variaciones existentes entre diferentes parámetros del **P.H.E.** de las poblaciones estudiadas.

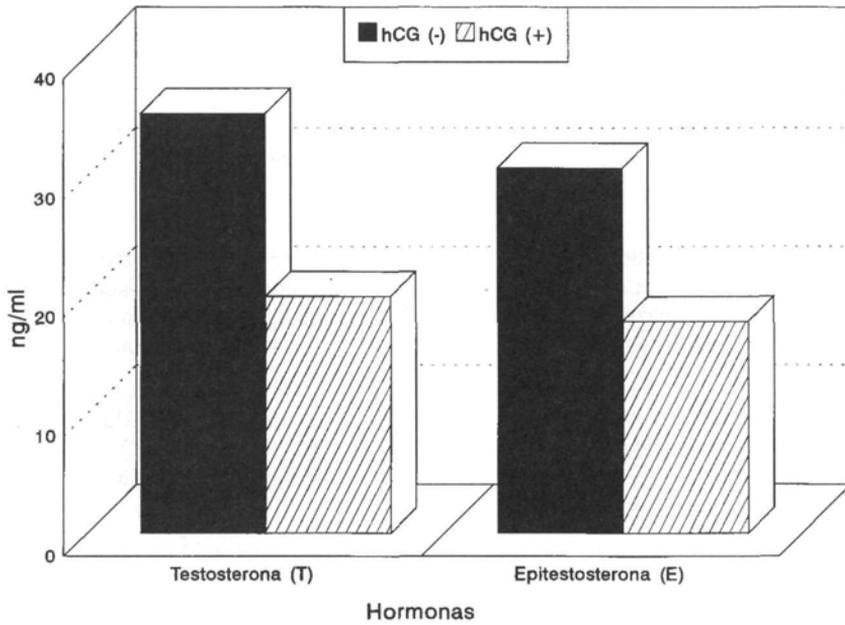


Figura 18. Valores urinarios de [T] y [E] en 32 deportistas del sexo masculino con diferente reacción a la hCG.

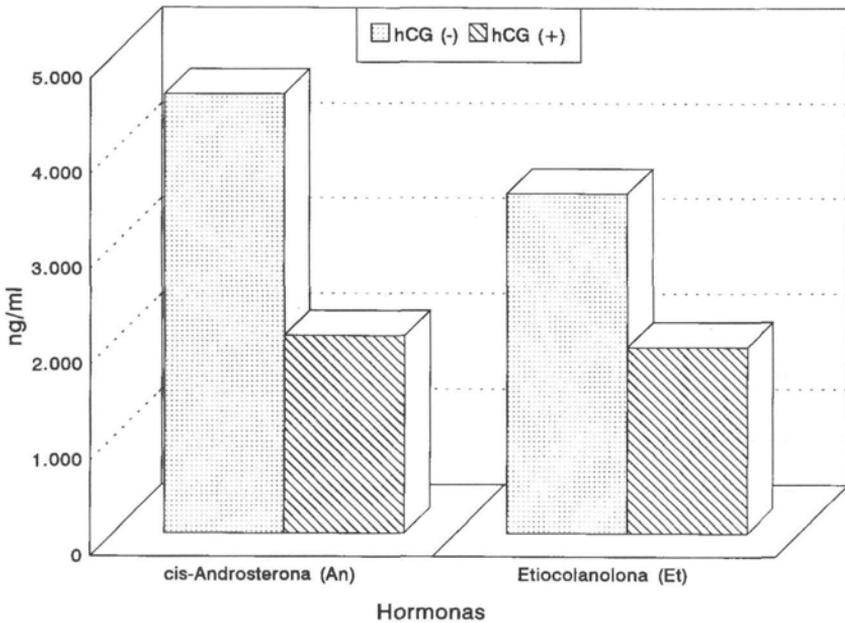


Figura 19. Valores urinarios de [An] y [Et] en 32 deportistas del sexo masculino con diferente reacción a la hCG.

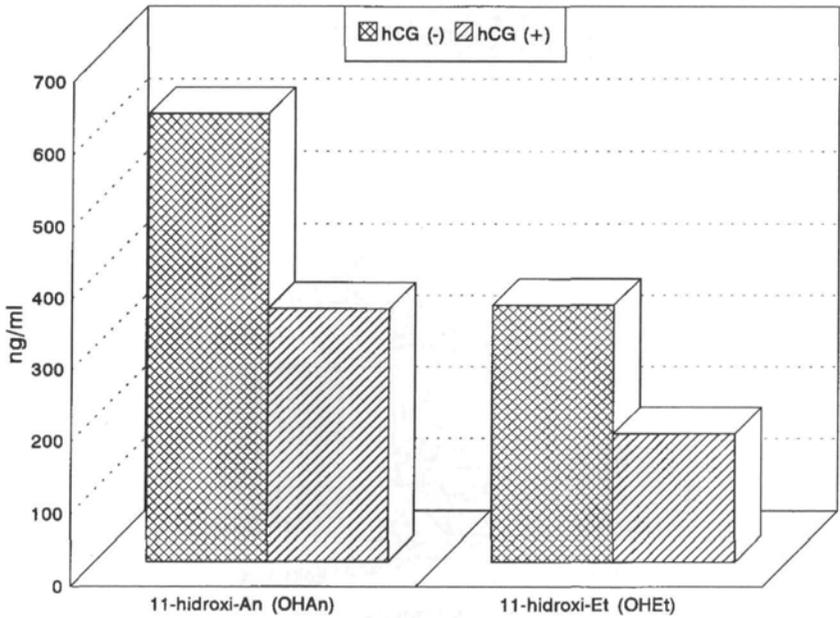


Figura 20. Valores urinarios de [OHAn] y [OHET] en 32 deportistas del sexo masculino con diferente reacci3n a la hCG.

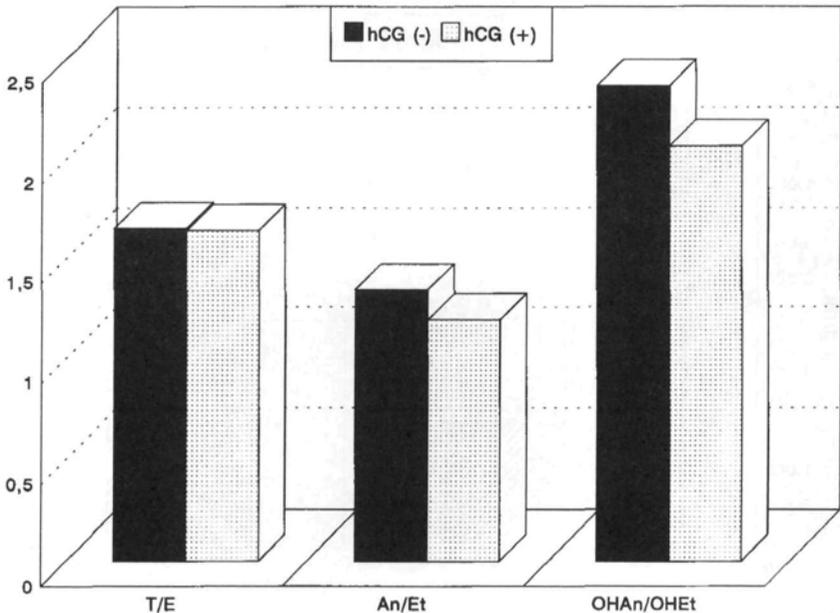


Figura 21. Valores urinarios medios de T/E, An/Et y OHAn/OHET en 32 deportistas del sexo masculino con diferente reacci3n a la hCG

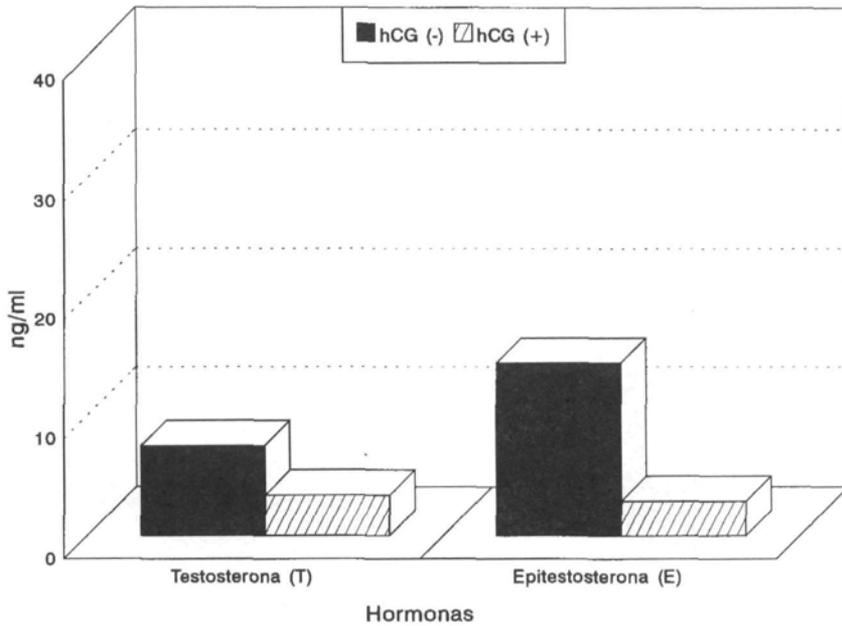


Figura 22. Valores urinarios de [T] y [E] en 29 deportistas del sexo femenino con diferente reacción a la hCG.

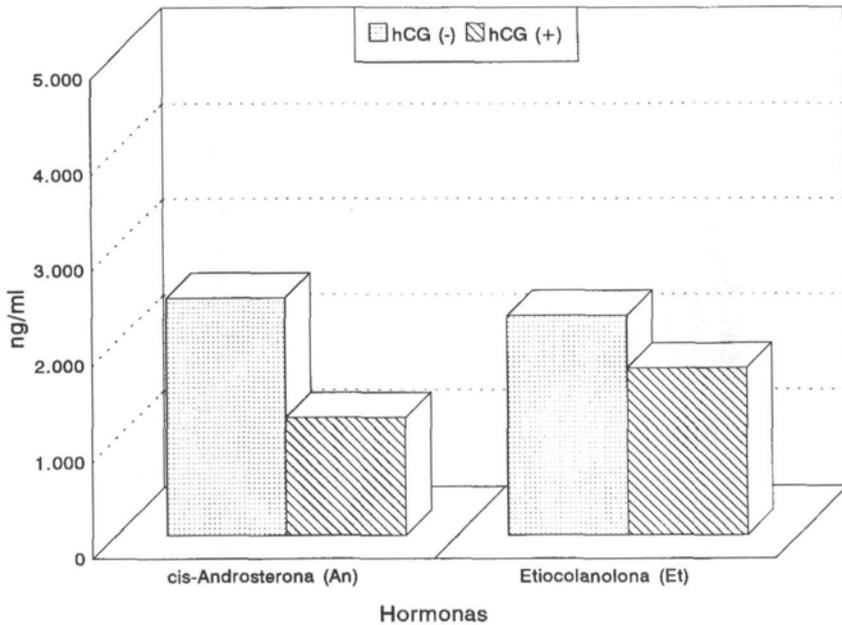


Figura 23. Valores urinarios de [An] y [Et] en 29 deportistas del sexo femenino con diferente reacción a la hCG.

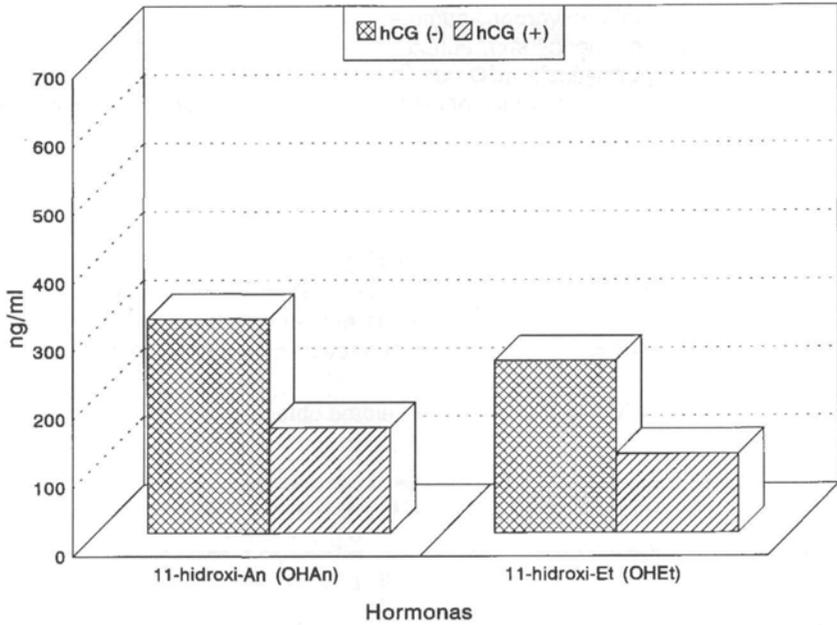


Figura 24. Valores urinarios de [OHAn] y [OHET] en 29 deportistas del sexo femenino con diferente reacci3n a la hCG.

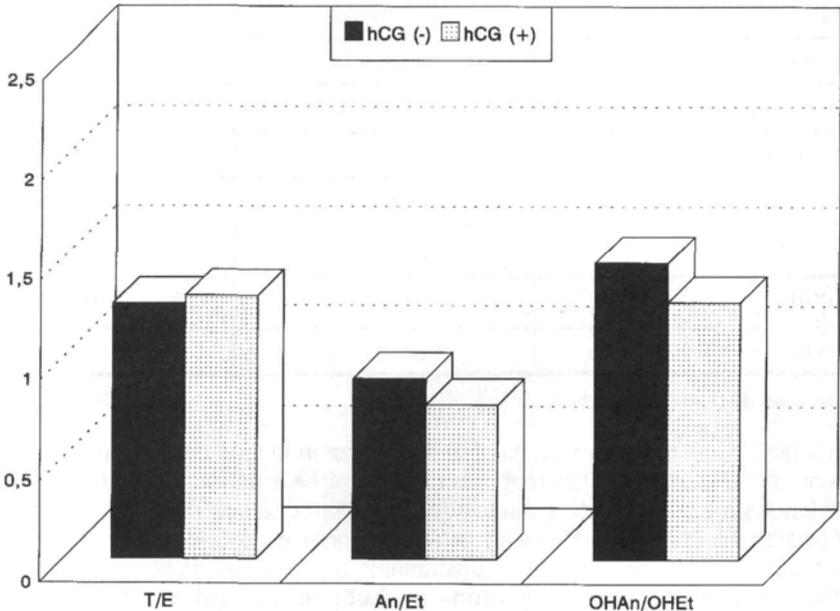


Figura 25 Valores urinarios medios de T/E, An/Et y OHAn/OHET en 29 deportistas del sexo femenino con diferente reacci3n a la hCG.

Se puede observar que tanto en varones como en mujeres los valores de las concentraciones de los andrógenos endógenos son, aunque no altamente significativos, más bajos en los grupos con reacción positiva a la hCG que en los correspondientes con reacción negativa. Sin embargo, las relaciones entre los andrógenos no se modifican significativamente en ningún subgrupo.

### iii. Tercer estudio

Ante los resultados del primer experimento, se realizó un estudio de los valores urinarios de diferentes hormonas androgénicas constituyentes del **perfil hormonal esteroideo** medidos en 98 deportistas varones practicantes de tres diferentes deportes: **atletismo** (14 atletas); **ciclismo** (37 ciclistas); y **fútbol** (47 futbolistas), con reacción negativa y positiva a la hCG.

En las tablas XXI, XXII y XXIII se presentan los valores obtenidos.

**Tabla XXI.** Valores medios de la densidad urinaria y parámetros del perfil hormonal esteroideo urinario en muestras fisiológicas recogidas en competición a deportistas federados, agrupadas según la reacción de su análisis a la hCG.

	hCG(-) n=57	hCG(+) n=41
T (ng/ml)	23,89±20	21,57±12
E (ng/ml)	19,74±19	17,63±10
An (ng/ml)	2580±2650	1901±1547
Et (ng/ml)	2593±1879	1948±1383 +
OHAn (ng/ml)	425,8±720	284,0±289
OHET (ng/ml)	304,5±572	161,6±151
T/E	1,57±1,16	1,60±1,61
An/Et	1,01±0,70	0,98±0,45
OHAn/OHET	1,73±1,27	1,83±1,31
Densidad	1,023±0,005	1,014±0,006 **

\*\* p<0.001; + p<0.05 (Test de la t de Student)

En esta tabla XXI se muestran los valores obtenidos en el total de deportistas hCG positivos frente a los que presentan reacción negativa a esta hormona en sus muestras de orina, referidos a los parámetros estudiados. En ella podemos observar que en ambos grupos existen mínimas variaciones entre las relaciones de hormonas. En cuanto a la eliminación de hormonas androgénicas, únicamente alcanzó la significación estadística el descenso apreciado en la **etiocolanona** (p<0.05) en los sujetos con reacción hCG+; en el resto de las sustancias las concentraciones disminuyeron, pero sin alcanzar la significación estadística.

La realización del estudio de *correlación multivariante* en este grupo mostró una correlación estadísticamente significativa de la **hCG** y de la **densidad** de la orina ( $r=0.6073$ ;  $p<0.001$ ) y con la eliminación urinaria de **etiocolanolona** ( $r=0.2090$ ;  $p<0.05$ ). La **densidad** de la orina estaba correlacionada con la eliminación urinaria de **testosterona** ( $r=0.2593$ ;  $p<0.01$ ), de **etiocolanolona** ( $r=0.2765$ ;  $p<0.01$ ), de **11-hidroxi-androsterona** ( $r=0.2298$ ;  $p<0.05$ ) y de **11-hidroxi-etiocolanolona** ( $r=0.2670$ ;  $p<0.01$ ).

**Tabla XXII.** Valores medios urinarios de las concentraciones de T (testosterona), E (epitestosterona), An (cis-Androsterona), Et (etiocolanolona), OHAn (11-hidroxi-androsterona), OHEt (11-hidroxi-etiocolanolona) y sus relaciones, en muestras de 98 deportistas con reacción negativa y positiva a la hCG.

	Atletismo		Ciclismo		Fútbol	
	hCG(-) (7)	hCG(+) (7)	hCG(-) (25)	hCG(+) (12)	hCG(-) (25)	hCG(+) (22)
<b>T (ng/ml)</b>	29,92±21	20,73±8	10,02±13	25,21±14	35,23±23	19,85±12 *
<b>E (ng/ml)</b>	23,07±21	17,65±10	13,43±5	17,42±10	30,68±25	17,74±10 +
<b>An (ng/ml)</b>	1802±831	1772±2322	1452±808	1680±945	4601±3378	2063±1579 *
<b>Et (ng/ml)</b>	1767±978	1457±655	2094±917	2236±1256	3555±2434	1946±1603 *
<b>OHAn (ng/ml)</b>	196,4±63	69,6±40 **	431,2±983	285,2±277	622,4±615	351,6±313 +
<b>OHEt (ng/ml)</b>	121,5±40	60,4±41 *	380±847	192,3±207	357,2±397	177±127 +
<b>T/E</b>	2,77±2,2	1,37±0,88	1,55±1,09	1,64±0,83	1,65±0,86	1,64±2,08
<b>An/Et</b>	1,22±0,9 7	0,66±0,25	0,69±0,31	0,80±0,4	1,34±0,61	1,19±0,42
<b>OHAn/OHEt</b>	1,70±0,5 2	1,22±0,81	1,29±0,76	1,76±1,2	2,36±1,60	2,06±1,44

\*\*  $p<0.001$ ; \*  $p<0.01$ ; +  $p<0.05$  (Test de la t de Student)

En esta tabla XXII se presentan los valores obtenidos para las hormonas androgénicas separados según los deportes practicados por los deportistas estudiados (atletismo, ciclismo y fútbol), comparando los valores de los sujetos hCG positivos frente a los hCG negativos. En el grupo de atletas hCG positivos las relaciones estudiadas no sufrieron cambios significativos, pero la concentración urinaria de las hormonas androgénicas sufrieron un descenso generalizado en sus niveles, alcanzándose la significación estadística en la **11-hidroxi-androsterona** ( $p<0.001$ ) y en la **11-hidroxi-etiocolanolona** ( $p<0.01$ ). En los futbolistas hCG positivos se encuentran resultados similares a los atletas, es decir, no hay alteraciones en las relaciones mientras que en las concentraciones de las sustancias androgénicas se produce un descenso significativo en sus niveles, sobre todo la **testosterona** ( $p<0.01$ ), la **androsterona** ( $p<0.01$ ) y la **etiocolanolona** ( $p<0.01$ ). Los ciclistas por su parte se comportaban de forma diferente a los dos grupos anteriores, pues se observó un incremento en los niveles de **testosterona**, **epitestosterona** y **etiocolanolona**, aunque sin llegar a la significación estadística. Los **11-hidroxi** sufrieron un descenso en sus valores en este grupo, como ocurría en los otros dos.

Dado el diferente comportamiento que seguían atletas y futbolistas por un lado, y ciclistas por otro, se realizó un estudio de *correlación multivariante* a los dos subgrupos formados. En la tabla XXIII se detalla el estudio multivariante del grupo de atletas y futbolistas; en ella llama la atención la existencia de correlaciones estadísticamente significativas entre la utilización de **hCG** y la eliminación urinaria de sustancias androgénicas, destacando sobre todo la que mantenía con la **testosterona**, **androsterona** y **etiocolanolona** ( $p < 0.01$ ), mientras que no existen correlaciones con las relaciones estudiadas. Por su parte, las correlaciones encontradas para la **densidad** se mantenían, y se incrementaron en otras sustancias, como la **epitestosterona** y la **androsterona**, no encontradas en el estudio global. En el estudio efectuado a los ciclistas únicamente se mantuvo la correlación entre la **hCG** y la **densidad** ( $r=0.3226$ ;  $p < 0.01$ ) y las correlaciones de la **densidad** con la eliminación de **11-hidroxi-androsterona** ( $r=0.3226$ ;  $p < 0.05$ ) y **11-hidroxi-etiolanolona** ( $r=0.3145$ ;  $p < 0.05$ ).

**Tabla XXIII.** Estudio multivalente (coeficiente de correlación y significación estadística) realizado a un grupo de 61 deportistas, entre la hCG y la densidad urinaria, y la eliminación urinaria de hormonas endógenas androgénicas del P.H.E.

	hCG	Densidad
<b>hCG</b>	1.000 0.000	0.6733 0.0000
<b>T</b>	0.3602 0.0044	0.3885 0.0020
<b>E</b>	0.2858 0.0256	0.2550 0.0473
<b>An</b>	0.3465 0.0062	0.2865 0.0252
<b>Et</b>	0.3291 0.0096	0.3385 0.0076
<b>OHA<sub>n</sub></b>	0.2606 0.0425	0.2590 0.0438
<b>OHE<sub>t</sub></b>	0.2758 0.0314	0.2602 0.0428

Los resultados sobre el grupo total de varones nos muestra una importante correlación entre la **utilización de hCG** y la disminución de la densidad urinaria, lo cual puede indicar que el descenso de la densidad es uno de los puntos importantes de la acción de esta hormona peptídica. Por otra parte, se encuentra en los sujetos que utilizaban **hCG** un *descenso en la eliminación de etiocolanolona*. El descenso de densidad influiría a su vez sobre la eliminación urinaria de **testosterona**, **etiocolanolona** y **11-hidroxis**.

Pero cuando se separa el grupo según la modalidad deportiva practicada, y por tanto según la actividad física realizada, se encuentra, en primer lugar, que la tasa de eliminación de estas sustancias era diferente según el deporte y, en segundo lugar, que no existía un comportamiento homogéneo en los tres grupos hCG-positivos, pues mientras atletas y futbolistas se comportaban de forma similar (descenso en la eliminación de las hormonas estudiadas), los ciclistas presentaban elevaciones de **testosterona**, **epitestosterona** o **etiocolanolona**. Ello podría deberse a que los ciclistas pueden utilizar la **hCG** como **enmascarador de una utilización de hormonas exógenas** (elevación de **testosterona** y **epitestosterona**), mientras que en el grupo de atletas y futbolistas se utilizaría esta hormona como *sustancia, difícil de detectar, promotora de anabolizantes endógenos*.

El estudio estadístico realizado al grupo de atletas y futbolistas pone de manifiesto, posiblemente, **los auténticos efectos que la hCG tiene sobre el perfil urinario de hormonas androgénicas**. Es decir, la hCG va a producir directamente, y no a través de la densidad, **una disminución en la excreción urinaria de estas sustancias, lo que lleva a una mayor utilización por el organismo de las mismas**. Además, produce una secreción similar de **testosterona y epitestosterona testicular**, con lo cual *se mantiene constante el cociente entre las concentraciones de ambas hormonas*. E incluso la producción endógena de hormonas testiculares puede ser un potente estímulo para la producción hepática de la **proteína transportadora (SHBG)**, con lo que en consecuencia habría un menor componente de **testosterona libre**, y en caso de utilización de **testosterona exógena** ésta tendría igualmente mayor capacidad de fijación y con ello su eliminación sería menor. Esto podría explicar en parte la descrita **actividad enmascaradora de la hCG**.

Sin embargo, en el grupo de los ciclistas la única correlación que mantenía la **hCG** era con la **densidad**, y ésta con la eliminación de las **11-hidroxis**. Ello indica una utilización de esta hormona con otros fines, quizá como enmascarador o como preventivo de la atrofia testicular que el uso de anabolizantes exógenos pudiera producir.

#### iv. Cuarto estudio

Al haber observado, en los anteriores experimentos, importantes modificaciones en los perfiles urinarios de sustancias androgénicas endógenas tras la utilización de **hCG**, se ha pretendido a continuación valorar cuál era el efecto que dicha hormona tenía sobre el perfil hormonal esteroideo urinario en un varón adulto sano, con actividad física media, durante los tres días siguientes a su utilización. Para ello un voluntario de las características antedichas se inyectó 2500 unidades de gonadotrofina coriónica, recogiendo orina basal en la noche anterior a la inyección y a las 24, 48 y 72 horas de la misma.

En la tabla XXIV se muestran los valores obtenidos para las concentraciones de las hormonas androgénicas estudiadas, los cocientes de las mismas y la densidad urinaria en los períodos estudiados.

**Tabla XXIV.** Efecto de la hCG sobre [T], [E], [An], [Et], [OHAn], [OHET], T/E, An/Et, OHAn/OHET y densidad urinarias en las correspondientes muestras fisiológicas.

	hCG (-) (0 horas)	hCG (+) (24 horas)	hCG (+) (48 horas)	hCG (+) (72 horas)
[T] ng/ml	76.93	123.1	2.48	60.71
[E] ng/ml	91.94	172.3	15.91	113.1
[An] ng/ml	2190	4425	146.8	3098
[Et] ng/ml	2329	1879	421	9520
[OHAn] ng/ml	174.1	1114	307.9	738.5
[OHET] ng/ml	59.11	401.3	391.3	1418
T/E	0.83	0.71	0.15	0.53
An/Et	0.94	2.35	0.34	0.32
OHAn/OHET	2.94	2.77	0.78	0.52
Densidad	1.023	1.012	1.010	1.019

Se consideran importantes los resultados obtenidos en esta investigación, por cuya razón se representan gráficamente en las figuras 26 - 33.

En la figura 26 se observa cómo la producción y eliminación de **testosterona** y **epitestosterona**, en ng/ml, aumentó a las 24 horas de la administración de la **hCG**. Sin embargo, a las 48 horas sufrió un importantísimo descenso en los niveles de ambas, para recuperar los valores a las 72 horas. La elevación observada a las 24 horas obedecería a una hiperestimulación androgénica inicial; pero la elevación de **testosterona** produce un freno hipotalámico e hipofisiario que hace que, a las 48 horas, se produzca una importante disminución en la producción hormonal. Es este descenso en la producción de **testosterona** lo que desactiva el freno hipofisiario e hipotalámico y hace que, a las 72 horas, la producción de esas hormonas prácticamente alcance valores similares a los basales.

En la figura 27 se presenta el **porcentaje de testosterona y epitestosterona respecto al total de hormonas eliminadas**. Con este tratamiento se obtiene una visión diferente en la que se eliminan una serie de parámetros que podrían ser interferentes, como la densidad, el pH, la cantidad de orina emitida, etc.

En la figura 28, en la que se representan los valores obtenidos de **cis-androsterona** y **etiocolanona**, en ng/ml., se observa que es la **androsterona** la que responde a la estimulación, aumentando sus valores a las 24 horas, para caer a las 48 horas y aumentar nuevamente los niveles a las 72 horas.

En la figura 29 se expresan los valores en porcentajes del total de sustancias eliminadas, y se puede observar un esquema similar para la **androsterona**; sin embargo la **etiocolanona** presenta un descenso a las 24 horas, mientras que experimenta un importante aumento a las 48 horas, que se hizo más patente a las 72 horas. Ello puede indicar que en

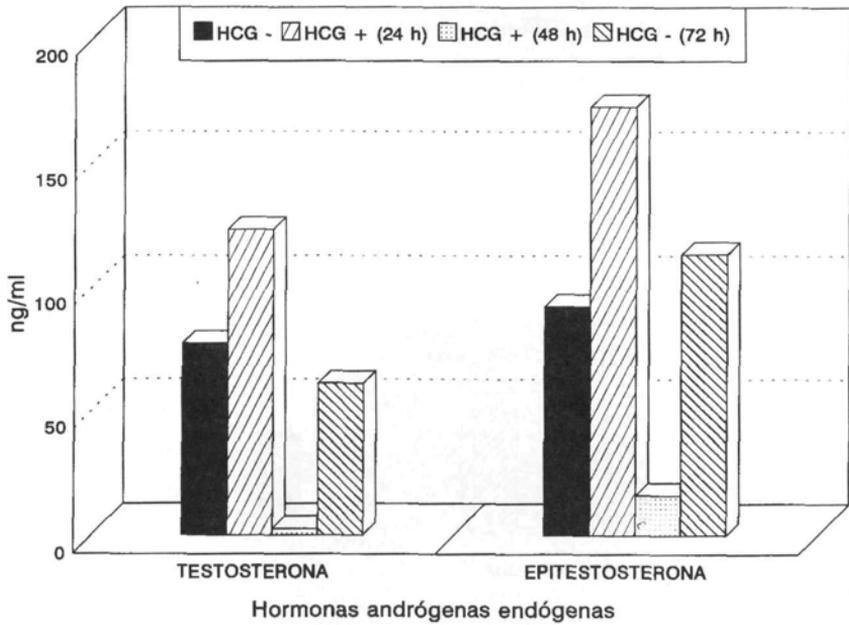


Figura 26. Efecto de la hCG sobre [T] y [E].

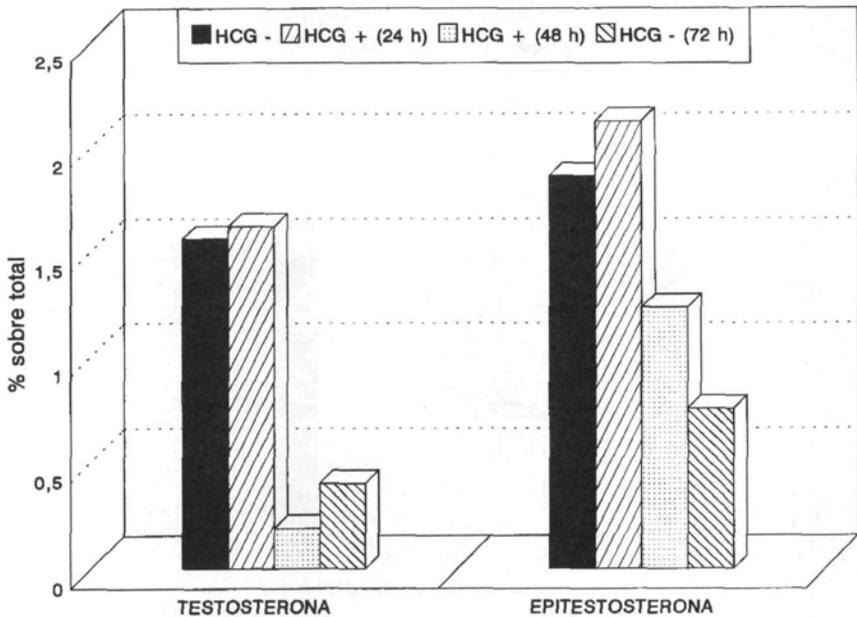


Figura 27. Efecto de la hCG sobre [T] y [E]. (Porcentaje sobre total de endógenos medidos).

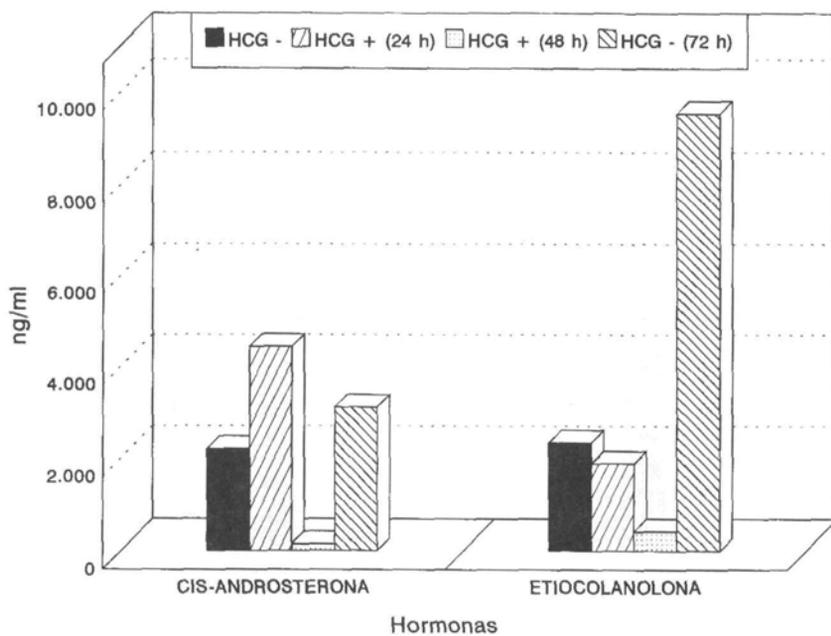


Figura 28. Efecto de la hCG sobre [An] y [Et].

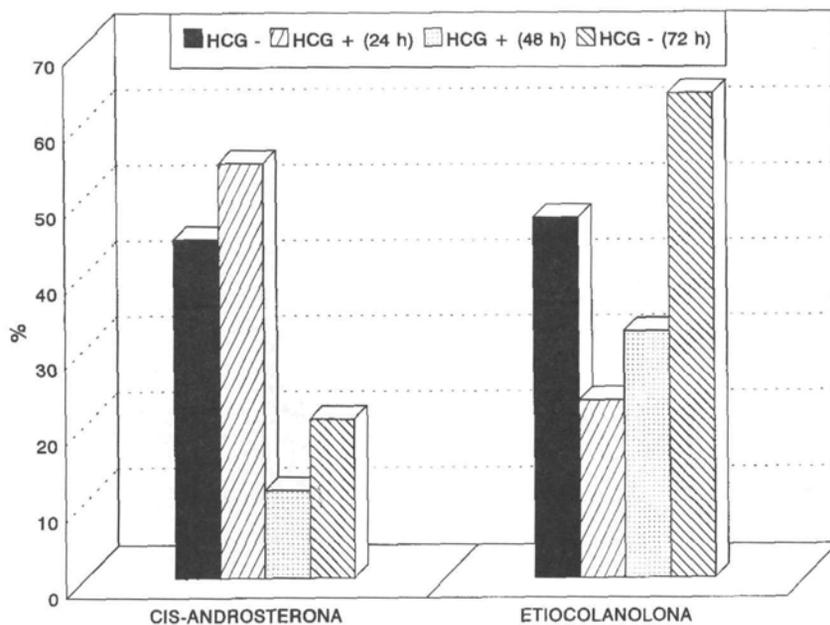


Figura 29. Efecto de la hCG sobre [An] y [Et]. (Porcentaje sobre total de endógenos medidos).

una primera fase la metabolización de las sustancias producidas por la influencia de la hCG serían metabolizadas por la vía de la **cis-androsterona**, mientras que transcurridas 24 horas sería más utilizada la vía de la **etiocolanolona**.

En la figura 30 se valora gráficamente la eliminación de **11-hidroxi-androsterona** y **11-hidroxi-etiocolanolona**; se puede observar cómo ambas sustancias siguen un patrón similar al seguido por la **testosterona** y **epitestosterona**.

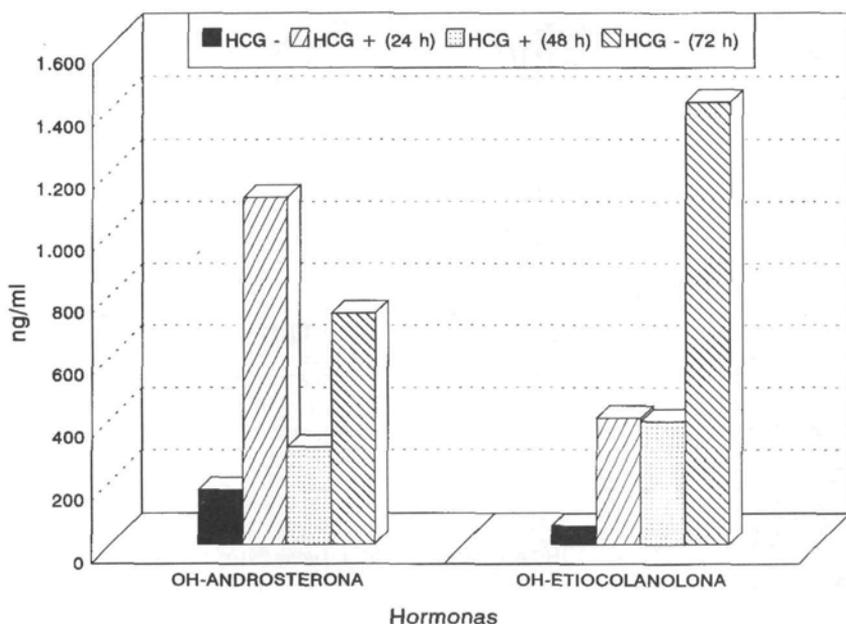


Figura 30. Efecto de la hCG sobre [OHAn] y [OHEt].

Sin embargo, si se transforman los valores absolutos en porcentajes, figura 31, se observa cómo a las 48 horas, cuando los porcentajes de los otros parámetros eran menor que en las horas anteriores, estas sustancias presentaban un aumento de sus porcentajes.

En la figura 32 se presentan los cocientes **T/E**, **An/Et** y **OHAn/OHEt**. Se observa una pequeña disminución del cociente **T/E** a las 48 horas, sin otras variaciones destacables respecto a este cociente. La relación **An/Et** experimentó sin embargo un aumento destacable a las 24 horas, seguido de una disminución.

En la figura 33 se presentan las variaciones sufridas por la **densidad urinaria**. En ella, así como en los correspondientes valores de la tabla XXV, se puede observar que la **densidad urinaria** sufrió un importante descenso en sus valores tras la administración de **hCG**, llegando incluso a cifras de 1.010 a las 48 horas. Se observa claramente cómo es la densidad la variable que presenta una mayor modificación con la utilización de **hCG** y probablemente es esta disminución la que hace que se presente a las 48 horas un pobre perfil.

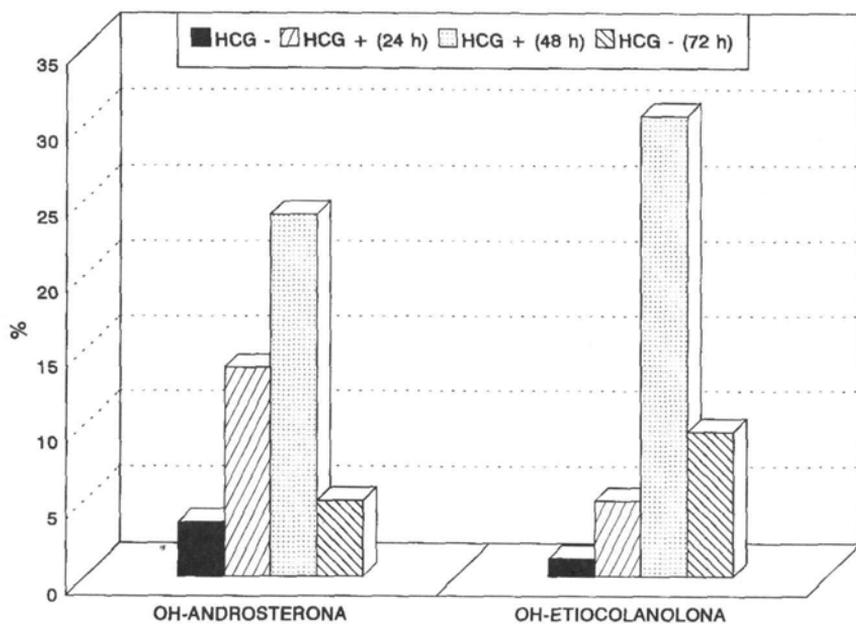


Figura 31. Efecto de la hCG sobre [OHAn] y [OHEt]. (Porcentaje sobre total de endógenos medidos).

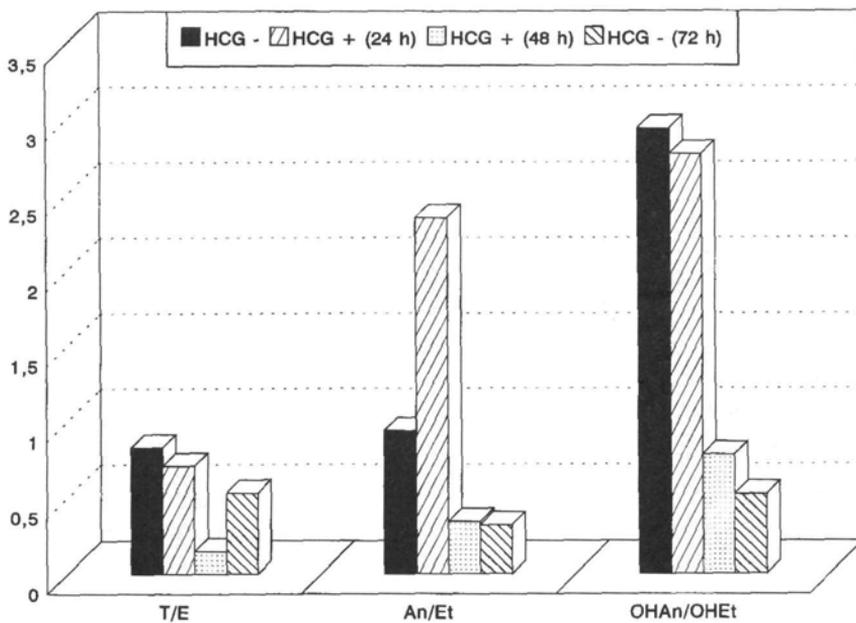


Figura 32. Relaciones entre las concentraciones de diversos andrógenos del P.H.E. tras la administración de hCG.

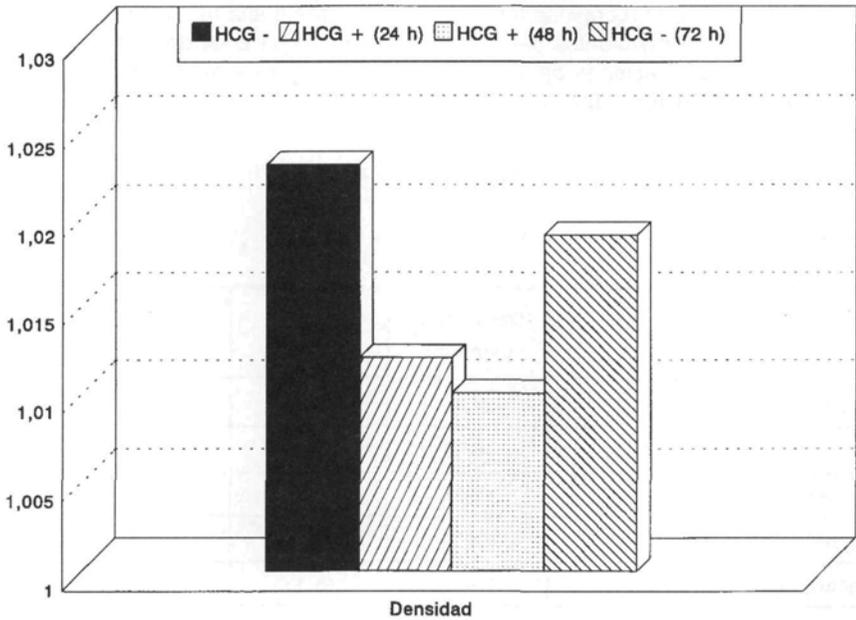


Figura 33. Variaciones en la densidad urinaria tras la administración de hCG.

Con esta investigación se puede deducir que la **hCG** produce claras modificaciones en la eliminación urinaria de hormonas endógenas androgénicas, modificaciones que probablemente son debidas a la acción de estimulación androgénica que tiene esta hormona peptídica y a la alteración que produce sobre la densidad urinaria. Sin embargo la elevación en la producción de hormonas testiculares no se puso de manifiesto en el cociente **T/E**.

Es también interesante destacar el modo de expresar los resultados de los perfiles urinarios de hormonas androgénicas, ya que si se presentan en forma de **porcentaje sobre el total de sustancias eliminadas**, y dada la corta vida media de estas hormonas, se ofrecen unos datos comparativos que se acercan más a la realidad.

### 2.3.3. Efecto producido por la administración de anabolizantes

Se ha realizado un estudio sobre la posible influencia que los **esteroides anabolizantes androgénicos** pueden ejercer sobre el **perfil hormonal esteroideo**. Para ello se han analizado muestras fisiológicas (orinas) de poblaciones agrupadas de la siguiente forma:

**Grupo 1)** Deportistas federados, varones, con resultado negativo en el análisis de control del dopaje (n=38).

**Grupo 2)** Deportistas federados, varones, con resultado positivo en el análisis de control del dopaje por identificación de un **esteroide anabolizante androgénico**, distinto de la **testosterona** ( $R_{T/E} < 6$ ) (n=27).

**Grupo 3)** Deportistas federados, varones, con resultado positivo en el análisis de control del dopaje por  $R_{T/E} > 6$ .

Todas las orinas fueron recogidas tras una actividad física alta (en competición) y se analizaron según los procedimientos generales de detección de **EAA** de un control del dopaje, midiendo las concentraciones de los *andrógenos endógenos* más significativos del **perfil hormonal esteroideo**, así como los cocientes usuales entre ellas (**T/E**, **An/Et**, **OHAn/OHET**).

Los resultados se presentan en las tablas XXV, XXVI y XXVII.

**Tabla XXV.** Concentraciones de andrógenos endógenos y sus relaciones en 38 deportistas con resultado negativo a los esteroides anabolizantes androgénicos (Grupo 1).

	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Mediana
[T] ng/ml	41,39	24,85	1,54	101,4	39,72
[E] ng/ml	29,32	18,85	4,2	89,6	25,29
[An] ng/ml	1581,98	948,91	258	4498	1450
[Et] ng/ml	1416,67	782,31	420,9	4205	1326
[OHAn] ng/ml	421,60	315,09	51,11	1491	331,85
[OHET] ng/ml	205,58	150,54	24	699,7	163,95
T/E	0,13	1,28	0,13	5,26	4,75
An/Et	1,18	0,49	0,24	2,42	1,10
OHAn/OHET	2,21	1,27	0,78	6,68	1,89

**Tabla XXVI.** Concentraciones de andrógenos endógenos y sus relaciones en 27 deportistas con resultado positivo a los esteroides anabolizantes androgénicos ( $R_{T/E} < 6$ ) (Grupo 2).

	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Mediana
[T] ng/ml	32,22	33,85	0,5	128,1	33,4
[E] ng/ml	18,77	19,22	0,9	67,9	14,2
[An] ng/ml	716,33	515,31	21,3	1743	898,7
[Et] ng/ml	871,1	732,89	11,3	2624	682,9
[OHAn] ng/ml	158,94	167,20	15,4	790,9	109,5
[OHET] ng/ml	130,82	101,77	12,7	376,9	108,6
T/E	2,15	1,42	0,08	5,87	1,89
An/Et	1,25	1,79	0,39	10,02	0,82
OHAn/OHET	1,31	0,90	0,1	3,93	1,07

**Tabla XXVII.** Concentraciones de andrógenos endógenos y sus relaciones en 10 deportistas con resultado positivo a la testosterona ( $R_{T/E} > 6$ ) (Grupo 3).

	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Mediana
[T] ng/ml	250,47	364,05	25,29	1264,8	185,55
[E] ng/ml	16,29	16,02	2,43	58,5	12,45
[An] ng/ml	2537,75	1546,32	579,6	6389,1	2350,9
[Et] ng/ml	2696,28	1633,08	1139,3	6624,1	2127,5
[OHAn] ng/ml	293,2	231,79	72,9	912	264,1
[OHET] ng/ml	172,09	169,05	52,9	631	127,15
T/E	12,26	5,92	6,19	23,12	10,96
An/Et	0,99	0,40	0,54	1,94	0,95
OHAn/OHET	1,94	0,81	0,5	3,47	1,89

Realizado un estudio de correlación estadística (test de la t de Student), se alcanzan niveles de significación en los siguientes casos:

Nivel de significación	Variable	Grupos
* $p < 0,001$	[T]	1 - 3
	[An]	1 - 2
	[An]	1 - 3
	[Et]	1 - 3
	[Et]	2 - 3
	[OHAn]	1 - 2
	T/E	2 - 3
* $p < 0,01$	[T]	2 - 3
	[Et]	1 - 2
* $p < 0,05$	[E]	1 - 2
	[An]	1 - 3
	[OHET]	1 - 2
	[OHAn/OHET]	1 - 2

Se han representado en las figuras 34, 35, 36 y 37 los resultados más significativos para su comparación gráfica.

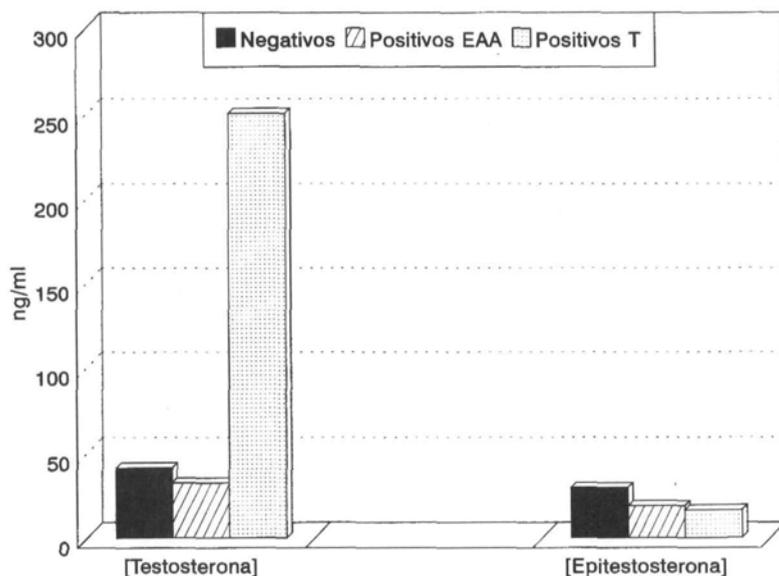


Figura 34. Concentraciones medias de T y E en muestras negativas en el control del dopaje, positivas con EAA (no T) y positivas por T/E

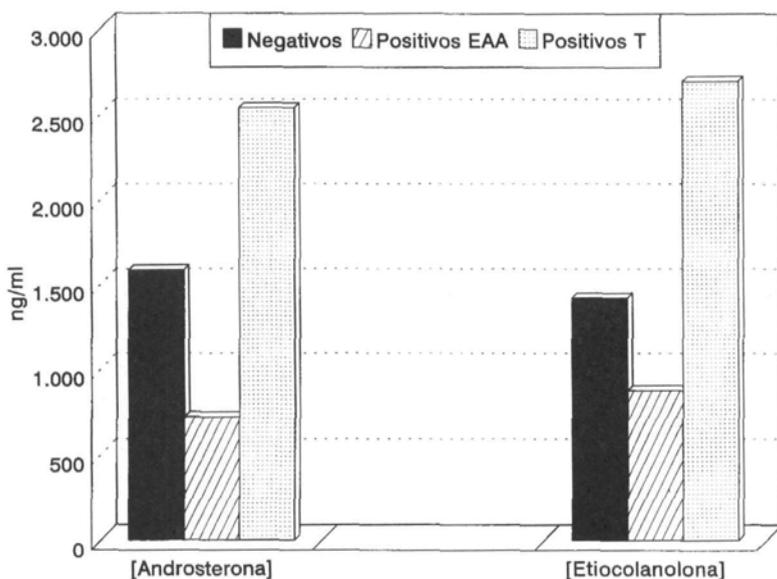


Figura 35. Concentraciones medias de An y Et en muestras negativas en el control del dopaje, positivas con EAA (no T) y positivas por T/E

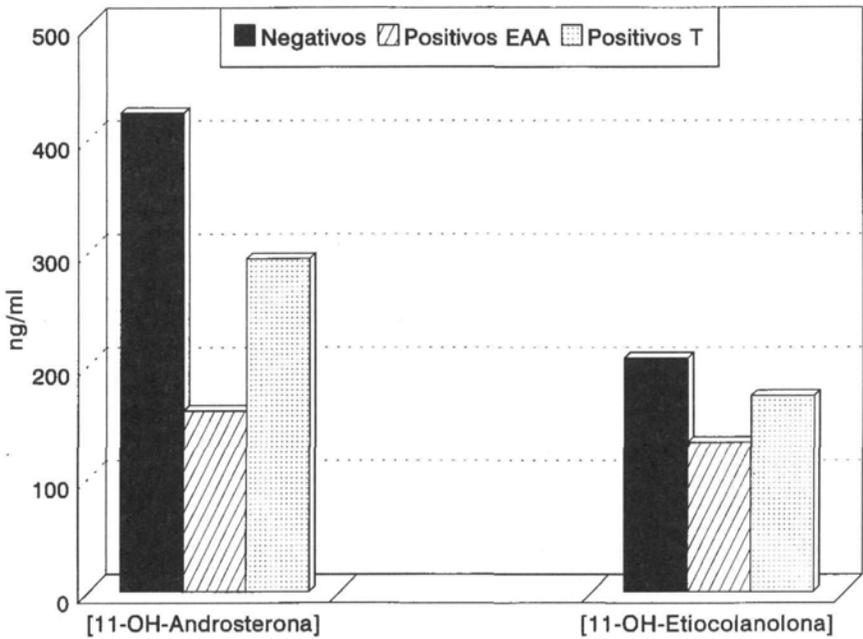


Figura 36. Concentraciones medias de OHAn y OHet en muestras negativas en el control del dopaje, positivas con EAA (no T) y positivas por T/E

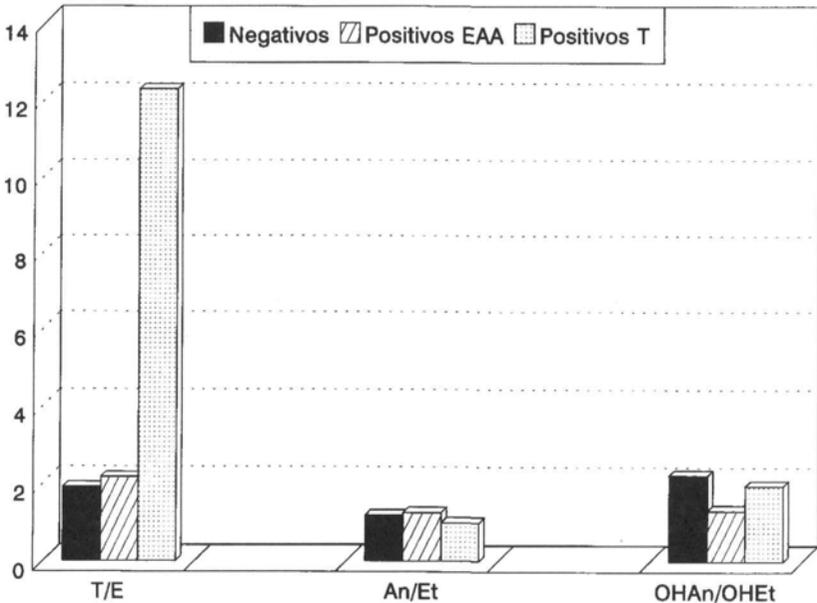


Figura 37. Concentraciones medias de los cocientes de endógenos en muestras negativas en el control del dopaje, positivas con EAA (no T) y positivas por T/E

En los resultados presentados, se puede observar que la utilización de **esteroides anabolizantes androgénicos** actúa sobre el **perfil hormonal esteroideo** incidiendo sobre las concentraciones de las hormonas que lo integran, de forma en general, salvo en el caso lógico de la **testosterona**, producen una disminución de los valores medios de dichas concentraciones, siendo la **androsterona** y la **etiocolanolona** los andrógenos más influenciados, lo cual es convincente ante el papel que estos esteroides poseen en el equilibrio hormonal.

### 2.3.4. Efecto producido por la administración de clomifeno

El **clomifeno** es un antiestrógeno que actúa sobre el hipotálamo, elevando la producción endógena de las gonadotrofinas **LH** y **FSH**. Se utiliza con diversos objetivos: burlar los cocientes T/E y T/LH tras una administración de testosterona exógena, aumentando la producción de testosterona endógena.

Se ha realizado un estudio práctico de la posible influencia del clomifeno sobre los parámetros, clásicos e innovadores, más esenciales del **P.H.E.**, administrando a un sujeto voluntario, varón, dos dosis en 24 horas, a las 48 horas de haber suministrado una dosis de 100 mg. de testosterona inyectable.

Los resultados se han representado gráficamente en las figuras 38 y 39, pudiéndose concluir fundamentalmente de ellos que:

1º) No parece aumentar la producción de testosterona endógena, e incluso puede que el clomifeno provoque una cierta disminución de la esteroidogénesis testicular.

2º) Sin embargo, las proporciones T/E y T/LH se ven disminuídas, a pesar de que la [T] no disminuye en la misma proporción, con lo que un caso de dopaje positivo en potencia se convierte en una caso práctico negativo.

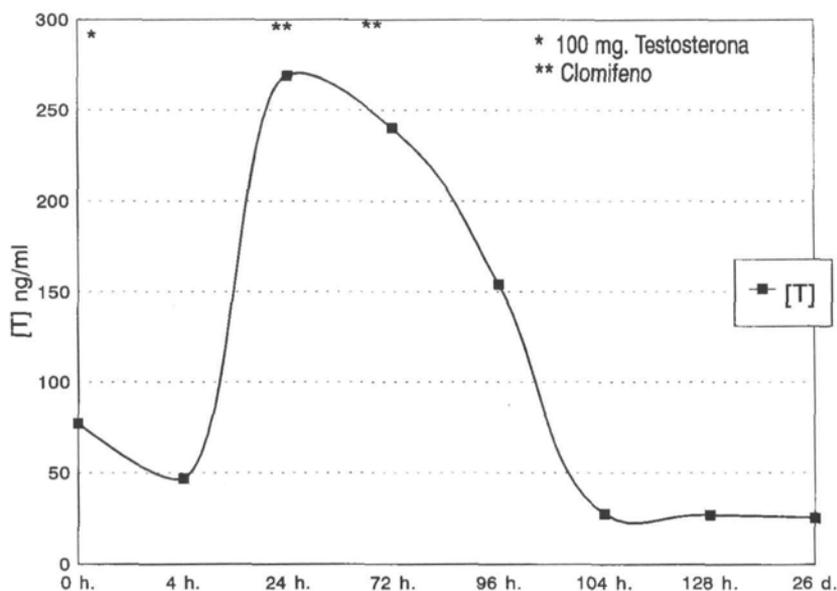


Figura 38a. Incidencia de la administración de clomifeno, tras una administración de testosterona, sobre [T] y T/E.

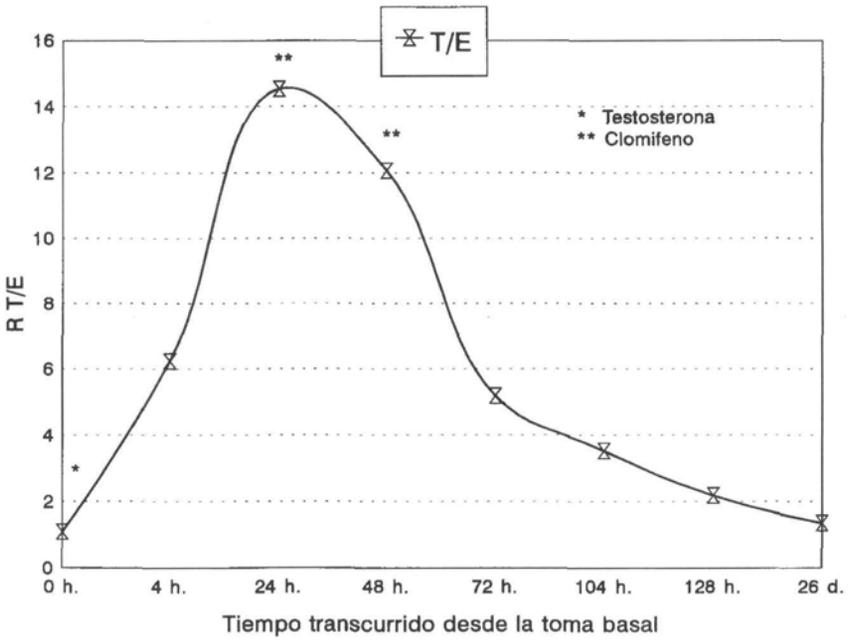


Figura 38b. Incidencia de la administración de clomifeno, tras una administración de testosterona, sobre [T] y T/E.

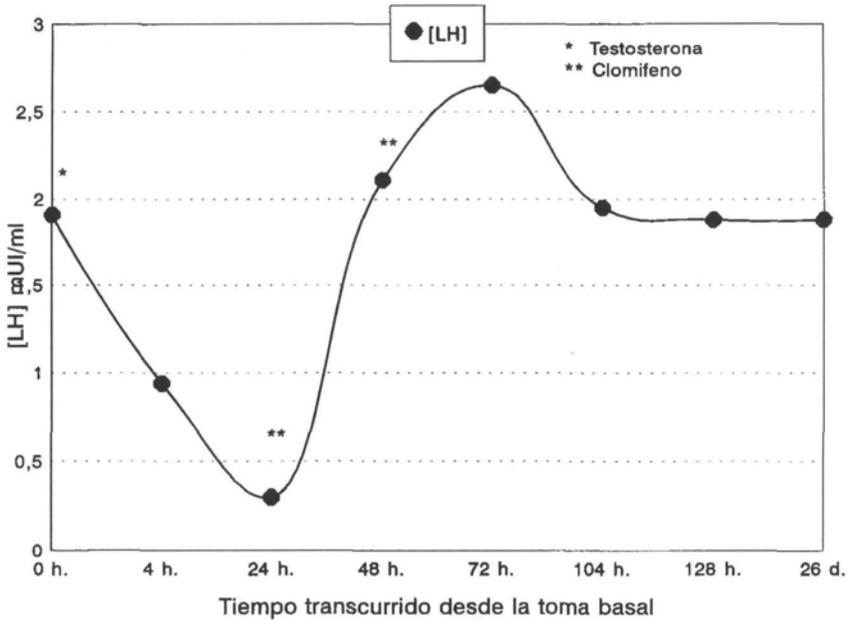


Figura 39a. Incidencia de la administración de clomifeno, tras una administración de testosterona, sobre [LH] y T/LH.

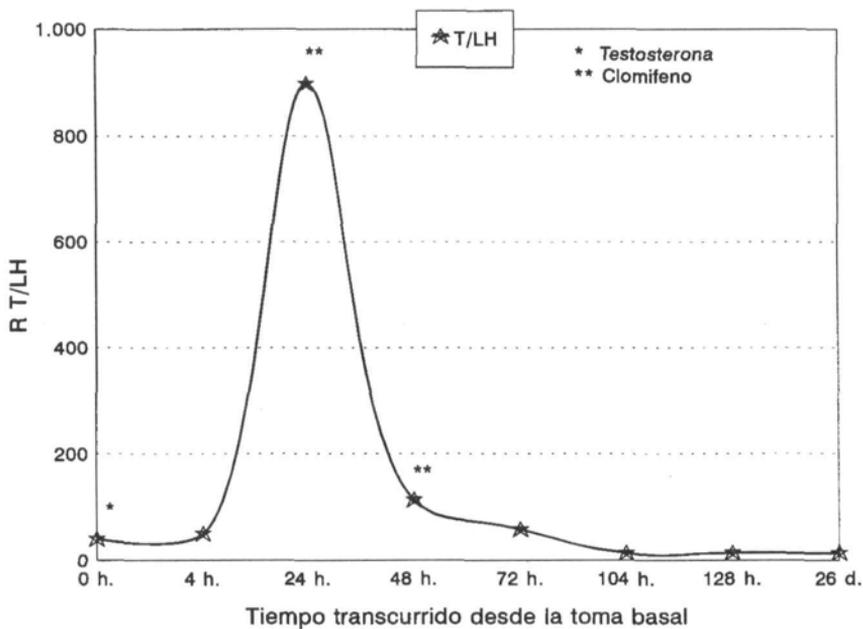


Figura 39b. Incidencia de la administración de clomifeno, tras una administración de testosterona, sobre [LH] y T/LH.

### 3. CONCLUSIONES

1. La detección, identificación y confirmación analítica de estas sustancias debe realizarse, por sus características endógenas, teniendo en cuenta los posibles factores de influencia en el análisis.
2. El sexo produce cambios cuantitativos en el **perfil hormonal** en general y en el **perfil hormonal esteroideo** en particular, y modificaciones mínimas, pero significativamente apreciables, en la relación **T/E**.
3. En el deportista, el ritmo circadiano para estas hormonas puede modificar tanto el **P.H.E.** como la relación **T/E**.
4. Según la edad del deportista este factor puede inducir a incrementos en la relación **T/E**.
5. La actividad física "per se" ejerce una clara influencia sobre los niveles de hormonas androgénicas endógenas urinarias.
6. Los diferentes sistemas de entrenamiento pueden tener influencia sobre los **perfiles hormonales**.
7. La competición deportiva modifica los parámetros integrantes del **Perfil Hormonal Esteroideo**.

8. El uso de la **gonadotrofina coriónica humana** puede manipular tanto la relación **T/E** como la relación **T/LH** y enmascarar la administración de **testosterona** endógena.
9. El **clomifeno** manipula el metabolismo de la **testosterona**, enmascarando las relaciones **T/E** y **T/LH**.
10. Para determinar una positividad o negatividad al uso de la **testosterona**, no parece fiable establecer la relación **T/E** como único índice de evaluación, al ser esta relación fácilmente manipulable.

#### 4. BIBLIOGRAFÍA

1. RODRÍGUEZ, C.; RODRÍGUEZ, A.F.; CARRERAS, D.; MAYNAR, J.I.; CORTÉS, R.; MAYNAR, M.: "Modificación de las tendencias de abuso de los diferentes tipos de agentes sopantes". *Archivos de Medicina del Deporte*, VIII(32):411-416, (1991).
2. KICMAN, A.T.; BROOKS, R.V.; COWAN, D.A.: "Human chorionic gonadotrophin and sport". *Br. J. Sp. Med.*, 25(2):73-80, (1991).
3. DONIKE, M.; ADAMIETZ, B.; OPFERMANN, G.; SHANZER, W.; ZIMMERMANN, J.; MANDEL, F.: "Die Normbereiche für Testosteron -und Epitestosteron- Urinspiegel sowie der Testosteron/Epitestosteron Quotienten". Comunicación personal en el "3rd Cologne Workshop on Dope Analysis, Cologne, (1985).
4. DE NICOLA, A.F.; DORFMAN, R.I.; FORCHIELLI, E.: "Urinary excretion of epitestosterone in normal individuals and hirsute and virilized females". *Steroids*, 7:351-366, (1966).
5. KICMAN, A.T.; BROOKS, R.V.; COLLYER, S.C.; COWAN, D.A.; NANJEE, M.N.; SOTHAN, G.J.; WHEELER, M.J.: "Criteria to indicate testosterone administration". *Br. J. S. Med.*, 24(4):253-264, (1990).
6. FALK, O.; PALONEK, E.; BJÖRKEM, I.: "Effect of ethanol on the ratio between testosterone and epitestosterone in urine". *Clin. Chem.*, 34:1462-1464, (1988)
7. RODRÍGUEZ, C.; RUBIO, S.; CORTÉS, R.; RODRÍGUEZ, A.F.; CARRERAS, D.; SORIANO, C.; PALACIOS, N.: "Estudio preliminar de niveles de testosterona con respecto a la epitestosterona en población adolescente masculina. Comparación con niveles en deportistas de élite". *Archivos de Medicina del Deporte*, VII(26):133-137, (1990).
8. RODRÍGUEZ, C.; RUBIO, S.; CORTÉS, R.; RODRÍGUEZ, A.F.; CARRERAS, D.; SORIANO, C.; PALACIOS, N.: "Nuevo estudio de niveles de testosterona en adolescentes masculinos con diferentes intensidades de actividad deportiva". *Revista de Investigación y Documentación sobre las Ciencias de la Educación Física*, 12-13:52-54, I-XIII, (1989).
9. SONINO, N.: "The use of ketoconazole as an inhibitor of steroid production". *The New England Journal of Medicine*, 812-818 (1987).
10. RODRÍGUEZ, A.F.; RODRÍGUEZ, C.: "El doping. Evaluación en el laboratorio". *Archivos de Medicina del Deporte*, III(9):43-53, (1986)
11. RODRÍGUEZ, C.; RUBIO, S.; CORTÉS, R.; RODRÍGUEZ, A.F.; CARRERAS, D.; SORIANO, C.; PALACIOS, N.: "Nuevo estudio de niveles de testosterona en adolescentes masculinos con diferentes intensidades de actividad deportiva". *Revista de Investigación y Documentación sobre las Ciencias de la Educación Física*, 12-13:52-54, I-XIII, (1989).



# ÍNDICES APLICADOS Y PROPUESTOS EN EL CONTROL DEL DOPAJE PARA DETECTAR LA UTILIZACIÓN DE TESTOSTERONA COMO SUSTANCIA DOPANTE

*Rodríguez Bueno, C.*

**Dirección para correspondencia:**

Cecilia Rodríguez Bueno  
Laboratorio de Control de Dopaje  
Consejo Superior de Deportes  
C/ Martín Fierro, s/n  
28040 Madrid



**Cecilia Rodríguez Bueno.** Doctora en Ciencias Químicas. Directora del Laboratorio de Control del Dopaje del Consejo Superior de Deportes. Secretaria de la Comisión Nacional Antidopaje. Miembro de la Comisión Médica de los Juegos del Mediterráneo. Experta acreditada para análisis de control de dopaje en el Laboratorio Nacional de Análisis de Dopaje de Francia. Profesora de cursos de doctorado, masters y especialidad de Medicina deportiva en diversas Universidades (Complutense, Autónoma y Politécnica de Madrid, de Granada y Autónoma de Barcelona). Profesora invitada por diversas Universidades y por el Comité Olímpico Español. Directora y conductora de varias tesis doctorales y miembro del Tribunal de Tesis doctorales.

Medalla de oro individual al Mérito Ciclista de la Real Federación Española de Ciclismo. Autora del libro "DOPAJE".

**Resumen:** Este trabajo se centra en el estudio, básicamente analítico y complementariamente estadístico, de los valores de los parámetros del Perfil Hormonal medidos en muestras fisiológicas analizadas con la metodología desarrollada en el control del dopaje, muestras que presentaban diferentes valores para la relación entre las concentraciones de la testosterona y la epitestosterona, y que se clasificaron agrupadas en función de estos valores del índice T/E.

Este estudio ha permitido clasificar los valores de los parámetros dentro de unos límites que pueden proponerse como "normales", realizándose una aplicación práctica para 25 casos reales en los que se detecta alguna anomalía en alguno de dichos parámetros.

Asimismo se proponen unos valores "normales" para cada uno de los parámetros, siempre que se cumplan las condiciones del estudio.

Se concluye considerando la imposibilidad de evaluar un caso sospechoso de positividad para la testosterona sólo con el índice T/E. E incluso se considera la necesidad de que estas evaluaciones endógenas se complementen con las nuevas técnicas analíticas en práctica, entre las que destacan la GC/C/IRMS.

**Palabras clave:** dopaje, control del dopaje, testosterona, epitestosterona, perfil hormonal .

**Abstract:** This work is a study which is basically analytical and additionally statistical, and is based on the factor values of the hormone Profile. These factors have been measured in physiological samples which have been analysed using the doping control methodology. Such samples had different testosterone and epitestosterone concentrations and were classified in relation with the T/E ratio values.

In this study we classified the factor values according to certain limits we considered as normal, and we analysed 25 real samples where we detected anomalies in some factors.

In addition, we propose a normal value for each factor as long as the study conditions are carried out.

In conclusión, we consider that it's impossible to evaluate a suspicious positive case of testosterone taking into account only the T/E ratio. We even consider the necessity of the complementation of these endogenous evaluation with the new analytical techniques, such as GC/C/IRMS.

**Key words:** doping, doping control, testosterone, epitestosterone, hormone profile.

## I. INTRODUCCIÓN

La detección analítica de la **testosterona (T)** administrada como sustancia dopante es un problema reciente en el control del dopaje en el deporte<sup>1, 2</sup>. Pero a diferencia de la mayoría de los **esteroides anabolizantes androgénicos (EAA)** prohibidos, su analítica posee unas características propias, ya que al ser este esteroide una sustancia fisiológica, su control analítico en el dopaje requiere una especial atención para llegar a diferenciar el origen exógeno del endógeno de esta hormona<sup>3</sup>. La detección *cuantitativa* en un análisis de control del dopaje no es en este caso significativa, ya que al existir **testosterona** normalmente en el organismo, la positividad de un análisis no puede únicamente basarse, como es válido para el análisis del resto de los **EAA**, en la detección, identificación y confirmación de la presencia, en la orina analizada, del esteroide y/o de alguno/s de sus metabolitos urinarios.

Se deduce en consecuencia la necesidad de medir en un control del dopaje la concentración de **testosterona** en la muestra de orina que se analiza. Pero a pesar de que existen procedimientos analíticos cada vez más sencillos, rápidos, efectivos y garantizables para realizar este análisis cuantitativamente<sup>4</sup>, tampoco es suficiente realizar una determinación *cuantitativa absoluta*, porque los niveles de testosterona no son los mismos en todas las personas<sup>5</sup>, pudiendo variar con diversos factores, como el sexo, el período de la vida en el varón y el ciclo menstrual en las mujeres. Además, para detectar un abuso de **testosterona** mediante valores absolutos se desarrollan métodos analíticos que se basan en los profundos cambios que se producen en la concentración urinaria de la testosterona, difícil de aplicar en el control del dopaje, tanto por las fluctuaciones que se producen en la excreción del líquido fisiológico, como por la obligación de recolectar tomas puntuales de orina en un tiempo indeterminado dentro del ciclo circadiano. Como consecuencia de esta problemática, al prohibirse el uso de la **testosterona** en el deporte, fué necesario introducir en su índice de positividad el concepto de *cuantificación analítica relativa*, propugnando como la única vía válida, la medida de la concentración de esta hormona en relación con un factor de referencia.

Con este fin, ya en 1.979 se propuso<sup>6</sup> utilizar la **hormona luteinizante (LH)** como factor analítico de referencia frente a la **testosterona**, como un prototipo para detectar una administración exógena de esta sustancia, basándose en el efecto "feedback" ocasionado en este caso por la supresión de la **LH**. En efecto, el uso de **testosterona** exógena causa, dependiendo de la dosis administrada, una supresión en la secreción pituitaria de las gonadotropinas<sup>7</sup>; en consecuencia, tras la inyección de ésteres de testosterona, los valores de la concentración sérica de la hormona androgénica (**T**) se incrementan, mientras que los de la luteinizante (**LH**) disminuyen, por lo que el cociente **T/LH** podía proponerse como un método de referencia para deducir una administración exógena de **testosterona**; además este cociente tenía también a su favor su independencia del volumen de líquido excretado<sup>8</sup>. Pero al no poder ratificar por  **cromatografía de gases/espectrometría de masas** esta medida, se rechazó la propuesta, por lo que tratando de buscar la mejor solución<sup>9</sup>, se propuso en 1.983 un método alternativo relacionando la **testosterona (T)** con la **epitestosterona (E)**, molécula natural que es el 17 $\beta$ -epímero de la **testosterona** y por consiguiente con configuración esteroidea muy similar. La **epitestosterona** no es activa en los tejidos ni sufre procesos de biotransformación; a similitud de la **testosterona** también se secreta por las gónadas, aunque parece que no ocupa ningún lugar en la actuación de los andrógenos<sup>10</sup>, y se encuentra presente, junto a la **testosterona**, en la orina de hombres y mujeres

(fue aislada en 1.964 de la orina humana), siendo las concentraciones urinarias de ambas hormonas aproximadamente iguales<sup>9, 11</sup>, y casi equimoleculares las plasmáticas<sup>10</sup>.

Tras diversas medidas estadísticas por **cromatografía de gases/espectrometría de masas**<sup>9</sup>, y basándose en que la **epitestosterona** representa sólo un mínimo porcentaje (inferior al 1%) entre los productos resultantes del metabolismo de la **testosterona**, la **androstendiona** y la **dehidroepiandrosterona**<sup>9, 12, 13, 14</sup> y en que los valores de excreción de la **epitestosterona** decrecen después de la administración de la **testosterona**<sup>8</sup>, el Comité Olímpico Internacional adoptó en 1.983 el cociente entre las concentraciones urinarias de **testosterona** y **epitestosterona (T/E) como la única prueba válida para detectar una administración exógena de testosterona como sustancia dopante**, correlacionándola con un incremento del cociente **T/E** con independencia del grado de dilución de la orina<sup>15</sup>.

Es por tanto este valor de referencia relativo **T/E** el que se adoptó, y se sigue utilizando en la actualidad, como indicador de una posible administración exógena de **testosterona**<sup>16</sup>, considerándose que en ausencia de un aporte de esta hormona, o si no existen causas fisiológicas o patológicas contrarias, el intervalo normal del cociente **T/E** es 6 ó inferior a 6<sup>17, 18</sup>.

Actualmente surgen propuestas para detectar una administración exógena de **testosterona**, buscando una posible influencia sobre otros esteroides, tanto andrógenos como estrógenos, o sobre otras hormonas<sup>2</sup>, pero que sólo son válidos para análisis de suero y no de orina<sup>19, 20</sup>.

En resumen, en la determinación de **testosterona** en un control de dopaje no sólo se ha de realizar el procedimiento general analítico para la detección de cualquier **esteroide anabolizante androgénico**<sup>21</sup>, sino que ha de considerarse que en este caso la positividad ha de depender de que la cantidad de **testosterona** que exista en la orina sea anormalmente alta por razones no fisiológicas y que no esté influida por otros factores que, aunque en casos aislados, puedan afectar al resultado de un control de dopaje, como podría ser *la edad del deportista*<sup>22, 23, 24, 25, 26</sup>, o el *etano*<sup>27, 28</sup>.

Y aunque en la actualidad se están proponiendo métodos analíticos (GL/CI IRMS) que por relaciones isotópicas permitan discernir las moléculas exógenas de las endógenas de la testosterona, todavía no se ha conseguido la certeza de positividad, por lo que se debe seguir recurriendo a estudios endógenos.

## 2. PERFIL HORMONAL ESTEROIDEO (P.H.E.)

El llamado "**perfil hormonal esteroideo**" (**PHE**) está integrado por las cuantificaciones de los **esteroides hormonales endógenos**, o sus metabolitos, presentes en el medio analizado, el cual, en el caso del control del dopaje, es la *orina*. Si se hace referencia a las concentraciones urinarias excretadas de estos esteroides, en  $\mu\text{g/ml}$ , se define el **perfil hormonal esteroideo absoluto**, mientras que si se presentan cocientes entre dichas concentraciones se define el **perfil hormonal esteroideo relativo**<sup>29</sup>.

Esta evaluación del **PHE** puede conducir al conocimiento de la posible utilización exógena de algunos de sus integrantes endógenos. En relación al control *de la administración de*

**testosterona**, el parámetro inicial estadísticamente significativo es la **relación testosterona/ epitestosterona** medida en los controles analíticos de dopaje. Para discernir un caso positivo con **testosterona** se ha establecido internacionalmente el límite de 6 en el cociente **T/E**<sup>17</sup>, límite fijado con un amplio margen sobre valores fisiológicos estadísticamente normales. Sin embargo, la determinación del cociente **T/E** para resolver entre una administración exógena de **testosterona** o una manipulación frente a una situación fisiológica normal puede conducir a **falsos positivos (T/E>6)** con concentraciones de testosterona endógena superiores a la media normal) o **falsos negativos (T/E<6)**, a pesar de existir por causas exógenas un incremento en la concentración de testosterona endógena). El límite de **6** en el cociente **T/E**, no es por tanto tan incuestionable como se pretendió al determinar su valor numérico, ya que esta relación puede depender de:

- a) las dosis administradas de ésteres de la testosterona;
- b) factores intrínsecos y extrínsecos que acompañan a la administración, y
- c) la programación de la misma.

Si por otra parte se considera:

1º) que los niveles urinarios de testosterona y epitestosterona difieren sustancialmente según los individuos, especialmente en el caso de los varones<sup>5</sup>, y

2º) que el incremento que sufre la concentración de testosterona después de que se administran ésteres de esta hormona, no es proporcional a la cantidad administrada y varía específicamente según el individuo que los utiliza,

puede *discutirse* la posibilidad de la adopción del cociente **T/E** como la *única relación aplicable para detectar una posible administración de testosterona* en los siguientes casos:

**A. Muestras con T/E<6, evaluadas como negativas.** Puede ocurrir que en determinadas muestras, recogidas tras una competición, se midan cocientes T/E inferiores al límite de 6, siendo sin embargo muestras procedentes de sujetos en los que se ha producido:

**a<sub>1</sub>) Una administración de testosterona exógena en época de entrenamiento, previamente a la competición.** Esta administración se realiza:

1) programándose durante un tiempo más o menos prolongado, generalmente en período de entrenamiento, durante el cual se eleva la concentración del esteroide, obteniéndose efectos que influirán en el rendimiento en la competición;

2) regulándose de tal forma que en la analítica realizada tras la competición el índice T/E queda, aunque sea muy ligeramente, por debajo de 6.

**a<sub>2</sub>) Una administración conjunta de testosterona y epitestosterona que conduzca a un normal cociente urinario de T/E de aproximadamente 1.** Basándose en que sólo el 1% de la testosterona se excreta inalterada (aparte de la conjugada con ácido glucurónico) mientras que de la epitestosterona el correspondiente porcentaje se eleva al 30%, una administración intramuscular de estas dos hormonas en una respectiva relación de 30:1 puede conducir a un normal cociente urinario de 1, siendo posible evadir la detección si sólo se depende del cociente T/E<sup>2</sup>.

a<sub>3</sub>) Una administración de otras sustancias, que incidiendo en el equilibrio del sistema hormonal, provoque determinados efectos como puede ser la obtención de un incremento de la concentración en sangre de la testosterona sin que se sobrepase el límite de 6 en el cociente urinario T/E. Por ejemplo, si se administra **gonadotrofina coriónica humana (hCG)** a varones adultos normales, se estimula la producción endógena de **testosterona** y **epitestosterona**, con la consiguiente "beneficiosa" elevación de la concentración de la testosterona en sangre *sin que se altere el cociente T/E urinario*.

**B. Muestras con T/E > 6, evaluadas como positivas.** En algunas muestras en las que se mide un cociente T/E superior al límite de 6 no puede descartarse la normalidad para este valor por algunas posibles razones:

b<sub>1</sub>) Haber existido una posible ingesta de alcohol, que puede incrementar el índice de T/E<sup>30</sup>.

b<sub>2</sub>) Encontrarse el sujeto en una fase del desarrollo puberal masculino, el cual puede inducir a que el equilibrio fisiológico entre la testosterona y la epitestosterona se desplace hacia la segregación de la primera hormona<sup>25, 26</sup>.

b<sub>3</sub>) Poseer el individuo unas características fisiológicas tales que su cociente T/E > 6 no pueda considerarse como demostración de una administración de testosterona.

b<sub>4</sub>) Haber un incremento anormal de testosterona que provenga de una causa patológica.

b<sub>5</sub>) Haber tenido que utilizar el sujeto alguna sustancia específica, como el **ketoconazol**, que es un antifúngico, inhibidor del citocromo P-450, que suprime la síntesis de los esteroides andrógenos<sup>30</sup>, pudiendo producir una baja en la epitestosterona superior a la inducida en la testosterona, y por consiguiente elevar el cociente T/E.

Es evidente que los problemas generados por "*falsos positivos*" de relaciones **T/E > 6** pueden resolverse, en un plazo de tiempo más o menos largo, tras las oportunas reclamaciones y mediante largos y costosos procedimientos analíticos y endocrinológicos. Pero en el caso de los posibles "*falsos negativos*" en los que se ha incrementado anormalmente la testosterona, pero con el resultado en el correspondiente análisis de control de dopaje de un cociente **T/E < 6** aparentemente normal, no puede conocerse, "a priori", si el **incremento de testosterona**, no detectable en relación a la epitestosterona, ha sido debido a un **aporte exógeno de testosterona** o a una **manipulación** con el mismo objetivo.

En consecuencia, y ante estas premisas, se puede establecer que los parámetros utilizados en la actual analítica desarrollada en el análisis de la **testosterona** en un control de dopaje no son suficientes para discernir los verdaderos casos positivos y negativos con respecto a esta hormona, y a la espera de que las nuevas técnicas analíticas confirmen los resultados, se abre un amplio abanico de posibilidades en la búsqueda de nuevos factores de referencia que incorporar en la analítica para conseguir el objetivo primario de un control del dopaje.

La utilización complementaria o sustitutiva de otros parámetros, distintos de la **testosterona** y la **epitestosterona**, que intervengan o estén relacionados con el perfil hormonal esteroideo (**PHE**), o incluso simplemente con el perfil hormonal en general, podría resolver o

contribuir en la resolución de la problemática generada por los falsos resultados basados simplemente en la medida de la **T/E**.

Con la finalidad de resolver la problemática generada al emitir posibles "falsos positivos" o "falsos negativos" de **testosterona**, fundamentados solamente en los valores del cociente **T/E** obtenido entre las concentraciones de las hormonas andrógenas endógenas **testosterona** y **epitestosterona**, y en base a las influencias que sobre esta relación pueden tener ciertos agentes farmacológicos (**gonadotropina coriónica humana, clomifeno, etc.**) se ha realizado, con muestras de deportistas varones federados de alta competición, recogidas en período de competición y tras competir, un estudio de diversos parámetros, clásicos (**T, E, An, Et, OHAn, OHet, T/E, An/Et, OHAn/OHET**) e innovadores (**LH, FSH, An/T, Et/T, An/E, Et/E**), integrantes del **perfil hormonal esteroideo**, tanto **absoluto** como **relativo**, en función de determinados valores de la citada **R<sub>T/E</sub>**

### 3. ESTUDIO DE PARÁMETROS DEL PERFIL HORMONAL ESTEROIDEO EN FUNCIÓN DEL VALOR DE LA RELACIÓN TESTOSTERONA / EPITESTOSTERONA

Para realizar este estudio se han elegido, de acuerdo con diversos criterios de positividad para la **testosterona** expuestos en los últimos años, y teniendo en cuenta la problemática presentada, los siguientes valores de **R<sub>T/E</sub>**:

Grupo	Condición T/E	Población	Porcentaje población
1	$R_{T/E} < 6$	(n = 77)	(26,37%)
2	$R_{T/E} < 3$	(n = 51)	(17,47%)
3	$R_{T/E} < 0,6$	(n = 4)	(1,37%)
4	$0,6 < R_{T/E} < 2,4$	(n = 44)	(15,07%)
5	$3 < R_{T/E} < 6$	(n = 26)	(8,90%)
6	$R_{T/E} < 10$	(n = 80)	(27,40%)
7	$6 < R_{T/E} < 10$	(n = 3)	(1,03%)
8	$R_{T/E} > 10$	(n = 7)	(2,40%)

#### 3.1. Resultados y discusión

Los resultados obtenidos se presentan en las **tablas I - VIII**.

**Tabla II.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 51 varones, deportistas federados.

HORMONA	$R_{T/E} < 3$					
	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
Testosterona (T) (ng/ml)	32,52	25,86	79,52	1,1	115,1	30,9
Epitestosterona (E) (ng/ml)	30,20	26,04	86,22	2,7	119,8	64,98
cis-Androsterona (An) (ng/ml)	1594,25	1188,02	74,51	276	6395	1370
Etiocolanolona (Et) (ng/ml)	1390,4	903,78	65,00	216,3	4205	1928
11-Hidroxi-androsterona (OHAn) (ng/ml)	533,13	1176,08	220,59	39,8	8519	319,4
11-Hidroxi-etiolanolona (OHET) (ng/ml)	197,60	143,53	72,63	13	563,2	158
Hormona luteinizante (LH) (mUI/ml)	5,50	5,13	93,27	0,58	30,89	3,73
Hormona foliculoestimulante (FSH) (mUI/ml)	9,80	5,39	55,00	0,42	20,24	9,31
T/E	1,25	0,62	49,60	0,13	2,85	1,06
An/EI	1,22	0,57	46,72	0,43	2,93	1,08
OHAn/OHET	2,19	1,21	55,75	0,78	6,68	1,93
T/LH	10,94	20,46	187,02	0,17	144,86	5,6
An/T	117,13	188,13	160,61	10,71	1052,59	47,31
Et/T	86,83	114,20	131,52	8,39	617,45	53,56
An/E	105,07	145,85	138,81	10,29	929,22	53,36
E/E	79,79	75,56	94,69	8,06	312,61	58,23

**Tabla I.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 77 varones, deportistas federados.

HORMONA	$R_{T/E} < 6$					
	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
Testosterona (T) (ng/ml)	50,22	56,78	113,06	1,1	360,4	36,9
Epitestosterona (E) (ng/ml)	27,38	24,13	88,13	2,7	119,8	21,9
cis-Androsterona (An) (ng/ml)	1461,19	1073,21	73,44	205,8	6395	1242
Etiocolanolona (Et) (ng/ml)	1306,52	807,59	61,81	216,3	4205	1150
11-Hidroxi-androsterona (OHAn) (ng/ml)	503,59	1003,23	199,2	19,9	8519	316,8
11-Hidroxi-etiolanolona (OHET) (ng/ml)	187,12	154,42	82,52	13	699,7	135,1
Hormona luteinizante (LH) (mUI/ml)	4,94	4,49	100,00	0,58	30,89	3,33
Hormona foliculoestimulante (FSH) (mUI/ml)	8,79	5,33	60,63	0,15	20,24	8,07
T/E	2,15	1,42	66,04	0,13	4,99	1,69
An/Et	1,16	0,53	45,68	0,24	2,93	1,09
OHAn/OHET	2,40	1,42	59,16	0,76	7,16	1,99
T/LH	19,67	33,71	171,37	0,17	172,4	10,9
An/T	84,37	159,68	189,26	4,74	1052,59	32,72
Et/T	71,11	97,63	137,29	5,73	617,45	35,89
An/E	86,52	123,79	143,07	4,34	929,22	45,7
Et/E	75,72	64,02	84,54	8,06	312,61	58,23

**Tabla IV.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 44 varones, deportistas federados.

0,6 < R <sub>T/E</sub> < 2,4						
HORMONA	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
Testosterona (T) (ng/ml)	34,14	25,72	75,33	1,9	115,1	31,46
Epitestosterona (E) (ng/ml)	30,53	24,01	78,644	2,7	119,8	25,48
cis-Androsterona (An) (ng/ml)	1628,75	1259,92	77,35	276	6395	1370
Etiocolanolona (Et) (ng/ml)	1377,29	933,104	67,74	216,3	4205	1237,5
11-Hidroxi-androsterona (OHAn) (ng/ml)	561,32	1263,5	225,09	39,8	8519	1237,5
11-Hidroxi-etiolanolona (OHEt) (ng/ml)	186,95	136,77	73,15	13	563,2	157,25
Hormona luteinizante (LH) (mUI/ml)	5,68	5,39	94,89	0,58	30,89	3,59
Hormona folículoestimulante (FSH) (mUI/ml)	10,12	5,44	53,75	0,42	20,24	9,92
T/E	1,24	0,45	36,29	0,6	2,19	1,08
An/Et	1,24	0,58	46,77	0,43	2,93	1,08
OHAn/OHEt	2,28	1,25	54,82	0,85	6,68	1,94
T/LH	11,59	21,66	186,88	0,45	144,86	7,41
An/T	84,76	106,96	126,19	10,71	515,51	45,25
Et/T	76,01	79,03	103,97	8,39	429,8	42,29
An/E	79,81	79,03	99,02	10,29	373,54	51,55
Et/E	72,19	72,02	99,76	8,06	312,61	48,87

**Tabla III.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 4 varones, deportistas federados.

R <sub>T/E</sub> < 0,6						
HORMONA	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
Testosterona (T) (ng/ml)	15,49	24,05	155,26	1,1	51,25	4,80
Epitestosterona (E) (ng/ml)	40,32	49,65	123,14	3,2	112,3	22,88
cis-Androsterona (An) (ng/ml)	1585,08	690,26	43,55	732,3	2422	1593
Etiocolanolona (Et) (ng/ml)	1612,05	937,97	58,18	679,2	2916	1426,5
11-Hidroxi-androsterona (OHAn) (ng/ml)	377,2	271,82	72,06	118	659,9	365,5
11-Hidroxi-etiolanolona (OHEt) (ng/ml)	265,35	219,7	82,80	69,6	486,2	252,8
Hormona luteinizante (LH) (mUI/ml)	6,31	2,41	38,19	4,86	9,91	5,23
Hormona folículoestimulante (FSH) (mUI/ml)	10,77	4,40	40,85	6,89	14,6	10,8
T/E	0,24	0,14	58,33	0,13	0,45	0,19
An/Et	1,11	0,47	42,34	0,53	1,7	1,10
OHAn/OHEt	1,61	0,34	21,12	1,32	2,07	1,52
T/LH	1,83	2,32	126,77	0,21	5,17	0,98
An/T	512,24	444,43	86,76	30,53	1052,59	482,92
Et/T	219,83	267,09	121,49	56,9	617,45	102,5
An/E	337,05	405,23	120,16	13,94	929,22	202,52
Et/E	99,46	85,05	85,51	25,97	212,25	79,82

**Tabla VI.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 80 varones, deportistas federados.

$R_{T/E} < 10$						
HORMONA	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
Testosterona (T) (ng/ml)	51,95	56,87	109,47	1,1	360,4	39,36
Epitestosterona (E) (ng/ml)	26,80	23,87	89,06	2,7	119,8	19,50
cis-Androsterona (An) (ng/ml)	1473,09	1071,06	72,70	205,8	6395	1237,75
Etiocolanolona (Et) (ng/ml)	1333,94	817,88	61,31	216,3	4205	1155,7
11-Hidroxi-androsterona (OHAn) (ng/ml)	503,06	986,35	196,07	19,9	8519	316,9
11-Hidroxi-etiolanolona (OHET) (ng/ml)	197,92	197,43	99,75	13	1302,7	134,05
Hormona luteinizante (LH) (mUI/ml)	4,84	4,44	91,73	0,58	30,89	3,29
Hormona foliculoestimulante (FSH) (mUI/ml)	8,62	5,30	61,48	0,15	20,24	7,98
T/E	2,35	1,73	73,61	0,13	8,52	1,79
An/Et	1,15	0,52	45,21	0,24	2,93	1,08
OHAn/OHET	2,42	1,50	61,98	0,71	7,16	1,97
T/LH	20,78	33,57	161,54	0,17	172,4	11,24
An/T	81,99	157,1	191,60	4,74	1052,59	32,53
Et/T	69,30	96,21	138,83	5,73	617,45	34,15
An/E	89,63	123,31	137,57	4,34	929,22	48,08
Et/E	79,87	66,96	83,83	8,06	312,61	59,31

**Tabla V.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 26 varones, deportistas federados.

$3 < R_{T/E} < 6$						
HORMONA	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
Testosterona (T) (ng/ml)	84,94	81,07	95,44	16,5	360,4	47,72
Epitestosterona (E) (ng/ml)	21,85	19,11	87,46	5,4	81,4	14,7
cis-Androsterona (An) (ng/ml)	1200,18	756,07	62,99	205,8	3240,7	1082,4
Etiocolanolona (Et) (ng/ml)	1142	553,68	48,48	435,9	2780,8	1075
11-Hidroxi-androsterona (OHAn) (ng/ml)	445,64	536,77	120,44	19,9	2197,2	257
11-Hidroxi-etiolanolona (OHET) (ng/ml)	166,56	175,01	105,07	24,2	699,7	114,25
Hormona luteinizante (LH) (mUI/ml)	3,82	2,61	68,32	0,68	10,1	2,93
Hormona foliculoestimulante (FSH) (mUI/ml)	6,81	4,71	69,16	0,15	18,3	6,52
T/E	3,92	0,64	16,32	3,07	4,99	4,11
An/Et	1,04	0,41	39,42	0,24	1,85	1,11
OHAn/OHET	2,82	1,72	60,99	0,76	7,16	2,43
T/LH	36,81	46,43	126,13	3,36	172,4	16,05
An/T	20,09	15,38	76,55	4,74	68,54	14,86
Et/T	40,27	37,44	92,29	5,73	144,39	24,79
An/E	50,15	44,25	88,23	4,34	168,49	39,75
Et/E	67,73	30,69	45,31	19,77	133,49	61,09

**Tabla VIII.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 7 varones, deportistas federados.

HORMONA	$R_{T/E} < 10$					
	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
<b>Testosterona (T)</b> (ng/ml)	279,34	443,52	158,77	21,88	1265	197
<b>Epitestosterona (E)</b> (ng/ml)	15,55	19,93	128,16	1,62	58	9,1
<b>cis-Androsterona (An)</b> (ng/ml)	2460,34	2003,06	81,41	168,2	6389	2298,3
<b>Etiocolanolona (Et)</b> (ng/ml)	2522,21	2160,06	85,64	86,8	6624	2127,5
<b>11-Hidroxi-androsterona (OHAn)</b> (ng/ml)	686,29	518,12	75,49	37,1	1240	912
<b>11-Hidroxi-etiolanolona (OHET)</b> (ng/ml)	588,41	445,87	75,77	28,8	1210	631
<b>Hormona luteinizante (LH)</b> (mUI/ml)	2,91	2,79	95,87	0,2	8,1	2,36
<b>Hormona foliculoestimulante (FSH)</b> (mUI/ml)	3,24	1,62	50,00	1,3	5,87	3,4
<b>T/E</b>	13,68	3,86	28,21	10,4	21,81	12,48
<b>An/Et</b>	1,14	0,38	26,38	0,76	1,94	1,04
<b>OHAn/OHET</b>	1,20	0,33	27,50	0,57	1,63	1,27
<b>T/LH</b>	133,41	148,51	111,31	24,31	394,35	56,56
<b>An/T</b>	23,90	28,76	120,33	4,96	85,45	12,65
<b>Et/T</b>	21,31	22,29	104,59	2,56	66,88	15,68
<b>An/E</b>	297,02	290,08	97,66	61,84	888,8	173,29
<b>E/E</b>	268,21	225,30	84,00	32,14	695,6	186,89

**Tabla VII.** Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 3 varones, deportistas federados.

HORMONA	$6 < R_{T/E} < 10$					
	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
<b>Testosterona (T)</b> (ng/ml)	96,36	46,77	48,53	43,53	132,5	113,05
<b>Epitestosterona (E)</b> (ng/ml)	11,89	5,89	49,53	5,11	15,8	14,75
<b>cis-Androsterona (An)</b> (ng/ml)	1778,5	1183,55	66,54	1010,6	3141,5	1183,4
<b>Etiocolanolona (Et)</b> (ng/ml)	2037,6	931,39	45,71	1198,6	3039,8	1874,4
<b>11-Hidroxi-androsterona (OHAn)</b> (ng/ml)	489,6	427,91	87,39	72,9	927,9	468
<b>11-Hidroxi-etiolanolona (OHET)</b> (ng/ml)	475,13	716,74	150,85	52,9	1302,7	69,8
<b>Hormona luteinizante (LH)</b> (mUI/ml)	2,43	1,42	58,43	0,8	3,4	3,1
<b>Hormona foliculoestimulante (FSH)</b> (mUI/ml)	4,36	1,64	37,61	3,07	6,2	3,8
<b>T/E</b>	7,46	1,18	15,81	6,19	8,52	7,66
<b>An/Et</b>	0,85	0,27	31,76	0,54	1,03	0,99
<b>OHAn/OHET</b>	2,93	3,29	112,28	0,71	6,71	1,38
<b>T/LH</b>	49,14	8,78	17,86	39	54,41	54,01
<b>An/T</b>	20,87	11,48	55,00	7,62	27,79	27,19
<b>Et/T</b>	22,85	7,55	33,04	14,14	27,53	26,89
<b>An/E</b>	169,51	91,881	54,20	63,96	231,59	212,98
<b>E/E</b>	186,43	60,41	32,40	118,63	234,56	206,09

Las comparaciones más significativas de estos resultados se presentan en las figuras 1-7

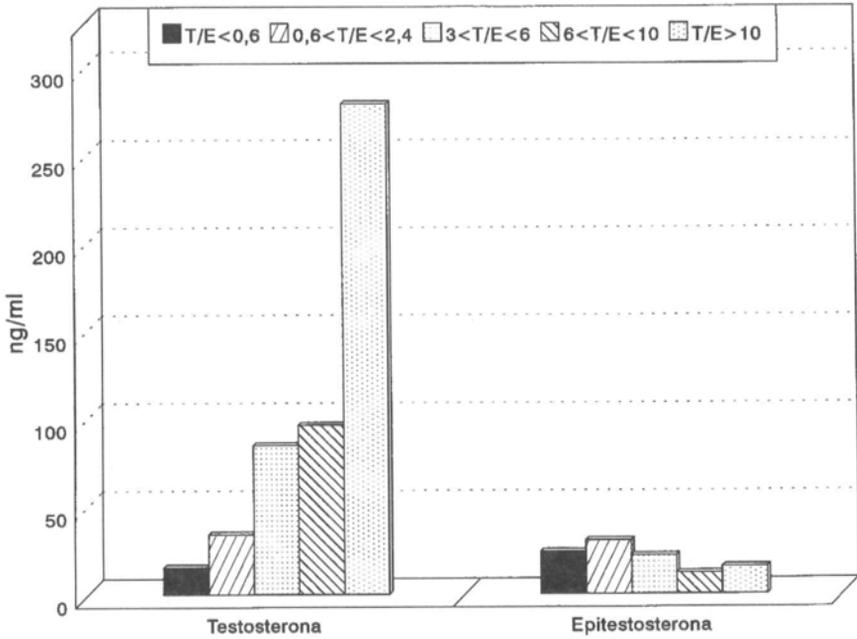


Figura 1. Concentraciones medias de T y E en muestras con diferentes valores de T/E.

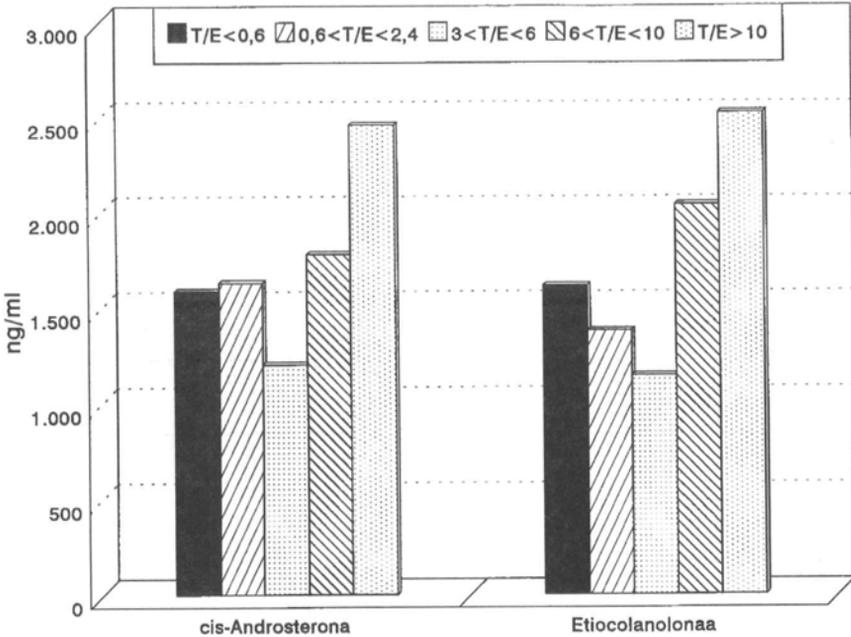


Figura 2. Concentraciones medias de An y Et en muestras con diferentes valores de T/E

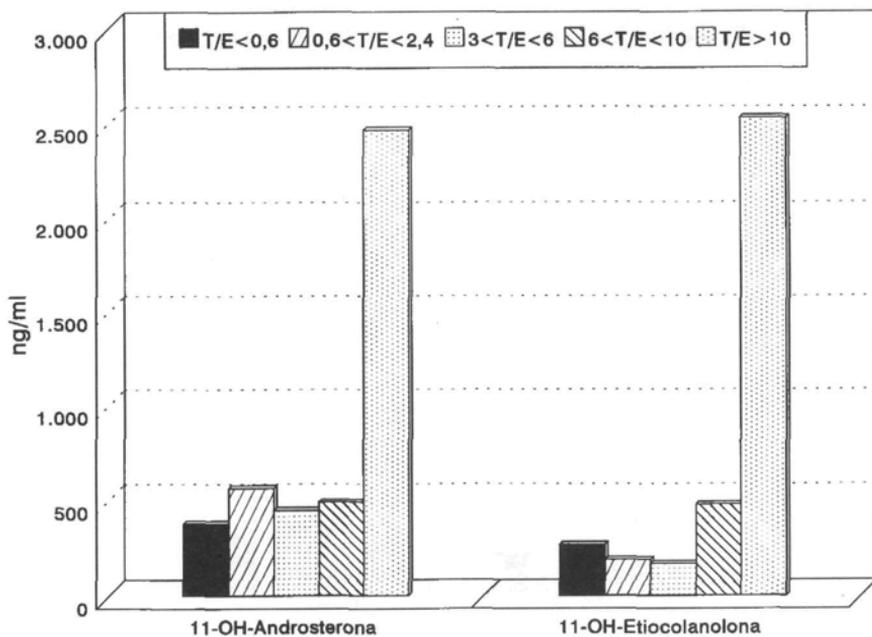


Figura 3. Concentraciones medias de OHAn y OHET en muestras con diferentes valores de T/E

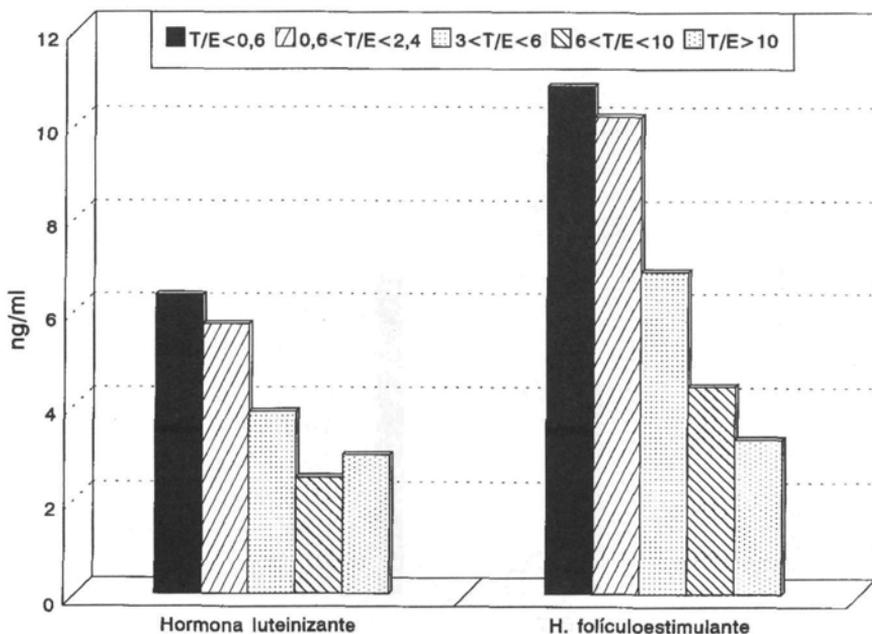


Figura 4. Concentraciones medias de LH y FSH en muestras con diferentes valores de T/E

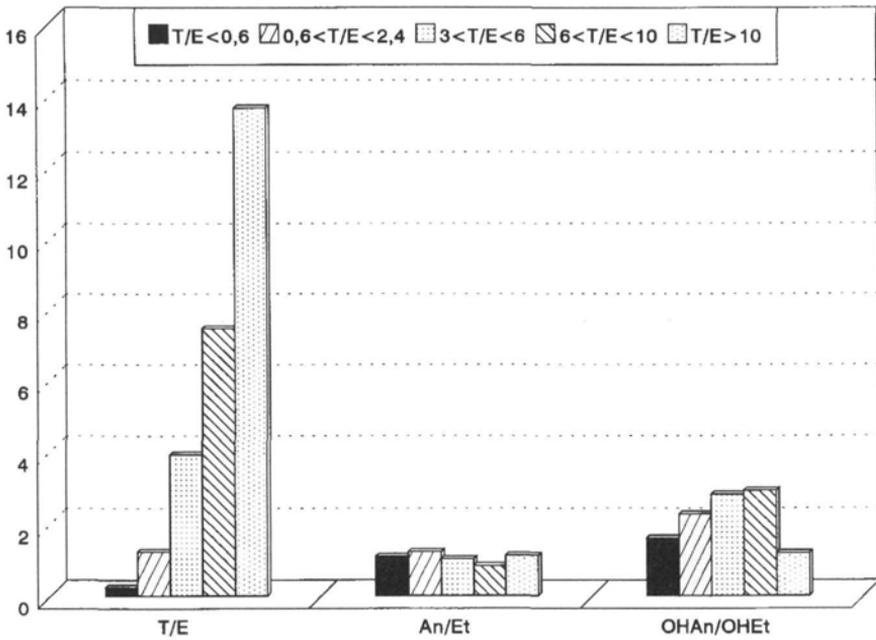


Figura 5. Valores medios de T/E, An/Et y OHAn/OHEt en muestras con diferentes valores de T/E

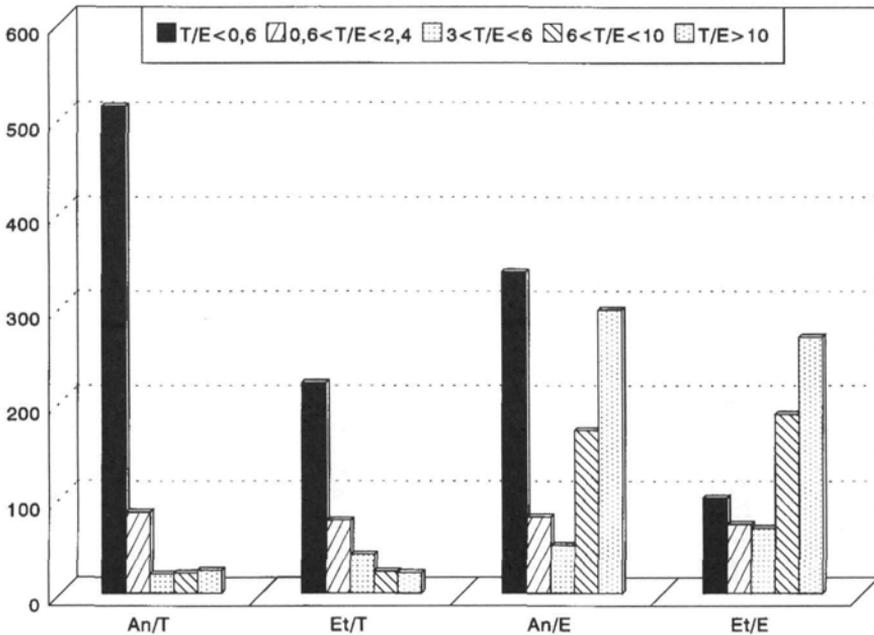


Figura 6. Valores medios de An/T, Et/T, An/E y Et/E en muestras con diferentes valores de T/E.

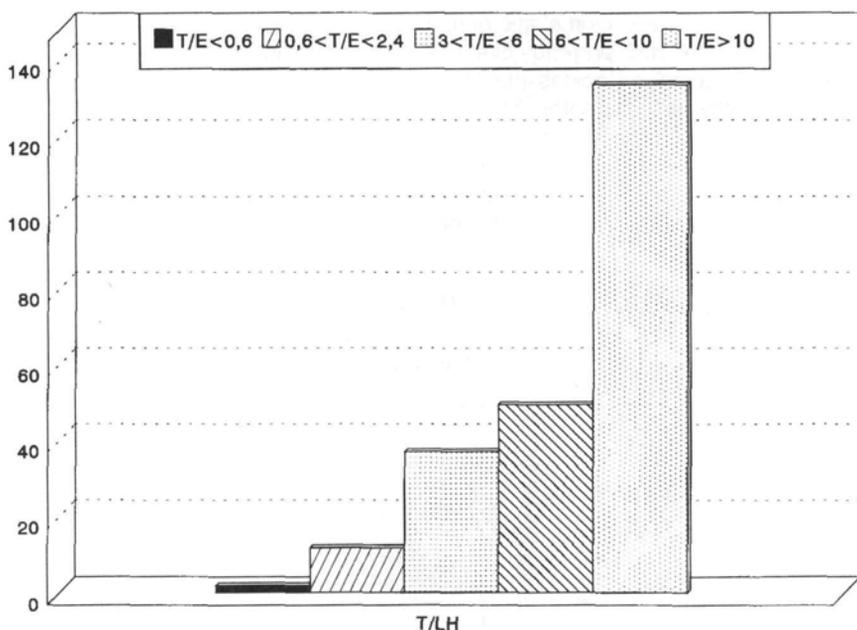


Figura 7. Valores medios de T/LH en muestras con diferentes valores de T/E.

Realizada la valoración estadística de los resultados, se presentan a continuación los niveles de significación (test de la t de Student):

Nivel de significación	Variable	Grupos
p<0,001	T/E	T/E<0,6      0,6>T/E>2,4
	An/T	T/E<0,6      0,6>T/E>2,4
	An/E	T/E<0,6      0,6>T/E>2,4
	[T]	0,6>T/E>2,4      3>T/E>6
	T/E	0,6>T/E>2,4      3>T/E>6
	T/E	T/E<0,6      6>T/E>10
	T/LH	T/E<0,6      6>T/E>10
	[T]	0,6>T/E>2,4      6>T/E>10
	T/E	0,6>T/E>2,4      6>T/E>10
	An/E	0,6>T/E>2,4      6>T/E>10
	Ev/E	0,6>T/E>2,4      6>T/E>10
	T/E	0,6>T/E>2,4      T/E>10
	T/LH	0,6>T/E>2,4      T/E>10
	[T]	T/E<3      3>T/E>6
	T/E	T/E<3      3>T/E>6
	[T]	T/E<3      6>T/E>10
	T/E	T/E<3      6>T/E>10
	T/E	T/E<3      T/E>10
	T/LH	T/E<3      T/E>10
	T/E	3>T/E>6      6>T/E>10
T/E	3>T/E>6      T/E>10	
T/E	T/E<10      T/E>10	
T/LH	T/E<10      T/E>10	
p<0,01	T/LH	0,6>T/E>2,4      3>T/E>6
	An/T	0,6>T/E>2,4      3>T/E>6
	T/LH	0,6>T/E>2,4      6>T/E>10
	T/LH	3>T/E>6      T/E>10
	T/LH	T/E<3      3>T/E>6
	T/LH	T/E<3      6>T/E>10
p<0,05	[FSH]	0,6>T/E>2,4      3>T/E>6
	Ev/E	0,6>T/E>2,4      6>T/E>10
	[T]	0,6>T/E>2,4      T>10
	[E]	0,6>T/E>2,4      T>10
	[FSH]	0,6>T/E>2,4      T>10
	An/T	T/E<3      3>T/E>6
	[T]	T/E<3      T/E>10
	[LH]	3>T/E>6      T/E>10

Llama poderosamente la atención el alto número de niveles de significación alcanzados por diversas variables del **P.H.E.** entre los diferentes grupos estudiados. Pero sobre todo, además de las significaciones (lógicas por las condiciones de valores de **T/E** para formar dichos grupos) entre los cocientes **T/E** y las concentraciones de **testosterona**, es el cociente **T/LH** el que mayor correlación presenta entre los diversos grupos, además con significaciones  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  e incluso inferiores ( $p < 0,0001$  entre los grupos  $T/E > 10$  y  $0,6 > T/E > 2,4$ ). Otras variables en las que interviene la **androsterona** también presentan elevados niveles de significación, lo que también es explicable por la relación entre esta hormona y la **testosterona**.

Ante el interés que presenta el cociente **T/LH**, se realizó un estudio de distribución de frecuencias de valores de **[LH]** y **T/LH** en una población normal, de 54 varones con una edad media de  $21 \pm 2,3$  años, con actividad física media (figuras 8 y 9).

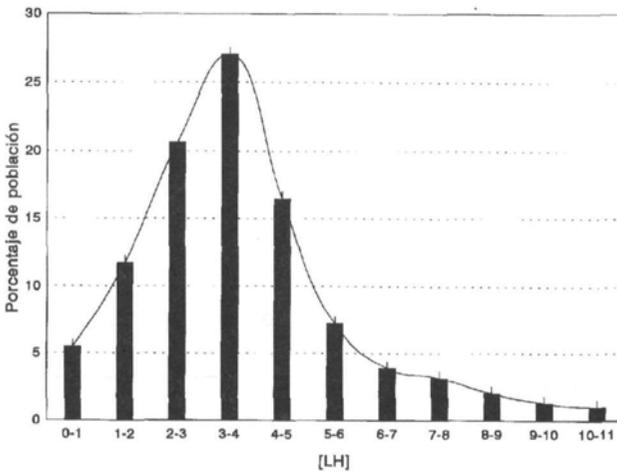


Figura 8. Frecuencias de distribución de [LH] en una población de actividad física media.

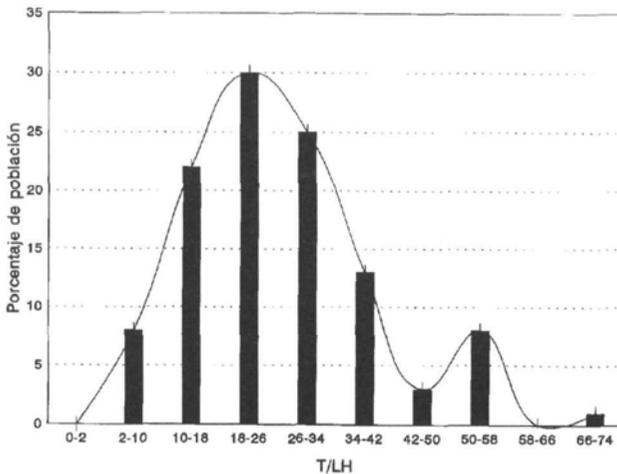


Figura 9. Frecuencias de distribución de T/LH en una población de actividad física media.

Y por otra parte, también se ha realizado un estudio de correlaciones entre varios de los parámetros medidos y que parecen ser los más interesantes. Los resultados se presentan en la tabla IX.

Tabla IX. Coeficiente de relación y significación estadística entre pares de variables de diversos grupos con diferente T/E.

		T/E				
		<0,6	0,6 - 2,4	3 - 6	6 - 10	>10
[T]	[LH]	0,9784	0,0216	-0,1058	0,4944	-0,0236
		0,9087	0,9946	0,0661	0,3636	0,4227
T/E	[LH]	0,9158	0,0842	-0,0446	0,7736	-0,3845
		0,0525	-0,8430	0,3616	0,1272	0,7858
T/E	T/LH	0,9978	0,0022	0,3173	0,0358	0,5453
		0,0040	0,9391	0,2233	0,2763	0,5486

### 3.2. Conclusiones

En los grupos con  $R_{T/E} > 3$  se encuentra unas diferencias de concentraciones entre la **testosterona** y la **epitestosterona** superiores a las aparecidas en los otros grupos, lo que puede corresponderse con la acción que una posible **testosterona** exógena efectúa sobre la producción de andrógenos. Sin embargo, en las otras hormonas andrógenas medidas, al estar relacionadas con la **testosterona** por metabolismo y no por isomería, no aparece por lo general este efecto.

En el caso de la **hormona luteinizante** aparece una clara correlación entre ella misma y la **testosterona**, y lo mismo ocurre con las relaciones **T/E** y **T/LH**, con un alto coeficiente  $r$  y una buena significación estadística en gran parte de los pares de variables comparados en los diversos grupos. Es interesante observar al respecto los altos coeficientes de relación existentes entre las variables comparadas en el grupo con  $T/E < 0,6$  y con  $6 < T/E < 10$ , siendo la significación estadística alta en el grupo con  $T/E < 0,6$  sobre todo.

En consecuencia, este agrupamiento de la población da lugar a interesantes resultados con posible aplicación en la población deportiva en general.

Igualmente estos resultados hacen pensar que la valoración en un control de dopaje de una orina como **positiva** o **negativa** para la **testosterona** es muy difícil de realizar basándose simplemente en los datos de la relación **testosterona/epitestosterona**, incluso en los casos presentados como negativos, pues son múltiples parámetros los que se deben eva-

luar. Además, la valoración ha de realizarse a título individual, ya que en cada individuo puede verse alterado un parámetro o una relación en comparación con otro.

En el estudio presentado a continuación, en el que valoramos varios casos prácticos, se documentan las dudas al respecto a la posibilidad de evaluar un caso de dopaje sobre **testosterona** sólo con la relación **T/E**.

#### 4. ESTUDIO Y DISCUSIÓN DE 25 CASOS PRÁCTICOS CON DIFERENTES ANORMALIDADES EN EL PERFIL HORMONAL

En la *tabla X* se presentan, elegidos entre 985 resultados correlativos de análisis de control del dopaje, 25 casos reales de diferentes cocientes **T/E** en los que alguno de los restantes parámetros medidos presenta un valor que no se encuentra entre los límites de los que en principio podrían clasificarse como "**normales**", que son los que se incluyen en la *tabla XI*, y que corresponden a los valores medios de una población de deportistas federados sin influencias de factores endógenos o exógenos sobre el **perfil hormonal esteroideo**.

La población de referencia está compuesta por las muestras recogidas, tras competición, a los 657 integrantes de los grupos (10) estudiados de:

- *deportistas federados;*
- *varones;*
- *practicantes de diferentes deportes;*
- *con resultado negativo en el análisis de control del dopaje.*

Es decir, no se han incluido ni poblaciones femeninas, ni con actividad física media o baja, ni con reacciones positivas a la hCG y/o a los esteroides anabolizantes (incluida la testosterona), ni voluntarios, ni deportistas federados en período de entrenamiento, con el fin de que no se produzca ninguna influencia por alguno de estos factores sobre el valor real de cada parámetro del perfil.

Caso	T/E	[T] (ng/ml)	[E] (ng/ml)	[An] (ng/ml)	[Et] (ng/ml)	[LH] (mUI/ml)	An/Et	An/T	T/LH	[hCG] (mUI/ml)
1	21,81	1265	58	6389	6624	4,30	0,96	5,05	294,18	0,3
2	14,70	209,7	9,10	2298	2127	2,36	1,08	10,95	88,90	0,8
3	13,50	21,88	1,62	728,7	701,6	0,90	32,07	33,30	24,31	0,9
4	12,48	33,94	2,72	168,2	86,8	0,60	1,94	4,96	56,56	0,2
5	11,59	197	17	2946	3089	3,90	0,95	14,95	50,52	0,7
6	11,28	203	18	2568	3364	8,10	0,76	12,65	25,06	0,7
7	10,40	24,86	2,39	2124,2	1662,6	0,20	1,28	85,45	394,35	0,3
8	8,4	11,5	1,3	343	429	0,4	0,79	29,82	28,75	0,3
9	4,98	114,5	23	1033,8	825,6	0,68	1,25	9,02	168,40	164,7
10	4,80	245	50	1946	1750	1,4	1,11	7,94	172,4	1,2
11	4,40	360	81	3241	2781	2,9	1,17	9,00	123,4	0,3
12	4,29	3	0,7	203	406	0,1	0,50	67,67	30	2,3
13	4,24	42	9,90	244	830	3,8	0,29	5,81	11,05	1,1
14	4,12	33	8	206	453	6,0	0,45	6,24	5,5	4,5
15	3,43	33,90	9,90	261,2	435,9	10,10	0,60	7,7	3,36	0,5
16	3,40	21,4	6,3	183,7	152,1	0,52	1,21	8,58	41,15	3,2
17	1,56	3,2	2,10	246,1	529,5	1,31	0,47	76,90	2,44	0,9
18	0,92	115	125	1233	966	0,6	1,28	10,72	191,7	0,4
19	0,91	21,60	22,60	2295	1467	30,89	1,56	106,3	0,69	2,4
20	0,70	23	33	104	205	0,07	0,50	4,52	328,6	0,9
21	0,60	1,90	3,30	821,6	425,9	1,22	1,93	432,42	1,56	3,4
22	0,19	38	204	999	1633	3,1	0,61	26,29	12,26	2,1
23	0,13	1,54	12,20	16221	1431	5,17	1,13	1052,6	0,30	2,4
24	0,11	18,3	166,4	109,2	238,4	0,3	0,46	5,97	61	3,7
25	0,10	1,10	3,20	732,3	679,2	5,30	1,08	665,73	0,21	0,6

Tabla X. Muestras en las que algún parámetro del perfil hormonal esteroideo se desvía de la media "normal".

		T/E	[T] (ng/ml)	[E] (ng/ml)	[An] (ng/ml)	[Et] (ng/ml)	[LH] (mUI/ml)	An/Et	An/T	T/LH	[hCG] (mUI/ml)
Población de referencia	Media	1,79	48,41	33,15	2010,76	1931,95	3,16	1,17	46,68	16,13	0,56
	D.E.	±0,46	±13,37	±8,86	±501,34	±606,82	±0,94	±0,007	±17,28	±4,96	±0,27
	C.V. (%)	25,70	27,62	26,73	24,93	31,41	29,75	5,98	37,02	30,75	48,21

Tabla XI. Valores medios de los parámetros del Perfil Hormonal Esteroideo que pueden deducirse como "normales", salvo las excepciones constatadas.

Se pueden destacar los siguientes resultados:

**A)** En los 7 casos con  $T/E > 10$ , además de la consideración de este parámetro que en principio establece una "no negatividad", aparecen los siguientes valores distintos a los de la población normal:

- a<sub>1</sub>) [T] con valores muy superiores (casos 1, 2, 5 y 6);
- a<sub>2</sub>) [E] con valores muy inferiores (casos 3, 4 y 7);
- a<sub>3</sub>) [An] con valores muy inferiores (casos 3 y 4);
- a<sub>4</sub>) [Et] con valores muy inferiores (caso 4);
- a<sub>5</sub>) [LH] con valores elevados (caso 6);
- a<sub>6</sub>) An/Et con valores muy superiores (caso 3);
- a<sub>7</sub>) An/T con valores       \* muy inferiores (casos 1, 4, 5 y 6)  
                                  \* muy superiores (caso 7);
- a<sub>8</sub>) T/LH con valores muy superiores (casos 1, 2, 4, 5 y 7);
- a<sub>9</sub>) hCG con valores normales en todos los casos.

**B)** Sólo aparece un caso, el 8, con una  $T/E$  entre 6 y 10, valor que la actual reglamentación considera como dudoso. En este caso, aparecen:

- b<sub>1</sub>) [E], [An] y [Et] con valores por debajo de lo normal;
- b<sub>2</sub>) la relación An/T algo elevada.

**C)** Aparecen 8 casos, del 9 al 16, con una relación  $T/E$  entre 3 y 6, casos que están establecidos como negativos, y en los que sin embargo se observa:

- c<sub>1</sub>) [T] con valores:       \* elevados en los casos 9, 10 y 11;  
                                  \* muy bajos en el 12;
- c<sub>2</sub>) [E] con valores:       \* algo elevados en el caso 11;  
                                  \* muy por debajo de lo normal en los casos 12, 13, 14, 15 y 16.
- c<sub>3</sub>) [An] con valores:     \* bajos en el caso 9;  
                                  \* muy inferiores a la media de los grupos de referencia en los casos 12, 13, 14, 15 y 16.

**c<sub>4</sub>) [Et]** inferior a la media de referencia en los casos 12, 14, 15 y 16.

**c<sub>5</sub>) [LH]** inferior a la media considerada como normal en los casos 9, 16 y, sobre todo, 12.

**c<sub>6</sub>) An/Et** algo baja en los casos 12, 14 y 15, y algo más inferior en el 13.

**c<sub>7</sub>) An/T** muy por debajo del valor medio de referencia en los casos 9, 10, 11, 13, 14, 15 y 16.

**c<sub>8</sub>) T/LH** con valores: \* muy superiores a la media considerada normal en los casos 9, 10 y 11;

\* y por debajo de lo normal en 14 y 15.

**d<sub>9</sub>) [hCG]** con valores considerados como positivos en el caso 9.

**D)** Aparecen 9 casos, del 17 al 25, con relaciones **T/E<3**, que en principio deberían ser considerados como normales, pero en los que sin embargo se puede observar que:

**d<sub>1</sub>) T/E** por debajo de lo normal en los casos 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 y 25.

**d<sub>2</sub>) [T]** con valores: \* inferiores a la media de referencia en los casos 17, 21, 23 y 25;  
\* y muy superior en el 18.

**d<sub>3</sub>) [E]** con valores: \* muy superiores a la media de referencia en los casos 18, 22 y 24;  
\* y muy por debajo de ellos en 17, 21 y 25.

**d<sub>4</sub>) [An]** con valores: \* inferiores a la media de referencia en los casos 17, 20 y 24;  
\* muy superiores en el 23.

**d<sub>5</sub>) [Et]** inferior en los casos 17, 20 y 24.

**d<sub>6</sub>) [LH]** muy por debajo en los casos 18 y 24 y, sobre todo, en el 20.

**d<sub>7</sub>) An/Et** presentan valores sólo algo inferiores en los casos 17, 20, 22 y 24.

**d<sub>8</sub>) An/T** con valores elevados en el caso 17, muy elevados en los casos 19, 21, 25 y, sobre todo, 23.

**d<sub>9</sub>) T/LH** presenta valores: \* muy elevados sobre la media de referencia en los casos 18 y 20;  
\* e inferiores en los 17, 19, 21, 23 y 25.

**d<sub>10</sub>) [hCG]** con valores normales, negativos, en todos los casos.

#### 4.1. Conclusiones

Este estudio nos hace concluir que, en la actualidad, la valoración de la positividad de la **testosterona** en un deportista es algo más complejo que la resolución por la sola medida de las relaciones **T/E** y/o **T/LH**, dado que ambas relaciones **pueden ser manipuladas farmacológicamente**. Son necesarios estudios, en ocasiones muy caros y complejos, para demostrar la culpabilidad del deportista; y en todo caso el deportista, mientras dura la investigación sobre su evaluación, puede seguir compitiendo falseando los resultados.

Es necesario en consecuencia establecer un estudio individualizado de varios parámetros del **perfil hormonal** para poder demostrar el uso de **testosterona** exógena. También debe realizarse una revisión del índice de positividad, al no ser el adecuado el actual **T/E>6**, o incluso el **T/E>10**. Y asimismo se necesita revisar el índice de negatividad, ya que el establecido como **T/E<6** tampoco parece ser el adecuado.

Probablemente, la utilización de sangre como material fisiológico de muestreo haga que disminuya el uso de las sustancias consideradas; y ello no porque resuelva los problemas analíticos que su detección y confirmación presenta, sino por su significación represiva. Es pues necesario continuar las investigaciones en desarrollo en iniciar otras nuevas, en la intención de asegurar algún índice o parámetro analítico suficientemente fiable como para considerarlo como significativo para constatar una infracción de dopaje con **testosterona** y si se logra la aplicación garantizable de la nueva tecnología de IRMS en experimentación, la resolución del problema puede estar más próxima de lo que "a priori" parece.

#### 5. BIBLIOGRAFÍA

1. CATLIN, D.H.: "Critical Aspects of Drugs Use in Sports". Comunicación personal en la "III Conferencia Mundial Permanente sobre Antidopaje en el Deporte", Bergen (Noruega), (1991).
2. KICMAN, A.T.; BROOKS, R.V.; COLLYER, S.C.; COWAN, D.A.; NANJEE, M.N.; SOTHAN, G.J. & WHEELER, M.J.: "Criteria to indicate testosterone administration". Br. J. S. Med., 24(4):253-264, (1990).
3. DE BOER, D.; DE JONG, E.G.; VAN ROSSUM, J.M. & MAES, R.A.A.: "Doping Control of Testosterone and Human Chorionic Gonadotrophin: A Case Study". Int. J. Sports Med., 12(1):46-51, (1991).
4. VENTURELLI, E.; MANZARI, A.; CAVALLERI, A.; BENZO, M.; SECRETO, G. & MARUBINI, E.: "Urinary testosterone measurement by gas chromatography after solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography". Journal of Chromatography Biomedical Applications, 582:7-12, (1992).
5. DE NICOLA, A.F.; DORFMAN, R.I. & FORCHIELLI, E.: "Urinary excretion of epitestosterone in normal individuals and hirsute and virilized females". Steroids, 7:351-366, (1966).
6. BROOKS, R.V.; JEREMIAH, G.; WEBB, W.A. & WHEELER, M.: "Detection of anabolic steroid administration to athletes". J. Steroid Biochem., 11:913-917, (1979).
7. FUJIOKA, M.; SHINOHARA, Y.; BABA, S.; IRIE, M. & INONE, K.: "Acute suppression of endogenous testosterone levels by exogenous testosterone in normal men". Life Sciences, 41:945-949, (1987).
8. KICMAN, A.T.; BROOKS, R.V. & COWAN, D.A.: "Human chorionic gonadotrophin and sport". Br. J. Sp. Med., 25(2):73-80, (1991).

9. DONIKE, M.; BARWALD, K.R.; KLOSTERMAN, K.; SCHANZER, W. & ZIMMERMANN, J.: "The detection of exogenous testosterone". In: Heck, H.; Hollmann, W.; Liesen, H., eds., *Sport: Leistung und Gesundheit*, Köln: Deutscher Ärzte-Verlag, (1983), pp. 293-300.
10. WRIGHT, F.: "Biologie des Androgènes". Comunicación personal en : *"Il Réunion du Groupe de Travail sur la Recherche"*, Groupe de Suivi, Convention contre le dopage, Conseil de l'Europe, (1992).
11. DORFMAN, R.I.; DE NICOLA, A.; GOTTFRIED, H. & FORCHIELLI, E.: "Testosterone and epitestosterone in human urine". *Testosterone ed.* Tamm, J., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1968), pp. 216-219.
12. BROOKS, R.V. & GIULIANI, G.: "Epitestosterone isolation from human urine and experiments on possible precursors". *Steroids*, 4:101-116, (1964).
13. KORENMAN, S.G.; WILSON, H. & LIPSETT, M.B.: "Isolation of  $17\alpha$ -hydroxyandrost-4-en-3-one (epitestosterone) from human urine". *J. Biol. Chem.*, 239:1004-1006, (1964).
14. WILSON, H & LIPSETT, M.B.: "Metabolism of epitestosterone in man". *J. Clin. Endocrinol.*, 26:902-914, (1966).
15. COWAN, D.A.; KICMAN, A.T.; WALKER, C.J. & WHEELER, M.J.: Effect of administration of human chorionic gonadotrophin on criteria used assess testosterone administration in athletes". *Journal of Endocrinology*, 131:147-154, (1991).
16. DONIKE, M.; BARWALD, K.R.; KLOSTERMAN, K.; SCHANZER, W. & ZIMMERMANN, J.: "Nachweis von exogen Testosteron". In: Heck, H.; Hollmann, W.; Liessen, H.; Rost, R. (eds.), *Sport: Leistung und Gesundheit Deutscher Ärzte-Verlag*, Cologne, (1982), pp. 293.
17. DONIKE, M.; ADAMIETZ, B.; OPFERMANN, G.; SHANZER, W.; ZIMMERMANN, J. & MANDEL, F.: "Die Normbereiche für Testosteron - und Epitestosteron- Urinspiegel sowie der Testosteron/Epitestosteron Quotienten". Comunicación personal en el "3rd Cologne Workshop on Dope Analysis", Cologne, (1985).
18. "Control antidoping". En: *"Manual de Medicina Deportiva"*, CIO, (1990), pp. 95-132.
19. CARLSTRÖM, K.; PALONEK, E.; GARLE, M.; OFTEBRO, H.; STANGUELLE, J. & BJÖRKHEM, I.: "Detection of Testosterone Administration by Increased Ratio between Serum Concentration of Testosterone and  $17\alpha$ -Hydroxiprogesterone". *Clin. Chem.*, 38(9):1779-1784, (1992).
20. MARTÍNEZ, J.L.; AGUERRALDE, A.; CAMARERO, A.; GARDE, A.; GOÑI, E.; LÓPEZ, M.T. & RAMOS, C.: "Esteroides anabolizantes (II). Efecto de la toma continuada y simultánea sobre los niveles séricos del eje hipofiso-gonadal". *Archivos de Medicina del Deporte*, IX(35):287-296, (1992).
21. RODRÍGUEZ, A.F. & RODRÍGUEZ, C.: "El doping. Evaluación en el laboratorio". *Archivos de Medicina del Deporte*, III(9):43-53, (1986).
22. MONDENARD, J.P. DE: *"Dictionnaire des substances et procédés dopants en pratique sportive"*, Masson, (1991), pp. 23-27, 136-141.
23. DALZELL, D.P. & ELATTAN, T.M.A.: "Gas Chromatographic Determination of Urinary Excretion of Testosterone, Epitestosterone and Androstenedione in Pre-adolescent and Adolescent Children". *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36:1237-1240, (1973).
24. DEHENNIN, L.; SCHOLLER, R.: "Despistage de la prise de testostérone comme anabolisant chez les adolescents par la détermination du rapport des excretions urinaires de testostérone et d'épitéstostérone". *Pat. Biol.*, 38:920-922, (1990).
25. RODRÍGUEZ, C.; RUBIO, S.; CORTÉS, R.; RODRÍGUEZ, A.F.; CARRERAS, D.; SORIANO, C. & PALACIOS, N.: "Estudio preliminar de niveles de testosterona con respecto a la epitestosterona en población adolescente masculina. Comparación con niveles en deportistas de élite". *Archivos de Medicina del Deporte*, VII(26):133-137, (1990).
26. RODRÍGUEZ, C.; RUBIO, S.; CORTÉS, R.; RODRÍGUEZ, A.F.; CARRERAS, D.; SORIANO, C. & PALACIOS, N.: "Nuevo estudio de niveles de testosterona en adolescentes masculinos con diferentes intensidades de actividad deportiva". *Revista de Investigación y Documentación sobre las Ciencias de la Educación Física*, 12-13:52-54, I-XIII, (1989).

27. FALK, O.; PALONEK, E. & BJÖRKEM, I.: "Effect of ethanol on the ratio between testosterone and epitestosterone in urine". Clin. Chem., 34:1462-1464, (1988).
28. OFTEBRO, H.: "Evaluating an abnormal steroid in profile". Lancet, 359:941-942, (1992).
29. OFTEBRO, H.: "Influence of Pharmaca on the Steroid Profile". Comunicación personal en: "*Hormone Profile After Steroid Administration*", II Congreso Mundial del COI de Ciencias del Deporte, Barcelona, (1991).
30. SONINO, N.: "The use of ketoconazole as an inhibitor of steroid production". The New England Journal of Medicine, 812-818 (1987).

# EFECTOS DEL SALBUTAMOL EN RATAS SOMETIDAS A ENTRENAMIENTO AERÓBICO<sup>1</sup>

*Cepero González, M.*

<sup>1</sup> Este estudio pertenece a un trabajo de Tesis Doctoral desarrollado en el departamento de Fisiología, Farmacología y Toxicología de Universidad de León durante los años 94-97, recibiendo para su realización una subvención del Centro Nacional de Investigación y Ciencias del Deporte (**C.N.I.C.D.**) del Consejo Superior de Deportes, Proyecto 12/SUI/96; por la Dirección General de Investigación Científica y Técnica de Castilla y León (**DGCICYT**), Proyecto LE04/94 y por la Comisión Interministerial de Investigación Científica y Técnica (**CICYT**), Proyecto SAF 9400/96.

---

## **Dirección para correspondencia:**

Mar Cepero González  
Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte  
Universidad de Granada  
Carretera de Alfacar, s/n - Pol. La Cartuja  
18011 Granada  
Tel.: 958 24 43 59  
Fax: 958 24 30 66  
e-mail: mcepero@platon.ugr.es



**Mar Cepero González**, Doctora en Educación Física y Deportiva. Realiza su tesis doctoral (con el proyecto subvencionado por el Consejo Superior de Deportes), en el Departamento de Fisiología, Farmacología y Toxicología de la Universidad de León. Funcionaria de carrera del Ministerio de Educación y Ciencia del cuerpo de Profesores de Enseñanza Secundaria en la asignatura de Educación Física. Profesora Asociada de Universidad en la Facultad de Ciencias de la Educación de la Universidad de Cádiz durante el curso 96-97, actualmente imparte docencia en el Departamento de Educación Física y Deportiva de la Universidad de Granada.

**Resumen:** Los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos empezaron a utilizarse en terapéutica humana en los años 40 para el tratamiento del asma. La capacidad estimuladora de estos compuestos sobre el músculo liso y estriado, reside principalmente en su afinidad por el subtipo de receptores  $\beta_2$ , por lo que se muestran como eficaces agentes frente a neumonías, bronquitis y otras disfunciones del sistema respiratorio. En la actualidad, dichos fármacos son unos de los compuestos más utilizados en la competición deportiva con fines de dopaje, siendo el salbutamol y el clenbuterol los fármacos más potentes empleados para ello. Hemos estudiado los efectos del salbutamol administrado crónicamente a dosis terapéuticas (16  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), y a dosis dopantes (3  $\text{mg}/\text{kg}$ ), en ratas tanto sometidas a entrenamiento aeróbico como en reposo, centrándonos en la musculatura estriada esquelética y cardíaca donde se comportó como un potente hipertrofiante; y en el tejido adiposo, donde valoramos la grasa suprarrenal, resultando un potente reductor de la misma. Además se realizó un estudio completo del perfil poliamínico y enzimático de los animales, todo ello, para ratificar los resultados obtenidos.

**Palabras claves:** Dopaje, agonistas  $\beta$ -adrenérgicos, salbutamol, entrenamiento aeróbico, musculatura estriada, hipertrofia muscular, tejido adiposo, parámetros enzimáticos y sanguíneos, poliaminas, biomarcadores dopantes.

**Abstract:** The  $\beta$ -adrenergics agonist begun to be used in human therapeutic in 40' years for the asthma treatment. The stimulate capacity of this compound on the smooth and groove muscle, is in the affinity for the receptors  $\beta_2$  subtype, being like agents efficient for pneumonia, bronchitis and other dysfunction of respiratory system Nowadays, this drugs are compounds very useful in the sport competition with the purpose of doping, the albuterol and clenbuterol are the most powerful drugs employed. We have studied the effects of albuterol chronic administrated in therapeutic (16  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and doping (3  $\text{mg}/\text{kg}$ ) dosage, in rats conquered to a aerobic training, analyzing the skeletal and cardiac muscle, and the adipose tissue. The results show that the albuterol is a powerful hypertrophic muscle, and a great reductor fatty, Besides, this study shows a complete analyse of perfil enzymatic and polyamine of animals, all of them, for ratify the results obteneds.

**Key Words:** Doping, agonist.  $\beta_2$ -adrenergics, albuterol, aerobic training, skeletal muscle, cardiac muscle, hypertrophy muscle, adipose tissue, enzymatics and blood parameters, polyamines, doping biomarkers.

## 1. INTRODUCCIÓN

Se conoce con el nombre de dopaje a la administración voluntaria de sustancias que mejoran el rendimiento físico y psíquico de un individuo, existiendo diferentes modalidades del mismo.

En los últimos 20 años el dopaje se ha convertido en una práctica en rápida expansión, frenada sólo por los controles antidopaje, la consecuencia más inmediata fue la elaboración de listas de sustancias dopantes, éstas se unifican y revisan de forma constante, con el fin de actualizarlas y adecuarlas a la realidad deportiva y científica del momento (Meana y Barturen, 1995). La presión ejercida en los últimos años por los controles antidopaje, trajo consigo la disminución del número de sustancias identificadas, así como del porcentaje de casos positivos (Rodríguez Bueno, 1990; 1991). Sin embargo surgió la duda de si este efecto era debido al carácter disuasorio ejercido por dichos organismos o si por el contrario era consecuencia de la introducción de nuevas sustancias.

La evolución del porcentaje de utilización abusiva de todos los compuestos detectados entre los años 1986 y 1995 en España por el Centro de Control de Dopaje del Consejo Superior de Deportes (Figura 1), evidencian un elevado porcentaje del uso de sustancias

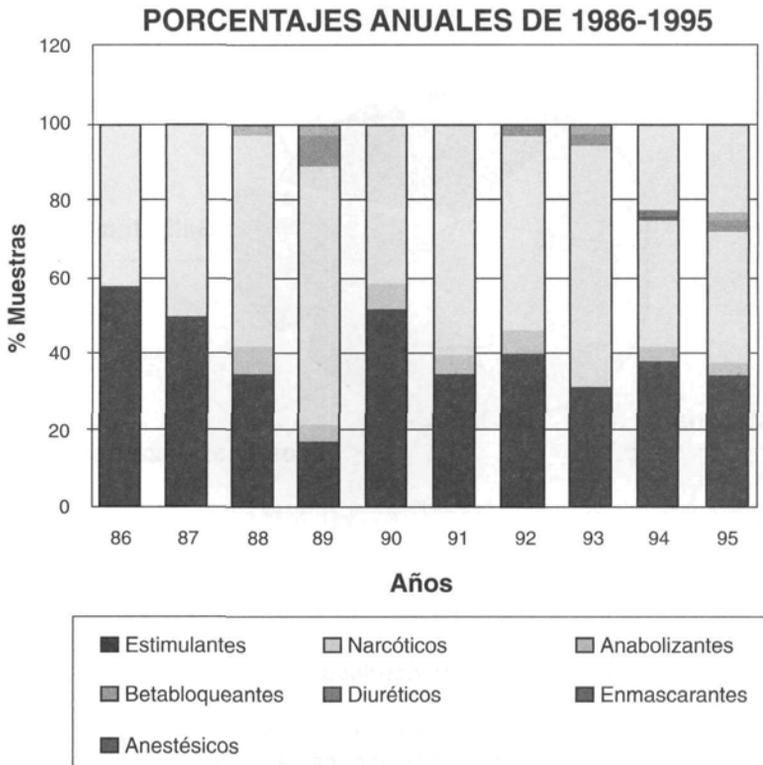


Figura 1. Representación de la frecuencia porcentual en la identificación de las sustancias dopantes en España por el laboratorio del Centro de Control de Dopaje del CSD, entre 1986-95.

estimulantes durante todo este período, ahí se incluyen los agentes  $\beta$ -adrenérgicos y fundamentalmente el salbutamol, que supone más del 30% del uso indebido de dichos fármacos (Rodríguez Bueno y cols., 1992).

Debido al rápido incremento en el uso de esta sustancia por los deportistas de élite, en Enero de 1996, el Comité Olímpico Internacional introduce al salbutamol, en la lista de sustancias prohibidas y nuevos métodos reguladores del dopaje en el deporte, además de como "Estimulante no anfetamínico", como "Otras sustancias con actividad anabolizante", con excepción de los casos en los que exista prescripción facultativa, cuando sean utilizados a dosis terapéuticas y en forma de aerosol (BOE 8-febrero-1996 nº 34 4390-4393)

En la Figura 2 se representa de forma más específica el porcentaje de fármacos detectados por el CCD del CSD durante el año 1995, y el salbutamol, siguiendo con la tendencia iniciada en los años noventa, incluido como estimulante y anabolizante, representa la tercera sustancia detectada con más frecuencia en los deportistas españoles, con un 15% (CSD, 1996).

## EL DOPAJE EN ESPAÑA EN 1995

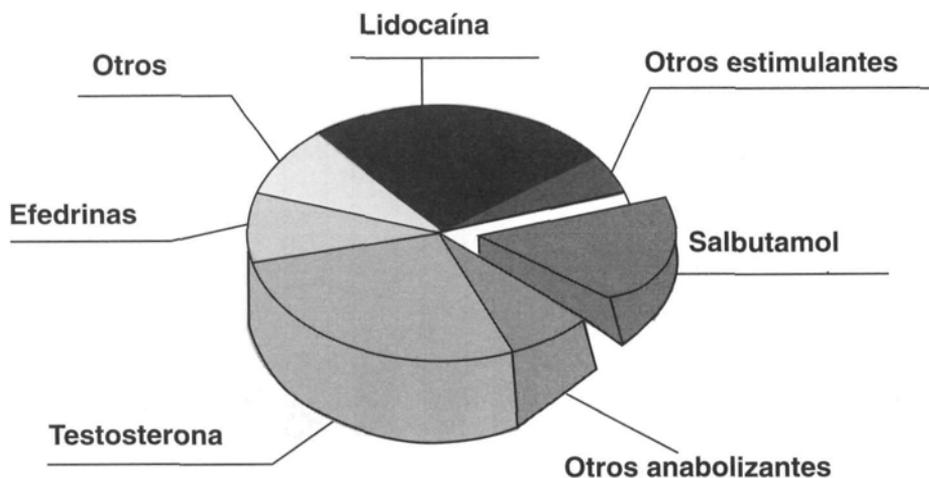


Figura 2. Representación porcentual de fármacos detectados por el Centro de Control de Dopaje del Consejo Superior de Deportes en el año 1995.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Sistema adrenérgico. Agonistas $\beta$ -adrenérgicos

Dentro de las sustancias adrenérgicas, el salbutamol, cuya estructura química vemos reflejada en la Figura 3, es un derivado funcional de las catecolaminas, adrenalina y noradrenalina (O'Donnell, 1979; 1985), que son los neurotransmisores naturales del sistema adrenérgico.

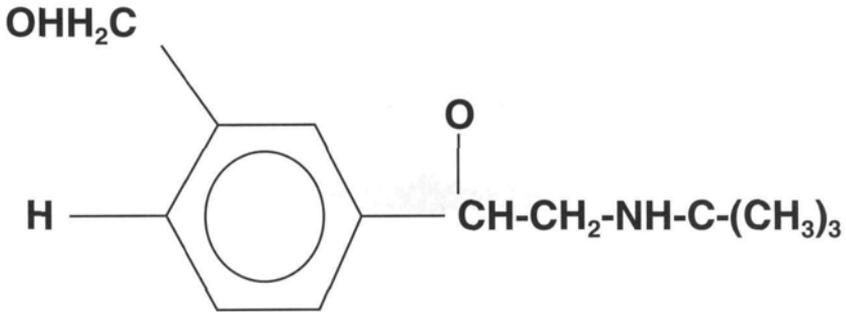


Figura 3. Estructura bioquímica del  $\beta_2$ -agonista adrenérgico, Salbutamol.

Ambas aminas son almacenadas de forma inactiva dentro de estructuras granulares en las terminaciones nerviosas adrenérgicas y en las células cromafines. La noradrenalina es sintetizada a partir del aminoácido fenilalanina, cuyo anillo aromático es hidroxilado por la fenilalanina hidroxilasa. Esta reacción produce tirosina —abundante en tejidos tales como el hígado— que es a su vez convertida en dihidroxifenilalanina (DOPA) por la tirosina hidroxilasa. Este proceso implica una hidroxilación adicional del anillo bencénico, y se cree que representa la etapa limitante en la síntesis de catecolaminas. La DOPA es descarboxilada por la enzima dihidroxifenilalanina descarboxilasa a dihidroxifenilalanina o dopamina. La conversión de tirosina en DOPA se cree que se produce en el citoplasma. Finalmente, la dopamina es transportada al interior de los gránulos de almacenamiento en el sistema extrapiramidal de los mamíferos (Aghajenian y Bunney, 1973; Bartholini y cols., 1973).

La adrenalina y la noradrenalina son los agentes responsables del desencadenamiento de gran variedad de efectos fisiológicos y bioquímicos mediados por los receptores adrenérgicos de la superficie celular. La intensidad y el modelo de respuesta, dependen del tipo de célula u órgano diana estimulado, del tipo de receptores presentes, de su proporción y de su estado (Bogdanski, 1973).

### 2.1.1. Aspectos bioquímicos de los receptores $\beta$ -adrenérgicos

Los  $\beta$ -adrenérgicos, en este caso el Salbutamol, empezaron a utilizarse en terapéutica humana en el tratamiento del asma (Flint, 1983; Borner y cols., 1988; Barnes, 1989; Corrias y cols., 1989; Freeman y cols., 1989; Bastianon y cols., 1990; Cochrane, 1990; Wong y cols., 1990), ya que su capacidad estimuladora sobre el músculo liso, reside principalmente en su afinidad por el subtipo de receptores  $\beta_2$ , por lo que se muestran como agentes eficaces frente a neumonías, bronquitis y otras disfunciones del sistema respiratorio.

Además, el denominado “carácter anabolizante” (Vanbelle, 1991; Meyer y Rinke, 1994), que presentan dichos compuestos, ha propiciado que el mundo del deporte se convierta en uno de los mejores campos de acción para su uso abusivo dopaje (Frances y cols., 1984; Frances y Simon, 1986; Hanrahan y Roche, 1987). Estos agonistas  $\beta$ -adrenérgicos, tienen la capacidad de aumentar la estimulación motora y/o mental (Segura, 1995; Meana y Barturen, 1995), además de provocar un incremento exacerbado de la masa muscular esquelética esquelética (Maltin y cols., 1986; 1987a; 1987b; 1989a; 1989b; Eisemann y cols., 1988;

McElligott y cols., 1988; Pérez y cols., 1991; Pérez y Zamora, 1991) y una notable reducción del tejido graso (Hu y cols., 1988; McRae y cols., 1988; Yang y McElligott, 1989; Martínez-Navarro, 1991), así como el aumento de la fuerza y flujo respiratorios manteniéndose un alto consumo máximo de Oxígeno. Vemos de forma esquemática los efectos de dicho compuesto en la Figura 4.

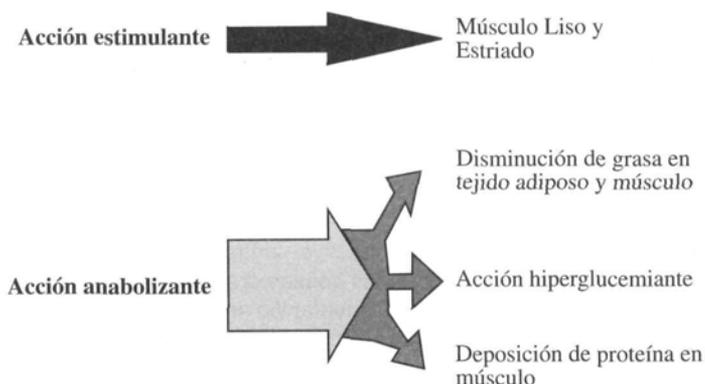


Figura 4. Efectos provocados por el agonista  $\beta_2$ -adrenérgico, Salbutamol.

Los efectos anabolizantes provocados por los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos van a producirse a tres niveles:

1. Sobre el metabolismo lipídico, el tratamiento crónico con agonistas  $\beta_2$ -adrenérgicos origina una reducción de la grasa corporal ya sea por un incremento de la movilización de lípidos del panículo adiposo o bien por descenso de la síntesis lipídica en adipocitos o hepatocitos. La interacción del agonista  $\beta_2$  adrenérgico con el receptor induce la activación de la lipoprotein lipasa.
2. Acción hiperglucemiante, la administración de adrenalina a animales de experimentación, causan una rápida elevación de glucosa en sangre como consecuencia de un incremento de su síntesis hepática y una disminución de la secreción pancreática de insulina, y por último,
3. La deposición de proteína en músculo, en el tejido muscular son unos potentes promotores de la hipertrofia, provocando un aumento neto en la deposición de proteína.

La gráfica de la Figura 5, nos muestra los dos modelos como posibles mecanismos de inducción de la hipertrofia muscular mediada por agonistas  $\beta$ -adrenérgicos propuestos por Yang y McElligot en el 1989.

Aunque el mecanismo desencadenante de la respuesta en las células musculares ha sido ampliamente estudiado, si bien no está resuelto. El primero, situado en la parte inferior de la gráfica, es un mecanismo de acción directa, basado en la interacción del  $\beta$ -agonista adrenérgico con los receptores musculares, como consecuencia se produce un aumento del contenido de RNA y proteínas, este aumento de proteínas se produce bien por estímulo de su síntesis (Rothwell y Stock, 1988; Bates y Pell, 1990; Horne y Hesketh, 1990) o bien

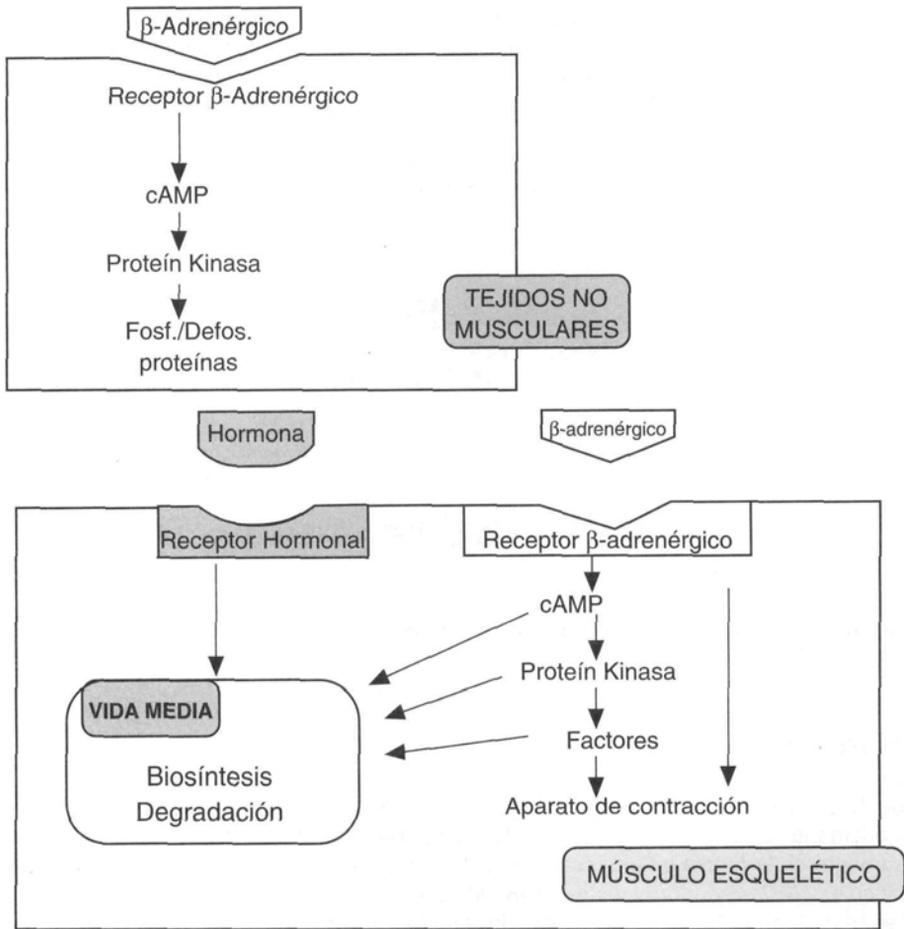


Figura 5. Esquema de los posibles mecanismos de inducción a la hipertrofia muscular mediada por agonistas  $\beta$ -adrenérgicos (Yang y McElligott, 1989).

por inhibición de su degradación (Babig y Booth, 1988; Benson y cols., 1991; Sillence y cols., 1991; 1993).

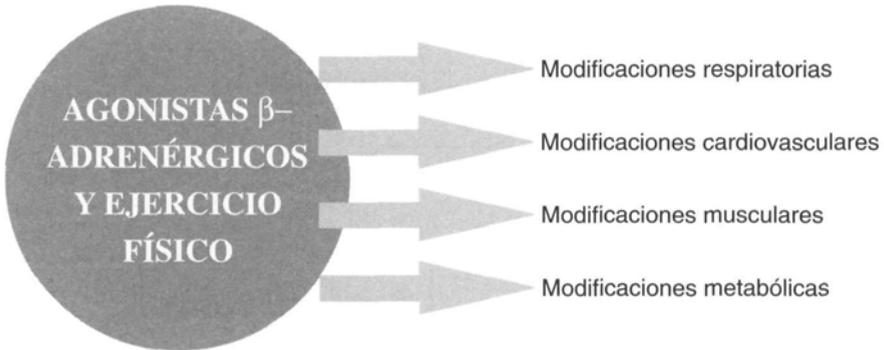
Alternativamente, parte superior de la figura, se propuso un segundo mecanismo de acción por el cual los agonistas  $\beta_2$ -adrenérgicos se unen a receptores de células no musculares que estimulan la producción de factores u hormonas, que son los responsables indirectos de la acción hipertrofiante de los agonistas  $\beta$ -agonistas (Francés y Simón, 1986; Dittman, 1990; Palmer y cols., 1990).

## 2.2. Agonistas $\beta$ -adrenérgicos y ejercicio físico

Numerosos estudios han relacionado el sistema adrenérgico y ejercicio físico. Es bien conocido que la evolución de las concentraciones plasmáticas de catecolaminas y el consumo

máximo de oxígeno en situaciones basales con la realización de ejercicio físico, se inducen cuando el consumo de oxígeno aumenta. Estos valores disminuyen hasta niveles normales cuando cesa el ejercicio físico, siendo el tiempo que tardan en disminuir dependiente de las características del mismo (Biscoe y Purves, 1965, Astrand y Rodahl, 1986).

La estimulación adrenérgica producida por el ejercicio origina una serie de modificaciones que esquematizamos en la Figura 6 y que enumeramos a continuación (McFadden, 1986):



**Figura 6.** Modificaciones provocadas por la estimulación adrenérgica que se desencadena al realizarse un ejercicio físico (McFadden, 1986).

### **2.2.1. Modificaciones respiratorias**

El efecto de los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos sobre la musculatura lisa de las vías respiratorias, origina la relajación del tono muscular comportando una mejora de la permeabilidad y un aumento en la fuerza y flujo respiratorio (Marangio y cols., 1986; Roberts, 1988; Prendiville y cols., 1987; Grandordy y cols., 1987; Malo y cols., 1992). Por esta razón, estos fármacos se han utilizado frente a neumonías, bronquitis y obstrucciones de las vías respiratorias (Carratu y cols., 1980; Flint, 1983; Marangio y cols., 1986; Fontana, 1986; Grandordy y cols., 1987; Wong y cols., 1990). Durante el ejercicio físico se produce un aumento de la capacidad ventilatoria y una disminución de la frecuencia respiratoria (Radford y cols., 1975; Webb y cols., 1982; Prendiville, 1987). Los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos permiten el consumo máximo de oxígeno debido a su efecto broncodilatador y a la reducción de la resistencia respiratoria, facilitando así el trabajo respiratorio (Rutter y cols., 1975; Stokes y cols., 1982).

### **2.2.2. Modificaciones cardiovasculares**

La mayoría de los fisiólogos deportivos coinciden en señalar que el ejercicio físico continuado produce una serie de modificaciones cardiovasculares, que son entre otras (Morehouse y Miller, 1983): el aumento del peso y volumen del corazón (Martínez Caro, 1989; Rodríguez Jeréz, 1992), el aumento de la masa muscular del corazón, el aumento de su masa ventricular (Hanson, 1987; Roy y cols., 1988; Zepilli y cols., 1989; Borea y cols., 1992;

Rodríguez Jeréz, 1992), el aumento del volumen sistólico, aumento del gasto cardíaco, la disminución de la frecuencia o ritmo cardíaco en reposo, y el incremento de la fuerza del miocardio. En cuanto a las modificaciones vasculares registradas son: un aumento de la presión sistólica y diastólica (Tipton, 1984), la disminución de las resistencias periféricas (Cohen, 1983), la modificación de la distribución del flujo sanguíneo tisular (Gren y Jackman, 1984), el aumento del flujo sanguíneo muscular, coronario y cutáneo, la disminución del flujo sanguíneo renal y el aumento del retorno venoso (Scheuer y Tipton, 1977; Scheuer, 1982).

Ya que la musculatura cardíaca y vascular contienen una alta densidad de receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos su estimulación farmacológica, produce los efectos que a continuación se describen: aumento en la fuerza contráctil de sus fibras musculares (efecto inotrópico positivo), aumento del ritmo cardíaco o efecto cronotrópico positivo, incremento de la presión sistólica seguido de un vaciamiento más completo del corazón por disminución del volumen diastólico (Astrand y Rodahl, 1986; Bassami y Moares, 1988; Price y Clissold, 1989; Abdelrahman y cols., 1990; Colbert y cols., 1991; Pack y cols., 1994; Lipworth y cols., 1995). Finalmente los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos producen vasodilatación vascular por relajación de la musculatura lisa y disminución del tono vasomotor.

### **2.2.3. Modificaciones de la musculatura esquelética**

El aumento de la masa muscular es la adaptación macroscópica más evidente al ejercicio físico regulado y periódico. El examen microscópico de un músculo procedente de un individuo entrenado pone de manifiesto un aumento del número y del tamaño de las fibras musculares (hiperplasia-hipertrofia), una mayor capilarización (Saltin y cols., 1977), lo que permite un aumento del flujo sanguíneo muscular y de la capacidad de extracción de oxígeno. Paralelamente se origina un aumento del número y volumen de las mitocondrias, del número de miofibrillas, así como de las reservas intramusculares de glucógeno y fosfocreatina y una disminución de los depósitos grasos (Marpurgo, 1987; Jansson y Kaijser, 1977; Saltin y cols., 1977), acompañado del aumento de número de células musculares (Clarke, 1973; Gonyea y cols., 1977).

Los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos producen hipertrofia del músculo esquelético y cardíaco, causando respuestas variables, dependientes de la distinta proporción de fibras musculares, ya sean de contracción rápida (FT) o lenta (ST), siendo los músculos lentos o aeróbicos, más sensibles a los efectos anabólicos de los agonistas que los músculos mixtos o predominantemente anaeróbicos (Zeman y cols., 1988; Moore y cols., 1994). Esta acción no provoca ningún tipo de afección en otras vísceras como hígado y riñones (Tse y cols., 1979; Waldeck y Wildmark, 1985; Maltin y cols., 1986; 1987a; 1987b; 1989).

Todos los resultados anteriores indican un aumento de la disponibilidad energética muscular que es utilizada en la acumulación de proteínas en las fibras esqueléticas, predisponiendo mejor al individuo al stress que supone el ejercicio físico, aumentando la fuerza de contracción muscular (De Meersman, 1986; Zeman y cols., 1988) y mejorando el rendimiento motor (Spann y Winter, 1995).

### **2.2.4. Modificaciones metabólicas**

Las demandas energéticas ocasionadas durante el ejercicio físico continuado originan cambios orgánicos y metabólicos para que éste pueda ser satisfactorio, presentando además

una inducción importante de las enzimas responsables del metabolismo oxidativo tanto aeróbico como en la capacidad glucolítica (Infante, 1981; Giménez y Florentz, 1984), de hecho es constatable que existe una relación inversa entre la actividad física, aptitud o forma física e incidencia de enfermedades cardiovasculares (Powell y cols., 1987; Wood y Stefanick, 1990).

Paralelamente, otras rutas secundarias de obtención de energía como la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos se ven igualmente incrementadas, condicionado ese incremento al tipo de entrenamiento y grupos musculares utilizados (Haskell, 1984; 1986). Estos hechos redundan en una disminución significativa de los lípidos plasmáticos totales, triglicéridos y colesterol en los animales sometidos a ejercicio físico deportivas (Schiriewer y cols., 1985; Skinner y cols., 1987; Berger y Griffith, 1987; Lamon-Fava y cols., 1989; Hellstend y cols., 1989; Sink y cols., 1989; Nagel y cols., 1989).

#### 2.2.4.1. Metabolismo de los glúcidos

La acción conjunta del ejercicio físico aeróbico y la administración crónica de beta agonista aumenta la disponibilidad de la glucosa en músculo y su transporte. Torgan y cols. (1992; 1993), comparan los efectos del ejercicio físico aeróbico y la administración crónica del agonista  $\beta_2$ -adrenérgico clenbuterol, con la tolerancia a la glucosa y el transporte de glucosa estimulado por la insulina hacia el músculo esquelético en ratas obesas. El  $\beta$ -adrenérgico induce un gran desarrollo de la masa muscular, ocasionando además un descenso significativo en la capacidad enzimática oxidativa y produciendo un aumento en la tolerancia a la glucosa, efectos similares se comprobaron con el entrenamiento (Ivy y cols., 1986; 1989). Los resultados sugieren que el entrenamiento aeróbico y la administración continuada de un agonista  $\beta$ -adrenérgico causan un efecto de resistencia frente a la insulina (disminución de la actividad enzimática oxidativa) en el músculo esquelético, aumentando la glucosa en músculo y su transporte, tanto en ratas (Lupien y cols., 1990) como en humanos (Scheidegger y cols., 1984).

#### 2.2.4.2. Metabolismo lipídico

En condiciones fisiológicas, la cantidad de lípidos presentes en el organismo está gobernada por el equilibrio entre la lipogénesis y la lipólisis. Mientras que la actividad lipogénica es controlada hormonalmente por insulina, la actividad lipolítica lo es por las catecolaminas. El tratamiento crónico con agonistas  $\beta_2$ -adrenérgicos origina una reducción de la grasa corporal ya sea por una mayor movilización de lípidos del panículo adiposo o bien por un descenso de la síntesis lipídica en adipocitos o hepatocitos (Hu y cols., 1988; McRae y cols., 1988; Yang y McElligott, 1989; Symonds y cols., 1990; Watt y cols., 1991). Las vías o rutas de actuación de los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos, tanto como el ejercicio físico aeróbico, inducen a una disminución de ácidos grasos libres no esterificados (Schuetz y cols., 1995) y a la disminución en el tejido de la lipoproteína lipasa (LPL) (Deshaies y cols., 1988; Paulin y Deshaies, 1992).

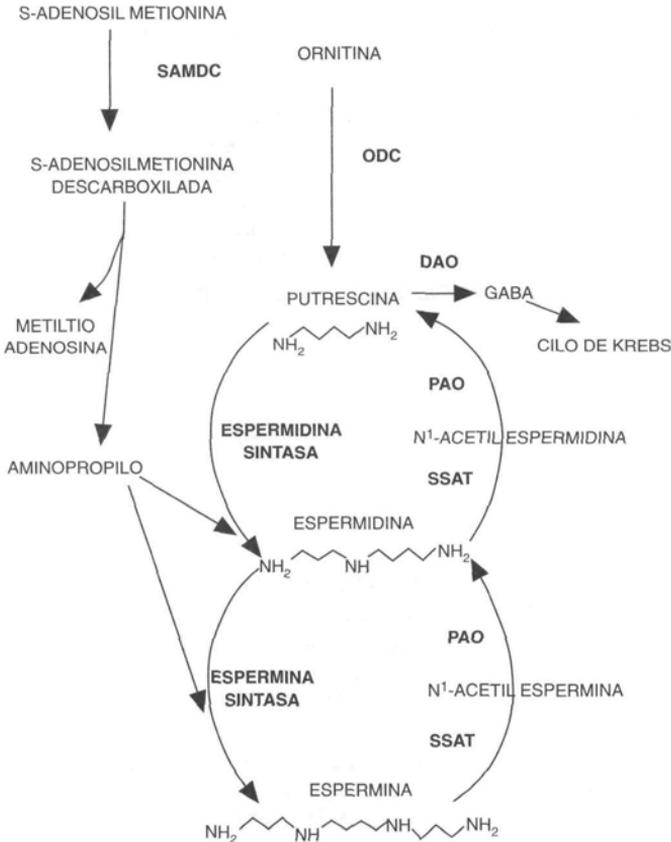
### 2.3. Metabolismo y poliaminas

Finalmente, con el nombre genérico de poliaminas se conoce a un grupo de compuestos que poseen una estructura simple alifática de bajo peso molecular y dotadas de grupos aminos protonados a pH fisiológico (Morris y Arada, 1980). Esta definición incluye diaminas tales como la putrescina (1,4-diaminobutano), cadaverina (1,5-diaminopentano) y poliami-

nas propiamente dichas como la espermidina [N-(3-aminopropil)-tetrametilén-1,4-diamina] y la espermina ([N,N', bis (aminopropil)-tetrametilén-1,4-diamina]).

Aunque la función fisiológica de las poliaminas a nivel celular y molecular no está claramente definida, están relacionadas con procesos de crecimiento y proliferación celular, tanto fisiológicos - desarrollo embrionario, regeneración de tejidos, etc - (Tabor y Tabor, 1984; Pegg, 1986), como patológicos - procesos tumorales, infecciosos y parasitarios - (Pegg y McCann, 1982; Pegg, 1988; Jänne y cols., 1991a). Además, las poliaminas se han relacionado de forma directa con la respuesta a estímulos hormonales y farmacológicos, aunque su mecanismo de acción a nivel molecular cae dentro de lo hipotético. Desde el momento en que se relacionan los efectos hormonales con variaciones de los niveles de poliaminas, se pensó que estas moléculas podrían ser mensajeros intracelulares de la respuesta hormonal.

El metabolismo de las poliaminas consta de cuatro procesos bien diferenciados: biosíntesis, transporte, degradación e interconversión (Figura 7). La biosíntesis de poliaminas en



**Figura 7.** Representación esquemática de la ruta biosintética y de interconversión de poliaminas en mamíferos. Las enzimas que catalizan las diferentes transformaciones son: ornitina descarboxilasa (ODC), S-adenosilmetionina descarboxilasa (SAMDC), espermidina sintasa, espermina sintasa, espermidina/espermina N<sup>1</sup>-acetiltransferasa (SSAT), poliamino oxidasa (PAO) y diamino oxidasa (DAO).

células de mamíferos tiene como precursores a los aminoácidos ornitina y metionina. En donde las enzimas limitantes son la ornitina descarboxilasa (ODC) y enzima S-adenosil-metionina descarboxilasa (SAMDC). El transporte de poliaminas es el segundo mecanismo por el cual las células pueden proveerse de estas moléculas en condiciones fisiológicas. También existe un sistema de interconversión, que es un proceso que revierte la ruta biosintética antes descrita. Este mecanismo está constituido por una enzima inducible la espermidina/espermina acetil transferasa (SSAT), y por una enzima constitutiva, la poliamino oxidasa y por último el catabolismo o degradación final de poliaminas, es una ruta terminal que introduce a la putrescina en el ciclo de Krebs vía succinato.

A la hora de relacionar poliaminas e hipertrofia muscular, y como se menciona anteriormente, la implicación del metabolismo de poliaminas en procesos hiperplásicos o embrionarios (Fozard y cols., 1981; Pegg, 1980; 1982; 1988), está fuera de toda cuestión, sin embargo, no parece estar demostrado tan claramente, su participación en procesos hipertróficos (Slotkin y cols., 1987).

La estimulación del sistema adrenérgico tanto en el desarrollo neonatal del corazón (Slotkin y cols., 1976, 1982; 1987; Morris y Slotkin, 1985), como en procesos patológicos que conducen a la hipertrofia cardíaca, provoca alteraciones fisiológicas y bioquímicas, muchas de cuyas respuestas están mediadas por catecolaminas a través de la unión a receptores  $\beta$ -adrenérgicos (Tse y cols., 1979; Jonhson y cols., 1983). Uno de los cambios bioquímicos producidos por agonistas  $\beta$ -adrenérgicos es la elevación de la ornitina descarboxilasa del corazón (Warnica y cols., 1975; Tipnis y cols., 1989a; 1989b), seguida por un incremento de los niveles de poliaminas que conducen finalmente al desarrollo de un proceso hipertrófico en el músculo cardíaco (Krelhaus y cols., 1975; Calderera y cols., 1978; Pegg e Hiba-sami, 1980; Bartolome y cols., 1980a; 1980b; Russell, 1981; Cubría, 1995).

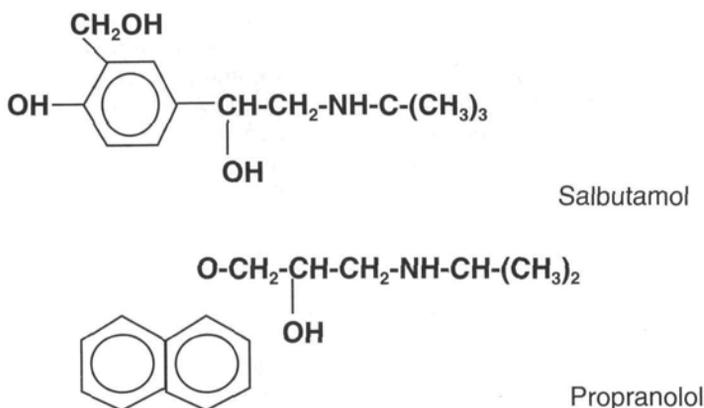
### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Materiales

##### 3.1.1. Reactivos

El agonista  $\beta$ -adrenérgico salbutamol, fue proporcionado gratuitamente por Laboratorios Glaxo, S.A. (Irlanda). El antagonista  $\beta$ -adrenérgico, propranolol, así como los estándares cromatográficos de poliaminas, diclorhidrato de putrescina, triclorhidrato de espermidina, tetraclorhidrato de espermina y 2-hidroxi-aminopropano (base libre), fueron adquiridos en Sigma Chemical Co. (St Louis, Mo. Estados Unidos) (Figura 8).

Los solventes de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) metanol, tolueno y acetonitrilo fueron de Merck (Darmstadt, Alemania). Las poliaminas se separaron cromatográficamente en una columna de fase reversa Nucleosil® C18 (Teknocroma, España) de 150 mm de longitud por 4,5 mm de diámetro y con un tamaño de partícula de 5  $\mu$ m, utilizando un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) modelo Spectra Physics Analytical con un detector de fluorescencia FL 2000, una bomba modelo P 4000 y un inyector automático de muestras AS 3000.



**Figura 8.** Estructura química del agonista  $\beta$ -adrenérgico, salbutamol, y del antagonista  $\beta$ -adrenérgico, propranolol.

La determinación de los parámetros plasmáticos: alanina aminotransferasa (ALAT), aspartato aminotransferasa (ASAT), lactato deshidrogenasa (LDH), creatín fosfoquinasa y su isoenzima cardíaca (CK e isoenzima CKMB respectivamente), fosfatasa alcalina (ALP), glucosa, triglicéridos, lípidos totales, urea y colesterol, se realizó utilizando equipos de química húmeda de Merck (Darmstadt, Alemania), y un autoanalizador bioquímico de la misma marca modelo Vitalab Selectra.

Los animales experimentales se entrenaron aeróbicamente utilizando un tapiz rodante de la marca *Leticia LI8706*, (Barcelona, España), gentilmente cedido por el Área de Fisiología de la Universidad de León.

El resto de los materiales y reactivos utilizados en la memoria fueron de calidad estándar de laboratorio.

### 3.1.2. Material biológico

En el presente trabajo se han utilizado ratas macho de raza Wistar, suministradas por Criffa (Barcelona, España), de un peso comprendido al inicio de los experimentos entre 160 y 180 g. Los animales se mantuvieron en el animalario de la Universidad de León en condiciones controladas de luz (fotoperiodo de 12 horas) y temperatura (20-22°C) con acceso libre a comida y bebida hasta el momento del sacrificio. La dieta consistió en gránulos de pienso rata-ratón marca Panlab A-04, con valor calórico de 2.900 kcal/kg.

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Tratamiento continuado con $\beta$ -adrenérgicos

El diseño experimental, consistió en 2 experimentos, el primero a dosis terapéuticas de salbutamol (16  $\mu$ g/kg/día) y el segundo a dosis dopantes (3 mg/kg/día). En cada experimento

se incluyeron grupos de 6 a 8 animales sometidos a un protocolo de entrenamiento aeróbico a lo largo de las 11 semanas del desarrollo experimental. Para demostrar la implicación adrenérgica del salbutamol, se incluyeron en cada experimento, un grupo tratado simultáneamente con salbutamol y el antagonista  $\beta$ -adrenérgico inespecífico, propranolol a la dosis de 10 mg/kg. Dicho compuesto, se administró 30 minutos antes que el primero siguiendo las pautas anteriormente descritas a lo largo de los tres meses de duración del experimento. Todos los grupos contaron con un control correspondiente al que se inyectó el mismo volumen de solución salina.

### 3.2.2. Entrenamiento aeróbico de los animales

Los animales fueron entrenados siguiendo el método de resistencia aeróbica propuesto por Willis y cols. (1988), con una duración total de 11 semanas. La carga aeróbica se distribuyó en 11 microciclos, en los cuales los animales realizaban ejercicio físico durante cinco días y descansaban dos. Las variables dependientes de la carga como intensidad, duración y pendiente, se fueron incrementando en función del tiempo, tal y como se se refleja en la Tabla I.

Durante el periodo de entrenamiento se determinó el peso de los animales con una frecuencia de 3-4 días por cada microciclo coincidiendo con el inicio y finalización del periodo de entrenamiento. Complementariamente, y con una periodicidad quincenal se realizaron tomas de sangre para poder establecer los perfiles plamáticos seleccionados con anterioridad. Para ello, los animales fueron anestesiados con éter dietílico, extrayéndose 3-4 mL de sangre del plexo ocular. El plasma se obtuvo por centrifugación (2000 x g, durante 5 min a temperatura ambiente) y se conservó a -20°C hasta el momento de realización de los ensayos.

Tabla I. Esquema del plan de entrenamiento aeróbico propuesto por Willis y cols. (1988) al que fueron sometidas las ratas en el presente estudio.

Semanas	Duración	Velocidad	Pendiente
1 <sup>a</sup>	10 min	33 cm/s	0 %
2 <sup>a</sup> -3 <sup>a</sup>	30 min	33 cm/s	5 %
4 <sup>a</sup> -5 <sup>a</sup>	35 min	35 cm/s	7,5 %
6 <sup>a</sup> -7 <sup>a</sup>	40 min	36,3 cm/s	10 %
8 <sup>a</sup> -9 <sup>a</sup>	45 min	38,3 cm/s	10-12,5%
10 <sup>a</sup> -11 <sup>a</sup>	50 min	40 cm/s	12,5 %

### 3.2.3. Obtención y preparación de los órganos

Al final del tratamiento los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. El animal se colocó en una mesa de quirófano en posición decúbito supino y se diseccionó el abdomen, extrayéndose con la mayor brevedad posible el corazón, hígado, riñones y grasa suprarenal. A continuación se invirtió la posición del animal a decúbito prono y se extraje-

ron los músculos sóleo, gastrocnemio y plantar, derecho e izquierdo. Todos los órganos fueron lavados con solución salina al 0,9% a 4°C, secados y pesados, y se diseccionaron transversalmente para su rápida congelación en nitrógeno líquido, o se fijaron en solución fijadora de Bouin alcohólico durante 24 horas, para los estudios histológicos.

### **3.2.4. Estimación de parámetros plasmáticos**

Todas las medidas plasmáticas se llevaron a cabo en un autoanalizador de química húmeda Merck modelo Vitalab Selectra. La cantidad utilizada en cada determinación de plasma fue de 10-100  $\mu$ L y se realizó mediante un sistema de reacciones enzimáticas acopladas, que permitió determinar su actividad espectrofotométricamente mediante la disminución o aumento de la absorbancia en un tiempo predeterminado, producida por el consumo o desaparición de un agente cromógeno.

### **3.2.5. Determinación de poliaminas**

La determinación de poliaminas en plasma y extractos de corazón y músculos de ratas sometidos a diferentes tratamientos, se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) previa derivatización de los extractos con el agente fluorescente cloruro de dansilo, tal y como han descrito Escribano y Merodio (1994).

### **3.2.6. Tratamiento estadístico de los datos y programas informáticos**

El análisis matemático de los datos obtenidos se ha llevado a cabo mediante el test estadístico *t de Student* para comparar grupos independientes, se tomó como grado de significación *P* (0,05, 0,01 y 0,001). Dichas comparaciones se realizaron con el programa informático Sigma Plot 2.0 (Jandel Corporation, 1994).

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Una de las aplicaciones más conocidas de los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos es su utilización como agentes reparticionales. Un agente reparticional es aquel compuesto capaz de alterar la composición tisular de un animal sin producir cambios significativos sobre su ganancia de peso (Bates y Pell, 1991). Generalmente estos agentes producen un incremento en la deposición de proteínas en la musculatura esquelética (Ricks y cols., 1984, Emery y cols., 1984; Maltin y cols., 1987a; 1989), acompañada de un aumento de la lipólisis, lo que conduce a un enmagrecimiento del músculo que en el caso de animales de ceba (Sainz y Wolff, 1988; Yang y McElligott, 1989), es más atractivo para su venta posterior. Este hecho ha servido para que muchos de estos fármacos sean utilizados de forma fraudulenta como anabolizantes en animales de ceba, en los que un tratamiento sistemático continuado sirve para obtener ganancias que sobrepasan el 20-30% respecto a las obtenidas con animales sin tratar. Sin embargo este mal uso de los agonistas beta adrenérgicos se ha extendido a otros campos en los que existen aparte de los intereses económicos, otros de carácter más

diverso, como es el de la alta competición deportiva (Manso, 1992; Meanan y Barturen, 1995). Estos efectos que antes hemos descrito en animales pueden ser igualmente experimentados en la especie humana, predisponiendo favorablemente al deportista de élite sobre sus oponentes en las situaciones en las que resistencia física es crítica.

Aunque los efectos ergogénicos de los agentes  $\beta$ -adrenérgicos son conocidos de una manera empírica desde hace cierto tiempo, los mecanismos intrínsecos de acción de los mismos son hasta el momento desconocidos.

Iniciamos pues la exposición y discusión de los resultados obtenidos en este trabajo donde se muestran los efectos provocados por el agonista  $\beta_2$  adrenérgico salbutamol y el ejercicio físico, empezando por el crecimiento corporal de los animales, tratando mas tarde, los efectos provocados a nivel muscular y de tejido adiposo, con la repercusión directa de dichas modificaciones en los parámetros plasmáticos, pasando finalmente a exponer lo ocurrido con el contenido poliamínico tanto en tejidos musculares esqueléticos como cardíacos, así como en plasma.

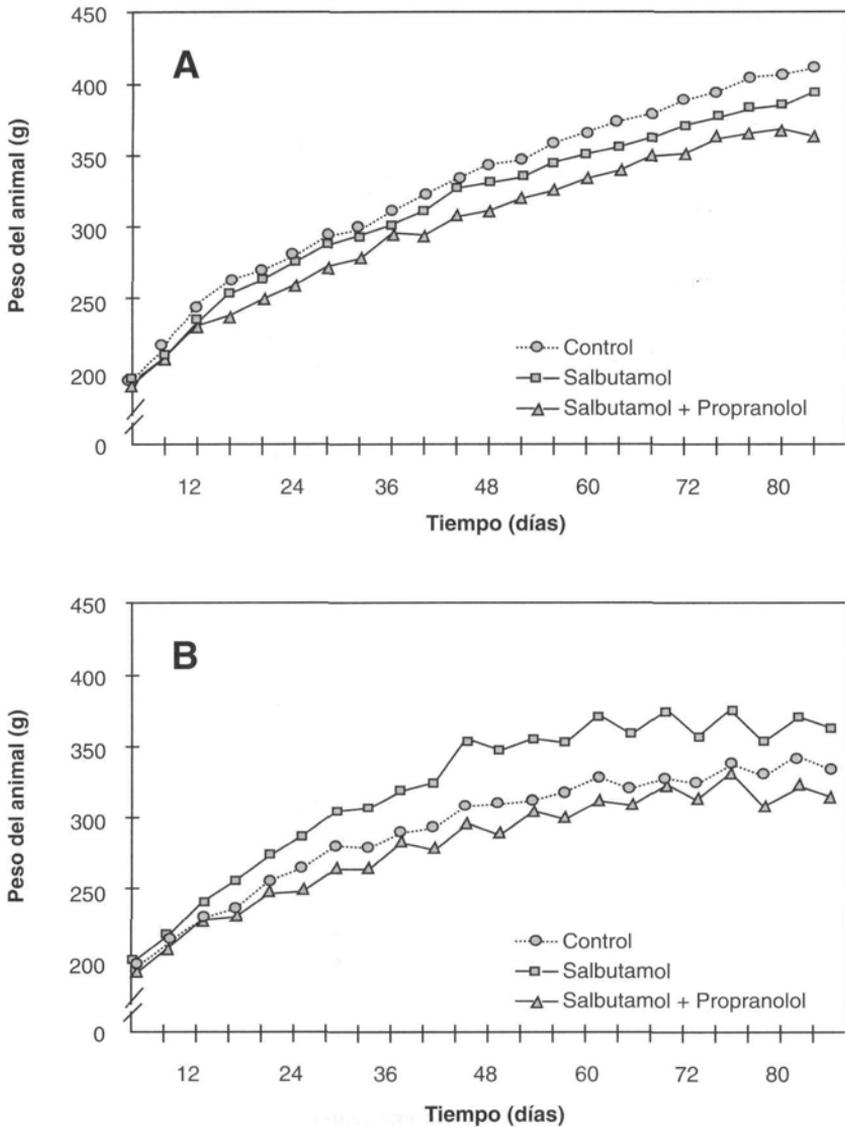
#### **4.1. Efectos sobre la ganancia de peso corporal**

Las curvas de ganancia de peso obtenidas durante la administración subcrónica de salbutamol, reflejan cambios profundos en la musculatura estriada esquelética y cardíaca, sin apenas cambios en el peso de los animales. Dichas alteraciones fueron debidas a una estimulación adrenérgica y dependieron de la dosis de fármaco administrado.

Las curvas de ganancia de peso obtenidas tras la administración continuada de salbutamol a las dosis terapéutica (Figura 9) y dopante (Figura 10), reflejan un comportamiento contradictorio. En el primer caso se encontró una ganancia de peso inferior a la de los grupos control, que recuerda a la anteriormente descrita por Carter y cols. (1991), en ratas sometidas a una administración continuada con clenbuterol durante 22 días, y por Cubría (1995) en ratones. Otros autores (Lau y cols., 1995) sugieren que la pérdida de peso provocada por los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos puede ser debida a su efecto lipolítico (Leung y cols., 1987; Paulin y cols., 1991). Dicho efecto, que será discutido más adelante, parece concordar con los resultados obtenidos por Nisoli y cols. (1995), en ratas obesas de la línea Zucker en las que la pérdida de peso originada por los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos parece estar relacionada con una mayor densidad de receptores beta en el tejido adiposo (Portillo y cols., 1996).

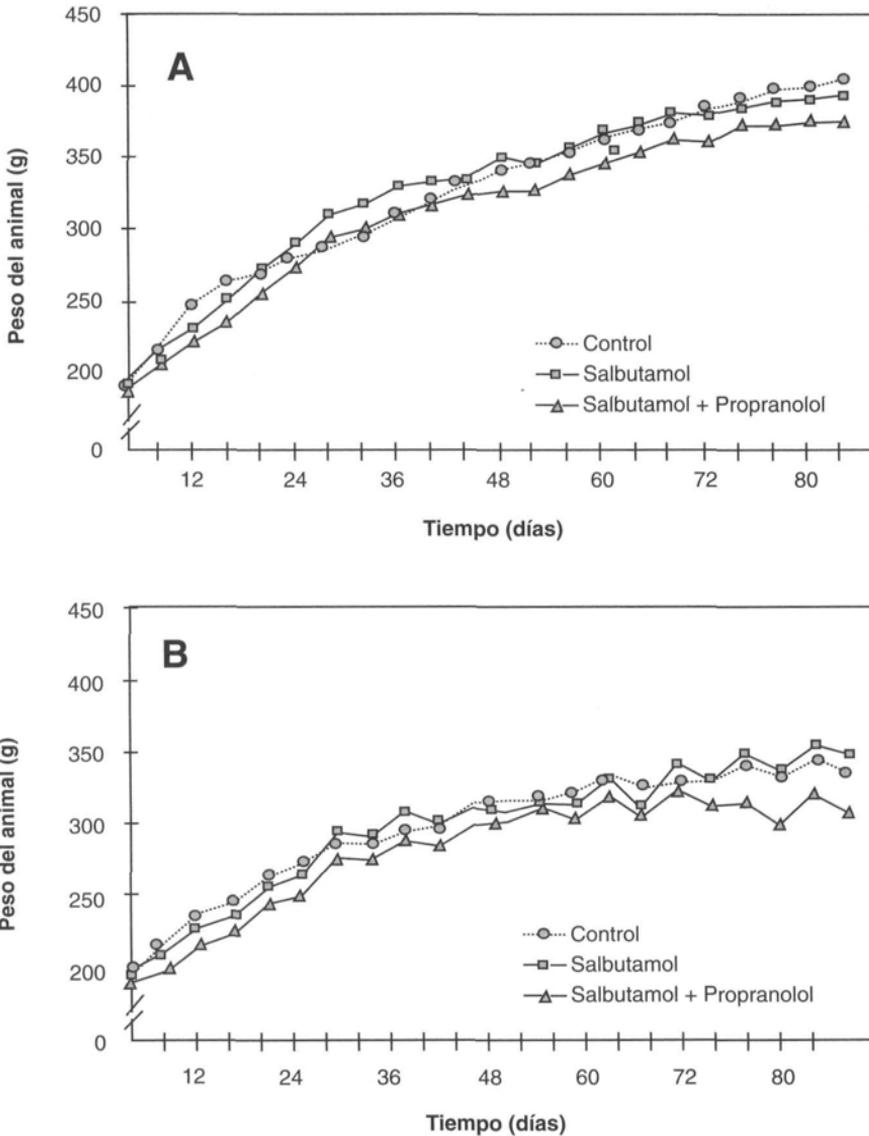
La evolución temporal del peso de los animales sometidos al programa de entrenamiento aeróbico (Gráficas 9.B y 10.B), muestra una reducción significativa de dicho parámetro que se cuantificó en una media de 80 g al final del periodo experimental respecto de los controles sedentarios. La sensibilidad de dicha medida fue tal que pudieron encontrarse variaciones significativas dentro del microciclo semanal en forma de dientes de sierra, coincidiendo los valores máximos con los días de descanso de los animales.

Por el contrario no pudo observarse una disminución tan significativa de peso en los grupos de ratas sometidas al tratamiento combinado consistente en la administración de la pauta farmacológica y el entrenamiento físico ( $P < 0.01$ ), tanto a las que se había administrado



**Figura 9.** Evolución temporal de la ganancia del peso corporal de ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado de reposo (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto representa la media de 6/8 animales con una variación menor del 10%.

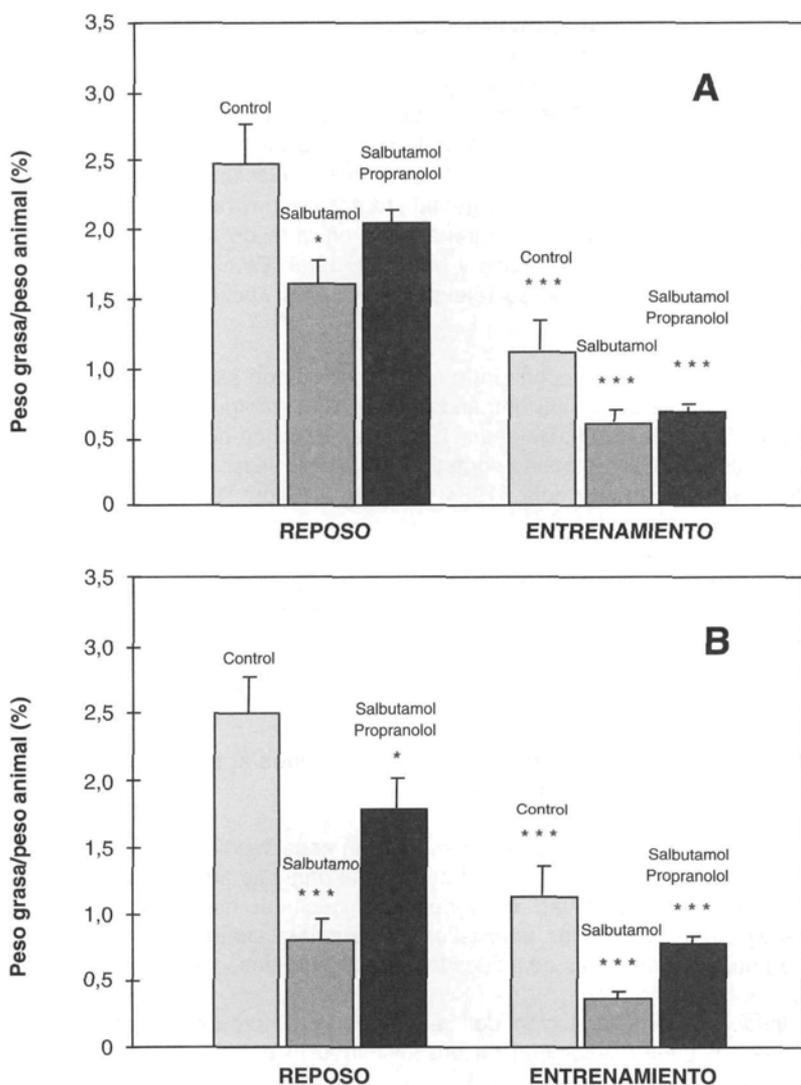
salbutamol a dosis terapéuticas como a aquellas a las que se le administró a dosis dopantes. En ambos casos el perfil de las curvas ponderales aparecieron por encima de los controles tratados con solución salina ( $P < 0.001$ ), hecho que parece corroborar la última de las teorías ya que en los animales entrenados la lipólisis sería muy elevada tanto en presencia como en ausencia de salbutamol, y sin embargo la deposición de proteínas en la musculatura esquelética sería mucho mayor en los segundos que en los primeros.



**Figura 10.** Evolución temporal de la ganancia del peso corporal de ratas tratadas con salbutamol a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado de reposo  $\bar{n}$ (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto representa la media de 6/8 animales con una variación menor del 10%.

#### 4.2. Efectos sobre el tejido adiposo suprarrenal

La relación entre el peso de grasa y el peso del animal, se estimó midiendo el peso del pániculo adiposo suprarrenal al final del experimento, se representan gráficamente con las diferencias significativas siempre referidas a la pauta de entrenamiento o reposo control de



**Figura 11.** Representación de la relación peso grasa suprarrenal/peso del animal en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) (A) como a dosis dopantes (3 mg/kg) (B), tanto en estado sedentario como sometidos a un régimen de entrenamiento aeróbico. Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0,05$ , \*\* $P \leq 0,01$  y \*\*\* $P \leq 0,001$ .

cada grupo, y se representa en la Figura 11. Se observa que el salbutamol se comportó como un potente reductor de la grasa suprarrenal a cualquiera de las dosis, aunque su efecto resultó más drástico en los animales tratados con la dosis dopante (Gráfica 11.B). También el entrenamiento produjo por sí solo un efecto lipolítico que se valoró en un 60% con respecto a los animales sedentarios. El efecto sólo fue parcialmente prevenido por el propranolol.

Después de tres meses de exposición continuada a salbutamol, la disminución del panículo adiposo se pudo estimar en más del 300 % para la dosis dopante y en un 50 % para la dosis terapéutica. Este efecto había sido ya estudiado con el clenbuterol en cerdos (Hu y cols., 1988) y en corderos (McRae y cols., 1988; Symonds y cols., 1990; Watt y cols., 1991) y con el salbutamol en ratas (Leung y cols., 1987). De la misma manera que Emery y cols. (1984) y Maltin y cols. (1987), pudimos observar una reducción de la grasa intramuscular cuando procedimos a la separación del gemelo (datos no mostrados). La presencia de subpoblaciones  $\beta_2$  y  $\beta_3$  de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en el tejido adiposo ha sido puesta de manifiesto por diferentes autores (Yang y McElliott, 1989; Emorine y cols., 1994; Portillo y cols., 1996) que han demostrado su relevancia en ratas Zucker con obesidad congénita (Nisoli y cols., 1995).

Por su parte, el ejercicio físico continuado está asociado con alteraciones metabólicas que conducen a un incremento de las demandas energéticas corporales (Virus, 1984; Haskell, 1986; Megías y Saborido, 1989; Delgado, 1992). La reducción del panículo adiposo es más de un 75% en el grupo de animales sometido a ejercicio físico continuado (Infante, 1981; Tran y cols., 1983; Mondon y cols., 1984; Golberg y Elliot, 1987; Haskell y cols., 1988; Wood y Stefanick, 1990).

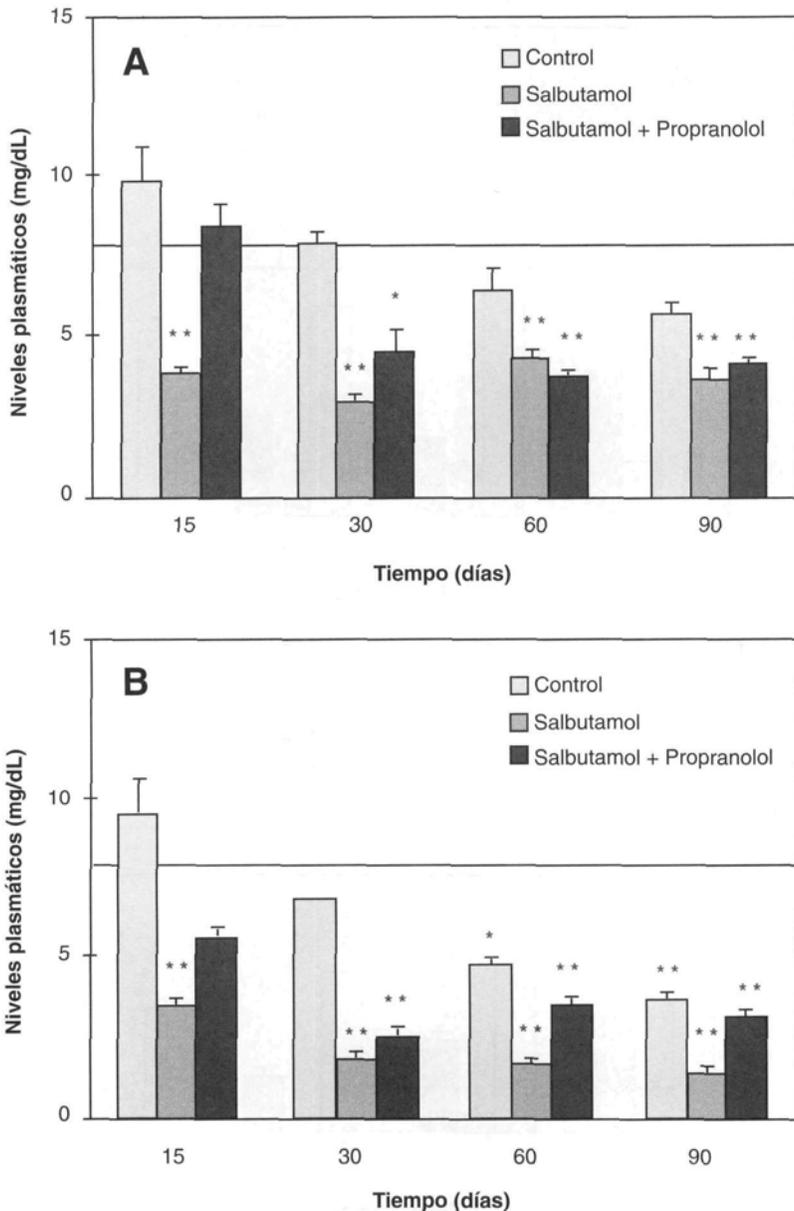
La combinación de ambas estructuras lipolíticas, ejercicio físico y salbutamol, originó reducciones espectaculares del panículo adiposo (Ivy y cols., 1986; 1989; Lupien y cols., 1990; Torgan y cols., 1992; 1993). Este efecto sinérgico sólo fue prevenido en parte por el propranolol y no supuso ninguna alteración en la condición física de los animales.

#### **4.3. Efectos sobre los parámetros plasmáticos relativos al tejido graso: Lípidos totales, Triglicéridos, Colesterol y Glucosa**

Con la idea de corroborar los efectos reductores tan espectaculares que tanto el beta agonista como el ejercicio físico habían provocado en el panículo adiposo suprarrenal, y conocido el hecho de que éstos llevan asociados modificaciones metabólicas que conducen a un incremento de las demandas energéticas corporales, analizamos el perfil plasmático existentes en nuestros animales de lípidos totales, triglicéridos, colesterol y glucosa.

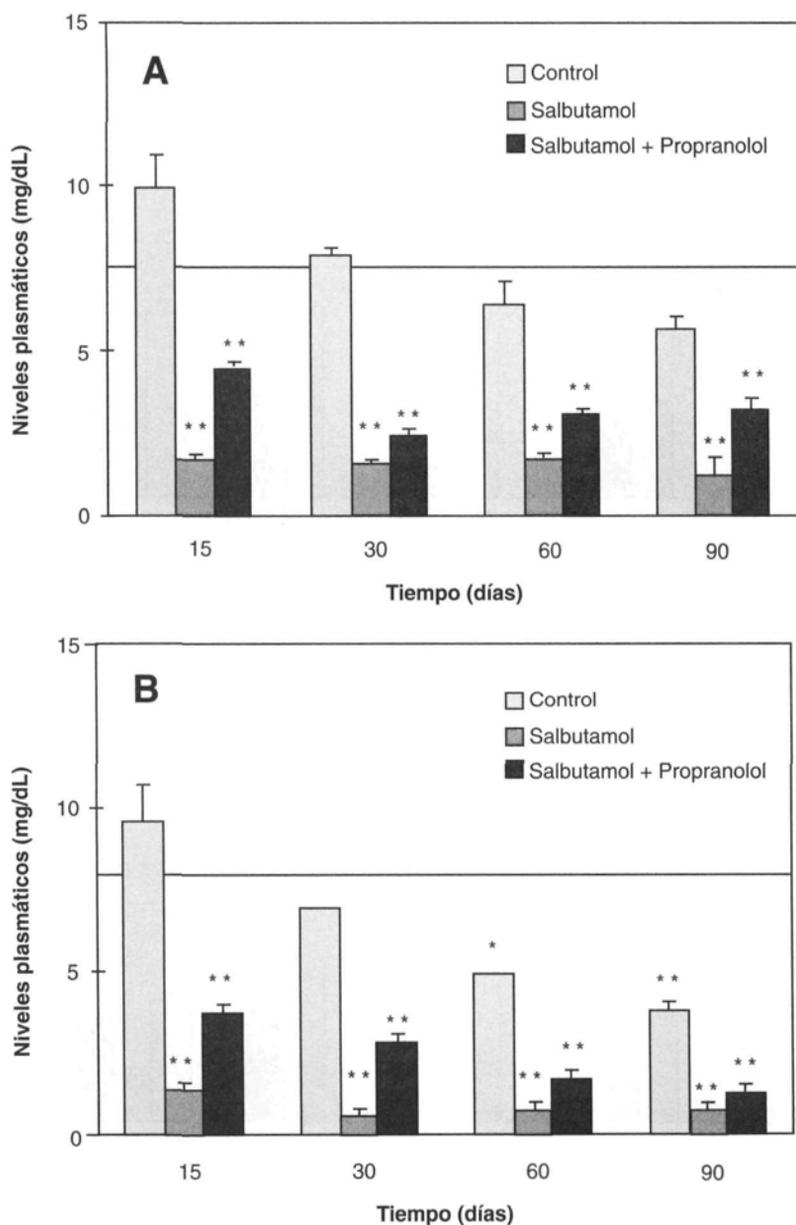
Sobre los lípidos totales, la acción del beta agonista (representado en las gráficas de las Figuras 12/13) puede resumirse en una disminución drástica de sus niveles plasmáticos siempre en relación directa con la dosis administrada, es decir mucho más evidente a la dosis dopante, dicha reducción fue aún mayor a medida que se avanzaba en el tiempo, coincidiendo el final del experimento con los valores mínimos de dicha enzima. La administración del antagonista no logró revertir en ningún grupo experimental los efectos provocados.

La evolución de los niveles plasmáticos de triglicéridos corrió paralela a la de lípidos totales expuesta anteriormente. La administración de salbutamol produjo una disminución de los triglicéridos plasmáticos, tanto a dosis terapéuticas como a dosis dopantes. La disminución fue tiempo y dosis dependiente, y en los animales sometidos al protocolo de ejercicio no hubo diferencias significativas entre los animales de reposo y los entrenados (Figuras 14 y 15).



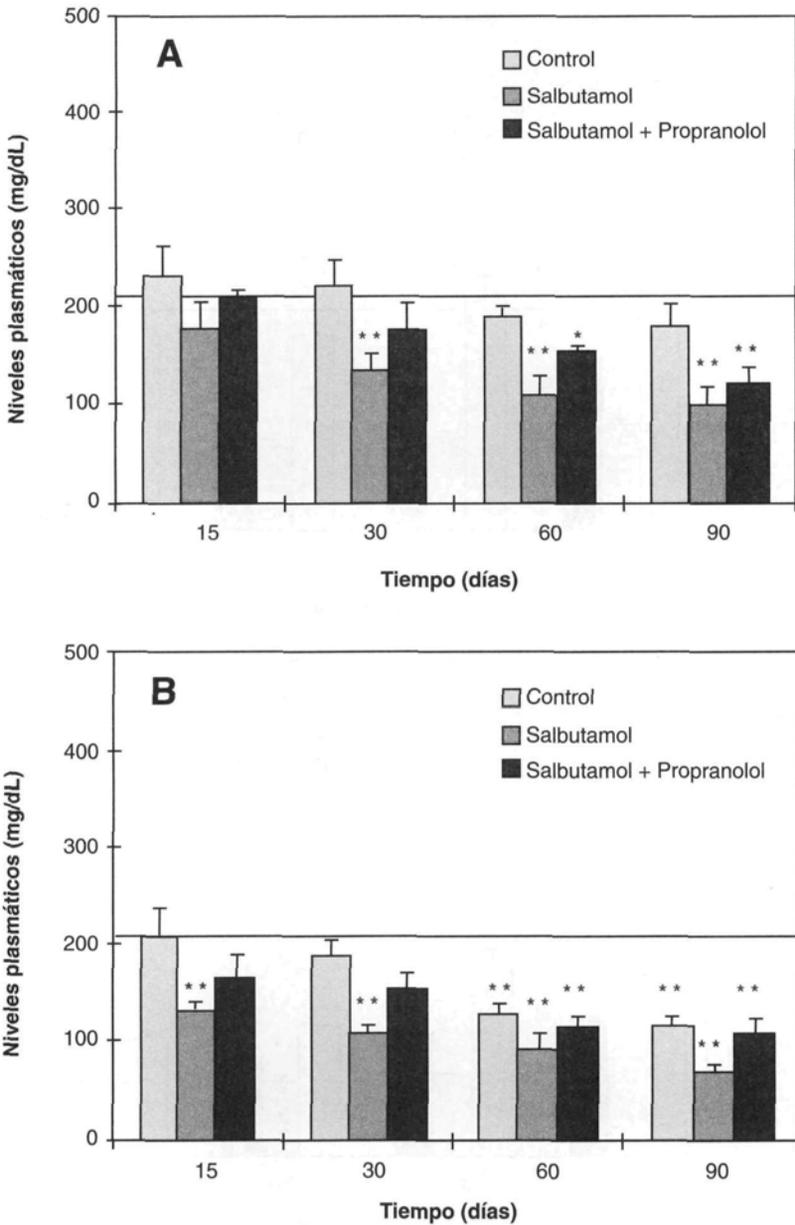
**Figura 12.** Representación de los niveles de lípidos totales en plasma en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado sedentario (A) o sometidos a un régimen de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

La mayoría de autores, entre ellos Nisoli y cols. (1995), y coincidiendo con nuestros resultados comprobaron recientemente con el salbutamol y otros agonistas  $\beta$ -adrenérgicos, la



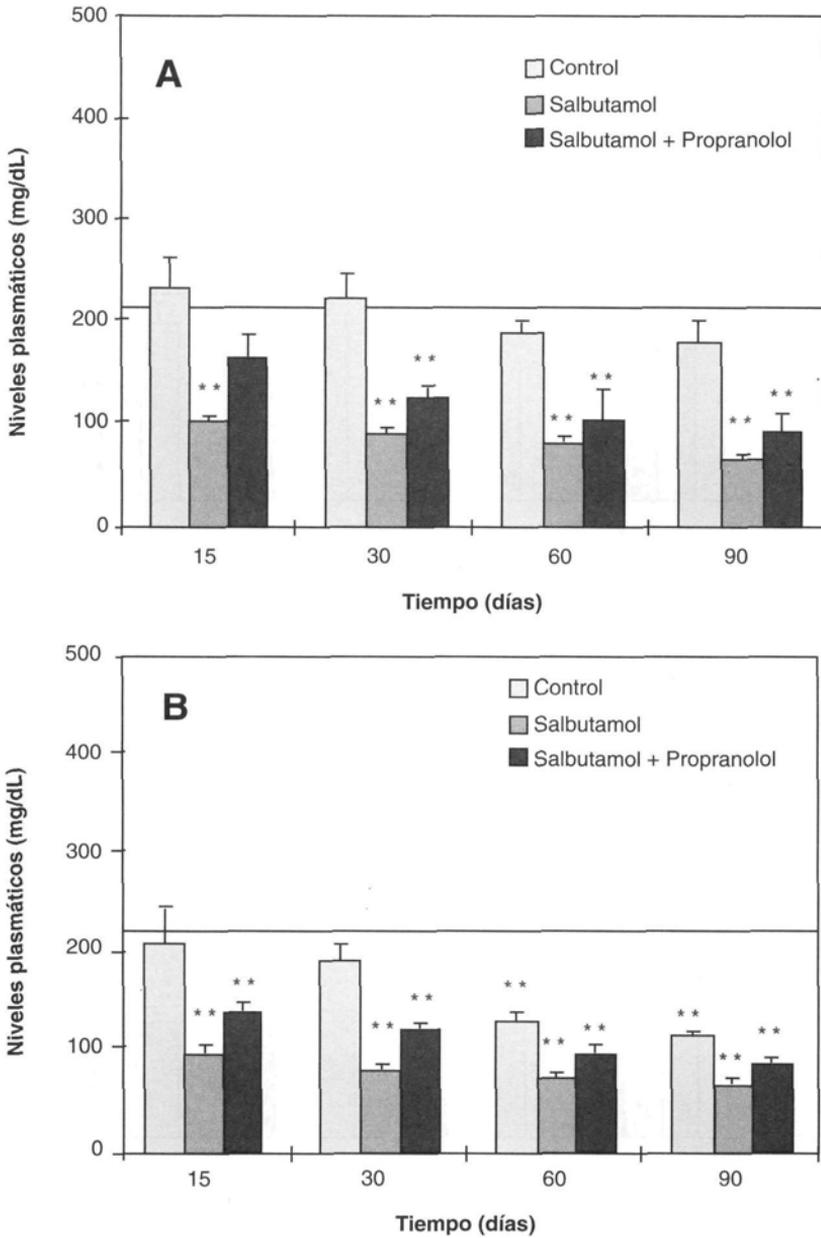
**Figura 13.** Representación de los niveles de lípidos totales en plasma en ratas tratadas con salbutamol a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario (A) o sometidos a un régimen de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

caída drástica de ambos parámetros que se encontró a partir de la primera quincena del tratamiento con el agonista  $\beta$ -adrenérgico.



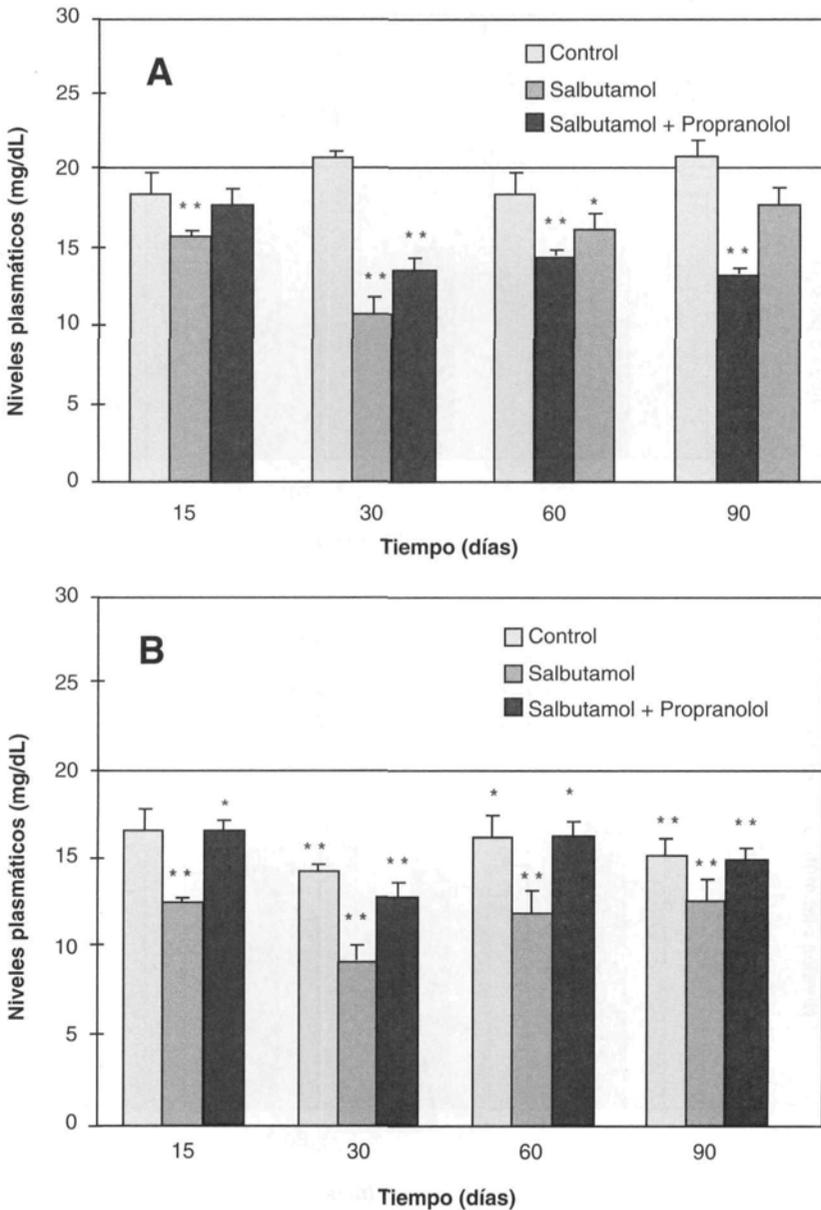
**Figura 14.** Representación de los niveles de triglicéridos en plasma en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado sedentario (A) o sometidas a un régimen de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

Como se puede observar en las gráficas de la Figuras 16 y 17, la reducción de la colesterolemia por el beta agonista en rata, fue mucho menos significativa, e independiente de la



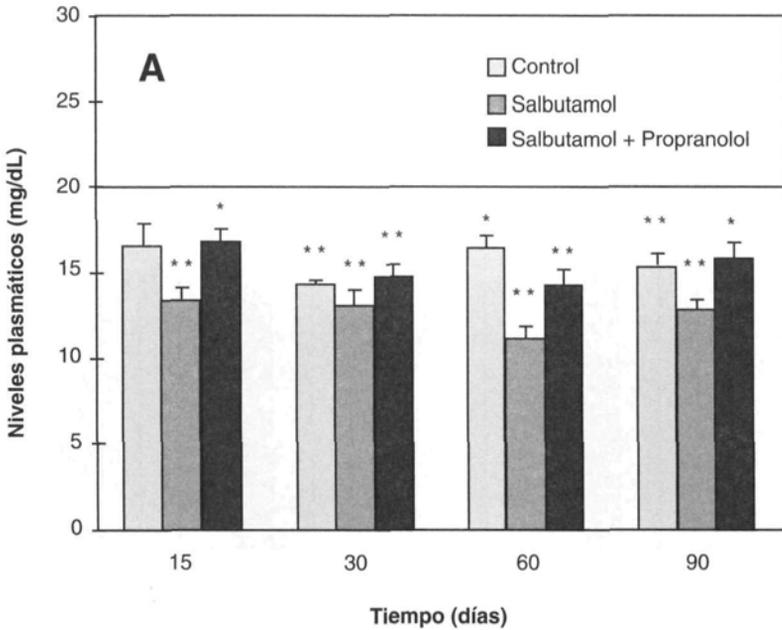
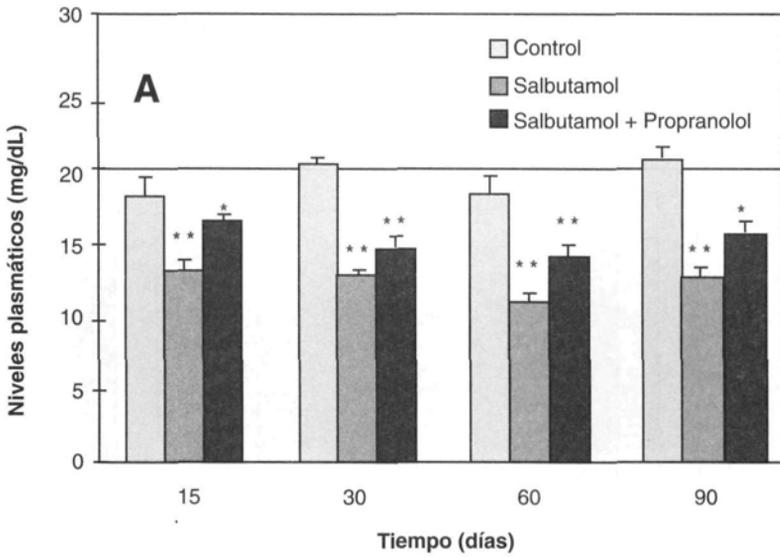
**Figura 15.** Representación de los niveles de triglicéridos en plasma en ratas tratadas con salbutamol a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario (A) o sometidos a un régimen de ejercicio entrenamiento (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

dosis administrada. El entrenamiento produjo un discreto efecto, que sólo resultó significativo, al final del periodo experimental.



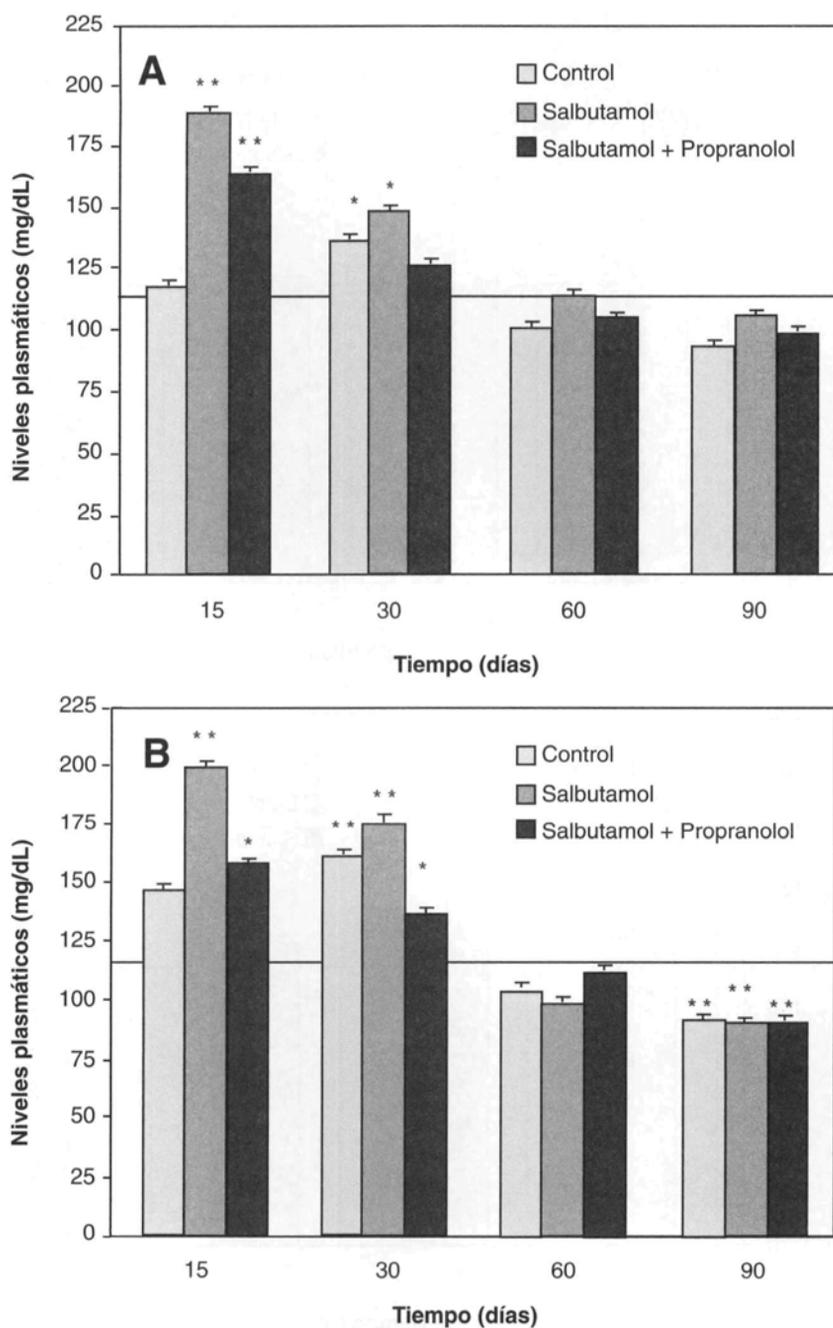
**Figura 16.** Representación de los niveles de colesterol en plasma en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado sedentario (A) o sometidos a un régimen de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

La evolución del perfil de la glucosa plasmática después de la administración de salbutamol, está asociada a una hiperglucemia temprana relacionada con la primera quincena del desarrollo experimental y con una disminución en fechas sucesivas a valores semejantes a

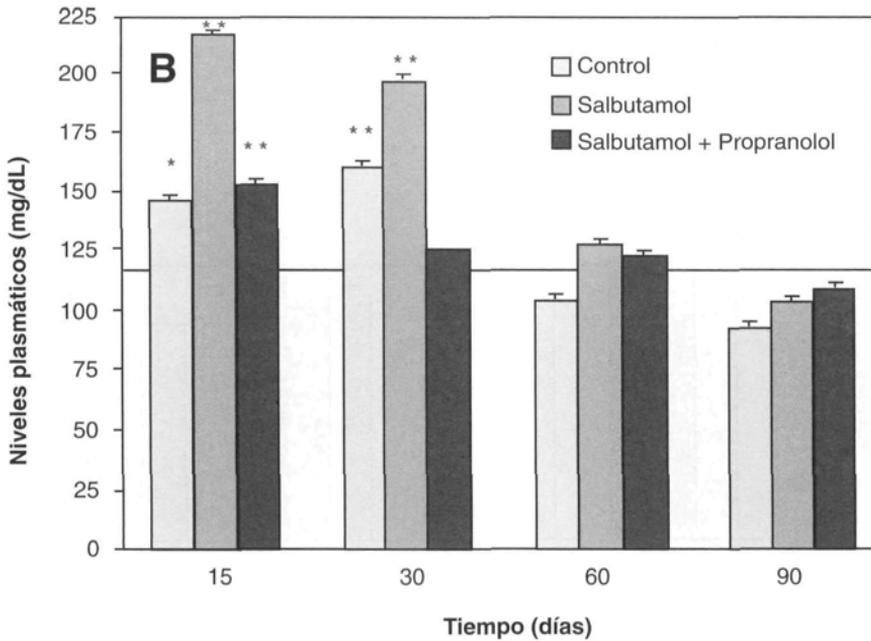
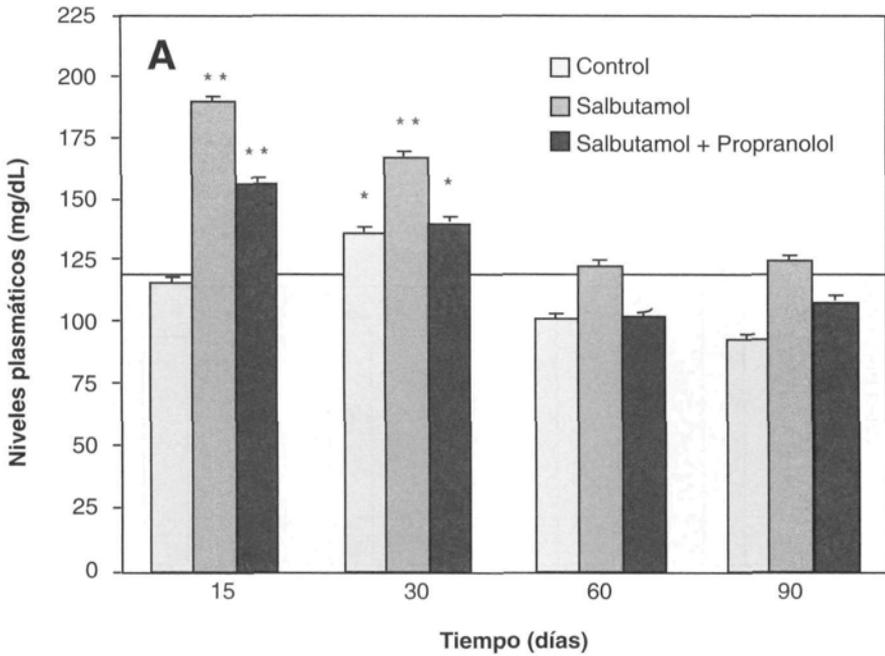


**Figura 17.** Representación de los niveles plasmáticos de Colesterol en ratas tratadas a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario (A) o sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

los controles. El ejercicio físico, no supuso apenas variaciones de la glucemia con respecto a los animales sedentarios, tan solo al inicio del experimento (Figuras 18 y 19).



**Figura 18.** Representación de los niveles plasmáticos de glucosa en ratas tratadas a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado sedentario (A) o sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .



**Figura 19.** Representación de los niveles plasmáticos de glucosa en ratas tratadas a dosis terapéuticas (3 mg/kg) tanto en estado sedentario (A) o sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

Dal Palu y Semplicini (1995), comprobaron en pacientes afectados con hipertensión, que la administración de fármacos con actividad  $\beta_2$ -adrenérgica, no sólo producía un efecto beneficioso sobre la tensión arterial, sino que disminuía igualmente los niveles plasmáticos de lípidos totales, triglicéridos y colesterol, sobre todo en la forma de HDL. Muy recientemente, los estudios realizados "in vitro" con adipocitos de rata, parecen demostrar la capacidad antiolesterolémica del salbutamol, ya que la adición a los cultivos de este fármaco, producía la reducción drástica de colesterol (Lau y cols., 1995), Marnieni (1982), no pudo demostrar cambios significativos de la colesterolemia en animales sometidos a ejercicio físico continuado. El proceso hiperglucemiante ha sido descrito por diversos autores (De la Torre y cols., 1995; Dawson y cols., 1995) en pacientes asmáticos que mostraban un cuadro semejante tras el tratamiento con fármacos  $\beta$ -adrenérgicos.

#### **4.4. Efectos sobre la masa muscular estriada**

##### **4.4.1. Efectos sobre la masa muscular esquelética**

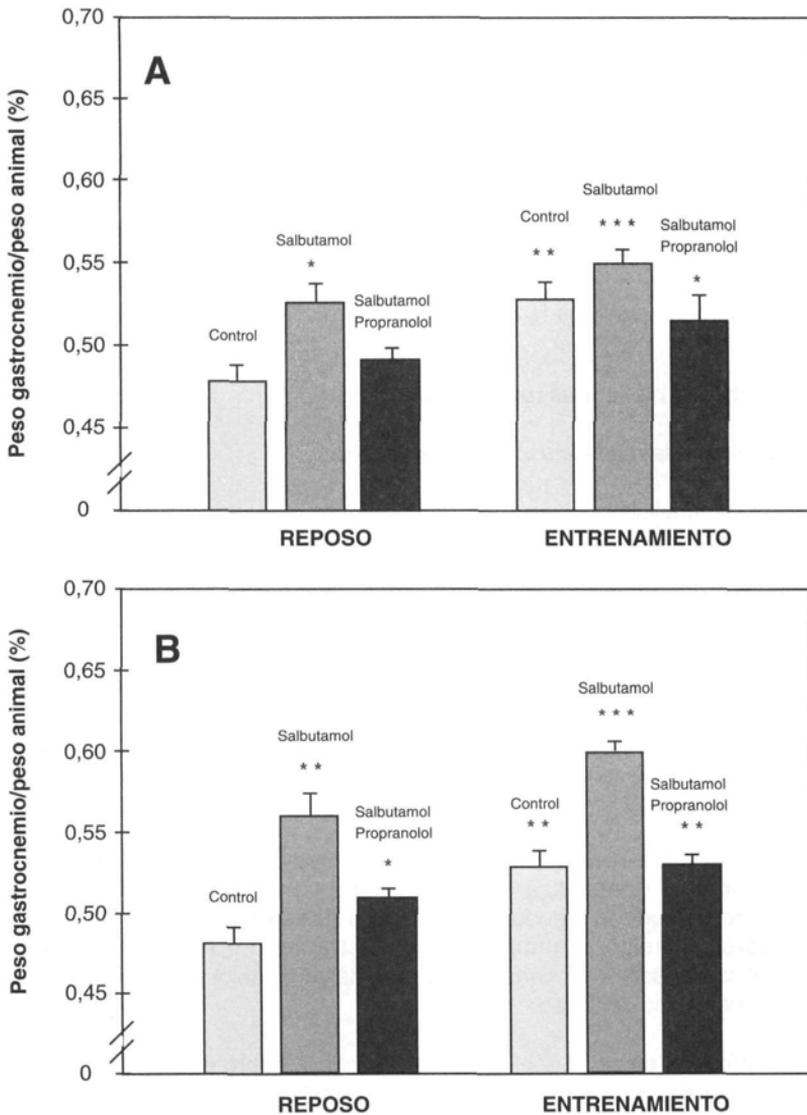
Empezamos por el análisis ponderal de la musculatura estriada esquelética de los grupos experimentales, realizada tras la extracción de los músculos del paquete del gemelo.

La Figura 20 muestra la relación entre el peso del gastrocnemio y el peso de los animales en cada uno de los grupos experimentales. Tanto los animales tratados con dosis terapéuticas como con dosis dopantes de salbutamol en animales sedentarios, vieron incrementada significativamente dicha relación con respecto a sus correspondientes controles, fenómeno que fue además dependiente de la dosis de fármaco administrada. El entrenamiento aeróbico también produjo por sí solo un incremento de dicha relación. La coadministración del antagonista  $\beta$ -adrenérgico propranolol, revirtió casi por completo el efecto del salbutamol a ambas dosis.

Similares efectos muestra el comportamiento del salbutamol sobre el músculo sóleo (Figura 21). La administración terapéutica de salbutamol en animales sedentarios produjo un aumento de dicho porcentaje, siendo dicho efecto a dosis dopantes aún más significativo, también el ejercicio físico continuado indujo un aumento relevante de la relación muscular/somática del sóleo. La coadministración de propranolol inhibió casi por completo el crecimiento hipertrofico del sóleo.

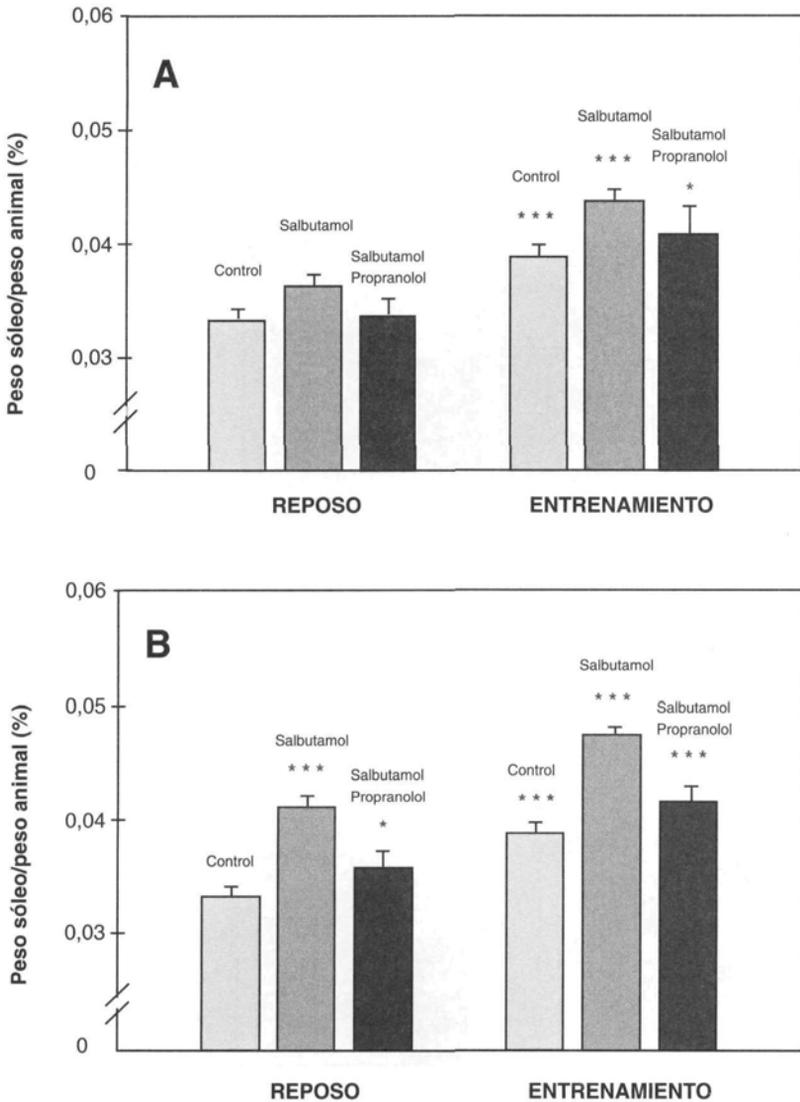
Cuando observamos el efecto que el salbutamol produjo, sobre el último músculo estudiado, el plantar, y que aparece representado en la Figura 22, comprobamos que se comportó de diferente manera tras la administración del salbutamol a ambas dosis, mientras que a dosis terapéuticas no provocó apenas efectos, fue un fuerte inductor de la hipertrofia a altas dosis, siendo además ésta musculatura la menos afectada por el sometimiento a ejercicio físico. La coadministración de propranolol a las dosis descritas, puso de manifiesto la implicación adrenérgica de la hipertrofia muscular originada por el salbutamol; este compuesto fue capaz de revertir los efectos producidos por el agonista.

En la Figura 23, se resumen los datos en forma de porcentajes de los 3 músculos anteriores, en la gráfica se toma el valor 0, como la línea base correspondiente a los valores de los control sedentarios. Se observa que de forma generalizada los músculos que fueron seleccionados en nuestro estudio aumentaron alrededor de un 10% con la dosis de salbu-



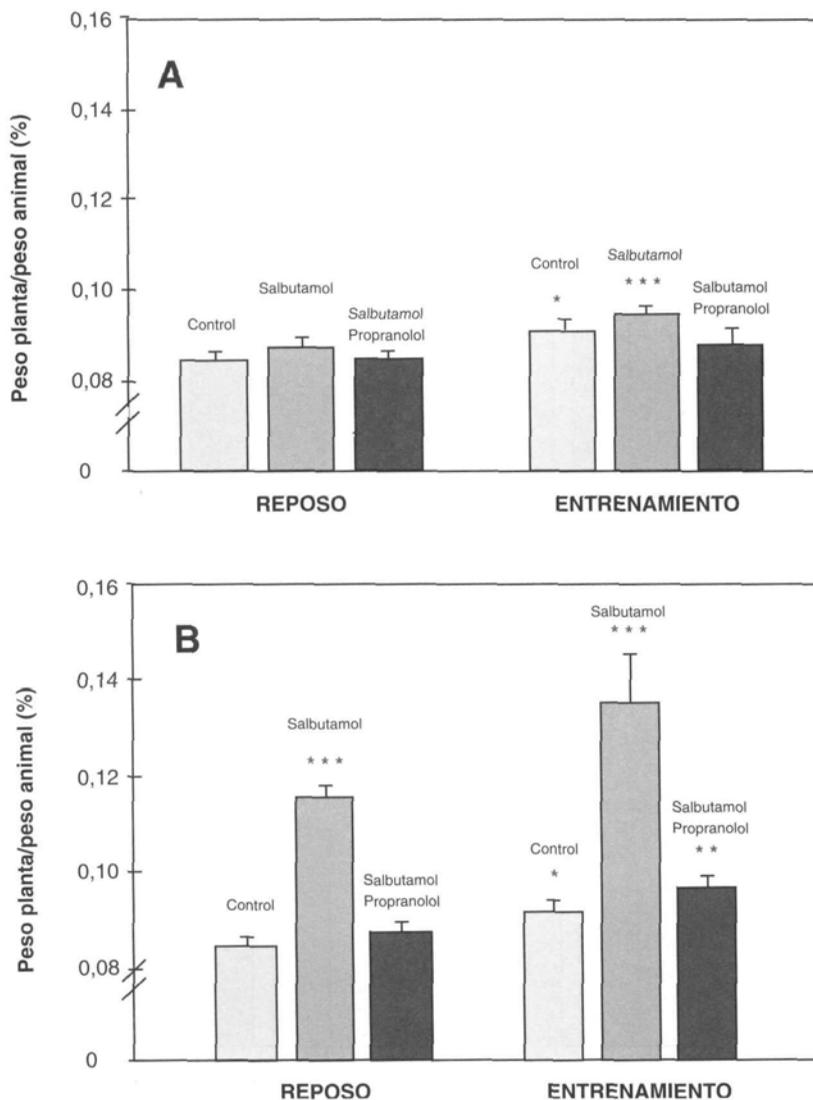
**Figura 20.** Representación del peso del músculo gastrocnemio/peso animal, tratados continuamente con salbutamol. (A) Dosis terapéuticas (16 µg/kg) y (B) dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentarios como sometidos a un entrenamiento de resistencia aeróbico. Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

ta- mol considerada terapéutica, y entre un 25 y un 55% con la dosis de salbutamol considerada dopante, resultando el plantar el más afectado por la acción propia del fármaco a altas dosis, el porcentaje del entrenamiento se valoró en un aumento de 9 al 16%, siendo el músculo más hipertrofiado el sóleo. Se pone de manifiesto el efecto subaditivo del salbutamol y el entrenamiento, en el músculo plantar y sóleo respectivamente.



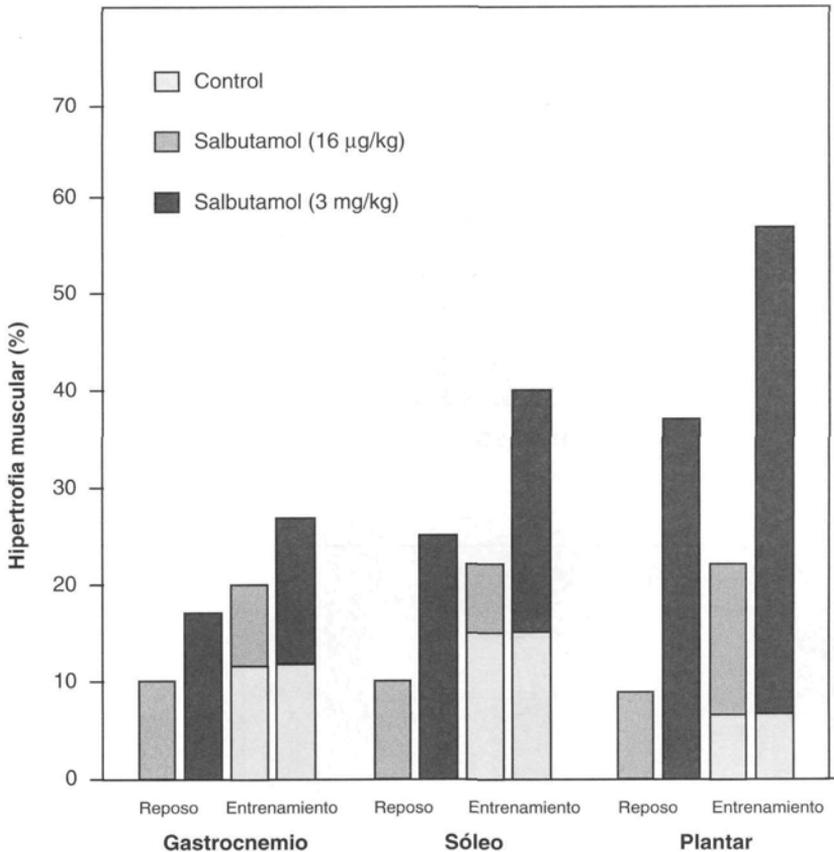
**Figura 21.** Representación del peso del músculo sóleo/peso animal, tratados continuadamente con salbutamol. (A) Dosis terapéuticas (16 µg/kg) y (B) dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentarios como sometidos a un entrenamiento de resistencia aeróbico. Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

A la vista de estos resultados, parece claro, que mientras que la respuesta al estímulo físico era mayor en los músculos de contracción lenta, la respuesta al estímulo químico se producía con mayor intensidad en los músculos de contracción mixta o predominantemente rápidos, debido a la dependencia de la diferenciación fibrilar o especialización muscular al tipo de entrenamiento (Essen, 1977; Snow y Guy, 1980; Szentkuti y Schlegel, 1985; Morales, 1990).



**Figura 22.** Representación del peso del músculo plantar/peso animal, tratados continuamente con salbutamol. (A) Dosis terapéuticas (16 µg/kg) y (B) dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentarios como sometidos a un entrenamiento de resistencia aeróbico. Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0,05$ , \*\* $P \leq 0,01$  y \*\*\* $P \leq 0,001$ .

Coincidiendo con nuestro estudio, Moore y cols.(1994) demostró que los efectos anabólicos debidos a la administración de agonistas  $\beta$ -adrenérgicos eran no sólo dependientes de la ruta y la dosis administrada, sino también que los músculos lentos (ST) eran más sensibles que los mixtos (RT). A la vista de estos resultados, parece claro, que mientras que la respuesta al estímulo físico era mayor en los músculos de contracción lenta, la respuesta al estímulo químico se producía con mayor intensidad en los músculos de contracción mixta o



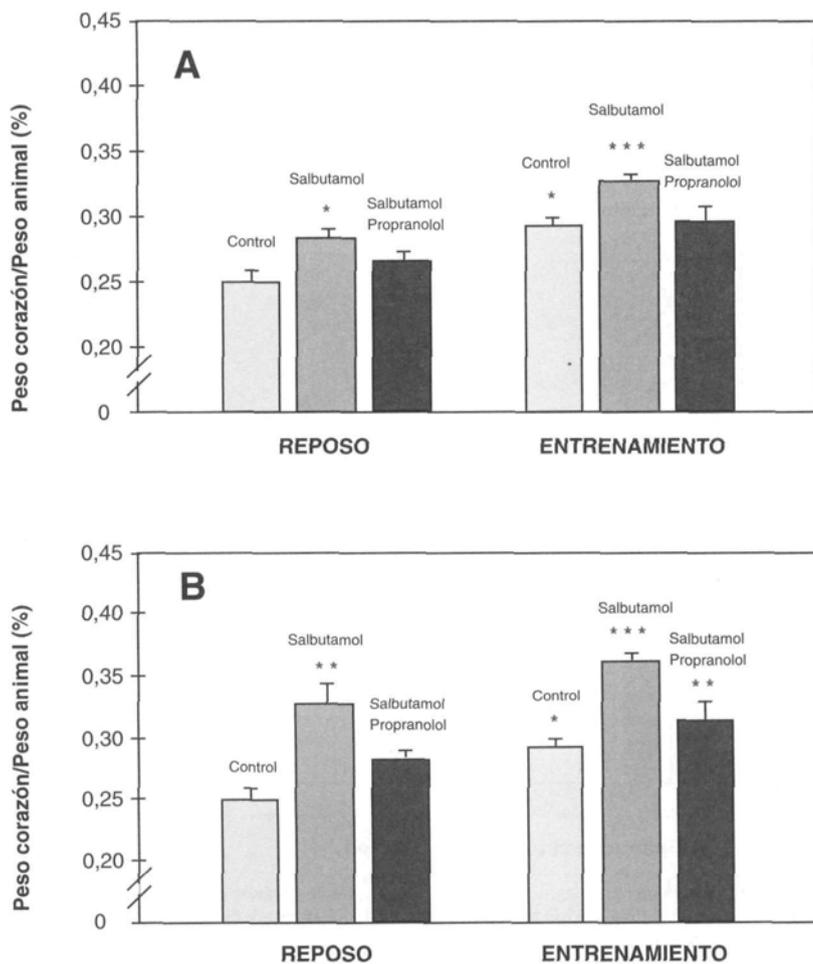
**Figura 23.** Representación porcentual del incremento de la musculatura esquelética, en animales tratados continuamente con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) y dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario como sometidos a un protocolo de entrenamiento aeróbico.

predominantemente rápidos, debido a la dependencia de la diferenciación fibrilar o especialización muscular al tipo de entrenamiento (Essen, 1977; Snow y Guy, 1980; Szentkuti y Schlegel, 1985; Morales, 1990).

Del Barrio (1995), ha demostrado recientemente, que el salbutamol produce un aumento de la musculatura esquelética (Emery y cols., 1984; Agbenyega y Wareham, 1991), a expensas del tejido graso en animales de producción cárnica. A nivel del cuádriceps, Martineau y cols. (1992) han comprobado que la inclusión en la dieta de salbutamol en voluntarios humanos produce un aumento significativo del tamaño de este músculo, que era dependiente de la dosis y de la duración del ensayo.

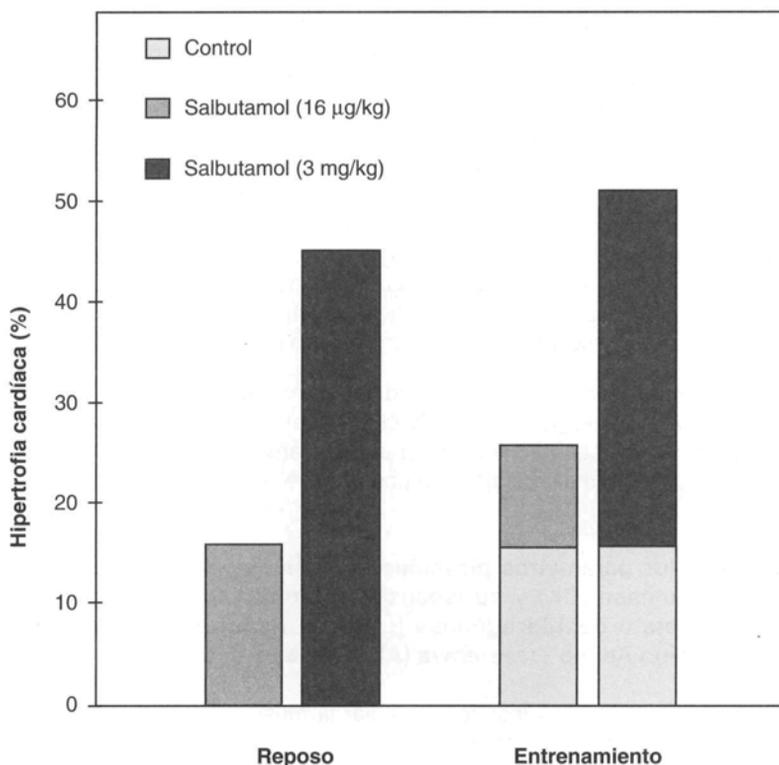
#### 4.4.2. Efectos sobre la musculatura cardíaca

Cuando analizamos la musculatura estriada cardíaca, apreciamos que el salbutamol produjo igualmente un aumento exacerbado del tamaño del corazón, de las fibras musculares



**Figura 24.** Representación del peso del corazón/peso animal, tratados continuamente con salbutamol. (A) Dosis terapéuticas (16 µg/kg) y (B) dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentarios como sometidos a un entrenamiento de resistencia aeróbico. Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

cardíacas y del número de núcleos presentes en el cardiomiocitos presentes, que fue dependiente de la dosis administrada de fármaco. La hipertrofia provocada por el beta agonista representada en la relación cardiosomática de la Figura 24, en la cual se observa un aumento muy elevado de dicha relación tanto a dosis terapéuticas como dopantes, produciéndose un mayor efecto para los animales tratados a altas dosis, También se incrementó dicha musculatura en los animales sometidos al protocolo de entrenamiento aeróbico. Esta hipertrofia cardíaca inducida por el ejercicio responde a una adaptación orgánica al entrenamiento necesaria para aumentar la capacidad contráctil del corazón (Rius, 1989; Rodríguez-Jerez, 1992). El aumento de la masa muscular cardíaca se produce en humanos después de tres semanas de entrenamiento aeróbico continuado (Morehouse, 1983; Bosa



**Figura 25.** Representación porcentual del incremento de la musculatura cardíaca, en animales tratados continuamente con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) y dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario como sometidos a un protocolo de entrenamiento aeróbico.

Ojeda, 1986; Hossack, 1987; Hanson, 1987; Buttrick, 1987; Martínez Caro, 1989 Rodríguez-Jeréz, 1992), y se manifiesta fundamentalmente un aumento de las cavidades ventriculares (Álvarez del Villar, 1983; Horan y Flowers, 1983; Oakely, 1987; De Vries, 1983, Buttrick, 1987; Douglas, 1989).

En la gráfica de la representación porcentual de los datos (Figura 25), se pueden ver de forma más clara las diferencias significativas en el peso del corazón, tanto a la dosis terapéutica de salbutamol, que oscila entre un 10 % en entrenamiento y un 16 % en reposo, como a dosis dopantes que resulta entre un incremento 30% para entrenamiento y un 45 % para sedentarios, siendo mayores los valores correspondientes a los animales en estado de reposo. el entrenamiento por sí solo, provocó un aumento bastante evidente del corazón, cuantificado en un 16%. Se vuelve a reproducir el efecto subaditivo del entrenamiento y el salbutamol, que ya habíamos visto en la musculatura esquelética.

El número de publicaciones que relacionan el  $\beta$ -agonista con sus efectos sobre la musculatura cardíaca es extensísimo, aunque la mayoría de las veces contradictorias (Reed y cols., 1988; McLennan y Edwards, 1989; Cubría, 1995; Cubría y cols., 1996). Diferentes autores parecen coincidir en que el efecto final producido por los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos, es un

aumento de la masa muscular cardíaca que se evidenció aún más como incremento de la relación cardiosomática y por el efecto preventivo del antagonista  $\beta$ -adrenérgico inespecífico propranolol. Sin embargo, a diferencia de Reeds y cols. (1988) y Cubría y cols. (1996) que utilizaron clenbuterol como agonista en sus experimentos, el propranolol inhibió casi por completo el aumento de peso de la masa muscular cardíaca inducida por salbutamol, siendo los valores ponderales estadísticamente semejantes a los encontrados en animales controles después de tres meses de desarrollo experimental. Aunque Libretto (1994), describe el efecto hipertrófico como un proceso inflamatorio asociado a necrosis y fibrosis de reposición como respuesta a una necrosis de las fibras musculares cardíacas, dicho efecto no pudo ser encontrado en nuestros experimentos, ni en los realizados con anterioridad por Cubría y cols. (1996), en los que el proceso hipertrófico estaba más relacionado con un engrosamiento de las fibras musculares que a un proceso inflamatorio.

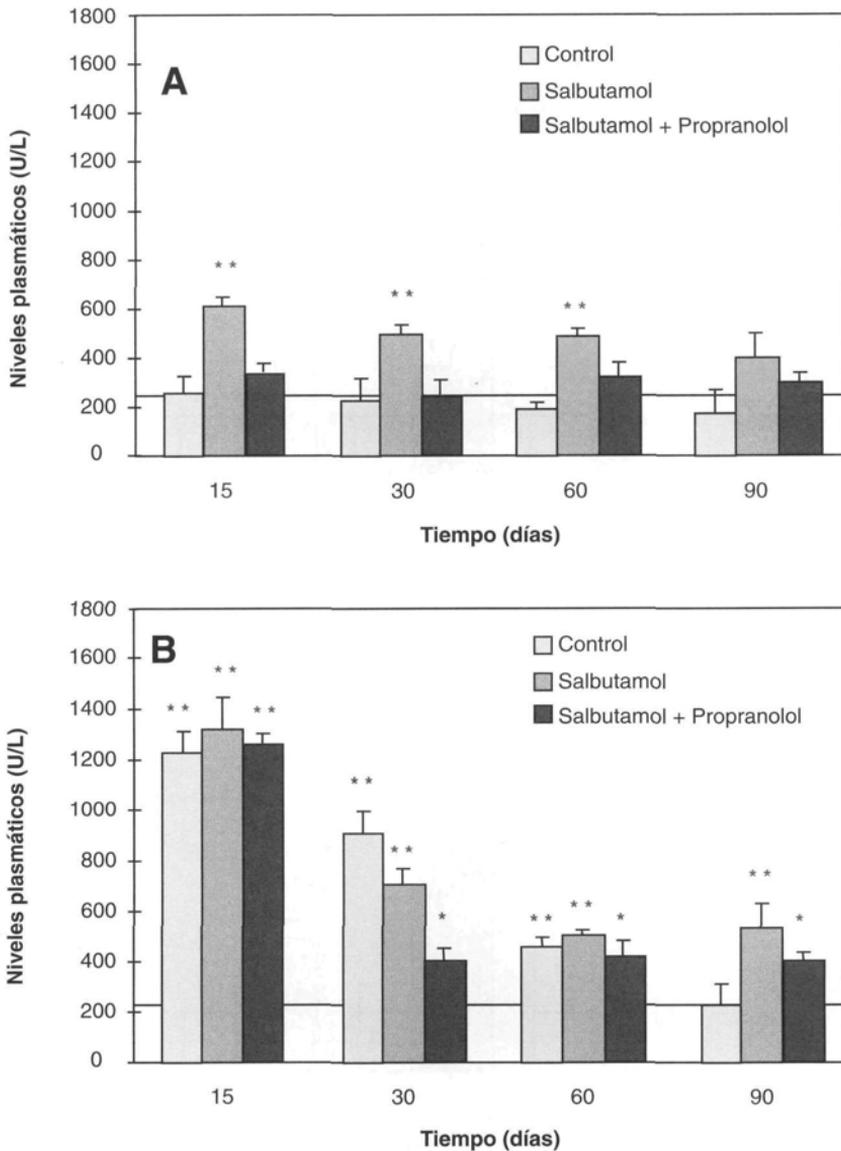
En todos los casos anteriores, la hipertrofia cardíaca fue claramente un fenómeno que respondió a estimulación adrenérgica, ya que la coadministración de propranolol, previno el incremento de peso del miocardio inducido por el salbutamol, tanto a las dosis estipuladas como terapéuticas como a las de dopaje (Asmunsen y Nielsen, 1985).

#### **4.5. Efectos sobre los parámetros plasmáticos relativos a la musculatura estriada: Creatín fosfoquinasa (CK) y su isoenzima cardíaca Creatín fosfoquinasa MB (CKMB), la Lactato deshidrogenasa (LDH), la Aspartato Amino Transferasa (ASAT), la Alanino Amino Transferasa (ALAT) y la Fosfatasa Alcalina (ALP)**

Antes las evidencias hipertróficas manifestadas por la musculatura estriada, valoramos la actividad de enzimas en plasma de todos los grupos animales, tomándolas como parámetros de las posibles modificaciones que pudiera provocar el agonista  $\beta$ -adrenérgico y el ejercicio físico en el tejido muscular. El control sanguíneo se realizó quincenalmente a los animales durante los tres meses de ensayo subcrónico. Así y dado que el salbutamol es un agente que modificó la morfología y el metabolismo muscular, buscamos la medida de la liberación al plasma de enzimas que se expresan mayoritariamente en dicho tejido como son la Creatín Fosfoquinasa y su isoenzima cardíaca Creatín Fosfoquinasa-MB, Lactato Deshidrogenasa, la Aspartato Amino Transferasa, la Alanino Amino Transferasa, la Fosfatasa Alcalina que son un parámetro de los efectos inducidos en el organismo.

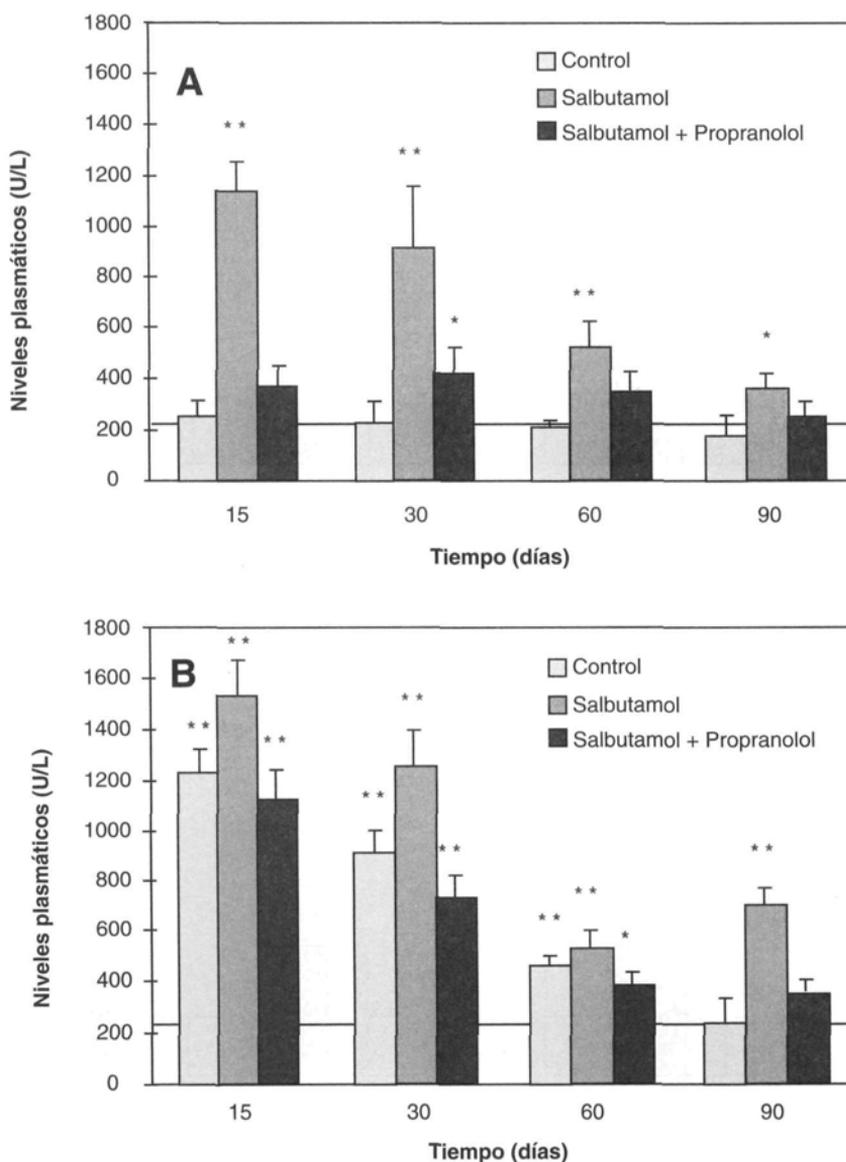
La primera de las enzimas es la Creatín Fosfoquinasa o CK, es una proteína soluble citoplasmática que se expresa en todo tipo de células musculares. La actividad de dichas proteínas en estados no patológicos está restringida únicamente al tejido muscular, siendo la actividad en el resto de los órganos, incluido el sanguíneo, muy baja. Por consiguiente, cuando la actividad de dicha enzima en plasma aumenta por encima de los niveles basales normales, dicho aumento es indicativo de modificaciones producidas en los miocitos, que han permitido excretar o liberar estas enzimas al torrente circulatorio.

Las gráficas de las Figuras 26 y 27, representan la evolución de la actividad enzimática CK, tomando la línea representada como referente de los niveles basales de los animales control. La administración de salbutamol produjo una dramática estimulación de la actividad plasmática que fue dependiente de la dosis. En animales sedentarios, la administración terapéutica de salbutamol produjo actividades plasmáticas de alrededor de 600 U/L, 15 días después de comenzado el tratamiento con el agonista  $\beta$ -adrenérgico, valor que prácti-



**Figura 26.** Representación de los niveles plasmáticos de la CK en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado sedentario (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0,05$ , \*\* $P \leq 0,01$  y \*\*\* $P \leq 0,001$ .

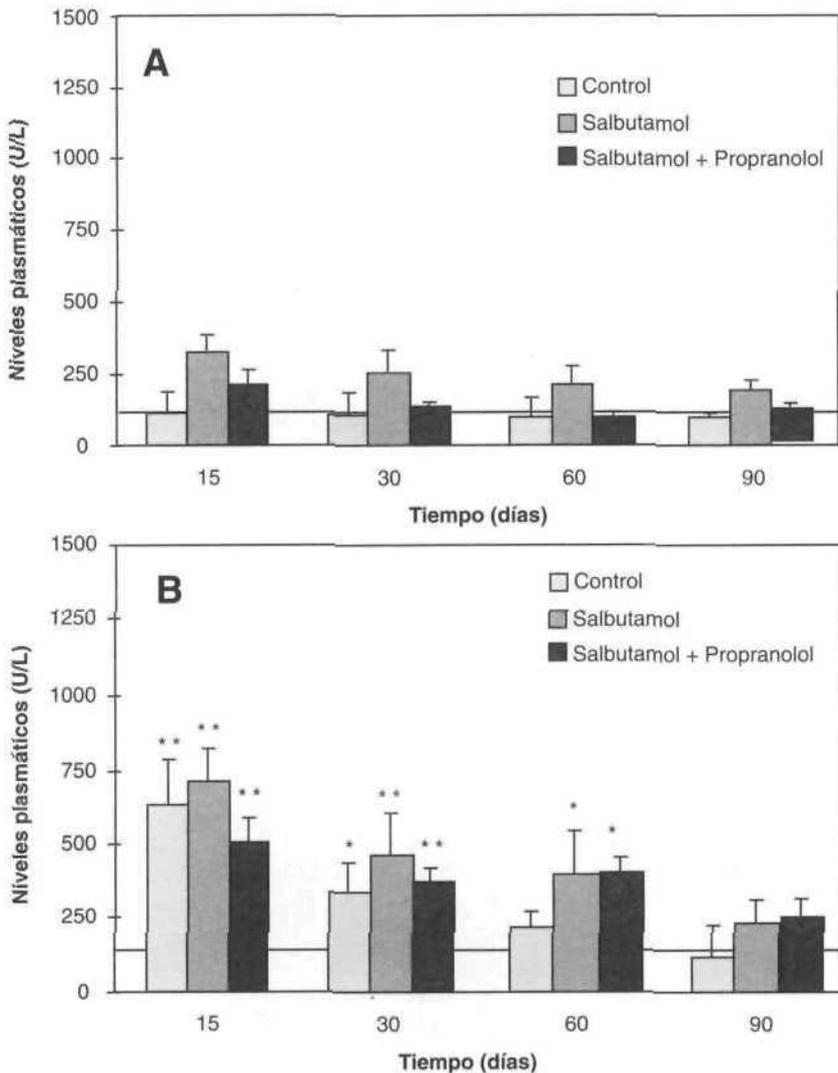
camente se duplicó cuando la dosis administrada a las ratas fue de 3 mg/kg. En ambos casos se observó una paulatina disminución de la actividad CK representando al final de los 90 días de experimento, unos niveles próximos a los controles. Se observó un incremento significativo ( $P \leq 0,001$ ) de los niveles enzimáticos producidos por el ejercicio físico estimados en más de 6 veces con respecto a los controles sedentarios.



**Figura 27.** Representación de los niveles plasmáticos de la CK en ratas tratadas con salbutamol a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

A diferencia de los expuesto en los animales sedentarios el propranolol no provocó una total reversión de los efectos del agonista.

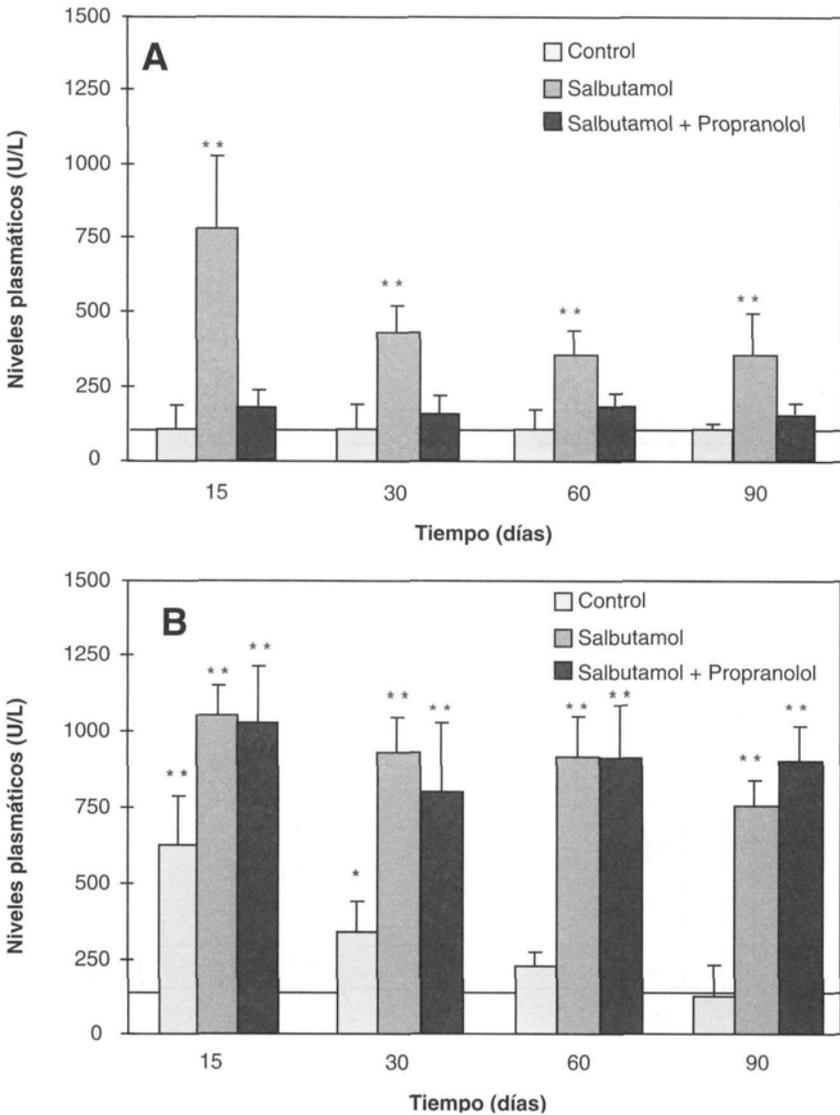
Continuando con la evolución plasmática de los niveles de la isoenzima cardíaca Creatín Fosfoquinasa-MB o CKMB (Figuras 28 y 29), durante el periodo de estudio, observamos



**Figura 28.** Representación de los niveles plasmáticos de la CKMB en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado sedentario (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

que el efecto sobre dicha enzima dependió de la dosis administrada y del ejercicio físico al que fueron sometidos los animales durante el estudio. Los animales sedentarios exhibieron aumentos muy significativos de la actividad plasmática CKMB tanto a dosis terapéuticas, con un incremento del 300%, como a dosis dopantes de salbutamol con un incremento del 700%, encontrados a los 15 días del comienzo de la pauta farmacológica.

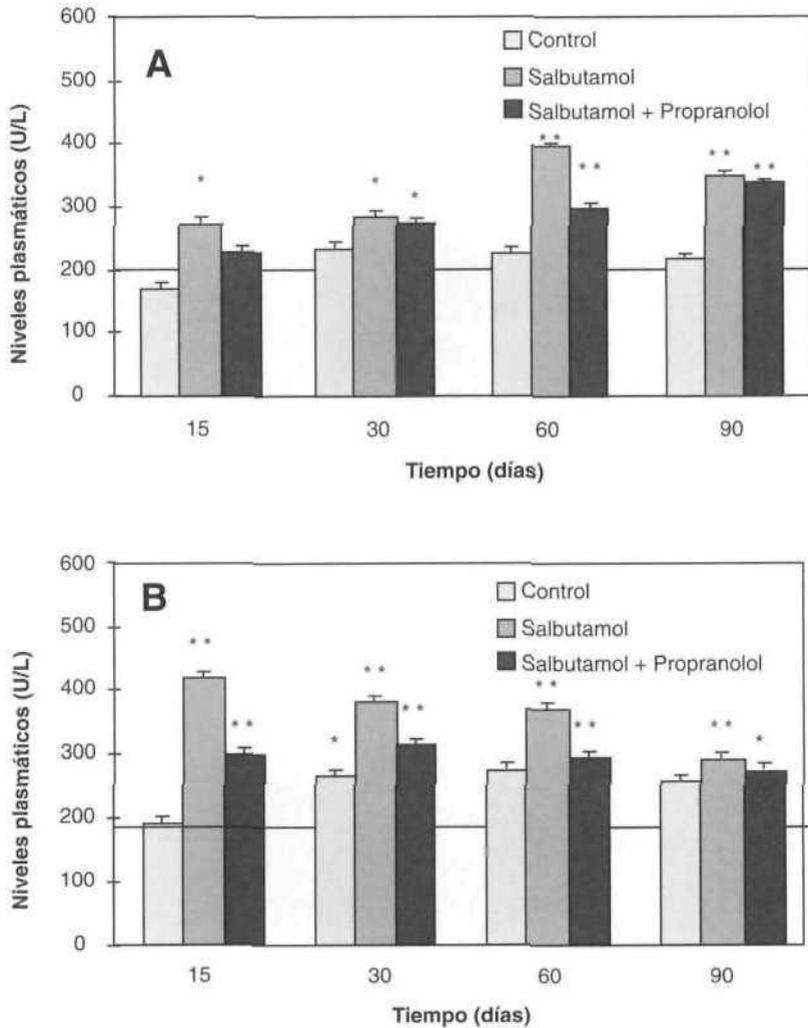
De la misma manera que la CK, el perfil enzimático encontrado tendió a la disminución progresiva de su actividad, determinándose a los 90 días, actividades para animales tra-



**Figura 29.** Representación de los niveles plasmáticos de la CKMB en ratas tratadas con salbutamol a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

tados con dosis terapéuticas valores similares a los control, excepto para las dosis dopantes.

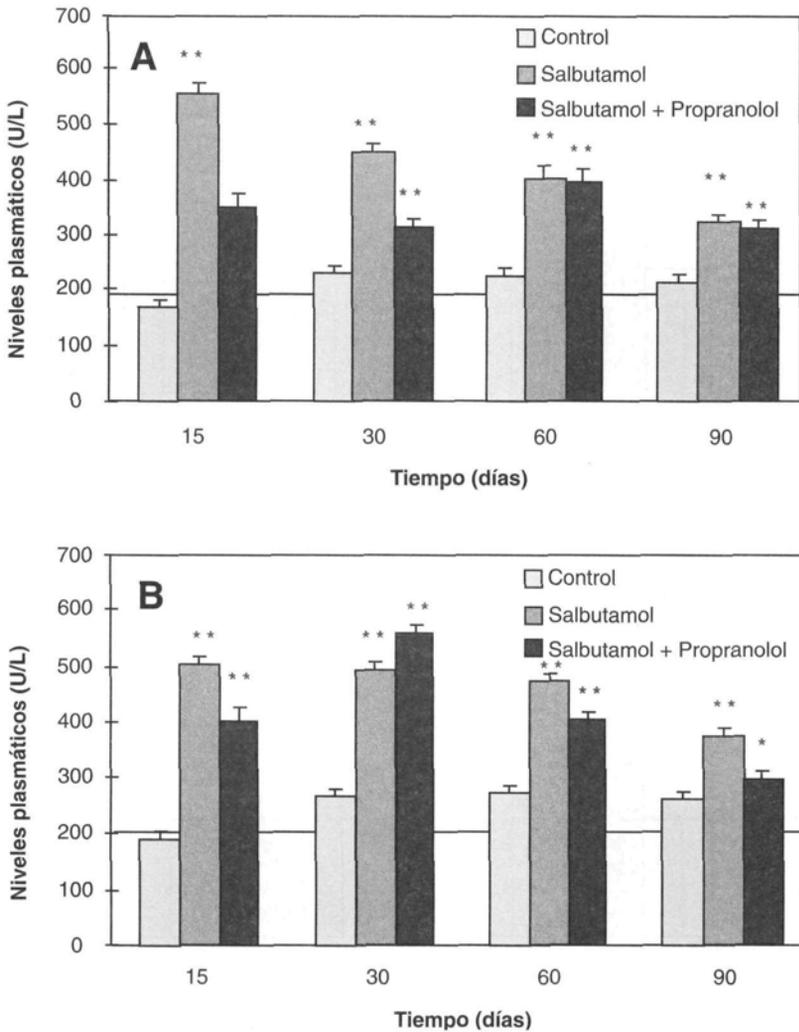
En esta enzima el entrenamiento también produjo un claro incremento de su actividad, evaluado en un 500% sobre los animales control sedentarios.



**Figura 30.** Representación de los niveles plasmáticos de LDH en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado de reposo (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

El propranolol administrado durante el periodo experimental, pudo reducir significativamente y a lo largo del tiempo la cantidad de CKMB liberada a plasma en los animales en reposo, pero no en los sometidos a ejercicio físico, lo que hace suponer que sólo parte de los efectos encontrados eran debidos al carácter adrenérgico del salbutamol, mientras que gran parte de ellos lo eran al ejercicio físico sistemático al que expusimos a algunos grupos de animales.

En los perfiles del contenido plasmático en la Lactato Deshidrogenasa o LDH, que aparecen representados en las gráficas de las Figuras 30 y 31, La administración de salbutamol

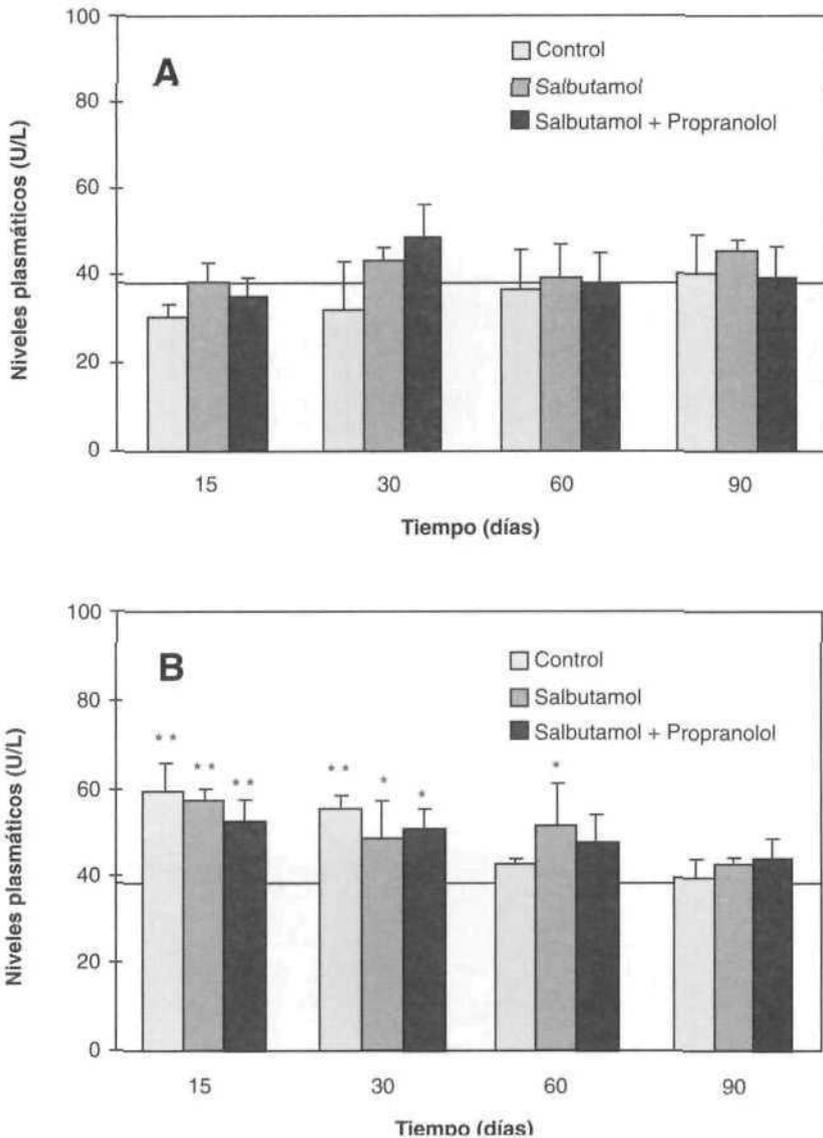


**Figura 31.** Representación de los niveles plasmáticos de LDH en ratas tratadas con salbutamol a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado de reposo (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

provocó un aumento de los niveles de su actividad plasmática, siendo más notables en los animales a los que se les administró las dosis dopantes. Distinguiéndose mayores diferencias significativas en los animales entrenados.

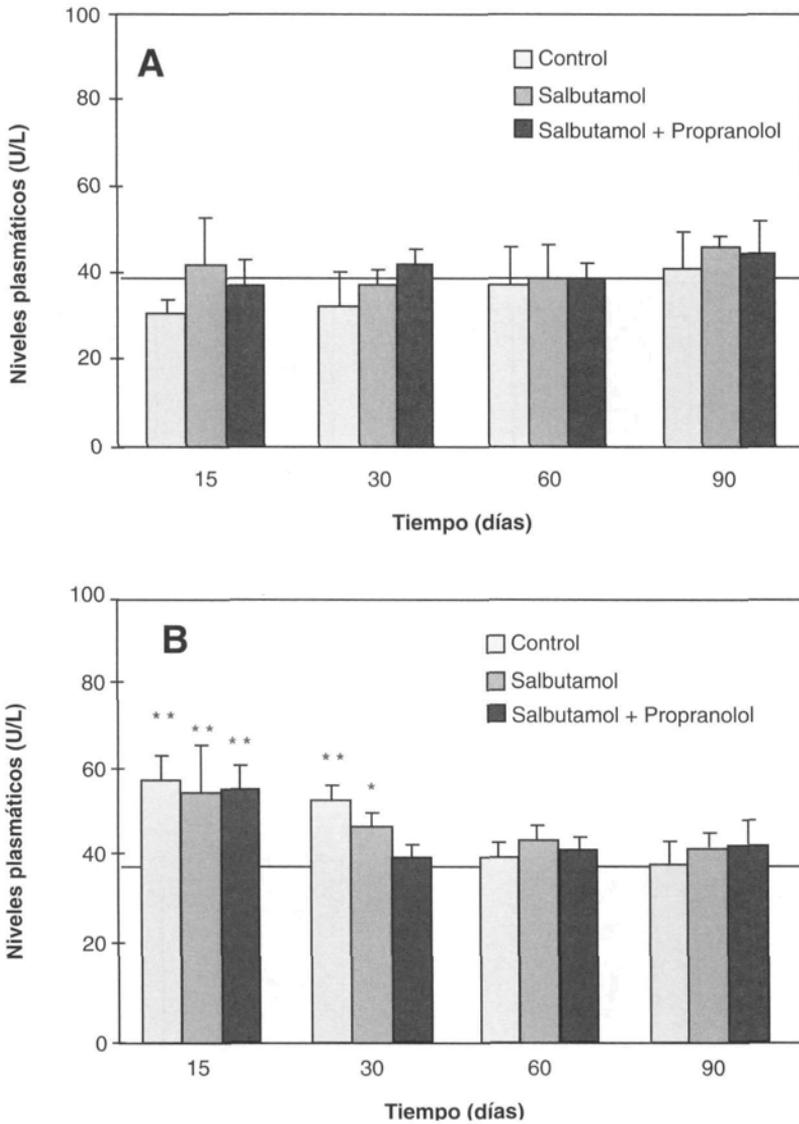
El propranolol impidió la acumulación plasmática de la LDH con una eficacia poco apreciable, no encontrándose en ningún caso valores semejantes a los determinados en los animales control, tanto en reposo como entrenados.

Mostramos ahora el efecto del salbutamol sobre los marcadores hepáticos Alanino Amino Transferasa o ALAT, y Aspartato Amino Transferasa o ASAT. Los niveles de la Alanino



**Figura 32.** Representación de los niveles plasmáticos de ALAT en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado sedentario (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

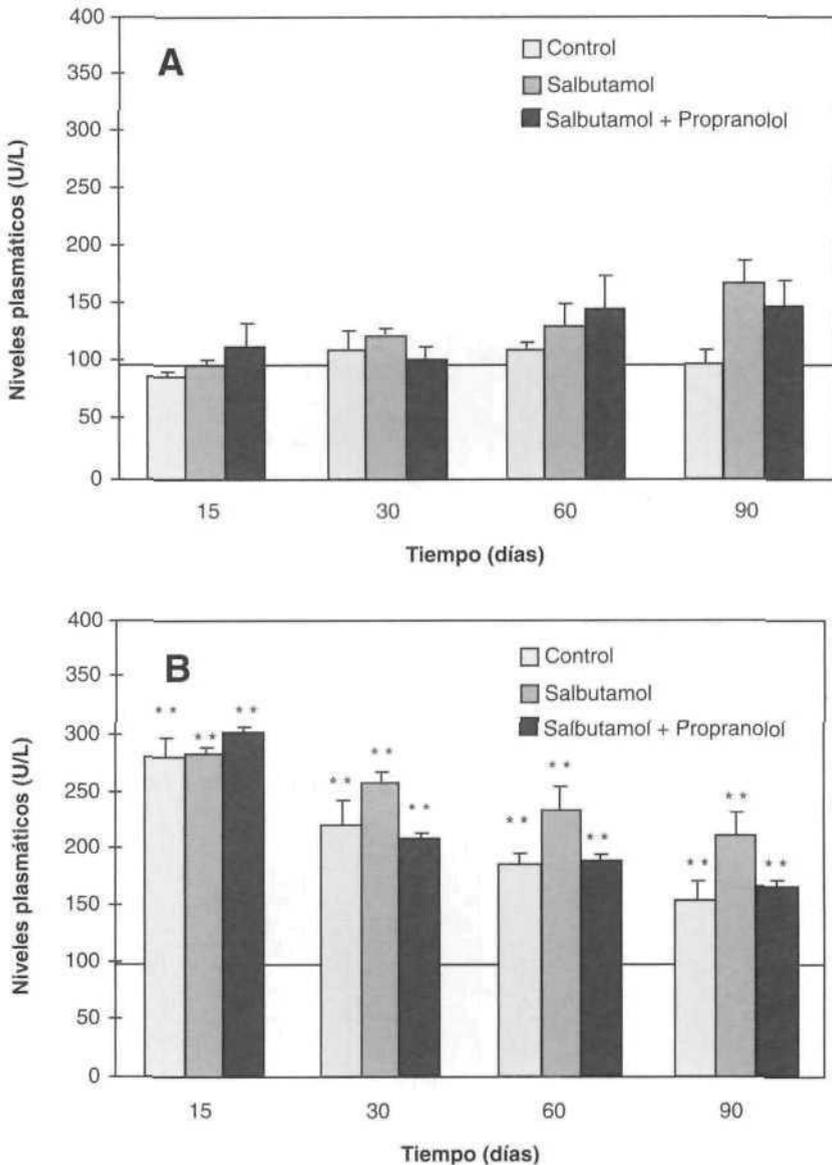
Transferasa producidos por el ejercicio físico se representan en las Figuras 32 y 33, estimándose en un 80% con respecto a los animales en reposo -valores representados por las líneas bases-, a los 15 días de iniciado el experimento. Posteriormente estos valores tendieron a disminuir hasta no encontrar diferencias significativas a los 90 días de comenzado el estudio. El salbutamol no produjo ningún efecto tanto administrado a dosis terapéuticas



**Figura 33.** Representación de los niveles plasmáticos de ALAT en ratas tratadas con salbutamol a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

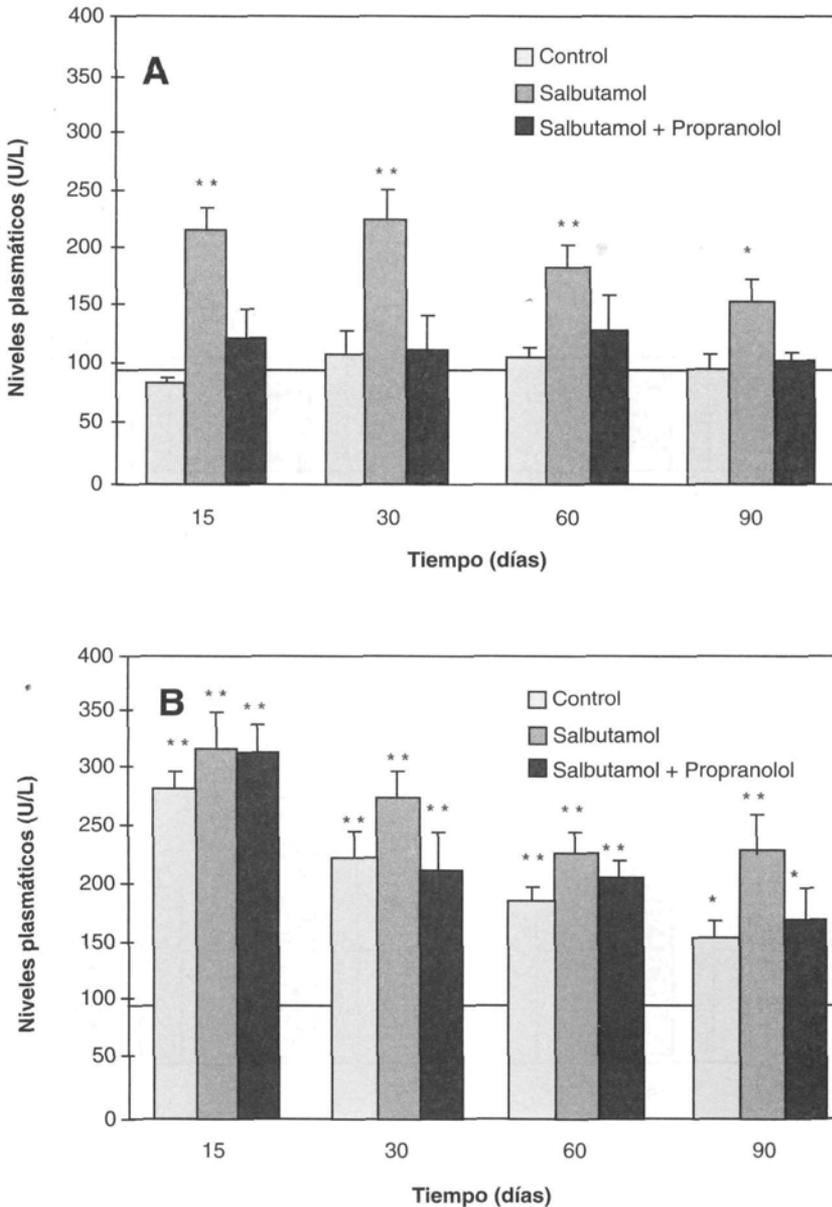
como de dopaje, ya que no se produjeron diferencias significativas con respecto a los controles.

En la actividad plasmática de la ASAT (Figuras 34 y 35), y al igual que la anterior el ejercicio físico produjo un aumento de la actividad de la enzima, y al contrario que la ALAT, la



**Figura 34.** Representación de los niveles plasmáticos de ASAT en ratas tratadas con salbutamol a dosis terapéuticas (16 µg/kg) tanto en estado sedentario (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

administración del beta agonista sí produjo una elevación de la actividad plasmática de dicha enzima, especialmente en las dosis. La implicación adrenérgica de dicha estimulación se puso en evidencia una vez más por la eficaz reversión producida por la coadministración del propranolol, sobre todo en animales sedentarios. La mayoría de los autores, obtienen



**Figura 35.** Representación de los niveles plasmáticos de ASAT en ratas tratadas con salbutamol a dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario (A) como sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico (B). Cada punto es la media  $\pm$  SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

resultados para la ASAT y ALAT que en nuestros experimentos, en donde se vieron significativamente incrementados para después disminuir hasta valores próximos a los controles sedentarios.

La Fosfatasa Alcalina, no se vió alterada por la administración del beta adrenérgico a ninguna de las dosis, tan sólo aumentó por la interacción del ejercicio físico (Plonait, 1984).

La elevación de las actividades plasmáticas CK, CKMB y LDH durante la primera quincena de desarrollo experimental, y su atenuación en las fases finales del mismo, se asemejan a los resultados obtenidos por Cubría y cols. (1996) con clenbuterol (Reeds y cols., 1988; Cubría, 1995), y por Warris (1990a; 1990b) con salbutamol, poniendo de manifiesto la presencia de daño tisular prematuro y posterior desensibilización del tejido muscular tanto esquelético como cardíaco.

Conviene recordar que hubo en nuestros resultados una buena correlación entre el efecto hipertrófico muscular, las actividades enzimáticas en plasma y las dosis de salbutamol administradas. También se confirma el efecto adrenérgico del salbutamol por la prevención del estado fisiopatológico muscular producido por la coadministración de propranolol.

Con respecto al efecto adrenérgico del salbutamol unido al ejercicio físico se originó un incremento de las actividades enzimáticas en el plasma que siempre fue dependiente de la dosis del  $\beta$ -agonista administrado. Es muy significativo que mientras que los niveles plasmáticos de la CK, CKMB y LDH disminuyen rápidamente después del primer mes de ejercicio físico continuado, a ambas dosis, las actividades de estas enzimas permanecían significativamente elevadas tanto en los controles sedentarios como a los sometidos a ejercicio físico. Además, el propranolol coadministrado a dichos animales, no pudo contrarrestar el efecto adrenérgico del salbutamol y del ejercicio combinado, apareciendo en la mayoría de los casos perfiles enzimáticos muy elevados a lo largo de los 90 días de desarrollo experimental.

Estas diferencias han sido descritas con anterioridad en deportistas. Lapieza y cols. (1988), que estudiaron el perfil enzimático analizado por nosotros en ciclistas sometidos a una prueba de esfuerzo, demostrando que los valores plasmáticos de la CK (Galteau y cols., 1976; Rose, 1986), CKMB, LDH (Fowler y cols. 1968; Rose y cols., 1970; Cutinelli y cols., 1970; Canonico y Bird, 1970), ASAT, ALAT y ALP, que estaban más elevadas (Villa, 1992). Además inmediatamente después de un ejercicio físico los valores plasmáticos aumentaban muy significativamente con particularidad de la CK total y la ASAT (Missner y cols., 1973). Siets y Galteau (1974), definió la CK como una enzima con elevada variabilidad individual aunque esta y su isoenzima cardíaca, que alcanza valores basales más elevados en deportistas (Galteau y cols., 1976; Lott y Stang, 1980; Hansen y cols., 1982; Bensson y cols., 1981; Van Der Meulen y cols., 1991. Igualmente el incremento de la LDH plasmática del grupo de animales entrenados, coincidió con los resultados de Villa (1992) en ratas sometidas a ejercicio físico exhaustivo, y de Vila (1996) en ratas etanolizadas. Fowler y cols., descubrieron ya en 1968 que en voluntarios humanos, el ejercicio físico originaba un incremento significativo de los niveles basales de esta enzima, lo que ha sido ratificado repetidas veces (Canónico y Bird, 1970; Cutinelli y cols., 1970; Rose y cols., 1970).

Resultados semejantes han sido descritos para la ASAT (Ahlborg y Brohult, 1967; Siets y Galteau, 1974) y ALAT (Shapiro y cols., 1972), que de la misma manera que en nuestros experimentos, se vieron significativamente incrementados para después disminuir hasta valores próximos a los controles sedentarios (Schlang y Kirkpatrick, 1961; Baumann y cols., 1962; Halonen y Kontinen, 1962; Ahlborg y Brohult, 1971).

#### **4.6. Efectos sobre el contenido de poliaminas en musculatura estriada y plasma**

En esta memoria, las poliaminas estudiadas fueron la putrescina, espermidina y espermina, productos finales de la ruta biosintética de las poliaminas, detectados y cuantificados mediante un procedimiento de cromatografía líquida de alta resolución –HPLC–, siguiendo el método descrito anteriormente por Escribano y Merodio (1994). Las concentraciones de estas poliaminas las observamos en corazón, músculo gastrocnemio y plasma.

##### **4.6.1. Efecto sobre el contenido muscular cardíaco de poliaminas**

Empezamos a analizar dichos efectos sobre el contenido en el corazón. Las concentraciones intracelulares de poliaminas procedentes de extractos cardíacos de rata, fueron valoradas tras la administración subcutánea de salbutamol a dosis terapéuticas y dopantes y en presencia y/o ausencia del antagonista  $\beta$ -adrenérgico, propranolol, tanto en animales sedentarios como entrenados (Figura 36).

El efecto de la pauta farmacológica a ambas dosis del salbutamol sobre los niveles cardíacos de poliaminas, evidenció un incremento altamente significativo de putrescina, espermidina y espermina, con respecto a los valores control, resultando la respuesta del corazón a las dosis dopantes mucho más exacerbada, siendo la más afectada la putrescina.

Por su parte, el protocolo de entrenamiento aeróbico produjo también un incremento significativo de las poliaminas putrescina y espermidina

En ambos casos, la coadministración del antagonista  $\beta$ -adrenérgico propranolol a la dosis utilizada a lo largo de la presente memoria, tuvo un efecto inhibitorio de la acumulación de poliaminas en el tejido cardíaco disminuyendo casi por completo.

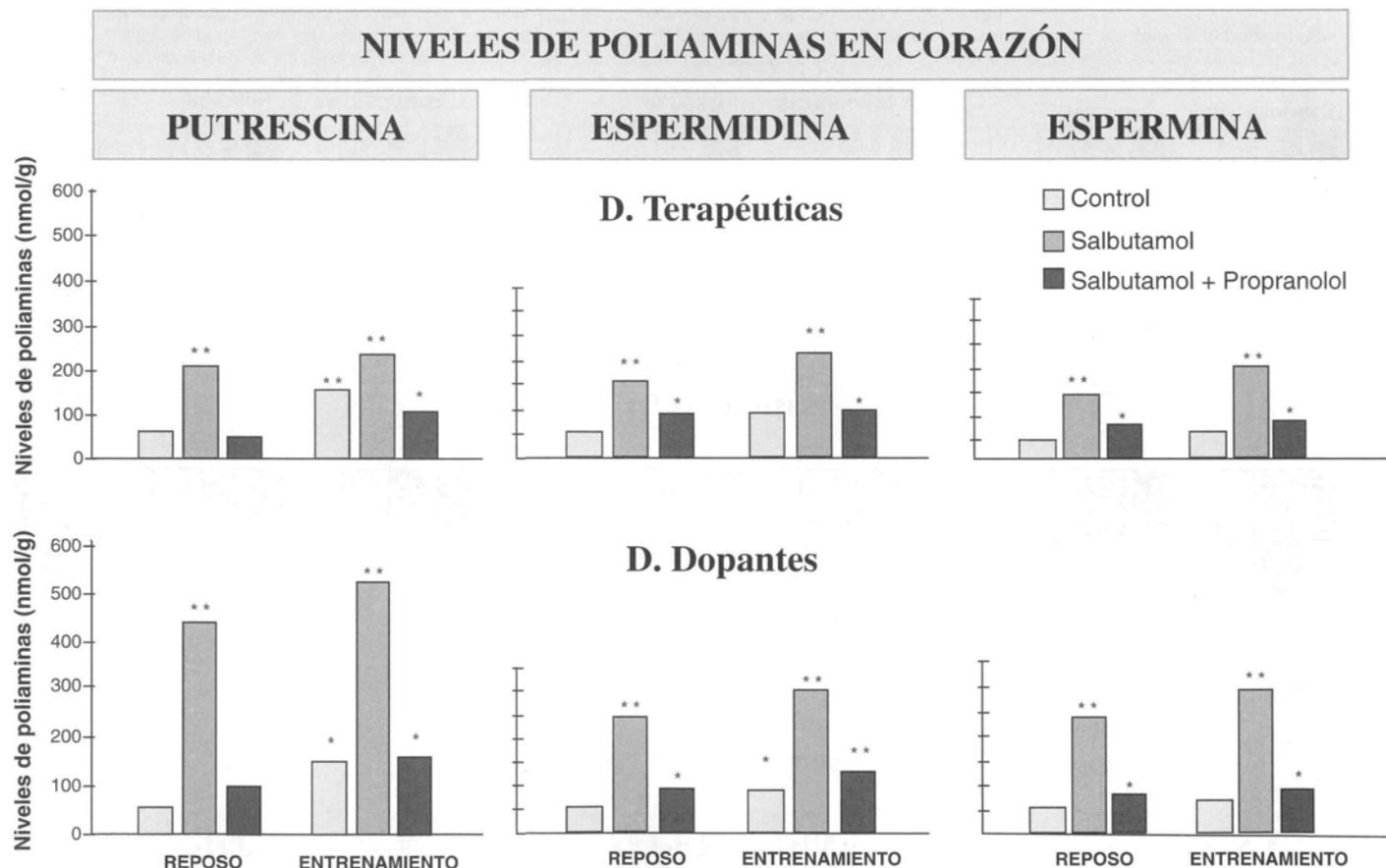
##### **4.6.2. Efecto sobre el contenido muscular esquelético, en el gastrocnemio, de poliaminas**

En la gráficas de la Figura 37, se representa el efecto sobre el contenido muscular esquelético de poliaminas. El efecto en los niveles de poliaminas intramusculares, tras la administración de salbutamol, continúa en la misma línea que en el corazón, sufriendo un apreciable aumento, que alcanza los valores máximos en la putrescina. Dichas diferencias se hicieron mucho más significativo cuanto mayor fue la dosis administrada. Por su parte, el entrenamiento aeróbico provocó un significativo aumento de las 3 poliaminas.

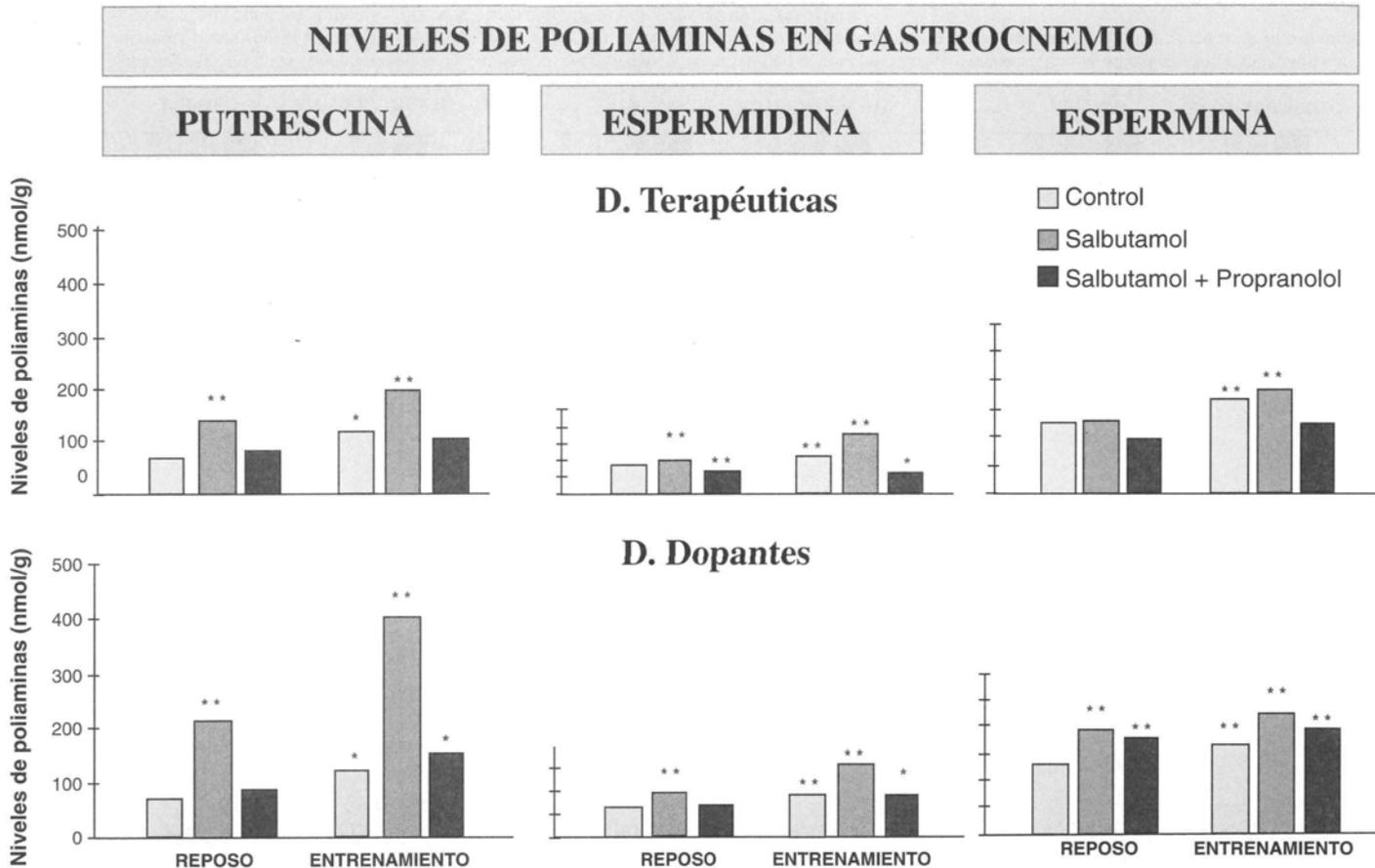
El propranolol redujo el efecto producido por el agonista en las dosis terapéuticas, pero no logró ser tan eficaz en las dosis dopantes.

##### **4.6.3. Efectos sobre el contenido plasmático de poliaminas**

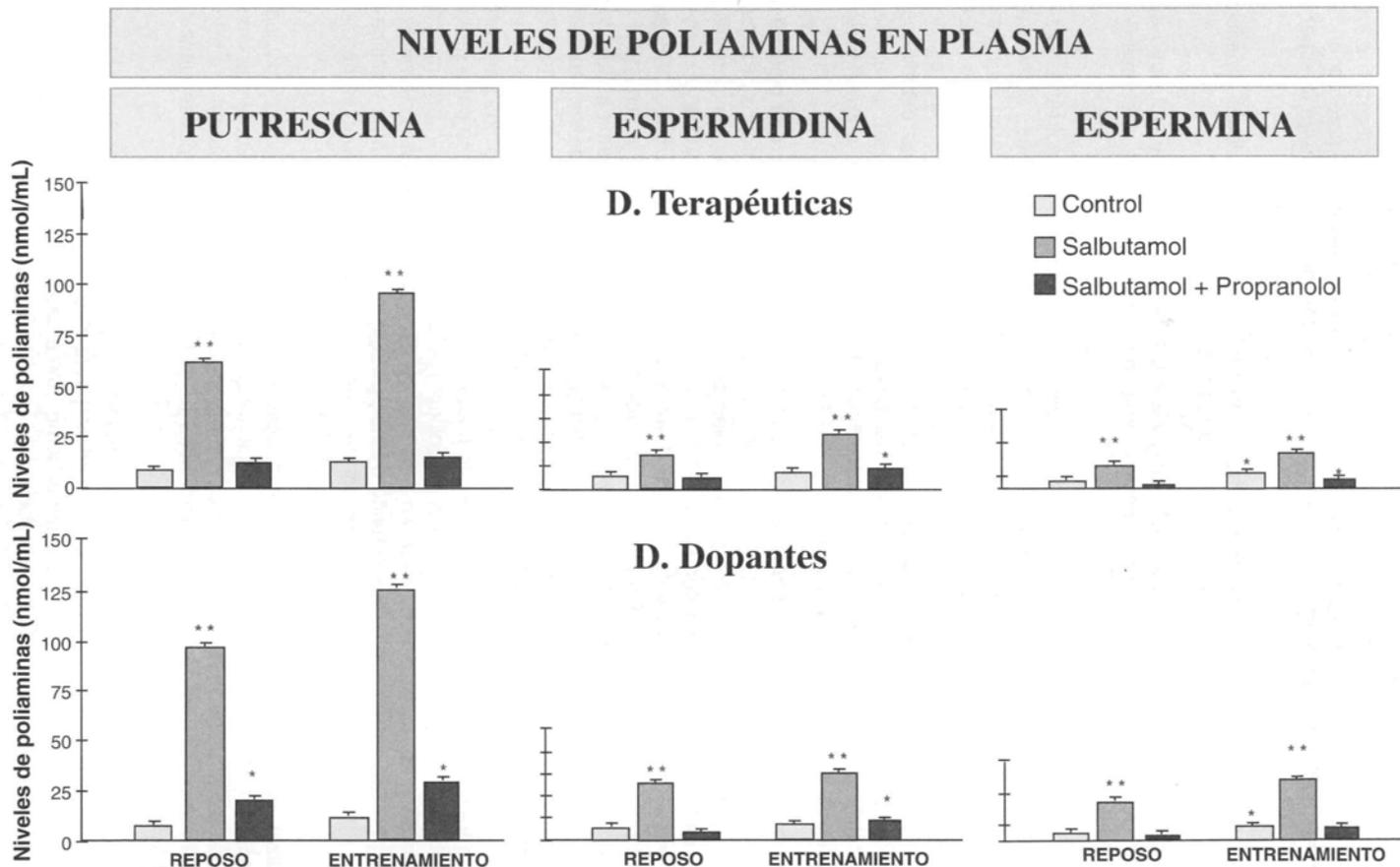
Por último, y con las mismas pautas descritas para el estudio de las poliaminas a nivel muscular, observamos los efectos sobre el contenido plasmático de poliaminas, representados en la Figura 38, para las dosis terapéuticas y dopantes respectivamente. Después de



**Figura 36.** Representación de las concentraciones de putrescina, espermidina y espermina en el corazón de rata, valoradas tras la administración continuada con salbutamol. Dosis terapéuticas (16 µg/kg) y dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario como sometidos a un protocolo de entrenamiento aeróbico. Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .



**Figura 37.** Representación de las concentraciones de putrescina, espermidina y espermina en el músculo esquelético, gastrocnemio, de rata, valoradas tras la administración continuada con salbutamol. Dosis terapéuticas (16 µg/kg) y dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario como sometidos a un protocolo de entrenamiento aeróbico. Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .



**Figura 38.** Representación de las concentraciones de putrescina, espermidina y espermina en el plasma de rata, valoradas tras la administración continuada con salbutamol. Dosis terapéuticas (16 µg/kg) y dosis dopantes (3 mg/kg) tanto en estado sedentario como sometidos a un protocolo de entrenamiento aeróbico. Cada punto es la media ± SD de 6/8 animales. \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$  y \*\*\* $P \leq 0.001$ .

la administración continuada con el agonista  $\beta$ -adrenérgico a ambas dosis, los valores encontrados en el plasma sanguíneo sufrieron un incremento altamente significativo para las tres aminas, tanto en la putrescina, espermidina y espermina, siendo siempre superiores los correspondientes a los animales tratados con dosis dopantes, excepto en la espermidina.

Los animales sometidos al protocolo de entrenamiento aeróbico mostraron valores superiores aunque no significativos con respecto a los animales control sedentarios.

En todos los casos, la administración del antagonista  $\beta$ -adrenérgico propranolol, tuvo el efecto inhibitorio esperado sobre la acumulación de las poliaminas en sangre, reafirmando una vez más la acción del agonista.

Como en todo proceso hipertrófico, el efecto producido por el salbutamol sobre la musculatura esquelética y cardíaca se reflejó en su contenido en poliaminas, como se demuestra en otros estudios realizados por Cubría y cols. (1996), que fueron intermedios metabólicos esenciales de todos los cambios descritos con anterioridad. El aumento altamente significativo ( $P < 0.001$ ) de las concentraciones intracelulares de putrescina, espermidina y espermina, que se encontraron en los músculos estudiados se correlaciona íntimamente con el aumento del peso de éstos al final del desarrollo experimental. Además, la acumulación de poliaminas en dichos tejidos se correspondió con la dosis de salbutamol administrada.

La administración de un agonista  $\beta$ -adrenérgico conduce a la activación de su ruta biosintética de poliaminas (Warnica y cols., 1975; Bartolomé y cols., 1980a; 1980b). Varios autores han encontrado únicamente aumentos de los niveles cardíacos de putrescina y espermidina tras la administración de isoproterenol a dosis única a ratas, sin cambios en la concentración de espermina (Caldarera y cols., 1978; Perin y cols., 1982; Tipnis y cols., 1989a; 1989b), aunque Koenig y cols. (1988), en miocitos aislados de rata, y Cubría y cols. (1996) en corazones murinos, encontraron un aumento significativo de las tres poliaminas tras la administración de isoproterenol y clenbuterol, respectivamente. Dichos autores encontraron que la administración de un agonista  $\beta$ -adrenérgico a dosis única inducía un rápido aumento de la actividad ornitina descarboxilasa, sin cambios aparentes en la otra enzima clave de la ruta biosintética, la S-adenosilmetionina descarboxilasa. Tales indicios parecen indicar que tras la administración de un agonista  $\beta$ -adrenérgico puede activarse parte de la ruta biosintética y la ruta de interconversión de poliaminas lo que podría ser un argumento al aumento encontrado en nuestro caso en musculatura esquelética y cardíaca. Paralelamente, se encontró un aumento muy elevado de las poliaminas plasmáticas, más significativo para la putrescina que para la espermidina y espermina, que se correspondió con la dosis de salbutamol que se administró a los animales.

Para finalizar, decir que los niveles de las tres aminas, que se vieron fuertemente inducidas en la musculatura esquelética, como consecuencia de la administración de salbutamol, casi no respondieron al ejercicio físico sino específicamente a la exposición al salbutamol, por lo que puede afirmarse que los niveles plasmáticos de poliaminas son una consecuencia exclusiva del agonista  $\beta$ -adrenérgico.

La sensibilidad y la especificidad de dichos marcadores, la posibilidad de determinarlos en orina y su aplicabilidad en deportistas de competición o de élite deberán ser estudiadas en un futuro para poder validar a las poliaminas como biomarcadores complementarios a la exposición o administración de fármacos con actividad adrenérgica.

## 5. CONCLUSIONES

### Conclusión primera:

La administración de Salbutamol en ratas provoca un efecto hipertrofiante en la musculatura estriada, tanto cardíaca como esquelética; efecto que se muestra proporcional a la cantidad de salbutamol administrado y que se incrementa en ratas sometidas a entrenamiento

### Conclusión segunda:

El salbutamol se comportó como un potente agente reductor del peso del tejido adiposo suprarrenal, y combinado con el ejercicio físico conlleva un mecanismo perfecto de reducción del tejido adiposo o peso graso; efecto que se muestra proporcional a la cantidad de salbutamol administrado y que se incrementa en ratas sometidas a entrenamiento

### Conclusión tercera:

La administración de salbutamol a ratas provoca una elevación en los niveles de putrescina, espermidina y espermina en corazón, gastrocnemio y plasma. Esta respuesta es mediada por la estimulación adrenérgica, siendo prevenida totalmente por la administración de antagonistas inespecíficos como el propranolol y parcialmente por antagonistas específicos.

### Conclusión cuarta:

Los niveles de poliaminas plasmáticas pueden considerarse como biomarcadores complementarios de exposición a fármacos de actividad adrenérgica.

### Conclusión quinta:

El salbutamol se comportó como agente anabolizante a dosis dopantes con animales tanto en reposo como entrenados.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- ABDELRAHMAN, A., TABRIZCHI, R. Y PANG, C.C. (1990). Effects of beta 1- and beta 2 adrenoceptor stimulation on hemodynamics in the anesthetized rat. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **15**: 720-728.
- AGBENYEGA, E.T. y WAREHAM, A.C. (1990). Effect of clenbuterol on normal and denervated muscle growth and contractility. *Muscle Nerve.* **13**:199-203.
- AGHAJENIAN, G.K. y BUNNEY, B.S. (1973). *Frontiers in Catecholamine Research.* (USDIN, E. Y SNYDER, S. eds.). Elmsford, Pergamon. New York. pp.: 643-646.
- AHLBORG, B. y BROHULT, J. (1967). Immediate and delayed metabolic reactions in well-trained subjects after prolonged physical exercise. *Acta Med. Scand.* **182**: 41.
- ALVAREZ DEL VILLAR, C. (1983). La preparación física del futbolista basada en el atletismo. Gymnos. Madrid.
- ASMUSSEN, E. y NIELSEN, M. (1985). Cardiac output during muscular work and its regulation. *Physiol. Rev.* **35**: 778-789.
- ASTRAND, P. y RODAHL, K. (1986). *Fisiología del trabajo físico, bases biológicas del ejercicio.* Buenos Aires. Médica Panamericana. 2ª edición.

- BABIG, P. y BOOTH, F.W. (1988). Clenbuterol prevents or inhibits loss specific in RNAs in atrophying rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* **254**: E657-E660.
- BARNES, P.J. (1989). A new approach to the treatment of asthma. *New England. J. Med.* 321-1517.
- BARTHOLINI, G., STADLER, H. y LLOYD, K. (1973). *Frontiers in Catecholamine Research.* (USDIN, E. Y SNYDER, S. eds.). Elmsford, Pergamon. New York. pp.: 471-478.
- BARTOLOME, J.W., HUGUENARD, J. y SLOTKIN, T.A. (1980a). Role of ornithine decarboxylase in cardiac growth and hypertrophy. *Science* **210**: 793-794.
- BARTOLOME, J.W., TREPANIER, P.A., CHAIT, E.A. y SLOTKIN, T.A. (1980b). Role of polyamines in isoproterenol-cardiac induced hypertrophy: effect of DFMO, an irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. *Mol. Cell. Cardiol.* **14**: 461-466.
- BASSANI, R.A. y DE MORAES, S. (1988) Effects of repeated footshock stress on the chronotropic responsiveness of the isolated pacemaker of the rat: role of beta-2 adrenoceptors. *J. Pharm. Exp. Ther.* **246**: 316-321.
- BASTIANON, V., DI-FAZIO, A., COLLORIDI, V., MARZANO, M.C., FERRUCCI, A., PUCCI, S., BERNARDINI, L., COLETTA, F., SORBARA, N. y BUSINCO, L. (1990). Lack of adverse cardiac effects of combined treatment with theophylline and albuterol in asthmatic children. *Ann. Allergy.* **65**: 201-205.
- BATES, P.C. y PELL, J.M. (1990). Action and interaction of growth hormone and the  $\beta_2$ -agonist, clenbuterol on growth, body composition and protein turnover in dwarf mice. *Br. J. Nutr.* **65**: 115-129.
- BAUMANN, P., ESCHER, J. y RICHTERICH, R. (1962). Das Verhalten von Serum-Enzymen bei sportlichen Leistungen. *Schweiz. Z. Sportmed.* **10**: 33.
- BENSON, D.W., FOLEY-NELSON, T., CHANCE, W.T., ZHANG, F., JAMES, J.H. y FISCHER, J.E. (1991). Decreased myofibrillar protein breakdown following treatment with clenbuterol. *J. Surg. Res.* **50**: 1-5.
- BERGER, G.M.B. y GRIFFITHS M.P. (1987). Acute effects of moderate exercise on plasma lipoprotein parameters. *Int. J. Sports Med.* **8**: 336-341.
- BISCOE, T.J. y PURVES, M.J. (1965). Carotid chemoreceptor and cervical sympathetic activity during passive third limb exercise in the anaesthetized cat. *J. Physiol.* **178**.
- BOGDANSKI, D.F. (1973). *Frontiers in Catecholamine Research.* (USDIN, E. Y SNYDER, S. eds.). Elmsford Pergamon. New York. pp.: 427-429.
- BONER, A.L., VALLONE, G., BRIGHENTI, C., SCHIASSI, M., MIGLIORANZI, P. y RICHELLI, C. (1988). Comparison of the protective effect and duration of action of orally administered clenbuterol and salbutamol on exercise-induced asthma in children. *Pediatr. Pulmonol.* **4**: 197-200.
- BOREA, P.A., AMERINI, S., MASINI, I., CERBAI, E., LEDDA, F., MANTELLI, L., VARANI, K. y MUGELLI, A. (1992).  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoceptors in sheep cardiac ventricular muscle. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **24**: 753-764.
- BOSA OJEDA, F. (1986). Adaptación de la frecuencia cardíaca durante el ejercicio, modificaciones del volumen cardíaco durante el esfuerzo. En: "Jornadas de medicina del deporte. Las Palmas de Gran Canarias. Caja Cultura y Deportes de Gran Canarias". Tomo I. pp.: 155-161.
- BRAUNWALD, E. y KELLY, E.R. (1960). The effect of exercise on central blood volume in man. *J. Clin. Invest.* **39**: 413.
- BUTTRICK, P.M. y SCHNEUR, J. (1987). *Adaptación fisiológica, bioquímica y coronaria al acondicionamiento físico.* En "Clínicas Cardiológicas de Norteamérica". (HANSON, P. ed) Vol. 2. México D.F. Interamericana S. A. pp.: 277-289.
- CALDARERA, C.M., CASTI, A., ROSSONI, C. y VASIOLI, O. (1978). Polyamines and noradrenaline following myocardial hypertrophy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **3**: 121-128.
- CANÓNICO, P.G. y BIRD, C. (1970). Lysosomes in skeletal muscle tissue. *J. Cell. Biol.* **45**: 321.
- CARRATU, L. (1980). Rilievi clinico-funzionali sull'attività broncodilatatrice del Fenoterolo nelle broncopneumopatie croniche ostruttive. *Riv. Pat. Clin. Tub. Pneumol.* **51**.

- CARTER, W.J., DANG, A.Q., FAAS, F.H. y LYNCH, M.E. (1991). Effects of clenbuterol on skeletal muscle mass, body composition and recovery from surgical stress in senescent rats. *Metabolism* **40**: 855-860.
- CLARKE, D. H. (1973). Adaptations in Strength and Muscular Endurance Resulting from Exercise. En: *Exercise and Sport Sciences Reviews*. (WILMORE, J.H. ed). Academic Press, Inc., New York. Vol. 1: 73.
- COCHRANE, G.M. (1990). Bronchial asthma and the role of beta 2-agonist. *Lung* **168**: 66-70.
- COHEN, M.V. (1983). Coronary and collateral blood flows during exercise and myocardial vascular adaptations to training. *Exerc. Sport. Sci. Rev.* **11**: 55-59.
- COLBERT, W.E., WILLIAMS, P.D. y WILLIAMS, G.D. (1991). Beta-adrenoceptor profile of ractopamine HCl in isolated smooth and cardiac muscle tissues of rat and guinea-pig. *J. Pharm. Pharmacol.* **43**: 844-847.
- CORRÍAS, A., PELOSI, U., CORONA, G.B., MINELLI, R., PERI, M. y CORDA, R. (1989). Efficacia del bróxaterolo (vs salbutamol) nell'asma indotto da esercizio fisico in eta pediatrica. *Pediatr. Med. Chir.* **11**: 161-163.
- CUBRÍA, J.C. (1995). Efectos del clenbuterol sobre corazón murino mediado por poliaminas. Tesis Doctoral. Facultad de Biología. Universidad de León.
- CUBRÍA, J.C., REGUERA, R., BALAÑA-FOUCE, R. y ORDÓÑEZ, D. (1996). Early acute alterations of polyamines metabolism in clenbuterol treated mice. *Eur. J. Pharmacol.* (En prensa).
- CUTINELLI, L., SORRENTINO, L. TRAMONTINI, C. SALVATORE, F. y CEDRANGOLO, F. (1970). Protection by ornithine aspartate of the effects of physical exercise. *Arzneimittelforsch* **20**: 1064.
- DAL PALU, C y SEMPLICINI, A. (1995). The treatment of hypertension in patients with a metabolic disorder. *Ann. Ital. Med. Int.* **10**: 130S-132S.
- DAWSON, K.P., PENNA, A.C. y MANGLICK, P. (1995). Acute asthma, salbutamol and hyperglycaemia. *Acta. Pediatr.* **84**:305-307.
- DE LA TORRE, R. (1995). Sustancias de abuso en la práctica deportiva. En: *Drogas y deporte: Farmacología del Dopping*. (MEANA, J.J. y BARTUREN, F. eds.). Universidad de Deusto. Bilbao. pp.: 65-74.
- DE MEERSMAN, R., SCHAEFER, D. y MARTELLI, M. (1986). The effects of a sympathomimetic drug on maximal aerobic capacity. *J. Sports Med.* **26**: 251-257.
- DE VRIES, H.A. (1983). Physiology of exercise for physical education and athletics. Dubuque-Iowa: Wm. C. Brown. (3ª edición) pp.: 106-131.
- DEL BARRIO, A.S., GARCÍA, M.A., FERNÁNDEZ-QUINTELA, A., SIMON, E., PORTILLO, M.P., ASTIASARAN y MARTÍNEZ, J.A. (1995). Effects of the beta-adrenergic agonist salbutamol and its withdrawal on protein metabolism of lambs. *Ann. Nutr. Metab.* **39**:317-324.
- DELGADO, A., PERES, G., GOIRIENA DE GANDARIAS, J.J., VANDEWALLE, H. y MONOD, H. (1992). Evaluación de las cualidades anaeróbicas del deportista. *Archivos de Medicina del Deporte.* **34**: 5-14.
- DESHAIES, Y., ARNOLD, J., LALONDE, J. y RICHARD, D. (1988). Lipoprotein lipase in white and brown adipose tissues of exercised rats fed a high-fat diet. *Am. J. Physiol.* **255**: R226-R231
- DITTMAN, H. (1990). Influence of clenbuterol, a  $\beta$ -adrenergic agonist, on desipramine induced growth hormone, prolactin and cortisol stimulation. *Psychoneuroendocrinology* **15**: 391-400.
- DOUGLAS, P. S. (1989). Cardiac considerations in the triathlete. *Med. Sci. Sports Exercise.* **21**: S214-S218.
- EISEMANN, J.H., HUNTINGTON, G.B. y FERRELL, C.L. (1988). Effects of dietary clenbuterol on metabolism of the hindquarters in steers. *J. Anim. Sci.* **66**: 342-353.
- EMERY, P.W., ROTHWELL, N.J., STOCK, M.J. y WINTER, P.D. (1984). Chronic effects of beta-2 adrenergic agonists on body composition and protein synthesis in the rat. *Biosci. Rep.* **4**: 83-91.

- EMORINE, L., BLIN, N. y STROSBERG, A. D. (1994). The human beta-3 adrenoreceptor: the search for a physiological function. *Pharmacol Sci.* **15**:3-7.
- ESCRIBANO, M.I. y MERODIO, C. (1994). The relevance of polyamine levels in cherimoya (*Annona cherimola Mill*) fruit ripening. *J. Plant. Physiol.* **143**: 207-212.
- ESSEN, B. (1977). Intramuscular substrate utilization during prolonged exercise. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **301**: 30-43.
- FLINT, K. (1983). Salbutamol versus Duovent (combination of Fenoterol and ipratropiom bromide) in asthma. *Eur. J. Resp. Dis.* **64**:548-550.
- FOWLER, W.M., GARDNER, G.W. y POORTMANS, J. (1968). The effect of exercise on serum enzymes. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* **49**: 554-565.
- FOZARD, J.R., PART, M.L., PRAKASH, N.J. y GROVE, J. (1980). Inhibition of murine embryonic development by  $\beta$ -difluoromethylornithine an irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. *Eur. J. Pharmacol.* **65**: 379-391.
- FRANCES, H.S. y SIMON, P. (1986). Chronic clenbuterol treatment modulates a 5-hydroxytryptaminergic system. *J. Pharm. Pharmacol.* **38**: 247-250.
- FRANCES, H.S., DANTI, A.J., PUECH, D. y SIMON, P. (1984). Disappearance of the decrease in biting behavior induced clenbuterol, a  $\beta$ -adrenergic agonist, after chronic administration. *Pharm. Biochem. Behav.* **21**: 313-316.
- FREEMAN, W., PACKE, G.E. y CAYTON, R.M. (1989). Effect of nebulised salbutamol on maximal exercise performance in men with mild asthma. *Thorax* **44**: 942-947.
- GALTEAU, M.M., SIEST, G. y POORTMANS, J. (1976). Continuous in vivo measurement of creatine kinase variations in man during an exercise. *Clin. Chim. Acta.* **66**:89-95.
- GIMÉNEZ, M. y FLORENTZ, M. (1984). Serum enzyme variations in men during an exhaustive "square-wave" endurance exercise test. *Eur. J. Appl. Physiol.* **5**: 219-224.
- GOLBERG, L. y ELLIOT D.L. (1987). The effect of exercise on lipid metabolism in men and women. *Sports Med.* **4**:307-321.
- GONYEA, W., ERICSON, G.C. y BONDE-PETERSEN, F. (1977). Skeletal muscle fiber splitting induced by weight-lifting exercise in carts. *Acta Physiol. Scand.* **99**: 105-109.
- GRANDORDY, B., BELMATOUG, N., MORELLE, A., DE LAUTURE, D. y MARSAC, J. (1987). Effect of betamethasone on airway obstruction and bronchial response to salbutamol in prednisolone resistant asthma. *Thorax* **42**:65-71.
- GREEN, H.J., KLUG, G.A., REICHMANN, H., SEEDORF, V., WIEHRER, W. y PETTE, D. (1984). Exercise-induced fibre type transitions with regard to myosin, paralbumin and sarcoplasmic reticulum in muscles of the rat. *Pflügers Arch.* **400**:432-438.
- HALLONEN, P.J. y KONTTINEN, A. (1962). Effect of physical exercise on some enzymes in the serum. *Nature* **10**: 942.
- HANRAHAN, J.P. y ROCHE, J.F. (1987). The effect of a growth promoting drug. En: *Advances in Animal Nutrition (HARESIGH, W. ed.)*. Butterworth. London. pp.: 125-138.
- HANSEN, K.N., BJERRE-KUNDSSEN, J., BRODTHAGEN, U., JORDAL, R. y PAULEV, P.E. (1982). Muscle cell leakage due to long distance training. *Eur. J. Appl. Physiol.* **48**: 177-188.
- HANSON, P. y NAGLE, F. (1987). Ejercicio isométrico: reacciones cardiovasculares en sujetos normales y en cardiopatas. En: *Ejercicio y el Corazón*. (HANSON, P. ed). "Clínicas Cardiológicas de Norteamérica. Vol. 2. México D. F. Interamerica S.A. pp.: 167-181.
- HASKELL, W.L. (1984). The influence of exercise training in the concentrations of the triglyceride and cholesterol in human plasma. *Exerc. Sports Sci. Rev.* **12**: 205-244
- HASKELL, W.L. (1986). The influence of exercise training on plasma lipids and lipoproteins in health and disease. *Acta Med. Scand.* **711**: 25-37.
- HASKELL, W.L., STEFANICK, M.L. y SUPERKO, R. (1988). Influence of exercise on plasma lipids and lipoproteins. En: *Exercise, nutrition and energy expenditure*. (HORTON, E.S. y TEJURING, R.J. eds.) Burlington, VT. *The Collamore Press*. pp.: 213-227

- HELLSTEND, G., BOMAN, K., HALLMANS, G. y DAHLEN, G. (1989). Lipids and endurance physical activity. *Atherosclerosis* **75**: 94-94.
- HORAN, L.G. y FLOWERS, N.C. (1983). Electro y vectocardiografía. En: Braunwald, E. "Tratado de Cardiología". Volumen I. México, D.F. Nueva Ed. Interamericana S.A. pp.: 213-268.
- HORNE, Z. y HESKETH, Z. (1990). Increased association of ribosomes with miofibrils during the skeletal muscle hypertrophy induced either by the  $\beta$ -adrenoceptor agonist clenbuterol or by tenotomy. *Biochem. J.* **272**: 831-834.
- HOSSACK, K.F. (1987). Reacciones cardiovasculares al ejercicio dinámico. En: "Clínicas Cardiológicas de Norteamérica. Ejercicio y el Corazón". (HANSON, P. ed). Volumen 2. México D.F. Interamericana S.A., pp.: 157-166.
- HU, C.Y., NOVAKOFSKI, J. y MERSMANN, H.J. (1988). Clenbuterol stimulated increase of plasma free-fatty acids in reserpinized pigs. *Comp. Biochem. Physiol.* **91C**: 619-622.
- INFANTE, R. (1981). Síntesis y secreción de las lipoproteínas plasmáticas. En: Aspectos actuales de las hiperlipoproteinemias (CARMENA, R. ed). Garsi. Madrid. pp.: 13-26
- IVY, J.L., BROZINICK, J.T., TORGAN, C.E. y G. M. KASTELLO, G.M. (1989). Skeletal muscle glucose transport in obese Zucker rats after exercise training. *J. Appl. Physiol.* **66**:2635-2641.
- IVY, J.L., SHERMAN, W.M., CUTLER, C.L. y KATZ, A.L. (1986). Exercise and diet reduce muscle insulin resistance in the obese Zucker rat. *Am. J. Physiol.* **251**: E299-E305.
- JÄNNE, J., ALHONEN, L. y LEINONEN, P. (1991a). Polyamines: from molecular biology to clinical applications. *Ann. Med.* **23**: 241-259.
- JANSSON, E., y KAIJSER, L. (1977). Muscle adaptation to extreme endurance training in man. *Acta Physiol. Scand.* **99**: 130-136.
- JONHSON, D.K., GRIGNOLO, A., KUNH, C.M. y SCHAMBERG, S.M. (1983). Hypertension and cardiovascular hypertrophy during chronic catecholamine infusion in rats. *Life Sci.* **33**: 169-180.
- KOENIG, H., GOLDSTONE, A.D. y LU, C.Y. (1988). Polyamines are intracellular messengers in the  $\alpha$ -adrenergic regulation of  $Ca^{2+}$  fluxes,  $[Ca^{2+}]_i$  and membrane transport in rat heart myocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **153**: 1179-1185.
- KRELHAUS, W., GIBSON, K. y HARRIS, P. (1975). The effects of hypertrophy, hypobaric conditions and diet on myocardial ornithine decarboxylase activity. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **7**: 63-69.
- LAMON-FAVA, S., MCNAMARA, J.R., FARBER, H.W., HILL, N.S. y SCHAEFER, E.J. (1989). Acute changes in lipid, lipoprotein, apolipoprotein, and low-density protein particle size after an endurance triathlon. *Metabolism* **38**: 652-659.
- LAPIEZA, M.G., NUVIELA, R.J., RODA, L., AZCONA, J.M. y GINER, A. (1988). Perfil enzimático en ciclistas y sus modificaciones con el ejercicio máximo. *Apunts* **25**: 191-199.
- LAU, W.F., KHOO, H.E. y DAS, N.P. (1995). Potentiation of beta-adrenoceptor agonist mediated-lipolysis by cholesterol-derived oxysterols. *Biochem. Mol. Biol. Int.* **35**:1349-1358.
- LEUNG, N.W., GAER, J., BEGGS, D., KARK, A.E., HOLLOWAY, B. y PETERS, T.J. (1987). Multiple symmetric lipomatosis (Launois-Bensaude syndrome): effect of oral salbutamol. *Clin. Endocrinol. Oxf.* **27**: 601-606.
- LIBRETTO, S.E. (1994). A review of the toxicology of salbutamol (albuterol). *Arch. Toxicol.* **68**: 213-216.
- LIPWORTH, B.J., NEWNHAM, D.M., CLARK, R.A., DHILLON, D.P., WINTER, J.H. y MCDEVITT, D.G. (1995). Comparison of the relative airways and systemic potencies of inhaled fenoterol and salbutamol in asthmatic patients. *Thorax* **50**: 54-61.
- LOTT, J.A. y STANG, J.M. (1980). Serum enzymes and isozymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. *Clin. Chem.* **29**: 1241-1250.
- LUPIEN, J.R., HIRSHMAN, M.F. y HORTON E.S. (1990). Effects of norepinephrine infusion on in vivo insulin sensitivity and responsiveness. *Am. J. Physiol.* **259**: E210-E215.

- MALO, J.L., GHEZZO, H., TRUDEAU, C., ARCHEVEQUE, J. y CARTIER, A. (1992). Salmeterol, a new inhaled beta-2 adrenergic agonist, has a longer blocking effect than albuterol on hyperventilation-induced bronchoconstriction. *J. Allergy Clin. Immun.* **89**: 567-574.
- MALTIN, C.A., DELDAY, M.I. y REEDS, P.J. (1986). The effect of a growth promoting drug, clenbuterol, on fibre frequency and area in hind limb muscles from young male rats. *Biosci. Rep.* **6**: 293-299.
- MALTIN, C.A., DELDAY, M.I., HAY, S.M., SMITH, F.G. y REEDS, P.J. (1987a). Propranolol apparently separates the physical and compositional characteristics of muscle growth induced by clenbuterol. *Biosci. Rep.* **7**: 51-57.
- MALTIN, C.A., DELDAY, M.I., HAY, S.M., SMITH, F.G., LOBLEY, G.E. y REEDS, P.J. (1987b). The effect of the anabolic agent clenbuterol, on overloaded rat skeletal muscle. *Biosci. Rep.* **7**: 143-150.
- MALTIN, C.A., HAY, S.M., DELDAY, M.I., LOBLEY, G.E. y REEDS, P.J. (1989a). The action of the  $\beta$ -agonist clenbuterol on protein metabolism in enervated and denervated phasic muscles. *Biochem. J.* **261**: 965-971.
- MALTIN, C.A., HAY, S.M., DELDAY, M.I., REEDS, P.J. y PALMER, R.M. (1989b). Evidence that the hypertrophic action of clenbuterol on denervated rat muscle is not propranolol-sensitive. *Br. J. Pharmacol.* **96**: 817-822.
- MARANGIO, E., PESCI, A., MORI, A., MARCHIONI, M. y BERTORELLI, G. (1986). Clinical physiological data on the bronchodilator effect of duovent versus salbutamol in chronic obstructive lung disease. *Respiration.* **50**: 165-168.
- MARNIEMI, J. (1982). The effects of continuous, long-term exercise on serum lipids. In: Regulation of serum lipids by physical exercise. (HIETANEM, E. eds) Boca Ratón. Florida. pp.: 89-94.
- MARPURGO, P. (1897). Über aktivitäts-Hypertrophie der willkürlichen Muskein. *Virchows Arch.* **150**: 522.
- MARTINEAU, L., HORAN, M.A., ROTHWELL, N.J. y LITTLE, R.A. (1992). Salbutamol, a beta 2-adrenoceptor agonist, increases skeletal muscle strength in young men. *Clin. Sci.* **83**: 615-621.
- MARTÍNEZ CARO, D. (1989). Adaptación al ejercicio físico. En: Corazón y ejercicio. (MARTÍNEZ CARO, D., ALEGRÍA EZQUERRA, E. y BARBA COSIALS, J. eds). Barcelona. Doyma, pp.: 57-70.
- MARTÍNEZ-NAVARRO, J.F. (1991). Food poisoning to consumption of illicit  $\beta$ -agonist in liver. *Lancet* **336**: 1311.
- MCELLIGOTT, M.A., BARRETO, A. y CHUANG, L.Y. (1988). Effect of continuous and intermittent clenbuterol feeding on rat growth rate and muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* **92C**: 135-139.
- MCFADDEN, E.C. JR. (1986). Beta-adrenergic bronchodilators. *Respiration* **50**: 97-102.
- MCLENNAN, P. y EDWARDS, H.T. (1989). Effects of clenbuterol and propranolol on muscle mass. *Biochem. J.* **264**: 573-579.
- MCRAE, J.C., SKENE, P.A., CONNELL, A., BUCHAN, V., Y LOBLEY, G.E. (1988). The action of the  $\beta$ -agonist clenbuterol on protein and energy metabolism in fattening wether lambs. *Br. J. Nutr.* **59**: 457-465.
- MEANA, J.J. y BARTUREN, F. (1995). Drogas y deporte: Farmacología del Dopping. Universidad de Deusto. Bilbao.
- MEGÍAS, A. y SABORIDO, A. (1989). Adaptación muscular al ejercicio. *Apunts* **26**: 85-190.
- MEYER, H.D. y RINKE, L. (1994). Anabolic beta-agonist: biochemistry of action, pharmacokinetics, adverse effects in man and control in urine or blood. In: Blood samples in doping control (HEMERSBACH, P. y BIRKELAND, K.L. eds). Pensumtjeneste. Oslo. pp.: 109-116.
- MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CIENCIA. (8-febrero-1996). Resolución del Consejo Superior de Deportes, sobre las listas de sustancias y grupos farmacológicos prohibidos y de métodos no reglamentarios de dopaje en el deporte. BOE nº **34**: 4390-4394.

- MISSNER, J.E., MASSEY, B.H. y WILLIAMS B.T. (1973). The effect of physical training on the response of serum enzymes to exercise stress. *Med. Sci.Sports.* **5/2**: 86-88.
- MONDON, C.E. DOLKAS, C.B., TOBEY, T. y REAVEN, G.M. (1984). Causes of the triglyceride-lowering effect of exercise training in rats. *J. Appl. Physiol.* **57**: 1466-1471.
- MOORE, N.G., PEGG, G.G. y SILLENCE, M.N. (1994). Anabolic effects of the beta 2-adrenoceptor agonist salmeterol are dependent on route of administration. *Am. J. Physiol.* **267**: E475-484
- MORALES, J.L. (1989). Influencia del entrenamiento sobre la población y morfometría fibrilar de algunos músculos de gran actividad locomotora en la rata. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.
- MORALES, J.L., AGÜERA, E., VIVO, J. y MIRÓ, F. (1990). Modificaciones por el entrenamiento de los tipos de fibras II (Ia y Iib) en músculos de rata. *Arch. Med. Deporte.* **26**: 127-132.
- MOREHOUSE, L.E. y MILLER, A.T. (1983). *Fisiología del deporte*. Buenos Aires. El Ateneo. 7ª edición.
- MORRIS, D. y ARADA, J.J. (1980). The participation of polyamines in the proliferation of bacterial and animal cells. In: *Polyamines in Biomedical Research*. (Gaugas, J.M. ed.). Wiley, New York. pp.: 1-16.
- MORRIS, G. y SLOTKIN, T.A. (1985).  $\alpha_2$  Adrenergic control of ornithine decarboxylase activity in brain regions of the developing rat. *J. Pharm. Exp. Ther.* **233**: 141-147.
- NAGEL, D., SEILER, D., FRANZ, H., LEITZMANN, C. y JUNG, K. (1989). Effects of an ultra-long-distance (1000 km) race on lipid metabolism. *Eur. J. Appl. Physiol.* **59**: 16-20
- NISOLI, E., TORNELLO, C. y CARRUBA, M.O. (1995). Differential relevance of beta-adrenoceptor subtypes in modulating the rat brown adipocytes function. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **329**: 436-453.
- O'DONNELL, S.R. y FRAZER, A. (1985). Effects of clenbuterol and antidepressant drugs on  $\alpha$ -adrenergic receptor-N-protein coupling in the cerebral cortex of the rat. *J. Pharm. Exp. Ther.* **234**: 30-36.
- O'DONNELL, S.R. y WANSTALL, J.C. (1979). Evidence that ICI 118551 is a potent, highly  $\beta_2$ -selective adrenoceptor antagonist and can be used to characterize  $\beta$ -adrenoceptor populations in tissues. *Life Sci.* **27**: 671-677.
- OAKLEY, G.D.G. (1987). El corazón del atleta. En: *Clínicas Cardiológicas de Norteamérica. Ejercicio y corazón*. (HANSON, P. ed.). Interamericana S. A. México. pp.: 339-350.
- PACK, R.J., ALLEY, M.R., DALLIMORE, J.A., LAPWOOD, K.R., BURGESS, C. y CRANE, J. (1994). The myocardial effects of fenoterol, isoprenaline and salbutamol in normoxic and hypoxic sheep. *Int. J. Exp. Pathol.* **75**: 357-362.
- PALMER, R.M., DELDAY, M.I., MCMILLAN, D.N., NOBLE, B.S., BAIN, P. y MALTIN, C.A. (1990). Effects of the cyclo-oxygenase inhibitor, fenbufen, on clenbuterol-induced hypertrophy of cardiac and skeletal muscle of rats. *Br. J. Pharmacol.* **101**: 835-838.
- PAULIN, A. y DESHAIES, Y. (1992). Serum free fatty acids are not involved in acute exercise-induced reduction of LPL in rat tissues. *Am. J. Physiol.* **262**: E377-E382.
- PAULIN, A., LALONDE, J. y DESHAIES, Y. (1991). Beta-adrenergic blockade and lipoprotein lipase activity in rat tissues after acute exercise. *Am. J. Physiol.* **261**: R891-R897.
- PEGG, A.E. (1986). Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem. J.* **234**: 249-262.
- PEGG, A.E. (1988). Polyamine metabolism and its importance in neoplastic growth and as a target for chemotherapy. *Cancer Res.* **48**: 759-774.
- PEGG, A.E. y HIBASAMI, H. (1980). Polyamine metabolism during cardiac hypertrophy. *Am. J. Physiol.* **239**: E272-E278.
- PEGG, A.E. y MCCANN, P.P. (1982a). Polyamine metabolism and function. *Am. J. Physiol.* **243**: E372-E378.

- PÉREZ, F. y ZAMORA, S. (1991). The influence of clenbuterol on growth in rats. *Comp. Biochem. Physiol.* **99A**: 241-244.
- PÉREZ, F., SASTRE, J.F. y ZAMORA, S. (1991). Influence of dietary protein level on growth: effect of clenbuterol. *Comp. Biochem. Physiol.* **99A**: 671-675.
- PERIN, A., SESSA, A. y DESIDERIO, M.A. (1982). Polyamine levels and diamine oxidase activity in hypertrophic heart of spontaneously hypertensive rats treated with isoproterenol. *Biochim. Biophys. Acta.* **755**: 344-351.
- PLONAIT, H. (1984). Elementos de análisis clínico veterinario. Acribia, Zaragoza.
- PORTILLO, M.P., DEL BARRIO, A.S., GARCIA-CALONGE, M.A. y MARTÍNEZ, J.A. (1996). Desensitization effect of *in vivo* treatment with metaproterenol on  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  and  $\beta_3$ -adrenergic responsiveness in rat adipocytes. *Life Sci.* **58**: 405-414.
- POWELL, K.E., THOMPSON, P.D., CASPERSEN, C.J. y KENDRICK, J.S. (1987). Physical activity and the incidence of coronary heart disease. *Ann. Rev. Public. Health* **8**: 253-287.
- PRENDEVILLE, A., GREEN, S. y SILVERMAN, M. (1987). Airway responsiveness in wheezy infants: evidence for functional  $\beta$ -adrenergic receptors. *Thorax* **42**: 100-104.
- PRICE, A.H. y CLISSOLD, S.P. (1989). Salbutamol in the 1980s. A reappraisal of its clinical efficacy. *Drugs* **38**: 77-122.
- RADFORD, M. (1975). Effects of salbutamol in infants with wheezy bronchitis. *Arch. Dis. Child.* **50**: 535-538.
- REEDS, P.J., HAY, S.M., DORWARD, P.M. y PALMER, R.M. (1988). The effect of  $\beta$ -agonist and antagonist on muscle growth and body composition of young rats. *Comp. Biochem. Physiol.* **89C**: 337-341.
- RICKS, C.A., DALRYMPLE, R.H., BAKER, P.K. e INGLE, D.L. (1984). Use of a  $\beta$ -agonist to alter fat and muscle deposition in steers. *J. Anim Sci.* **59**: 237-244.
- RIUS SANT, J. (1989). Metodología del Atletismo. Paidotribo, S.A. Barcelona.
- ROBERTS, J.A. (1988). Exercise induced asthma in athletes. *Sports Med.* **6**: 193-197.
- RODRÍGUEZ BUENO, C. (1992). Dopaje. McGraw-Hill Interamericana de España. Madrid.
- RODRÍGUEZ BUENO, C., RODRÍGUEZ CANO, A.F., SORIANO MARTÍNEZ, C., CARRERAS A. y OSORIO, D. (1990). Resultados estadísticos de veinte años de análisis de control de dopaje. *Archivos de Medicina del Deporte.* Vol **VII**: 17-23.
- RODRÍGUEZ BUENO, C., RODRÍGUEZ, A.F., CARRERAS, D., AYNAR, K.L., CORTÉS, R. y MAYNAR, M. (1991). Modificación de las tendencias de abuso de los diferentes tipos de agentes dopantes. *Archivo de Medicina del Deporte.* Vol **VIII**, Nº **32**: 411-416.
- RODRÍGUEZ JERÉZ, A. (1992). Modificaciones cardiovasculares. En: Fisiología de la actividad física y el deporte" (GONZÁLEZ GALLEGO, J. ed). Madrid. McGraw-Hill Interamericana de España, pp.: 191-196.
- ROSE, L.I., BOUSSER, J.E. y COOPER, K.H. (1970). Serum enzymes after marathon running. *J. Appl. Physiol.* **29**: 355-357.
- ROSE, R.J. (1986). Endurance exercise in the horse: a review. *Brit. Vet. J.* **142**: 532-552.
- ROTHWELL, N.J. y STOCK, M.J. (1988). Effect of selective  $\beta$ -adrenergic agonist on energy balance and body composition in normal and protein deficient rats. *Biosci. Rep.* **7**: 933-940.
- ROY, A., DOYON, M., DUMESNIL, J.G. y COL. (1988). Endurance vs. strength training: comparison of cardiac structures using normal predicted values. *Can. J. Appl. Physiol.* **64**: 2552-2557.
- RUSSELL, D.H. (1981). Posttranslational modification of ornithine decarboxylase by its product putrescine. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **99**: 1167-1172.
- RUTTER, N., MILNER, A.D. y HILLER, E.J. (1975). Effects of bronchodilators on respiratory resistance in infants and young children with bronchiolitis and wheezy bronchitis. *Arch. Dis. Child.* **50**: 719-722.

- SAINZ, R.D. y WOLFF, J.E. (1988). Effects of the agonist, cimaterol, on growth, body composition and energy expenditure in rats. *Br. J. Nutr.* **60**: 85-90.
- SALTIN, E., HENRIKSSON, J., NYGAARD, E., ANDERSEN, P. y JANSSON, E. (1977). Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. *Annals N.Y. Acad. Sci.*
- SCHEIDEGGER, K., ROBBINS, D.C. y DANFORTH, E.JR. (1984). Effects of chronic beta receptor stimulation on glucose metabolism. *Diabetes* **33**: 1144-1149.
- SCHEUER, J. (1982). Effects of physical training on myocardial vascular and perfusion. *Circulation* **66**: 491-495.
- SCHEUER, J., y TIPTON, C.M. (1977). Cardiovascular adaptations to training. *Ann. Rev. Physiol.* **39**: 221-251.
- SCHLANG, H.A. y KIRKPATRICK, C.A. (1961). The effect of physical exercise on serum transaminase. *Am. J. Sci.* **242**: 338-342.
- SCHRIEWER, H., JUNG, K., EMKE, F. y ASSMANN, G. (1985). Observations of HDL components in female probands following an ultra-long distance run of 100 miles. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **23**: 21-25.
- SCHUETZ, W., TRAEGER, K., ANHAEUPL, T., SCHANDA, S., RAGER, C., VOGT, J. y GEORGIEFF, M. (1995). Adjustment of metabolism, catecholamines and  $\alpha$ -adrenoceptors to 90 min of cycle ergometry. *Eur. J. Appl. Physiol.* **70**: 81-87.
- SEGURA, J. (1995). Sustancias de abuso en la práctica deportiva. En: Drogas y deporte: Farmacología del Doping. (MEANA, J.J. Y BARTUREN, F. eds.) Universidad de Deusto. Bilbao. pp.: 43-63.
- SIEST, G. y GALTEAU, M.M. (1974). Variations of plasmatic enzymes during exercise. *Enzyme* **17**: 179-195.
- SILLENCE, M.N., HUNTER, R.A., PEGG, G.G., BROWN, L., MATTHEWS, M.L., MAGNER, T., SLEEMAN, M. y LINDSAY, D.B. (1993). Growth, nitrogen metabolism, and cardiac responses to clenbuterol and ketoclenbuterol in rats and underfed cattle. *J. Anim. Sci.* **71**: 2942-2951.
- SILLENCE, M.N., MATTHEWS, M.L., SPIERS, W.G., PEGG, G.G. y LINDSAY, D.B. (1991). Effects of clenbuterol, ICI118551 and sotalol on the growth of cardiac and skeletal muscle and on  $\beta_2$ -adrenoceptor density in female rats. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.* **344**: 449-453.
- SINK, K.R., THOMAS, T.R., ARAUJO, J. y HILL, S.F. (1989). Fat energy use and plasma lipid changes associated with exercise intensity and temperature. *Eur. J. Appl. Physiol.* **58**: 508-513.
- SKINNER, E. R., WATT, C. y MAUGHAN, R. J. (1987). The acute effects of marathon running on plasma lipoproteins in female subjects. *Sports Med.* **5**: 321-325.
- SLOTKIN, T.A., LAU, C. y BARTOLOME, J.W. (1976). Effects of neonatal or maternal metadone administration on ornithine decarboxylase activity in brain and heart of developing rats. *J. Pharm. Exp. Ther.* **199**: 141-148.
- SLOTKIN, T.A., SEIDLER, F.J., TREPANIER, P.A., WHITMORE, W.L., LEREA, L., BARNES, G.A., WEINGEL, S.J. y BARTOLOME, J. (1982). Ornithine decarboxylase and polyamines in tissues of the neonatal rats: effects of alfa-difluoromethylornithine, a specific irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. *J. Pharm. Exp. Ther.* **222**: 741-745.
- SLOTKIN, T.A., WHITMORE, W.L., ORBAND-MILLER, L., QUEEN, K.L. y HAIM, K. (1987). Beta adrenergic control of macromolecule synthesis in neonatal rat heart, kidney and lung: relationship to sympathetic neuronal development. *J. Pharm. Exp. Ther.* **243**: 101-109.
- SNOW, D. y GUY, P.S. (1980). Muscle fibre type composition of a number of limb muscles in different types of horse. *Res. Vet. Sci.* **28**: 137-144.
- SPANN, C. y WINTER, M. E. (1995). Effect of clenbuterol on athletic performance. *Ann. Pharmacother.* **29**: 75-77.

- STOKES, G.M., MILNER, A.D., HODGES, Y.G.C., HENRY, R.L. y ELPHICK, M. C. (1983). Nebulised therapy in acute severe bronchiolitis in infancy. *Arch. Dis. Child.* **58**: 279-282.
- SYMONDS, M.E., ROE, J.A., HEYWOOD, C.M., HARPER, J.M. y BUTTERY, P.J. (1990).  $\beta$ -Adrenoceptors and the effect of  $\beta$ -agonists on protein metabolism in ovine primary muscle cultures. *Biochem. Pharmacol.* **40**: 2271-2276.
- SZENTKUTI, V.L. y SCHLEGEL, O. (1985). Genetical and functional influences on fiber type composition and fiber diameter in *M. longissimus dorsi* and *M. semitendinosus* of pigs. Studies on exercised domestic pigs and wild pigs kept under restricted mobility. *Dtsch.Tierärztl. Wschr.* **92**: 93-97.
- TABOR, C.W. y TABOR, H. (1984). Polyamines. *Ann. Rev. Biochem.* **53**: 749-790.
- TIPNIS, U.R., FRASIER-SCOTT, K. y SKIERA, C. (1989a). Isoprenaline induces changes in ornithine decarboxylase activity and polyamine content in regions of the rat heart. *Cardiovas. Res.* **23**: 611-619.
- TIPNIS, U.R., STEINER, A.L., SKIERA, C. y HADDOX, M.K. (1989b). Immunolocalization of ornithine decarboxylase in rat heart atria. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **21**: 743-750.
- TIPTON, C.M. (1984). Exercise and resting blood pressure. In: Exercise and health. (ECKERT, H.M. Y MONTOYE, H.J. eds.). Human Kinetics, Champaign.
- TORGAN, C.E., BROZINICK, J.T., BANKS, E.A., CORTEZ, M.Y., WILCOX, R.E. e IVY, J.L. (1993). Exercise training and clenbuterol reduce insulin resistance of obese Zucker rats. *Am. J. Physiol.* **264**: E373-E379.
- TORGAN, C.E., ETGEN, G.J., BROZINICK, J.T., WILCOX, R.E., e IVY, J.L. (1993). Interaction of aerobic exercise training and clenbuterol: effects on insulin-resistant muscle. *J. Appl. Physiol.* **75**: 1471-1476.
- TRAN, Z.V., WELTMAN, A., GLASS, G.V. y MOOD, D.P. (1983). The effects of exercise on blood lipids and lipoproteins: A meta-analysis of studies. *Med. Sci. Sports Exerc.* **15**: 393-402.
- TSE, J., POWELL, J.R., BASTE, C.A., PRIEST, R.E. y KUO, J.F. (1979). Isoproterenol-induced cardiac hypertrophy: modifications in characteristics of  $\beta$ -adrenergic receptor, adenylate cyclase, and ventricular contraction. *Endocrinology* **105**: 246-255.
- VAN DER MEULEN, J.H., KUIPERS, H. y DRUKKER, J. (1991). Relationship between exercise-induced muscle damage and enzyme release in rats. *J. Appl. Physiol.* **71**: 999-1004.
- VANBELLE, M. (1991). Les avantages et les inconvénients de l'utilisation des beta-agonistes dans la production animale. *Bull. Acad. Vet. France.* **64**: 55-74.
- VILA, L. (1996). Efecto del etanol y ejercicio en el músculo esquelético de rata. Tesis Doctoral. Facultad de Biología. Universidad de León.
- VILLA, J.G. (1992). Influencia del ejercicio físico sobre los mecanismos de formación de la bilis y el transporte hepatobiliar de aniones orgánicos en la rata. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- VIRU, A. (1984). The mechanism of training effects: a hypothesis. *Int. J. Spor. Med.* **5**: 219-227.
- WALDECK, B. y WILDMARK, E. (1985). Steric aspects of agonism and antagonism  $\beta$ -adrenoceptor. Experiment with the enantiomers of clenbuterol. *Acta Pharm. Toxicol.* **56**: 221-227.
- WARNICA, J.W., ANTONY, P., GIBSON, K. y HARRIS, P. (1975). The effect of isoprenaline and propranolol on rat myocardial ornithine decarboxylase. *Cardiovasc. Res.* **9**: 793-796.
- WARRISS, P.D., BROWN, S.N., ROLPH, T.C. y KESTIN, S.C. (1990a). Interactions between the beta-adrenergic agonist salbutamol and genotype on meat quality in pigs. *J. Anim. Sci.* **68**: 3669-3676.
- WARRISS, P.D., KESTIN, S.C., ROLPH, T.P. y BROWN, S.N. (1990b). The effects of the beta-adrenergic agonist salbutamol on meat quality in pigs. *J. Anim. Sci.* **68**: 128-136.
- WATT, P.W., FINLEY, E., CORK, S., CLEGG, R.A. y VERNON, R.G. (1991). Chronic control of the  $\beta$ - and  $\beta_2$ -adrenergic systems of sheep adipose tissue by growth hormone and insulin. *Biochem. J.* **273**: 39-42.

- WEBB, J., REES, J. y CLARK, T.J.H. (1982). A comparison of the effects of different methods of administration of  $\beta_2$  sympathomimetics in patients with asthma. *Br. J. Dis. Chest.* **76**: 351-357.
- WILLIS, W.T., DALLMAN, P.R. y BROOKS, G.A. (1988). Physiological and biochemical correlates of increases work in trained iron-deficient rats. *J. Appl. Physiol.* **65**: 256-263.
- WONG, I.D., PAVORD, I., WILLIAMS, J., BRITTON, J.R. y TATTERSFIELDS, A.E. (1990). Bronchodilator, cardiovascular and hypocalaemic effects of fenoterol, salbutamol and terbutaline in asthma. *Lancet* **287**: 1391-1395.
- WOOD, P.D. y STEFANICK, M.L. (1990). Exercise, fitness and atherosclerosis. In: Exercise, fitness and health. A consensus of current knowlegde. (BOUCHARD, C. ed). *Human Kinetics Publishers.* pp.: 409-423.
- YANG, Y.T. y MCELLIGOTT, M.A. (1989). Multiple actions of  $\beta$ -adrenergic agonist on skeletal muscle and adipose tissue. *Biochem. J.* **261**: 1-10.
- ZEEMAN, R.J., LUDEMANN, R., EASTON, T.G. y ETLINGER, J.D. (1988). Slow to fast alterations in skeletal muscle fibers caused by clenbuterol, a  $\beta_2$ -receptor agonist. *Am. J. Physiol.* **254**: E726-E732.
- ZEPELLI, P., MERLINO, B., SANTINI, C., VANNICELLI, R., LA ROSA GANGI, M., PALMIERI, V. y CORBALÁN, J.A. (1989). Progresos en el conocimiento ecocardiográfico en el corazón del deportista. *Archivos de Medicina del Deporte.* **VI (23)**: 277-279.



## NORMAS DE PRESENTACIÓN PARA LA ADMISIÓN DE TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN<sup>1</sup>

1. Los trabajos breves o sumarios de investigación que se presenten deberán tener una extensión de 30 a 40 páginas (DIN-A-4, espaciado interlineal 1,5). Se recomienda seguir el esquema general de trabajos de investigación:
  - a) Introducción que exponga los fundamentos del trabajo y especifique claramente sus objetivos.
  - b) Descripción de las fuentes, métodos, materiales y equipos empleados en su realización.
  - c) Exposición de los resultados y discusión de los mismos.
  - d) Conclusiones finales. Deberá figurar con toda claridad:
    - Título completo del trabajo en castellano y su versión inglesa; y si se desea, también en francés.
    - Iniciales del nombre y apellidos de los autores.
    - Resúmenes del contenido, en castellano y en inglés, y si se desea, también en francés, de un mínimo de 100 y un máximo de 250 palabras, acompañados de las palabras clave que definan el contenido del trabajo (6 a 10, preferentemente extraídos del texto del trabajo).
    - Notas al pie de página o final del texto: Se acompañarán en anexo al final del texto, debidamente numeradas, indicándose en el texto el lugar al que hace referencia cada nota.
    - Referencias bibliográficas de obras citadas en el texto.
    - Ilustraciones: Según el tipo de ilustraciones que acompañen el trabajo (tablas, gráficas, fotografías, etc.), deben entregarse en la forma y en el soporte más apropiado para garantizar una óptima reproducción, así como en forma de copia o fotocopia impresa, en anexo al texto, debidamente numerados y acompañados del título o leyenda correspondiente. En el texto se indicará el lugar en el que, en principio, debería insertarse cada ilustración.
2. Indicación de ayudas percibidas por el C.S.D.: se indicarán el tipo y los años de ayuda percibida.
3. **Datos de los autores.** Los textos que se presenten para su publicación deben ir firmados por sus autores y acompañados de los datos completos de la institución o centro, dirección completa y teléfono de contacto de los mismos. Deberán enviar sus trabajos a la sede del CNICD, acompañados de una fotografía del autor y un breve currículum relacionado con la obra (máximo 10 líneas).
4. **Soportes de presentación.** El trabajo deberá entregarse en papel DIN-A4, por duplicado, con espacio interlineal de 1,5, en lengua castellana, y en disquete, grabado en un fichero con procesador de textos para MS-DOS: Word Perfect (v. 5.1), o ASCII, **sin códigos de formato del procesador de texto.**

<sup>1</sup> Extracto de la "Normativa General para la presentación de Trabajos" del Centro Nacional de Investigación y Ciencias del Deporte (CNICD).

5. Los perceptores de ayudas del C.S.D. que presenten sumarios de investigación de acuerdo con los requisitos y condiciones establecidos para su publicación por el Consejo Superior de Deportes (a través del Centro Nacional de Investigación y Ciencias del Deporte) cederán **por escrito** todos los derechos de autor y de reproducción del trabajo en cualquier tipo de soporte (incluidas microformas o bases de datos informatizadas) al C.S.D. y harán constar la aceptación de las presentes normas, haciendo uso del modelo establecido para el efecto.
6. Asimismo los autores asumirán expresamente el compromiso de realizar las modificaciones y correcciones necesarias en el caso de aprobarse la publicación, lo que se comunicará por escrito a los mismos.
7. El C.S.D. se reserva el derecho de publicación de los sumarios presentados, así como de su resumen, en el medio y momento que considere oportunos, en el marco de su programa editorial.
8. El C.S.D. remitirá a los autores cinco ejemplares de la publicación para su libre disposición.
9. En el caso de no publicarse el trabajo o sumario presentado en el plazo de dos años, el autor podrá solicitar del C.S.D. la devolución de los textos y materiales originales, quedando una copia en el CNID.
10. **Tratamiento automatizado de los datos.** A los efectos previstos en el artículo 5 de la Ley Orgánica 5/1992, de Regulación del Tratamiento Automatizado de los datos de carácter personal, los datos que se soliciten a los autores de trabajos a publicar por el C.S.D. podrán ser objeto de tratamiento automatizado. La responsabilidad del fichero automatizado corresponde al Centro Nacional de Investigación y Ciencias del Deporte del Consejo Superior de Deportes.

La admisión-aceptación de estos trabajos no implica obligatoriamente su publicación que, en cualquier caso, se decidirá por la Comisión de Investigación creada al efecto.

El C.S.D. no asumirá necesariamente las opiniones expresadas por los autores en los trabajos y sumarios de investigación que publique.

El Centro Nacional de Investigación y Ciencias del Deporte no se compromete a publicar trabajos que no reúnan los requisitos y normas marcados, ni su publicación supone que comparta las opiniones en ellos expresadas.

**Nota:** Estas normas se basan en normas ISO y normas UNE. Puede solicitarse su versión interna ampliada, así como el modelo oficial de cesión de derechos y aceptación de las bases, al:

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN  
EN CIENCIAS DEL DEPORTE  
C/ del Greco s/n  
28040 Madrid

Tel.: (91) 589 05 27/28  
Fax.: (91) 544 81 22

Colección:

## INVESTIGACION EN CIENCIAS DEL DEPORTE

- 1.- Análisis biomecánico de los lanzamientos en atletismo
- 2.- Adaptación hormonal e inmunológica al entrenamiento
- 3.- Indicadores para la detección de talentos deportivos
- 4.- Estructura ocupacional y mercado de trabajo en el deporte
- 5.- Patrocinio, comunicación y deporte I:  
La comercialización del deporte en una sociedad mediática
- 6.- Patrocinio, comunicación y deporte II:  
Publicidad y patrocinio en eventos deportivos
- 7.- Los deportistas olímpicos españoles: un perfil sociológico
- 8.- Métodos de estudio de composición corporal en deportistas
- 9.- Valores sociales y deporte
- 10.- Educación Física y práctica docente
- 11.- El deporte en las universidades españolas
- 12.- Análisis biomecánico de las técnicas deportivas
- 13.- Rendimiento deportivo: parámetros electromiográficos (EMG),  
cinemáticos y fisiológicos
- 14.- Nuevas perspectivas didácticas y educativas de la educación  
física
- 15.- Experiencias de formación de docentes y entrenadores en el  
ámbito de la actividad física y el deporte
- 16.- Investigación epistemológica: el campo disciplinar en  
Educación Física
- 17.- Control del dopaje. Aspectos analíticos de los esteroides  
anabolizantes



Consejo  
Superior de  
Deportes

ISBN 847949032-2



9 788479 490324

EAN 9788479490324