



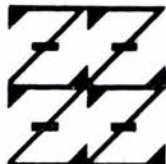
# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

EFFECTOS TOXICOS PRODUCIDOS POR EL USO DE  
HORMONAS PEPTIDICAS EN EL DEPORTE

**T E S I S**  
**MODALIDAD MONOGRAFICA**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A :  
**HAYDEE DE JESUS MARTINEZ**

U N A M  
F E S  
Z A R A G O Z A



LO HUMANO EJE  
DE NUESTRA REFLEXION

ASESORA M. en C. MA. TERESA GRISELDA FUENTES LARA

MEXICO, D.F.

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Jurado Asignado

Presidente: **Dr. Marco A. Rodríguez Medina**  
Vocal: **M en C. Ma. Teresa Griselda Fuentes Lara**  
Secretario: **Q.F.B. Ma. Del Rosario Benítez Velázquez**  
Suplente: **Q.F.B. Graciela Rojas Vázquez**  
Suplente: **Q.F.B. Enrique Escalera Zuñiga**

Asesor.



---

**M en C. Ma. Teresa Griselda Fuentes Lara**

Sustentante.



---

**Haydeé De Jesús Martínez**

Agradezco a la M en C. Griselda Fuentes  
por la paciencia e inteligencia con que  
supo encausarme para concluir este  
trabajo.

A todos los profesores que se ocuparon de  
mi formación profesional por su apoyo, asesoría,  
tolerancia y lo invaluable de sus conocimientos.

A la FES Zaragoza.

Gracias.

Agradezco infinitamente a mis padres Delfina Martínez y Eutiquio De Jesús por haberme motivado e impulsado a lograr mis objetivos, por su amor, apoyo y comprensión, por confiar y tener la seguridad de que éste sueño se haría realidad. Gracias a ustedes he logrado todo lo que soy. Que Dios los bendiga y cuide siempre.

Agradezco a Omar Chávez, Mónica Aguilar, Ana Lucina, Helen Jaramillo, América Orellana, Jenny García, Laura Ramírez, María de Jesús, Adolfo Anaya, Leticia Hernández y a todos aquellos que he omitido, por su valiosa amistad, su apoyo incondicional, su entusiasmo contagioso y su buena vibra.

Mil G r a c i a s.

## INDICE.

CONTENIDO	PÁGINAS
<b>Introducción</b> .....	1
<b>Objetivos</b> .....	4
<b>Planteamiento del problema</b> .....	5
<b>Importancia del estudio</b> .....	6
<b>1 CLASIFICACIÓN DE LAS HORMONAS</b> .....	7
1.1 Generalidades.....	7
1.2 Naturaleza de una Hormona.....	7
1.3 Secreción, transporte y eliminación de las hormonas.....	9
1.4 Receptores Hormonales y su activación.....	10
1.5 Medición de la concentración de hormonas en sangre.....	11
<b>2 ERITROPOYETINA (EPO)</b> .....	12
2.1 Origen.....	12
2.2 Mecanismo de Acción.....	13
2.3 Uso en el deporte.....	14
<b>3 INSULINA</b> .....	16
3.1 Origen.....	16
3.2 Mecanismo de acción.....	17
3.3 Uso de insulina en el deporte.....	18
<b>4 GONADOTROPINAS</b> .....	20
4.1 Gonadotropina Coriónica Humana (hCG).....	20
4.1.1 Origen.....	20
4.1.2 Mecanismo de acción.....	20

4.2	Hormona Luteinizante LH y Folículo Estimulante FSH.....	21
4.2.1	Origen.....	21
4.2.2	Mecanismo de Acción.....	22
4.2.3	Testosterona.....	23
4.2.4	Efectos de la Testosterona.....	24
4.2.5	Mecanismo de Acción.....	25
4.2.6	Uso de la hCG y LH en el deporte.....	25
5	<b>HORMONA DEL CRECIMIENTO (GH)</b> .....	28
5.1	Origen.....	28
5.2	Mecanismo de Acción.....	29
5.3	Uso de la GH en el deporte.....	32
6	<b>MÉTODOS DE ANÁLISIS Y CONTROL ANTIDOPAJE</b> .....	34
6.1	Control Antidopaje.....	34
6.2	Métodos de Análisis.....	35
6.2.1	Métodos de Análisis Presuntivos.....	35
6.2.1.1	Raidioinmunoanálisis (RIA).....	36
6.2.1.2	Variantes del RIA en Fase sólida.....	37
6.2.1.3	Enzimoimunoanálisis (EIA o ELISA).....	38
6.2.1.4	Focalización isoelectrica.....	39
6.2.1.5	Inmunotransferencia.....	40
6.2.1.6	Cromatografía en fase reversa (RCP).....	41

6.3.1 Métodos de análisis Confirmativos.....	43
6.3.1.1Cromatografía líquida de alta presión acoplada a Espectrometría de masas.....	43
7. ASPECTOS ÉTICOS Y PREVALENCIA DEL ABUSO DE HORMONAS PEPTÍDICAS EN EL DEPORTE.....	45
8. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	48
9. CONCLUSIONES.....	51
10. GLOSARIO.....	53
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
12. ANEXO 1.....	58



## INTRODUCCIÓN.

A través de los tiempos el hombre ha buscado elementos y sustancias que le proporcionen mejores condiciones de vida. Además, siempre ha sido competitivo y busca elementos que mejoren de alguna forma su lucha por la vida, sea en su trabajo, en la guerra y por supuesto también en el deporte. En Grecia en los primeros Juegos Olímpicos, los corredores de fondo tomaban una “cocción de plantas” antes de la competencia y hasta se sometía a los atletas a extirpaciones viscerales, como la resección del bazo, cauterizaciones, etcétera; porque se tenía la creencia de que de esta forma se mejoraba el rendimiento físico en la competencia.<sup>1</sup>

En 1865 se tiene el primer registro de un caso de dopaje de un nadador inglés; a partir de aquí comienza a incrementar el dopaje en las diferentes disciplinas deportivas: Atletismo (1879), ciclismo con un primer caso mortal (1886), en fútbol (1908) y boxeo (1910).<sup>1</sup>

Todo esto llevó, a prohibir entre los atletas el empleo de sustancias o de prácticas mutilantes a fin de mejorar artificialmente sus condiciones físicas. Desde entonces hay innumerables publicaciones de sustancias utilizadas para mejorar su rendimiento, empezando por la cocaína, la morfina, cafeína, etc. Las que luego fueron reemplazadas por la niquetamida, cardiazol y la efedrina, después por las anfetaminas y en los últimos tiempos por los esteroides anabólicos, sin embargo, éstos últimos son de las sustancias más conocidas por todas las federaciones deportivas, por esta razón los atletas utilizan actualmente otro tipo de sustancias que de igual manera mejoran su desempeño físico en cuanto a fuerza, velocidad y resistencia.

Son las **Hormonas peptídicas** quienes actualmente han tenido gran prevalencia en el ámbito deportivo, desde finales de los 80's. En 1989 la comisión médica del Comité Olímpico Internacional introdujo esta nueva clase de sustancias dopantes las cuales incluyen: Gonadotropina Coriónica humana (hCG), Hormona del crecimiento (GH), y Eritropoyetina (EPO), por ser las hormonas de las que se tenían mayor porcentaje de uso.<sup>30</sup>

Actualmente se publicó una nueva lista de sustancias prohibidas, propuesta en Lausana, Suiza el 27 de septiembre del 2003, para su ejercicio a partir de enero del 2004, por parte de la Comisión antidopaje, la Agencia Mundial Antidopaje (WADA) y adoptada por la comisión médica del Comité Olímpico Internacional (COI), considera la siguiente clasificación:<sup>56</sup>

- S1. Estimulantes
- S2. Narcóticos
- S3. Canabinoides
- S4. Agentes anabólicos (esteroides anabólicos androgénicos)
- S5. Hormonas peptídicas**
- S6. Beta-2 Agonistas

- S7. Agentes con actividad anti-oestrogénica
- S8. Agentes Enmascarantes
- S9. Glucocorticosteroides

### **Métodos prohibidos**

- M1. Mejoramiento del transporte de oxígeno (Dopaje sanguíneo, Administración Artificial de transportadores de oxígeno).
- M2. Manipulación Química, Física o Farmacológica
- M3. Dopaje Genético

Siendo de nuestro interés el grupo **S5** que incluye las siguientes hormonas:

1. **Gonadotropina coriónica humana** (hCG) prohibida en hombres únicamente
2. **Gonadotropinas sintéticas y pituitaria** (LH) prohibidas únicamente en hombres.
3. **Hormona del crecimiento** (GH) e **insulina ligada a factor de crecimiento** (IGF-I).
4. **Insulina.**
5. **Eritropoyetina** (EPO)

Este grupo favorece la producción de hormonas anabolizantes y estimula la producción de eritrocitos, los deportes en que más comúnmente se utilizan son fisicoconstructivismo, Triatlón, Básquetbol, Voleibol, Ciclismo.<sup>56, 60</sup>

De acuerdo con el Comité Olímpico Internacional, el **dopaje** (o doping en inglés) es: “El uso de un artificio (sustancia o método) potencialmente peligroso para la salud de los deportistas y/ o susceptible de mejorar su rendimiento o la presencia en el organismo de un deportista, o la constatación de un método que figure en la lista anexa al Código Antidopaje del Movimiento Olímpico” Conferencia Mundial sobre el dopaje en el deporte, declaración de Lausana Suiza, (1996).

El dopaje es altamente negativo para el deporte. Por su naturaleza desleal constituye un acto reprobable, opuesto a los más elementales principios deportivos. Además de ser fraudulento y por lo tanto punible, atenta contra la formación moral del individuo y contra su salud física, poniendo en riesgo la propia vida.<sup>33</sup>

En México existen muy pocos estudios que aborden el tema de los efectos tóxicos que causan el uso de hormonas peptídicas en el deporte; por lo tanto no hay suficiente información que ponga al tanto a los deportistas sobre el riesgo que corren al hacer uso de éstas. Debido a esta falta de información entre los atletas es que existe el problema del dopaje con las hormonas peptídicas además de la creencia de que proveen los efectos benéficos de los esteroides anabólicos sin sus efectos adversos y con menor riesgo de detección.

Lo anterior, respalda la realización de una investigación sobre este tema en el que se ven relacionadas diversas disciplinas del área de la salud como la farmacología, bioquímica y medicina del deporte para poder describir así los efectos tóxicos producidos por el uso inadecuado de dichas hormonas.

Para llevar a cabo esta investigación se consultaron libros, revistas especializadas, e internet. Todo esto siguiendo el método de investigación documental, monográfico y descriptivo.

## **OBJETIVOS.**

### **Objetivo general:**

- Investigar la participación de las hormonas peptídicas, usadas para el mejoramiento del desempeño físico en los atletas, así como los efectos adversos que pueden provocar.

### **Objetivos particulares:**

- Describir las características farmacológicas de las principales hormonas peptídicas utilizadas en el ámbito deportivo.
- Investigar bibliográficamente los efectos fisiológicos (benéficos y tóxicos) producidos en los deportistas.
- Describir algunas técnicas analíticas utilizadas para la detección de las hormonas peptídicas.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Debido a la intensidad en la rivalidad deportiva tanto en el plano nacional como en el internacional, y las ventajas sociales y económicas que los éxitos deportivos proporcionan, conducen a los atletas a usar diversos agentes farmacológicos y algunos procedimientos (doping sanguíneo, administración de oxígeno) prohibidos por el Comité Olímpico Internacional (COI); los cuales están destinados a aumentar artificialmente el rendimiento del deportista.<sup>15</sup>

Existe un gran número de sustancias, que debido a los supuestos efectos benéficos producidos en el organismo se usan frecuentemente; los anabólicos esteroideos son de las sustancias más conocidas por el COI, debido a la incidencia que existe cuando un atleta da positivo en sus pruebas de laboratorio. Es por esta razón que los atletas actualmente utilizan otro tipo de sustancias que de igual manera mejoran su desempeño físico en cuanto a fuerza, velocidad y resistencia.<sup>43</sup> Son las **Hormonas peptídicas** quienes tienen gran prevalencia en el ámbito deportivo desde principios de los años 90's, el motivo principal por el cual se ha incrementado el dopaje con hormonas peptídicas, radica en la dificultad que se tiene para su detección, ya que son sustancias secretadas endógenamente por el organismo y posee particular problema en cuanto al desarrollo de un método satisfactorio para su detección en muestras de orina.<sup>18</sup>

Por tal motivo el COI y la Agencia Mundial Anti-Doping (WADA) se han dado a la tarea de investigar alternativas analíticas que permitan la detección de estas hormonas en sangre, suero o plasma, valiéndose para ello de ensayos inmunoenzimáticos como el Radioinmunoanálisis (RIA) y otras técnicas como, Espectrofotometría de masas, y algunas técnicas cromatográficas, etc., contribuyendo así a su detección.<sup>48</sup>

## **IMPORTANCIA DEL ESTUDIO.**

El problema del doping con hormonas peptídicas se debe a la falta de información entre los atletas, y son utilizadas debido a la creencia de que proveen los efectos benéficos de los anabólicos esteroideos sin sus efectos adversos y con mucho menor riesgo de detección por medio del dopaje.

Esta creencia conlleva a la administración de dichas sustancias sin tomar en cuenta que existe un gran riesgo sobre su salud y que los efectos adversos son generalmente irreversibles.

Dado que la salud es una condición indispensable para el bienestar de la población, y en este caso, de los atletas; es importante crear conciencia entre la élite deportista, de que el uso de sustancias hormonales tiene como consecuencia severos problemas fisiológicos a nivel: cardiovascular, hepático, músculo esquelético, endocrinológico, hematológico y psicológico entre otros. Por lo anterior es de vital importancia llevar un estricto control del dopaje hormonal.

La finalidad del presente estudio es la investigación y análisis de los efectos tóxicos reportados por la administración de hormonas peptídicas; así como las técnicas analíticas empleadas para su detección.

## I. CLASIFICACIÓN DE LAS HORMONAS.

### 1.1 GENERALIDADES

A continuación se describirán algunas características generales de las hormonas sobre las funciones en el organismo.

Las funciones del organismo están reguladas principalmente por dos sistemas de control:

- A) El sistema nervioso
- B) Las hormonas o el sistema endocrino.

Las hormonas se encargan de controlar las funciones metabólicas del cuerpo regulando la velocidad de las reacciones químicas en las células, el transporte de sustancias a través de las membranas celulares y otros aspectos del metabolismo celular como crecimiento y secreción. Algunos efectos hormonales ocurren en segundos, mientras que otros requieren varios días sólo para empezar y luego continúan por semanas, meses e incluso años.

### 1.2 NATURALEZA DE UNA HORMONA.

Una hormona es una sustancia química secretada en los líquidos corporales por una glándula de secreción interna o externa y que ejerce un efecto de control fisiológico sobre las células del organismo.

Las hormonas se pueden clasificar como Hormonas locales (por ejemplo, secretina, liberada en la parte del duodeno y transportada en la sangre al páncreas para estimular la liberación de una secreción pancreática acuosa y alcalina). Es evidente que estas hormonas tienen efectos locales específicos y de allí el nombre de hormonas locales.

El otro grupo denominado hormonas generales son secretadas por glándulas endocrinas específicas que se ubican en diferentes sitios del cuerpo. Estas hormonas se vierten a la sangre y causan acciones fisiológicas en tejidos distantes. Unas pocas hormonas generales afectan todas o casi todas las células del cuerpo; algunos ejemplos son: *la hormona del crecimiento* proveniente de la adenohipófisis y *la hormona tiroidea* de la glándula tiroidea.

Sin embargo, otras hormonas generales afectan principalmente tejidos específicos; por ejemplo, la corticotropina (ACTH) de la hipófisis anterior, que estimula específicamente la corteza suprarrenal, y las hormonas ováricas que muestran efectos específicos sobre el endometrio uterino. Los tejidos afectados de manera específica se denominan órganos efectores.

Existen tres clases generales de hormonas:

1. Proteínas y polipéptidos, como las hormonas secretadas por la adenohipófisis, la neurohipófisis, el páncreas (insulina y glucagón) y la glándula paratiroidea, además de muchas otras.
2. Esteroides, secretados por la corteza suprarrenal (cortisol y aldosterona), los testículos (testosterona) y la placenta (estrógenos y progesterona).
3. Derivados de aminoácido tirosina, secretada por la glándula tiroidea (tiroxina y triyodotironina).

La mayoría de las hormonas del organismo son polipéptidos y proteínas. Su tamaño oscila entre el de un pequeño polipéptido formado por tan solo 3 aminoácidos (hormona liberadora de tiotropina) y el de proteínas de hasta 200 aminoácidos de longitud (hormona de crecimiento y prolactina).<sup>22</sup>

En general, los polipéptidos con 100 o más aminoácidos se denominan proteínas, mientras que aquellos que cuentan con menos de 100 reciben el nombre de péptidos.

Las hormonas proteicas y peptídicas se sintetizan en el extremo rugoso de retículo endoplásmico de las distintas células endocrinas de la misma forma que las demás proteínas.<sup>26</sup>

Al principio se sintetizan como proteínas de gran tamaño sin actividad biológica (pre-prohormonas) y se escinden en el retículo endoplásmico formando prohormonas de menor tamaño, estas a su vez se transfieren al aparato de Golgi, donde se encapsulan en vesículas secretoras. En este proceso, las enzimas de las vesículas escinden las prohormonas de forma que se producen hormonas más pequeñas con actividad biológica y fragmentos inactivos. Las vesículas se almacenan en el citoplasma y muchas de ellas se unen a la membrana celular hasta que se necesita su secreción. Las hormonas y los fragmentos inactivos se secretan cuando las vesículas secretoras se funden con la membrana celular y el contenido del granulo entra en el líquido intersticial o directamente en el torrente sanguíneo mediante *exocitosis*. Las hormonas peptídicas son hidrosolubles, cualidad que les permite entrar con facilidad en la circulación para su transporte en los tejidos en los que actúan.

Las hormonas esteroideas se sintetizan normalmente a partir del colesterol. Son liposolubles y están formadas por el ciclopentano perhidrofenantreno.



Aunque las células endocrinas secretoras de esteroides apenas almacenan hormonas, tras un estímulo adecuado resulta posible movilizar los grandes depósitos de ésteres de colesterol de las vacuolas del citoplasma para la síntesis de esteroides. Gran parte del colesterol de las células productoras proviene de esteroides procedentes del plasma, aunque también se sintetiza colesterol de novo. Dado que los esteroides son muy liposolubles, una vez sintetizados, difunden a través de la membrana celular y penetran en el líquido intersticial y, a continuación, en la sangre.

### 1.3 SECRECIÓN, TRANSPORTE Y ELIMINACIÓN DE LAS HORMONAS.

El inicio y duración de la acción es distinto en cada hormona, las concentraciones necesarias de las hormonas para controlar casi todas las funciones metabólicas y endocrinas son increíblemente reducidas. Sus concentraciones en sangre oscilan entre tan solo 1.0 picogramo (pg) en cada mililitro de sangre y, como mucho algunos microgramos por mililitro de sangre.

El control de la secreción hormonal se da por retroacción negativa que impide la hiperactividad de los sistemas hormonales garantizando un nivel de actividad adecuado en el órgano blanco.

Debido al carácter hidrosoluble de las hormonas peptídicas, estas circulan libres en el plasma (figura 1) y son transportadas desde su origen hasta su tejido blanco, donde difunden desde los capilares pasando al líquido intersticial y, en última instancia, a las células diana.

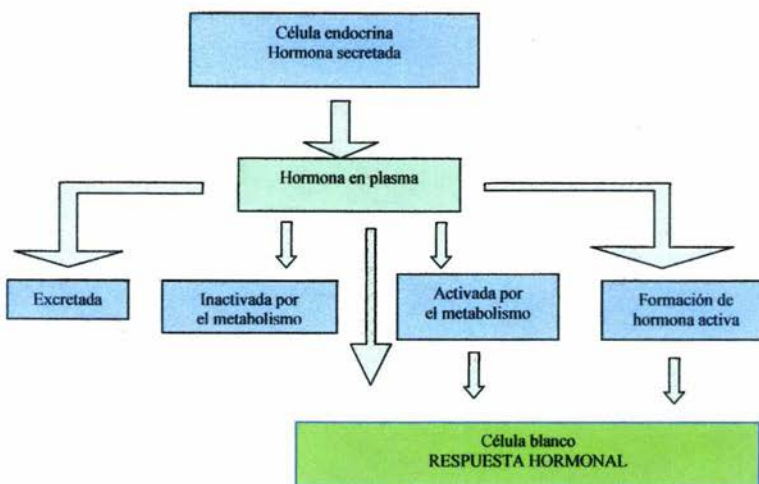


Figura 1. Posible destino de una hormona después de su secreción.<sup>52</sup>

Por otra parte las hormonas esteroideas circulan en la sangre unidas a las proteínas plasmáticas. No obstante este tipo de unión no permite que difundan bien a través de los capilares y no pueden acceder a sus células diana, por lo que carecen de actividad biológica hasta que se disocian de las proteínas plasmáticas.

Las hormonas se *eliminan* del plasma de diversas maneras como:

1. Destrucción metabólica por los tejidos
2. Unión a los tejidos
3. Excreción hepática en la bilis
4. Excreción renal en la orina.

Debido a que casi todas las hormonas peptídicas son hidrosolubles, se degradan en la sangre y los tejidos por acción enzimática y se excretan con rapidez por los riñones y el hígado, por lo que permanecen muy poco en la sangre.<sup>22</sup>

Las hormonas esteroideas se eliminan de la sangre con una velocidad mucho menor y a veces permanecen en la circulación durante varias horas o incluso días

#### **1.4 RECEPTORES HORMONALES Y SU ACTIVACIÓN.**

La acción de una hormona comienza con su unión a un receptor específico de la célula blanco. Las células que carecen de receptores para las hormonas no responden. Los distintos tipos de receptores hormonales se encuentran de ordinario en los siguientes puntos:

1. *En o sobre la superficie de la membrana celular.* Los receptores de membrana son específicos sobre todo de las hormonas proteicas, peptídicas.
2. *En el citoplasma celular.* Casi todos los receptores de las distintas hormonas esteroideas se encuentran en el citoplasma.
3. *En el núcleo celular.* Receptores de hormonas tiroideas y se cree que están unidos a varios cromosomas.

Cuando las hormonas se combinan con su receptor, se desencadena una cascada de reacciones en la célula, de forma que, hasta una reducida concentración de la hormona puede ejercer un gran efecto.

Los receptores hormonales son proteínas de gran tamaño y cada célula estimulada posee habitualmente entre 2000 y 100 000 receptores, además, cada receptor suele ser muy específico para una única hormona, lo que determina el tipo de hormona que actuará en el tejido concreto. <sup>24</sup>

### **1.5 MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LAS HORMONAS EN SANGRE.**

La cantidad de la mayoría de las hormonas en la sangre es minúscula y a veces se detectan concentraciones de tan solo 1.0 pg/mL. Por consiguiente resulta muy complicado medir estas concentraciones con los medios químicos tradicionales. No obstante desde hace algunos años se han estado desarrollando métodos sumamente sensibles que revolucionaron la medición de las hormonas, precursores y productos finales de su metabolismo. <sup>28, 34</sup> Más adelante se hablara en detalle de los métodos usados para la detección y medición de las hormonas de nuestro interés.

No existen otros esfuerzos normales con capacidad para poner a prueba el organismo que se aproximen siquiera a los esfuerzos extremos que exige la realización de un ejercicio físico intenso, es por ello que muchos atletas de alto rendimiento han optado por el consumo de sustancias hormonales para aumentar de manera indudable su rendimiento durante los eventos deportivos con la sola intención de ganar e imponer marcas; sin tomar en cuenta los graves riesgos a los que se exponen. <sup>50</sup>

A continuación se describirán las características, farmacológicas y los efectos tóxicos de las hormonas peptídicas más utilizadas en el ámbito deportivo.

## 2. ERITROPOYETINA (EPO).

Cuando un individuo sangra o se vuelve hipóxico, se incrementa la síntesis de hemoglobina y aumenta la producción y liberación de eritrocitos de la médula ósea (eritropoyesis). Por el contrario cuando el volumen de eritrocitos se incrementa por arriba de lo normal mediante transfusiones, la actividad eritropoyética de la médula ósea disminuye. Estos ajustes ocurren por cambios en los niveles circulantes de **eritropoyetina**, una glucoproteína circulante, con un peso molecular aproximado de 34 KD, termoestable, no dializable formada por los 165 residuos de aminoácidos y cuatro cadenas de oligosacáridos que son necesarios para su actividad *in vivo*. La EPO tiene una actividad de 7 000 unidades\* (U) por miligramo de proteína. El plasma normal contiene entre 3 y 9 mU de EPO por mililitro de plasma.<sup>36</sup> La eritropoyetina también suele encontrarse en la orina en concentraciones proporcionales a las del plasma, por lo regular cerca de 1 - 4 mU/mL. La concentración sanguínea de esta hormona se incrementa en forma notoria en la anemia.<sup>42</sup>

### 2.1 ORIGEN.

Casi el 90% de toda la EPO de una persona sana se forma en los riñones; el resto se forma principalmente en el hígado. Ambos órganos contienen ácido ribonucleico mensajero (mRNA) para la eritropoyetina, que puede extraerse del bazo y de las glándulas salivales pero estos tejidos no contienen mRNA y en consecuencia no parecen fabricar la hormona. En los adultos la eritropoyetina se produce en las células intersticiales en el lecho capilar peritubular renal y en los hepatocitos perivenosos hepáticos.

Durante la vida fetal y neonatal, el principal sitio de eritropoyesis es el hígado y también es el sitio principal de producción de eritropoyetina antes de que la eritropoyesis ocurra en la médula ósea y el riñón controle la producción de eritropoyetina.

El estímulo para la secreción de eritropoyetina es la hipóxia, evidencias recientes sugieren que el sensor de oxígeno, regulador de la secreción de la eritropoyetina en los riñones hígado es una proteína con grupo hem que en forma de dióxido estimula y en su forma de óxido inhibe la transcripción a mRNA del gen de eritropoyetina.

A veces la hipóxia de otras partes del cuerpo, pero no de los riñones, puede también estimular la secreción de eritropoyetina, lo cual sugiere la existencia de algún sensor extrarrenal que envía señales adicionales a los riñones para producir esta hormona. La noradrenalina, adrenalina y varias prostaglandinas estimulan la producción de eritropoyetina.<sup>22</sup>

Cuando se extirpan los dos riñones o una enfermedad renal los destruye, aparece siempre una anemia intensa, porque el 10% de la eritropoyetina normal formada en otros tejidos (sobre todo en el hígado) sólo permite la formación de una tercera parte a la mitad de los eritrocitos necesarios para el organismo.<sup>2</sup>

\*Glosario

Se produce eritropoyetina recombinante, que se encuentra disponible para uso clínico como *epoetina  $\alpha$* . La eritropoyetina recombinante tiene valor en el tratamiento de la anemia asociada con insuficiencia renal; 90% de los pacientes con nefropatía en etapa terminal que se someten a diálisis están anémicos por la deficiencia de eritropoyetina.<sup>25</sup>

La *eritropoyetina  $\alpha$*  o *epoetina  $\alpha$*  se presenta en viales de 1000, 2000, 3000, 4000 y 10000 UI\* (Unidades Internacionales). La dosificación es variable y oscila entre 25 y 200 UI/ Kg tres veces por semana por vía parenteral controlando el valor de Hematocrito o la concentración de hemoglobina en sangre.<sup>53</sup>

## 2.2 MECANISMO DE ACCIÓN.

La eritropoyetina incrementa la cantidad de células progenitoras comprometidas sensibles a eritropoyetina que se encuentran en la médula ósea y se convertirán en precursores eritrocíticos y después a eritrocitos maduros. Cuando una persona se encuentra en una atmósfera poco oxigenada, comienza a formar eritropoyetina en unos minutos u horas y alcanza un máximo en 24 horas. Sin embargo, aparecen nuevos eritrocitos en la circulación unos cinco días después.<sup>36</sup> A partir de este hecho, se ha determinado que el efecto esencial de la eritropoyetina consiste en estimular la producción de proeritroblastos\* (figura 2), la eritropoyetina acelera su paso a través de los diferentes estadios eritroblásticos y, con ello, la producción de nuevos eritrocitos.

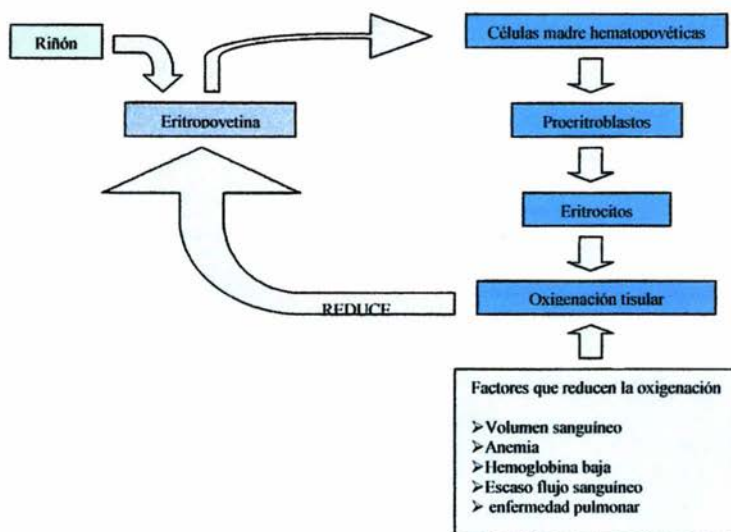


Figura 2. Mecanismos por los cuáles una reducción en la concentración de oxígeno, produce un aumento de secreción de EPO por los riñones.<sup>24</sup>

\*Glosario

Esta producción rápida continúa mientras persista el estado de hipoxia, o hasta que se formen suficientes eritrocitos para transportar cantidades adecuadas de oxígeno a los tejidos. A partir de entonces la producción de EPO se reduce hasta un valor que mantenga el número requerido de eritrocitos e impida un aumento excesivo.

Los valores séricos de EPO son significativos, por que reflejan no solo la producción de esta hormona, sino también que desaparecen de la sangre o se utilizan en la médula ósea.<sup>42</sup>

Entre 3 y 8 mU/mL de eritropoyetina logran mantener un estado constante normal de eritropoyesis, ya que se requieren entre 2 000 y 5 000 mU/mL de EPO para incrementar la eritropoyesis, lo cual es necesario en la hemorragia grave o en la anemia hemolítica (tabla 1).<sup>36</sup>

Tabla 1. Usos Terapéuticos y efectos adversos de la EPO.<sup>2, 36, 42</sup>

<b>Aplicaciones terapéuticas</b>	<b>Efectos adversos</b>
Anemias.	Eritrocitosis
Hemorragias.	Aumento de la viscosidad sanguínea
Enfermedades renales	
Insuficiencia cardiaca	
Enfermedades pulmonares	

### 2.3 USO EN EL DEPORTE.

La síntesis de esta sustancia en los laboratorios obtenida por vez primera a mediados de la década de los ochenta abrió enseguida una amplia gama de posibilidades sobre su uso indebido en deportes de resistencia. En un deportista que practique una especialidad de larga duración, el consumo de EPO presenta grandes beneficios, pues se cree que; debido a que los eritrocitos son los encargados de transportar el 99% de oxígeno en la sangre, al recibir inyecciones de eritropoyetina sintética, el deportista aumenta su concentración de glóbulos rojos, con lo que los músculos trabajan de forma más eficaz al recibir más cantidad de oxígeno, y como consecuencia se retrasa la aparición de la fatiga.<sup>58</sup>

El beneficio en un deportista de la utilización de EPO exógena (conocida como eritropoyetina humana recombinante) por la ingeniería genética no se ha evaluado aún. Algunos expertos han llegado a cifrar su efecto en un 8% de mejora de la resistencia, pareciendo un valor demasiado alto. En un estudio no publicado aún, el investigador sueco Bjorn Ekblom predice que el uso de la eritropoyetina sintética puede hacer que un deportista rebaje en medio minuto su record personal.<sup>58</sup>

En los deportistas que se inyectan esta sustancia aumenta el valor de hematocrito (porcentaje que representan los eritrocitos frente al total de la sangre, y cuyo valor normal en un deportista se sitúa entre el 42% y el 45%) hasta niveles increíblemente altos, incluso de un 60%. **Según los hematólogos cuando se supera la cifra de 55% se considera que la sangre comienza a espesarse de forma peligrosa.** Inyectada en grandes cantidades, la EPO eleva las cifras de hemoglobina en un 20%. La sangre del deportista con una cifra de hemoglobina muy superior a lo normal aumenta peligrosamente su viscosidad y no circula por los vasos con la misma fluidez y aquí reside el principal riesgo para el deportista ya que cuando la sangre fluye con demasiada lentitud por los vasos es posible que se coagule ya que se forman continuamente pequeñas cantidades de trombina y otros procoagulantes. Una vez que se origina es probable que el flujo sanguíneo que sigue más allá del coágulo lo desprenda de su origen y lo lleve con la sangre, si el trombo aparece en zonas vitales del organismo como las arterias del cerebro o las coronarias, la consecuencia no puede ser peor: muerte súbita.<sup>25, 58</sup>

El efecto de la Eritropoyetina es directamente sobre los eritrocitos, pero se ha encontrado que también tiene efectos sobre la serie blanca y las plaquetas y por lo tanto también aumenta un poco la concentración de estos.<sup>27</sup>

Precisamente la muerte en circunstancias extrañas de 16 ciclistas holandeses (incluido el campeón Bert Oosterbosch) entre 1987 y 1980 fue rápidamente relacionada con la administración de eritropoyetina. Todas las muertes se iban produciendo de la misma forma: paros cardíacos mientras los ciclistas dormían; el aumento de la viscosidad sanguínea, unido a la baja frecuencia cardíaca durante el sueño fueron apuntadas como causas de estas muertes por diferentes expertos en medicina deportiva.<sup>58</sup>

También se ha declarado recientemente que el uso de EPO en deportistas es muy peligroso porque se administra a personas que luego se someten a esfuerzos muy exigentes, por ejemplo, si un ciclista se está administrando EPO, puede alcanzar un hematocrito superior al 55 % y, si se dispone a participar en una carrera en ambiente caluroso, se está exponiendo a una situación muy peligrosa; durante la carrera, y debido a la deshidratación, el hematocrito se elevará hasta cifras cercanas al 70%, en este punto, el ciclista ve aumentada la probabilidad de formación de trombos con riesgo posterior de infarto de miocardio, embolia pulmonar o cerebral.<sup>58</sup>

Por ello los deportistas que practican pruebas de resistencia como el ciclismo, maratón o la marcha atlética son los que más hacen uso de esta hormona.<sup>59</sup>

### 3. INSULINA.

La insulina es una hormona secretada por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans pancreáticos. Es una proteína pequeña con un peso molecular de 6000 D, contiene 51 aminoácidos dispuestos en dos cadenas de péptidos (A y B) conectadas por tres uniones disulfuro. La proinsulina es el precursor de la insulina. La secuencia de aminoácidos en la secuencia de insulina varía entre las especies animales. Los principales sitios en que las insulinas porcina, bovina y humana difieren entre sí son las posiciones 8, 9 y 10 de la cadena A. La insulina porcina es la más similar a la de los seres humanos, excepto por la sustitución de un residuo alanina por treonina en el carboxil terminal de la cadena A.<sup>54</sup>

#### 3.1 ORIGEN.

La proinsulina (figura 3) precursor de la insulina, consta de 2 cadenas, A y B conectadas entre sí por dos pares de aminoácidos básicos y por otro péptido, el C, que une la terminación carboxi del péptido B con la terminación amino del A. Al transformarse la proinsulina humana en insulina, los cuatro aminoácidos básicos y el péptido C se eliminan por proteólisis.

Esto da origen a las dos cadenas peptídicas de la molécula de insulina (A y B) que contienen un puente disulfuro dentro de la unidad A y dos entre ambas subunidades. Estos puentes disulfuro son necesarios para su actividad biológica. La cadena A esta formada por 21 aminoácidos y la cadena B por 30 en total son 51. Las dos cadenas de insulina forman una estructura muy ordenada con varias regiones  $\alpha$  helicoidales en cada una de ellas. La superficie de la molécula que interacciona con el receptor está constituida por la fracción carboxilo terminal de la cadena B y los residuos amino y carboxilo terminal de la cadena A.<sup>52</sup>

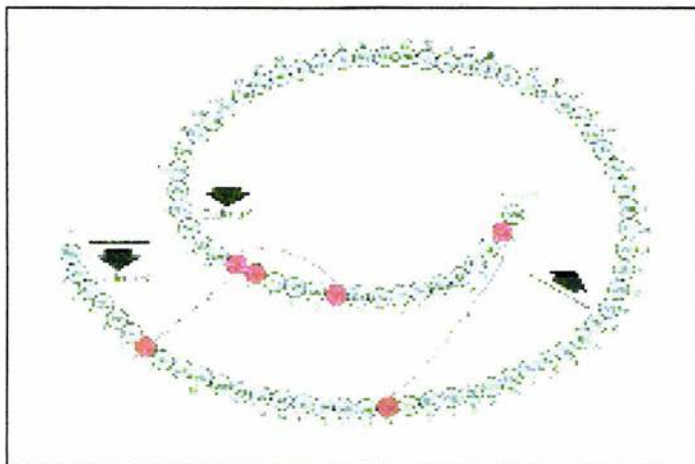


Figura 3. Estructura de la proinsulina.<sup>52</sup>



La insulina pertenece a una familia de péptidos, denominados factores de crecimiento relacionados con la insulina, dos de estos factores el IGF-1\*\* y el IGF-2\*\* aislados del plasma y se ha determinado su secuencia de aminoácidos, obteniéndose posteriormente con tecnología de ADN recombinante. Se ha utilizado el IGF-1 o somatomedina C para el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2 en casos de insulinoresistencia extrema.

### 3.2 MECANISMO DE ACCIÓN.

La insulina se une a un receptor de membrana que tiene un peso molecular aproximado de 30 KD, es precisamente el receptor activado el responsable de los efectos de la insulina. El número de receptores para la insulina varía mucho de unas células a otras, desde 40 por célula en los eritrocitos hasta 300 000 en el hepatocito y adiposito. Este receptor esta formado por 4 subunidades separadas, unidas por puentes disulfuro. Hay dos unidades  $\alpha$ , que se sitúan en el exterior de la membrana y dos subunidades  $\beta$  que se disponen hacia el interior, sobresaliendo en el citoplasma. La unión de insulina con las subunidades  $\alpha$ , provoca que las  $\beta$  se autofosforilen, transformándose en una enzima preteincinasa local, que a su vez inicia una cascada de fosforilación-activación de enzimas citosólicas, en pocos segundos el 80% de todas las células del organismo redistribuyen y activan un gran número de moléculas transportadoras, aumentando la permeabilidad de su membrana a la glucosa, que entra rápidamente en ellas, fosforilándose en su interior y convirtiéndose así en un sustrato adecuado para integrarse en el metabolismo global de los hidratos de carbono. También aumenta la permeabilidad de la membrana, casi inmediatamente, para muchos aminoácidos e iones potasio, magnesio, potasio y fosfato (tabla 2). En 10 a 15 minutos, cambia el nivel de actividad de otras enzimas intracelulares y se modifica la regulación de genes. Posteriormente si se mantiene el contacto con la insulina, se producen cambios en la traslación de RNA mensajero a los ribosomas para formar nuevas proteínas, así como cambios en la velocidad de transcripción del ácido desoxirribonucleico (ADN) en los núcleos celulares, lo que le permite ejercer las funciones propias de un factor de crecimiento. De esta manera la insulina controla la mayor parte de la maquinaria enzimática celular para conseguir sus objetivos.<sup>54</sup>

Tabla 2. Acciones de la insulina<sup>52</sup>

ACCIONES DE LA INSULINA	
Hígado	a) Ninguna acción sobre el transporte. b) Activación de la glucógeno-sintasa. Inhibición de la fosforilasa del glucógeno. c) Activación de la fosfofructoquinasa, piruvatoquinasa y piruvatodeshidrogenasa. Inhibición de la fructosa bifosfatasa.
Tejido adiposo	a) Activación del sistema de transporte. b) Inducción de la sintetasa de los ácidos grasos. c) Inactivación de la lipasa sensible a las hormonas. d) Aumento de la actividad de la fosfofructoquinasa y la piruvato deshidrogenasa.
Músculo	a) Activación del sistema de transporte. b) Disminuye la liberación de aminoácidos. c) Activación de la glucógeno-sintasa. Inhibición de la fosforilasa del glucógeno. d) Activación de la fosfofructoquinasa y piruvato deshidrogenasa.
Eritrocitos, sistema nervioso	No se conocen acciones directas de la insulina.

\*\* IGF-I, II. Insulina ligada a Factor de crecimiento I, II.

En la tabla 2 se relaciona la acción de la insulina sobre el hígado, tejido adiposo y músculo. Así sobre la absorción de glucosa, en los músculos y en el adiposo actúa incrementando el transporte. En el caso del músculo en fase de reposo, sólo la insulina facilita el transporte. Son excepción otros tejidos como el hígado, glóbulos rojos y sistema nervioso central, donde la incorporación de la glucosa es independiente de la insulina

La insulina no puede administrarse por vía oral, dado que la mayoría de la hormona es destruida por proteasas en el tubo intestinal antes de absorberse.

La insulina suele administrarse casi siempre por vía subcutánea. La insulina se absorbe directamente en el torrente sanguíneo y se distribuye en todos los líquidos extracelulares, su vida media plasmática es menor de 9 minutos sin que al parecer existan diferencias entre sujetos sanos y diabéticos. Cerca del 50% de la insulina que alcanza el hígado por la vena porta se metaboliza y nunca alcanza la circulación general, la insulina se filtra en el glomérulo y se absorbe (80%) en los túbulos proximales. Cerca del 60% de la insulina reabsorbida se metaboliza en las células de los túbulos contorneados proximales. El deterioro de la función renal afecta la depuración de insulina.

Tabla 3. Usos terapéuticos y efectos tóxicos de la Insulina.<sup>7, 53</sup>

<b>Aplicaciones terapéuticas</b>	<b>Efectos adversos</b>
Diabetes Mellitus tipo 1	Hipoglucemia
Diabetes Mellitus tipo 2	Alergia e insulinoresistencia
Descompensaciones metabólicas agudas, cetoacidosis diabética	Lipoatrofia* y lipohipertrofia* (edema causado por la insulina)
Tratamiento urgente de la hiperpotasemia	

### 3.3 USO DE INSULINA EN EL DEPORTE

Se tienen reportes que indican que más de un millón de atletas de élite, usan diversas sustancias que les ayuden en su desempeño físico.

La administración de insulina se da por que esta ayuda a promover procesos anabólicos e inhibe los procesos catabólicos en el músculo, hígado y tejido adiposo; por un incremento en la síntesis de glucógeno, ácidos grasos y proteínas; además de promover la entrada de glucosa y aminoácidos hacia el músculo y las células grasas; ayudando a aumentar el rendimiento físico.<sup>51</sup>

Se piensa que la insulina se usa para que se facilite en mucho la entrada de glucosa a las células, cantidades suficientemente grandes y necesarias para la respiración celular incrementando sus actividades enzimáticas que están altamente relacionadas con la formación de reservas energéticas estimulando así la formación y almacenamiento de glucógeno en el músculo.<sup>51</sup>

\*Glosario

De esta manera se cree que se asegura reservas energéticas suficientes antes y durante su desempeño en la competencia mejorando de esta manera su rendimiento físico.

Otra razón por la cual se administra es por que se cree que incrementa masa muscular, aumentando así el peso corporal y por lo tanto la fuerza; este uso supuestamente es regulado por inyecciones de acción corta de insulina junto con un alto régimen de carbohidratos pero ahora se sabe que este proceso esta bajo control de la GH e IGF-I.<sup>51</sup>

Se ha encontrado que hay un considerable y creciente abuso de esta sustancia y es preocupante que los atletas describan a la insulina como la hormona anabólica más poderosa del planeta, siendo que los efectos benéficos del uso de la insulina solo se han reportado en personas que si la necesitan; se sabe que los pacientes diabéticos tratados con insulina presentan un incremento en apoyo a la masa corporal (pero este es el efecto más tardío de la insulina y es sobre la síntesis de proteínas e interviene en el crecimiento celular inhibiendo la proteólisis, sobre todo en los músculos).<sup>7</sup>

En 1998 se hicieron investigaciones de reportes que conducían al uso de insulina por los fisicoconstructivistas, en los cuales se han reportado dos casos severos de hipoglucemia (tabla 3) en otros casos en el que el abuso de insulina es ilimitado se han presentado situaciones de daño cerebral, después de una neuroglicopenia prolongada, después de la administración de cantidades excesiva de insulina intravenosa.<sup>17</sup>

Además es sorprendente la manera en que llegan a obtener la insulina, sin una prescripción médica o identificación que los acredite como pacientes que requieren su uso, esto aunado a mala información que se tiene sobre los supuestos beneficios que se obtienen con esta hormona sin saber los riesgos potenciales que se adquieren.<sup>19</sup>

La literatura menciona que la dosis usada por los atletas es de 80 UI de insulina en cada muslo, cada hora dentro de un periodo de 3-4 horas, diariamente ingiriendo al mismo tiempo grandes cantidades de carbohidratos.<sup>16</sup>

Mientras que las dosis usadas en pacientes que requieren de la administración de insulina es de 10 UI de insulina en 44 aplicaciones durante 6 meses.<sup>16</sup>

Comparando las dosis terapéuticas aplicadas a personas que necesitan insulina con las dosis que se administran los atletas observa la gran diferencia que existe, tales dosis supraterapéuticas traen alteraciones fisiológicas severas e irreversibles poniendo en riesgo la vida.

## **4. GONADOTROPINAS hCG, LH Y FSH.**

### **4.1 GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA. (hCG)**

La gonadotropina coriónica es una glucoproteína con un peso molecular de 39 KD, aproximadamente, consiste cerca de 237 aminoácidos. Su estructura es muy parecida a las glucoproteínas hipofisarias ya que está formada por dos cadenas: una cadena  $\alpha$  específica de especie, y una cadena  $\beta$  que determina la acción con el receptor y, por último el efecto biológico. La secuencia de la cadena  $\alpha$  es casi idéntica a las cadenas  $\alpha$  de las glucoproteínas hormonales TSH, FSH y LH. La cadena  $\beta$  tiene homología significativa en su secuencia con la LH, pero no es idéntica; de los 145 aminoácidos en la hCG- $\beta$  97 (67%) son iguales a los de la LH- $\beta$ .

Además la hormona placentaria tiene un segundo carboxilo terminal de 30 aminoácidos que no se encuentra en la molécula de LH hipofisaria: El carbohidrato contribuye aproximadamente con 30% del peso de cada subunidad. El ácido siálico solo es responsable de 10% de peso de la molécula y le confiere un alto grado de resistencia a la degradación y, en consecuencia, una vida media de 24 horas en el plasma.<sup>20</sup>

#### **4.1.1 ORIGEN.**

La hCG es una glucoproteína que se produce en la placenta. Se detectan niveles de hCG en la circulación materna aproximadamente un día después de la implantación del huevo o cigoto. En las primeras semanas la concentración de hCG se duplica cada lapso de 1.7 a 2 días. Estos niveles se incrementa rápido y alcanzan un máximo en los primeros 70 a 90 días de la gestación. Después del máximo se produce una reducción de 10 a 15% y dicho nivel se mantiene durante el resto del embarazo.

La hCG de un plasma materno llega a un máximo de alrededor de 100 000 mUI/mL durante la décima semana gestacional, y después declina gradualmente hasta cerca de 10 000 mUI/mL, en el tercer trimestre.<sup>66</sup>

#### **4.1.2 MECANISMO DE ACCIÓN**

Las funciones fisiológicas de hCG son: dar apoyo a la secreción de progesterona en el cuerpo lúteo hasta que la placenta es capaz de producir suficiente hormona; promover la esteroidogénesis de la unidad fetoplacentaria y favorecer el desarrollo gonadal del feto. Pero la función más importante de estas es impedir la involución normal del cuerpo lúteo al final del ciclo sexual femenino.

Así, esta hormona hace que el cuerpo lúteo secreta cantidades todavía mayores de hormonas sexuales: progesterona y estrógenos, durante los meses siguientes.

Estas hormonas sexuales impiden la menstruación y sirven para que el endometrio siga creciendo y acumulando grandes cantidades de nutrientes en lugar de desprenderse durante la menstruación.

Bajo la influencia de la gonadotropina coriónica humana, el cuerpo lúteo crece y alcanza aproximadamente el doble de su tamaño gracias a la secreción continua de estrógenos y progesterona.

La gonadotropina coriónica humana ejerce también un efecto estimulante sobre las células intersticiales del testículo fetal y eso hace que los fetos varones produzcan testosterona hasta el momento de nacer. Esta pequeña secreción de testosterona durante la gestación es la que permite que crezcan los órganos sexuales masculinos en lugar de los femeninos.

Su presencia se utiliza para el diagnóstico del **embarazo** y también puede ser secreta por la presencia de tumores trofoblásticos, coriocarcinoma, tumor de células germinales en ovarios y testículos. El uso clínico más predominante ha sido para el tratamiento de hipogonadismo.<sup>3</sup>

## **4.2 HORMONA LUTEINIZANTE (LH) Y HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH)**

### **4.2.1 ORIGEN.**

La FSH y LH son segregadas en las mismas células gonadotrofas de la hipófisis. La FSH posee las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de 87 y 117 aminoácidos (aa), respectivamente, con un componente glúcido del 16%. La LH posee las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de 89 y 121 aa, respectivamente con un componente glúcido del 18%. Se incluye también en este grupo la gonadotropina coriónica humana (hCG), segregada en la placenta, cuya estructura y función son muy parecidas a la de la LH; Esta formada por cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del 92 y 145 aa, respectivamente con un resto de glúcidos que representan el 31% de la molécula. La gonadotropina se obtiene de orina de mujer embarazada.

#### 4.2.2 MECANISMO DE ACCIÓN.

En la mujer. Durante la infancia y la pubertad, el nivel plasmático de la FSH y LH es bajo y relativamente constante, en la pubertad, los niveles aumentan notablemente y se establecen las variaciones características a lo largo del mes. La FSH controla el crecimiento y desarrollo de los folículos del ovario durante la primera parte del ciclo (fase folicular), Estimula también la secreción de estrógenos y de inhibina en el ovario, aunque requiere para ello pequeñas cantidades de LH.

La LH ejerce una influencia decisiva para que se desarrollen los procesos ováricos que culminan en la ovulación. Durante la segunda parte del ciclo (fase lútea), la secreción de FSH y su nivel plasmático alcanza el valor mínimo.

La LH presente en concentraciones mínimas durante la fase folicular, empieza a ser segregada en gran cantidad un par de días antes de la ovulación. La LH ejerce un papel fundamental en la ovulación en la secreción de progesterona por parte del folículo, posteriormente, del cuerpo lúteo, y en el mantenimiento del cuerpo lúteo hasta que en la secreción de estrógenos y progesterona decae y aparece la menstruación, si hay embarazo la gonadotropina coriónica, cuya secreción se inicia en los sincitiotrofoblastos\* de la placenta fetal a los 7 días de la ovulación, es la que se encarga de mantener la función del cuerpo lúteo, su secreción de estrógenos y de progesterona y de evitar una nueva ovulación. La secreción de gonadotropina coriónica alcanza su máximo a las 6 semanas de la ovulación, después disminuye y se estabiliza; es entonces cuando la placenta segrega suficiente estrógeno y progesterona, no siendo ya necesaria la secreción lútea.

En el varón. En la pubertad aumenta la secreción de la gonadotropinas. La FSH mantiene la actividad de los conductos seminíferos y la gametogénesis para producir espermatozoides. La LH estimula las células intersticiales de Leyding y su secreción de testosterona, la cual, a su vez, se comporta como un factor trófico de los propios túbulos seminíferos; de ahí que, directa o indirectamente, la LH influye sobre ambas funciones del testículo: la secreción de testosterona y la producción de espermatozoides.<sup>20</sup>

Tanto la FSH como la LH actúan sobre sus respectivos receptores específicos localizados en los órganos diana. La estimulación de los receptores esta asociada a la activación de la adenilciclasa y la producción de AMPc. El AMPc estimula entre otras acciones, la luteogénesis y la esteroidogénesis mediante la conversión de colesterol en pregnenolona y las siguientes reacciones hasta que se forman las hormonas sexuales específicas de la célula estimulada.

Las gonadotropinas no se absorben por vía oral. Administradas por vía parenteral muestra un tiempo de vida media de 30 minutos para la LH, 60 minutos para la FSH y 8 horas para la hCG, la mayor duración de la hCG, parece deberse a su riqueza en ácidos siálicos, que la hacen más resistente a la degradación metabólica. La FSH y la LH se eliminan muy poco por la orina de mujer embarazada.<sup>20</sup>

\*Glosario

En la clínica humana se han empleado hasta ahora exclusivamente la hCG, la presencia excesiva de actividad en ambos tipos de gonadotropina, y principalmente en la hCG, puede ser perjudicial para el folículo en crecimiento y contribuir a la etiopatogenia del síndrome ovárico poliquístico.

Tabla 4. Usos Terapéuticos y efectos adversos de las Gonadotropinas.<sup>25, 54</sup>

<b>Aplicaciones terapéuticas</b>	<b>Efectos adversos</b>
Infertilidad femenina y masculina	Ginecomastia* (en varones)
Criptorquidia.	

Kicman, Brooks y Cowan, revisaron la química de la hCG y LH y ambas hormonas tienen fundamentalmente la misma acción biológica a nivel celular; y es por ello que estas se usan indistintamente por los atletas ya que ambas resultan en la síntesis y liberación de testosterona.<sup>30</sup>

Tanto la hCG como la LH son componentes esenciales para ser consideradas en el control del abuso de testosterona en el deporte.<sup>47</sup>

Por la relación que tienen estas hormonas, en la producción endógena de testosterona, consideramos necesario describir algunas características de ella, y los efectos por los cuales los atletas se ven beneficiados.

#### **4.2.3 TESTOSTERONA.**

Los testículos secretan varias hormonas sexuales que reciben el nombre colectivo de andrógenos. Sin embargo, una de estas, la **testosterona**, es mucho más abundante y potente que las otras y puede ser considerada como la hormona responsable de los efectos hormonales masculinos y actúa como un precursor de los estrógenos en las mujeres.

La testosterona se forma en las células intersticiales de Leyding, que se localizan en los intersticios entre los túmulos seminíferos, y constituyen alrededor del 20% de la masa de los testículos de un adulto. Las células intersticiales de los testículos no son numerosas en un niño, pero sí lo son en el hombre adulto de cualquier edad después de la pubertad y secretan grandes cantidades de testosterona.

La testosterona es el principal andrógeno circulante y su biosíntesis se da tanto en los testículos como en las glándulas suprarrenales, pero principalmente en los primeros; y esto es a partir del colesterol o a partir de la acetilcoenzima A.

Después de ser secretada por los testículos, la testosterona, cuya mayor parte está ligada laxamente a proteínas del plasma, circula en el torrente sanguíneo por espacio de 30 minutos a 1 hora antes de que se fije a los tejidos o se degrade en productos inactivos que se excretan después. Gran parte de la testosterona que se fija en los tejidos se convierte dentro de las células en **dihidrotestosterona**; es en esta última forma que la testosterona desarrolla muchas de las funciones intracelulares.

\*Glosario

La testosterona que no se fija a los tejidos se convierte con rapidez en androsterona y dehidroepiandrosterona, sobre todo en el hígado; y es simultáneamente conjugada ya sea con glucoronidos o sulfatos. Estos se excretan por la bilis hacia el tubo digestivo o por la orina.<sup>25</sup>

**Tabla 5. Intervalos de referencia**<sup>53</sup>

Varones:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pubertad</li> <li>• Adulto</li> </ul>	0.1 a 0.2 ng/mL (0.35 a 0.69 pmol/mL) 3.0 a 10 ng/mL ( 10.4 a 34.7 pmol/mL)
Mujeres:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prepubertad</li> <li>• Folicular</li> <li>• Fase lútea</li> <li>• Posmenopáusica</li> </ul>	0.1 a 0.2 ng/mL 0.2 a 0.8 ng/mL (0.69 a 2.77 pmol/mL) 0.3 a 0.8 ng/mL 0.08 a 0.35 ng/mL

La testosterona plasmática no sobrepasa los 0.2 µg/L con una producción de 2.5 a 11 miligramos por día. Los niveles de testosterona sérica en los hombres son estables hasta los 70 años; en adelante comienza la declinación. (tabla 5)

#### 4.2.4 EFECTOS DE LA TESTOSTERONA.

Las características distintivas del sexo masculino se deben a la testosterona. Aún durante la vida fetal los testículos son estimulados por la gonadotropina coriónica de la placenta y producen una cantidad pequeña de testosterona; durante la infancia básicamente no se produce testosterona sino hasta cerca de los 10 a 13 años de edad. La producción de testosterona aumenta con rapidez al comienzo de la pubertad y dura por el resto de la vida de la persona disminuye con cierta rapidez a partir de los 50 años y alcanza aproximadamente un tercio de la producción máxima para los 80.

La presencia o ausencia de testosterona en el feto es el factor que determina el desarrollo de órganos y características sexuales masculinas o femeninas. Dentro de las características sexuales primarias masculinas esta el crecimiento de pene, escroto y testículos, dentro de las características secundarias se encuentran: la distribución del vello masculino, calvicie, efectos sobre la voz, piel, desarrollo muscular, crecimiento óseo y retención de calcio y efecto sobre los eritrocitos.<sup>47</sup>



#### 4.2.5 MECANISMO DE ACCIÓN.

En la mayoría de los tejidos, una  $\alpha$ -reductasa transforma la testosterona en dihidrotestosterona DTH, la forma intracelular más activa de la hormona. La DTH se une a una proteína citoplásmica receptora que, luego esta combinación migra hacia el núcleo, donde se une con una proteína nuclear e induce el proceso de transcripción DNA-RNA. En un lapso de 30 minutos la polimerasa de RNA se activa y la concentración de RNA y proteínas específicas en las células se eleva. Con un estímulo adecuado se inicia la síntesis de ADN y la división celular. Por tanto la testosterona estimula de manera importante la producción de proteínas en general pero incrementa de manera más específica las proteínas de los órganos o tejidos vinculados con el desarrollo de las características sexuales masculinas.

Tabla 6. Usos terapéuticos y efectos adversos de la Testosterona.<sup>23, 37, 47, 54</sup>

<b>Aplicaciones terapéuticas de la testosterona</b>	<b>Efectos adversos</b>
Anemia por hiperplasia medular	<i>En la mujer:</i> provoca signos de virilización
Hipogonadismo primario	Cambios en la voz, se torna grave
Hipogonadismo prepuberal	Crecimiento de vello facial acompañado de acné
Hipogonadismo secundario	Hipertrofia del clítoris e incremento en la libido
Carcinoma de mama metastásico	<i>En el hombre:</i> Produce disfunción de la espermatogénesis (azoospermia)
Endometriosis y enfermedad fibroquística de la mama	Anomalías lipídicas
Climaterio masculino o Andropausia.	Ginecomastia*

#### 4.2.6 USO DE LA hCG y LH EN EL DEPORTE

Con el conocimiento de que existe un sistema eficiente para la detección de esteroides sintéticos, fue anticipado que algunos atletas pudieran hacer uso de andrógenos naturales como la testosterona; evadiendo así su detección. Para ello, algunos atletas del sexo masculino hicieron el uso de la hCG y LH para estimular la producción endógena de la testosterona.<sup>5</sup>

En 1987 se dispusieron de 3 kits comerciales de diferentes inmunoensayos para evaluar la incidencia de la administración de hCG en eventos deportivos seleccionados, y de 740 muestras analizadas se encontraron 21 con concentraciones anormalmente altas de hCG en orina; debido a su alta incidencia el Comité Olímpico Internacional prohibió la administración de esta hormona por ser considerada una sustancia de abuso por los atletas del sexo masculino.<sup>31</sup>

La hCG es usada también por los atletas para normalizar la relación T/E (Testosterona / epitestosterona) durante y después de la administración directa de testosterona y otros agentes anabólicos esteroideos. Ya que cuando se administra la hCG estimula relativamente en cantidades iguales la excreción de ambas; por lo tanto aunque la producción endógena de testosterona esta aumentada la relación urinaria T/E queda inalterada. Parece ser que la administración de LH actúa de la misma manera.<sup>12</sup>

La administración de hCG por atletas del sexo masculino, es también para prevenir atrofia testicular durante y después de la exposición a periodos prolongados de sustancias androgénicas.

Aunque su función fisiológica de la hCG en el deporte no esta bien dilucidada aún, su disponibilidad como agente farmacológico y su habilidad para estimular la producción esteroidea endógena, puede resultar potencialmente en su abuso por cualquier atleta para recuperar ciclos anabólicos esteroideos con la finalidad de incrementar directamente la concentración de testosterona, el cual es un poderoso agente anabólico esteroideo.

Las concentraciones fisiológicas de hCG que se han encontrado en suero de hombres normales es de 3-4 UI/L; en orina 1-3 UI/L. En mujeres no embarazadas 8-10 UI/L en suero y en orina de 3-4 UI/L. En mujeres embarazadas los valores son mayores a 110 000 UI/L y en orina 4000.<sup>66</sup>

La cantidad administrada de hCG por los atletas es de 500 UI de manera intravenosa o intramuscular.<sup>8</sup>

El límite de detección establecido para el abuso de hCG es de 10 UI/L, si este valor es encontrado el atleta a cometido falta grave en cuanto a la administración de sustancias prohibidas. Cuando la concentración esta por encima de 25 UI/L y el atleta niega haberse administrado HCG, esta fuertemente advertido que tiene que buscar ayuda médica; debido a que las grandes cantidades son secretadas por tumores trofoblásticos.<sup>30</sup>

Dentro de los efectos producidos por el aumento indirecto en la concentración de testosterona en el deportista tenemos:

- Efectos sobre la formación de proteínas y el desarrollo muscular mejorando así su trabajo muscular: los varones aumentan su masa muscular alrededor de un 50% más que en la mujer. Esto se acompaña de un aumento de proteínas en otras partes del cuerpo, dando un aumento en la musculatura.<sup>47</sup>

- Existen efectos sobre la piel lo cual aumenta su grosor y la consistencia del tejido subcutáneo, esto debido a deposición de proteínas en la piel.
- Efectos sobre el crecimiento óseo y la retención de calcio: debido a que los huesos aumentan considerablemente su grosor y también se depositan cantidades sustanciales de sales de calcio, esto es, la testosterona aumenta la cantidad total de matriz ósea, lo que produce retención de calcio. Este aumento es consecuencia de la función anabólica proteica general de la testosterona.
- Efecto sobre los eritrocitos: La testosterona ejerce un efecto estimulante sobre la eritropoyesis, debido a la suma de un efecto directo sobre la médula ósea y a un aumento de la producción o actividad de la eritropoyetina renal: el efecto anabólico puede ejercerse sobre el estroma del tejido eritropoyético específico.<sup>47</sup>

## 5. HORMONA DEL CRECIMIENTO (GH).

### 5.1 ORIGEN.

La hormona de crecimiento es la más abundante de la hipófisis, pues constituye hasta el 10% de peso seco de la glándula

La hormona del crecimiento (figura 4), es una de las más importantes del grupo de las hormonas adenohipofisiarias, también denominada **hormona somatotropa** o **somatotropina**, es una pequeña molécula proteica que contiene 191 aminoácidos en una sola cadena, con un peso molecular de 22, 000 D.

Induce el crecimiento de casi todos los órganos, excepto, cerebro y ojos. Favorece el aumento de tamaño de las células y estimula la mitosis, con lo que se desarrolla un número creciente de células y tiene lugar la diferenciación de determinados tipos celulares, como las células de crecimiento óseo y los miocitos precoces.<sup>26</sup>

La hormona de crecimiento que actualmente se maneja en terapéutica se obtiene por biotecnología o ingeniería genética.

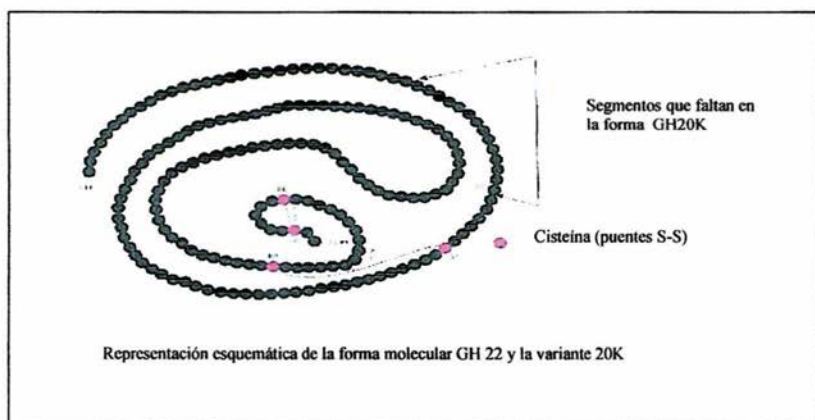


Figura 4. Hormona del crecimiento<sup>52</sup>

## 5.2 MECANISMO DE ACCIÓN.

La GH es esencial para el crecimiento postnatal, y para el metabolismo normal de carbohidratos, lípidos, nitrógeno y minerales. Los efectos relacionados con el crecimiento son mediados primeramente por el IGF-I, miembro de la familia de genes semejantes al de la insulina. Este originalmente se conoce como factor de sulfatación debido a su propiedad de acrecentar la incorporación de sulfato al cartilago. Más adelante paso a ser conocido como somatomedina C. Estructuralmente es semejante a la pro insulina.

Otro péptido estrechamente relacionado, encontrado en el plasma humana IGF-II. El IGF-I, en el IGF-II se une a receptores de membrana, no obstante pueden diferenciarse a través de radioinmunoanálisis específico.

El IGF-I tiene 70 aa y el IGF-II tiene 67. Las concentraciones plasmáticas del IGF-II son dos veces las del IGF-I, pero es este el que tiene correlación más directa con los efectos de la GH.

- Síntesis de proteínas: la GH incrementa el transporte de aa hacia el interior de las células musculares y también la síntesis de proteínas por un mecanismo separado del efecto del transporte. Los animales tratados con GH muestran el equilibrio positivo de nitrógeno, lo cual refleja un incremento generalizado en la síntesis de proteínas y una disminución de los valores plasmáticos y urinarios de aminoácidos y urea. Esto se acompaña en el aumento en la síntesis de RNA y DNA en algunos tejidos. A este respecto las acciones de la GH son semejantes a algunas de las acciones de la insulina.
- Metabolismo de carbohidratos: por lo general la GH antagoniza los efectos de la insulina. La hiperglucemia después de la administración de la hormona del crecimiento es el resultado combinado de disminución en la utilización periférica de la glucosa y de incremento en su producción hepática por la vía de la gluconeogénesis, a partir de aminoácidos. El trastorno de la glucólisis puede producirse en varias etapas y la movilización de los ácidos grasos desde las reservas de triacilglicerol puede contribuir también a la inhibición de la glucólisis en el músculo. La administración prolongada de GH puede producir diabetes sacarina.
- Metabolismo de lípidos: GH favorece la liberación de ácidos grasos libres y glicerol del tejido adiposo, incrementa los ácidos grasos libres circulantes y aumentan la oxidación de estos en el hepatocito. Bajo condiciones de deficiencia de insulina (por ejemplo la diabetes) puede haber cetogénesis incrementada. Es probable que estos efectos y los del metabolismo y de carbohidratos no sean mediados por IGF-I.<sup>38</sup>

- Metabolismo de minerales. La GH o más probable el IGF-I, promueve un equilibrio positivo de calcio, magnesio, y fosfato y causa la retención de sodio, potasio y cloro. El primer efecto probablemente se relaciona a la acción de la GH en el hueso. Donde promueve el crecimiento de los huesos largos en las placas epifisarias de los niños en crecimiento y el crecimiento aposicional o acral en los adultos. Además en los niños, la GH incrementa también la formación de cartilago.
- Efectos análogos a la prolactina: La GH se une a los receptores de lactógeno y por lo tanto, tiene muchas de las propiedades de la prolactina, como estimulación de las glándulas mamarias y lacto génesis.<sup>38</sup>

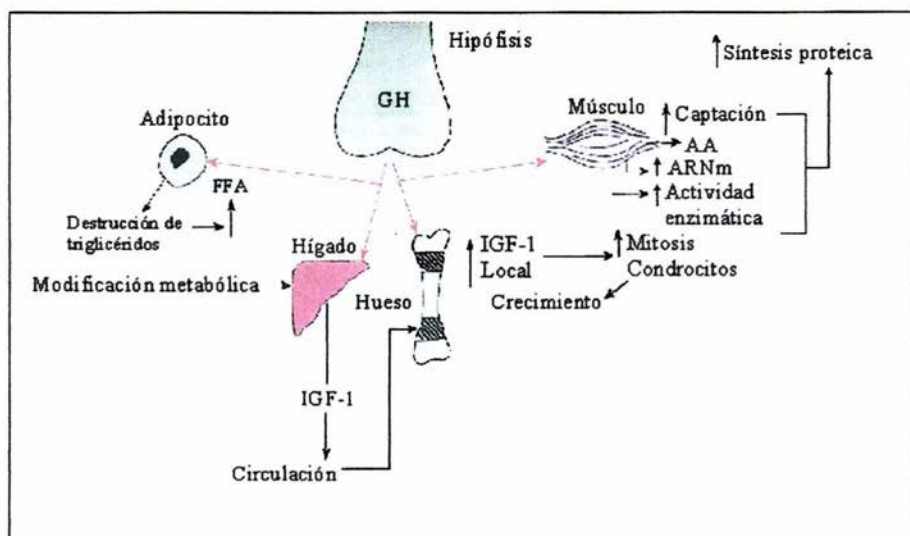


Figura 5. Acciones biológicas de la GH.<sup>52</sup>

Aunque los efectos anabolizantes de la GH ocurren en tejidos tan variados como hueso, cartilago, músculo, hígado y una serie de vísceras (corazón, pulmones, riñones, intestino) y glándulas (pancreáticas, suprarrenales), quizá es en músculo e hígado, donde la GH promueve la fabricación de gran número de proteínas (entre ellas las somatomedinas IGF-I). Ver figura 5.

\*Glosario.

La acción de GH esta regulada fisiológicamente desde el hipotálamo mediante dos factores, uno inhibidor o somatostatina y otro facilitador o somatocrina, que son liberados de forma pulsátil, predominando la acción de la somatostatina. La secreción de GH es máxima durante la pubertad, para ir descendiendo lentamente con la edad; así mismo la sensibilidad de la respuesta de GH a la somatocrinina es máxima en los varones entre los 20 y 30 años (tabla 7).

La secreción de GH se ve modificada por estímulos externos, por ritmos endógenos de naturaleza neurógena y por la acción retroalimentadora de la GH. El ejercicio, el estrés físico y psicológico, la ingesta rica en proteínas, la caída de glucosa después de una comida rica en carbohidratos, la hipoglicemia, el ayuno, las fases profundas de sueño (fases 3 y 4), son factores que estimulan la secreción de GH, probablemente a través de mecanismos que actúan sobre el hipotálamo.

Tabla 7. Niveles séricos de Hormona del crecimiento en:<sup>13</sup>

Neonatos	Valores superiores a 10 µg/L
Adultos normales	Los valores máximos generalmente son superiores a 10µg/L y en algunos puede llegar a 40 µg/L.
Deficiencias de GH	Valores máximos entre 5 y 10 µg/L
Aumento de GH	Valores superiores a 10mU/L

Las cantidades insuficientes de GH ya sea por panhipopituitarismo\* o por deficiencia aislada de GH, son más graves en la infancia debido a que afectan el crecimiento del niño. Los demás efectos metabólicos ocasionan menos problemas. Los pacientes enanos con deficiencia de GH responden normalmente a la GH exógena. El exceso de hormona del crecimiento, provocado por un tumor acidófilo, causa el gigantismo, si ocurre antes del cierre de las placas epifisarias\*. Puesto que se produce un crecimiento acelerado de los huesos largos.<sup>13</sup>

La **acromegalia** es la consecuencia de la liberación excesiva de GH que comienza después del cierre epifisario y del cese del crecimiento de los huesos largos. El crecimiento óseo acral produce los cambios faciales característicos (mandíbula prominente, nariz ensanchada) y el crecimiento exagerado de manos, pies y cráneo.<sup>25</sup>

Otros efectos incluyen el crecimiento de muchos órganos de tejido blando como la lengua, hígado, riñones. Hay engrosamiento de la piel y diversos problema metabólicos incluyendo diabetes sacarina.<sup>25</sup>

\*Glosario

La dosis recomendada de GH es alrededor de 0.6 UI/ kg de peso por semana. La dosis semanal puede ser dividida en tres administraciones, ya sea, por vía intramuscular o subcutánea.

Tabla 8. Usos terapéuticos y efectos adversos de la GH.<sup>13, 25</sup>

<b>Aplicaciones terapéuticas</b>	<b>Efectos adversos</b>
Enanismo	Gigantismo
Panhipopituitarismo	Acromegalia
	Resistencia a la insulina

### 5.3 USO DE GH EN EL DEPORTE.

La GH se ha usado como una sustancia de abuso en el deporte desde principios de los 80's, ha aumentado su popularidad entre los atletas de rendimiento y entre los fisicoconstructivistas debido a los supuestos efectos que tiene sobre el músculo y el tejido adiposo, como ya se había introducido un método para la detección de hCG y de Testosterona, vieron otra alternativa con el uso de hormona del crecimiento, atractiva además por su difícil detección y por ser fácilmente disponible en cantidades ilimitadas.<sup>30</sup>

Sin embargo, no se han preocupado por los efectos adversos que el uso inadecuado de esta hormona ocasiona.

Las razones por las cuales la GH es atractiva para los deportistas es debido a lo siguiente: Aumenta la movilización de los ácidos grasos y su concentración en sangre, de esta manera se comporta ahorrando proteínas y carbohidratos, poniendo a disposición los ácidos grasos para ser utilizados como combustible.<sup>46</sup>

A nivel de carbohidratos: Disminuye la utilización de estos para la obtención de energía, satura rápidamente los depósitos de glucógeno, disminuye el transporte de glucosa intracelular (quizá por la previa saturación de los depósitos celulares y disminución en la utilización), Aumenta la concentración de glucosa en sangre debido a la disminución de esta hacia las células.

A nivel de proteínas: aumenta el transporte de aminoácidos al interior de la célula, Promueve la estimulación hepática para la síntesis de somatomedinas IGF-I e IGF-II, las cuales actúan sobre el hueso y el cartilago promoviendo su crecimiento; generando de esta manera un efecto indirecto de la GH sobre el crecimiento del hueso y cartilago.<sup>51</sup>



De esta manera fortalece el tejido conectivo (cartílago y tendones), produciendo un efecto que debería reducir la susceptibilidad a lesiones debidas por el entrenamiento intenso, además de aumentar la fuerza.

El uso de hormona de crecimiento por los deportistas ha reportado tempranamente síntomas de acromegalia. Además de que la exposición prolongada a cantidades excesivas de GH puede causar resistencia a la insulina. Otros síntomas incluyen la manifestación de debilidad muscular, artritis, impotencia, hiperlipidemia e intolerancia a la glucosa.<sup>30</sup>

El pronóstico para el desarrollo de un método para la detección de la administración de GH ha sido considerado generalmente pobre. Por que el tiempo de vida media de GH en plasma es solamente de 15-18 minutos y porque menos del 0.01% de GH es secretada en orina.<sup>49</sup>

## 6. MÉTODOS DE ANÁLISIS Y CONTROL ANTIDOPAJE

### 6.1 CONTROL ANTIDOPAJE.

Son una serie de operaciones realizadas desde que se toma una muestra orgánica para analizarla hasta que se emite el resultado del análisis, o en su caso, el del correspondiente contraanálisis, con el fin de confirmar inequívocamente, si se han transgredido las normas que prohíben utilizar sustancias dopantes en el deporte.

Los procesos que integran un control antidopaje son:

1. Procesos anteriores a los realizados en el laboratorio analítico: a) en este punto entra la selección de competencias, b) selección de deportistas (los ganadores de medallas, así como todos aquellos que establecen un record). Para los deportes en equipo se seleccionan 2 de sus miembros al azar. También se controlan a otros competidores elegidos por sorteo. c) Toma de muestra: notificación al deportista, toma de muestra de orina y a partir de Sydney 2000 también de sangre. La toma de la muestra debe realizarse dentro de unos límites razonables de tiempo las muestras se separan en dos frascos **A** y **B** y todas siguen un proceso de cadena de custodia hasta llegar al laboratorio.
  
2. Procesos efectuados en el laboratorio: a) Recepción de muestras y registro de muestras. b) Análisis de las muestras **A**.
  
3. Procesos posteriores a los efectuados en el laboratorio. a) Evaluación e informe de los resultados. b) Análisis de las muestras **B** (en caso de que el análisis de las muestras **A** haya sido positivo). c) Procesos consecuentes a un resultado positivo.  
29, 40, 44

## 6.2 MÉTODOS DE ANÁLISIS.

Algunas hormonas o sus metabolitos se excretan en la orina; y a veces su concentración en orina es superior a su concentración en sangre. (6) Debido a que es más cómodo conseguir unos decilitros de orina, que unos 20 mL de sangre, algunos análisis hormonales pueden hacerse a partir de la orina.

No todas las hormonas se excretan por la orina en cantidades apreciables; las de menos peso molecular, caso de las hormonas esteroideas, tienen mayor probabilidad de hallarse en cantidades medibles en orina, que las moléculas mayores, tales como las hormonas de la pituitaria.<sup>6, 11</sup>

A veces la hormona no se excreta en gran cantidad, pero si sus metabolitos, las medidas de estos conducen algunas veces a resultados válidos que nos dan la cantidad original de hormona en sangre.<sup>34</sup> Por tanto, salvo unos pocos casos, es casi imposible medir estas concentraciones por los medios químicos usuales. Por fortuna se han creado métodos sensibles que revolucionaron la cuantificación de hormonas, sus precursores y productos metabólicos finales.

De manera general, para el análisis, la hormona se extrae de la sangre o de la orina utilizando solventes orgánicos inmiscibles o por cromatografía en columna. En la orina, se precisa una hidrólisis previa a la extracción, ya que las hormonas se encuentran conjugadas en forma de glucoronidos o sulfatos, después de purificar varias veces el extracto hormonal o de sus metabolitos, se trata con un reactivo que produzca color o fluorescencia para así poder medirla, surgen problemas al tener que eliminar varias veces, sustancias que interfieren debido a que los reactivos no son totalmente específicos para la hormona o sus metabolitos. Las hormonas esteroides y metabolitos se separan mejor por cromatografía de gases.<sup>28</sup>

### 6.2.1 MÉTODOS DE ANÁLISIS PRESUNTIVOS.

También llamados “*screening*” tienen la finalidad de desechar las muestras negativas, es decir, aquellas en las que no se observó la presencia de alguna sustancia dopante o sus metabolitos, mientras que en las muestras que presenten una señal sospechosa o la presencia de alguna sustancia dopante, realizar una identificación previa que permita proseguir el análisis a fin de confirmar esta identificación preliminar.

Debido a que estos *screening* pueden ser susceptibles de dar reactividad cruzada u otros errores, si una sustancia prohibida se identifica con estos, se utilizará un segundo método más específico para confirmar el resultado.

Existen varios métodos en química clínica para la determinación y cuantificación de hormonas peptídicas, pero a pesar de la sensibilidad de estos métodos no se tienen del todo estandarizados ciertos parámetros y las técnicas empleadas aún no se han validado por tal motivo el Comité Olímpico Internacional (COI) no los ha aceptado como pruebas definitivas en el abuso de hormonas peptídicas y poder así sancionar su abuso.<sup>29</sup>

A continuación se describen los métodos analíticos que emplean para su determinación.

### 6.2.1.1 RADIOINMUNOANÁLISIS (RIA).

La cuantificación de pequeñas cantidades de antígenos, no detectables por los métodos convencionales, pueden lograrse sin inconvenientes si están marcados con átomos radiactivos. Mediante su empleo ha sido desarrollado el Radioinmunoanálisis, método sensible y específico, muy utilizado sobre todo en endocrinología, para la cuantificación de hormonas peptídicas.

El hecho más significativo del radioinmunoanálisis es el que utiliza un isótopo marcado radiactivamente para discriminar entre antígeno unido al anticuerpo y antígeno libre. El radioisótopo es un átomo inestable que se va desintegrando y emite partículas subatómicas y/o energía en la forma de radiación, que pueden ser medidas mediante técnicas de conteo radiactivo.

En RIA se requiere la síntesis de un antígeno (sustancia de interés) marcada radiactivamente con algún elemento isotópico, como yodo radiactivo I<sup>125</sup>. Este antígeno (Ag) radiactivo forma un complejo con un anticuerpo (Ac) animal y se añade a la muestra problema (orina o plasma), si la sustancia buscada está presente en esta producirá un desplazamiento o liberación del producto radiactivo; que queda en la mezcla y es separado por centrifugación (figura 6) Por último se prepara para cuantificar la radiactividad incorporada en un detector de radiactividad. La cantidad de radiactividad detectada es inversamente proporcional a la cantidad de sustancia analizada.<sup>35</sup>

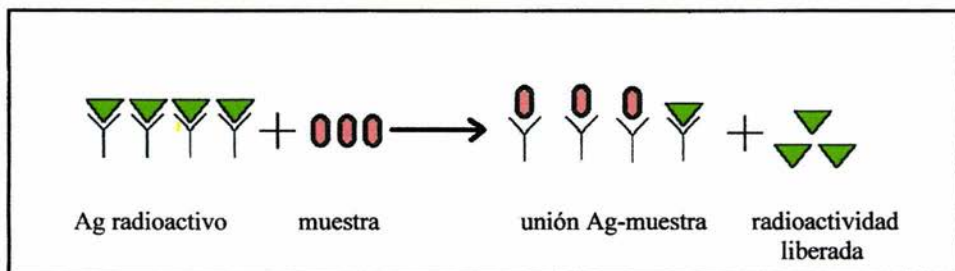


Figura 6. Ensayo radioinmunoanalítico que utiliza radioisótopos para detectar Ag o Ac en líquidos biológicos.<sup>45</sup>

Entre sus cualidades se hallan alta sensibilidad, su comparativa sencillez respecto de los métodos biológicos usados en endocrinología, y su versatilidad para aplicarlo a muestras de pequeños volúmenes y en grandes series.

#### 6.2.1.2 VARIANTES DEL RIA EN FASE SÓLIDA (RIA-FS).

Una serie de variantes en radioinmunoanálisis en fase sólida se desarrollaron con diferentes propósitos en el curso de las últimas dos décadas. Dentro de esas variantes hay un grupo de métodos que se designaron genéricamente como **inmunorradiométricos** y cuyo prototipo es el Ensayo inmunorradiométrico de dos sitios o simplemente **IRMA**. El objetivo de este procedimiento es el uso de anticuerpos específicos sobre una fase sólida para extraer el antígeno de fluidos de donde se les purifica y concentra. Mientras el antígeno permanece unido, un segundo anticuerpo marcado se une a otro sitio sobre el antígeno (figura 7). Así pueden efectuarse determinaciones del antígeno en función de la cantidad de anticuerpo marcado que se ha unido. Si los dos anticuerpos son diferentes, se aumenta considerablemente la especificidad del sistema.

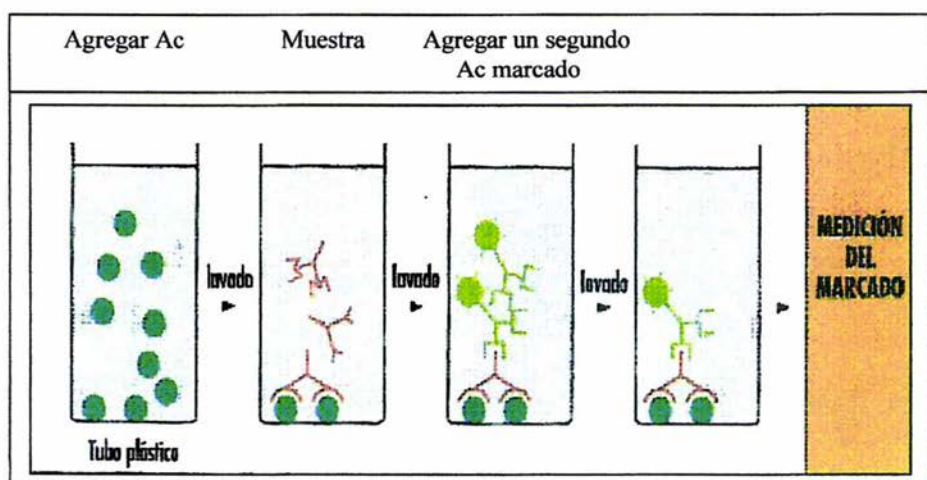


Figura 7. Ensayo radioinmunoométrico en dos sitios en fase sólida <sup>45</sup>

El análisis Radioinmunoométrico (IRMA), o Inmunoanálisis, utilizando anticuerpo con un átomo radioactivo, se utiliza cada vez más y con frecuencia es más sensible y específico que RIA.

Otros procedimientos se basan en acoples sucesivos de este tipo y han sido designados conjuntamente “**técnicas de sándwich**”. Según la variante empleada, si se fija primero el antígeno o el anticuerpo, o si se intenta detectar uno u otro, cambian los nombres.

Se denominan métodos indirectos; si tanto los antígenos como los anticuerpos se detectan a través de un anticuerpo antiinmunoglobulina marcado.

### 6.2.1.3 ENZIMOINMUNOANÁLISIS (EIA)

Los enzimoimmunoanálisis EIA o ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) se fundamentan en dos fenómenos biológicos importantes (figura 8):

1. La elevada especificidad de los anticuerpos (Ac).
2. La alta actividad de algunas enzimas usadas en este tipo de ensayo, lo que permite la amplificación de la señal generada por la muestra.

Los EIA comprenden dos etapas generales:

1. La reacción de un inmunorreactante con un antígeno (Ag) o un (Ac);
2. La detección de este inmunorreactante mediante la utilización de un conjugado enzimático.

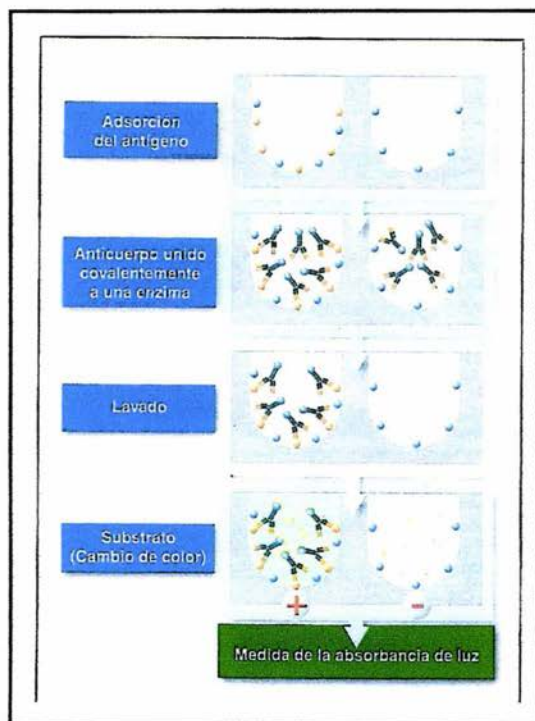


Figura 8. El enzimoimmunoensayo o ELISA permite identificar inmunocomplejos por medio de enzimas unidas al Ag o Ac, estando uno de ellos adsorbido a un soporte sólido. La reacción Ag-Ac se detecta mediante la utilización de una enzima conjugada químicamente al Ag o Ac. La enzima convierte un sustrato incoloro en un producto coloreado, cuyo color es proporcional a la cantidad de inmunocomplejos formados.<sup>39</sup>

Un tipo de EIA es similar al de RIA, excepto que las moléculas de A están marcadas no por un átomo radiactivo sino por una enzima. La enzima se une con la molécula de A de tal forma que esta no interfiere en su acción como un antígeno no con la actividad de la enzima, entonces, después de separarlo en cualquier fracción se evalúa por la determinación de la actividad enzimática.

La sencillez de los ELISA sumada a la potencialidad de los Ac monoclonales, hace que día a día se vaya imponiendo sobre métodos tales como aquellos basados en la utilización de un trazador radiactivo (RIA), un trazador emisor de luz (Quimioluminiscencia) o un trazador fluorescente (Fluorografía). La gran ventaja de ELISA sobre otros métodos reside es que no requiere un equipo demasiado sofisticado para su implementación en el laboratorio. Además de que los reactivos usados son de una vida media muy alta (en RIA, un trazador radiactivo con yodo tiene una vida media de 60 días, mientras que un conjugado enzimático usado en ELISA puede conservarse bien durante años) y no se conoce el riesgo de contaminación producida por el manipuleo del isótopos radiactivos.

#### **6.2.1.4 FOCALIZACIÓN ISO ELÉCTRICA (ISOELECTROENFOQUE)<sup>62, 65</sup>**

El isoelectroenfoque es una técnica de separación por electroforesis (figura 9) muy usada en el análisis de proteínas, y actualmente se usa para la determinación del uso de hormonas peptídicas en el deporte.<sup>35, 62</sup>

Este procedimiento está destinado a la separación de componentes anfotéricos de una mezcla de gradiente de pH continuo y estable que se extiende desde bajo pH en el ánodo y elevado en el cátodo.

El secreto de esta técnica reside, fundamentalmente en la obtención de un gradiente de pH, continuo y estable, lo que ha sido posible empleando anfólitos obtenidos por la unión de poliamidas y ácidos orgánicos, formando uniones poliamínicas y policarboxílicas que en un ámbito de protones los ceden o los incorporan a las moléculas, lo que actúa como un estabilizador de pH.

Cuando un medio con anfólitos se aplica un campo eléctrico, los anfólitos migran hacia un punto isoeléctrico, generando un gradiente estable de pH. Estos anfólitos son sintetizados para obtener gradientes de pH de 2 a 11, y con resolución de 0.001 unidades de pH.

Cuando al gradiente de pH se le introduce una proteína en ese gradiente de anfólitos, cada zona intercambia protones con la muestra proteica, generando una separación isoeléctrica conocida como electroenfocado o electrofocusing.

Ventajas de su uso: las separaciones se realizan empleando mecanismos tradicionales, en un ámbito capilar, que además ofrece más facilidad y velocidad que la cromatografía líquida de alta resolución; además que elimina el problema de los solventes que se usan en HPLC, la toxicidad de los mismos y su costo, pues emplea soluciones acuosas en su gran mayoría con muy baja concentración iónica.

Aprovechando las ventajas que brinda esta técnica se han comparado los perfiles isoeléctricos de la EPO natural VS EPO recombinante y las diferencias que presentan son útiles para determinar el dopaje con esta hormona.<sup>62, 65</sup>

#### 6.2.1.5 INMUNOTRANSFERENCIA (IMMUNOBLOTTING).<sup>21</sup>

Esta técnica es usada para sustancias antigénicas, en la que los componentes de una mezcla son separados y la transferencia a membranas de nitrato de celulosa tiene lugar mediante el paso de corriente eléctrica, a pH alto. Como consecuencia las moléculas proteicas se movilizan y contactan con la membrana de nitrato de celulosa, donde se fijan.<sup>21</sup>

Las moléculas antigénicas transferidas son identificadas por interacción con anticuerpos específicos. Los complejos Ac-Ag formados pueden ser identificados desarrollando sobre el complejo formado una reacción coloreada de ELISA. La identificación de antígenos en la forma descrita ha sido denominada Inmunotransferencia o Immunoblotting según la literatura inglesa.

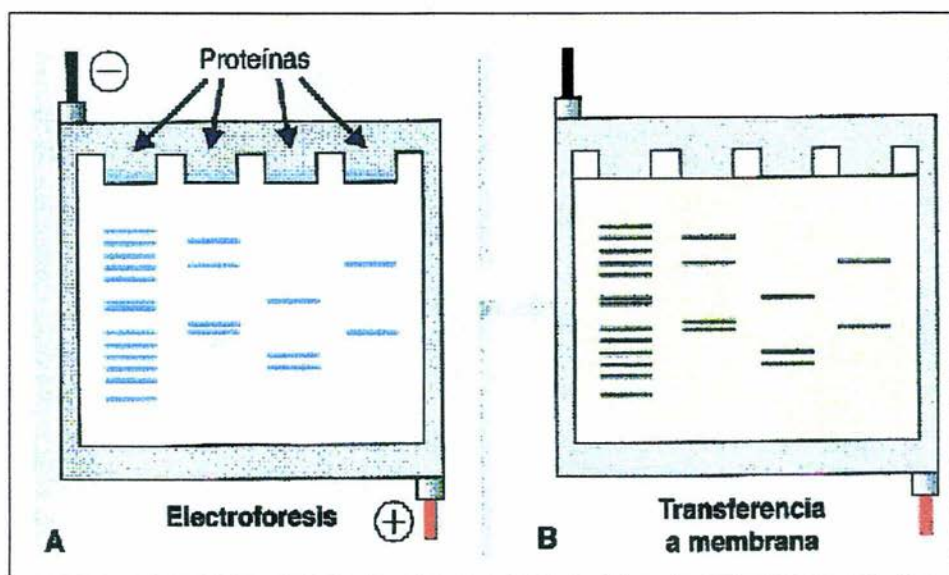


Figura 9. En esta técnica inicialmente se separan las proteínas de la muestra mediante electroforesis en un gel de SDS-poliacrilamida (A). Seguidamente se transfieren estas proteínas a una membrana de nitrocelulosa en el interior de una cámara de transferencia, posteriormente se añade a la membrana un Ac específico para el Ag de estudio, la identificación de los complejos formados es similar a la técnica de ELISA, que nos permite detectar en la membrana la presencia de bandas que corresponde al Ag que nos interesa detectar.<sup>39</sup>



## TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

Existen métodos cromatográficos que pueden ser aplicados para la purificación de macromoléculas biológicas ya que éstas difieren en sus características fisicoquímicas, tamaño, forma, carga, hidrofobicidad y su arreglo de sus grupos funcionales dentro de su estructura tridimensional, por lo tanto los métodos cromatográficos más comunes para el fraccionamiento de estas moléculas son los siguientes:

### 6.2.1.6 CROMATOGRAFIA EN FASE REVERSA (RCP)

La RCP es una técnica cromatográfica basada en las interacciones hidrofóbicas entre una matriz sustituida y la molécula a separar. Su aplicación en sistemas de alta resolución como HPLC es muy importante pues permite el estudio analítico de muestras proteicas. De ahí su importancia para la determinación de hormonas peptídicas.<sup>35</sup>

La cromatografía en fase reversa o inversa surge como un método inverso a la cromatografía en fase normal. En un principio, la diferenciación entre los métodos fue hecho en base a la polaridad de la fase móvil. La RCP utiliza una matriz hidrofóbica de sílice sustituida usualmente con un grupo funcional hidrofóbico y una fase móvil más polar que la fase estacionaria, frecuentemente parcial o totalmente acuosa. Las sustancias polares corren en la fase móvil y eluyen primero. Conforme aumenta el carácter hidrofóbico de los compuestos, la retención será mayor.<sup>35</sup>

En este tipo de cromatografía la matriz es sílice sustituida con largas cadenas de n-alquilos, comúnmente C<sub>8</sub> (octilsilil) o C<sub>18</sub> (octadecilsilil). La matriz es menos polar que la fase móvil la cual generalmente esta constituida por una mezcla de agua y un modificador orgánico menos polar. La RCP depende de la hidrofobicidad intrínseca en la proteína y se realiza bajo condiciones que hacen que esta esponja casi todos los grupos hidrofóbicos hacia la matriz.

Aunque la detección de Hormonas peptídicas por ensayos inmunoenzimáticos (tabla 9) esta bien establecida en los laboratorios certificados por el COI, la aceptación de estos métodos de análisis como prueba definitiva para el control antidopaje no han sido bien acreditados debido a que durante las determinaciones pueden presentarse algunos inconvenientes; por ejemplo, para la medición de hCG y LH, las interferencias son debido a la amplia analogía que existe entre ambos polipéptidos y a la presencia de fragmentos inmunorreactivos que ocasionan reactividad cruzada afectando la reproducibilidad, especificidad y exactitud de los ensayos.<sup>11, 32</sup>

**Tabla 9. Métodos de screening utilizados para el análisis de las Hormonas Peptídicas**

METODO	HORMONA	USO	COMENTARIOS
Radioinmunoanálisis (RIA) <sup>41</sup>	<b>Insulina</b>	Muy frecuente	Puede ser afectado por los anticuerpos antiinsulina, endógenos. La sensibilidad es 10 µU/mL (416.7 pg/mL)
	<b>HCG</b> (inhibición competitiva)	Frecuente	La prueba más sensible disponible: 40 a 60 minutos por ensayo. 5mUI/mL
	<b>Testosterona</b> (Fijación competitiva)	Frecuente	Reactividad cruzada con 5α-dihidrotestosterona. Limite de detección 0.8 ng/mL para el intervalo de referencia femenino.
	<b>GH</b> (competencia entre <sup>125</sup> I-GH y GH de la muestra por unión con un anticuerpo específico.	Común	Existen equipos comerciales.
Ensayos inmunoradiométricos (IRMA) <sup>35</sup>	<b>GH</b> (el Ac anti-GH marcado con <sup>125</sup> I se fija en un segundo Ac unido a una fase sólida mediante la GH de la muestra	Común	Existen equipos comerciales.
	<b>HCG</b>	Común	No es tan sensible como el RIA. 25-50 mUI/mL
Enzimoimmunoanálisis (ELISA) <sup>35</sup>	<b>HCG</b> (ensayo inmonométrico tipo sandwich)	Común	Sensibilidad: 2 a 10 UI/mL, tiempo de ensayo de 1 a 3 horas.
	<b>Insulina</b> (técnica sandwich, en la cual un segundo Ac está unido a la peroxidasa de rábano.	Poco frecuente	Tan sensible como el RIA
Focalización isoelectrica (Isoelectroenfoque acoplada a Inmunotransferencia IEF)	<b>EPO</b> Separación isoelectrica de la EPO recombinante y la EPO humana y por medio de la identificación de las bandas, se hace una diferenciación entre ambas.	Común	Método sensible, se pueden separar proteínas en su punto isoelectrico (pI) a diferencias tan pequeñas como 0.001 unidades de pH
Anticuerpos monoclonales AcMo <sup>57</sup>	<b>GH</b> (se hacen cultivos de AcMo contra la GH proveniente de la pituitaria y la GH recombinante y se realiza inmunoensayo tipo sandwich para cada cultivo).	Se esta implementando	Método altamente reproducible y eficaz para diferenciar entre la GH recombinante de la natural.

### 6.3.1 MÉTODOS DE ANÁLISIS CONFIRMATIVOS.

Como se mencionó anteriormente los procesos de detección, identificación y confirmación cualitativa de las hormonas peptídicas no basta para considerar como positiva una muestra, sino que se exige realizar una cuantificación absoluta para determinar a través de las concentraciones medidas si la muestra es positiva o negativa. Por lo tanto el resultado final de un método de control antidopaje sólo es efectivo y válido si la identificación previa se confirma por Espectrometría de masas u otro método confirmativo como Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas CG/EM y HPLC.<sup>29</sup>

Debido a la naturaleza de las hormonas peptídicas, no se han podido hacer uso de técnicas como CG/EM (excepto para hormonas esteroides como la Testosterona) por que no son volátiles y no tienen estabilidad térmica, es por ello que avances analíticos para la detección de estas sustancias han hecho de la cromatografía de líquidos una técnica fundamental.

El método confirmativo con el que se ha trabajado para la determinación de hormonas peptídicas es la Cromatografía líquida de alta presión acoplada a espectrometría de masas **HPLC/EM**, esta metodología implican dos técnicas: la cromatografía de líquidos y una espectroscopia de masas.<sup>32</sup>

Esta técnica fue probada por primera vez en 1996 en los Juegos Olímpicos de Atlanta dando buenos resultados. Estos avances recientes en la generación de iones directamente de líquidos ha sugerido la posibilidad de confirmación de hormonas peptídicas por espectrometría de masas.<sup>32</sup>

#### 6.3.1.1 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS HPLC/EM

Con el avance tecnológico, las técnicas cromatográficas han sido perfeccionadas, tanto desde el punto de vista de la eficiencia del método como de la rapidez. La cromatografía líquida de alta presión, es uno de los recursos analíticos más apreciados y difundidos para la purificación y caracterización de todo tipo de sustancias.

Las ventajas principales son la velocidad de análisis, alta sensibilidad y resolución, resultados cuantitativos y factibilidad de automatización. La técnica de HPLC es usada para la caracterización y/o separación de solutos, donde el solvente usado y la alta presión del equipo no alteran la conformación tridimensional y por ende la actividad biológica de la molécula en estudio.

El principio general de HPLC, la muestra se distribuye en dos fases, una estacionaria y otra móvil, de modo tal que cada uno de los componentes de una mezcla son selectivamente retenidos por la fase estacionaria.

En los sistemas de HPLC para la separación de macromoléculas biológicas, las partículas pueden soportar presiones mucho más elevadas, su tamaño ha podido disminuirse más de 10 veces, aumentando de esta manera la cinética de adsorción-desorción, debido a la alta presión que puede aplicarse a las columnas se reduce el tiempo de corrida cromatográfica. De hecho el líquido puede ser forzado a través de la columna a una velocidad y presión controladas por medio de bombas de alta presión, la muestra es inyectada mientras que el sistema opera bajo presión, el efluente de la columna puede ser monitoreado mediante la aplicación de espectrofotómetros de alta sensibilidad y finalmente recolectado, finalmente un graficador representa el cromatograma. Una vez separada la sustancia de interés sale hacia el espectrómetro de masas, en donde se expone a un bombardeo de electrones al alto vacío. Los electrones transfieren una carga a las moléculas separadas, de las cuáles, algunas adquieren suficiente energía para fragmentar los iones constituyentes. Los iones viajan por un potente campo magnético, que provoca su separación de acuerdo a su masa y carga. Entonces, un detector de iones determina la masa, carga y abundancia de los iones. De acuerdo a esta información, se produce un espectro de masas: de fragmentación de masa y carga contra la abundancia de iones.

Cada fragmento obtenido produce un espectro de masas específico y puede ser identificado por su patrón. La confirmación final se hace cuando el compuesto patrón de la sustancia problema es igual a la de un compuesto de referencia.

Esta técnica se usa para la detección de hCG en la cual se desarrolla una interfase por electrospray para conseguir una ionización eficiente de péptidos y proteínas **HPLC/EM por ionización con electrospray (ES)** <sup>63</sup> y **MALDI-TOF** <sup>64</sup> **matriz-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass analysis** también es aplicada para su detección. Ambas técnicas tienen la habilidad de producir datos cuantitativos bien establecidos. <sup>32</sup>

En la confirmación de GH hay una clara diferenciación de masa de la GH recombinante comparada con la GH nativa con la aplicación de HPLC/EM que se ha hecho más sensible con modo SIM (select ion monitoring) registrando fragmentos característicos en la detección de IGF-I. <sup>32</sup>

Se están implementando cambios en las técnicas para en un futuro poder confirmar la presencia de EPO recombinante.

Con la ayuda de estas técnicas confirmativas, se podrán tener datos estadísticos confiables en cuanto al dopaje con hormonas peptídicas, detectándolas de una manera oportuna y poder discriminar si una muestra se considera positiva o no.

## **7. ASPECTOS ÉTICOS Y PREVALENCIA DEL ABUSO DE HORMONAS PEPTÍDICAS EN EL DEPORTE.**

El dopaje con hormonas peptídicas es un problema que ha tomado creciente importancia en el ámbito deportivo, y debe de requerir de un cuidadoso conocimiento por parte del deportista y de los profesionistas interesados en el área de la salud.

Las propiedades básicas que ennoblecen el deporte, como son la educativa, recreativa, sanitaria, etcétera, han sido desplazadas, por otro tipo de ideas e intereses muy difícilmente justificables, así, es un hecho que el deporte actual se ha transformado en un fenómeno de masas con unas repercusiones económicas de gran trascendencia. La gran difusión que hoy día se da por los medios de información, de las competencias más importantes y la pasión que despiertan en las grandes masas de espectadores, ha tenido como resultado que en los “astros” del deporte aumente el deseo de ganar y por lo tanto el uso de cualquier sustancia que de manera artificial les proporcione ventajas sobre sus adversarios.<sup>55</sup>

El dopaje es contrario a la ética deportiva por cuanto supone desprecio al esfuerzo realizado por los demás para conseguir su superación. Es contrario a la educación por cuanto lo importante no es ganar, sino competir con lealtad, constituyendo uno de los fines más importantes del deporte.

Es evidente que el uso de Hormonas peptídicas o cualquier sustancia que ayude de manera artificial a aumentar el rendimiento físico del deportista representa un acto ilícito, reprochable y desleal a los lineamientos deportivos.

Es difícil conocer con exactitud la incidencia real del uso de hormonas peptídicas en el ámbito deportivo. En la tabla 10 se mencionan algunos casos de dopaje positivo con dichas hormonas. Debe tenerse en cuenta de que la dimensión de los datos que se muestran más adelante puede ser muy superior, pero, debido a que no hace mucho que se está trabajando en el mejoramiento de técnicas confirmativas que puedan a portar datos estadísticos sobre la incidencia real del abuso de hormonas peptídicas, solo se indica lo siguiente.

**Tabla 10. Disciplinas deportivas en las cuales se ha encontrado mayor incidencia de dopaje con hormonas peptídicas.**<sup>4, 5, 7, 12, 18, 19, 47, 49.</sup>

Hormona	Disciplina	Año	Numero de casos
Eritropoyetina (EPO)	Natación	1989	1
	Fútbol	1992, 1993, 1994	En cada año un caso reportado.
	salto de longitud	1994	1
	Esquí	1994	1
	Ciclismo	1999	5
Hormona del Crecimiento (GH)	Ciclismo	1983	2
	Halterofilia	1991	80
	Tenis	1992	1
	Salto de longitud	1992	1
	Salto con garrocha	1994	1
	Fisicoconstructivismo	-	-
Insulina	Fútbol	1992	1
	Fisicoconstructivismo	1992	2
Gonadotropina Coriónica Humana (hCG)	Diversos Eventos deportivos	1987	21
	Fisicoconstructivismo	1994	26
	Atletismo	1994	2
Testosterona	800 metros planos	1992	1
	100 y 200 metros	1994	1 caso en cada disciplina.
	Natación	1994	1

De acuerdo a la tabla se observa que dopaje con hormonas peptídicas es reciente; en comparación con otras sustancias que se han venido usando desde años atrás (como los anabólicos esteroideos, estimulantes del sistema nervioso central, etc.). Pero aún no se tienen reportes que muestre estadísticamente el incremento en el abuso de hormonas peptídicas en el deporte debido en gran parte a la dificultad a la que se enfrentan los laboratorios acreditados por el COI durante su determinación.

Sin embargo, debido al creciente abuso de las hormonas peptídicas en los últimos años las federaciones deportivas y los gobiernos de diferentes países se han puesto cada vez más estrictos en la lucha contra el dopaje.<sup>61</sup>

En 1999 el COI junto con otras organizaciones deportivas internacionales y gobiernos de varios países crearon el Código Antidopaje del Movimiento Olímpico. El código no aplica únicamente a los Juegos olímpicos, sino también a los periodos fuera de competencia, y en septiembre del 2003 la WADA en colaboración con el COI publicaron una lista reciente de sustancias y métodos prohibidos (para su ejercicio desde enero del 2004), disponible para todos los atletas olímpicos. En esta, el grupo **S5** corresponde a las **Hormonas peptídicas**: EPO, GH Incluyendo (IGF-1), hCG, LH e Insulina.<sup>56</sup>

A menos que el atleta pueda demostrar que la concentración encontrada de cualquiera de estas hormonas, sea debida a condiciones fisiológicas o patológicas, una muestra será juzgada por contener sustancias prohibidas (de acuerdo al listado anterior), cuando la concentración de dichas sustancia o sus metabolitos liberados y la relación entre estos exceda el rango de valores normales encontrado en humanos sanos a tal grado que no sea congruente con la producción endógena normal, en muestras obtenidas de atletas, serán reportadas y sancionadas.

Las sanciones que se aplican a los atletas que hayan dado un resultado positivo con hormonas peptídicas durante la prueba antidopaje van desde suspensiones hasta inhabilitaciones, pero en realidad las sanciones no son muy severas y depende de las disciplinas deportivas.<sup>10</sup>

Los voceros de la asociación Médica Norteamericana afirman que ninguna hormona ni otra sustancial artificial podrían beneficiar de manera segura o sin peligro a un individuo normal en cuanto a su resistencia o fuerza, ni ofrecerle mejor desempeño atlético de que ya es capaz por medio de sus propios recursos o su propia aptitud natural.<sup>9</sup>

Y lo importante es crear conciencia entre los atletas que las usan ya que el dopaje con hormonas es potencialmente peligroso para la salud porque expone al organismo al riesgo de sobrepasar fatalmente sus límites, alterando la coordinación normal de las funciones orgánicas y causando un deterioro físico tal vez irreversible o hasta la muerte.

## 8. ANALISIS DE RESULTADOS.

La aparición y extensión del dopaje se debe en gran parte a factores externos a la misma esencia del deporte. El abuso de hormonas peptídicas que se ha dado en la actualidad para aumentar su rendimiento físico se debe en gran parte a la presión que ejerce la sociedad sobre el deportista al que se le exige una superación continua de su rendimiento deportivo, además, de la gran controversia que presenta el encontrar una prueba de laboratorio adecuada que determine de manera precisa el dopaje con estas hormonas.<sup>55</sup>

Tanto el deporte de recreación, amateur, como el competitivo ocupan un lugar destacado en las sociedades modernas, el profesionalismo impulsado por las empresas y la televisión; llevan a los deportistas a esfuerzos tremendos y una superación constante y el atleta ante una expectativa de mayores beneficios se sube a esa carrera desenfundada, resultándole difícil mantener ese ritmo con medios naturales por lo que recurren al dopaje con hormonas peptídicas ya que los deportistas se dejan seducir por los resultados que obtendrán con su uso.

Existen varias razones por las que el deportista recurre a ellas, debido a que estas hormonas:

1. Estimulan su resistencia
2. Aumentan su fuerza
3. Aumentan su masa muscular
4. Calmar la fatiga

Sin embargo, no toman en cuenta los riesgos potenciales a los que están expuestos con su uso. Con la eritropoyetina los tejidos reciben mayor cantidad de oxígeno con lo cual los músculos trabajan de forma más eficaz y aumenta de manera considerable su resistencia, pero corren el riesgo de desencadenar un problema de trombosis, obstrucción de arterias coronarias, accidentes cerebrovasculares; debido a la gran cantidad de eritrocitos el hematocrito se eleva (entre 50-60%) aumentándose la viscosidad sanguínea y por lo tanto el flujo sanguíneo se hace lento aumentando la posibilidad de la formación de trombos y la consecuencia peor por su uso puede ser la muerte.

El uso de insulina se ha dado por su acción anabólica ya que promueve la síntesis de glucógeno, ácidos grasos y proteínas para incrementar la entrada de glucosa y aminoácidos a las células musculares. Incluso el autor de una revista describe a la insulina como el anabólico más poderoso del planeta. El peligro potencial debido a su uso son: crear insulinoresistencia, casos severos de hipoglucemia ocasionando daño cerebral. Dentro de las cosas más alarmantes son las dosis usadas por estos atletas ya que son sorprendentemente altas, 80 UI de insulina cada hora por un período de 3-4 h diariamente.



Mientras que en casos terapéuticos la dosis recomendada es de 10 UI de insulina, 44 aplicaciones por un periodo de 6 meses; comparando, se tiene que un atleta se inyecta 320 UI/ día, varios días antes de la competencia; en tanto que una persona que requiere de insulina se aplican dosis de 10 UI cada 4 días durante 6 meses, la diferencia observada es bastante grande y los efectos adversos causados por su uso llegan de manera más rápida, haciendo más preocupante el uso indebido y desmedido de la insulina.

En cuanto a las gonadotropinas como la hCG y LH, su uso se da para aumentar de manera indirecta la producción endógena de testosterona, dentro de las ventajas que se obtienen con su producción son los efectos que presenta sobre el crecimiento óseo, los huesos aumentan considerablemente su grosor ya que se depositan cantidades sustanciales de sales de calcio y de esta forma la testosterona aumenta la cantidad total de matriz ósea. Además de que ejerce un efecto sobre la formación de proteínas, desarrollo muscular y efecto estimulante sobre la eritropoyesis. Dentro de sus efectos tóxicos se ve aumentando el riesgo de enfermedades cardiovasculares ocasionadas por las anomalías lipídicas debido a la disminución en sangre de lipoproteínas de alta densidad y aumento de las lipoproteínas de baja densidad, lo cual favorece la aparición de ataques cardíacos. En los varones produce disminución de la función testicular provocando azoospermia, aparición de ginecomastia debido a la alta concentración de hCG y LH. En la mujer pueden surgir efectos todavía más directos, al no estar adaptadas normalmente a la influencia de la hormona sexual masculina, apareciendo signos de virilización: voz más grave, aparición de vello facial, hipertrofia del clítoris, cese de las menstruaciones, etc.

El uso de la hormona del crecimiento es muy popular entre los atletas de rendimiento, porque estimula el crecimiento muscular y actúa sobre el metabolismo de los lípidos y los carbohidratos, activando la movilización del tejido adiposo estimulando el consumo de grasas, evitando la utilización de la glucosa; modificando la fuente energética del organismo y por lo tanto aumentando su resistencia durante la competencia. Además estimula el anabolismo proteico provocando un aumento en la síntesis de proteínas que propicia el estímulo del crecimiento del músculo alcanzando mayor tamaño. Lo que la hace más atractiva sobre las demás hormonas es que después de su administración tiene un tiempo de vida media de 15 – 18 minutos, dificultando su detección. Dentro de los efectos adversos que ocasiona son la aparición de acromegalia, una vez que se ha llegado a una estatura máxima ya no se puede aumentar, y los huesos aumentan de espesor especialmente los de las manos y los pies, incluso el cráneo y la nariz; además crecen los órganos de tejido blando como lengua, hígado, riñones, corazón, afectando su funcionamiento, también se presentan trastornos metabólicos, aumento de ácidos grasos libres, hiperglucemia.

Cabe mencionar que hay gran facilidad para adquirir productos hormonales, algunos artículos hacen mención de que los atletas consiguen estas hormonas sin necesidad de presentar recetas médicas, otras son obtenidas en establecimientos veterinarios y en los peores casos en establecimientos clandestinos que ofrecen “preparados hormonales” a los deportistas. Con esto se hace evidente el desconocimiento total por parte del atleta de que no sólo importa lo que se administra, sino de donde provienen, ya que los lugares clandestinos en donde se hacen los preparados hormonales no garantizan de ninguna forma la calidad de dichas sustancias, con lo cual aumenta aún más el riesgo de su uso.

En cuanto a las técnicas analíticas usadas para la detección de hormonas peptídicas se debería innovar tratamientos previos al manejo de la muestra, de manera, que se eliminen las impurezas que puedan presentar interferencia durante el ensayo, haciendo las técnicas más sensibles. Algunos autores refieren que también se debe trabajar en la validación de estos métodos, y de esta manera demostrar que son totalmente reproducibles, específicos y confiables. Evitando así la reactividad cruzada que se pueda presentar, por ejemplo, durante la determinación de hCG o LH, debido a la gran analogía que existe entre ambas, la sensibilidad de los métodos se encuentra afectada haciéndolos menos específicos y poco reproducibles; con la implementación de tratamientos previos a la muestra, este problema sería eliminado y se aprovecharía de manera más eficaz y confiable los ensayos inmunoenzimáticos ya existentes. Esto permitiría tener una estimación real del dopaje con hormonas peptídicas y daría tiempo a que los avances analíticos proporcionaran el uso de métodos más sofisticados como la técnica de HPLC/EM, aunque esta ya esta siendo usada para la confirmación de hCG y GH, aún hace falta mejorarla en cuanto a la determinación de las demás hormonas peptídicas usadas ilegalmente en el ámbito deportivo; y de esta manera realizar una cuantificación absoluta y poder emitir con mayor seguridad un resultado positivo o negativo.

El deporte de competencia es un ejemplo característico de actividad que inevitablemente compara a cada deportista con sus compañeros y se le exige además una constante superación para llegar a ser el mejor; pero estas aspiraciones dejan de ser legítimas cuando se requiere cumplir por medios peligrosos y ajenos a la ética y lealtad del deporte, en donde el dopaje con hormonas o cualquier otra sustancia que de manera indirecta aumente su rendimiento físico no encaja en la estructura del deporte. Ya que, si uno de los objetivos de la práctica deportiva es el desarrollo integral del deportista, cuando aparece el dopaje, se anula este propósito por que es deshonesto y contradice la finalidad primaria del deporte que es conseguir una mejor salud física, mental y social.

En definitiva usan el dopaje para mantener el triunfo o para conseguirlo con menos esfuerzo.

## 9. CONCLUSIONES.

Aclarando que la información existe sobre el uso de hormonas peptídicas en el deporte y las consecuencias que su uso provoca son muy escasas, el deseo de realizar una investigación que abordará el tema del dopaje con hormonas peptídicas se cumplió con este trabajo.

De acuerdo con los objetivos planteados y a los resultados obtenidos con la investigación de este trabajo podemos concluir lo siguiente:

- Debido a las características farmacológicas que proporcionan las hormonas peptídicas, utilizadas en el ámbito deportivo (EPO, Insulina, hCG, LH y GH), es evidente que aportan efectos benéficos que ayudan a aumentar el desempeño físico de los atletas ya sea estimulando su resistencia, disminuyendo la fatiga, aumentando su masa muscular y su fuerza; como ya se mencionó con anterioridad, cada hormona colabora en cada una de estas etapas y de acuerdo al tipo de evento deportivos se da el uso de la hormona por la cual se verán más beneficiados.<sup>18</sup>
- La mayoría de las investigaciones refiere que los efectos fisiológicos por los cuales se ven beneficiados los atletas, traen prontamente los efectos tóxicos que provoca su uso; ya que el dopaje con hormonas peptídicas es potencialmente peligroso para la salud porque expone al organismo al riesgo de sobrepasar fatalmente sus límites alterando la coordinación normal de las funciones orgánicas y causando un deterioro físico tal vez irreversible e incluso la muerte, lo cual se encuentra documentado en la literatura.
- La técnica analítica de vanguardia para detectar y confirmar la presencia de hCG y GH es la HPLC/EM por su alta sensibilidad y especificidad, en la determinación EPO se está usando la técnica de isoelectroenfoque, que hace una comparación de los perfiles isoeléctricos de la EPO natural VS la EPO recombinante y de esta manera se demuestra su uso en el deporte, pero aún no hay una técnica que confirme y cuantifique su presencia. Para las demás hormonas existen diferentes ensayos inmunoenzimáticos, que aún no han sido del todo aceptados por el COI, pero, considero que deberían ser tomados en cuenta, cuando 3 ensayos distintos o más coincidan en la presencia de cualquiera de las hormonas de interés, de tal manera que se puedan reportar los casos de dopaje con hormonas peptídicas y estimar así la incidencia que presentan en el ámbito deportivo.

Además considero que el dopaje es un problema social, cuya solución supone la aplicación de estrategias y acciones preventivas que se puedan ejercer mediante programas de divulgación, información y educación que alerten a los deportistas sobre los efectos tóxicos que produce el uso de hormonas peptídicas o cualquier otra sustancia utilizada, de tal manera que estas medidas influyan en el ánimo de todos aquellos que se relacionan con el deporte: deportistas de todos los niveles competitivos, niños escolares, profesores de educación física, entrenadores, médicos del área deportiva, evitando convertir a la ignorancia en una excusa para elegir el dopaje como medio de ayuda.

Lo más importante es crear conciencia entre los atletas que las usa, debido a que se manejan dosis demasiado altas con el afán de mejorar el desempeño, poniendo totalmente en riesgo su vida.

Así mismo se deben aumentar los controles antidopaje y aplicar sanciones más severas, a quienes hagan uso de las hormonas peptídicas, disminuyendo de esta manera el dopaje entre los atletas.

Como profesionistas al cuidado de la salud debemos preocuparnos y estar pendiente de las sustancias que están siendo usadas por los deportistas de alto rendimiento e incluso por los adolescentes, comunicarles los riesgos a los que se exponen e insistir en que no es adecuado el uso de estas sustancias.

Por último, el diplomado de Química Legal que se imparte en esta facultad fue de gran ayuda para la elección del tema y su realización ya que en varias sesiones se abordó el tema del dopaje enfocado a la problemática que existe en cuanto al uso de hormonas peptídicas. Con este trabajo se deja un antecedente para que otro profesional interesado en el área de la salud y el ámbito deportivo realice futuras investigaciones que lo complementen, y así, se tenga más información con respecto al dopaje en nuestro país, ya que son muy escasas las investigaciones existentes al respecto y es necesario que se profundice sobre este tema, evitando así el dopaje con hormonas peptídicas.

## 10. GLOSARIO.

**Acromegalia:** Trastorno causado por hipersecreción de Hormona del Crecimiento durante la edad adulta, que se caracteriza por agrandamiento y elongación, importantes y graduales de los huesos de la cara, mandíbula y extremidades e hipertrofia de otros tejidos.

**Anabolismo:** Reacciones de síntesis que requieren energía y en que se forman moléculas grandes a partir de otras pequeñas.

**Catabolismo:** Término que se aplica a las reacciones químicas de degradación de compuestos orgánicos complejos en otros más sencillos, con liberación de energía.

**Coágulo:** Resultado final de un conjunto de reacción bioquímicas que transforman el plasma en una masa gelatinosa; de manera específica, la conversión del fibrinógeno en una red de moléculas de fibrina polimerizada.

**Crecimiento aposicional:** Crecimiento debido a que se depositan materiales en la superficie, como en el aumento de diámetro de cartílagos y huesos. También llamado crecimiento exógeno.

**Crecimiento intersticial:** El que tiene lugar desde dentro, como en el caso de cartílago. También llamado crecimiento endógeno.

**Criptorquidia:** Trastorno consistente en la presencia de testículos no descendidos.

**Diáfisis:** El eje de un hueso largo, compuesto por un tubo de hueso compacto que encierra la cavidad medular.

**Epífisis:** Cabeza de un hueso largo separada de la diáfisis del hueso por la placa epifisaria, hasta que el hueso deja de crecer, momento en el que se oblitera la placa y la diáfisis, y la epífisis al hueso se une.

**Exocitosis:** Proceso de descarga que productos celulares demasiado grandes para atravesar la membrana plasmática. Las partículas correspondientes quedan envueltas por membranas de Golgi cuando se sintetizan. Las vesículas se desprenden de complejo de Golgi y transportan las partículas incluidas en ellas a la superficie interior de la membrana plasmática, donde se fusionan con ella y expulsan su contenido.

**Fases profundas del sueño 3 y 4:** Son las últimas etapas en las que se divide el sueño. Etapa 1 somnolencia, 2 sueño ligero, 3 y 4 sueño lento.

**Gigantismo:** Padecimiento causado por hipersecreción de la hormona del crecimiento durante la niñez, caracterizado por crecimiento óseo y corporal excesivo.

**Ginecomastia:** aumento anormal de tamaño de una o ambas mamas en el varón. Puede estar producido por un desequilibrio hormonal tumor testicular o hipofisiario, tratamiento con estrógenos o compuestos esteroideos o incapacidad del hígado para inactivar los estrógenos circulantes como ocurre en la cirrosis alcohólica.

**Hipogonadismo:** se le conoce así a la carencia de síntesis de testosterona. Si se presenta antes de la pubertad, las características sexuales secundarias no se desarrollan bien, y si ocurren en la edad adulta muchas de estas características presentan un retroceso.

**Lipoatrofia y Lipohiperatrofia:** Edema causado por la insulina. La atrofia de la grasa subcutánea en el lugar de la inyección probablemente es un fenómeno autoinmunitario, mientras que la lipohiperatrofia puede deberse a la acción lipógena de la insulina.

**Panhipopituitarismo:** Insuficiencia generalizada de las hormonas hipofisiarias producida por lesiones o por insuficiencia de la glándula.

**Placa epifisaria:** Delgada lámina de cartilago entre la epifisis, un centro secundario formador de hueso y la diáfisis. El hueso nuevo se forma a lo largo de la placa.

**Proeritroblasto:** Es una célula grande de 20-25µm de diámetro, ligeramente oval o irregularmente redondeada. El núcleo ocupa aproximadamente el 80% de la célula y contiene cromatina fina y distribuida en pequeños cúmulos. Puede tener 1 o varios nucléolos. La intensa basofilia del citoplasma se debe a la alta concentración de los polirribosomas.

**Sincitiotrofoblasto:** Capa sincitial externa del trofoblasto del embrión de los mamíferos al principio de su desarrollo, que erosiona la pared uterina durante la implantación y da lugar a las vellosidades de la placenta.

**Trombo:** Coágulo formado en un vaso sanguíneo no roto.

**Unidad (U):** Cantidad destinada como unidad de medida.

**Unidad Internacional (UI):** Unidad de medida del sistema de Unidades Internacionales. Cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto en condiciones estándar de pH, temperatura y concentración de sustrato.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Appenzeller O, **Medicina Deportiva**, 3<sup>a</sup>, Doyma, Barcelona (1991), 309-315.
2. Argüelles Ruiz J. G, **Fundamentos de Hematología**, 3<sup>a</sup>, Panamerica, México (2003), 160-167.
3. Anderson Shauna Christine, Cockayne Susan, **Química Clínica**, Interamericana McGraw-Hill, México (1995), 639-648.
4. Bahrke Michael, Yesalls E, **The future of performance enhancing substances in sport**, *The physician and sports medicine* (2002), **30**:11, 1010-1014.
5. Barrientos P. Margarita, **Uso de anabólicos por atletas adolescentes**, *Revista de Endocrinología y Nutrición* (2001), **9**:3, 133-140.
6. Bauer John MD et all, **Análisis clínicos Métodos e interpretación**, Reverté, España (1986), 498-505, 671-680.
7. Birchard Karen, **Why doctors should worry about doping in sport**, *The Lancet* (1998), **352**:4, 42.
8. Bowers D L, Segura Jordi, **Anabolic Steroids, Athletic Drug Testing and the Olympic Games**, *Clinical Chemistry* (1996), **42**:7,999-1000
9. Bowers W, For L E, **Fisiología del deporte**, 3<sup>a</sup>, Panamericana, Argentina (1995), 275-279.
10. Chicharro José L, Vaquero F A, **Fisiología del ejercicio**, Panamericana, España (2001), 115-131.
11. Cowan D A, Kicman A T, **Doping in sport: Misuse, Analytical Tests, and Legal Aspects**, American Association for clinical Chemistry Inc. (1997), **43**, 110-112.
12. Cowan D A, Kicman A T, Walker C J, **Effect of administration of human Chorionic Gonadotrophin on criteria used to assess testosterone administration in athletes**, *Journal of Endocrinology* (1991), **131**, 147-154.
13. Cuneo R C, Salomon F, Wiles M C, Hesp R, Sönksen P H, **Growth Hormone. Treatment in growth hormone deficient adults. II Effects on muscle mass and strength**, *The American Physiological Society* (1991), 688-695.
14. Cuneo R C, Wilmschurst P, Lowy C, McGauley G, Sönksen H P, **Cardiac Failure Responding to Growth hormone**, *The Lancet* (1989) **638**, 838-839.
15. Dawson R T, Dene Road, Rowlands Gill, **Hormone and sport: Drug in sport-The role of the physician**, *Journal of Endocrinology* (2001), **170**, 55-61.
16. Dickinson B, Josigh D R, Merriam N, **Insulin use by bodybuilders**, *Journal of American Medical Association* (1998) **279**:20, 1613.
17. Diorki S L, **Diccionario Mosby de Medicina y Ciencias de la Salud**, Harcourt Brace, España (1998), 110,590, 969.
18. Don H, Thomas M, **Performance-enhancing, Fair competition and Olympic sport**, *Journal of American Medical Association* (1996), **276**:3, 231-237.
19. Eikin S L, Brady S, Williams I P, **Bodybuilders find it easy to obtain insulin to help them in training**, *British Medical Journal* (1997), **314**:26, 1280.
20. Flórez J, **Farmacología Humana**, Editorial Científica y Técnica, Barcelona (1994), 751-763.
21. Francoise L, Jacques de Ceaurriz, **Recombinant Erythropoietin in urine**, *Nature* (2000), **405**, 635.
22. Ganong William F, **Fisiología Médica**, 18<sup>a</sup>, Manual Moderno, México (2002), 335-337, 501-551.

23. **Guía Práctica de Medicina del deporte**, Tomo 2 y 3, Monteverde Ediciones, Colombia (1997), 273-279.
24. Guyton Arthur MD, **Fisiología Médica**, 10ª, McGraw-Hill Interamericana, México (2001), 465-471, 500-1, 566-569.
25. Guyton Arthur MD, **Fisiología y fisiopatología**, 6ª, McGraw-Hill Interamericana, México (1998), 299-306, 587-596, 644-650.
26. Goodman Gilman Alfred, et all, **The Pharmacological basis of therapeutics**, 9ª, McGraw-Hill, Unites States of America (1996), 1364-1368, 1487-1504.
27. Harrison R T, Resnik R W, Wintrobe M, et all, **Principios de Medicina Interna**, 19ª, McGraw-Hill Internacional
28. Henry Richard J, et all, **Química Clínica Principios y Técnicas**, Harper & Row publicaciones, USA (1980), 364-368.
29. Jordi S, Pascual José Antonio, Rosa Ventura, Juan Ignacio Ustaran, Ángel Cuevas and Ramón Gonzáles, **Internacional Cooperation in Analytical Chemistry: Experience of Antidoping control at the XI Pan American Games**, Clinical Chemistry (1993) **39**:5, 836-845.
30. Kicman A T, Cowan P A, **Peptide Hormones and Sport: Misuse and Detection**, British Medical Bulletin (1992), **48**:3, 496-517.
31. Laidler P, Cowan D A, Hider R, Kicman A T, **New Decision limits and Quality-Control Material for detecting Human Chorionic Gonadotrophin: Misuse in sport**, Clinical Chemistry (1994), **40**:7, 1306-1311.
32. Larry D B, **Analytical Advances in detection of performance enhancing compounds**, Clinical Chemistry (1997), **43**:7, 1299-1304.
33. Lauréense E, Morehouse, Augustos T, **Fisiología del Ejercicio**, 9ª, El ateneo, Argentina (1986), 123-128.
34. Lynch Matthew, et all, **Métodos de Laboratorio**, Interamericana, México (1987), 76-82.
35. Margni Ricardo A, **Inmunología e Inmunología Fundamentos**, 5ª, Panamericana, Argentina (1996), 798-801, 821-827, 889-897, 906-917.
36. McKenzie Shirlin B, **Hematología Clínica**, Manual Moderno, México.
37. Mycek M J, Champed C P, **Lippincott's Illustrated Reviews Pharmacology**, Lippincott-Raven, USA (1997), 247-253.
38. Murray P K, Mayes A P, et all, **Bioquímica de Harper**, 15ª, Manual Moderno, México (2001), 611-631.
39. Nenad K, Larry M, Mollet R, **The mechanism of insulin stimulation of (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)-ATPase Transport Activity in muscle**, The Journal of Biological chemistry (1985) **260**: 10,6206-6212.
40. Nilo Hernández J L, **Medicina del Deporte**, 3ª, Editorial científica, México (1997), 387-395, 399-405.
41. Pesce Amadeo, Kaplan Lawrence, **Química Clínica Métodos**, Panamericana, Argentina (1991), 140-144, 254-260, 279-283, 497-502, 814-821.
42. Robert S H, Dane R B, **Manual de Hematología**, Manual Moderno, México (1998), 72-79, 110-120.
43. Rodahl Åstrand, **Fisiología del trabajo físico**, 3ª, Panamericana, Argentina (1992), 543-546.
44. Rodríguez C, **Dopaje**, McGraw-Hill Interamericana, España (1992), 169-175.



45. Ross C, Salomon F, Pilles Mark, Hesp Richard, **Growth Hormone Treatment in Growth Hormone- Deficient adult II. Effects on exercise performance**, The American Physiological Society (1991), 695-700.
46. Shalender Brasin, Storer Thomas, Berman Nancy, Callegary Carlos et all, **The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men**, The New England Journal of Medicine (1996), **335**:1, 1-7.
47. Schnirring Lisa, **COI passes Doping Reforms**, The Physician and Sport Medicine (2000), **28**:2, 598-573.
48. Schnirring Lisa, **Growth Hormone Doping: The Search for a test**, The Physician and Sport Medicine (2000), **28**:4, 1128-1130.
49. Shils E M, **Nutrición en Salud y enfermedad**, 9ª, McGraw-Hill, España (2002), 1110-1119.
50. Sönksen P H, **Hormones and Sport: Insulin, Growth hormone and sport**, Journal of Endocrinology (2001), **170**, 13-25.
51. Tres guerrees J A F, Aguilar Benítez J, Cachofeiro M V, Cardinalli D, et all, **Fisiología humana**, McGraw-Hill Interamericana, España (2003), 596-580, 619-625, 895-906.
52. Vander A, Sherman J, Dorothy L, **Human Physiology**, 8ª, McGraw-Hill, USA (2001), 268, 271, 277, 278.
53. Velasco M, Molina J, Martínez R, **Farmacología Fundamental**, McGraw-Hill, Interamericana, España (2003), 668—673, 696-702.
54. Verroken M, **Hormone and Sport: Ethical Aspects and the prevalence of Hormone abuse in sport**, Journal of Endocrinology (2001), **170**, 49-54.
55. World Anti-Doping-Code, **Prohibited List, Substances and Methods Prohibited in competition**, Valid 1<sup>st</sup> January 2004.
56. Zida Wu, Bidlingmaier M, Dall R, **Detection of Doping with Human Growth Hormone**, The Lancet (1999), **353**, 895.
57. [www.terra.com.mx/deportes/articulos/016664](http://www.terra.com.mx/deportes/articulos/016664)
58. [www.elmundo.es/salud/Snumeros/97/S238/S238deporte.html](http://www.elmundo.es/salud/Snumeros/97/S238/S238deporte.html)
59. [www.wada.ama.org/html](http://www.wada.ama.org/html)
60. [www.mhhe.com/biosci/ap/vander8e/](http://www.mhhe.com/biosci/ap/vander8e/)
61. [www.libreopinion.com/doping.htm](http://www.libreopinion.com/doping.htm)

**12. Anexo1. Lista adicional de referencias bibliográficas sobre Métodos de Análisis.**

61. Andreas B, Don H Catlin, Gary A, Inna T, Henry T and Jeffrey Gorzek, **Detection of Recombinant Human Erythropoietin in urine by Isoelectric Focusing**, Clinical Chemistry (2003), **49**:6, 901-907.
62. Chuan Liang Liu, Bowers D L, **Mass Spectrometric Characterization of the  $\beta$ -Subunit of human Chorionic Gonadotrophin**, Journal of Mass Spectrometry (1997),**32**, 33-42.
63. Chuan Liang Liu, Bowers D L, **Immunoaffinity Trapping of urinary Human Chorionic Gonadotrophin and its High-Performance Liquid Chromatographic-Mass Spectrometric Confirmation**, Journal of Chromatography B: Biomedical Applications (1996), **687**, 213-220.
64. Lasne Francoise, Laurent Martin, Nathalie Crepin, Jacques d'Ceaurriz, **Detection of isoelectric Profiles of Erythropoietin in urine: Differentiation of natural and administered recombinant hormones**, Analytical Biochemistry (2002), **311**, 119-126.
65. Ulf-Hakan Stenman, Unkila-Kallio Leila, Korhonen Juha, et all, **Immunoprocudures for detecting Human Chorionic Gonadotrophin: Clinical Aspects and Doping Control**, Clinical Chemistry (1997), **43**:7, 1293-1298.