



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**REVISIÓN BIBLIOHEMEROGRÁFICA DE LA
APLICACIÓN DE LAS CIENCIAS QUÍMICAS
EN EL CONTROL DEL DOPAJE**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

FLOR LÓPEZ BELMONT

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. BENJAMÍN VELASCO BEJARANO



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Revisión bibliohemerográfica de la aplicación de las ciencias químicas en el Control del Dopaje

Que presenta la pasante: Flor López Belmont

Con número de cuenta: 095602327 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 02 de Junio de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. René Miranda Ruvalcaba	
VOCAL	M. en C. Lidia Rangel Trujano	
SECRETARIO	Dr. Benjamín Velasco Bejarano	
1er. SUPLENTE	QFB. Gabriela Escalante Reynoso	
2do. SUPLENTE	M. en C. Enrique Ramos López	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres:

Guadalupe Belmont Neri por su amor, apoyo, paciencia y sacrificio en todos estos años y Julián López Alarcón por su ejemplo de esfuerzo y dedicación, por que ni aquí ni en la eternidad se rompe el vínculo de amor, allá te veremos.

A mis hermanas y hermanos:

Xóchitl, Isabel, Irma, Catalina, Amalia, Juan, Ernesto, Crisóforo y Miguel por su ayuda y motivación para concluir este ciclo.

A mi asesor:

Dr. Benjamín Velasco Bejarano, por la oportunidad brindada para la realización de este trabajo, así como por su dedicación y esfuerzo.

A mis sinodales:

Por haberse tomado el tiempo para la revisión de este trabajo y los consejos para mejorarlo.

A mis profesores:

Por su gran vocación y esfuerzo para formar mejores estudiantes.

A mis compañeros:

Que me compartieron sus aprendizajes e hicieron más amena la estadía en la universidad.

A mis sobrinos:

Esperando que este trabajo sea una motivación para su formación profesional y como seres humanos.

A Dios:

Por permitirme compartir esta vida con grandes seres humanos.

¡Vive! ¡Intenta!
La vida no pasa de una tentativa.

¡Ama!
Ama por encima de todo,
ama a todo y a todos.
No cierres los ojos a la suciedad del mundo,
no ignores el hambre.

Olvida la bomba,
pero antes haz algo para combatirla,
aunque no te sientas capaz.

¡Busca!
Busca lo que hay de bueno en todo y todos.
No hagas de los defectos una distancia,
y si, una aproximación.

¡Acepta!
La vida, las personas,
haz de ellas tu razón de vivir.

¡Cree! ¡Espera!
Siempre habrá una salida,
siempre brillará una estrella.

Oye...
Escucha lo que las otras personas
tienen que decir,
es importante.

Sube...
Haz de los obstáculos escalones
para aquello que quieres alcanzar.
Mas no te olvides de aquellos
que no consiguieron subir
en la escalera de la vida.

¡Descubre!
Descubre aquello que es bueno dentro de ti.
Procura por encima de todo ser gente,
yo también voy a intentar.

“Charles Chaplin”

ÍNDICE	Página
ÍNDICE.	i
ÍNDICE DE FIGURAS.	v
ÍNDICE DE TABLAS.	x
ABREVIATURAS.	xi
I. RESÚMEN.	1
II. INTRODUCCIÓN.	1
• DEFINICIÓN DE DOPAJE.	1
• ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL DOPAJE.	2
III. OBJETIVOS.	8
A) OBJETIVO GENERAL.	8
B) OBJETIVOS PARTICULARES.	8
IV. JUSTIFICACIÓN.	9
V. HIPÓTESIS.	9
VI. METODOLOGÍA.	9
VII. CONTENIDO.	10
1.0. LISTA DE SUSTANCIAS PROHIBIDAS.	10
1.1. AGENTES ANABOLIZANTES.	15
1.1.1. Generalidades de esteroides anabólicos androgénicos.	15
1.1.2. Clasificación de Esteroides Anabólicos Androgénicos (EAA).	16
• EAA endógenos (administrados de manera exógena).	15
• EAA exógenos.	18
1.1.3. Efectos adversos de los EAA.	25
1.2. OTROS AGENTES ANABÓLICOS.	26
1.2.1. Clenbuterol.	26
1.2.2. Moduladores selectivos de receptores de andrógenos (SARMs).	27
1.2.3. Tibolona.	28
1.3 HORMONAS PEPTÍDICAS, FACTORES DE CRECIMIENTO Y	29
SUSTANCIAS AFINES.	
1.3.1. Agentes estimulantes de eritropoyesis.	29
1.3.1.1. Generalidades sobre eritropoyetina (EPO).	29
1.3.1.2. Efectos adversos de EPO.	30
1.3.2. Gonadotropina coriónica (hCG) y hormona luteinizante (LH).	31

1.3.2.1. Generalidades.	32
1.3.2.2. Efectos adversos.	32
1.3.3. Corticotropinas.	32
1.3.3.1. Generalidades.	32
1.3.3.2. Efectos adversos.	33
1.3.4. Hormona de crecimiento (GH).	33
1.3.4.1. Generalidades.	33
1.3.4.2. Efectos adversos.	34
1.3.5. Factor de crecimiento tipo I similar a insulina (IGF-1).	35
1.3.6. Factores de crecimiento o GF (<i>de growth factor</i>).	36
1.3.6.1. Factores de crecimiento plaquetario.	36
1.3.6.2. Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF).	37
1.3.6.3. Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF).	37
1.3.6.4. Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).	37
1.4. AGONISTAS DE RECEPTORES BETA ₂ ADRENERGICOS.	39
1.4.1. Generalidades.	39
1.4.2. Efectos adversos.	40
1.5. MODULADORES HORMONALES Y METABÓLICOS.	40
1.5.1. Inhibidores de aromatasa.	40
1.5.2. Moduladores selectivos de receptores de estrógenos (SERMs).	40
1.5.3. Otras sustancias antiestrogénicas.	41
1.5.4. Inhibidores de miostatina.	42
1.5.5. Moduladores metabólicos:	42
a) Insulina.	42
b) Receptor activado por proliferadores de peroxisomas δ (PPAR δ).	44
1.6. DIURÉTICOS Y OTROS AGENTES ENMASCARANTES.	45
1.6.1. Diuréticos.	45
1.6.2. Desmopresina.	45
1.6.3. Expansores de plasma.	45
1.7. ESTIMULANTES.	46
1.7.1. Generalidades.	46
1.7.2. Estimulantes comúnmente usados en el ámbito deportivo.	46
a) Anfetamina.	47

b) Cocaína.	48
c) Cafeína.	48
1.8. NARCOTICOS.	50
1.8.1. Narcóticos comúnmente usados en el ámbito deportivo.	51
1.9. CANNABINOIDES.	54
1.9.1. Generalidades.	54
1.9.2. Cannabinomiméticos.	56
a) Spice.	56
b) HU-210.	57
1.10. GLUCOCORTICOESTEROIDES.	58
1.10.1. Generalidades.	58
1.10.2. Ejemplos de glucocorticoesteroides.	59
1.10.3. Efectos adversos de glucocorticoesteroides.	61
1.11. SUSTANCIAS PROHIBIDAS EN DEPORTES ESPECIFICOS.	62
1.11.1. ALCOHOL.	62
1.11.1.1. Generalidades.	62
1.11.1.2. Efectos adversos.	63
1.11.2. BETABLOQUEANTES.	63
1.11.2.1. Generalidades.	63
1.11.2.2. Bloqueantes β -adrenérgicos más conocidos.	64
1.11.2.3. Efectos adversos de betabloqueantes.	65
2.0. METODOS PROHIBIDOS.	66
2.1. MANIPULACIÓN DE SANGRE Y COMPONENTES SANGUÍNEOS.	66
a) Dopaje sanguíneo.	66
b) Mejoramiento de la recaptación, transporte o liberación de oxígeno con hemoglobinas sintéticas.	67
2.2. MANIPULACIÓN QUÍMICA Y FÍSICA.	68
2.2.1. Generalidades.	69
2.3. DOPAJE GENÉTICO.	69
2.3.1. Generalidades.	69
3.0. HISTORIA Y EVOLUCIÓN DE LAS TECNICAS ANTIDOPAJE.	73
4.0. TECNICAS ANALÍTICAS DE IMPORTANCIA EN EL	79

CONTROL ANTIDOPAJE.	
4.1. CROMATOGRAFIA DE GASES (CG).	82
4.1.1. Tipos de detectores para cromatografía de gas.	84
1. Detector de ionización a la llama (FID).	84
2. Detector de conductividad térmica (TCD).	84
3. Detector de captura de electrones (ECD).	85
4. Detector termoiónico (TID).	85
5. Detector de emisión atómica (AED).	85
4.2. ESPECTROMETRIA DE MASAS (EM).	86
4.2.1. Componentes básicos de un espectrómetro de masas.	87
4.2.2. Tipos de cámaras de ionización.	89
4.2.3. Tipos de analizadores de masas.	92
4.2.4. Obtención y análisis de un espectrograma de masas.	94
4.3. ACOPLAMIENTO CROMATOGRAFÍA DE GASES A ESPECTROMETRÍA DE MASAS.	96
4.4. ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM.	98
4.5. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.	99
4.5.1. Métodos cromatográficos en HPLC.	100
A) Cromatografía de reparto.	100
B) Cromatografía iónica.	101
C) Cromatografía de exclusión por tamaños.	102
4.6. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA ULTRARRÁPIDA (UPLC).	103
4.7. INMUNOENSAYOS.	105
4.8. MÉTODOS PARA EL ANÁLISIS DE SUSTANCIAS DOPANTES.	109
VII. CONCLUSIONES.	119
VIII. REFERENCIAS.	120
ANEXO I: ESTEROIDES ANABOLICOS ANDROGENICOS (EAA).	131
ANEXO II: AGENTES ESTIMULANTES DE LA ERITROPOYESIS (ESAs).	140
ANEXO III: ESTIMULANTES.	142
ANEXO IV: CANNABIS.	146

ÍNDICE DE FIGURAS		Página
Fig.1	Estructura química de la testosterona (Tomada de Flórez, 2008).	2
Fig.2	Knud Enemark Jensen, colapsa durante los 100 km en los Juegos Olímpicos de Roma el 26 de Agosto de 1960, murió pocas horas después en el hospital (Recuperado el 23 de noviembre 2013 de http://images.google.com/imgres?imgurl=http://cache1.assetcache.net/CG/92627260-danish-cyclist-knud-enemark-jensen.jpg).	3
Fig.3	Tom Simpson colapsa y muere durante el Tour de Francia por falla cardiaca, la autopsia revela que consumió anfetaminas (Imagen recuperada el 23 noviembre de 2013 de http://images.google.com/imgres?imgurl=http://fotoalbum.mtbforum.it/albuEM/721/thumbs_576/15590.jpg).	4
Fig.4	Ben Jonson (imagen recuperada el 23 de noviembre de 2013 de http://www.rtve.es/deportes/20080924).	5
Fig.5	El ciclista Lance Armstrong ganador de 7 ediciones consecutivas del Tour de Francia (1999 a 2005) (Recuperado el 12 de noviembre de 2013 de http://www.que.es/deportes/mas/201210181817-armstrong-abre-caja-pandora-negocios-rc.html).	6
Fig.6	Metabolitos de testosterona (Adaptada de Goodman, 2007).	17
Fig.7	Principales presentaciones en el mercado de metandienona (Recuperado el 12 de octubre de 2013 de www.suplementosmexico.com.mx).	19
Fig.8	Estructura química de metandrostenolona o metandienona (Tomada de Flórez, 2008).	20
Fig.9	Imágenes de intoxicación por ingesta de metandienona (Tomadas de Gerer, 2008).	20
Fig.10	Estructura química de 17 α -metiltestosterona (Tomada de Flórez, 2008).	21
Fig.11	Ejemplo de presentación en el mercado de metiltestosterona (Recuperado el 12 de octubre de 2013 de http://www.answers.com/topic/tabletas-bucal-de-metiltestosterona#ixzz279y0xYy6).	22
Fig.12	Estructura química de 19-nortestosterona (Tomada de Flórez, 2008).	22
Fig.13	Ejemplo de presentación farmacéutica en el mercado de 19-nortestosterona (Nandrolona) (Recuperado el 12 de octubre de 2013 de http://esculape2010.wordpress.com/2010/07/08).	23

ÍNDICE DE FIGURAS		Página
Fig.14	Estructura química de estanozolol (Tomada de Flórez, 2008).	24
Fig.15	Ejemplo de presentación farmacéutica en el mercado de estanozolol (Recuperada el 16 de octubre de 2013 de http://www.winstroldepot.net/wp-content/uploads/2011/03/winstroldepot.jpg).	24
Fig.16	Esta es una imagen de los supuestos beneficios que ofrece estanozolol (Recuperada el 16 de octubre de 2013 de http://esculape2010.wordpress.com/2010/07/08).	24
Fig.17	Esquema de la regulación negativa ejercida por IGF-1 sobre la liberación de la hormona de crecimiento (Tomado de Goodman, 2007).	33
Fig.18	Ejemplo de acromegalia por crecimiento de huesos principalmente a nivel facial. (Recuperado el 02 de mayo de 2014 de http://t1.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcR4tmJS4ujPhin6OL2XQ_c_9ZpctXQmXWt3aBK4Ryz).	34
Fig.19	Estructura química de anfetamina (Tomada de Jickells, 2008).	47
Fig.20	Estructura química de cocaína (Tomada de Jickells, 2008).	48
Fig.21	Estructura química de la cafeína (Tomada de Flórez, 2008).	49
Fig.22	El opio es el líquido lechoso que se obtiene de las cápsulas inmaduras de una variedad de amapola, <i>Papaver somniferum</i> (Recuperada el 12 de enero de 2014 de https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQsNjeh7AJcdPptTWvWn_ixhFlfg63nLhxzOCmJf7FBtERcpo7stQ).	52
Fig.23	Estructura química de morfina y heroína (Diamorfina), respectivamente. El opio sin refinar es tratado para extraer la morfina y el extracto es acetilado (posiciones 3 y 6) con anhídrido acético para producir diamorfina o diacetilmorfina comúnmente llamada heroína (Tomadas de Goodman, 2007).	52
Fig.24	Estructura química de fentanil (Tomada de Goodman ,2007).	53
Fig.25	Estructura química de metadona (Tomada de Goodman ,2007).	53
Fig.26	Estructuras químicas de cannabinoides (Tomadas de Jickells, 2008).	55
Fig.27	Estructuras químicas de cannabinomiméticos (Tomadas de Atwood, 2011).	56

ÍNDICE DE FIGURAS		Página
Fig.28	Estructura química de cortisona e hidrocortisona (Tomada de Goodman, 2007).	59
Fig.29	Estructura química de análogos sintéticos de glucocorticoesteroides: prednisolona, triamcinolona y dexametasona, respectivamente (Tomada de Flórez, 2008).	60
Fig.30	Estructuras químicas de bloqueantes β -adrenérgicos (Tomadas de Goodman, 2007).	65
Fig.31	Esquema de cómo se introduce un determinado gen para su expresión en células de ratón (Tomado de Azzazy, 2009).	70
Fig.32	Componentes de un cromatografo de gases (Recuperado el 16 de octubre de 2013 de http://cosasdequimicos.blogspot.com/2009/12/tutoriales-de-cromatografia-liquida.html).	83
Fig.33	Componentes de un instrumento de espectroscopia de masas (Recuperado el 28 de octubre de 2013 de http://www.ugr.es/~quirored/espec/EM1.htm).	87
Fig.34	Diagrama esquemático de un analizador de masas de sector magnético (Recuperado el 10 de noviembre de 2013 de http://cosasdequimicos.blogspot.com/2009/12).	92
Fig.35	Diagrama esquemático de un analizador de masas de doble enfoque (Recuperado el 10 noviembre de 2013 de http://cosasdequimicos.blogspot.com/2009/12).	93
Fig.36	Diagrama de un espectrómetro de masa cuadrupolar (Recuperado el 10 de noviembre de 2013 de http://www.chm.bris.ac.uk/EM/theory/quad-massspec.html).	93
Fig.37	Aspecto clásico de un espectrograma de masas, en el que se señalan su pico base y su ión molecular más importante. La tabla situada a la derecha nos indica la abundancia relativa porcentual y la relación m/z de cada uno de los fragmentos generados del analito (Recuperado el 10 de noviembre de 2013 de http://www.ugr.es/~quirored/espec/EM1.htm).	9
Fig.38	Componentes básicos en un equipo de HPLC (Recuperado el 28 de octubre de 2013 de http://facultad.bayamon.inter.edu/rrey/CHEM%203320/Laboratorio%207%20HPLC%20Cafeina.htm).	99
Fig.39	Esquema de cromatografo de gases con celda de combustión acoplado a espectrometría de masas de medidas de relaciones isotópicas (Tomado de Muñoz-Guerra, 2008).	113

ÍNDICE DE FIGURAS		Página
Fig.40	Purificación de muestras de orina con alto contenido proteico mediante columnas cromatográficas de inmunoafinidad (Recuperada el 19 de febrero de 2014 de http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Inmunoafinidad_2.jpg).	114
Fig.41	Visualización de las isoformas de los distintos tipos de EPO mediante la aplicación de electroforesis por isoelectroenfoque seguido de doble blotting y detección quimioluminiscente. Donde uEPO: estándar de EPO endógena urinaria; rhEPO: EPO recombinante de los tipos α y β y NESP: Darbepoietina (Tomado de Muñoz-Guerra, 2008).	115
Fig.42	Transferencia mediante inmunoblot de la información del gel producto de la electroforesis a membrana de nitrocelulosa (Recuperado el 16 de febrero de 2014 de http://slideplayer.es/slide/1552466.jpg).	115
Fig.43	Reacción de quimioluminiscencia ((Recuperado el 16 de febrero de 2014 de http://slideplayer.es/slide/1552466.jpg).	116
Fig.44	Metodología para la detección de hormona de crecimiento (Tomado de Muñoz-Guerra, 2008).	117
Fig.45	Estructura fundamental de esteroides (Tomada de Devlin, 2004).	131
Fig.46	Fenantreno (Tomado de Devlin, 2004).	131
Fig.47	5 α -colestano (Tomado de Devlin, 2004).	131
Fig.48	Las hormonas sexuales masculinas (andrógenos) se basan en la estructura del 5 α -androstano (son esteroides con 19 átomos de carbono) (Tomado de Devlin, 2004).	132
Fig.49	Estructura química del acetato de metenolona (Tomada de Devlin, 2004).	133
Fig.50	Androgenos alquilados en posición 17 α (Tomada de Devlin, 2004).	134
Fig.51	Fluoximesterona (Tomada de Devlin, 2004).	135
Fig.52	19-nortestosterona (Tomada de Devlin, 2004).	135
Fig.53	Abuso de esteroides anabólicos (Recuperado el 23 de febrero de 2014 de http://www.doping-prevention.sp.tum.de/typo3temp/pics/4c2a8aa82f.jpg).	136

ÍNDICE DE FIGURAS		Página
Fig.54	Mecanismo de acción de EAA (Recuperado el 23 de febrero de 2014 de http://www.doping-prevention.sp.tum.de/typo3temp/pics/bcc9759_871.jpg).	137
Fig.55	Estructura química de metanfetamina (Tomada de Goodman, 2007).	142
Fig.56	Estructuras químicas de drogas “éxtasis” (Tomada de Jickells, 2008).	142
Fig.57	Metabolitos de la cocaína (Tomada de Mendoza, 2008).	144
Fig.58	Fotografía de tricoma glandular y tricoma quístico (Tomada de Jickells, 2008).	146
Fig.59	Diagrama de un tallo de tricoma glandular (izquierdo) y un tricoma quístico no glandular (derecho) (Tomada de Jickells, 2008).	146
Fig.60	Cannabis en presentación de hierba se encuentra en bloques de flores, tallos y hojas secas (Tomada de Jickells, 2008).	147
Fig.61	La resina de cannabis (jashish) es un comprimido sólido hecho de las partes resinosas de la planta (Tomada de Jickells, 2008).	147
Fig.62	Estructura química del Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Tomada de Jickells, 2008).	147
Fig.63	Metabolitos del Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Tomada de Goodman, 2007).	148

ÍNDICE DE TABLAS

Página

Tabla 1. Clasificación general que hace la WADA de las sustancias y métodos de dopaje prohibidos en el ámbito deportivo (Adaptada de www.wada-ama.org).	10
Tabla 2. Principales efectos adversos de los EAA, los cuales podemos dividir en 4 categorías: en hígado, en sistema reproductivo, sistema cardiovascular y alteraciones psiquiátricas (Adaptada de Ferrán, 2011).	25
Tabla 3. Tipos de hemoglobinas sintéticas (Tomada de Muñoz-Guerra, 2008).	68
Tabla 4. Pruebas de inserción de genes en ratones (Tomada de Azzazy, 2009).	71
Tabla 5. Revisión de cómo el análisis de sustancias dopantes se ha desarrollado a partir de las Olimpiadas de Múnich 1972 hasta Beijing 2008 (Olimpiada XXIX) (Tomada de Hemmersbach, 2008).	75
Tabla 6. Métodos de análisis de sustancias prohibidas.	109

ABREVIATURAS

19-N: 19-Norandrosterona.

19-NE: 19-Noreticolanona.

6- MAM: 6-Monoacetilmorfina.

AAS: Esteroides anabólicos androgénicos (EAA en el idioma español).

ACTH: Hormona adrenocorticotropa.

AED: Detector de emisión atómica.

AMA: Agencia Mundial Antidopaje (en el idioma Francés).

AR: Receptor de andrógenos.

BZE: Benzoil ecgonina.

CBD: Cannabidiol.

CBN: Cannabinol.

CERA: Activador del receptor de eritropoyetina.

CG: Cromatografía de gas.

CLAR o HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución.

COI: Comité Olímpico Internacional.

CRF: Falla renal crónica.

dEPO: Darbepoyetina.

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

ECD: Detector de captura de electrones.

EI: Ionización electrónica.

EIA: Enzima inmunoensayo.

ELISA: Ensayo de enzima ligada a un inmoadsorbente.

EM: Espectrometría de masas.

EME: Ecgonina metil ester.

EMIT: Técnica de multiensayo enzimático homogéneo.

EPO: Eritropoyetina.

ESA: Agentes estimulante de eritropoyesis.

FGF: Factor de crecimiento de fibroblastos.

FIA: Inmunofluorescencia.

FID: Detector de ionización de llama.

FRAT: Técnica de ensayo de radical libre.

FSH: Hormona foliculoestimulante.

G: Abreviación de gravedad; fuerza que sobre todos los cuerpos ejerce la Tierra hacia su centro.

GC-C-IRMS: Cromatografía de gases-combustión acoplado a espectrometría de masas por proporción de isótopos.

GC-MS: Cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas.

GF: Factor de crecimiento.

GH: Hormona de crecimiento.

GHRH: Hormona liberadora de hormona de crecimiento.

GnRH: Hormona liberadora de gonadotropina.

hCG: Gonadotropina coriónica humana.

HDL: Lipoproteínas de alta densidad.

HES: Hidroxietilalmidón.

HIF-1: Factor inducible por hipoxia-1.

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución.

HPLC-MS: HPLC acoplado a espectrometría de masas.

HPLC-UV: HPLC acoplado a detector de luz ultra violeta.

HRMS: Espectrometría de masas de alta resolución.

IAAF: Asociación internacional de federaciones atléticas.

IE: Impacto eléctrico.

Ig- E: Inmunoglobulina E.

IGF-1: Factor de crecimiento de tipo 1 similar a insulina.

IGF-2: Factor de crecimiento de tipo 2 similar a insulina.

IH: Inhibición de la hemoaglutinación.

IQ: Ionización química.

IREM: Espectrometría de masas de relaciones isotópicas.

LC-MS: Cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas.

LDL: Lipoproteínas de baja densidad.

LH: Hormona luteinizante.

LRMS: Espectrómetro de masas cuadrupolo de baja resolución.

MALDI-TOF: Desorción de la matriz asistida por láser a tiempo de vuelo.

MDA: Metilendioxianfetamina.

MDEA: Metilendioxietilamfetamina.

MDMA: Metilendioximetamfetamina.

MENT: 7 α -metil-19-nortestosterona.

NE: Noradrenalina.

NESP: Nueva proteína estimulante de eritropoyesis.

NPD: Detector de nitrógeno y fosforo.

OIC: Comité Olímpico Internacional.

PEPCK: Carboxiquinasa de fosfoenolpiruvato.

PPAR δ : Activador de receptor proliferador de peroxisoma δ .

rhGH: Hormona de crecimiento recombinante.

rHuEPO: Eritropoyetina recombinante humana.

RIA: Radioinmunoensayo.

RNA_m: Acido ribonucleico mensajero.

SARMs: Moduladores selectivos de receptores de andrógeno.

SERM_s: Moduladores selectivos de receptores de estrógenos.

SIM: Monitoreo de ion seleccionado.

SNC: Sistema nervioso central.

SPE: Extracción en fase sólida.

SST: Somatostatina.

TCD: Detector de conductividad térmica.

T/E: Testosterona/epitestosterona.

THC: Tetrahidrocannabinol.

THG: Tetrahidrogestrinona.

TID: Detector termoiónico.

UCI: Unión Internacional de Ciclistas.

UE: Unión Europea.

UNESCO: Organización de Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura.

UPLC: Cromatografía líquida ultrarrápida.

USADA: Agencia Estadounidense Antidopaje.

VEGF: Factor de crecimiento del endotelio vascular.

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular.

WADA: World Anti Doping Agency (en el idioma ingles).

I. RESÚMEN.

El deporte ocupa un lugar importante en la sociedad, este ha tenido una gran repercusión en la vida social y política de los pueblos y ha alcanzado un alto grado de popularidad y avance científico.

En la medida en que son mayores las recompensas financieras, fama o presión social, en algunos deportes como el fútbol, ciclismo, boxeo, tenis, béisbol, etc., son más los deportistas dispuestos a adoptar medidas drásticas para hacerse más veloces, fuertes y resistentes. El nivel de esfuerzo al que se le somete se encuentra a menudo por encima de sus capacidades biológicas, lo que puede inducirle a la utilización de medios no lícitos, calificables como dopaje, mediante la utilización de sustancias cada vez más peligrosas y sofisticadas.

El uso de sustancias como lo son los estimulantes, anabólicos esteroides, diuréticos, hormonas, así como de otras prácticas de dopaje para aumentar el rendimiento físico, no solo incluye a los atletas formados con experiencia y prestigio, sino que es tan degradante que también se utiliza con los adolescentes y jóvenes que se inician (Ramos, 1999). Las consecuencias del uso de tales sustancias ha provocado en atletas desordenes hepáticos, esterilidad, signos de masculinidad, e incluso la muerte, efectos adversos que se encuentran documentados y que más adelante se detallan, de igual manera se revisaran la historia del dopaje, las sustancias y métodos utilizados en el ámbito deportivo con fines de dopaje, así como los principales métodos analíticos en los que se apoyan los científicos para detectar sustancias dopantes.

II. INTRODUCCIÓN.

• DEFINICIÓN DE DOPAJE.

Según el Diccionario de la Real Academia Española, es la acción y efecto de doparse, que *consiste en la administración de fármacos y otras sustancias estimulantes para potenciar el rendimiento en un momento determinado, casi siempre en pruebas deportivas*. Las autoridades deportivas consideran dopaje la detección de una sustancia prohibida, o de alguno de sus metabolitos o marcadores biológicos, en el organismo de un atleta. Si se trata de una sustancia restringida no se permite superar cierto nivel en el organismo. También se considera dopaje el uso de cualquier otra práctica o método para aumentar artificialmente el rendimiento (Ramos, 1999).

Hace unos años se solía utilizar el anglicismo "doping", pero últimamente se emplea más "dopaje", reconocido por el Diccionario de la Real Academia Española. En cuanto al origen del vocablo, "doping" procede de "dope", sustantivo y verbo que se refieren a el uso de ciertas combinaciones de plantas con efectos eufóricos o alucinógenos y al acto de administrarlas. El termino se volvió común en la década de los 20's, refiriéndose originalmente a la práctica ilegal de drogar a los caballos de carreras (Frontera, 2008).

- **ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL DOPAJE.**

La historia del dopaje es tan antigua como la del mismo ser humano, por lo que se puede citar a muchísimos pueblos o civilizaciones que han utilizado sustancias dopantes.

Los antiguos Griegos acostumbraban tener dietas especiales ya que reconocían la importancia de una buena nutrición para mejorar su desempeño atlético, uno de los primeros antecedentes de esta práctica es el relacionado con la dieta a base de higos que utilizaba Charmis, un Espartano que gano la carrera de 300 yardas en los Juegos Olímpicos del 668 antes de Cristo, de igual manera utilizaban estimulantes en forma de bebida con vino como parte de su rutina de entrenamiento (Holt, 2009). Los Gladiadores Romanos (264 a.C.) también utilizaban estimulantes para superar la fatiga y las lesiones, la mayoría de estos estimulantes derivaban de la muscarina (contenida en hongo *Amanita muscaria*) y bebidas alcohólicas (Kamber, 2011).

En la centuria de 1900 los ciclistas y algunos otros deportistas de disciplinas de resistencia usaban con frecuencia estroscina, cafeína, cocaína y alcohol.

Para los años 20's ya era evidente la necesidad de restringir el uso de drogas en el deporte. A inicios de esta década los científicos aislaron, caracterizaron y sintetizaron la testosterona (Fig. 1) teniendo en claro sus efectos anabólicos. Los entrenadores deportivos empezaron a utilizarla primero en caballos de carreras y después en personas.

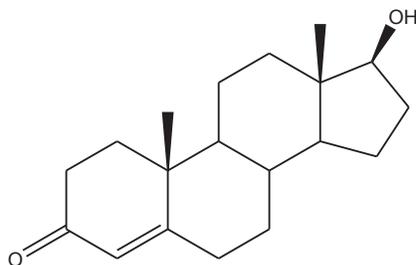


Fig. 1. Estructura química de la testosterona (Tomada de Flórez, 2008).

En 1928 la Asociación Internacional de Federaciones de Atletismo (IAAF, en inglés; International Association of Athletics Federations) se convirtió en la primer Federación Deportiva Internacional que prohibió el dopaje. Muchas otras le siguieron, pero estas restricciones seguían siendo ineficaces mientras las técnicas de evaluación no fueran mejoradas. Mientras tanto la situación empeoró por la invención de las hormonas sintéticas en la década de los 30's y su creciente uso a partir de la década de los años 50's, siendo pionero un equipo soviético de halterofilia, para posteriormente extender su utilización fraudulenta a deportes de fuerza y/o de resistencia, con el fin de incrementar la masa muscular, la fuerza y la potencia. Incluso en ocasiones, con su consumo se pretende incrementar la agresividad en competición (Laudo, 2006 y Catlin, 2002).

La muerte del ciclista Danés Knud Enemark Jensen (Fig. 2), en los juegos Olímpicos de Roma 1960 (la autopsia reveló trazas de anfetamina), incrementó la necesidad de implementar técnicas analíticas para la detección de tales sustancias (<http://www.wada-ama.org/en/About-WADA/History/A-Brief-History-of-Anti-Doping/>).

Aunque las anfetaminas fueron identificadas desde 1887, el uso de estos estimulantes se extendió a partir de los años 30's. Sus beneficios fueron apreciados durante la Segunda Guerra Mundial (Holt, 2009).



Fig. 2. Knud Enemark Jensen, colapsa durante los 100 km en los Juegos Olímpicos de Roma el 26 de Agosto de 1960, murió pocas horas después en el hospital (Recuperado el 23 de noviembre 2013 de <http://images.google.com/imgres?imgurl=http://cache1.assetcache.net/CG/92627260-danish-cyclist-knud-enemark-jensen.jpg>).

En 1966 las Federaciones Internacionales de Ciclismo (UCI, por sus siglas en inglés) y Fútbol (FIFA), fueron las primeras en implementar evaluaciones de dopaje en sus respectivos campeonatos mundiales. El siguiente año el Comité Olímpico Internacional (COI) instituyó su Comisión Médica y estableció su primera lista de sustancias prohibidas. Las pruebas antidopaje fueron implementadas por primera vez en los Juegos

Olímpicos de Invierno en Grenoble y en los Juegos Olímpicos de México en 1968, en esta olimpiada se prohíbe ya el uso de los estimulantes, que son incluidos dentro de la primer lista de sustancias prohibidas, que había sido aprobada en la LXVI Sesión del Comité Olímpico Internacional (C.O.I. 1967), y aunque no era exhaustiva, comprendía los ya citados estimulantes del SNC, las aminas simpaticomiméticas, los analépticos, los analgésicos narcóticos, los antidepresivos y los tranquilizantes. Un año antes ocurrió la muerte del ciclista Tom Simpson durante el Tour de Francia (Fig. 3).



Fig. 3. Tom Simpson colapsa y muere durante el Tour de Francia por falla cardiaca, la autopsia revela que consumió anfetaminas (Imagen recuperada el 23 noviembre de 2013 de http://images.google.com/imgres?imgurl=http://fotoalbum.mtbforum.it/albuEM/721/thumbs_576/15590.jpg).

La implementación de métodos confiables para detectar esteroides anabólicos, se consiguió en 1974 logrando un incremento en el número de atletas descalificados por consumo de estas sustancias.

En los años 80's la lista de sustancias prohibidas se amplió incluyendo diversas categorías de fármacos como: agentes anabólicos, hormonas, diuréticos y agentes enmascarantes, estimulantes y narcóticos, así como métodos prohibidos del tipo de transfusiones sanguíneas (Holt, 2009).

En 1988 durante los juegos Olímpicos de Seúl, Corea del Sur, la descalificación de Ben Johnson (Fig. 4) quien dio positivo para el esteroide anabólico estanozolol, condujo a la conclusión de que al menos la mitad de los atletas que compitieron en Seúl usaron esteroides anabólicos para aumentar su desempeño. Todo parecía funcionar perfectamente en el equipo de preparadores de Ben Johnson hasta 1987. En aquel año, Ben Johnson obtuvo la medalla de oro en los Campeonatos del Mundo de Roma con una impresionante marca de 9.83 segundos en 100 metros planos. A pesar de que había ingerido en numerosas ocasiones esteroides anabolizantes, Ben Johnson había pasado

19 veces controles antidopaje entre 1986 y 1988 sin dar nunca positivo. Delante de la Comisión Dubin, los médicos preparadores de Ben Johnson declararon que inyectaron “Estragol” a Ben Johnson los días 24, 25 y 28 de agosto 1988. Pensaban que desde ese día hasta el día de la final de los 100 metros (24 de septiembre) había 27 días, y aunque sabían que se necesitaba algo más de tiempo para que desapareciesen los rastros del “Estragol” en la orina, podían aplicar algunos tratamientos para favorecer una eliminación más rápida del medicamento por la orina. Para favorecer dicha eliminación le suministraron a Ben Johnson un diurético (Moduret), le hicieron beber vinagre con miel, y le trataron con “Diapulse”, una máquina que ayudaba teóricamente a eliminar más rápidamente los esteroides. Sin embargo, tras ganar Ben Johnson la final de los 100 metros planos en los Juegos Olímpicos de Seúl, el 24 de septiembre de 1988, el análisis de su muestra de orina dio positivo con estanozolol, el esteroide anabolizante contenido en el “estragol”. Resultó evidente que arriesgaron y que se equivocaron en sus cálculos (Gorostiaga, 2002).



Fig. 4. Ben Jonson (imagen recuperada el 23 de noviembre de 2013 de <http://www.rtve.es/deportes/20080924>).

Otro caso en 1998 durante el Tour de Francia en el control de aduanas de la ciudad de Neuville-en-ferrain, Francia, se interceptó al masajista del equipo ciclista Festina con 200 ampollitas de la hormona eritropoyetina, casi 100 ampollitas de hormona de crecimiento y docenas de cajas de testosterona, después de esto el Comité Olímpico Internacional convocó a una Conferencia Mundial sobre Dopaje en Lausanne, Suiza, reconociendo la necesidad de contar con una Agencia Internacional e independiente que unificara los criterios del trabajo en contra del dopaje y coordinara los esfuerzos de las organizaciones deportivas y las autoridades públicas, dando por resultado el establecimiento de la Agencia Mundial Antidopaje (AMA por sus siglas en Francés o WADA por sus siglas en Inglés) el 10 de Noviembre de 1999.

Ya para el año 2000 la eritropoyetina (EPO) y las transfusiones sanguíneas se usaban para mejorar la capacidad de transporte de oxígeno y justo antes de que iniciara la carrera del Tour de Francia de ese año, tres ciclistas faltaron a la evaluación de EPO siendo expulsados de la competencia. En Barcelona, un atleta tuvo un colapso por incompatibilidad durante la transfusión sanguínea, requiriendo diálisis.

Era común que después de concluidos los eventos deportivos correspondientes se continuara con la evaluación de muestras en las que en su momento no era posible determinar la presencia de algún agente dopante por no contar con las técnicas adecuadas, como es el caso de la velocista Marion Jones, ganadora de tres medallas de oro y dos medallas de bronce, fue descalificada en octubre de 2007 después de confesar que había tomado tetrahidrogestrinona (THG) desde Septiembre 2000 hasta julio 2001. En 2008 Antonio Pettigrew admitió haber usado una sustancia prohibida durante la carrera de relevos así como sus compañeros Alvin y Calvin Harrison del mismo equipo de relevos (Holt, 2009).

El caso más polémico actualmente es el del ciclista Lance Armstrong (Fig. 5), la UCI le retiró todas sus victorias después de estudiar el informe de la Agencia Estadounidense Antidopaje (USADA). "Las pruebas muestran más allá de cualquier duda que el equipo ciclista "US Postal" puso en marcha el programa de dopaje más sofisticado, profesionalizado y exitoso que el deporte haya conocido en su historia", decía la USADA en su texto. La investigación también incluye a corredores como el italiano Michele Scarponi (vencedor del Giro de 2011) y el ruso Denis Menchov (ganador del Giro en 2009).



Fig. 5. El ciclista Lance Armstrong ganador de 7 ediciones consecutivas del Tour de Francia (1999 a 2005) (Recuperado el 12 de noviembre de 2013 de <http://www.que.es/deportes/mas/20121018117-Arms-trong-abre-caja-pandora-negocios-rc.html>).

En 2006 durante los Juegos Olímpicos de Turín, se confisco equipo medico para transfusión sanguínea y diversos paquetes de medicamentos en la residencia de atletas Austriacos. Ya para el año 2008 y debido a las medidas implementadas los casos de dopaje fueron disminuyendo. Dentro de los logros más importantes en la lucha contra el dopaje en los deportes se encuentra el desarrollo e implementación de una lista de reglas antidopaje y el Código de la Agencia Mundial Antidopaje junto con la lista de sustancias prohibidas (Holt, 2009).

En el año 2003, la AMA elaboró el “Código Mundial Antidopaje” con normas internacionales constituidas por un conjunto de reglas y directrices de obligado cumplimiento por las federaciones deportivas internacionales. De igual modo, se establecieron los criterios homologables del funcionamiento de laboratorios y la elaboración de una lista de sustancias y métodos prohibidos que fuera aceptada por el mayor número de países. Ese mismo año, el “Código Mundial Antidopaje” se aprobó por unanimidad. En el mes de octubre de 2005, tuvo lugar su ratificación parlamentaria, para darle validez jurídica, como “Convención internacional contra el dopaje en el deporte” en la UNESCO (Organización de Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura). Actualmente, la lista de sustancias y métodos prohibidos, aprobada por la AMA y adoptada por la Comisión Médica del COI, no está cerrada, sino que se encuentra sometida a continuas modificaciones, incluyendo el término de “sustancias relacionadas”, donde se incorporan los nuevos fármacos que van apareciendo en el mercado (Laudo, 2006).

Los **objetivos** de la lucha contra el dopaje deben: a) garantizar la ética en el deporte; b) garantizar la igualdad en las condiciones de la competición, de forma que los resultados dependan básicamente de las condiciones físicas, psicológicas e higiénicas, o lo que es igual, su preparación y sus actitudes para este deporte y nunca por la posibilidad de ser superior en razón de la administración de sustancias para mejorar ese rendimiento; y c) preservar la salud en el sentido de que el ejercicio no debe provocar alteraciones y patologías en el deportista (Ramos, 1999).

Desde el año de 2004 la Agencia Mundial Antidopaje (WADA) emite la Lista de Sustancias Prohibidas, renovándola cada año para que empiece a tener efecto el 1º de enero, por lo que esta sujeta a diversos cambios año tras año (Hemmersbach, 2008).

III. OBJETIVOS.

A) OBJETIVO GENERAL.

- Generar un documento en el que se describan los principales grupos de sustancias dopantes y métodos de dopaje en el ámbito deportivo, mediante la recopilación de información proveniente de fuentes de información bibliohemerográficas, así como de fuentes electrónicas, con la finalidad de resaltar los efectos adversos del dopaje en la práctica deportiva y conocer las principales técnicas analíticas en las que se apoyan los científicos para detectar estas sustancias.

B) OBJETIVOS PARTICULARES.

- Integrar los conocimientos adquiridos durante la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo con la información proveniente de diversas fuentes de información, mediante la revisión, análisis y selección de las mismas con la finalidad de generar un documento en el que se describan las características químicas y farmacológicas de las sustancias utilizadas como agentes dopantes en el deporte y que además incremente el interés de quien lo consulte en fomentar la salud mediante prácticas deportivas libres de agentes y prácticas dopantes.
- Conocer los aspectos técnicos e instrumentales empleados en el análisis de muestras biológicas para control de dopaje, mediante la consulta de fuentes de información con la finalidad de contar con mayores herramientas que me permitan un mejor desempeño en el ámbito laboral del Químico Farmacéutico Biólogo.

IV. JUSTIFICACIÓN.

Dado que en la actualidad en nuestro país no se cuenta con un documento que recopile los tópicos más relevantes del uso de sustancias dopantes en el ámbito deportivo, así como su identificación en muestras biológicas, en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, nos dimos a la tarea de recopilar, a partir de las diversas fuentes de información, lo relacionado con este tema de impacto mundial.

V. HÍPOTESIS.

Si se desarrolla un documento que recopile información sobre los efectos adversos que derivan del abuso de sustancias dopantes y las técnicas mediante las cuales se pueden identificar **entonces** se podrá contar con un documento que apoye a los alumnos en su formación académica y futuro desempeño como prestadores de servicio en el sector salud.

VI. METODOLOGÍA.

1. Realizar búsqueda en bibliotecas en donde sea susceptible encontrar información de interés científico relacionada con el tema a investigar, como CINVESTAV, FES CUAUTITÁN, FES IZTACALA, FES ZARAGOZA, INACIPE y fuentes de información electrónicas como Science Direct, PubMed y Google, de este último se debe corroborar la información en artículos o libros de referencia.
2. Recopilación y revisión bibliohemerográfica de las propiedades químicas, físicas y farmacológicas de los principales grupos de sustancias dopantes que son utilizadas en el ámbito deportivo, así como de los efectos biológicos que tales sustancias y prácticas de dopaje originan en el organismo y las principales técnicas analíticas aplicadas para su detección durante el control antidopaje.
3. Selección de información y síntesis de la misma para la conformación del documento.
4. Análisis y conclusiones del trabajo.

VII. CONTENIDO.

1.0. LISTA DE SUSTANCIAS PROHIBIDAS.

De acuerdo con el artículo 4.2.2 del Código Mundial Antidopaje, esta lista se renueva cada año y comienza a tener efecto el 01 de enero de cada año, contiene diversos grupos de sustancias prohibidas, clasificadas según su acción, así como métodos de dopaje prohibidos (dentro y fuera de competición) (Tabla 1) ([World Anti-Doping Agency, 2014](#)). A continuación se presenta la lista de sustancias prohibidas vigente en el presente año (2014) y posteriormente se analizarán cada uno de los grupos farmacológicos y métodos de dopaje que la integran.

Tabla1. Clasificación general que hace la WADA de las sustancias y métodos de dopaje prohibidos en el ámbito deportivo, la versión original está disponible en www.wada-ama.org.

LISTA DE SUSTANCIAS PROHIBIDAS
De acuerdo con el artículo 4.2.2 del Código Mundial Antidopaje, todas las <i>Sustancias Prohibidas</i> deben ser consideradas como “sustancias específicas” excepto las sustancias de las clases S1, S2, S4.4, S4.5, S6.a y los Métodos Prohibidos M1, M2 y M3.
1. SUSTANCIAS Y MÉTODOS PROHIBIDOS EN TODO MOMENTO (durante y fuera de competición).
SUSTANCIAS PROHIBIDAS
S0: Sustancias no aprobadas.
Todo fármaco que no cuente con aprobación vigente por ninguna autoridad gubernamental regulatoria de salud para uso terapéutico en humanos (por ejemplo: fármacos en desarrollo clínico o preclínico, fármacos descontinuados, fármacos de diseño, fármacos para uso veterinario) están prohibidos en todo momento aunque no este incluido en las siguientes secciones de la lista de sustancias prohibidas.
S1. Agentes Anabolizantes.
1. Esteroides Anabolizantes Androgénicos (EAA).
<ul style="list-style-type: none">EAA exógenos*: 1-androstenediol, 1-androstenediona, bolandiol, bolasterona, boldenona, boldiona, calusterona, clostebol, danazol, dehidroclorometiltestosterona, desoximetiltestosterona, drostanolona; estanozolol, estenbolona; etilestrenol, fluoximesterona, formebolona, furazabol, gestrinona, 4-hidroxitestosterona, mestanolona; mesterolona; metandienona, metandriol, metasterona, metenolona, metildienolona, metil-1-testosterona, metilnortestosterona, metiltestosterona, metribolona, mibolerona, nandrolona; 19-norandrostendiona, norboletona, norelostebol, noretandrolona; oxabolona; oxandrolona; oximesterona, oximetolona, prostanazol, quinbolona, 1- testosterona, tetrahidrogestrinona, trenbolona.

• **EAA endógenos**** administrados exógenamente: androstendiol, androstendiona, dihidrotestosterona, prasterona, testosterona y sus metabolitos e isómeros, que incluyen pero no se limitan a:
5 α -androstan-3 α ,17 α -diol, 5 α -androstan-3 α ,17 β -diol, 5 α -androstan-3 β ,17 α -diol, 5 α -androstan-3 β ,17 β -diol, androst-4-en-3 α ,17 α -diol, androst-4-en-3 α ,17 β -diol, androst-4-en-3 β ,17 α -diol, androst-5-en-3 α ,17 α -diol, androst-5-en-3 α ,17 β -diol, androst-5-en-3 β ,17 α -diol, 4-androstendiol, 5-androstendiona, epi-dihidrotestosterona, epitestosterona, etiocolanona, 3 α -hidroxi-5 α -androstan-17-ona, 3 β -hidroxi-5 α -androstan-17-ona, 7 α -hidroxi-DHEA, 7 β -hidroxi-DHEA, 7-ceto-DHEA, 19-norandrosterona, 19-noreticolanona.

* “exógeno” se refiere a una sustancia que, generalmente, el cuerpo no puede producir de forma natural.

** “endógeno” se refiere a una sustancia que el cuerpo puede producir de forma natural.

2. Otros Agentes Anabolizantes, que incluyen pero no se limitan a: Clenbuterol, moduladores selectivos del receptor de andrógeno (SARMs), tibolona, zeranol, zilpaterol.

S2. Hormonas peptídicas, factores de crecimiento y sustancias afines.

1. Agentes estimulantes de la eritropoyesis (p. ej. eritropoyetina (EPO), darbepoyetina (dEPO), estabilizadores del factor inducible por hipoxia (HIF), metoxi-polietilenglicol epoetina beta (CERA), peginesatide (Hematide).

2. Gonadotropina coriónica (CG) y Hormona luteinizante (LH) y sus factores de liberación, prohibidos sólo para hombres.

3. Corticotropinas y sus factores de liberación.

4. Hormona de crecimiento (GH) y sus factores de liberación y factores de crecimiento de tipo insulínico (p. ej. IGF-1). Además, los factores de crecimiento siguientes están prohibidos: Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factores de crecimiento fibroblásticos (FGFs), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factores mecánicos de crecimiento (MGF) al igual que cualquier otro factor de crecimiento que afecte la síntesis y degradación proteica del músculo, tendón o ligamento, la vascularización, la utilización de energía, la capacidad regenerativa o el cambio de tipo de fibra muscular y otras sustancias con estructura química o efectos biológicos similares.

S3. Agonistas de receptores β_2 adrenérgicos.

Todos los agonistas beta-2 incluidos todos los isómeros ópticos (*d*- y *l*- cuando corresponda) están prohibidos excepto el salbutamol por inhalación (dosis máxima 1600 microgramos por 24 hrs.), formoterol por inhalación (dosis máxima liberada 54 microgramos por 24 hrs.) y el salmerol (administrados por inhalación de acuerdo al régimen terapéutico recomendado por el fabricante.) La presencia urinaria de salbutamol en una concentración mayor de 1000 ng/mL o de formoterol en una concentración mayor de 40 ng/mL se presume de no ser consecuencia del uso terapéutico de la sustancia y por tanto se considerará un *Resultado Analítico Adverso* a menos que el (la) *Deportista* demuestre por medio de un estudio farmacocinético controlado que el resultado anormal fue consecuencia del uso de una dosis terapéutica por inhalación no mayor que la indicada anteriormente.

S4. Moduladores hormonales y metabólicos.

1. Inhibidores de la aromataasa, que incluyen pero no se limitan a: aminoglutetimida, androstatriendiona, 4-androsten-3, 6, 17 triona (6-oxo), anastrozol, exemestano, formestano, letrozol, testolactona.
2. Moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERMs), que incluyen pero no se limitan a: clomifeno, ciclofenil, fulvestrant.
3. Otras sustancias antiestrogénicas como clomifeno, fulvestrant y ciclofenil.
4. Agentes modificadores de la(s) función(es) de la miostatina.
5. Moduladores metabólicos: a) Insulinas; b) Agonistas del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR) (p. ej. GW1516) y los agonistas del eje PPAR-proteína Kinasa activada por AMP (AMPK) (p. ej. AICAR).

S5. Diuréticos y otros agentes enmascarantes.

Los agentes enmascarantes incluyen además de los diuréticos: desmopresina, expansores del plasma (glicerol, albúmina por administración endovenosa, dextrano, hidroxietilalmidón y manitol), probenecida y otras sustancias con efectos biológicos similares. La administración local de felipresina en anestesia dental no está prohibida.

Los diuréticos incluyen: Acetazolamida, ácido etacrínico, amilorida, bumetanida, canrenona, clortalidona, espironolactona, furosemida, indapamida, metolazona, tiazidas (p. ej., bendroflumetiazida, clorotiazida, hidroclorotiazida), triamterene, vaptanes (p. ej., tolvaptán) y otras sustancias con estructura química o efectos biológicos similares (a excepción de la drospirenona, el pamabrom y la dorzolamida y brinzolamida por vía tópica, que no están prohibidas).

MÉTODOS PROHIBIDOS

M1. Manipulación de sangre y componentes sanguíneos.

1. La administración o reintroducción de sangre autóloga, alogénica (homóloga) o heteróloga o de productos de hematíes de cualquier origen en sistema circulatorio.
2. Mejora artificial de la captación, transporte o transferencia de oxígeno, no se limita a: productos químicos perfluorados, efaproxiral (RSR13) y productos de hemoglobina modificada (sustitutos de hemoglobina o hemoglobina microencapsulada) excluye oxígeno suplementario.
3. Cualquier forma de manipulación intravascular de la sangre o componentes sanguíneos por medios químicos o físicos.

M2. Manipulación química y física.

1. La manipulación o intento de manipulación, a fin de alterar la integridad y validez de las *muestras* tomadas durante el *control antidopaje* (sustitución y/o adulteración de la orina con proteasas).
2. Infusiones IV y/o inyecciones de más de 50mL cada 6 hrs, excepto las recibidas durante admisiones hospitalarias o exámenes clínicos.

M3. Dopaje Genético (con potencial de mejorar el rendimiento deportivo).

1. Transferencia de polímeros de ácidos nucleicos o análogos de ácidos nucleicos.
2. Uso de células normales o genéticamente modificadas.

2. SUSTANCIAS PROHIBIDAS DURANTE COMPETICIÓN.

Además de las categorías de la S0 a la S5 y de la M1 a la M3 que se han definido anteriormente, se prohíben las siguientes categorías en competición:

SUSTANCIAS PROHIBIDAS

S6. Estimulantes.

a) Estimulantes no específicos: Adrafinilo, amifenazol, anfepramona, anfetamina, anfetaminilo, benfluorex, benzilpiperacina, bromantán, clobenzorex, cocaína, cropropamida, crotetamida, fencamina, fendimetrazina, fenetilina, fenfluramina, fenmetrazina, fenproporex, fentermina, fonturacetam [4-fenilpiracetam (carfedón)], furfenorex, mefenorex, mefentermina, mesocarb, metanfetamina (*d*-), p-metilanfetamina, modafinilo, norfenfluramina, prenilamina, prolintano.

b) Estimulantes específicos: Benzfetamina, catina^{**}, catinona y sus análogos, dimetilanfetamina, efedrina^{***}, epinefrina (adrenalina)^{****}, estircina, etilanfetamina, etilefrina, famprofazona, fenbutrazato, fencamfamina, fenprometamina, heptaminol, hidroxianfetamina (parahidroxianfetamina), isometepteno, levmetanfetamina, meclofenoxato, metilefedrina^{***}, metilendioxianfetamina, metilfenidato, metilhexaneamina (dimetilpentilamina), niquetamida, norfenefrina, octopamina, oxilofrina (metilsinefrina), pemolina, pentetrazol, propilhexedrina, pseudoefedrina^{*****}, selegilina, sibutramina, tenanfetamina (metilendioximetanfetamina), trimetazidina, tuaminoheptano y otras sustancias con estructura química y efectos biológicos similares.

****Catina** esta prohibida cuando su concentración en orina es mayor de 5 microgramos por mililitro.

*****Efedrina y metilefedrina** esta prohibida cuando su concentración en orina es mayor que 10 microgramos por mililitro.

******La administración local (por ejemplo: nasal u oftalmológica) de epinefrina (adrenalina) o coadministración con agentes anestésicos locales no está prohibida.**

*******Pseudoefedrina** esta prohibida cuando su concentración en orina es mayor de 150 microgramos por mililitro

S7. Narcóticos.

Buprenorfina, dextromoramida, diamorfina (heroína), fentanil y sus derivados, hidromorfona, metadona, morfina, oxicodona, oximorfona, pentazocina, petidina.

S8. Cannabinoides.

El Δ^9 -tetrahidrocanabinol (THC) natural (**cannabis, hachís, marihuana**) o sintético y los cannabinomiméticos (p. ej., "**Spice**", **JWH018, JWH073, HU-210**) están prohibidos.

S9. Glucocorticoesteroides.

Están prohibidos todos los glucocorticoesteroides que se administren por vía oral, intravenosa, intramuscular o rectal.

3. SUSTANCIAS PROHIBIDAS EN DEPORTES EN PARTICULAR.

P1. Alcohol.

La detección solo se realizara por análisis del aliento y/o sangre. El umbral para considerar que se ha violado la norma antidopaje es equivalente a una concentración sanguínea de alcohol de 0.10g/L.

El alcohol solo está prohibido durante la competición en los siguientes deportes:

- Automovilismo (FIA)
- Deportes aéreos (FAI)
- Karate (WKF)
- Motociclismo (FIM)
- Motonáutica (UIM)
- Tiro con arco (WA)

P2. Betabloqueantes.

Estos incluyen, pero no se limitan a: acebutolol, alprenolol, atenolol, betaxolol, bisoprolol, bunolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, esmolol, labetalol, levobunolol, metipranolol, metoprolol, nadolol, oxprenolol, pindolol, propranolol, sotalol, timolol.

Deportes en los que se prohíbe:

- Automovilismo (FIA)
- Billar (todas las disciplinas) (WCBS)
- Dardos (WDF)
- Esquí / Snowboard (FIS) en saltos, acrobacias y halfpipe estilo libre de esquí, y halfpipe y Big Air de snowboard.
- Golf (IGF)
- Tiro (ISSF, CPI) (prohibidos también *Fuera de la Competición*)
- Tiro con arco (WA) (prohibidos también *Fuera de la Competición*)

A continuación se describen los grupos de sustancias y métodos de dopaje antes enlistados, prescindiendo de la nomenclatura S, M o P que tienen asignada en la lista de prohibiciones oficial y se adoptara el estilo propio, solo con fines de desglosar el presente capítulo en temas y subtemas numerados. Se expone en cada caso los posibles usos dopantes y los posibles efectos indeseables que de su consumo derivan.

1.1. AGENTES ANABOLIZANTES.

Los esteroides anabólicos androgénicos (EAA) son derivados de la testosterona, utilizados para aumentar la intensidad de los procesos anabólicos del organismo y que por tener una función asociada con fenómenos de anabolismo y androgénicos, se denominan así (Wilson, 1988).

1.1.1. Generalidades de esteroides anabólicos androgénicos.

El fenómeno **anabólico** es el deseado y origina los efectos buscados por los deportistas los cuales consisten en un aumento de la síntesis de proteínas en el músculo, con lo que se incrementa el diámetro de las fibras musculares (hipertrofia) y se consigue un aumento de la fuerza física. El fenómeno **androgénico** es debido al componente hormonal asociado a estos productos, por estar todos relacionados con la testosterona, que en el organismo se convierte en dihidrotestosterona y en estrógenos, hormonas feminizantes. Estos dos tipos de efectos sirven también para clasificar a los esteroides en predominantemente anabólicos o androgénicos, según destaquen unas propiedades u otras. No existe actualmente ningún esteroide que disocie completamente las acciones anabólicas de las acciones androgénicas, por lo que es más correcto denominar a dichas sustancias “esteroides anabólicos androgénicos”, en lugar de denominarlas “esteroides anabolizantes”, sin embargo este término es usual (Ferrán, 2011). En México aun cuando actualmente no contamos con datos estadísticos, es de esperarse que empiece a observarse incremento en el uso de fármacos anabólicos dado las mejores condiciones en relación a la práctica del deporte en las escuelas secundarias del país, así como a una mejor conciencia de competitividad atlética. Al igual que en los Estados Unidos de Norteamérica y otros países, nuestros adolescentes estarán expuestos, si no es que ya lo están, al uso de drogas anabólicas con el afán de mejorar su desempeño en la práctica del deporte. Este uso no se encuentra limitado a los atletas profesionales u olímpicos, sino a cualquiera que realiza un entrenamiento físico aun cuando sea en forma irregular o no constante, incluso en los adolescentes se ha observado un uso continuo y cada vez más frecuente de sustancias como los anabólicos esteroideos (EAA) y no esteroideos. Aunque en nuestro país no hay cifras oficiales, alrededor de la venta de estas sustancias hay un auténtico mercado negro a través de internet, en los gimnasios o mediante otras fuentes, como drogas de uso veterinario, por lo que se han convertido en un problema de salud pública en muchos países (Barrientos, 2001).

1.1.2. Clasificación de Esteroides Anabólicos Androgénicos (EAA).

- **EAA Endógenos** (administrados de manera exógena).

El esteroide anabolizante endógeno más conocido es la testosterona esta al igual que todos los esteroides naturales o endógenos tienen dos grandes limitaciones; por un lado no son eficaces por vía oral o parenteral y por otro lado sus efectos anabólicos siempre se asocian con efectos androgénicos no deseables. Por ello en la década de los 60 se comenzaron a sintetizar derivados de testosterona que perseguían fundamentalmente minimizar el efecto androgénico frente al anabólico (en el **anexo I** se explican algunas de las modificaciones clásicas para estas sustancias) (Muñoz-Guerra, 2008).

A continuación se describen algunos de los principales esteroides anabolizantes de carácter endógeno.

a) Testosterona.

La testosterona es la principal hormona esteroide masculina segregada por el testículo, su síntesis, que oscila entre 5 y 10 mg al día, se produce a partir del colesterol, bajo un mecanismo de retroalimentación negativo hipotálamo-hipofisario en respuesta a las gonadotropinas. La testosterona también se produce, aunque en menor porcentaje, en la glándula suprarrenal y, en la mujer, también se sintetiza en dicha glándula y en el ovario, pero aquí en cantidades menores. Es responsable en el varón de la diferenciación sexual y del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios masculinos, pero también actúa sobre el tejido muscular, óseo y hematopoyético ejerciendo un efecto anabolizante, incrementando la retención de nitrógeno, la masa magra corporal y el peso, estas acciones parecen estar mediadas a través de receptores androgénicos (en el **anexo I** se encuentra mayor información en el apartado de mecanismo de acción de EAA) (Laudó, 2006). La testosterona se puede aromatizar hacia estradiol en diversos tejidos extraglandulares, vía que explica la mayor síntesis de estrógeno en varones causando feminización (Goodman, 2007).

b) Dihidrotestosterona.

En muchos tejidos donde ejerce su acción la testosterona se reduce en la posición 5 α hacia dihidrotestosterona, que sirve como el mediador intracelular de casi todos los efectos de la testosterona. La dihidrotestosterona se une a la proteína receptora de andrógeno intracelular de manera más estrecha que la testosterona, de este modo se

explica su mayor potencia androgénica, siendo responsable de los caracteres masculinos secundarios. De hecho, la elevada conversión de testosterona a dihidrotestosterona (Fig. 6) es la causante del exceso de vello y la alopecia en algunos varones. La administración exógena de esta hormona también conlleva efectos anabólicos, si bien más débiles que los generados por la testosterona. Los deportistas no lo consideran un producto muy útil para los fines que persiguen.

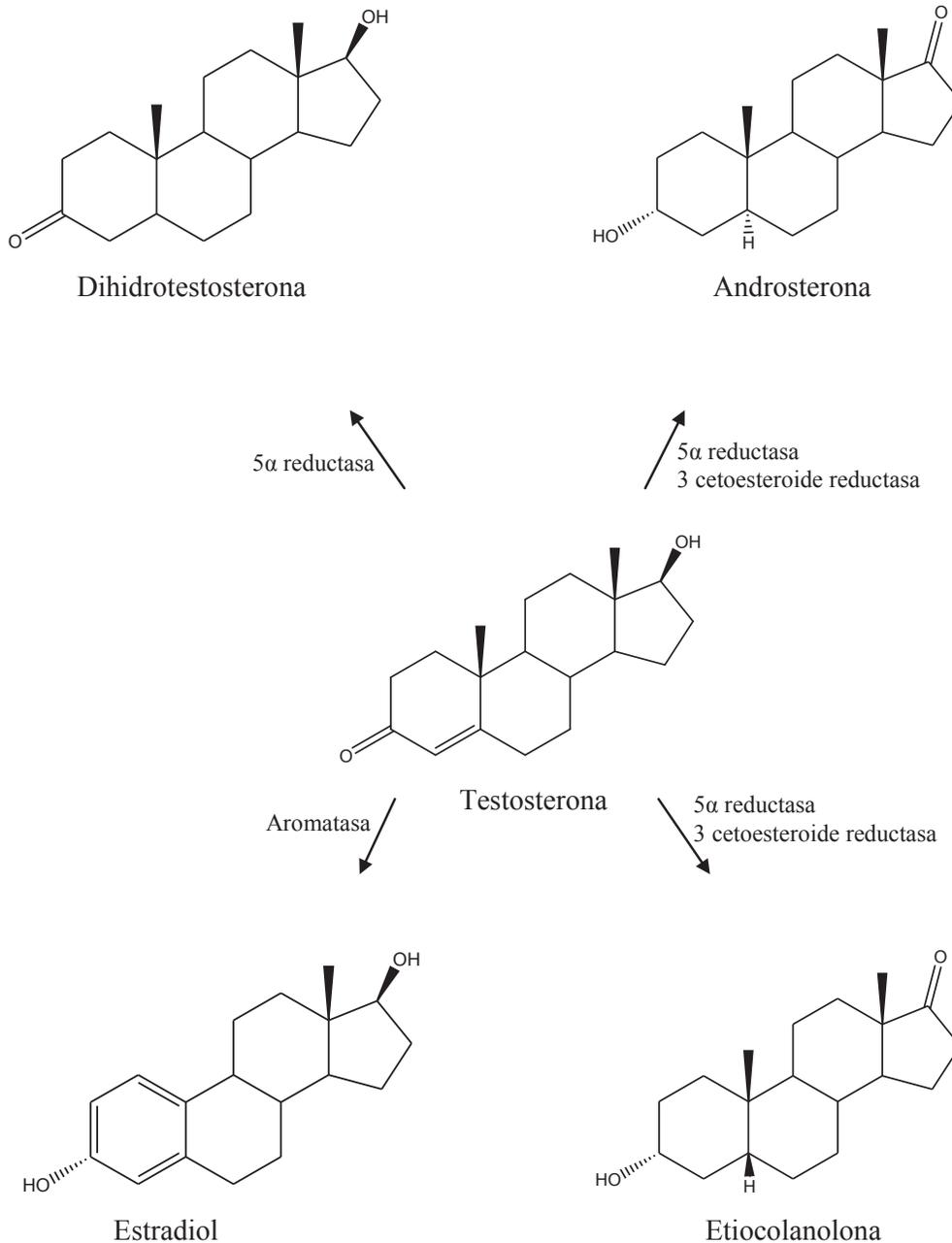


Fig. 6. Metabolitos de testosterona (Adaptada de Goodman, 2007).

c) Dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona.

Ambas son precursores de la producción endógena de andrógenos y son usados por atletas para promover este proceso. Recibieron una gran publicidad debido a que el bateador Mark McGuire admitió usar estos agentes para lograr una pronta recuperación entre sus presentaciones. La legitimidad de este efecto en individuos jóvenes no está probada. Sin embargo, se ha observado en adultos mayores a dosis de 50 a 100 mg/día un importante incremento de algunos andrógenos esteroideos en plasma.

Se reporta que con suplementos orales de androstenediona, se incrementa la testosterona de un 40 a 83% con dosis de 50 mg y en un 110% a 237% con 100 mg, por lo tanto estos precursores promueven el crecimiento muscular incrementando la concentración de andrógenos en el organismo (Barrientos, 2001).

Se ha sugerido que el uso de la dehidroepiandrosterona es difícil de detectar en orina, debido a que incrementa la cantidad tanto de testosterona como de epitestosterona, esto es muy importante ya que la prueba en orina para detectar esteroides anabólicos se basa en que la relación entre testosterona y epitestosterona exceda de 4:1 para tomarse como evidencia de uso de esteroides exógenos, sin embargo existe la posibilidad de que la prueba sea positiva (TD2013MRPL).

En la lista de sustancias prohibidas se encuentran clasificados como EAA “endógenos” por el hecho de que son sustancias que en el organismo se pueden encontrar de manera natural en mayor o menor concentración.

El uso de EAA ha sido prohibido desde 1974 por la Comisión Médica del Comité Olímpico Internacional (OIC). Muchos otros esteroides de diseño, aparte de las prohormonas de esteroides anabólicoandrogénicos, han sido detectados como ingredientes en suplementos nutricionales y no son referidos en las etiquetas (Fragkaki, 2009).

- **EAA Exógenos** (entendiendo por exógeno a la sustancia que no es producida de manera natural por el organismo).

A pesar de que todos los esteroides anabólicos son considerados como agentes dopantes, la mayoría de los casos de positividad detectados por los Laboratorios Antidopaje de la WADA se refieren a la utilización de cuatro compuestos específicos: **metandienona, metiltestosterona, 19-nortestosterona y estanozolol** (Buiarelli, 2001).

a) **Metandienona (Metandrostenolona; DANABOL): 17 β -hidroxi-17 α -metilandrosta-1, 4-dien-3-ona.** Es un esteroide anabólico de ingesta oral (Fig. 7). Dentro de sus efectos, esta la promoción de síntesis de proteínas, apoyando el aumento del tejido muscular y aportando un fortalecimiento en general. Es un derivado de la testosterona, desarrollado en 1956 por los laboratorios CIBA, fue el primer esteroide usado por los atletas americanos, es un esteroide altamente anabólico y androgénico, produce aumento de fuerza y tamaño, así como aumento de resistencia y retención de glucógeno. Dentro de sus efectos indeseables es su alta hepatotoxicidad por ser un compuesto alfa alquilado en el carbono 17 (Fig. 8), además se convierte en estrógenos por aromatización de su estructura química provocando ginecomastia a dosis bajas (es recomendable utilizar un inhibidor de la aromatasa como anastrozol) también es común la retención de líquidos y elevación de presión arterial. La dosis media de Danabol varía entre 15 mg y 30 mg por día. Es común su uso en combinación con Proviron para minimizar los efectos de aromatización y como protector hepático se utiliza el ácido lipóico o tióctico en dosis de 500 mg diarios. También suprime la producción endógena de testosterona por lo que se puede desarrollar hipogonadismo hipogonadotrófico, lo que exige la intervención médica (hCG/Clomid / Nolvadex - antagonista de estrógenos-son una necesidad cuando se finaliza el ciclo para volver a producir testosterona natural, en el **anexo I** se encuentra mayor información respecto a los ciclos de administración). Por ser un andrógeno muy potente produce muchos más efectos indeseables tales como: piel grasa, hinchazón y retención de líquidos, presión arterial alta, acné en el cuerpo, muchas personas responden con acné severo (Fig. 9), requiriendo a menudo medicamentos para mantenerlo bajo control como el Accutane que es un medicamento que actúa sobre las glándulas sebáceas para reducir la liberación de los aceites (el Accutane puede producir depresión extrema en el individuo e indicios de suicidio) (Harrison, 1990 y Feraudi, 1985).



Fig. 7. Principales presentaciones en el mercado de metandienona (Recuperado el 12 de octubre de 2013 de www.suplementosmexico.com.mx).

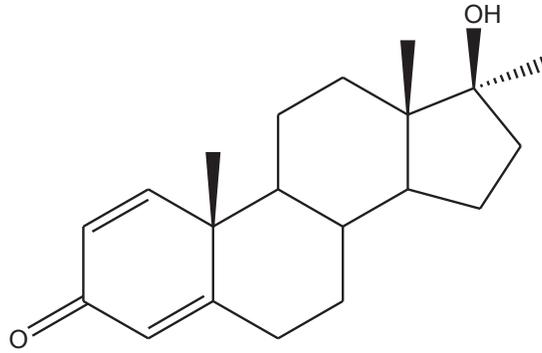


Fig. 8. Estructura química de metandrostenolona o metandienona (Tomada de Flórez, 2008).

El siguiente es un ejemplo de las consecuencias del consumo de andrógenos anabólicos.



Fig. 9. Imágenes de intoxicación por ingesta de metandienona (Tomadas de Gerer, 2008).

Es el caso de un joven culturista de 21 años que acudió al Hospital Universitario de Düsseldorf (Alemania) con síntomas de fiebre. Tenía úlceras profundas, pústulas y abscesos en la zona del pecho. Además, presentaba los testículos contraídos y un daño sustancial en la concentración del esperma. El paciente ingería 250 miligramos de enantato de testosterona y 30 miligramos de metandienona dos veces por semana, se le diagnosticó acné conglobata, producido por los esteroides anabolizantes. Se trata de una forma de acné grave que se da en la zona alta del pecho y la espalda y, en ocasiones, también en la cara. Además de aparecer lesiones cutáneas propias del acné grave (quistes con abscesos, forúnculos profundos con ulceración, etcétera), "puede causar fiebre y malestar general e incluso evolucionar a lo que se denomina "acné fulminans", que si no se trata a tiempo, puede derivar en fallecimiento (Gerer, 2008).

b) Metiltestosterona (17 α -metiltestosterona, Fig.10): Es muy androgénico y posee pocos efectos anabólicos. Aunque es activo por vía oral (Fig. 11), resulta más efectivo cuando se administra por vía sublingual. En terapéutica se utiliza para reemplazo hormonal en hombres con baja producción de andrógenos, testículos poco desarrollados o impotencia. Estimula la pubertad cuando está retrasada y a tratar ciertos tipos de cáncer de mama en mujeres. Los atletas lo usan para obtener dureza muscular, fuerza, aumentar la intensidad y agresividad durante el entrenamiento, pero no es útil para quien busca crear masa muscular de calidad. Es muy tóxico y puede causar daño al hígado, acné, ginecomastia y retención de líquidos, cambios en el color de la piel, confusión, disnea, mareo, cansancio, cefalea, sofoco o enrojecimiento de la piel, depresión mental, náuseas, rash cutáneo, hemorragias, edema, color amarillo en los ojos o en la piel, dolor en la boca. Sólo en mujeres: acné o piel grasa, hipertrofia de clítoris, pérdida de pelo, ronquera o voz grave, crecimiento no natural del pelo (hirsutismo), pérdidas menstruales irregulares. Sólo en hombres: erección continua o frecuente, deseo miccional frecuente, hinchazón o sensibilización de las mamas. Esta hormona también puede generar un tipo de acné grave en la zona del pecho.

En la mayoría de los tejidos blanco, la metiltestosterona se convierte en 5 α -testosterona que inhibe la liberación de la hormona liberadora de gonadotrofinas, hormona luteinizante (LH) y la hormona foliculoestimulante (FSH) mediante un mecanismo de retroalimentación negativa que se ejerce sobre la hipófisis y el hipotálamo. El metabolismo de esta droga es principalmente hepático. La eliminación es renal en su mayor parte; una pequeña parte de los metabolitos se eliminan por vía fecal debido a que ingresan al circuito de circulación enterohepática (Pawlowski, 2004).

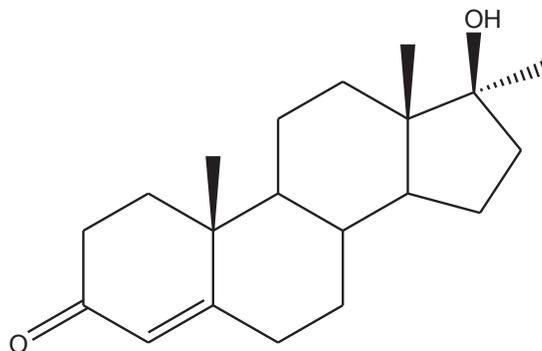


Fig. 10. Estructura química de 17 α -metiltestosterona (Tomada de Flórez, 2008).



Fig.11. Ejemplo de presentación en el mercado de metiltestosterona (Recuperado el 12 de octubre de 2013 de <http://www.answers.com/topic/tabletas-bucales-de-metiltestosterona#ixzz279y0xYy6>).

c) 19-nortestosterona (NANDROLONA): Es uno de los anabolizantes andrógenos sintéticos más utilizados por los atletas que necesitan potencia y fuerza muscular. Deriva de la testosterona. Una pequeña modificación química hace a la nandrolona más anabolizante que andrógena y explica su abuso en el deporte (Fig. 12). La testosterona tiene un índice anabolizante-andrógeno de 1, mientras que el de nandrolona es de 10, lo cual demuestra sus propiedades anabólicas.

Los atletas utilizan la nandrolona para acelerar el desarrollo muscular e incrementar la masa corporal sin grasa, la fuerza y la agresividad, la nandrolona también se utiliza para lograr una recuperación más rápida (Karl, 1991).

Es una de las sustancias más frecuentemente detectadas en los controles antidopaje debido a su larga permanencia en el organismo. Los metabolitos de nandrolona se pueden detectar en la orina durante varios días luego de su ingestión o incluso meses después de la inyección intramuscular (Fig. 13). La eliminación depende mayormente de la dosis y de cada persona. Si el resultado del análisis de nandrolona del jugador es positivo, es muy difícil saber en qué momento la consumió (Flórez, 2008).

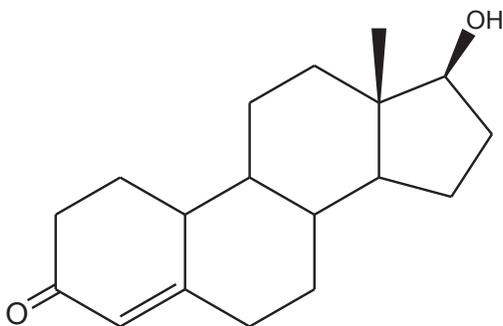


Fig. 12. Estructura química de 19-nortestosterona (Tomada de Flórez, 2008).



Fig. 13. Ejemplo de presentación farmacéutica en el mercado de 19-nortestosterona (Nandrolona) (Recuperado el 12 de octubre de 2013 de <http://esculape2010.wordpress.com/2010/07/08>).

d) Estanozolol o 17 β -hidroxi-17-metilandrostando (3,2-c) pirazol: Es un compuesto heterocíclico utilizado por su efecto anabólico (derivado de dihidrotestosterona) (Fig. 14). Generalmente se administran 2 mg de este producto tres veces al día para su acción anabólica (Flórez, 2008).

Es uno de los anabolizantes más populares, prácticamente no causa retención de líquidos, lo cual permite ganancias sólidas en fuerza y tamaño muscular, no se convierte en estrógenos, con lo que se evita la ginecomastia y la apariencia blanda. Las mejoras son más lentas que con la testosterona, pero también más consistentes y duraderas al dejar de consumirlo. Su principal problema es que resulta hepatotóxico, por lo que se deben utilizar productos para proteger el hígado. Si bien no es muy androgénico, su uso en mujeres puede originar virilización.

Hay dos presentaciones en el mercado: inyectable y oral (Fig. 15), de la primera sus efectos son rápidos y su depuración es rápida por lo que se elimina pronto del organismo; por esa razón se suele administrar tres veces por semana. La presentación oral es muy conocida entre los deportistas por su facilidad de uso y la pequeña cantidad que contienen los comprimidos (2 mg); sin embargo, por esta vía es más tóxico para el hígado. Hasta hace pocos años no había problemas para conseguirlo sin receta, ni siquiera después del escándalo protagonizado por Ben Johnson.

Estructuralmente el estanozolol no es capaz de convertirse en estrógenos, de modo que un antiestrogénico no es necesario cuando se usa. La ginecomastia no es un problema incluso entre los individuos más sensibles (Fig. 16). Es también muy popular entre quienes practican deportes que combinan fuerza y velocidad (Ann, 2003 y Buiarelli, 2001).

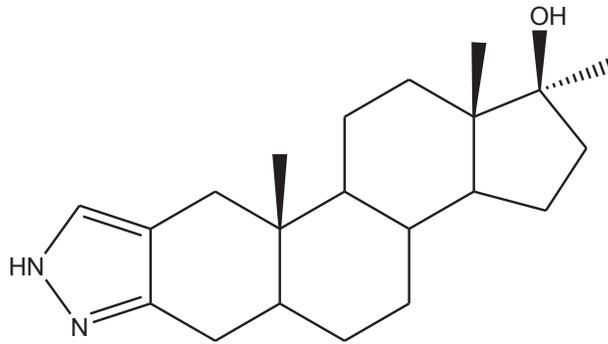


Fig. 14. Estructura química de estanozolol (Tomada de Flórez, 2008).



Fig. 15. Ejemplo de presentación farmacéutica en el mercado de estanozolol (Recuperada el 16 de octubre de 2013 de <http://www.winstroldepot.net/wp-content/uploads/2011/03/winstrol-depot.jpg>).



Fig. 16. Esta es una imagen de los supuestos beneficios que ofrece estanozolol (Recuperada el 16 de octubre de 2013 de <http://esculape2010.wordpress.com/2010/07/08>).

Las razones que los deportistas manifiestan tener para ingerir esteroides son las siguientes: mejoran su apariencia física, les permite resistir mayores cargas de entrenamiento, facilita la recuperación tras la competición o el entrenamiento, aumentan su fuerza, les incrementa la autoestima, se sienten más agresivos así como competitivos, aumenta su libido y no creen que perjudiquen su salud (Muñoz-Guerra, 2008).

1.1.3. Efectos adversos de los EAA.

Como ya vimos cada agente dopante presenta diversos efectos adversos, tanto en hombres como en mujeres puede desarrollarse hipertensión, arterioesclerosis, acné, desgarramiento de tendón (por que el musculo crece y se alarga demasiado para ser soportado por el tendón), acromegalia y trombosis (Betts, 2007). De forma general en la tabla 2 se enlistan los principales efectos adversos de estas sustancias.

Tabla 2. Principales efectos adversos de los EAA, los cuales podemos dividir en 4 categorías: en hígado, en sistema reproductivo, sistema cardiovascular y alteraciones psiquiátricas (Adaptada de Ferrán, 2011).

EFECTOS ADVERSOS DE EAA	
Hepáticos	Alteración de las pruebas de funcionamiento hepático (Lactato deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa), ictericia por acumulación de bilis en lobulillos hepáticos, hepatomegalia, cirrosis y carcinoma hepático.
Sistema reproductivo	Supresión del sistema de retroalimentación negativo del eje hipotálamo-hipófisis-gónada: Disminución de la secreción de hormona luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH). En varones Oligospermia severa, morfología espermática anormal, atrofia testicular y feminización (ginecomastia). En mujeres se puede presentar hirsutismo, acné, engrosamiento de la voz, alteraciones menstruales, amenorrea secundaria, hipertrofia de clítoris y disminución de tamaño de glándula mamaria. En adolescentes: cierre epifisiario prematuro (talla baja).
Cardiovasculares	Alteración en las concentraciones de lípidos en sangre, elevación en la presión arterial (retención de líquidos), isquemia y falla cardíaca súbita.
Psiquiátricas	Paranoia, delirio, manía, tendencia homicida, depresión, ansiedad, hostilidad, agresión y dependencia.

En adición a lo anterior con la administración de EAA surge la necesidad entre personas que abusan de su consumo de utilizar otras sustancias para paliar sus efectos tóxicos o incluso para reforzar los efectos anabólicos. Hasta un 86% de las personas que reconocen haber consumido EAA utilizan algunos otros fármacos, bien para obtener un efecto sinérgico o para mitigar alguno de sus efectos secundarios, esta polifarmacia se suele denominar “array” en el argot inglés (en el **anexo I** se puede encontrar mayor información en el apartado de modo de uso y eficacia de estas sustancias) (Mataix, 2012 y Gorostiaga, 2005).

1.2. OTROS AGENTES ANABÓLICOS.

A pesar de que los EAA siguen siendo los fármacos más utilizados con el fin de aumentar la masa muscular, se ha detectado un aumento en la utilización de estos otros fármacos anabolizantes que incluyen sustancias con varios modos de acción los cuales incluyen pero no se limitan a: clenbuterol, moduladores selectivos de los receptores de andrógenos (SARMs), tibolona (livial), zeranol y zilpaterol, algunos de los cuales se describen a continuación ([World Anti-Doping Agency, 2014](#)).

1.2.1. Clenbuterol (4-amino- α -[tert-butilamino]metil]-3,5-diclorobenzil alcohol). Es un agonista de receptores β_2 -adrenergicos, se administra como broncodilatador para el tratamiento de enfermedades respiratorias; asma bronquial y como agente tocolítico (obstetricia, parto). También está disponible como fármaco de uso veterinario e incluso de forma ilegal en internet y otros mercados ilícitos. Es ligeramente polar, caracterizado por un amplio tiempo de vida media en plasma y un rango de excreción urinaria relativamente lenta. La fracción sin modificar de esta sustancia que se excreta en orina oscila entre 35 y 85%, lo que hace apropiada la detección de su administración en análisis de orina. Los niveles de clenbuterol en orina, después de su administración oral a dosis terapéuticas es generalmente mayor de 10 μ g/L, sin embargo, en el caso de dopaje, principalmente en la evaluación durante competición es necesario alcanzar una sensibilidad alta en los métodos de detección (que tenga la capacidad de identificar la sustancia problema a nivel de trazas).

El clenbuterol es usado indebidamente por algunos atletas, debido a sus "efectos de reparticionar", definida como el aumento de masa muscular y la disminución concomitante de la deposición de grasa. La WADA solicita que los Laboratorios acreditados deberán de detectar por lo menos 200 pg/mL ([Buiarelli, 2001 y Mataix, 2012](#)). Tiene ciertas propiedades que lo convirtieron en una sustancia atractiva para los deportistas. Por un lado, parecía inducir ganancias en fuerza y tamaño sin la típica retención de líquidos, lo cual se confirmó en experimentos con animales. Además de esta acción anabólica se le atribuían otras anti-catabólicas: reducir la cantidad de proteína degradada y evitar la destrucción de músculo por parte del cortisol. Sin embargo, los beneficios en seres humanos no son tan grandes como se esperaba (aunque sí en algunos animales).

Por último, como termogénico (producción de calor a partir de las reservas de lípidos) es más efectiva y permite quemar más grasa debido al aumento de la temperatura corporal. Algunos deportistas combinan el clenbuterol con hormonas tiroideas como T₃ para aumentar su acción (principalmente por que T₃ incrementa la lipólisis de tejido adiposo), pero también se incrementa la posibilidad de problemas de salud (Flórez, 2008).

Al no ser un producto hormonal no tiene los efectos adversos de los esteroides, pero sí los suyos propios: nerviosismo, ansiedad, palpitaciones, taquicardia, temblores, dolor de cabeza, sudor excesivo, hipertensión arterial. Suelen desaparecer al dejar de tomarlo, pero pueden agravarse si se utiliza de forma prolongada.

En cuanto a la administración, los deportistas suelen comenzar con una dosis baja, de un comprimido diario, y luego suben progresivamente hasta cinco o más al día. A comienzos de los noventa se puso de moda un método de administración muy sensato, que consistía en tomar dos comprimidos diarios durante dos días y descansar otros dos, con el objetivo de minimizar los efectos secundarios, y para no saturar los receptores y evitar así la pérdida de efectividad. De todas formas, comparando sus beneficios con los posibles daños, su eficacia no es mejor que la de los esteroides (Amendola, 2002).

1.2.2. Moduladores selectivos de los receptores de andrógenos (SARMs).

Los andrógenos no esteroides, conocidos como Moduladores Selectivos de los Receptores de Andrógenos (SARMs), se desarrollan con la finalidad de que actúen de manera selectiva ofreciendo los beneficios de los esteroides anabólicos androgénicos pero evitando los efectos adversos. Los SARMs se unen a los Receptores de Andrógenos con mejores características farmacocinéticas, alta especificidad por receptores de andrógenos, mejor biodisponibilidad y actividades farmacológicas tejido selectivas, muestran aplicaciones clínicas en osteoporosis, osteopenia, sarcopenia en hombres de edad avanzada y mujeres mayores con menopausia, atrofia muscular, la anticoncepción masculina y enfermedades de la próstata. Presentan perfiles farmacológicos relacionados con potente actividad anabólica en músculo esquelético y hueso, así como actividad parcial agonista en la próstata. La disponibilidad de un SARM perfecto todavía está muy lejos y no se han incorporado al mercado hasta la fecha. Desde 2008 WADA ha prohibido los SARMs y los ha categorizado como agentes anabólicos (Mataix, 2012).

El **7 α -metil-19-nortestosterona** (MENT) puede ser considerado el primer SARM ya que prescinde de algunos de los efectos adversos más importantes que tienen los suplementos de testosterona. Su biopotencia por molécula es mucho mayor que la de la testosterona (aproximadamente 10 veces mayor), no experimenta una reducción a 5 α , pero retiene su capacidad de ser aromatizado a estrógenos. Tiene propiedades antigonaotróficas y efectos anabólicos en los músculos. (Kumar, 1999).

1.2.3. Tibolona.

Es un esteroide estructuralmente relacionado con derivados de la 19-nortestosterona, presenta una triple actividad hormonal; estrogénica, androgénica y progestagénica. Es un esteroide con actividad tejido selectivo (su actividad dependerá del tipo de interacción que tenga con sus receptores en determinado tejido). Después de su administración oral, se metaboliza rápidamente en el intestino y el hígado a dos metabolitos estrogénicos (3 α -OH-tibolona y 3 β -OH-tibolona) y un tercer metabolito, la δ 4-tibolona, la cual tiene actividad progestágena y andrógena, por lo tanto la acción de tibolona dependerá no sólo de su interacción con el receptor esteroideo, sino también de la interacción de cada uno de los metabolitos con los receptores a los que se une y lo que es más importante, ya que la tibolona puede ser metabolizada a nivel del órgano diana, su acción en cada tejido dependerá del metabolismo local y/o del metabolito predominante en ese tejido lo que dará lugar a una respuesta tisular específica que determinara a su vez una respuesta clínica específica. En ratas macho castradas se aprecia actividad andrógena un poco menos potente que la de metiltestosterona, en tejido óseo incrementa la densidad mineral trabecular y cortical e inhibe la reabsorción de hueso manteniendo la masa ósea, estimula también la producción endógena de opioides como las β -endorfinas reduciendo la ansiedad y el insomnio, favorece la libido como parte de sus características androgénicas (Palacios, 2001, Bhattacharya, 2007 y Ortiz, 2009).

1.3. HORMONAS PEPTÍDICAS, FACTORES DE CRECIMIENTO Y SUSTANCIAS AFINES.

Las hormonas peptídicas son, en la actualidad, uno de los objetivos prioritarios en la investigación del dopaje. Tienen efectos anabólicos, en general; por ejemplo, la hormona del crecimiento es una sustancia que regula importantes funciones orgánicas de construcción de tejidos. La gonadotropina coriónica humana (hCG) y la hormona luteinizante (LH) son gonadotropinas que estimulan la síntesis de testosterona. La eritropoyetina (EPO, bien conocida por su uso en el ciclismo) aumenta el número de glóbulos rojos, con todo lo que esto supone: mejor oxigenación y más resistencia, con riesgo de problemas cardiovasculares. Al ser hormonas segregadas por el organismo, hay que superar cierto nivel para dar positivo en un control antidopaje (Rodríguez, 1991).

A continuación se hace una breve descripción de estas sustancias.

1.3.1. Agentes estimulantes de la eritropoyesis (ESA: por sus siglas en inglés *erythropoiesis-stimulating agent*).

Son agentes similares a la eritropoyetina, tanto en la estructura química como en los procesos biológicos en que participan, en el presente apartado se hará referencia principalmente a eritropoyetina pero en el **anexo II** se mencionan algunas generalidades de otros agentes estimulantes de la eritropoyesis.

1.3.1.1. Generalidades sobre eritropoyetina (EPO).

La eritropoyetina natural (EPO) (ESA natural), es una hormona que se sintetiza principalmente en el riñón (90%) y el resto en el hígado, tiene un peso molecular de 30,000 Daltons. La constituye una cadena de 165 a.a. con 4 cadenas laterales de oligosacáridos. Circula a una concentración de aproximadamente 5pmol/L. Estimula la producción de glóbulos rojos, encargados de transportar el oxígeno a todas las células del cuerpo. Estos cambios aumentan el aporte de oxígeno a los tejidos, pudiendo mejorarse la capacidad para realizar ejercicio aeróbico mantenido, que depende del aporte y utilización del oxígeno en los músculos.

En la actualidad también se encuentra disponible en cantidades ilimitadas al obtenerse mediante ingeniería genética [darbepoyetina (dEPO)].

El mayor estímulo para su producción lo constituye la hipoxemia, a partir de un sensor situado en el túbulo proximal del riñón, estimulando las células progenitoras de los eritrocitos, dando lugar a un aumento del hematocrito y la hemoglobina.

La EPO, al incrementar el número de hematíes y la oxigenación muscular, es capaz de aumentar el rendimiento en ciertos deportes de resistencia, como el ciclismo profesional y el esquí de fondo. Se cree que puede ayudar a reducir el esfuerzo fisiológico durante el ejercicio e incluso acelerar la recuperación tras el entrenamiento.

A pesar de que las concentraciones de EPO regresan a la normalidad a la semana de la última dosis administrada, sus efectos se mantienen, dado que el incremento en la vida media de los hematíes que logra la EPO se mantiene durante 3 ó 4 meses después de haberla retirado.

Actualmente, con más frecuencia se recurre a la administración de eritropoyetina recombinante humana (rHuEpo: el gen que codifica la proteína ha sido objeto de clonación y se ha expresado a un nivel muy alto en un sistema de células de mamífero, existen la de tipo alfa, beta, CERA y Darbepoyetina, en el **anexo II** se proporciona mayor información sobre estas sustancias), las recombinantes se diferencian de la endógena en el número de cadenas glucídicas unidas a la estructura proteica. Todo ello hace que el peso molecular de dichas moléculas, así como su carga eléctrica, sea diferente a los de la eritropoyetina endógena y sea posible su diferenciación por técnicas electroforéticas (Muñoz-Guerra, 2008).

Por otra parte el desarrollo de estas recombinantes ha permitido evitar el riesgo de infección y el inconveniente del almacenamiento que requiere el dopaje sanguíneo. Su administración ha demostrado ser eficaz para aumentar la concentración de hemoglobina (Hb), el consumo máximo de oxígeno (VO_2 máx) y la capacidad de trabajo físico (Laudó, 2006).

1.3.1.2. Efectos adversos de EPO.

La mayoría de los efectos secundarios están en relación con un aumento de la viscosidad sanguínea secundaria a la elevación del hematocrito, incluyendo cuadros trombóticos, convulsiones e hipertensión. Se ha sugerido que el uso inadecuado de la eritropoyetina dio lugar a las muertes misteriosas que se presentaron en competencias ciclistas entre 1987 y 1990 (Barrientos, 2001).

En deportistas de resistencia se pueden dar problemas de hemoconcentración debida a la presencia de deshidratación asociada al ejercicio prolongado o a los cambios de volumen plasmático posturalmente inducidos.

También pueden influir otros factores, como la presencia de una gran variabilidad interindividual en la respuesta al fármaco y la persistencia del estímulo en la médula ósea varios días después de la última administración, pudiendo seguir aumentando peligrosamente la viscosidad sanguínea.

Actualmente, para evitar problemas en las recogidas de muestras de sangre, se tiende a proceder a extracciones al principio de la mañana y no inmediatamente después del ejercicio, para evitar la posibilidad de elevaciones del hematocrito producidas por un cuadro de deshidratación aguda.

Probablemente, durante los próximos años se asista a la aparición de problemas relacionados con el dopaje sanguíneo como un incremento en la aparición de casos de sobrecarga de hierro, eritrocitosis de origen desconocido, anemias inexplicadas, complicaciones tromboembólicas atípicas, etc. (Laudó, 2006).

1.3.2. Gonadotropina coriónica (hCG) y hormona luteinizante (LH) prohibidas solo para hombres.

La hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) es una glicoproteína producida principalmente por el tejido placentario, esta formada por dos cadenas alfa y beta con un peso molecular de 36,700 Daltons, vale la pena mencionar que su subunidad o cadena alfa (14,500 Daltons y 92 aminoácidos) es igual a la de otras hormonas del mismo género de origen glicoproteico como son la LH, FSH, y TSH, mientras que su subunidad o cadena beta (22,200 Daltons y 145 aminoácidos) es específica de esta hormona ya que contiene 30 aminoácidos adicionales en la secuencia de su carboxilo terminal, ricos en prolina, es la que determina la especificidad de interacción con el receptor y su actividad biológica. (Saavedra, 2004).

La hormona Luteinizante (LH) es una hormona gonadotrópica de naturaleza glicoproteica que es producida por el lóbulo anterior de la hipófisis. Su acción en varones es estimular la secreción de testosterona por parte de los testículos.

1.3.2.1. Generalidades.

En 1966, Wilson y Lipsett observaron que la administración de gonadotropina coriónica humana (hCG) era la responsable de la estimulación testicular en la producción de testosterona y de epitestosterona.

Por ello, en 1990 el Comité Olímpico Internacional (COI) la introdujo en la lista de agentes dopantes, al considerarla equivalente, por dicha acción, a la administración exógena de testosterona.

El mecanismo de estimulación en la producción de esteroides andrógenos se produce a través de la unión tanto de la hormona Gonadotropina Coriónica como de la misma Hormona Luteinizante a los receptores para gonadotropinas en las células de Leydig en los testículos, estimulando la producción de testosterona, sus precursores y sus derivados (estrógenos). De esta acción se deriva el uso de estas hormonas en la práctica deportiva (Rodríguez, 1991 y Laudo, 2006).

1.3.2.2. Efectos adversos.

Se han señalado aparición de acné, aumento de la libido, aparición de náuseas y a largo plazo cambios en la distribución de la grasa corporal con ginecomastia y posibilidad de efectos cancerígenos (Barbany, 1990).

1.3.3. Corticotropina.

La hormona adrenocorticotropa (ACTH) es secretada por el lóbulo anterior de la hipófisis. Su función específica es estimular en la corteza suprarrenal la secreción de glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos débiles como androstenediona y dehidroepiandrosterona, que pueden convertirse en la periferia en andrógenos más potentes.

1.3.3.1. Generalidades.

La ACTH, también llamada corticotropina, es una molécula de proteína compleja que contiene 39 aminoácidos. La hormona adrenocorticotropa se absorbe con facilidad a partir de sitios parenterales y desaparece con rapidez de la circulación después de administración por vía intravenosa; en seres humanos, la vida media en plasma es de unos 15 minutos, principalmente debido a hidrólisis enzimática rápida.

De forma general los atletas utilizan la corticotropina (ACTH) para incrementar los niveles de glucocorticoides endógenos en la sangre favoreciendo el rendimiento atlético

por que podrían alterar el humor (efecto euforizante) y el rendimiento máximo (Skoluda, 2012).

1.3.3.2. Efectos adversos.

Las concentraciones persistentemente altas de Corticotropina, por administración repetida de dosis grandes de la misma, inducen hiperplasia e hipertrofia de las zonas internas de la corteza suprarrenal, con producción excesiva de cortisol y andrógenos suprarrenales (Skoluda, 2012).

1.3.4. Hormona de crecimiento (GH).

1.3.4.1. Generalidades.

Es una hormona polipeptídica secretada por la hipófisis y su secreción o inhibición es regulada por estímulo de dos factores hipotalámicos, la hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH) y la somatostatina (SST), respectivamente, así como por el factor de crecimiento tipo 1 similar a insulina (IGF-1), producido por acción de la misma hormona del crecimiento ya que causa inhibición por retroalimentación negativa, siendo este factor de crecimiento similar a insulina (IGF-1) el principal mediador de los efectos de la Hormona del crecimiento sobre los tejidos periféricos (Fig. 17) (Goodman, 2007).

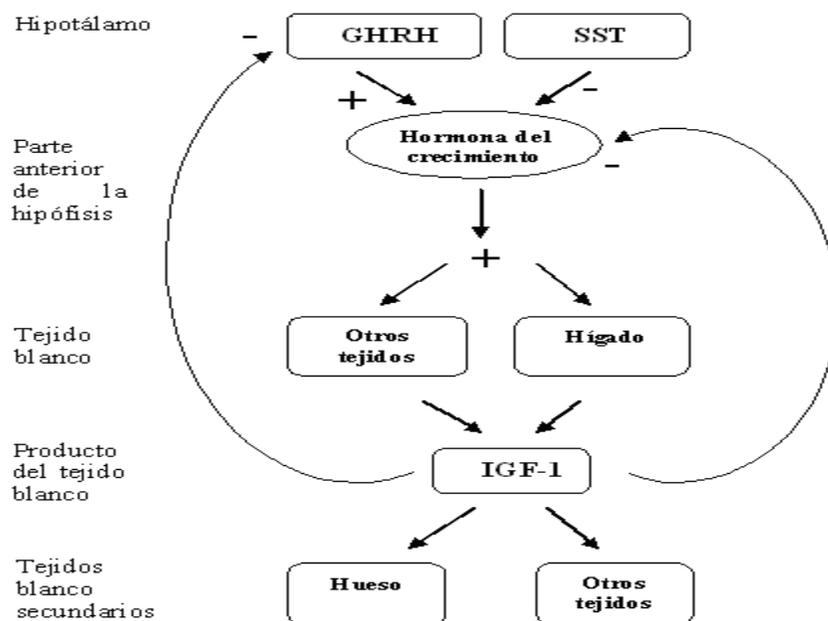


Fig. 17. Esquema de la regulación negativa ejercida por IGF-1 sobre la liberación de la hormona de crecimiento (Tomado de Goodman, 2007).

La cadena polipeptídica de GH de hipófisis (endógena) esta formada por 191 a.a. con un peso molecular de 22KDa y como consecuencia de modificaciones postraslacionales se generan una serie de isoformas de 22KDa. La composición aproximada de GH liberada tras un pulso es: 45% de la forma monomérica de 22 KDa, 20% de una forma dimérica de 22KDa, 8% de un monómero de 20KDa, 7% de un dímero de 20 KDa y un 15% de diferentes oligómeros. Solamente la isoforma de 22KDa es activa el resto tiene una bioactividad muy baja o nula. La isoforma de 22KDa tiene una vida media en plasma de 10 a 20 minutos tras la secreción o administración. Es utilizada por atletas debido a la creencia de que provee los efectos benéficos de los EAA sin sus efectos adversos y por su dificultad en la detección durante el análisis antidopaje. Su consumo ha aumentado desde que se dispone de Hormona del Crecimiento sintética. Los efectos propuestos, pero no totalmente probados de la hormona de crecimiento incluyen: incremento de la masa muscular, acortamiento del período de recuperación entre sesiones de ejercitamiento, la reducción del peso graso, incremento en la estatura en los jóvenes y mejor desarrollo del ejercicio en general. (Barrientos, 2001 y Laudo, 2006).

1.3.4.2. Efectos adversos.

Incremento del tamaño de los huesos faciales (acromegalia, Fig. 18), enfermedad cardiovascular, situaciones de hiperglucemia, diabetes mellitus, coma hiperglucémico, hipotiroidismo, hipertensión arterial, notable hipertrofia muscular, no siempre acompañada de aumento de la fuerza muscular con posibilidad de lesiones ligamentarias y tendinosas (debilidad muscular) y neuropatía periférica, estos efectos colaterales son generalmente irreversibles (Barrientos, 2001).

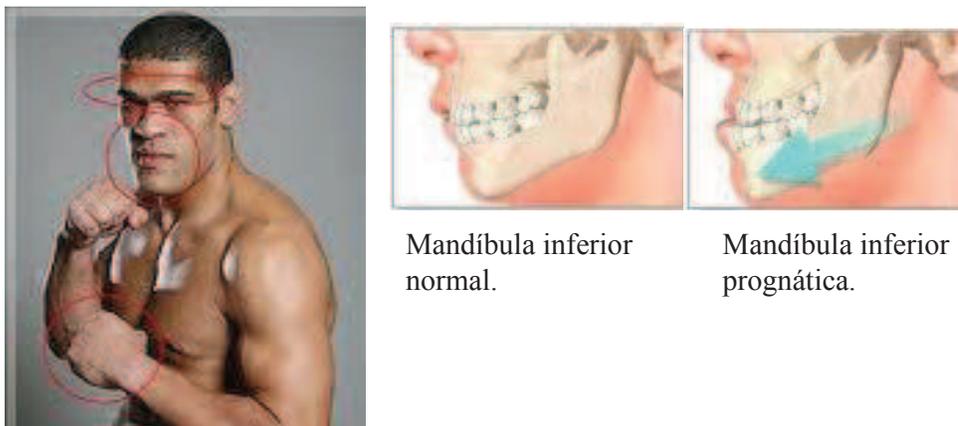


Fig.18. Ejemplo de acromegalia por crecimiento de huesos principalmente a nivel facial. (Recuperado el 02 de mayo de 2014 de http://t1.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcR4tmJS4ujPhin6OL2XQ_c_9Zp38ctXQmXWt3aBK4Ryz).

Otro problema potencial del empleo de la hormona exógena es el desarrollo de anticuerpos contra la hormona de crecimiento que podrían interferir con la actividad de la hormona endógena y causar un déficit relativo de la misma. Finalmente, se deben tener en cuenta posibles problemas derivados del origen de la hormona ya que en algunos casos los atletas recurren al mercado negro para obtenerla, pudiendo ser de origen equino con lo cual es posible que se desarrollen enfermedades alérgicas con riesgo de shock anafiláctico que derive en la muerte del usuario y con la utilización de preparados de hormona de crecimiento obtenidos a partir de cadáveres pudiera transmitirse hepatitis, sida e incluso la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (Laudo, 2006 y Widdowson, 2009).

1.3.5. Factor de crecimiento tipo 1 similar a insulina (IGF-1).

El factor de crecimiento tipo 1 similar a insulina (insulin like growth factor-1) es un polipéptido que forma parte de un grupo de factores de crecimiento parecidos a insulina. La hormona de crecimiento es la encargada de activar la secreción de IGF-1 en el hígado. Entre los beneficios, por así decirlo, que obtienen los atletas se encuentra el incremento en el rendimiento físico, mental, además la estimulación del crecimiento de hueso y músculo. El IGF-1 no actúa de la misma manera sobre todos los tejidos debido a que posee un gran número de moléculas blanco. Por ejemplo, en las células musculares estimula la producción de proteínas y otros componentes celulares, mientras que en los tejidos adiposos potencia el uso de la grasa como fuente de energía. En otros tejidos, ya que su estructura se asemeja en un 50% a la insulina el IGF-1 inhibe la transferencia de glucosa a través de la membrana celular por parte de la insulina y como consecuencia, las células se ven obligadas a emplear las grasas para obtener energía. Debido a que el IGF-1 no es fácil de producir, ya que está formado por una cadena de 70 aminoácidos, su costo de producción es sumamente alto, por lo tanto, su costo en el mercado es elevado; para darse una idea, una ampollita de 50 mL del péptido cuesta alrededor de 600 a 800 dólares. Y tal vez este precio elevado haya salvado a muchos atletas del peligro de una sobredosis ya que puede desencadenar una disminución de los niveles de azúcar, parálisis facial, edema cerebral y llegar a producir cáncer (Scarfó, 2008).

1.3.6. Factores de crecimiento o GF (de *growth factor*).

Son un conjunto de sustancias, la mayoría de naturaleza proteica que junto con las hormonas y los neurotransmisores desempeñan una importante función en la comunicación intercelular. El término "Factores de Crecimiento" se refiere a sustancias especializadas (mensajero químico) capaces de estimular el crecimiento y diferenciación celular, regulando de esta manera, una gran variedad de procesos celulares de cicatrización, curación y reparación de tejidos del cuerpo lesionados, como pueden ser: huesos, tendones, piel, pelo, nervios, vasos sanguíneos y diferentes partes de los órganos internos (*Microsoft® Encarta® 2006*).

La función de los factores de crecimiento no sólo es la de estimular la proliferación celular mediante la regulación del ciclo celular iniciando la mitosis, sino también el mantener la supervivencia celular, estimular la migración celular, la diferenciación celular e incluso la apoptosis.

Actúan uniéndose a receptores celulares situados en la membrana celular que transmiten la señal del exterior al interior de la célula, mediante el acoplamiento de diferentes proteína quinasas que se fosforilan y que activan una cascada de señales que acaba con la activación de uno o varios genes (transducción de señales).

Mediante estudios con cultivos celulares se descubrió que los factores de crecimiento son transportados por el suero. Son producidos por gran número de células y los requerimientos son muy variables entre diferentes células (*Recuperado el 24 de septiembre de 2013 de <http://es.wikipedia.org/w/index.php?>*).

Algunos ejemplos de factores de crecimiento son los siguientes:

1.3.6.1. Factores de crecimiento plaquetario.

Las plaquetas son células sin núcleo que viajan en cantidades muy significativas en la sangre. Cumplen una función primordial de agregación en el momento de un sangrado, como inicio de la cascada de la coagulación. Pero una vez han cumplido su trabajo de taponamiento, liberan gránulos repletos de factores de crecimiento que se encargan de iniciar el proceso de cicatrización y de inmunidad en forma inmediata. Esto significa que no solamente ayudan al control del sangrado, sino que son cruciales en el proceso de cicatrización. Están además en todo el cuerpo y son fácilmente manipulables con procesos mínimos de laboratorio.

La principal causa de cronicidad en una lesión tendinosa es la dificultad de cicatrización por hipovascularidad. El uso de concentrados plaquetarios en lesiones tendinosas crónicas permite una mejor y más rápida cicatrización, a través de una migración y diferenciación de fibroblastos generadores de colágeno. Su utilización en medicina del deporte permite una mejor y más rápida recuperación en casos de Epicondilitis Crónica (codo de tenista), Fasciitis Plantar o Tendinitis Rotuliana. Esta aplicación de factores de crecimiento tiene mejores resultados al ser asociada al uso de ultrasonido focalizado de alta energía (ondas de choque). El uso de factores de crecimiento autólogo como adyuvante biológico en cirugías de tendinopatías crónicas ha demostrado también un claro beneficio. El uso de Factores de crecimiento autólogo en el sistema musculoesquelético se ha desarrollado como respuesta a la dificultad de cicatrización en ciertas lesiones ortopédicas y en tejidos de difícil cicatrización como el hueso, el tendón, el ligamento, el cartílago o el músculo (Devlin, 2004).

1.3.6.2. Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF, por *fibroblast growth factor*). Es un factor de crecimiento que aumenta el índice de actividad mitótica y síntesis de ADN, facilitando la proliferación de varias células precursoras, como el condroblasto, colagenoblasto, osteoblasto, etc., que forman el tejido fibroso, de unión y soporte del cuerpo. Los FGF contribuyen a diferentes tipos de respuestas, como la cicatrización de heridas, la hematopoyesis, la angiogénesis o el desarrollo embrionario.

1.3.6.3. Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF).

Es un factor de crecimiento que tiene capacidad mitogénica sobre los hepatocitos y la mayor parte de las células epiteliales, promueve la migración celular y mejora la supervivencia de los hepatocitos. Se produce en forma inactiva como una cadena única (pro-HGF) por fibroblastos, células del mesénquima, células endoteliales y células del hígado (excepto parénquima). La forma inactiva es activada por serina proteasas liberadas en los tejidos dañados.

1.3.6.4. Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, por *vascular endothelial growth factor*). Es una proteína implicada en la vasculogénesis (formación *de novo* del sistema circulatorio embrionario) y en la angiogénesis (crecimiento de vasos sanguíneos provenientes de vasos preexistentes). Como su propio nombre indica,

las acciones del VEGF han sido estudiadas en las células del endotelio vascular, aunque también tiene efectos sobre otros tipos celulares (por ejemplo, estimula la migración de monocitos/macrófagos, neuronas, células epiteliales renales y células tumorales). *In vitro*, se ha demostrado que el VEGF estimula la división y la migración de células endoteliales. El VEGF es un vasodilatador e incrementa la permeabilidad vascular; originalmente recibía el nombre de factor de permeabilidad vascular (*vascular permeability factor*), también promueve angiogénesis en los procesos de inflamación crónica, cicatrización y en tumores.

Cuando la célula está en condiciones de hipoxia, HIF1 α persiste y el complejo HIF1 α / β estimula la liberación de VEGF (en el **anexo II** se explica en que consiste el HIF 1 o factor de transcripción inducido por hipoxia).

Por lo antes expuesto es evidente que los motivos por los cuales el atleta utiliza este tipo de sustancias se relacionan con la necesidad de contar con una mejor cicatrización y recuperación en eventos traumáticos y tener mayor fortaleza en estructuras del organismo que tienen gran desgaste mecánico (ligamentos, tendones y articulaciones) (Flórez, 2008). Por otra parte, poco se sabe sobre los posibles efectos adversos que de su abuso deriven, no obstante todos ellos están relacionados con el desarrollo de tumores y diversos tipos de cáncer (incluyendo seno, cerebro, pulmones e hígado) (Loureiro, 2005).

1.4. AGONISTAS DE RECEPTORES BETA₂ ADRENERGICOS.

Todos los agonistas β_2 (incluyendo isómeros ópticos *l* y *d* cuando corresponda) están prohibidos excepto salbutamol por inhalación (máximo 1600 microgramos durante 24 horas), formoterol (máximo 36 microgramos durante 24 horas) y salmeterol administrado por inhalación de acuerdo con las recomendaciones terapéuticas del fabricante.

La presencia en orina de salbutamol mayor a 1000 ng/mL o formoterol excediendo 40 ng/mL es presuntivo de uso intencional sin fines terapéuticos y se puede considerar como un hallazgo analítico adverso a menos que el atleta demuestre, a través de un estudio farmacocinético controlado, que el resultado anormal fue a consecuencia del uso de una dosis terapéutica que al inhalarse supero el máximo indicado anteriormente (World Anti-Doping Agency 2014).

1.4.1. Generalidades.

Las catecolaminas; noradrenalina, secretada por el Sistema Nervioso simpático y adrenalina, secretada en la médula suprarrenal actúan como neurotransmisores activando de forma específica receptores adrenérgicos. A los fármacos que actúan de forma similar se les denomina agonistas, la mayor parte de estos son análogos estructurales de adrenalina y noradrenalina, diseñados con la finalidad de hacerlos útiles en el tratamiento de diversas enfermedades; mejorando su biodisponibilidad al administrarse por vía oral, prolongando su acción y siendo específicos para algún subtipo particular de receptor adrenérgico, el receptor β_2 -adrenérgico es más sensible a adrenalina que a noradrenalina.

Participan particularmente para integrar las reacciones a diversos tipos de estrés o tensión, que de otra manera pondrían en peligro los mecanismos homeostáticos.

Los agonistas β_2 -adrenérgicos, son utilizados por deportistas para conseguir efectos estimulantes (aumento de la frecuencia cardíaca y acción bronco dilatadora potente que aumenta la capacidad respiratoria y la oxigenación muscular) después de su administración a dosis muy superiores a las prescritas para el tratamiento del asma. También la activación de receptores β_2 -adrenérgicos intensifica la secreción de insulina y glucagón en el páncreas, así como la glucogenólisis y la lipólisis (Goodman, 2007). Los receptores β_2 -adrenérgicos se encuentran presentes principalmente en músculo liso (músculo liso de los vasos sanguíneos que riegan al músculo estriado, músculo liso

bronquial, gastrointestinal y genitourinaria), así como en musculo estriado e hígado (Betts, 2007).

1.4.2. Efectos adversos.

Sus principales efectos adversos, son que a dosis altas pierden selectividad y estimulan receptores β_1 -adrenergicos del corazón generando taquicardia, hipertensión, angina de pecho y estimulan receptores β_2 -adrenergicos del musculo estriado ocasionando temblor. También provocan sensaciones de inquietud, aprensión, ansiedad, insomnio, nauseas, fatiga y somnolencia (Goodman, 2007).

1.5. MODULADORES HORMONALES Y METABÓLICOS.

De la lista de sustancias prohibidas estipulada por WADA, se describen los siguientes:

1.5.1. Inhibidores de aromatasa.

La enzima aromatasa es la encargada de catalizar la conversión de andrógenos; androstenediona y testosterona, a estrógenos (estrón y estradiol, respectivamente) y los fármacos inhibidores de aromatasa evitan la formación de estrógenos, en el área clínica son utilizados para el tratamiento de cáncer de seno. Los atletas hacen uso de ellos para evitar los efectos adversos de la aromatización de Esteroides Anabólicos Androgénicos. Los efectos adversos a dosis terapéuticas incluyen (pero no se limitan) astenia, dolor de cabeza, nausea, fatiga, vomito y dispepsia.

No deben administrarse en combinación con tamoxifeno o Moduladores Selectivos del Receptor de Estrógenos, ya que causaría severos efectos endocrinológicos (Numazawa, 2005).

1.5.2. Moduladores selectivos de receptores de estrógenos (SERMs).

Son fármacos diseñados para actuar como inhibidores competitivos de la unión de estrógenos a sus receptores, previniendo la acción de la hormona (ginecomastia). Se han diseñado para producir los beneficios de los estrógenos sin aumentar sus riesgos. Actúan como el estrógeno en algunos tejidos pero se comportan como antiestrógenos en otros, el mecanismo preciso de esta selectividad es aún desconocida. Incluyen el tamoxifeno, raloxifeno y droloxifeno (Martínez, 2009 y Goodman, 2007). Uno de los beneficios bien conocidos del raloxifeno es que ejerce efectos proestrogénicos en el hueso y el corazón, como resultado se tiene huesos más fuertes. El droloxifeno es un SERM que también parece proteger contra la pérdida ósea (Martínez, 2009 y <http://cancerquest.emory.edu/index.cfm>, recuperado el 27 de septiembre de 2013).

La evolución de las técnicas analíticas ha conducido a los atletas a utilizar estrategias indirectas para evadir la identificación directa de andrógenos durante las pruebas de dopaje, tal es el caso de la estimulación indirecta de la secreción de Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) utilizando SERM que se unen competitivamente a los receptores de estrógenos en el hipotálamo y la pituitaria bloqueando la inhibición de la secreción de GnRH (controla la liberación de Hormona Luteinizante que a su vez estimula la producción de testosterona) que se da durante la retroalimentación negativa cuando hay un exceso de esteroides en circulación.

Los atletas utilizan SERM por dos principales razones: para incrementar los niveles de testosterona endógena, con el propósito de pasar las evaluaciones antidopaje para andrógenos sintéticos inclusive para testosterona administrada de manera exógena y para balancear los efectos adversos del abuso de esteroides anabólicos andrógenos (Rodríguez, 1991).

Los principales efectos adversos de los SERM incluyen: Coágulos venosos que generan trombosis venosas y posible embolia pulmonar. Desde el año 2005, los SERM están incluidos en esta lista. Se conoce poco acerca del efecto de la administración de SERM sobre el desempeño deportivo y su posible interacción con la fluctuación de hormonas endógenas que se pretende utilizar como marcadores de un perfil atípico de esteroides en orina en el campo de las evaluaciones antidopaje (Mazzarino, 2011).

1.5.3. Otras sustancias antiestrogénicas.

Durante algún tiempo los investigadores han visto que diversos compuestos hormonales, por ejemplo, glucocorticoides, andrógenos y progestágenos, así como los estrógenos de potencia baja, podrían oponerse a algunas acciones de estrógenos (p. e. estradiol).

Algunos ejemplos se refieren a continuación:

Se han venido sintetizando diversas moléculas que sean útiles para contrarrestar los efectos de los estrógenos, como los que se han descrito con anterioridad y otras más como el **clomifeno** y **fulvestrant**; del primero se cree que este fármaco actúa a nivel hipofisiario para bloquear los efectos inhibidores de los estrógenos sobre la liberación de gonadotropina, o de alguna manera hace que el hipotálamo libere cantidades mayores de gonadotropina, con la finalidad de incrementar la producción endógena de Esteroides Anabólicos Androgénicos (Goodman, 2007).

Fulvestrant, se describe como un desregulador del receptor estrogénico (desregulador de RE). Fulvestrant es un antiestrógeno puro, no agonista que bloquea por completo las acciones tróficas de los estrógenos. Fulvestrant se une con los receptores estrogénicos (RE) en forma competitiva con gran afinidad, comparable a la del estradiol (Ortiz, 2009).

1.5.4. Inhibidores de miostatina.

La Miostatina es también conocida como factor 8 de crecimiento y diferenciación (GDF-8), es miembro de la superfamilia de factores de crecimiento del factor β transformante de crecimiento (TGF- β), es un regulador negativo del desarrollo de musculo esquelético, esta proteína es expresada y secretada por el musculo esquelético, en experimentos realizados en ratones con deficiencia en miostatina se aprecia gran incremento en masa muscular, lo que soporta el rol de miostatina en suprimir el crecimiento muscular.

La inhibición de miostatina por inyección de anticuerpos neutralizantes o antagonistas causa incremento de la masa muscular y por lo tanto los inhibidores de miostatina han generado gran interés en el ámbito deportivo (Argilés, 2012).

1.5.5. Moduladores metabólicos:

a) Insulina.

Es una hormona de naturaleza peptídica producida por las células β pancreáticas. Considerada como una de las hormonas con acción anabólica más importante del organismo, su acción es decisiva para el transporte de nutrientes, como las proteínas o los hidratos de carbono. Actualmente, algunos deportistas, como los culturistas, la están utilizando como sustancia dopante, consumiéndola para disminuir el catabolismo a nivel muscular, previo al evento deportivo o durante las fases de recuperación, promoviendo la síntesis de glucógeno, la glicólisis en músculo y favoreciendo la entrada de glucosa en la célula muscular (Emmie, 2011).

En la actualidad las insulinas que se tienden a emplear son las denominadas humanas, que son químicamente iguales a la del hombre y se obtienen bien de ciertas bacterias y levaduras mediante técnicas de ingeniería genética o bien a partir de la insulina de cerdo, que mediante un proceso químico adecuado se transforma en insulina exacta a la del hombre (Laudó, 2006).

Como la insulina sólo se mantiene activa en la sangre durante períodos cortos (menos de 15 minutos), se han utilizado diversas maneras para retardar su liberación y por ello su acción.

Estos sistemas se basan en preparaciones inyectables que retardan la liberación:

Mediante la unión a otras proteínas (protamina).

Mediante una cristalización: se añade Zinc y como las partículas son más grandes tardan en hacerse solubles, por lo que va liberándose poco a poco.

Dependiendo de cada sistema de retardo de su acción las insulinas pueden ser rápidas, intermedias y lentas.

Todas las insulinas retardadas deben inyectarse vía subcutánea, y sólo la no retardada se puede administrar vía endovenosa. La insulina se destruye en el estómago por eso no puede administrarse vía oral.

Desde 1999, el uso de insulinas en deportistas ha sido prohibido por el Comité Olímpico Internacional y la Agencia Mundial Antidopaje, tanto dentro como fuera de la competición, excepto en atletas con diabetes mellitus insulino dependiente, en cuyo caso, previamente a su consumo, lo certificará por escrito el equipo médico correspondiente o un especialista en endocrinología (Laudo, 2006).

Efectos adversos.

Al consumirla existe riesgo de hipoglucemia que puede conducir a un coma y a ciertos trastornos sobre el metabolismo lipídico. En numerosas ocasiones, los deportistas, para evitar la aparición de hipoglucemias, recurren junto con la administración de insulina, al consumo de alimentos o bebidas con alto contenido glucídico. La utilización de la insulina como sustancia dopante parece haberse extendido notablemente en el ámbito deportivo por ser un compuesto con una vida media muy corta, por lo que desaparece rápidamente del organismo, siendo difícil de detectar, incluso de diferenciarla de la del propio atleta. Recientemente se está procediendo a realizar controles de dopaje para análogos de insulina, mediante espectrofotometría de masa, considerado el sistema de detección más importante (Laudo, 2006).

b) Receptor activado por proliferadores de peroxisomas δ (PPAR δ).

Es un factor de transcripción involucrado en el metabolismo energético, asociado con la formación de fibras tipo I o fibras de contracción lenta en musculo esquelético y puede inducir la conversión a fibras tipo II o fibras de contracción rápida, las cuales son determinantes en la resistencia y la velocidad, respectivamente. Esto es por que las fibras musculares de contracción lenta dependen de la fosforilación oxidativa para producir ATP pudiendo así contraerse por largos periodos. Por otra parte las fibras de contracción rápida dependen de la producción de ATP por glicólisis, lo cual genera energía para una rápida contracción, pero además son susceptibles a la fatiga, y la producción de lactato. Las fibras musculares rápidas producen la misma cantidad de fuerza por cada contracción que los músculos lentos, pero llevan ese nombre porque pueden reaccionar mucho más rápido, lo que las hace mejor para pruebas deportivas explosivas, veloces y enérgicas como lo es la de 100 metros planos. También es probable que PPAR δ tenga participación en el control del peso corporal (Azzazy, 2009 y 2005).

1.6. DIURÉTICOS Y OTROS AGENTES ENMASCARANTES.

El uso dentro o fuera de competición, de cualquier cantidad de una sustancia sujeta a un límite mínimo de detección (por ejemplo: formoterol, salbutamol, morfina, catina, efedrina, metilefedrina y pseudoefedrina) junto con un diurético u otro agente enmascarante, requiere la autorización excepcional para uso terapéutico específico además de la autorización concedida para el diurético u otro agente enmascarante.

1.6.1. Diuréticos: Son sustancias que aumentan la excreción urinaria. En terapéutica son utilizados para ajustar el volumen y/o la composición de los líquidos corporales en caso de hipertensión, insuficiencia renal, síndrome nefrótico y cirrosis.

En deporte se utilizan para obtener una rápida reducción del peso corporal (en deportes con categorías de peso: boxeo, yudo, luchas olímpicas, halterofilia, etc.) y para reducir la concentración de sustancias dopantes o para enmascarar la presencia de otras sustancias consumidas.

Dentro de sus principales efectos adversos están las alteraciones electrolíticas, deshidratación o hemoconcentración, disminución de las proteínas plasmáticas, alteraciones hematológicas, gastrointestinales y arritmias cardíacas (Betts, 2007).

El uso de diuréticos inhibidores de anhidrasa carbónica resulta en alcalinización de orina y consecuentemente la reducción de la excreción de metabolitos básicos de sustancias dopantes (estimulantes, β -bloqueantes, narcóticos, agonistas β_2). Por ello estos fueron de los primeros diuréticos en ser prohibidos durante competiciones atléticas (Juegos Olímpicos de 1988) (Qin, 2003).

1.6.2. Desmopresina: Es un análogo estructural de la hormona natural vasopresina (antidiurético), pero con efecto más duradero. Estimula la reabsorción de agua por las células tubulares del riñón, con lo que se incrementa su contenido en el organismo. Además, produce constricción de los vasos sanguíneos en concentraciones elevadas y aumenta la tensión arterial.

1.6.3. Expansores de plasma: Son polisacáridos modificados que enmascaran los efectos de los diuréticos o del dopaje por dilución sanguínea. Entre sus principales propiedades ideales (en la práctica no se cumplen en su totalidad) deben tener una viscosidad y una presión coloidal y osmótica similares a las de las proteínas

plasmáticas; han de estar constituidas por sustancias que resulten lo menos extrañas posible al organismo; han de ser eliminadas por metabolización y/o excreción; deben permanecer en el plasma un tiempo suficiente largo; no deben producir reacciones alérgicas o pirógenas, ni tener propiedades antigénicas; deben resistir la esterilización y ser suficientemente estables para ser conservadas durante períodos de tiempo prolongados.

Los expansores plasmáticos de los cuales se dispone en la actualidad son los siguientes:

- a) De naturaleza polisacárida: dextranos e hidroxietilalmidón.
- b) De naturaleza proteica: gelatinas.

Desarrollan efectos adversos tales como: respuestas febriles (muchas clases de dextrano pueden actuar como antígenos), infección en el sitio de inyección, trombosis venosa, extravasación e hipervolemia ya que actúan disminuyendo el antígeno relacionado con el factor VIII y la agregación plaquetaria (Botrè, 2008).

1.7. ESTIMULANTES (Prohibidos en competición).

Todos los estimulantes incluyendo ambos isómeros ópticos *l* y *d* de la mezcla racémica, están prohibidos, excepto los derivados de imidazoles para uso tópico y los estimulantes incluidos en el programa de monitoreo 2014 como bupropion, cafeína, nicotina, fenilefrina, fenilpropanolamina, pipradol y sinefrina los cuales no son consideradas como sustancias prohibidas (World Anti-Doping Agency 2014).

1.7.1. Generalidades.

Como su nombre indica, son sustancias que estimulan o producen excitación del sistema nervioso central, por su capacidad para aumentar la vigilia (estado de alerta), producir euforia, dan la sensación de reducir la fatiga y consiguen relajar la musculatura bronquial, además de proporcionar un mayor aporte sanguíneo al músculo. El uso de estos agentes esta enfocado básicamente a reducir la fatiga durante los eventos competitivos y en las sesiones de entrenamiento.

1.7.2. Estimulantes comúnmente usados en el ámbito deportivo.

Se abusa principalmente de tres tipos de estimulantes del Sistema Nervioso Central: anfetamina, cocaína y cafeína. Cada tipo de sustancia tiene su característico mecanismo

de acción sobre las neuronas del Sistema Nervioso Central y tienen sus propios receptores asociados y terminales nerviosas (George, 2000).

a) La anfetamina

Es una amina (Fig.19) simpaticomimética dotada de notable acción estimulante sobre el sistema nervioso central, ya que permite el aumento en la liberación de dopamina sináptica (neurotransmisor precursor metabólico de noradrenalina y adrenalina) al estimular la descarga presináptica y la inhibición de monoamina oxidasa (MAO), lo que resulta en hipertensión, taquicardia e inhibición de la motilidad intestinal, por lo que es utilizada medicamente para el control de la obesidad. (Jickells, 2008).

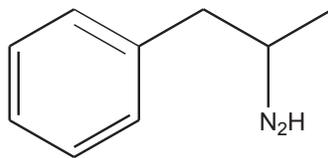


Fig.19. Estructura química de anfetamina (Tomada de Jickells, 2008).

La administración de 10 a 30 mg de anfetamina produce una sensación de euforia, disminución de la fatiga, aumento de la actividad motora, vivacidad e iniciativa, insomnio y autoconfianza (Goodman, 2007).

Es ampliamente abusada en el ámbito deportivo ya que mejora el rendimiento físico reduciendo la fatiga, el sueño y estimulando la respiración. Los principales deportistas que abusan de las anfetaminas son los ciclistas, jugadores de futbol, jugadores de hockey y beisbol (George, 2000). Son ingeridas en dosis bajas (5-15 mg de anfetamina) para mejorar la concentración y la dosis elevada (80-150 mg de anfetamina) para incrementar la agresión, algunos atletas las usan como supresores del apetito para el control de peso (Goodman, 2007).

Sus efectos adversos incluyen manifestaciones en sistema nervioso central como intranquilidad, mareos, temblores, irritabilidad, confusión, sobresaltos, paranoia, alucinaciones, efectos cardiovasculares como taquicardia, palpitaciones, arritmias, angina, alteraciones de la presión sanguínea y colapso cardiovascular. Los efectos gastrointestinales incluyen: náusea, vómito, dolor abdominal, y disminución del apetito. La suspensión brusca de estos medicamentos puede producir síntomas depresivos como letargia, hipersomnias e ideas suicidas (Barrientos, 2001; Goodman, 2007).

En el **anexo III** se puede encontrar información sobre otros congéneres de anfetaminas.

b) Cocaína

Es un estimulante del SNC, tiene efectos notablemente parecidos a las anfetaminas o la cafeína. Los efectos de la cocaína (Fig. 20) se presentan casi inmediatamente después de una sola dosis y desaparecen en cuestión de minutos o dentro de una hora.

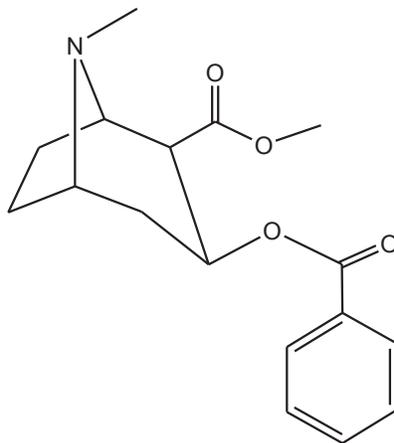


Fig. 20. Estructura química de cocaína (Tomada de Jickells, 2008).

Su efecto farmacológico se relaciona con su eficacia para bloquear al transportador de dopamina, lo que da por resultado aumento de la estimulación dopaminérgica (la dopamina actúa en zonas del cerebro relacionadas con la motivación y gratificación lo que propicia la repetición de la conducta), también bloquea la recaptación de adrenalina, noradrenalina (NE) y serotonina (5-HT) (Goodman, 2007).

Su uso en el ámbito deportivo se debe a que incrementa la tolerancia a la ejercitación intensa, por sus efectos estimulantes a nivel central. La cocaína se usa menos que las anfetaminas y la cafeína debido a su corta duración de acción (George, 2000).

Sus principales efectos adversos son ansiedad aguda, este síntoma produce aumento de la presión sanguínea, taquicardia y paranoia, provocando náusea y vómito con dolor abdominal, a altas dosis calambres musculares. Su consumo diario y en grandes cantidades, puede alterar los hábitos de alimentación y de sueño, produce irritabilidad y pérdida de concentración y crea dependencia psicológica. Además se pueden presentar crisis convulsivas, pequeños derrames cerebrales (microembolias) y muerte súbita por falla cardíaca (infarto cardíaco) (Barrientos, 2001).

Es frecuente el uso de Cocaína en combinación con esteroides anabólicos lo que se puede relacionar con desarrollo de hipertensión. En animales de experimentación (ratas jóvenes), la combinación de nandrolona con cocaína produce una mayor hipertrofia

cardiaca que administrando cualquiera de los dos fármacos solos (Phillis, 2000). En el **anexo III** se adiciona información acerca de la farmacocinética de la cocaína.

c) Cafeína: Es un alcaloide contenido en el café, el té, el cacao y otras plantas, en la figura 21 se muestra su estructura química. La cafeína aumenta el metabolismo de los ácidos grasos conduciendo a la conservación de glucosa, lo cual parece aumentar la resistencia en deportes de distancia tales como el esquí. Se absorbe rápidamente, alcanza los niveles máximos en sangre a los 60 minutos y sus efectos tienen una duración de 2 a 12 horas (Ramos, 1999).

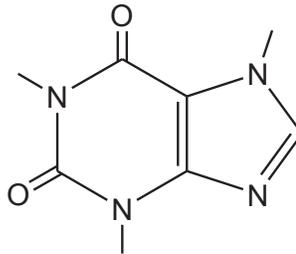


Fig. 21. Estructura química de la cafeína (Tomada de Flórez, 2008).

Ya que la ingestión de cafeína es común en todo el mundo, no puede prohibirse, por lo que el Comité Olímpico Internacional ha puesto límites en su ingestión basándose en concentraciones en orina de 12 a 15 $\mu\text{g/mL}$. Un atleta tendría que ingerir aproximadamente de 6 a 8 tazas de café durante las 2 a 3 horas antes de la prueba de orina para alcanzar estas concentraciones. Los efectos adversos de la ingestión de cafeína incluyen: intranquilidad, nerviosismo, insomnio y arritmias, además produce tolerancia, es decir, que, al consumirla habitualmente, es necesario aumentar la dosis para conseguir los mismos efectos que al principio, su abuso crónico conduce a daño cardiaco (Ramos, 1999).

El abuso social de las tres drogas dificulta distinguir las del abuso en las actividades deportivas.

En general el peligro de los Estimulantes para la salud es que permiten realizar un esfuerzo superior a la capacidad para resistirlo.

Otros efectos perjudiciales son: vasoconstricción cutánea, alteración de la termorregulación, aumento del gasto cardíaco, hipertensión, taquicardias, dilatación de la pupila, fallos respiratorios, inhibición del tracto digestivo, hepatopatías, alteraciones renales, dependencia física, excitación nerviosa, agresividad, temblor, ansiedad,

trastornos psiquiátricos, crisis convulsivas. Además crean dependencia y su uso continuado obliga a aumentar las dosis para obtener el mismo efecto (Barrientos, 2001; George, 2000).

En el **anexo III** se hace referencia a otros estimulantes como la efedrina, fenilefrina, pseudoefedrina y fenilpropanolamina.

1.8. NARCÓTICOS (Prohibidos en competición).

El término *narcótico* deriva de la palabra griega que significa “estupor”, relacionándose con los opiáceos analgésicos potentes, principalmente la morfina. Los analgésicos narcóticos son sustancias que inhiben y alivian el dolor, además de producir embotamiento de la sensibilidad. Por lo cual, su uso puede conducir a la desaparición del signo cardinal en la lesión, o sea el dolor.

Generalidades.

El término opiáceo hace referencia a los derivados no peptídicos con efectos análogos a la morfina, tanto naturales como sintéticos (no se obtienen en el ser vivo sino en las plantas o en el laboratorio), mientras que el vocablo opioide alude normalmente a los ligandos peptídicos fisiológicos (producido por el ser vivo) y a sus receptores.

Los opiáceos actúan sobre receptores que existen en el cuerpo para sustancias endógenas parecidas a las que se encuentran en el opio, estas sustancias se llaman endorfinas (opioide) y se producen en respuesta a ciertos estímulos. Por ejemplo, si una persona se golpea y siente dolor, su organismo libera endorfinas para contrarrestarlo. Al reírse, hacer un deporte o disfrutar de una buena comida también se liberan endorfinas y esto produce una sensación agradable. Estas sustancias tienen un efecto de muy corta duración, porque se producen en el cerebro en respuesta a un estímulo y se inactivan en pocos minutos. Al liberarse se unen a los receptores localizados en el cerebro y en el resto del sistema nervioso. La morfina y la heroína funcionan como agonistas de estos receptores, pero a diferencia de las endorfinas, producen un efecto de larga duración (de horas, en vez de minutos), lo cual lleva a que se induzcan cambios a nivel intracelular difíciles de revertir.

En el SNC hay tres clases principales de receptores de opioides, denominados μ , κ y δ . Los receptores μ se definieron en un principio por su afinidad con la morfina. La mayor parte de los opioides (sustancia endógena) utilizados en la práctica clínica son relativamente selectivos por los receptores μ , lo que refleja su semejanza con la

morfina. Los receptores μ de los opioides se encuentran principalmente en regiones del tálamo que participan en la percepción del dolor, en los núcleos que participan en el control de la respiración (núcleo del haz solitario, núcleo ambiguo y núcleo parabraquial, lo que es compatible con la morfina para deprimir la respiración) y en neuronas del área postrema en donde la morfina estimula la sensación de náusea e induce vómito. La sensación de euforia está relacionada con el efecto reforzador positivo de los opiáceos al actuar en los núcleos dopaminérgicos de recompensa.

Además los receptores opioides μ contribuyen a sus efectos a través de tres mecanismos de acción celulares: la inhibición de la enzima adenilato ciclasa, la inducción de la apertura de ciertos canales de potasio y la inhibición de la apertura de los canales de calcio operados por voltaje. Estos tres efectos son mediados por proteínas G inhibitorias y originan una reducción de la excitabilidad de la membrana neuronal y de la liberación de neurotransmisores (Cruz, 2006).

En el ámbito deportivo se utilizan básicamente para disminuir la respuesta al dolor, especialmente entre los atletas que se dedican a deportes violentos, esto puede generar el agravamiento de las lesiones o en sesiones de entrenamiento intenso para rebasar la capacidad física al reducir la sensación de dolor lo que puede originar alguna lesión. Además, los narcóticos pueden reducir la ansiedad, incrementando posiblemente el rendimiento en los acontecimientos deportivos, en los cuales la ansiedad excesiva podría afectar a un preciso control motor, por ejemplo el tiro con pistola y el tiro con arco (Recuperado el 15 de septiembre de 2013 de <http://www.dopingpreventionsp.tum.de/es/substances-andnarcotics.html> y Jickells, 2008).

1.8.1. Narcóticos comúnmente usados en el ámbito deportivo:

La **Morfina** es el principal y más activo de los alcaloides del opio (Fig. 22), contiene en su estructura una función alcohólica y una fenólica, que suministran muchos de sus derivados usados en terapéutica, como la heroína (Fig. 23) (Jickells, 2008).

La vía principal del metabolismo de la morfina es la conjugación con ácido glucurónico para formar productos tanto activos como inactivos. La morfina-6-glucurónido es el metabolito más importante de la morfina ya que puede ser la responsable de la mayor parte de la actividad analgésica de la morfina, se excreta en muy poca cantidad sin cambios y se elimina por filtración glomerular principalmente como morfina-3-glucurónido hasta en un 90%. Se produce circulación enterohepática de la morfina y sus glucurónidos, lo que explica la presencia de cantidades pequeñas del fármaco en el

excremento y en la orina durante varios días después de administrada la última dosis (Goodman, 2007). Por su parte la **Heroína** se hidroliza a 6-monoacetilmorfina (6-MAM), que a su vez se hidroliza en morfina. Tanto heroína como 6-MAM son más liposolubles que la morfina y atraviesan con mayor facilidad la barrera hematoencefálica (Goodman, 2007).



Fig. 22. El opio es el líquido lechoso que se obtiene de las cápsulas inmaduras de una variedad de amapola, *Papaver somniferum* (Recuperada el 12 de enero de 2014 de https://encryptedtbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQsNjeh7AJcdPptTWvWn_ixhFlfg63nLhxzOCmJf7FBtERcpo7stQ).

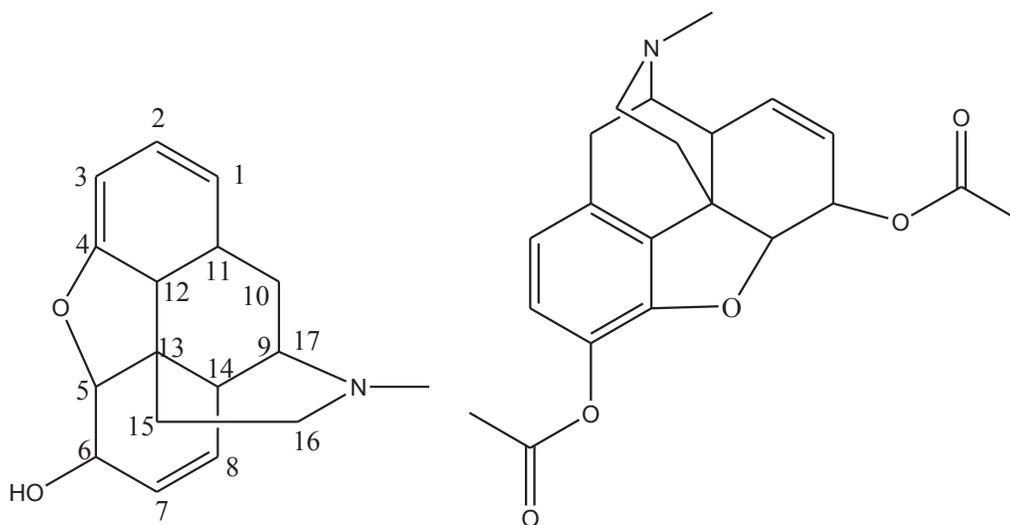


Fig. 23. Estructura química de morfina y heroína (diamorfina), respectivamente. El opio sin refinar es tratado para extraer la morfina y el extracto es acetilado (posiciones 3 y 6) con anhídrido acético para producir diamorfina o diacetilmorfina comúnmente llamada heroína (Tomadas de Goodman, 2007).

Otros opioides sintéticos son la **metadona** y el **fentanil** (Fig. 24), se estima que este es 80 veces más potente que la morfina como analgésico, en forma comercial se encuentra como citrato de fentanil (SUBLIMAZE). En cuanto a la **metadona** (Fig. 25) tiene propiedades farmacológicas cualitativamente semejantes a las de la morfina ya que es buena su eficacia analgésica por vía oral, su actividad analgésica se debe a su contenido

de *l*-metadona, que es 8 a 50 veces más potente que el isómero *d*-metadona que carece de acción depresiva respiratoria importante y de potencial de adicción, pero posee actividad antitusiva.

Se absorbe bien en el tubo digestivo y se identifica en plasma a los 30 minutos de su ingestión y alcanza concentraciones máximas aproximadamente a las cuatro horas, cerca de 90% se encuentra fija a proteínas plasmáticas. En el encéfalo se encuentran concentraciones máximas de una a dos horas después de su administración subcutánea o intramuscular. También se absorbe por mucosa bucal, se excreta por orina y la bilis. Su vida media es de 15 a 40 horas.

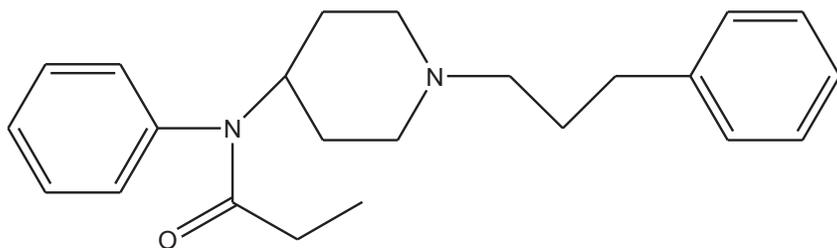


Fig. 24. Estructura química de fentanil (Tomada de Goodman ,2007).

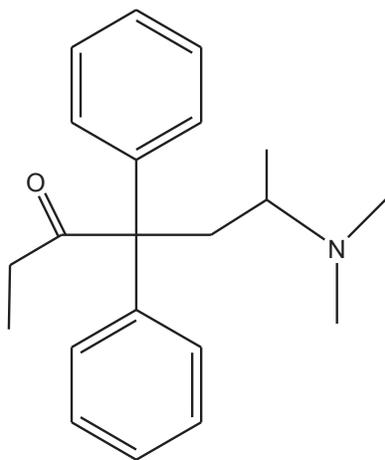


Fig. 25. Estructura química de metadona (Tomada de Goodman ,2007).

La morfina y opioides relacionados producen un espectro amplio de efectos adversos como: depresión respiratoria, náusea, vómito, mareos, embotamiento, disforia, prurito, estreñimiento, retención urinaria, hipotensión, alteraciones a nivel hepático (por no metabolización correcta del producto), delirio, temblores e incluso sin ser epilépticos, crisis convulsivas, tolerancia, dependencia física y psíquica. Algunas veces puede haber incremento de la sensibilidad al dolor después de haberse disipado la analgesia (Goodman, 2007).

1.9. CANNABINOIDES (Prohibidos en competición).

Los cannabinoides naturales (por ejemplo: cannabis, jashish, marihuana) o delta 9-tetrahidrocannabinol sintéticos (THC) y cannabinomiméticos [por ejemplo: “Spice” (conteniendo JWH018, JWH073) y HU-210] están prohibidos (World Anti-Doping Agency. 2014).

Se considerarán prohibidos, a juicio de las correspondientes Federaciones Deportivas, cuando su consumo pueda modificar artificialmente el rendimiento deportivo de los deportistas o los resultados de las competiciones (Ramos, 1999).

1.9.1. Generalidades.

A diferencia de otras drogas psicoactivas, sus efectos no se pueden clasificar como sedantes, estimulantes o alucinógenos, ya que estos dependen no solo de la dosis y la ruta de administración, si no además de la personalidad del individuo.

Marihuana (“hierba”) es un término colectivo para los constituyentes psicoactivos de los extractos crudos de la planta *Cannabis sativa*, un arbusto que crece principalmente en el sureste de Asia, Turquía, sur y oeste de África y América central (En el anexo IV se puede encontrar información relacionada con características particulares de la planta del cannabis: naturaleza dioica, preparaciones que se hacen con la resina y las hojas, observación al microscopio de vellos característicos, farmacocinética y metabolitos).

La responsable de su actividad farmacológica es su resina, que puede estar presente en las plantas en diferentes proporciones, pudiendo ser hasta un 20% del peso de la planta.

La resina contiene cannabinoides, compuestos de estructura tricíclica, exclusivos de esta planta, de los que se han aislado de la resina unos 60 compuestos diferentes, incluyen los compuestos cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN), ácido cannabínic, cannabigerol, cannabicitrol y varios isómeros de tetrahidrocannabinol (THC) (Fig. 26).

Los isómeros de este tetrahidrocannabinol (THC) son los principales responsables de las propiedades farmacológicas de la resina presente en la planta de *Cannabis sativa*. El máximo responsable de la actividad es el Δ^9 -THC. En la última década se han efectuado diversos estudios relacionados con su actividad para disminuir o suprimir a nivel neuronal (espinal, supraespinal y sitios periféricos) las señales de dolor generando analgesia. De igual manera el descubrimiento de endocannabinoides, durante múltiples investigaciones, indican que estos suprimen el dolor de forma natural. (Walke, 2002).

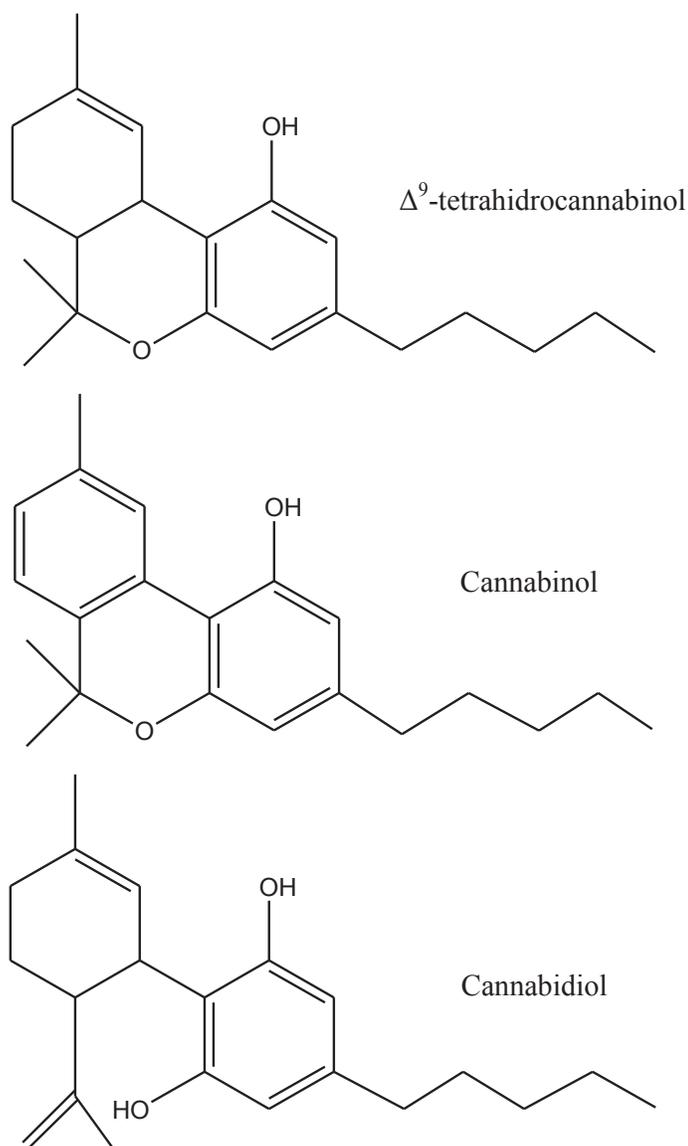


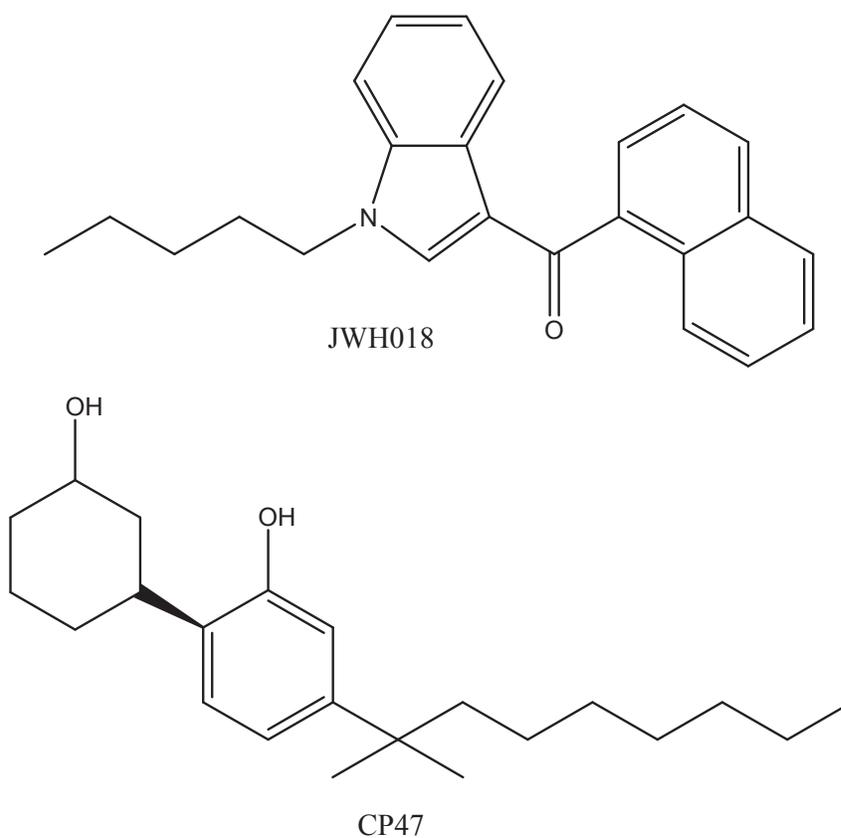
Fig. 26. Estructuras químicas de cannabinoides (Tomadas de Jickells, 2008).

La interacción con los compuestos activos de cannabis es a través de receptores cannabinoides específicos (receptores CB1; en cerebro, pulmón y riñón y receptores CB2 en sistema inmune y en células hematopoyéticas). Estos receptores son miembros de receptores acoplados a proteínas G. La unión de THC al receptor resulta en inhibición de adenilato ciclasa e inhibición del canal de calcio con la activación del canal de potasio. La administración de cannabis produce, inicialmente, sentimiento de euforia e intensificación de las sensaciones y distorsión del tiempo, sonido y color acompañado por un sentimiento de relajación (Jickells, 2008).

En el ámbito deportivo se utilizan por sus propiedades relajantes para aliviar la ansiedad producida por la competencia, principalmente en deportes como windsurfing, esquiar, snowboarding, surfing, vela, etc. Se conoce que el motivo principal para utilizar cannabinoides en este tipo de deportes es para incitar la sensación de entusiasmo lo que de cierta manera provoca un mejor desempeño atlético. No obstante se sabe que produce efectos contraproducentes para el desempeño deportivo como disminución del tiempo de reacción, incoordinación, problemas para percibir adecuadamente, etc. (Lorente, 2005).

1.9.2. Cannabinomiméticos.

a) **Spice**: Es una mezcla de hierbas que fumada produce efectos similares a cannabis y se comercializa como otra opción en lugar de marihuana. En las preparaciones de “Spice” se han identificado numerosos aditivos sintéticos, entre los cuales están JWH018, CP47, 497-C8 y JWH073 (Fig. 27). **JWH018** es un potente agonista de receptores cannabinoides (CB₁). En cultivos de neuronas del hipocampo se apreció que 497-C8 y JWH073 inhiben la neurotransmisión este efecto al parecer también debido a que actúan sobre receptores cannabinoides (CB₁) (Atwood, 2011).



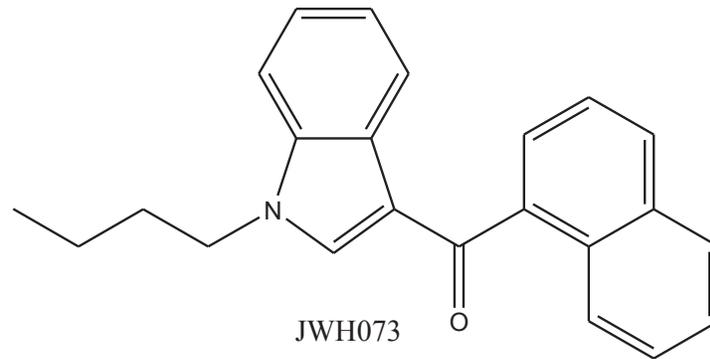


Fig. 27. Estructuras químicas de cannabinomiméticos (Tomadas de Atwood, 2011).

b) HU-210: Es un análogo de tetrahidrocannabinol que deprime la actividad motora, también reduce la sensación de dolor al actuar sobre los receptores de cannabinoides en el organismo humano (Gühring, 2001).

1.10. GLUCOCORTICOESTEROIDES (Prohibidos en competición).

Su uso en el deporte está muy extendido, por lo que la WADA los introdujo en la lista de sustancias prohibidas en 2005, sin embargo, debido a los numerosos tratamientos en que son empleados, se permite el uso de corticoesteroides en el deporte cuando se administran por vía tópica, auricular, nasal, oftálmica, bucal o gingival. Otras rutas de administración (intraarticular, periarticular, peritendinosa, epidural, inhalación e inyecciones intradérmicas) requieren una autorización de uso terapéutico y las administraciones por vía oral, rectal, intravenosa o intramuscular están prohibidas en todos los casos.

1.10.1. Generalidades.

Son los fármacos más potentes con actividad antiinflamatoria e inmunosupresora (alteran las reacciones inmunitarias de los linfocitos), de forma natural estas hormonas esteroides se sintetizan en las glándulas suprarrenales, su secreción es estimulada por la Hormona Adrenocorticotropina (ACTH) y su síntesis artificial (en 1947) permitió la terapia contra enfermedades autoinmunes.

Los glucocorticoides, en menor grado, también presentan actividad mineralocorticoide (regulación del equilibrio electrolítico principalmente de sodio y potasio).

Sus efectos fisiológicos son diversos ya que presentan además de su efecto antiinflamatorio e inmunosupresor, alteraciones del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas; conservación del equilibrio de líquidos y electrolitos y preservación de la función normal de los sistemas cardiovascular e inmunitario, riñones, músculo estriado, así como los sistemas endocrino y nervioso. Además, por mecanismos que no se entienden por completo, los glucocorticoesteroides permiten al organismo resistir circunstancias que generan estrés, como estímulos nocivos y cambios ambientales, esta hipótesis se sustenta por el hecho de que la producción de cortisol puede aumentar al menos diez veces durante estrés intenso. También disminuyen la debilidad y la fatiga muscular, debido a la elevación de la presión arterial con mejor irrigación muscular y a la normalización de carbohidratos (Goodman, 2007).

Algunos beneficios que los glucocorticoides pueden presentar en su uso en el deporte son los siguientes:

-Metabolismo de los carbohidratos: La capacidad de influir sobre el catabolismo proteico aumentando la producción de glucosa puede ser importante en deportes de

resistencia mixta aeróbica/anaeróbica (gluconeogénesis).

-Metabolismo de lípidos: La obtención de energía a partir de ácidos grasos también representa beneficios en los deportes de fondo.

-Su acción antiinflamatoria permite reparar tejidos dañados durante el ejercicio físico intenso.

-La influencia en el sistema nervioso central provoca un estado de euforia e insomnio que es importante en el rendimiento deportivo.

-Su efecto sobre la sangre y órganos hematopoyéticos aumentando la producción de plaquetas y glóbulos rojos permite solucionar anemias del deportista.

-Por último su efecto sobre músculo estriado contrarresta el efecto de fatiga.

1.10.2. Ejemplos de glucocorticoesteroides.

Los glucocorticoides naturales más empleados son la cortisona e hidrocortisona (Fig. 28).

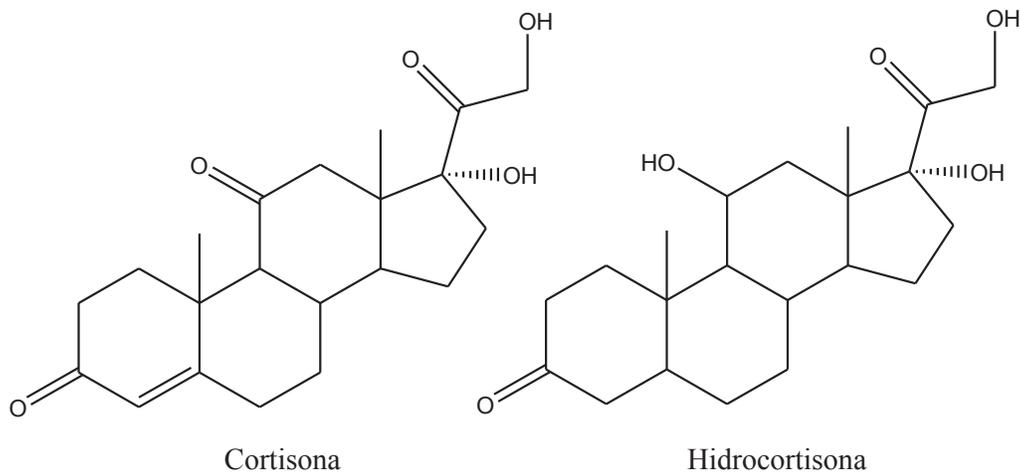


Fig. 28. Estructura química de cortisona e hidrocortisona (Tomada de Goodman, 2007).

El desarrollo de análogos sintéticos (Fig. 29) ha sido con el objetivo de disminuir la acción mineralocorticoide y potenciar la acción glucocorticoide, por ejemplo prednisolona que es un fármaco antirreumático y antialérgico 3 o 4 veces más potente que la cortisona e hidrocortisona y produce menos efectos secundarios indeseables y la triamcinolona que tiene un átomo de flúor sobre la posición 9α , el cual aumenta la potencia antiinflamatoria, pero también incrementa notablemente la acción mineralocorticoide, no obstante se puede reducir esta actividad introduciendo un grupo hidroxilo sobre la posición 16α , también produce excreción de sodio en lugar de

retención y su potencia antirreumática es hasta 20% superior que la de prednisolona y por último dexametasona que presenta de un grupo metilo en 16 α que reduce las propiedades de retención de sales del compuesto, tiene 5 veces la actividad antiinflamatoria de prednisolona y 7 veces la potencia antirreumática. Es 30 veces más potente que la hidrocortisona (Flórez, 2008 y Skoluda, 2012).

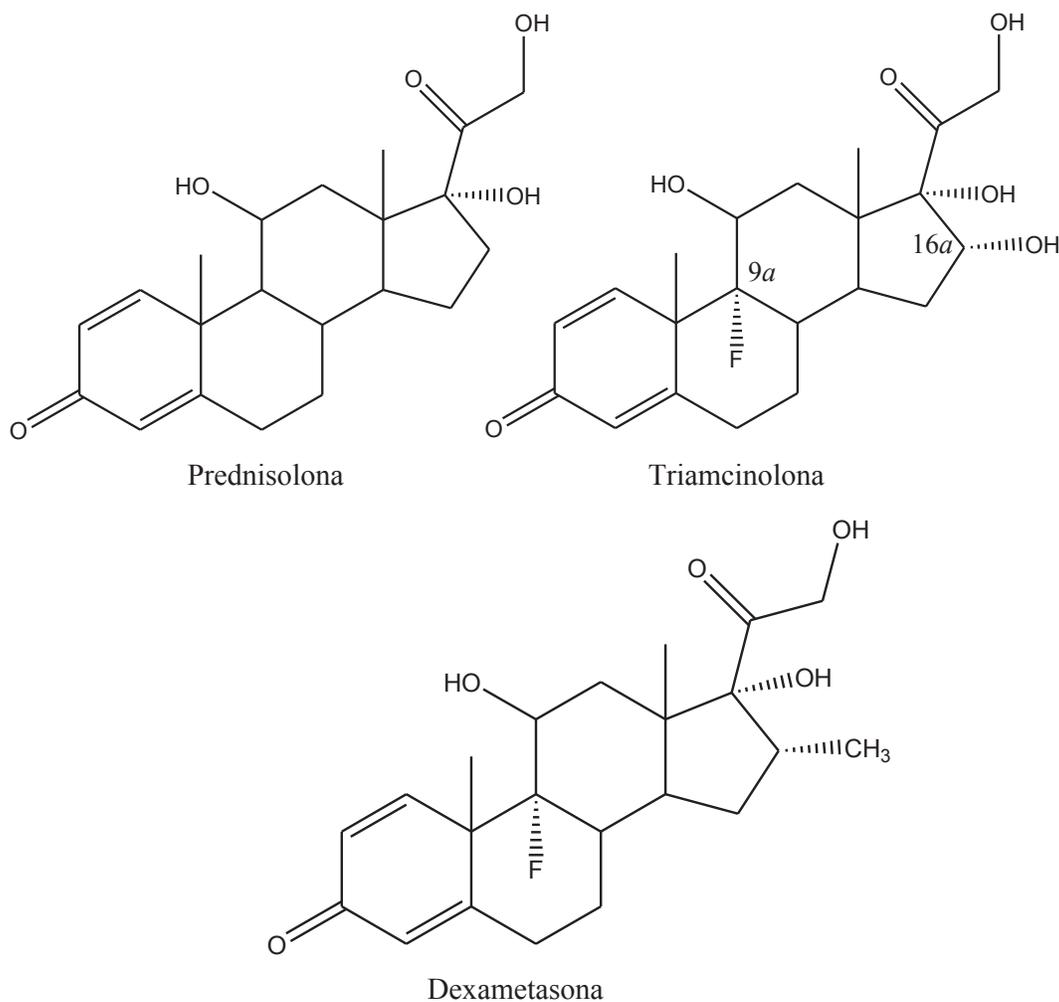


Fig. 29. Estructura química de análogos sintéticos de glucocorticoesteroides: prednisolona, triamcinolona y dexametasona, respectivamente (Tomada de Flórez, 2008).

Los glucocorticoesteroides, incluso los sintéticos son eficaces cuando se administran por vía oral, los que son hidrosolubles se administran por vía intravenosa para alcanzar con rapidez niveles altos en los líquidos corporales. Por inyección intramuscular se obtienen efectos por tiempo más prolongado. Cambios menores de la estructura química alteran la velocidad de absorción, el tiempo de inicio de la acción y la duración del efecto.

Los glucocorticoesteroides también se absorben a la circulación sistémica desde sitios de administración local, como espacios sinoviales, saco conjuntival, piel y vías respiratorias. Luego de la absorción los glucocorticoesteroides se unen de manera reversible a proteínas plasmáticas (globulina de unión a corticoesteroide y albúmina), la mayor parte de la hormona se une a proteína (aproximadamente 90%) y solo la hormona libre puede entrar en las células para ejercer sus efectos. Sufren conjugación en hígado (en menor grado en riñones) con sulfato o glucurónido para formar derivados hidrosolubles que se excretan en orina (Goodman, 2007).

De forma general los glucocorticoesteroides interactúan con proteínas receptoras específicas en tejidos blanco para regular la expresión de genes con capacidad de respuesta a glucocorticoesteroides, lo cual modifica las cifras y la disposición de las proteínas sintetizadas por los diversos tejidos blanco (expresión o supresión de genes) (Gold, 2001).

1.10.3. Efectos adversos de glucocorticoesteroides.

Son causados principalmente por el uso prolongado y la potencia del corticosteroide; alteraciones electrolíticas, hipertensión, hiperglucemia y glucosuria, susceptibilidad a las infecciones, úlcera péptica, osteoporosis, miopatías características, alteraciones de la conducta, estrías, acné, hirsutismo, Síndrome de Cushing que consiste en cara de luna llena, giba de búfalo, obesidad central y aplasia corticosuprarrenal. También pueden afectar el equilibrio del eje hipotalámico-hipofisiario-suprarrenal (Goodman, 2007).

1.11. SUSTANCIAS PROHIBIDAS EN DEPORTES ESPECIFICOS.

1.11.1. ALCOHOL.

Se considerará prohibido, a juicio de las correspondientes Federaciones Deportivas, cuando su consumo pueda modificar artificialmente el rendimiento deportivo o los resultados de las competiciones (Ramos, 1999).

Está prohibido el alcohol solo durante competición y en los siguientes deportes: automovilismo, bolos, karate, motociclismo, tito con arco, deportes aéreos y motonáutica.

La detección se puede efectuar por análisis de sangre y/o en aliento. El dopaje se da al violar el umbral 0.10 g/L (concentración sanguínea de alcohol) (World Anti-Doping Agency. 2014).

1.11.1.1. Generalidades.

La palabra alcohol se deriva de *alkehal*, que significa “lo más fino”, “lo más depurado”. Sabemos que hay variedades de alcoholes (butílico, propílico, amílico, metílico, hexílico heptílico, optílico, etc.), pero únicamente nos ocuparemos del etílico, ya que los demás no deben usarse como bebidas por ser muy tóxicos.

Es un depresor del sistema nervioso central y sus efectos dependen de factores como la edad, el peso, el sexo o la cantidad y velocidad con que se consume. Algunos efectos farmacológicos del etanol se pueden comparar con las de los agentes sedantes hipnóticos.

Un *sedante* disminuye la actividad, modera la excitación y tranquiliza en general a la persona que lo recibe, en tanto que un fármaco *hipnótico* produce somnolencia y facilita la iniciación y la conservación de un estado de sueño similar al sueño natural en sus características electroencefalográficas y a partir del cual se puede despertar con facilidad al paciente. El etanol tiene propiedades en común con los sedantes hipnóticos que no son benzodiazepinas los cuales pertenecen a un grupo de agentes que deprimen al sistema nervioso central (SNC) de una manera relativamente no selectiva, dependiente de la dosis, con tranquilización progresiva y somnolencia (sedación), sueño (hipnosis farmacológica), pérdida del conocimiento, coma, anestesia quirúrgica y depresión mortal de la respiración y de la regulación cardiovascular. Comparte estas propiedades con gran número de sustancias químicas, entre ellas los anestésicos generales y los alcoholes alifáticos (Goodman, 2007).

1.11.1.2. Efectos adversos.

El consumo de alcohol es parte del aspecto social de muchos eventos deportivos y es la sustancia más ampliamente usada por atletas. Es común el consumo de alcohol inmediatamente después de la competición o el entrenamiento. Un aspecto preocupante de la ingestión de alcohol es el debilitamiento temporal de la contracción ventricular y la irritabilidad del miocardio, lo cual puede resultar en arritmia. Es desconocido el mecanismo que genera estos eventos, aunque estudios recientes indican alteraciones en la agregación plaquetaria en función de la ingestión de alcohol (Mahmoud, 2002).

1.11.2. BETABLOQUEANTES.

En la lista de sustancias prohibidas se indica que su uso solo esta prohibido en determinados deportes, en general son deportes en los que se requiere una elevada concentración y precisión (World Anti-Doping Agency 2014). A menos que se de otra especificación, los beta-bloqueadores están prohibidos solo durante competición.

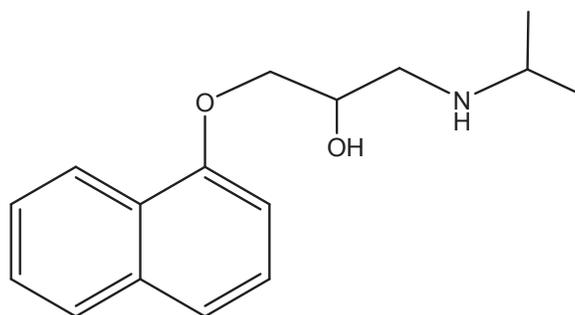
1.11.2.1. Generalidades.

Los bloqueadores β -adrenérgicos o antagonistas de los receptores β -adrenérgicos son fármacos que actúan a nivel del corazón y como su nombre lo indica bloquean los receptores β -adrenérgicos, se busca que carezcan de actividad simpaticomimética al inhibir la actividad de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina), no obstante por tener estructura similar a este tipo de sustancias pueden tener cierta actividad simpaticomimética.

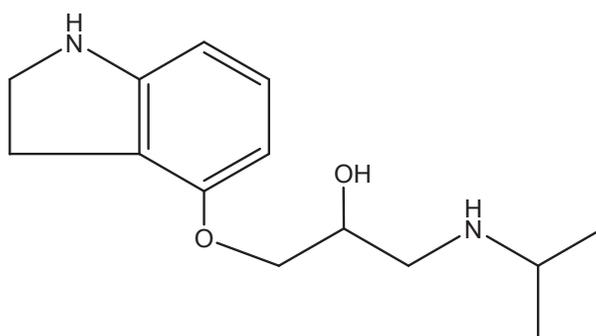
El uso de bloqueantes β -adrenérgicos en el organismo presenta unos efectos que pueden ir desde disminución de la frecuencia cardiaca, disminución de la tensión arterial y contracción de la musculatura bronquial. Se utilizan en los deportes de precisión (tiro, automovilismo, etc.) ya que suprimen el sentimiento de pánico y miedo (decrece la ansiedad y el temblor de manos). De forma particular en tiro con arco el deportista debe lograr efectuar su tiro entre un latido y otro (Betts, 2007).

1.11.2.2. Bloqueantes β -adrenérgicos más conocidos.

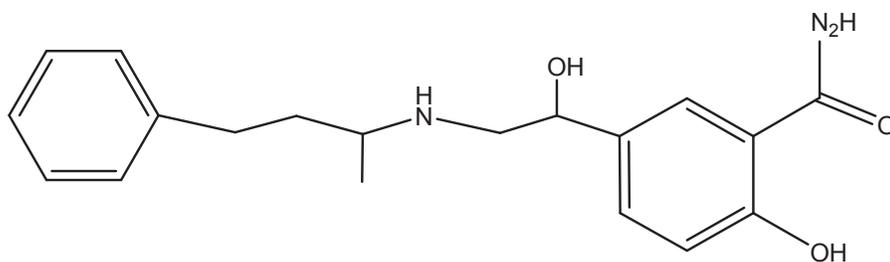
En la figura se ilustran las estructuras químicas de algunos antagonistas de receptores β -adrenérgicos de aplicación general (Goodman, 2007).



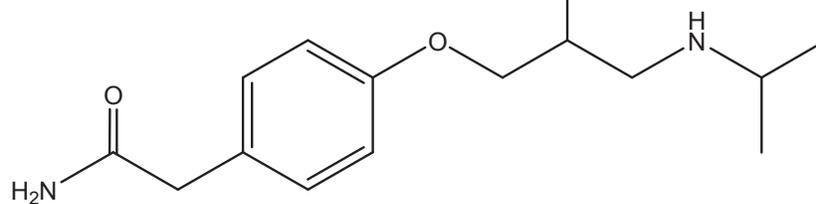
Propranolol



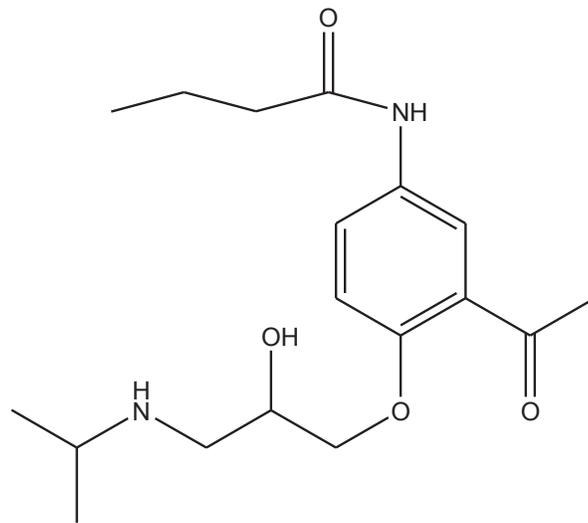
Pindolol



Labetalol



Atenolol



Acebutol

Fig. 30. Estructuras químicas de bloqueantes β -adrenérgicos (Tomadas de Goodman, 2007).

Las propiedades farmacológicas de los antagonistas β adrenérgicos se pueden explicar en gran medida a partir del conocimiento de las reacciones desencadenadas por los receptores en los diversos tejidos y la actividad de los nervios simpáticos que los inervan. Por ejemplo, el bloqueo de los receptores β tiene poco efecto en el corazón normal del individuo en reposo, pero ejerce efectos profundos cuando domina el control simpático del corazón, como durante el ejercicio o el estrés.

1.11.2.3. Efectos adversos de betabloqueantes.

El uso de bloqueantes β -adrenérgicos en el organismo puede llegar a presentar efectos secundarios que pueden ir desde fatigabilidad, hipotensión postural y broncoespasmo (Goodman, 2007).

2.0. MÉTODOS PROHIBIDOS.

Además de las sustancias referidas en el capítulo anterior, los deportistas también recurren a algunas acciones consideradas como dopaje, las cuales se describen a continuación.

2.1. MANIPULACIÓN DE SANGRE Y COMPONENTES SAGUÍNEOS.

Los siguientes están prohibidos:

- a) Dopaje sanguíneo, incluyendo el uso de sangre autóloga, homologa o heteróloga u eritrocitos de cualquier origen.
- b) Mejoramiento artificial de la recaptación, transporte o liberación de oxígeno, incluyendo, pero no limitado a, perfluoroquímicos, efaproxiral (RSR13) y productos de hemoglobina modificada (por ejemplo; sustitutos sanguíneos basados en hemoglobina y productos de hemoglobina microencapsulados) excluyendo el suplemento de oxígeno (World Anti-Doping Agency 2014).

a) Dopaje sanguíneo.

A la administración intravenosa de sangre o productos sanguíneos que contengan hematíes en un individuo normal con fines ergogénicos, ya sea del propio individuo se le denomina autotransfusión o bien de individuos diferentes heterotransfusión.

A partir de los Juegos Olímpicos de México de 1968 (fecha de inicio de las medidas antidoping del COI), y gracias a los 2250 metros de esta ciudad sobre el nivel del mar, los entrenadores se dieron cuenta de los beneficios del entrenamiento en altura: el organismo, ante la escasez de oxígeno en comparación con altitudes menores, desarrolla un mecanismo compensatorio que aumenta el número de glóbulos rojos. Cuando se puso de moda esta práctica y tras comprobar que la ventaja era sólo temporal, se pensó en aprovecharla mediante el llamado dopaje sanguíneo, la extracción de sangre mientras se entrena en altura para administrarla después en transfusión, en el momento en que resulte conveniente. Años más tarde se comenzó a utilizar la eritropoyetina (EPO) para el mismo fin.

Algunos atletas usan las autotransfusiones de paquete globular que les es extraído varias semanas antes de una competencia y se las administran una semana antes con lo que refieren que mejoran de entre el 5% a 30% su desempeño físico (Jones, 1989).

Al utilizar la eritropoyetina evitan el riesgo de la autotransfusión, así como la conservación en congelación del paquete globular por lo que prefieren su uso sobre la autotransfusión.

Efectos adversos.

Los riesgos potenciales que se presentan con estos usos se relacionan con el aumento en la viscosidad sanguínea por un hematócrito elevado que puede dar lugar a hipertensión arterial, cefalea, aumento de riesgo de formación de trombos, que llevan a oclusiones vasculares de coronarias, pulmonares, o cerebrales.

Parece ser menos riesgoso, desde luego que sin ser recomendable, el uso de las autotransfusiones, ya que se conoce el valor del hematócrito del paquete globular. En el caso de la eritropoyetina no se puede determinar la respuesta que se observará al administrarla por lo que el hematócrito puede elevarse hasta niveles peligrosos (Barrientos, 2001).

Otros riesgos de las transfusiones son: reacciones alérgicas, reacciones hemolíticas, daños renales en caso de utilizar un tipo de sangre incorrecto, transmisión de enfermedades infecciosas (Hepatitis y SIDA), sobrecarga del sistema cardiovascular y choque metabólico (Segura, 2011).

b) Mejoramiento de la recaptación, transporte o liberación de oxígeno con hemoglobinas sintéticas.

La hemoglobina es una proteína cuyo peso molecular es de 64KDa, esta formada por cuatro subunidades (dos α y 2 β) que se encuentran unidas en pares formando dímeros de 32KDa cada uno, cada subunidad tiene capacidad para transportar una molécula de oxígeno. La hemoglobina se encuentra dentro de los eritrocitos, fuera de los ellos es rápidamente metabolizada y degradada en sus dímeros además de que es tóxica para el riñón. Las hemoglobinas sintéticas se preparan a partir de hemoglobina humana o bovina, con el fin de estabilizar la molécula se introducen modificaciones, generalmente polimerizaciones y/o glicosilaciones entre los monómeros, por lo que el peso molecular de las hemoglobinas sintéticas es mayor que el de la hemoglobina natural, aproximadamente de 100KDa.

Diferentes preparados tipo hemoglobina sintética son empleados en el ámbito deportivo para incrementar el transporte de oxígeno algunos de los cuales se enumeran en la tabla número 3.

Tabla 3. Tipos de hemoglobinas sintéticas (Tomada de Muñoz-Guerra, 2008).

Nombre	Transformación
HEMOPURE	Hemoglobina bovina polimerizada con glutaraldehído.
PolyHEME	Hemoglobina humana polimerizada con glutaraldehído
HemoLink	Hemoglobina humana polimerizada con rafinosa.
OXYPURE	Hemoglobina bovina polimerizada con glutaraldehído.
HemAssit	Dímeros de Hemoglobina humana Cross Linked.
Optro	Dímeros de Hemoglobina humana Cross Linked.

Los estudios experimentales realizados hasta el momento han encontrado que la administración de hemoglobina modificada se acompaña, por el momento de cuatro efectos adversos para la salud: el desarrollo de hipertensión arterial, la vasoconstricción, la producción excesiva e radicales libres y problemas gastrointestinales (flatulencia y meteorismo). Otra complicación que podría darse, aunque todavía no se ha observado, es la de provocar daño renal. Por ultimo, como las hemoglobinas modificadas suelen ser de origen humano o bovino, son susceptibles de estar contaminadas con agentes infecciosos o con virus y pueden inducir reacciones anafilácticas y shock. Como estos productos están en el mercado desde hace muy poco tiempo, no se conocen los efectos sobre la salud que pueden tener a medio y largo plazo. Además, una desventaja de la hemoglobina modificada con respecto a la EPO es que su acción solamente se mantiene durante 12 horas a 2 días (Prowse, 1999; Copyright Fundación Miguel Induráin 2004).

2.2. MANIPULACIÓN QUÍMICA Y FÍSICA.

Los siguientes están prohibidos:

1. Interferir, o intentar interferir, en el sentido de alterar la integridad y la validez de la muestra recolectada durante el Control de dopaje, esta prohibida. Eso incluye pero no se limita a la sustitución y/o adulteración de orina (por ejemplo: proteasas).
2. Infusiones intravenosas y/o inyecciones de más de 50 ml por periodos de 6 horas, están prohibidas excepto por las recibidas legítimamente en el curso de la admisión a un hospital o en exploraciones clínicas (World Anti-Doping Agency 2014).

2.2.1. Generalidades.

A pesar de las regulaciones rigurosas se han verificado incidencias de manipulación química de las muestras para control de dopaje.

Se toman numerosas medidas para asegurar la integridad de las muestras incluyendo inspección visual, inspección durante la obtención de la muestra, uso de contenedores sellados, documentación del proceso de obtención de la muestra, sin embargo, la manipulación ocurre y en los laboratorios se da seguimiento a los resultados que pueden indicar el intento o que la muestra ha sido manipulada. La decoloración de la muestra no indica necesariamente la manipulación por lo que se requieren métodos sofisticados para identificar la sustitución de la muestra por líquidos de origen no humano o por orina de otra persona o la adición de proteasas que interfieren con la determinación de hormonas peptídicas prohibidas tales como agentes estimulantes de eritropoyesis (Thevis, 2012). Pequeñas cantidades de proteasas pueden degradar EPO en orina después de un corto tiempo por lo que la adición de proteasas durante la recolección de la muestra puede destruir a EPO (EPO endógena) y rHuEPO (EPO humana recombinante), dando resultados negativos durante las pruebas antidopaje (Sanchis-Gomar, 2010).

2.3. DOPAJE GENÉTICO.

Los siguientes, con potencial de aumentar el desempeño deportivo, están prohibidos:

1. La transferencia de ácidos nucleicos o secuencias de ácidos nucleicos.
2. El uso de células normales o genéticamente modificadas.

Dopaje genético se define como el uso de células no terapéuticas, genes, elementos genéticos o modulación de la expresión genética, teniendo la capacidad de mejorar el desempeño atlético.

2.3.1. Generalidades.

La amenaza del dopaje genético surge del hecho de que es virtualmente posible producir cualquier proteína *in vivo* tan solo con que sea conocido su gen y pueda ser introducido dentro de las células del atleta. Esto incluye hormonas y enzimas reguladoras del metabolismo, que pueden actuar como ergogénicos y estimulantes de desarrollo de masa muscular. Los atletas pueden utilizar sus propias células con el gen introducido para producir la proteína recombinante.

El dopaje genético, al igual que la terapia genética, se basa en la introducción y subsecuente expresión de un gen dentro del huésped. Involucrando la modulación de la expresión de los genes endógenos. Métodos *In vivo* o *ex vivo* se pueden usar para la introducción del gen dentro del cuerpo del atleta. El dopaje genético *in vivo* involucra la introducción directa del gen de forma biológica (vectores virales), químicos (liposomas) o métodos físicos (inyección directa usando una jeringa o pistola de genes). Los métodos *ex vivo* involucran la transferencia del gen a una célula huésped en cultivo y la reintroducción de las células modificadas en el atleta huésped (Fig.31).

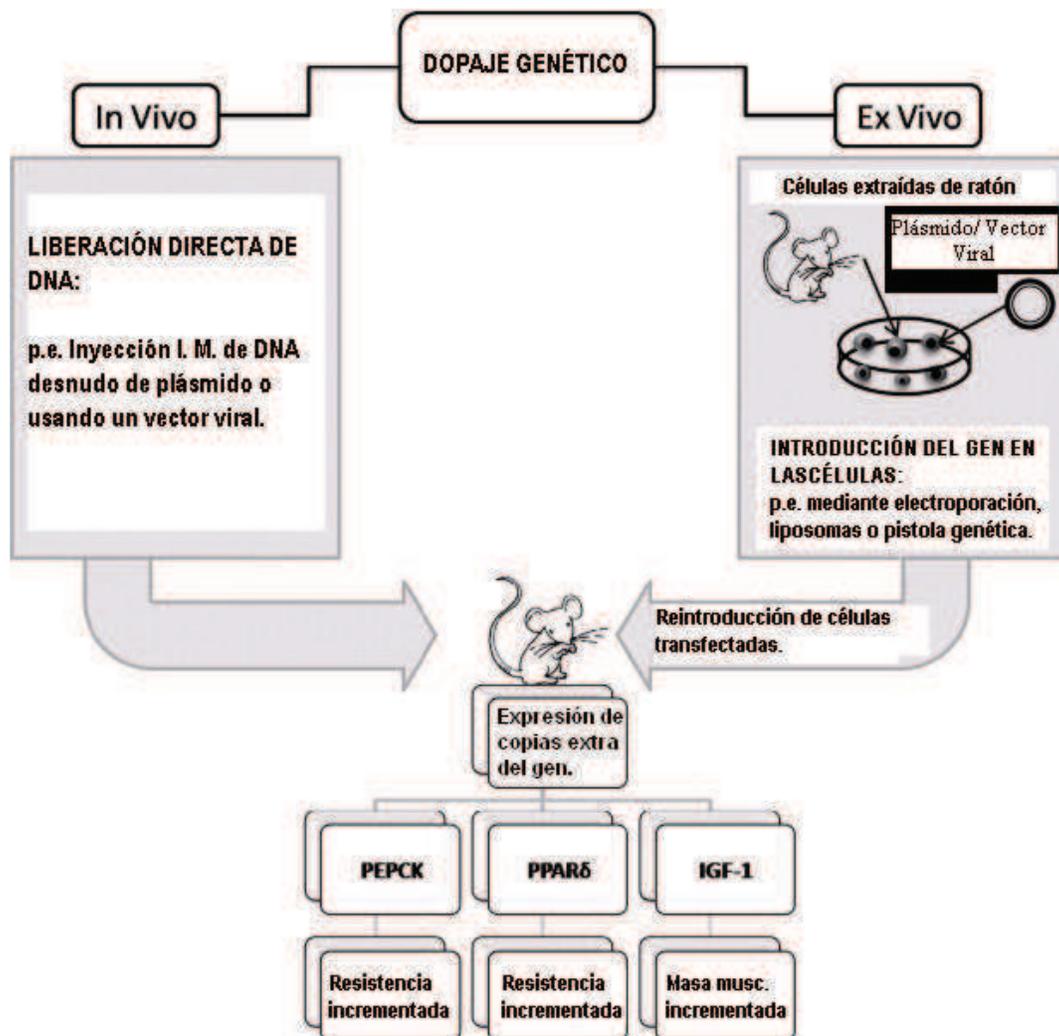


Fig.31. Esquema de cómo se introduce un determinado gen para su expresión en células de ratón (Tomado de Azzazy, 2009).

No obstante que las pruebas en terapia génica resultan en algunos casos mortales. Los estudios se han desarrollado en modelos animales, el éxito de tales estudios han atraído la atención en el ambiente deportivo. Los probables objetivos en el dopaje genético son:

Factor de crecimiento de tipo 1 similar a insulina (IGF-1), Activador de Receptor Proliferador de Peroxisoma δ (PPAR δ), miostatina y el menos comúnmente discutido Carboxiquinasa de Fosfofenolpiruvato (PEPCK) (Tabla 4).

Tabla 4. Pruebas de inserción de genes en ratones (Tomada de Azzazy, 2009).

Gen Blanco	Estudio	Resultado
IGF-1	Inserción de gen usando un vector viral.	Incremento de un 20%-30% en fuerza, masa muscular y resistencia.
PPAR δ	Inserción del gen en cigotos de ratón.	El tiempo corriendo mejoro el 67%, mientras que la distancia en un 92%. Resistencia a obesidad incluso con falta de ejercicio y en dieta rica en grasas.
PEPCK	Línea de ratones transgénicos	La alimentación de los ratones transgénicos fue 60% mayor que la de los controles pero tuvieron la mitad del peso corporal y solo 10% de grasa corporal. Los ratones transgénicos corren una distancia de al menos 4.9 km y los controles solo 0.2 km. El tiempo de vida aumenta en relación con los animales control. Los ratones de 2.5 años corren el doble de rápido que los ratones control de entre 6 a 12 meses de edad.

Hay diversos riesgos asociados con el dopaje genético que los atletas probablemente pasan por alto, estos incluyen los riesgos generales de la terapia génica tales como respuestas inmunes violentas al vector viral, respuesta autoinmune a la proteína recombinante y la inserción de la mutagenesis propia. Otros riesgos se asocian con los productos del gen en particular, por ejemplo en el ensayo de “súper ratón” de Hakimi, en el que se consiguió la sobre expresión de PEPCK, este ratón desarrolló un alto grado de hiperactividad y una conducta altamente agresiva, esto combinado con el hecho de que se requiere modificar la línea germinal en todo el musculo esquelético, significa que la aplicación en humanos es un enorme desafío ético. Por otra parte los macacos que expresan EPO sufren severas respuestas inmunes hacia la EPO endógena y la recombinante y un incremento en la viscosidad sanguínea obstaculizando el flujo sanguíneo y el funcionamiento cardiaco. En el caso del mejoramiento muscular con la expresión de IGF-1 o con la inhibición de miostatina, no es claro como los huesos y tendones pueden soportar esta masa muscular extra ya que pueden tener sobrecarga (Azzazy, 2009).

La prohibición actual de la práctica del dopaje genético es un acto simbólico hasta que no se encuentre una manera de detectar las alteraciones genéticas introducidas.

Aunque existan riesgos para el deporte, no se puede detener el desarrollo de la terapia génica, la biotecnología y la ingeniería genética, porque son herramientas en las cuales la comunidad científica ha cifrado las esperanzas de:

-Solucionar muchas enfermedades que diezman a la población mundial (Producción de vacunas, medicamentos, etc).

-Solucionar grandes problemas relacionados con la producción de alimentos, lo cual es posible mediante la aplicación de la biotecnología y la ingeniería genética (Productos transgénicos, etc).

Evidentemente todas las herramientas y tecnologías necesarias para introducir los avances de la terapia génica con fines deshonestos están disponibles, y la única limitación existentes es de tipo ético.

Los intereses ajenos al deporte podrían compulsar a las industrias biofarmacéuticas a violar los aspectos éticos del problema a cambio de obtener ganancias sustanciosas.

Principios de la bioética.

Entre otros muchos, uno de los principios de la bioética dice: “... *los conocimientos que se adquieran (sobre genoma y terapia genética) deben ser para beneficio de la humanidad y no deben desvirtuarse por intereses privados o colectivos contrarios a los derechos de las personas...*”.

El doping genético pudiera decretar la muerte definitiva del deporte como símbolo de la superación humana (Miah, 2004).

3.0. HISTORIA Y EVOLUCIÓN DE LAS TÉCNICAS ANTIDOPAJE.

Las organizaciones antidopaje efectúan su mayor esfuerzo por desarrollar controles efectivos para prevenir y combatir el dopaje y obtener resultados confiables que no impliquen resultados falsos positivos y falsos negativos en la evidencia analítica, esto se logra con el esfuerzo en conjunto de la Agencia Mundial, el Comité Olímpico Internacional (OIC), las Federaciones Deportivas Internacionales y las Agencias Nacionales Antidopaje. Los Juegos Olímpicos han sido fundamentales para el desarrollo de técnicas de análisis de dopaje ya que, durante la preparación y dentro de estos juegos las técnicas de análisis se han ido sofisticando y adaptando a las necesidades de identificar y cuantificar las nuevas sustancias que utilizan los deportistas con fines de mejorar el desempeño atlético (Hemmersbach, 2008).

En el atletismo se sabe que el abuso de esteroides se produjo desde la década de los 50's, y era común en los 60's, pero las sanciones sólo pudieron ser ejecutada con la aplicación de la técnica de CG / EM (cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas) en la década de 1970.

Durante la década de 1960 Sweeley y Horning efectuaron estudios de esteroides empleando cromatografía de gas logrando publicar el primer perfil metabólico de esteroides, así mismo el desarrollo de técnicas de derivatización permitieron separar en un sólo cromatograma, esteroides de todo tipo, andrógenos, corticoesteroides, etc. La espectrometría de masas había existido desde los años 20's y hasta finales de lo 30's se usó para el estudio de metabolismo de esteroides de referencia, en estos estudios se utilizaron isótopos estables y mediciones de la relación de isotopos en el estudio del metabolismo de esteroides.

El desarrollo decisivo fue el diseño de un sistema que pudiera conectar dos instrumentos que operaran a presiones extremas opuestas, el cromatografo y el espectrómetro de masas. Una solución fue el desarrollo de una interfase separadora molecular. Este separador removía efectivamente casi todo el gas portador del Cromatografo de Gases, permitiendo concentrar la muestra al introducirse en la fuente iónica del espectrómetro de masas.

El desarrollo de Cromatografía de Gas acoplada a Espectrometría de Masas mostró progresos constantes en los próximos 40 años. Fundamental, en términos de control de dopaje, fue la introducción del perfil total de esteroides mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas.

En los años 70's el control de dopaje estuvo auspiciado por la Asociación Internacional de Federaciones Atléticas (IAAF), la cual introdujo las primeras reglas antidopaje en 1928. Los esteroides anabólicos fueron incluidos en esas reglas, también elaboro procedimientos detallados para la realización de pruebas, incluyendo la recolección e identificación de muestras de orina y los métodos de análisis. Las reglas adoptadas por IAAF a mediados de los 70's requerían que los esteroides anabólicos debieran ser identificados positivamente, garantizando con ello la necesidad de utilizar espectrometría de masas para ser identificados.

En 1967 la Comisión Médica del Comité Olímpico Internacional, prohibió la práctica del dopaje en el deporte. En ese momento no fueron incluidos los esteroides anabólicos como sustancias prohibidas por que no se había implementado ninguna prueba para ellos.

En 1970 el Radioinmunoensayo (RIA) fue la primera técnica nueva que permitía la medición de esteroides hormonales en suero u orina con alta especificidad.

A diferencia de RIA, con CG/EM se pudieron analizar los metabolitos de los esteroides anabólicos y no el fármaco original. El medicamento más usado era dianabol que se metaboliza a 6 β -hidroxidianabol y su epímero C17 (17 β -metil, 17 α -hidroxi).

Para detectar el dopaje con esteroides endógenos y con los conocimientos sobre endocrinología, el científico Raymond Brooks, razono que el exceso de testosterona podría llevar a la supresión de la secreción pituitaria de gonadotropinas, por ejemplo, hormona luteinizante (LH). La relación de testosterona contra Hormona Luteinizante se estudió en 10 voluntarios varones después de la administración de 250 mg de una preparación inyectable de éster de testosterona. Se midió la testosterona libre (éter extraído) directamente por RIA y la testosterona total después de la hidrólisis con la enzima β -glucuronidasa. Todas las personas mostraron aumentos dramáticos en la proporción de testosterona en relación con Hormona Luteinizante. En la década de 1980 el Dr. Donike, ideó una prueba urinaria en base a la relación de testosterona/epitestosterona, para la detección de abuso de testosterona, misma que sigue vigente al día de hoy (Shackleton, 2009).

Estas y otras acciones se vinieron implementando a fin de permitir el éxito en el análisis de esteroides anabólicos endógenos y exógenos, sus metabolitos, estimulantes, etc., así como la detección de nuevas formas de dopaje, mediante técnicas e instrumentación que permitirían reducir los límites de detección por su gran resolución.

Los primeros controles antidoping se iniciaron en los juegos Olímpicos de Grenoble y en los de la Ciudad de México en 1968. Los controles antidoping y los análisis antidoping en estos juegos pueden ser considerados como proyecto piloto, pero la sistemática de los controles y análisis antidoping fueron llevados a cabo en todos los deportes de los Juegos Olímpicos de Múnich 1972. Fue hasta esos juegos que la espectrometría de masas fue introducida como herramienta para identificar sustancias dopantes. En la siguiente tabla (Tabla 5) se presenta una revisión de los avances en el análisis de sustancias dopantes a partir de las Olimpiadas de Múnich 1972 hasta Beijing 2008.

Tabla 5. Revisión de cómo el análisis de sustancias dopantes se ha desarrollado a partir de las Olimpiadas de Múnich 1972 hasta Beijing 2008 (Olimpiada XXIX) (Tomada de Hemmersbach, 2008).

<p>Múnich 1972 Técnicas y equipo implementados: Espectrómetro de Masas acoplado en la interface vía capilar de vidrio a un Cromatografo de Gas con columna empacada, denominado Atlas MAT CH-5. Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: En siete de 2,079 muestras de orina se encontraron anfetamina, efedrina, fenmetrazina y niketamida. Criterios de control implementados: - El laboratorio debía hacer un reporte durante las primeras 24 horas de haber recibido las muestras para garantizar la rapidez y efectividad en el manejo de resultados. - El laboratorio tuvo además el desafío de analizar cuatro muestras control con agentes dopantes, introducidas entre las muestras normales sin que el laboratorio supiera de ellas.</p>
<p>Montreal 1976 Técnicas y equipo implementados: -El procedimiento de screening para EAA se baso en inmunoensayos, mientras la confirmación con CG/EM se aplico después de la hidrólisis, purificación y concentración y un paso final de trimetilsilil derivatización. -Espectrometria de Masas fue el método de detección de elección para la identificación definitiva de EAA y sus metabolitos en orina. - Fueron introducidos el Monitoreo de ion selección (SIM) e ionización química (IQ), para complementar la revisión en la modalidad de Impacto Eléctrico (IE). Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: De 1,786 muestras de orina analizadas, en 11 se encontraron agentes dopantes, ocho por presencia de EAA. Sustancias agregadas a la “Lista de Sustancias Prohibidas”: Un año antes de los Juegos se agrego la clase de Esteroides Anabólicos Androgénicos (AAS por sus siglas en inglés). Criterios de control implementados: El laboratorio debía Solicitar que el atleta se presentara al reanálisis de su muestra.</p>
<p>Moscú 1980. Técnicas y equipo implementados: No se cuenta con mayores datos en la literatura. Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: No se reportaron hallazgos</p>

de agentes dopantes después del análisis de 1,645 muestras. En 1983 ya se sospechaba del uso de esteroides de testosterona y la excreción de metabolitos naturales.
-El reanálisis de las muestras de orina recolectadas fue positivo para la administración de testosterona.
-Se determinó el umbral permitido de la relación testosterona/epitestosterona.

Los Ángeles 1984

Técnicas y equipo implementados:

Primera vez que 1,510 muestras de orina son analizadas usando la técnica de cromatografía de gas acoplada a espectrómetro de masas cuadrupolos de baja resolución (LREM) en modalidad SIM y fusionaron las columnas capilares de sílica directamente con la fuente del ion. Se aplicaron también Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) y Radioinmunoensayo (RIA) e interpretación del perfil de esteroides en orina.

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: La relación de testosterona con epitestosterona (T/E) sólo se pudo medir con CG/EM, determinando en la lista de sustancias prohibidas que esta relación no debía exceder de 6, después se descubrió que algunos atletas muestran un incremento natural en esta relación y el manejo de tales resultados fueron modificados.

Sustancias agregadas a la “Lista de Sustancias Prohibidas”: - Betabloqueadores.

Seúl 1988

Técnicas y equipo implementados: Nuevos tipos de detectores masa-selectivos fueron instalados, resaltando la detección con Espectrometría de Masas con cuadrupolo de baja resolución.

Desarrollo de metodología por CG/EM para estimulantes, narcóticos y esteroides anabólicos. Los Diuréticos fueron incluidos al inicio de 1988.

Investigación para el análisis de Corticoesteroides con tecnología de Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de Masas. La técnica de ionización aplicada fue termoespray.

Primeros juegos en que se aplico examen antidoping a los caballos.

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: -El creciente conocimiento del metabolismo, conjugación y excreción de esteroides en orina, se hace más exitoso con el apoyo de la derivatización y la cromatografía.

Se detecta el esteroide androgénico anabólico estanozolol al derivatizar sus metabolitos el 3'OH-estanozolol y el 3'OH-epistanozolol.

-10 muestras fueron casos positivos para esteroides anabólicos androgénicos, betabloqueadores y estimulantes.

Criterios de control implementados:

-Los Corticoesteroides fueron sustancias sujetas a ciertas restricciones en 1988.

Barcelona 1992

Técnicas y equipo implementados: -Espectrometría de Masas y método de Isoelectroenfoco para detección de Eritropoyetina (EPO), en muestras de orina. También se aplico a transfusiones sanguíneas autologas (autotransfusión) y no autologas.

-Sistemas de CL/EM con interface de emisor de partículas y cuadrupolo como detector para EM fueron usados para detectar diuréticos y compuestos lábiles. Además Cromatografía de Líquidos y Cromatografía de Gases con una variedad de

otros detectores.

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: Se encontraron 5 muestras, conteniendo estricnina, norefedrina, mesocarb (estimulante) y clenbuterol (anabólico). Se requiere compartir conocimientos entre laboratorios de control para revelar el dopaje con tales sustancias.

Sustancias agregadas a la “Lista de Sustancias Prohibidas”:

- En 1990 EPO fue puesta en la lista de sustancias prohibidas, hasta ese tiempo el método de detección estuvo listo.

Lillehammer 1994

Técnicas y equipo implementados: -Implementación de una estrategia para identificar el uso de EAA (Esteroides Anabólicos Androgénicos), el examen fuera de competencia puede ser efectivo en estos casos, analíticamente, los límites de detección deben ser tan bajos como sea posible para conseguir un largo periodo de detección, recurriendo a uso de la espectrometría de masas de alta resolución (HREM). El incremento de la resolución de masas de 5,000 a 10,000 decrece el trasfondo biológico en la modalidad SIM y la instrumentación de doble sector de enfoque es más sensible que el filtro cuadrupolo de masas. Después de la optimización, los límites de detección para metabolitos de EAA bajaron a 10-50 pg/mL. Se instaló con este propósito un instrumento de doble enfoque con geometría inversa.

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: -Se evaluó el uso de transfusiones sanguíneas no autólogas.

Criterios de control implementados:

-Bajas concentraciones de norandrosterona en una mujer debieron evaluarse usando los conocimientos científicos disponibles. Además de la posibilidad de producción endógena, la presencia de norandrosterona debido a la administración de una sustancia no prohibida, como norethisterona, debió tomarse en cuenta. En la actualidad WADA proporciona documentos técnicos con notas explicando que toma en cuenta nuevos conocimientos acerca de la estabilidad de norandrosterona en muestras de orina.

Atlanta 1996

Técnicas y equipo implementados: El incremento en la sensibilidad se logro con el uso de espectrometría de masas de doble enfoque.

- El desarrollo de Espectrometría de Masas de relaciones isotópicas (CG-C-IREM, siglas en inglés) Cromatografía de Gases-Combustión-Espectrometría de Masas mediante detección de la relación de isotopos, aunque no se utilizo esta tecnología de manera oficial en estos juegos.

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: -Dos muestras con presencia de metabolitos de esteroides anabólicos androgénicos.

-Se identificó el estimulante bromantano, agente dopante de diseño, al cual siguió el carfedon (4-fenilpiracetam), puede ser considerado como piracetam fenil sustituido, en el cual mediante esta sustitución se genera una estructura fenilalquilamina. Analíticamente estas drogas de diseño fueron fácilmente detectadas por CG/EM.

Nagano 1998

Técnicas y equipo implementados: -Se empleo de manera oficial la tecnología de Cromatografía de Gas combinada con una unidad de combustión y un espectrómetro

de masas de relaciones isotópicas (CG-C-IREM).

-Las técnicas de IREM fueron desarrolladas para el control de dopaje antes de 1994. Estas demostraron que la administración de testosterona conduce a diferencias en la proporción de $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ entre metabolitos de testosterona y compuestos de referencia endógenos que no estuvieron involucrados en el metabolismo de la testosterona. El mismo enfoque tecnológico fue ampliado a otros esteroides endógenos producidos, tales como dehidroepiandrosterona.

-Las características de los esteroides y la técnica de IREM se volvieron métodos analíticos para descubrir el dopaje con esteroides endógenos.

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: -Uno de los varios hallazgos es el de ácido 11-nor- Δ^9 -tetrahidrocannabinol-9-carboxílico, un metabolito de cannabis a una concentración que excedía el límite de 15ng/mL.

Criterios de control implementados:

-En ese tiempo los productos de cannabis fueron sujetos a ciertas restricciones, hoy en día están prohibidos durante las competencias.

-La insulina, fue prohibida después de estos Juegos Olímpicos.

Sídney 2000

Técnicas y equipo implementados: - Aunque en los 90's se dio la aparición de dopaje con una hormona proteica, la EPO, la detección de su abuso no fue reportada.

- Dos mecanismos se siguieron para revelar el abuso de EPO, una identificación de las formas recombinantes de EPO en orina, y una determinación de los efectos fisiológicos en los parámetros hematológicos en sangre.

- Los científicos se enfocaron durante estos juegos a revelar prácticas de dopaje que incrementaban la capacidad de transportar oxígeno.

- Para tener controles efectivos de dopaje se requirió tomar muestras de orina después de las competencias, ya que muchas clases de sustancias prohibidas pueden ser efectivas como agentes dopantes después de que los metabolitos salen del organismo del atleta (por ejemplo EAA o EPO).

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: -Se registro un incremento en el uso de suplementos nutricionales, conteniendo prohormonas esteroides (androstenediona, dehidroepiandrosterona, norandrostenediona y norandrostenediol), metabolizados en el organismo humano a agentes dopantes y excretados como sus marcadores y metabolitos.

-Otras sustancias como piruvato, ribosa y creatinina. Estos productos no están prohibidos pero a veces están contaminados con prohormonas. Se encontraron 11 muestras con este tipo de contaminantes.

Criterios de control implementados:

-IREM fue implementada completamente y los criterios para aplicar esta técnica incluyen el incremento en las concentraciones de esteroide en las evaluaciones iniciales. La relación de las concentraciones entre T/E, androsterona, etiocolanolona, y dehidroepiandrosterona y la evaluación de parámetros que indicaban el abuso de dehidrotosterona.

-El progreso en la identificación de agentes dopantes mediante EM se ha respaldado por estándares de referencia certificados como tales.

Salt Lake City 2002

Técnicas y equipo implementados: Se dio la lucha contra las prácticas de dopaje relacionadas con el aumento en la transferencia de oxígeno. Estas comprenden tanto el

abuso de hormonas de glicoproteínas, tales como eritropoyetinas recombinantes y su análogo darbepoietina o la nueva proteína estimulante de eritropoyesis (NESP) y las prácticas de transfusión sanguínea autóloga y no autóloga.

Nuevos métodos para detectar el abuso de hidroxietilalmidón (HES). Nuevo grupo de agentes dopantes denominados expansores de plasma:

- El uso de CL/EM y desorción de la matriz asistida por laser a tiempo de vuelo (MALDITOF)/EM, revela el abuso de este y otros expansores de plasma.

-Se desarrollo la separación quiral, con el fin de discriminar entre dos isómeros ópticos. Otra aplicación de la separación quiral es para la diferenciación de salbutamol administrado vía oral o inhalado.

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: -Se detecto en tres atletas la preparación denominada Aranesp, además llamada NESP (contiene darbepoietina).

-Nuevos desarrollos farmacéuticos como efaproxiral, modificador alostérico sintético de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, pudo detectarse por medio de CG/EM usando los métodos ya existentes.

-Se encontró mediante Espectrometría de Masas, levmetanfetamina (R(-)-metanfetamina).

Sustancias agregadas a la “Lista de Sustancias Prohibidas”:

-El grupo de diuréticos y otros agentes enmascarantes.

Criterios de control implementados:

- Tanto el isómero R (-) y S (+) metanfetamina, están prohibidos, pero tienen diferentes potenciales de estimulación, por lo que el nivel de sanción es diferente.

Atenas 2004

Técnicas y equipo implementados: -Los laboratorios se enfrentaron a nuevas técnicas como el aumento de la recaptación, transporte o liberación de oxígeno en el organismo a través de, por ejemplo, hemoglobina destinada a transportar oxígeno (HBOCs).

-Las evaluaciones iniciales para estas preparaciones son directamente en muestras de sangre, porque la administración colorea el suero de rojo. Para confirmar la detección, se desarrollaron métodos de CL/EM, además del procedimiento de exclusión por tamaño en CL.

- La espectrometría de masas se combinó con Cromatografía Líquida de ultra resolución (UPLC/TOF/EM) y se aplicó a la detección de corticoesteroides.

Agentes dopantes encontrados en atletas participantes: -Se encontró el estimulante isometefeno por CG/EM creando la necesidad de hacer el seguimiento del metabolismo y compararlo con el de heptaminol.

Sustancias agregadas a la “Lista de Sustancias Prohibidas”:

-Nuevas posibles prácticas de dopaje.

-Se incluyeron agentes con actividad antiestrogénica.

Turín 2006

Técnicas y equipo implementados: - Incorporación de Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de Masas de cuadrupolo triple etapa.

Criterios de control implementados:

No siempre los hallazgos de sustancias adversas resultan en sanción, en el caso del hallazgo de catina mayor que el límite de 5µg/mL en orina, debido a altas cantidades de pseudoefedrina indica que las cantidades de catina estuvieron de acuerdo con la administración de pseudoefedrina la cual no está prohibida.

Beijín 2008

Hasta el momento la Espectrometría de Masas es el único método de confirmación autorizado, pudiendo aplicarse en conjunto con Cromatografía de Gas o Cromatografía Líquida.

En cuanto a las Olimpiadas más recientes no se detuvieron los esfuerzos para tratar de detectar las sustancias y métodos de dopaje en el ámbito deportivo, tal es el caso de los Juegos Olímpicos en Londres, Inglaterra (2012) en donde se puso en funcionamiento un megalaboratorio antidoping que efectuó controles en los 10,500 deportistas que participaron de las distintas pruebas atléticas. Más de 150 científicos analizaron un número récord de 6,250 muestras durante los 15 días que duró la competencia. Pero, a pesar de los avances, los científicos reconocen que existen al menos cien nuevas drogas para potenciar el rendimiento que no pueden ser detectadas por los controles actuales. El almacenamiento y posterior transfusión de la propia sangre continúa siendo una de las prácticas más difíciles de controlar. Sin embargo, científicos dicen que están cerca de hallar un test que comparará la frescura de la sangre, al examinar el componente genético de los glóbulos rojos. Esperando que el uso de estos marcadores permita distinguir la sangre que ha sido almacenada, de la que está en el cuerpo de forma natural (Ballarino, 2012). En lo que respecta a las Olimpiadas de Invierno 2014 en Sochi, Rusia, se detectaron cinco casos de dopaje principalmente con estimulantes; la biatleta alemana Evi Sachenbacher-Stehle dio positivo para el estimulante prohibido metilhexaneamina. Tanto la prueba como el contraanálisis dieron positivo, la Agencia Alemana Antidopaje había advertido del peligro de ingerir metilhexaneamina a través de complementos alimenticios. También William Frullani, miembro del equipo italiano de bobsleigh, dió positivo por dimetilpentilamina, la esquiadora ucraniana Marina Lisogor fue expulsada de los juegos olímpicos después de dar positivo en la prueba por trimetazidina, un estimulante, así como el jugador de hockey Vitalijs Pavlovs dio positivo para el estimulante metilhexaneamina. Cada caso de dopaje es una decepción, pero también es una prueba de que el sistema de controles funciona. (Miller, 2014). En el siguiente capítulo se detallan los aspectos más relevantes de las técnicas analíticas de mayor importancia en la evaluación de sustancias dopantes.

4.0. TÉCNICAS ANALÍTICAS DE IMPORTANCIA EN EL CONTROL ANTIDOPAJE.

A los procedimientos que utilizan las autoridades deportivas para detectar el uso de sustancias y prácticas prohibidas se le denomina **Control de Dopaje**, que consiste en el análisis de una muestra de orina o sangre del deportista en cuestión. Éste puede ser elegido aleatoriamente, o bien a elección de los oficiales deportivos. El control puede comunicarse antes o realizarse sin anuncio previo, y hacerse tanto en competición como fuera de temporada. En caso de encontrarse algún producto prohibido, el deportista puede presentar alegaciones que justifiquen su uso por razones médicas, o pedir que se analice la segunda muestra que se le tomó, el llamado "contraanálisis" (Ramos, 1999).

Entre las diferentes clases de sustancias prohibidas detectadas en muestras de orina de atletas tanto en competencias globales como en Juegos Olímpicos, los Esteroides Anabólicos son la categoría de agentes dopantes más frecuentes. La detección de esta familia de compuestos es un gran reto analítico debido al gran número de Esteroides Anabólicos y sus metabolitos, la similitud entre las estructuras tanto de esteroides endógenos como exógenos y las bajas concentraciones que se encuentran en muestras de orina. Los esteroides anabólicos son típicamente monitoreados usando CG/EM en modalidad de ión seleccionado (SIM), de esta forma, es posible lograr una determinación cualitativa de la mayoría de esteroides exógenos con límites de detección en el intervalo de 2 a 10 ng/ml y la cuantificación del perfil de esteroides endógenos (Delgadillo, 2012).

Los análisis para control antidopaje se han convertido en un campo multidisciplinario para la química analítica principalmente utilizando técnicas cromatográficas y espectrometría de masas. Estas estrategias conducen a la detección de fármacos de abuso en el ámbito deportivo cubriendo un amplio rango de xenobióticos (agentes narcóticos, estimulantes, diuréticos y otros medicamentos prohibidos) así como análogos sintéticos de hormonas producidas de forma endógenas como la testosterona (Fragkaki, 2009).

El análisis químico ha experimentado en los últimos años un considerable desarrollo, caracterizado esencialmente por el empleo de instrumentos, más o menos complejos, capaces de medir propiedades físicas o químicas que permiten la identificación de los compuestos químicos. Estas técnicas instrumentales presentan indudables ventajas sobre métodos analíticos clásicos.

Dado el elevado número de técnicas instrumentales existentes y la complejidad de algunas de ellas, sólo se hará referencia a las de mayor utilidad en el análisis de sustancias dopantes, con una descripción básica de sus fundamentos y principales aplicaciones.

4.1. CROMATOGRAFIA DE GASES (CG).

La cromatografía agrupa un conjunto importante de métodos, que permite separar mezclas complejas en sus componentes.

En este sistema la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica, la fase móvil es un gas inerte (Hidrogeno, argón, nitrógeno: no interaccionan con las moléculas del analito solo lo transportan a través de la columna) que fluye a través de una columna que contiene la fase estacionaria; ésta puede ser un adsorbente, (cromatografía gas-sólido) o un soporte inerte recubierto por un líquido relativamente poco volátil (cromatografía gas-líquido). De estos dos tipos de cromatografía la cromatografía gas-líquido es la de mayor aplicación.

La limitación inicial de su aplicación, exclusiva para las sustancias volatilizables, se ha solventado con la posibilidad adicional de obtener derivados volátiles para aquellas sustancias que no lo son en principio. Esto, junto a la utilización de distintos tipos de detectores, que se detallan más adelante, hace su aplicación prácticamente universal.

El sistema cromatográfico debe disponer, además de la columna, de un horno perfectamente regulado que albergue la columna; un inyector a través del cual se pueda introducir la muestra en la columna; un detector (también a temperatura variable y regulable); un medio de programar y regular el flujo de la fase móvil y cualquier otro gas que pueda necesitar el detector y un medio adecuado para amplificar y registrar aquellos que el detector “descubre” en el efluente (Fig. 32).

En la práctica se introduce una muestra en el inyector, donde es volatilizada inmediatamente y de donde es recogida por el gas portador y transportada a través de la columna. Los componentes más solubles son retenidos más tiempo en la fase estacionaria y los menos solubles atraviesan con mayor rapidez la columna.

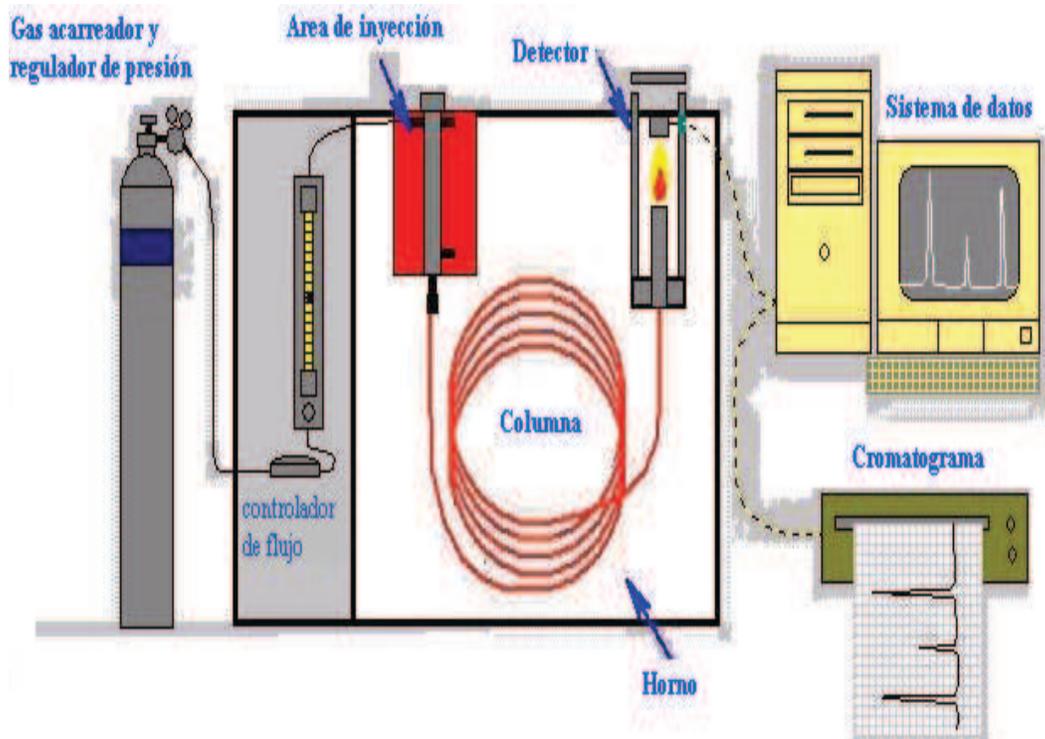


Fig. 32. Componentes de un cromatógrafo de gases (Recuperado el 16 de octubre de 2013 de <http://cosasdequimicos.blogspot.com/2009/12/tutoriales-de-cromatografia-liquida.html>).

La resolución de una mezcla en sus componentes es función de:

1. Longitud y diámetro de la columna.
2. Soporte específico y concentración de la fase estacionaria.
3. Naturaleza y velocidad del gas portador.
4. Tamaño de la muestra.
5. Propiedades físicas y químicas de los componentes de la mezcla.

Cada componente de la mezcla es detectado a un tiempo específico y característico en unas determinadas condiciones de trabajo (*tiempo de retención, T_R*). El tiempo de retención se define como el tiempo transcurrido desde la introducción de una muestra en la columna hasta que sale de ella la mayor cantidad del analito de interés y es detectado (el pico de una curva de tipo gaussiana).

4.1.1. Tipos de detectores para cromatografía de gas.

1. De ionización a la llama (FID).
2. De conductividad térmica (TCD).
3. De captura de electrones (ECD).
4. Detector termoiónico (de nitrógeno-fósforo) (TID).
5. Detector de emisión atómica (AED).

La función básica de un detector es que debe producir respuestas muy rápidas a pequeñas concentraciones de soluto.

La señal es amplificada electrónicamente y registrada como una serie de picos, obteniéndose así un *cromatograma*. El análisis cualitativo se basa en los tiempos de retención para cada pico, mientras que la intensidad de la señal (el área de pico o altura de pico) es función de la concentración de cada componente. Así es posible la cuantificación mediante la utilización de patrones de concentración conocida, en cualquiera de las modalidades normalmente empleadas (patrón interno y curva de calibración).

1. Detector de ionización a la llama (FID): Es el más usado, esto se debe a que es prácticamente universal para los compuestos orgánicos, donde es bastante sensible y tiene un comportamiento excelente. Los gases que efluyen de la columna son introducidos en una llama formada por H₂ y aire cuya conductividad eléctrica está permanentemente registrada. En el momento en que un compuesto de carbono se eluye de la columna, se quema y durante la reacción de combustión se generan iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama y la corriente resultante es medida. La ionización en la llama de los compuestos que contienen carbono no es un proceso bien establecido, aun que se observa que el número de iones que se produce es relativamente proporcional al número de átomos de carbono reducidos en la llama.

2. Detector de conductividad térmica (TCD): Es totalmente universal y muy sencillo, aunque no es muy sensible. Se emplea básicamente en el análisis de gases. Su baja sensibilidad impide usarlo con columnas capilares. Los gases que salen de la columna entran en un compartimiento en el que se encuentra un filamento caliente, cuya temperatura depende de la capacidad del gas que le rodea en disipar calor, esto es, su **conductividad térmica**. En el momento en que se eluye de la columna un compuesto con diferente conductividad térmica que el gas portador, la temperatura del filamento

varía, y por tanto su resistencia eléctrica, lo que es registrado en forma de aumento o disminución de la corriente.

3. Detector de captura de electrones (ECD): Este detector es selectivo para las moléculas que contienen átomos electronegativos, como peróxidos o halógenos e insensible a compuestos como aminas, alcoholes, o hidrocarburos. Por lo que se emplea en el análisis de pesticidas halogenados. Se trata de un detector tremendamente sensible y en algunos casos hasta inestable. El efluente de la columna se hace circular entre un pequeño núcleo de un metal radiactivo que emite electrones (partículas $-$), y un electrodo cargado positivamente que los recibe. En el momento en que de la columna eluye una especie de átomos electronegativos, capaces de capturar a dichos electrones, se detecta una disminución de la corriente del electrodo.

4. Detector termoiónico (TID): Se trata de un detector selectivo de los compuestos orgánicos que contienen fósforo y nitrógeno. En comparación con un FID, el TID es 500 veces más selectivo para los compuestos que contienen fósforo y 50 veces más con los compuestos que contienen nitrógeno. Un detector termoiónico tiene una configuración similar al detector de llama. El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno, pasa a través de la llama y se quema. El gas caliente fluye alrededor de una bola de silicato de rubidio calentada eléctricamente. La bola caliente forma un plasma que alcanza una temperatura de 600 a 800 °C. Esto provoca que se produzcan una gran cantidad de iones a partir de las moléculas que contienen fósforo o nitrógeno, lo que resulta en una gran corriente de iones, la cual se utiliza para la determinación de compuestos que contienen esos dos elementos.

5. Detector de emisión atómica (AED): Es el detector más reciente. En este detector el *eluyente* se introduce en un plasma de helio obtenido por microondas que se acopla a un espectrofotómetro de emisión con series de diodos. El plasma es suficientemente energético como para atomizar todos los elementos de una muestra, excitarlos, y así obtener los espectros de emisión. Estos espectros son recogidos en un espectrómetro.

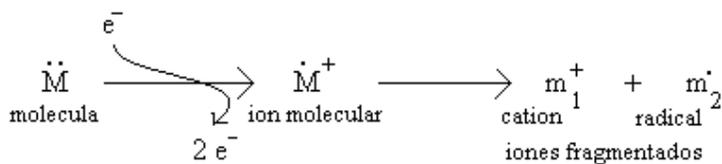
En general las notables cualidades para el fraccionamiento que tiene la cromatografía de gas con las propiedades de identificación que proporcionan algunos instrumentos como los antes descritos y en particular los espectrómetros de masas que enseguida veremos, proporcionan al químico unas potentes herramientas para la identificación de los componentes de mezclas complejas (Skoog, 2001 y Jickells, 2008).

4.2. ESPECTROMETRIA DE MASAS (EM).

De todas las herramientas analíticas de que dispone un científico, la espectrometría de masas es quizá la de mayor aplicación, en el sentido de que esta técnica es capaz de proporcionar información acerca de la composición elemental de la muestra, la estructura de las moléculas inorgánicas, orgánicas y biológicas, así como de la composición cualitativa y cuantitativa de mezclas complejas y de las relaciones isotópicas de átomos en las muestras.

Como muchas reacciones químicas usadas para análisis, el propósito básico de la espectrometría de masas es convertir la muestra en productos que son indicativos de la molécula original. Los productos formados son bastante raros: iones positivos gaseosos, cuya masa y abundancias relativas son mostrados en el espectro de masa.

En todos los casos, alguna forma de energía es transferida a las moléculas a analizar para efectuar la ionización. En la técnica clásica de impacto electrónico (EI), un gran haz de electrones de elevada energía es utilizado para desplazar un electrón de la molécula orgánica para formar un radical catiónico conocido como ion molecular. Si el ion molecular es inestable este puede fragmentarse para dar otros iones más pequeños (en otras palabras algunas de las moléculas ionizadas del analito “explotan” en una variedad de fragmentos ionizados).



El conjunto de iones producidos son enfocados dentro del haz y acelerados en el campo magnético y desviados de acuerdo a las masas de los iones, con el ajuste del campo magnético, los iones pueden ser orientados hacia el detector y registrados. El patrón de fragmentación resultante así como los iones residuales constituyen el espectro de masas. En principio, el espectro de masas de cada compuesto es único y puede ser usado como su “huella química” para caracterizar el analito (Montuy, 2006). Esta técnica ofrece numerosas ventajas frente a las técnicas espectrofotométricas ya que:

- Los límites de detección que son, para muchos elementos, tres órdenes de magnitud más sensibles frente a los métodos ópticos.
- Espectros notablemente más sencillos, generalmente únicos y con frecuencia fácilmente interpretables.
- Capacidad para medir relaciones isotópicas atómicas.

La espectrometría de masas se fundamenta en la separación de partículas moleculares o atómicas por su diferente masa.

4.2.1. Componentes básicos de un espectrómetro de masas.

Consta esencialmente de las siguientes partes (Fig. 33):

- Sistema de entrada de muestras.
- Cámara de ionización.
- Acelerador: Aceleración de los iones por un campo eléctrico.
- Analizadores: Dispersión de los iones según su masa/carga.
- Detector: Detección de los iones y producción de la correspondiente señal eléctrica.

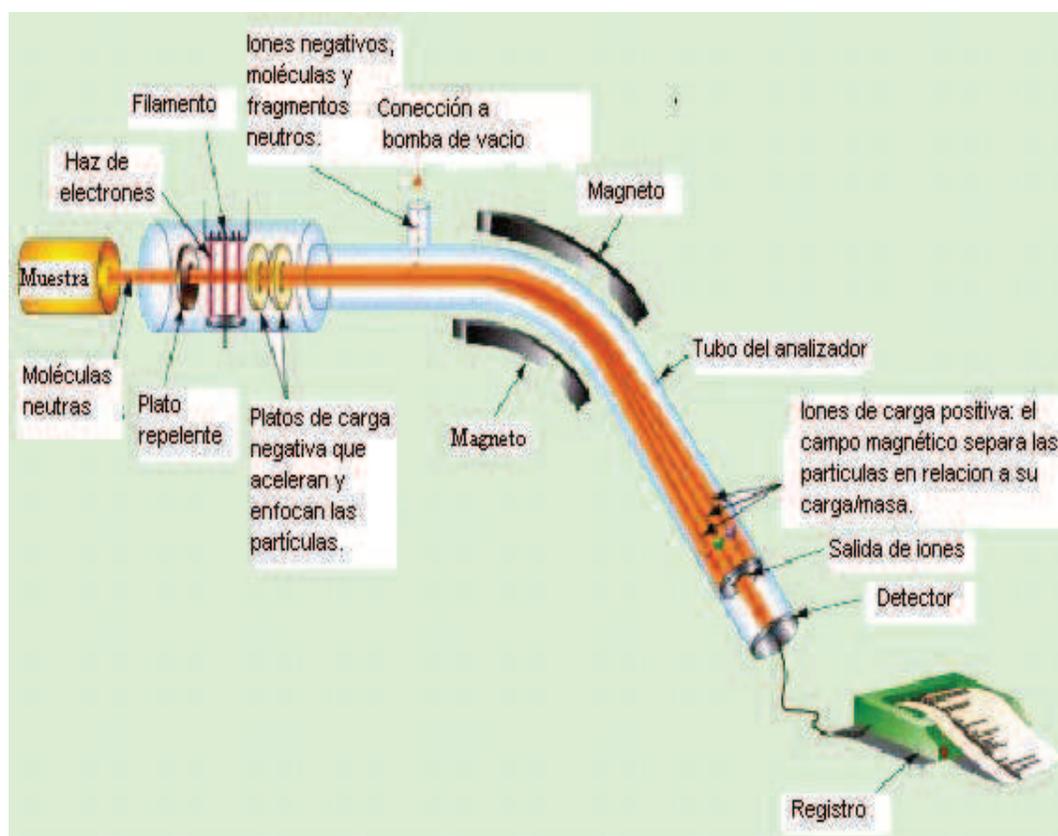


Fig. 33. Componentes de un instrumento de espectroscopia de masas (Recuperado el 28 de octubre de 2013 de http://www.ugr.es/~quiro_red/espec/EM1.htm).

1. Sistema de entrada de muestras.

En el sistema de entrada de muestras, se convierte un micromol o menos de muestra al estado gaseoso por calentamiento a unos 400°C y se introduce lentamente en la cámara de ionización. La finalidad del sistema de entrada es permitir la introducción de una muestra representativa en la fuente de iones con la mínima pérdida de vacío.

2. Cámara de ionización.

Las fuentes de iones de los espectrómetros de masas, tienen todas unas características comunes, pese a la variabilidad de tipos existente y es que todas transforman los componentes de una muestra en iones.

En muchos casos el sistema de entrada y la fuente de iones están combinados en un único componente. En todos los casos, se obtiene un haz de iones positivos o negativos (normalmente positivos) que posteriormente se acelera hacia el interior del analizador de masas o sistema separador a través del acelerador (Skoog, 2005).

3. Sistema acelerador.

En el sistema acelerador las partículas ionizadas producidas por el impacto de los electrones son obligados a atravesar una primera ranura aceleradora por una pequeña diferencia de potencial. Entre esta primera y una segunda ranura existe una diferencia de potencial muy elevada que imprime a las partículas su velocidad final. Una tercera ranura actúa como colimador del haz de partículas (enfoca).

4. Analizadores de masa.

Para la separación de iones con diferente relación m/e se dispone de varios dispositivos (los cuales se detallan en la sección 4.2.3). Lo ideal es que el analizador fuera capaz de distinguir entre diferencias muy pequeñas de masa. Además, los analizadores deberían de permitir el paso del número suficiente para producir corrientes iónicas fáciles de medir.

5. Detectores.

Los iones procedentes del sistema acelerador llegan al detector el cual generalmente esta constituido por un cátodo emisor que al recibir el impacto producido por las partículas cargadas emite electrones. Estos electrones son acelerados hacia un dínodo el cual emite varios electrones más al recibir el impacto de cada electrón. Este proceso se repite varias veces hasta obtenerse una cascada de electrones que llega al colector lográndose una corriente fuertemente amplificada. La corriente obtenida puede amplificarse de nuevo por procedimientos electrónicos y se lleva a un sistema registrador.

4.2.2. Tipos de cámaras de ionización.

La formación de iones del analito es el punto de arranque de un análisis por espectrometría de masas. El aspecto de los espectros de masas para distintas especies moleculares, depende en gran medida del método utilizado para la formación de los iones. Estos métodos los podemos dividir en dos categorías: a) Fuentes de fase gaseosa y b) Fuentes de desorción. Normalmente los espectrómetros de masas están equipados con accesorios que permiten intercambiar ambos tipos de fuentes.

Las fuentes de iones se clasifican a menudo en *fuentes duras* o *fuentes blandas*. Las fuentes duras comunican energía suficiente a las moléculas, de manera que se encuentran en un estado de energía altamente excitado, la relajación posterior, implica la rotura de las uniones, produciendo iones fragmentados con una relación masa/carga menor que la del ion molecular. Las fuentes blandas dan lugar a poca fragmentación, en consecuencia, el espectro de masas resultante, consta del pico del ion molecular y sólo alguno o incluso ningún otro pico. El espectro complejo de una fuente dura proporciona información útil acerca de la naturaleza de los grupos funcionales, así como información estructural de los analitos. Los espectros de una fuente blanda son útiles, ya que permiten la determinación exacta del peso molecular de la molécula o moléculas.

a) Fuentes de fase gaseosa: En estas primero se volatiliza la muestra y luego se ioniza. Están generalmente restringidas a compuestos térmicamente estables que tengan puntos de ebullición menores de unos 500°C. En la mayoría de los casos, estos requerimientos limitan la utilización de las fuentes de fase gaseosa a compuestos con pesos moleculares menores de unos 10,000 Daltons.

Las más usadas de este tipo son las siguientes:

-Fuentes de Impacto de Electrones (EI).

Se somete a la muestra a una temperatura suficientemente elevada (normalmente mediante un filamento caliente de wolframio o de renio) para producir un vapor molecular, el cual posteriormente se ioniza bombardeando las moléculas originadas con un haz de electrones de elevada energía, los iones viajan a través de la cámara de iones hasta un ánodo (trampa de iones) en el lado opuesto. El flujo de moléculas vaporizadas de la muestra a una presión de aproximadamente 10^{-3} Pa (10^{-5} torr) que entra a la fuente interactúa con el flujo de iones para formar una variedad de productos, incluyendo los

iones positivos. Con la EI se pueden introducir muestras de moléculas largas usando la técnica de haz de partículas.

-Fuentes de Ionización Química (IQ).

Para IQ el gas reactivo **R** es introducido a la fuente de iones a una concentración en exceso ($\sim 10^4:1$) comparado con la muestra y es ionizado por bombardeo de electrones o descarga eléctrica. Los iones $R^{+\bullet}$ inicialmente formados pueden reaccionar con otras moléculas de **R** para formar iones reactivos los cuales atacan las moléculas de la muestra.



Esta reacción es favorecida por que la afinidad de las moléculas de la muestra es mayor que la del reactivo (Jickells, 2008).

- Fuentes de ionización por campo (FI).

En las fuentes de ionización por campo, los iones se forman bajo la influencia de un campo eléctrico elevado (108 V/cm). Estos campos se producen al aplicar elevados potenciales (10 a 20 kV) a emisores especialmente contruidos. Que están formados por numerosas puntas finas cuyos diámetros son menores a 1 μm . A menudo estos emisores adquieren la forma de un fino hilo de wolframio en el cual se han formado dendritas o filamentos microscópicos de carbono por pirolisis de benzonitrilo en un campo eléctrico elevado. El resultado de este tratamiento es la aparición de centenares de microagujas de carbón que emergen desde la superficie del hilo. En este caso el analito adquiere poca energía vibracional y rotacional por lo que tiene poca fragmentación.

b) Fuentes de desorción:

Son aplicables a muestras no volátiles y térmicamente inestables. Estas técnicas prescinden de la volatilización y de la posterior ionización y en su lugar se suministra energía a la muestra sólida o líquida de diversas maneras, de modo que se provoca la formación directa de iones gaseosos. Como consecuencia se obtienen espectros muy simplificados (solo el ion molecular o el ion molecular protonado). Son aplicables a compuestos que tienen pesos moleculares superiores de 1,000, 000 Daltons (10^5 Da).

- Fuentes de desorción por campo (FD).

Esta fuente de ionización usa un emisor con múltiples puntas, similar al usado en las fuentes de ionización por campo. En este caso el electrodo se coloca sobre una sonda que puede retirarse y recubrirse con una disolución de la muestra, después de reinsertarla la ionización se produce tras proporcionar un potencial elevado a este electrodo. En ocasiones es necesario calentarlo haciéndole pasar una corriente pero puede ocurrir una degradación térmica antes de completarse la degradación.

- Desorción/ionización por láser asistida por una matriz (MALDI).

Esta técnica de reciente descubrimiento nos permite calcular pesos moleculares exactos de extractos de biopolímeros polares en un intervalo de masas moleculares de varios cientos de miles de Daltons. En esta técnica se mezcla una disolución acuoso/alcohólica de la muestra con un exceso de una sustancia matriz que absorbe la radiación. La disolución resultante se evapora en la superficie de una sonda metálica que se utiliza para la introducción de la muestra. La mezcla sólida se expone a la acción de un haz de láser pulsante, provocando la sublimación del analito a iones que son introducidos en un espectrómetro de tiempo de vuelo para el análisis de masas (Skoog, 2001).

- Ionización por electronebulización (ESI/EM).

Esta técnica se ha convertido en una de las más importantes para el análisis de biomoléculas de pesos superiores a 100,000 Daltons. Se realiza en condiciones atmosféricas de presión y temperatura y no en alto vacío. Como interface para HPLC, tiene la virtud de aceptar todo el flujo procedente de un cromatógrafo de líquidos, sin la necesidad de división del flujo, consiguiendo un alto rendimiento.

Entre el capilar de entrada de la muestra y el contraelectrodo se aplica una tensión de 3-6 kV. Por el efecto del intenso gradiente de campo eléctrico presente y con ayuda de nitrógeno como gas nebulizador, la muestra emerge del capilar de entrada en forma de un aerosol de pequeñas gotas, que adquieren una carga eléctrica muy elevada. Debido a que las gotitas se vuelven más pequeñas por la evaporación del disolvente, su densidad aumenta produciéndose la desorción de los iones en la atmósfera gaseosa (las fuerzas coulombianas de repulsión entre los iones son capaces de vencer la tensión superficial escapando a la fase gaseosa).

La ionización ESI es extremadamente suave, consiguiendo iones casi moleculares intactos, evitando la rotura de enlaces de tipo covalente. Un requisito para ESI es que los iones estén formados ya en disolución (se puede favorecer variando el pH o con la adición de aditivos en la fase móvil de la HPLC). Si una especie existe en disolución con más de una posición ionizable, entonces por ESI se creará más de una carga en fase gaseosa. De esta forma se pueden detectar especies multicargadas de alto peso molecular en el rango normal de masas de un espectrómetro de masas (Muñoz-Guerra, 2008).

4.2.3. Tipos de analizadores de masas.

- **Analizadores de sector magnético:** los analizadores de sector magnético utilizan un imán permanente o un electroimán para hacer que el haz procedente de la fuente de iones se desplace con una trayectoria circular de 180, 90 o 60°. Estos analizadores también son llamados de enfoque simple (Fig. 34).

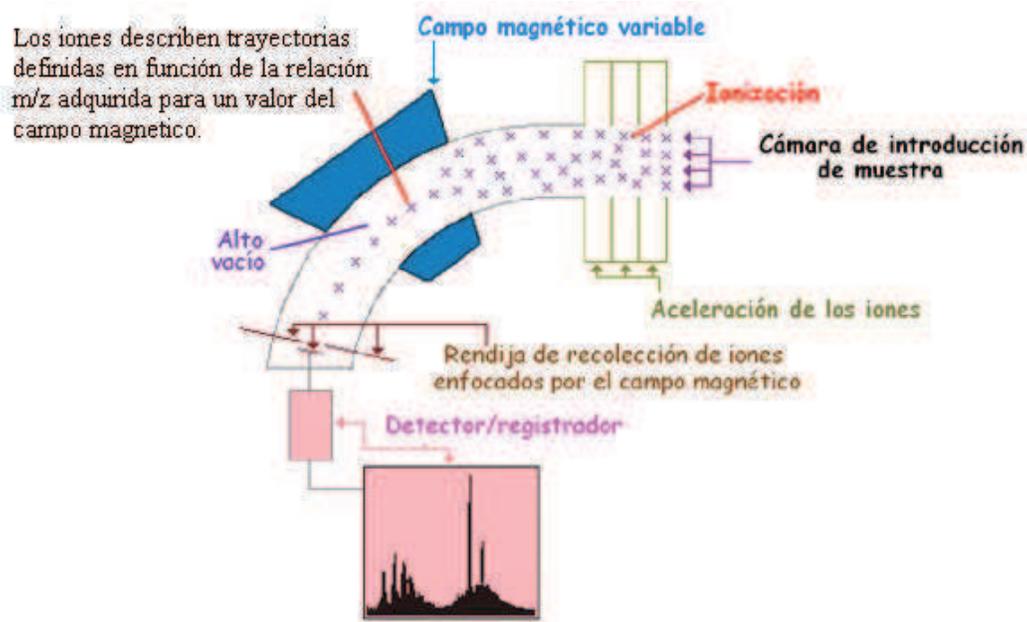


Fig. 34. Diagrama esquemático de un analizador de masas de sector magnético (Recuperado el 10 de noviembre de 2013 de <http://cosasdequimicos.blogspot.com/2009/12>).

- **Espectrómetros de doble enfoque:** este término se usa en los espectrómetros en los cuales las aberraciones direccionales y las aberraciones de energía de una población de iones se minimizan simultáneamente (la distribución de energías cinéticas produce un ensanchamiento del haz de iones que llega al detector generando una pérdida de

resolución y como el objeto es medir masas atómicas y moleculares con precisión de partes por millón se diseñan estos instrumentos que corrigen tanto las distribuciones direccionales como las energías de los iones). El doble enfoque (Fig. 35) se consigue utilizando combinaciones de campos magnéticos y electrostáticos cuidadosamente seleccionados.

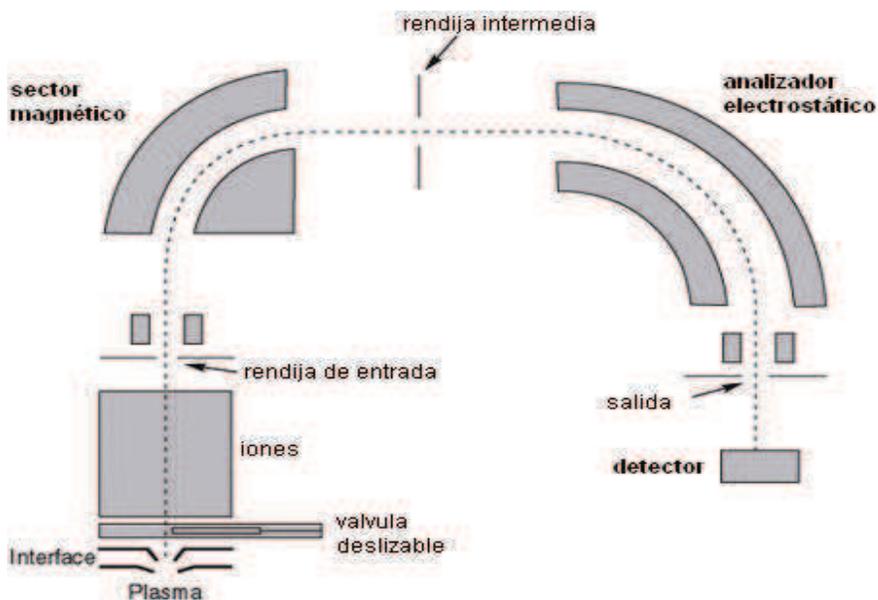


Fig. 35. Diagrama esquemático de un analizador de masas de doble enfoque (Recuperado el 10 noviembre de 2013 de <http://cosasdequimicos.blogspot.com/2009/12>).

- **Espectrómetro de masa cuadrupolar:** son normalmente menos caros y más robustos que los de sector magnético, además también ofrecen la ventaja de emplear tiempos de barrido pequeños, lo cual es particularmente útil para realizar barridos de picos cromatográficos en tiempo real (Fig. 36), son los más utilizados hoy en día.

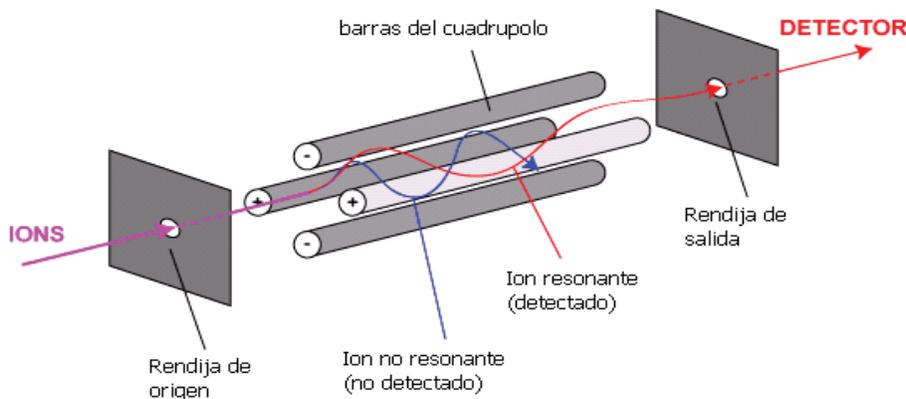


Fig. 36. Diagrama de un espectrómetro de masa cuadrupolar (Recuperado el 10 de noviembre de 2013 de <http://www.chm.bris.ac.uk/EM/theory/quad-masspec.html>).

- **Analizadores de masas de tiempo de vuelo (TOF):** en estos aparatos se producen los iones positivos periódicamente por bombardeo de la muestra con impulsos de electrones, de iones secundarios o de fotones generados por láser. Los iones producidos de esta forma son acelerados en un tubo analizador libre de campo magnético mediante un campo eléctrico pulsante de 10³ a 10⁴ V. La separación de los iones en función de la masa se produce durante su recorrido hacia el detector, situado al final del tubo. Estos aparatos presentan ventajas como la robustez, simplicidad, fácil acceso a las fuentes de iones y el virtualmente ilimitado intervalo de masas, pero tienen no obstante una sensibilidad y una resolución limitadas.

- **Analizadores de trampa de iones:** es un dispositivo en el que los cationes o aniones gaseosos pueden formarse y quedar confinados durante largos periodos de tiempo por la acción de campos eléctricos y/o magnéticos. Los espectrómetros de trampa de iones son más robustos, compactos y más económicos que los anteriores.

- **Transformada de Fourier (FT):** Los espectrómetros de masas de transformada de Fourier proporcionan mejores relaciones señal/ruido, velocidades mayores y sensibilidad y resolución más elevadas.

La parte fundamental de un instrumento de transformada de Fourier es una trampa de iones en la cual los iones circulan en órbitas bien definidas durante largos periodos. Tales cavidades se construyen aprovechando el fenómeno de resonancia iónica ciclotrónica.

La resolución en espectrometría de masas de transformada de Fourier está limitada por la precisión en la medida de la frecuencia más que por las rendijas o las medidas de campo. Es posible alcanzar una resolución extremadamente elevada dado que las medidas de frecuencia se pueden realizar con elevada precisión.

4.2.4. Obtención y análisis de un espectrograma de masas.

Como consecuencia del bombardeo electrónico en la cámara de ionización, las moléculas se rompen en una serie de fragmentos, siempre que una misma molécula se rompa en las mismas condiciones nos dará el mismo tipo y número de fragmentos y constituyen la fragmentación patrón. Gracias a esto se pueden determinar que es la muestra por comparación y por otra parte, la intensidad relativa de los distintos picos,

permite deducir la proporción en que cada componente se encuentra en la muestra. El pico del espectrograma que aparece con valor más elevado de relación masa/carga (m/z) corresponde a la molécula ionizada sin fragmentar y recibe el nombre de masa patrón. Esta masa patrón nos permite determinar con rapidez y precisión la masa molecular, siempre que se opere con una tensión de ionización no excesivamente elevada, la cual produciría la fragmentación total de la molécula. El pico mayor del espectrograma de masa se llama pico base (Fig. 37). Normalmente la altura de este pico se toma como valor cien. Las intensidades de los demás picos se expresan en porcentajes de la intensidad del pico base (Hoffmann, 2007).

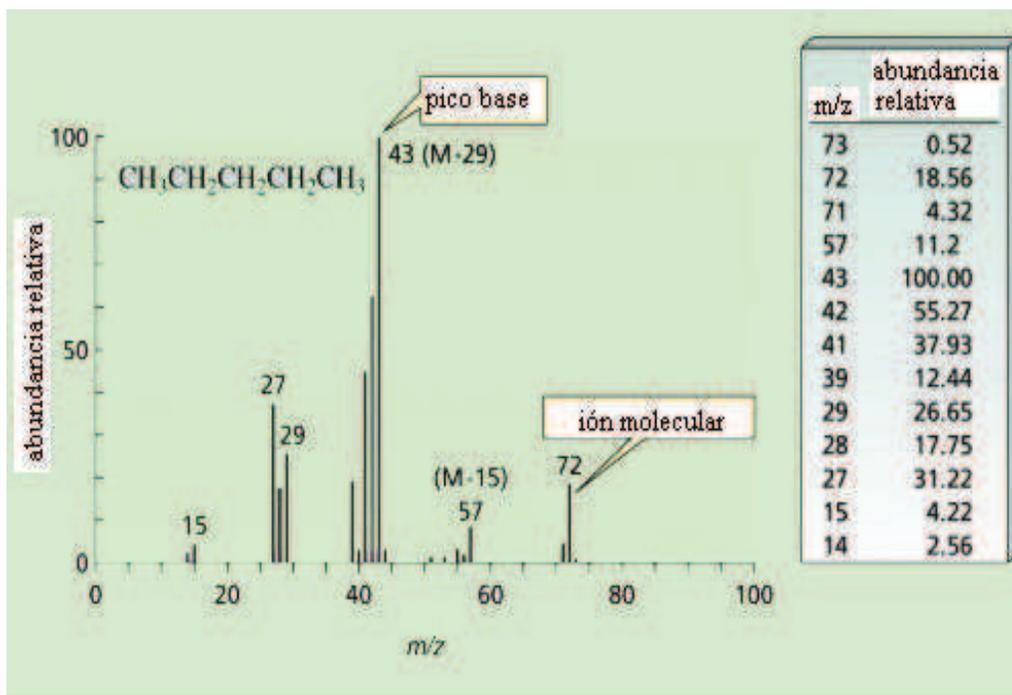


Fig. 37. Aspecto clásico de un espectrograma de masas, en el que se señalan su pico base y su ión molecular más importante. La tabla situada a la derecha nos indica la abundancia relativa porcentual y la relación m/z de cada uno de los fragmentos generados del analito (Recuperado el 10 de noviembre de 2013 de <http://www.ugr.es/~quiro red/espec/EM1.htm>).

Otra parte fundamental de los espectrómetros de masas son los ordenadores o procesadores de datos ya que estos determinan, almacenan, muestran la altura y la relación masa/carga de cada pico, de igual manera los ordenadores almacenan todos los espectros que están disponibles para buscar con rapidez el que coincida con el espectro del analito en estudio.

4.3. ACOPLAMIENTO CROMATOGRAFÍA DE GASES/ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

Como ya vimos la cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato de que disponemos para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando analizamos muestras con un número elevado de componentes.

Por otra parte, la espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente.

Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, CG (“Gas Chromatography”) y EM (“Mass Spectrometry”) da lugar a una técnica combinada CG/EM que permite la separación e identificación de mezclas complejas.

La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas requiere sistemas especiales de conexión. En principio, se trata de dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitan una muy pequeña cantidad de muestra para su análisis, por lo que son muy compatibles.

El único obstáculo serio a la hora de realizar su acoplamiento es que el efluente que emerge de la columna cromatográfica sale a presión atmosférica y debe introducirse en el interior del espectrómetro de masas que trabaja a alto vacío.

En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas.

En este proceso, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma o “TIC” (total ion

current). En efecto, la corriente iónica generada por todos los iones da lugar a un pico gaussiano de área proporcional a la concentración del compuesto detectado.

En el caso de mezclas complejas, el cromatograma obtenido puede presentar muchos picos, algunos de ellos muy próximos, resultando difícil la identificación rápida y fiable de algún compuesto de interés. Cuando se desea explícitamente localizar la presencia de uno o varios compuestos determinados, de espectro conocido, con la mayor rapidez o con la máxima sensibilidad posible se recurre a la técnica de detección SIM (“selected ion Monitoring”). En esta modalidad de trabajo se detectan solamente algunas masas de interés, en lugar de trabajar con el total de los iones (TIC). De esta forma, se aumenta la selectividad del método, reduciéndose las interferencias (Skoog, 2005 y López, 2008).

Determinación cuantitativa de especies moleculares.

La determinación cuantitativa de uno o más componentes en sistemas complejos orgánicos se llevan a cabo haciendo pasar la muestra a través de una columna cromatográfica y posteriormente por el espectrómetro de masas (CG/EM). Con el espectrómetro a un valor adecuado de masa/carga, se registra la corriente de iones en función del tiempo. Esta técnica se denomina *control selectivo de iones*. En algunos casos se controla en forma cíclica, corrientes de tres o cuatro veces el valor de la masa/carga mediante un cambio rápido de un pico a otro. La representación gráfica de los datos o el *cromatograma de masas*, consiste en una serie de picos cromatográficos cada uno de los cuales aparece a un tiempo que es característico de uno de los diversos componentes que da iones del valor o valores elegidos de masa/carga. Generalmente las áreas de los picos son directamente proporcionales a las concentraciones del componente y por tanto, sirven como parámetro analítico. En este procedimiento, el espectrómetro de masas actúa como un detector selectivo para un análisis cromatográfico.

En un segundo tipo de espectrometría de masas cuantitativa, las concentraciones de analito se obtienen a partir de las alturas de los picos de los espectros de masas. A veces, para mezclas sencillas, es posible encontrar para cada componente, picos a un valor de carga/masa único. En estas condiciones, se pueden preparar curvas de calibrado de las alturas de los picos frente a la concentración y utilizarlas para el análisis cuantitativo. Sin embargo, se pueden obtener resultados más precisos añadiendo una cantidad fija de una sustancia patrón interno tanto a las muestras como a los patrones de

calibración. Se representa la relación entre la intensidad del pico de las especies del analito y los patrones internos en función de la concentración de analito.

Un tipo de patrón interno adecuado es un análogo estable del analito marcado isotópicamente.

Otro tipo de patrón interno es un homólogo del analito que dé un pico de ion de intensidad razonable para un fragmento que sea químicamente similar al fragmento del analito a medir.

4.4. ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM.

Esta otra técnica acopla un espectrómetro de masas a otro. El primer espectrómetro sirve para aislar los iones moleculares de los diferentes componentes de una mezcla. Estos iones se introducen seguidamente uno detrás de otro en un segundo espectrómetro de masas donde son fragmentados para dar una serie de espectros de masas, uno por cada uno de los iones moleculares obtenidos en el primer espectrómetro. Esta técnica a menudo se abrevia como MS/MS.

En un instrumento en tándem, el primer espectrómetro está equipado con una fuente de ionización blanda (a menudo una fuente de ionización química) para que la salida sea mayoritariamente de iones moleculares o iones moleculares protonados. Estos iones pasan a continuación a la fuente de ionización del segundo espectrómetro. Normalmente esta segunda fuente de iones consiste en una cámara de colisiones libre de campo en la que se bombea helio. Las colisiones entre los iones progenitores de movimiento rápido y los átomos de helio produce fragmentaciones de los primeros dando numerosos iones hijos. El espectro de estos iones hijos se obtiene con el segundo espectrómetro. En este tipo de aplicación, el primer espectrómetro tiene la misma función que la columna cromatográfica en CG/EM ya que proporciona una por una las especies iónicas puras para su identificación en el segundo espectrómetro (Skoog, 2005).

Otras técnicas instrumentales importantes para la detección de sustancias dopantes que también se pueden acoplar al espectrómetro de masas son la cromatografía líquida de alta resolución y la cromatografía líquida de ultra resolución que a continuación se detallan.

4.5. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR O HPLC)

El cromatógrafo líquido es prácticamente igual que el cromatógrafo de gases, con la salvedad de sustituir la botella de gas a presión (fase móvil) por un sistema de impulsión de líquido (bomba) y de que el sistema de inyección (cámara de vaporización en cromatografía de gas) es un simple introductor de muestras en cromatografía líquida.

De forma esquemática los componentes básicos son:

Sistema de suministro, Inyector, Columna, Detector Registrador, Bombeo y conducciones de la fase móvil (Fig. 38).

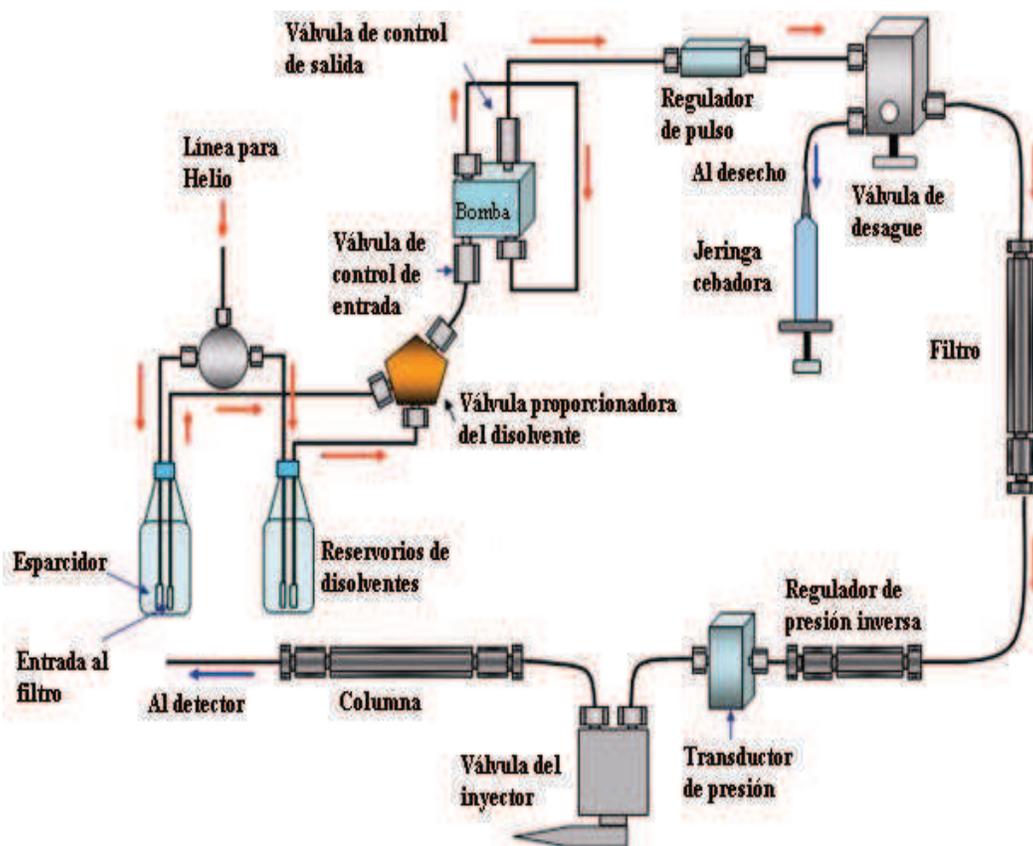


Fig. 38. Componentes básicos en un equipo de HPLC (Recuperado el 28 de octubre de 2013 de <http://Facultad.baamon.inter.edu/rrey/CHEM%203320/Laboratorio%207%20HPLC%20Cafeina.htm>).

Con la cromatografía líquida de alta resolución podemos separar eficazmente aquellas sustancias que posean una presión de vapor suficiente, sin sobrepasar los 350°C y sin sufrir descomposición térmica apreciable. También es aplicable a aquellas sustancias que posean un peso molecular medio o alto (>250 hasta 10⁶).

De forma general la cromatografía de gas se utiliza para separar gases y sustancias volátiles y mediante cromatografía de líquidos de alta resolución se separan compuestos de alto peso molecular y polímeros.

No obstante existe una enorme zona intermedia de solapamiento de ambas técnicas. En esta parte la cromatografía líquida posee la gran ventaja de poder aplicarse a todas aquellas sustancias susceptibles de alterarse térmicamente, permitiendo en general separaciones mucho más rápidas de grupos de sustancias dispersas. Desde el punto de vista funcional, la cromatografía líquida proporciona mayor precisión, mejor resolución y menor tiempo de análisis. Otras ventajas serían:

1. No destruye la muestra, lo que permite la detección por distintos sistemas dispuestos en serie e incluso su combinación con otras técnicas.

2. Requiere mínima preparación de las muestras y utiliza pequeñas cantidades de éstas.

Mediante el acoplamiento de la cromatografía de líquidos con la espectrometría de masas se pueden obtener tanto cromatogramas a tiempo real como reconstruidos por ordenador hasta los espectros de los picos eluidos.

4.5.1. Métodos cromatográficos en HPLC.

A) Cromatografía de reparto:

La cromatografía de reparto es hoy en día el método más utilizado. La cromatografía de reparto se divide en fase normal y fase reversa, cuyas principales diferencias radican en las distintas polaridades de sus fases estacionarias y móviles.

a) Cromatografía en fase reversa:

En la cromatografía de fase reversa su fase estacionaria es apolar, y la fase móvil polar. Las fases estacionarias han sido obtenidas haciendo reaccionar químicamente los centros silanoles activos de la sílice con un trialkilclorosilano.

La retención se produce en esta especie de capa líquida depositada químicamente como consecuencia de la distinta solubilidad relativa entre la fase estacionaria (apolar) y la fase móvil (polar).

Los compuestos más retenidos son los más apolares. La retención y *selectividad* se controlan fundamentalmente con la composición de la fase móvil. Para obtener una fase móvil de fuerza de elución óptima, se ensayan mezclas de metanol, acetonitrilo o tetrahidrofurano en agua.

Actualmente, el 75% de los análisis con HPLC se realizan en fase reversa. Permite un análisis directo de muestras acuosas y de compuestos solubles en agua o en disolventes relativamente polares (metanol) y con peso molecular no superior a 2000 o 3000 Daltons.

b) Cromatografía en fase normal:

En esta cromatografía a diferencia de en fase reversa, la fase estacionaria es polar y la móvil apolar. Las fases estacionarias se obtienen haciendo reaccionar químicamente los centros silanoles activos de la sílice con un trialkilclorosilano.

La retención también (como la de fase reversa) tiene lugar en esa especie de capa líquida depositada químicamente, como consecuencia de la distinta solubilidad relativa en la fase estacionaria (polar) y la fase móvil (apolar). Donde el analito menos polar será el primero que se eluye y el más polar el último en eluir. Es decir, cuanto más polar sea el analito, más tardará en eluir.

B) Cromatografía iónica:

La cromatografía iónica se usa para separar y determinar especies iónicas. La fase móvil es un líquido acuoso y salino que contiene un disolvente orgánico como metanol o acetonitrilo y un compuesto iónico que aporta una *contraión* de carga opuesta al analito. La elución de los pares iónicos se consigue mediante una disolución acuosa de metanol u otro disolvente orgánico soluble en agua. La fase estacionaria es una resina de intercambio iónico. Se trata de un material polimérico (p.e. poliestireno), que contiene muchos grupos funcionales por molécula y prácticamente insoluble en agua.

Hay dos tipos de cromatografía iónica, que se clasifican según el método empleado, para evitar que la alta conductividad de la fase móvil interfiera en la medida de conductividad del analito. Estos dos tipos son:

a) Con detector conductimétrico y supresión química: Se coloca una columna supresora del eluyente inmediatamente después de la columna analítica (de baja capacidad). Esta columna supresora es un intercambiador iónico de alta capacidad y de signo opuesto a la columna analítica, que convierte los iones del eluyente en especies moleculares poco ionizadas y no retiene los iones del analito. La columna supresora se debe regenerar periódicamente.

b) Con detector conductimétrico y supresión electrónica: Se utilizan fases móviles diluidas y de conductividad muy baja. Su conductividad se corrige de forma electrónica. Comparada con la supresión química, requiere un equipo más sencillo, pero menos sensible.

Aplicaciones de la cromatografía iónica:

Como aplicaciones de la cromatografía iónica está el análisis de drogas y sus metabolitos, sueros, conservantes de alimentos, mezclas para vitaminas, azúcares, y preparaciones farmacéuticas.

C) Cromatografía de exclusión por tamaños:

También conocida como cromatografía en geles permeables o de filtración en geles. Es una técnica que se aplica particularmente a especies de alto peso molecular.

La fase estacionaria está compuesta de partículas de sílice o polímeros en forma de gel, que contienen una red de poros uniformes. La retención está basada en el tamaño de las moléculas. Si las moléculas con más grandes que los poros, no pueden penetrar en ellos (sólo pasan las partículas), y son las primeras que se eluyen. Si las moléculas son más pequeñas que los poros, penetran en ellos recorriendo caminos mucho más largos, y serán las últimas en eluir. Si las moléculas tienen un tamaño intermedio, podrán penetrar en los poros más grandes (camino recorrido intermedio). Por tanto, el tiempo de residencia medio en los poros, depende del tamaño efectivo de las moléculas de los analitos.

La retención no se controla con la fase móvil, se controla eligiendo la fase estacionaria, cuya elección vendrá determinada por: si la separación se realiza en fase acuosa (filtración en gel), o en fase orgánica y el rango de pesos moleculares (tamaños) que contienen la muestra que queremos analizar. Cabe observar, que este tipo de separación difiere de los demás que han sido considerados, en que no implica una interacción química o física entre los analitos y la fase estacionaria. De hecho, se procura evitar este tipo de interacciones, dado que originan una mala eficacia de la columna.

Por otra parte la CG, ofrece la ventaja de la velocidad y simplicidad del equipo, pero la HPLC es aplicable a sustancias no volátiles y materiales térmicamente inestables (Skoog, 2005).

Otro tipo de cromatografía que es adaptable a equipos de HPLC con capacidad de soportar presiones de 600 bares (1bar=0.96 atmosferas), es la Cromatografía Líquida de Rápida Resolución (por sus siglas RRLC). El tamaño de partícula de la fase estacionaria es similar a la UPLC (cromatografía líquida ultrarrápida que a continuación se detalla), ya que se utilizan tamaños de partícula de 2.5 a 1.8 μ m, mejora la eficacia de los análisis por cromatografía líquida ya que permite resolver mezclas complejas (de hasta 40 sustancias como beta agonistas, betabloqueantes y estimulantes en menos de 5 minutos) en tiempos de análisis muy cortos e incrementar la sensibilidad de los análisis (incrementa la relación señal/ruido). El tamaño de partícula mejora la eficacia de la columna por que disminuye los caminos múltiples que los analitos deben seguir a lo largo de la columna y por otro lado, el menor tamaño también produce que la transferencia de los analitos que deben ser separados entre fases sea más efectiva, lo que permite disminuir la longitud de la columna sin que se produzca una pérdida del factor selectividad (capacidad de una columna para separar las bandas de dos especies) (Muñoz-Guerra, 2008).

4.6. UPLC: CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA ULTRARRÁPIDA.

La cromatografía Líquida de Ultra Resolución puede considerarse como una nueva modalidad de cromatografía líquida. Provee grandes mejoras en cuanto a sensibilidad, resolución y velocidad de análisis. Opera a presiones mayores que las empleadas en HPLC (10,000 a 15,000 psi; 1atm=14.7 psi, por lo tanto equivalen a 680 y 1,020 atmosferas, respectivamente), utiliza en sus columnas partículas de menos de 2.5 μ m (incluso 1.7 o 1.8 μ m, mientras que las columnas para HPLC son rellenas con partículas de 3 a 5 μ m) y a mayor velocidad en el flujo de la fase móvil decrece la longitud de la columna reduciendo el consumo de solventes y acorta los tiempos de análisis.

El principio de esta tecnología se soporta en la ecuación de van Deemter, la cual es una formula empírica que describe la relación entre la velocidad lineal (velocidad de flujo) y la altura de plato (HETP o eficiencia de la columna). El tamaño de partícula es una de las variables, que se usa en la curva de van Deemter para llegar al mejoramiento en la resolución de la cromatografía.

De acuerdo con la ecuación de van Deemter, mientras que el tamaño de partícula decrece a menos de $2.5\mu\text{m}$, no solo se gana en eficiencia, si no que la eficiencia no disminuye al incrementarse la velocidad de flujo o la velocidad lineal.

Mediante el uso de pequeñas partículas, la velocidad y la capacidad de pico (numero de picos resueltos por unidad de tiempo en gradientes de separación) se puede ampliar a nuevos límites, denominados Cromatografía Líquida de Ultra Resolución (UPLC). La tecnología toma ventaja de los principios cromatográficos en las separaciones por corrimiento usando columnas empaquetadas con pequeñas partículas y/o altas velocidades de flujo, con resolución y sensibilidad superior.

Dado que la presión es proporcional a la velocidad de flujo, las pequeñas partículas requieren presiones de operación mucho mayores y un sistema adecuado para obtener eficiencia. La eficiencia es proporcional a la longitud de la columna e inversamente proporcional al tamaño de partícula, por lo tanto, la columna puede ser acortada por el mismo factor tanto como el tamaño de partícula sin pérdida de resolución, por ejemplo en el caso de usar una velocidad de flujo tres veces más alta debido al tamaño de partícula y al acortamiento de la columna a un tercio, la separación es completada a $1/9$ del tiempo requerido, manteniendo la resolución.

No obstante partículas de $1.5\mu\text{m}$ tienen poca capacidad para retener debido a que su área superficial es pequeña. Las partículas a base de sílica tienen buena resistencia mecánica pero pueden verse limitadas por el pH, por lo cual se han fabricado híbridos de columnas de sílica y poliméricas (incorporan carbono en forma de grupos metilo), algunos fabricantes que han conseguido hacer aun más estables las columnas han desarrollado híbridos de segunda generación utilizando grupos etilo (BEH; Bridged ethyl hybrid), estas partículas son de $1.7\mu\text{m}$ y su estabilidad mecánica es debido a que se acoplan puentes de grupos metilo en la matriz de sílica.

Los científicos suelen anteponer la resolución por la velocidad. Con UPLC se incrementa la resolución en tiempos de corrimiento cortos generando más información rápida. Mientras que una separación con HPLC toma 12 minutos con UPLC se realiza la misma separación en menos de 30 segundos (Swartz, 2005 y Snehal, 2012). Debido a este reducido tiempo de análisis, los picos se estrechan y los analizadores de masas como el de tripe cuadrupolo, Analizadores de masas de tiempo de vuelo o híbrido de cuadrupolo que son muy sofisticados se hacen imprescindibles para detectar las respuestas. La alta resolución de UPLC se ha utilizado para análisis antidopaje como

separación de isómeros de posición como dexametasona y betametasona, efedrina y pseudoefedrina o isómeros de esteroides conjugados. Para futuras mejoras de la resolución en cromatografía se considera la cromatografía de líquido 2D, pero esta propuesta aún esta en desarrollo y no es aplicable para el control de dopaje (Veuthey, 2011).

4.7. INMUNOENSAYOS.

En los laboratorios de control de dopaje, los métodos inmunológicos se utilizan principalmente para la detección y confirmación de las hormonas peptídicas que se encuentran en la lista de sustancias y métodos prohibidos publicada por la Agencia Mundial Antidopaje, dichas sustancias son; la hormona gonadotropina coriónica (hCG) que promueve el mantenimiento del cuerpo luteo durante el inicio del embarazo, la hormona luteinizante (LH) que puede inducir la producción de testosterona en testículos y la Hormona del crecimiento (GH).

Adicionalmente las técnicas instrumentales antes descritas se pueden auxiliar de los inmunoensayos como herramienta orientativa para efectuar un tamizado inicial de las muestras a analizar.

Los inmunoensayos se fundamentan en la reacción antígeno-anticuerpo, donde el antígeno es el fármaco o sustancia dopante (que para abreviar en el presente apartado lo llamaremos tóxico) a determinar y los anticuerpos son inmunoglobulinas (generalmente Ig G) obtenidas de animales inmunizados por la sucesiva aplicación de dicho tóxico o a partir de un clon de células obtenidas a partir de un animal inmunizado (anticuerpos monoclonales). El anticuerpo (Ac) se suministra unido al tóxico (Ag) formando una molécula compleja, en que uno de los dos constituyentes esta “marcado” para permitir su determinación; la marca puede ser un isótopo radiactivo, un radical libre, una enzima que provoque una liberación, etc.

Las muestras han de ser líquidas, bien disoluciones, orina, suero sanguíneo, saliva, humor vítreo, sudor, o hidrolizados de pelo o de uñas.

Por tanto, básicamente, un inmunoensayo consiste en una reacción competitiva por unirse a un anticuerpo, entre un tóxico presente en la muestra, que actúa como antígeno, y ese mismo tóxico (antígeno) que, formando un complejo con su anticuerpo correspondiente, se añade a la muestra de reacción, estando uno de los dos componentes

de este complejo marcado de forma que pueda ser detectado y cuantificado cuando se libere del complejo.

Un esquema general de los inmunoensayos puede ser:

$$T^* + \text{anticuerpo} \longrightarrow [T^* - \text{anticuerpo}]$$
$$[T^* - \text{anticuerpo}] + \text{Tóxico problema} \longrightarrow [\text{anticuerpo-Tóxico}] + T^*$$

Donde T^* es el tóxico marcado y “Tóxico” es la misma sustancia en la muestra problema.

La naturaleza de la marca y, consiguientemente, la forma de detectarla, promueven diferentes clases de inmunoensayo, cuya exactitud y sensibilidad estarán limitadas por dos factores: la especificidad del anticuerpo y la sensibilidad del detector utilizado.

Los métodos en los que la determinación del compuesto marcado se realiza sobre la propia mezcla de reacción se denominan *inmunoensayos homogéneos* (FPIA), mientras que aquellos en que se precisa la separación del antígeno libre, para evitar interferencia con la marca del complejo, se denominan *inmunoensayos heterogéneos* (EIA, ELISA, RIA, etc.)

Las principales formas de inmunoensayos son las siguientes:

a) Reacción antígeno-anticuerpo, con precipitación observable, bien directamente, bien con el concurso de moléculas inertes que den mayor volumen al precipitado, bien con el empleo de técnicas electroforéticas que separen la macromolécula compleja formada (inmunolectroforesis) o simplemente inmunodifusión.

Las moléculas inertes suelen ser micropartículas de látex o bien oro coloidal, y según el procedimiento, el resultado puede ser directa o inversamente proporcional a la cantidad de tóxico en la muestra.

b) IH, inhibición de la hemoaglutinación; utiliza como marcador eritrocitos de cordero, a los que se une el fármaco como antígeno, para formar un complejo que, al reaccionar con el anticuerpo, se aglutinan o coagulan. Sin embargo, en presencia del tóxico se desplaza el complejo y no se produce la coagulación.

c) FIA, Inmunofluorescencia; se incluye una sustancia capaz de introducir inmunofluorescencia al complejo antígeno-anticuerpo cuando, al producirse éste, se libera una enzima (por ejemplo, β -galactosidasa) la cual activa fluorescencia. Una modalidad es la inmunofluorimetría de polarización (PFIA).

d) RIA, radioinmunoanálisis, esta técnica requiere la síntesis de un antígeno marcado radiactivamente con algún elemento isotópico, como I^{125} , H^3 , C^{14} . Este antígeno

radiactivo forma el complejo con el anticuerpo, y se añade a la disolución problema (orina, plasma, etc.); si en ésta hay el tóxico buscado, producirá desplazamiento o liberación del producto radiactivo, que quedará en la disolución y se podrá separar por centrifugación a 1.500 G. Se lleva una alícuota del sobrenadante a un contador de centelleo gamma, y comparando con curvas patrones se deduce la cantidad de toxico en la muestra.

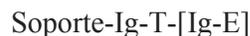
Alexander y Machie han propuesto separar la droga filtrando la solución por un papel de cambio iónico, que después se corta en trozos y se trata con la mezcla toxico marcado-anticuerpo; después de lavar el papel se mide en él la radiactividad residual.

e) FRAT: técnica de ensayo de radical libre; requiere el empleo de un espectrómetro de resonancia de spin electrónico capaz de detectar cuándo un reactivo formado por el complejo fármaco-radical libre está unido o no a un anticuerpo específico contra el fármaco. El marcador suele ser un radical nitróxido.

f) EIA: enzima inmunoensayo, se realiza en microplacas con pocillos, en los que se coloca el anticuerpo, que se liga al pocillo; se añade cantidad conocida del tóxico marcado con una enzima y finalmente la muestra; se incuba para permitir que el anticuerpo se fije al tóxico marcado y al tóxico de la muestra, si lo contuviera, el toxico de la muestra compite por el anticuerpo con el tóxico marcado, de forma que, cuanto más tóxico problema haya se liberará más del marcado. Después de lavar para eliminar el tóxico libre, se añade un reactivo sobre el que la enzima marcadora fijada provoca una coloración, que se mide, con un valor que será inversamente proporcional al del tóxico en la muestra.

g) ELISA: ensayo de enzima ligada a un inmunoabsorbente. Es también un ensayo competitivo parecido al EIA, pero a diferencia de éste, aquí la enzima no marca al tóxico, sino al anticuerpo. Tras el lavado queda sólo la fracción de anticuerpo enlazada al complejo restante, también en cantidad inversa al tóxico en la muestra. Existen dos modalidades:

1. En la modalidad de *sándwich*, al anticuerpo fijado se une el tóxico, que a su vez fija el complejo anticuerpo-enzima.



Después de eliminar por lavado el complejo [Ig-E] no fijado, la actividad de la enzima indicará la cantidad del tóxico presente.

2. En la modalidad competitiva, después de la unión Soporte-Ig-T se añade tóxico patrón conjugado a la enzima que se fijará a la Ig que quede libre sobre el soporte. Se tendrá:

Soporte-Ig-T

Soporte-Ig [T_p-E]

La actividad enzimática representará indirectamente, y en proporción inversa, la cantidad del tóxico en la muestra.

Las enzimas más utilizadas son peroxidasa, fosfatasa alcalina y β -galactosidasa (para medición por fluorescencia).

Estos procedimientos pueden resultar útiles para la detección de numerosos tóxicos, y en la actualidad podemos encontrar en el mercado sueros o anticuerpos para anfetaminas, barbitúricos, cocaína, difenilhidantoína, diazepínicos, digitálicos, LSD, mezcalina, metadona, morfina, pentazocina, cannabinoides, etc (Repetto, 2006).

Ventajas de inmunoensayos: Rapidez, poca manipulación de las muestras y sensibilidad.

Inconvenientes: Poca especificidad, no distingue entre homólogos, posibilidad de falsos positivos y negativos, necesita confirmación, poca aplicación cuantitativa e inactivación de antisueros por pH, detergentes, etc. (Male, 2007).

4.8. MÉTODOS PARA EL ANÁLISIS DE SUSTANCIAS DOPANTES.

Los laboratorios antidopaje están equipados con una amplia gama de instrumentos que permiten desarrollar las diversas metodologías analíticas exigidas en el control de dopaje. De todas estas técnicas, la de cromatografía de gases unida a la espectrometría de masas (principalmente de cuadrupolo MS, de alta resolución HRMS, de relaciones isotópicas IRMS) constituyen el eje principal, aunque hoy en día la electroforesis que es empleada en la detección de hormonas como EPO y similares, tiene un papel importante y por otra parte la cromatografía líquida unida a la espectrometría de masas (LC/MS/MS) que se está convirtiendo en la técnica del futuro, por las posibilidades que ofrece en el análisis del control de dopaje.

Mediante la siguiente tabla se hace referencia a los principales métodos utilizados para el análisis de cada uno de los grupos de sustancias dopantes (Tabla 6).

Tabla 6. Métodos de análisis de sustancias prohibidas.

SUSTANCIA DOPANTE	MÉTODOS DE DETECCIÓN
EAA	Tamizado o Screening: CG-EM modalidad de Monitoreo de Iones Seleccionados (SIM) con tres iones de diagnóstico; segundo análisis por CG-EM. El método de purificación adicional es con HPLC o extinción con mezclas de solventes orgánicas con diferentes grados de polaridad (Fragkaki, 2009 y Haber, 2001). Para diferenciar entre EAA anabólicos endógenos y exógenos se aplica CG/C/IRMS que adelante detallaremos.
Clenbuterol	Detección y determinación cuantitativa: el análisis de tamizado se efectúa por diversos métodos, incluyendo inmunología, electroquímica y técnicas de cromatografía acoplada a espectrometría (HPLC/UV, HPLC/EM, CG-EM). Los análisis de confirmación se efectúan mediante CG-EM, con detector de cuadrupolo simple. Tanto en modalidad de Análisis Total (TIC) o Monitoreo de Iones Seleccionados (SIM), también con espectrómetro de masas magnético de alta resolución (HREM) (Amendola, 2002).
SARMs	Los métodos adecuados para detectar SARMs se basan en espectrometría de masas, con el fin de caracterizar e identificar los analitos en las muestras de control antidopaje, así como posibles productos metabólicos y los análogos sintéticos (Fragkaki, 2009).

SUSTANCIA DOPANTE	MÉTODOS DE DETECCIÓN
Eritropoyetina (EPO)	La medición del hematocrito (Hct) es una forma indirecta (un hematocrito superior al 50% se considera demasiado elevado para la salud del deportista estableciéndolo como límite superior permitido), marcadores bioquímicos y sanguíneos de eritropoyesis alterada (Hematocrito de reticulocitos, receptor de transferrina, % de macrocitos etc.) y técnicas de ELISA, por lo que se recurre a un doble sistema de control de sangre y orina (Laudo, 2006).
Gonadotropina coriónica humana (hCG)	Ensayo inmunoabsorbente enzimático unido a una fase sólida (ELISA): se emplea un anticuerpo monoclonal, que es específico a la subunidad- β de la hCG (β -hCG) (Uotilia, 1981 y Rodríguez, 1991). Para aumentar la sensibilidad en la detección se utilizan métodos que involucran HPLC/MS/MS (Gam, 2003).
Hormona luteinizante (LH)	Técnica inmunométrica que utiliza la quimioluminiscencia como sistema de detección. El método usa dos anticuerpos contra LH, uno de ellos monoclonal esta unido a la fase sólida y uno específicamente a la LH; el segundo que es policlonal, está conjugado con fosfatasa alcalina, reconoce también a la LH y se une al complejo formado previamente, introduciendo la marca enzimática. Una vez efectuada la reacción, se elimina la fracción no unida, se lava la fase sólida y se añade el sustrato quimioluminiscente que al ser hidrolizado por la enzima, genera luz en cantidad proporcional a la concentración de LH en la muestra biológica (Fonseca, 1999).
Corticotropina (ACTH)	Valoración inmunorradiométrica, se utilizan dos anticuerpos separados, dirigidos a epitopos separados en la molécula de hormona Corticotropina (ACTH) (Laudo, 2006 y Goodman, 2007).
Hormona de crecimiento (GH)	Por técnicas de inmunoensayo dirigidas a diferenciar isoformas moleculares de Hormona del Crecimiento recombinante, ya que la hormona recombinante es virtualmente indistinguible de la natural (la endógena, contiene varias isoformas mientras que la recombinante consiste solo de una de 22 kD) (Abellan, 2008 y Holt, 2009).

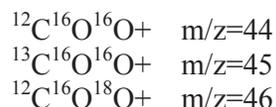
SUSTANCIA DOPANTE	MÉTODOS DE DETECCIÓN
Insulina	Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC/EM/EM), logrando detectar y confirmar por comparación de los tiempos de retención y sus principales iones producidos. Son cinco las insulinas (Insulina humana, Humalog, Novolog, insulina bovina e insulina porcina) (Emmie, 2011).
Diuréticos	Se basa en HPLC con Detector UV y/o Cromatografía de Gas acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM) (Qin, 2003).
Hidroxietilalmidón (expansor de plasma)	CG-EM, CL-EM y desorción de la matriz asistida por laser a tiempo de vuelo (MALDI-TOF)/ EM (Hemmersbach, 2008).
Detección de transfusiones	Se basa en la diferencia de antígenos de membrana entre los glóbulos del individuo donador y del receptor (transfusión heterologa). El perfil antigénico de los glóbulos rojos es determinado de forma cuantitativa por citometría de flujo a través del uso de anticuerpos específicos para cada uno de los antígenos que son medidos en combinación con los anticuerpos secundarios dirigidos contra inmunoglobulinas que son marcadas con un fluorocromo con la intención de marcar de forma positiva el antígeno (Segura, 2011).
Estimulantes	Se hace el tamizado inicial con Cromatografía de Gas acoplada a detector de Nitrógeno-Fósforo y se confirma con CG/EM en modalidad de Ionización Electrónica (EI). Para las sustancias que no pueden ser derivatizadas se utiliza Espectrometría de masas en tándem (LC-EM/EM) que es un método alternativo de confirmación (Jianghai, 2010).
Narcóticos	La confirmación de los analitos se lleva a cabo mediante un espectrómetro de masa de triple cuadrupolo y modo de adquisición de monitoreo de la reacción seleccionada (Mazzarino, 2011).
Cannabis.	Espectrometría de masas con derivados compatibles de moléculas de cannabinoides puede detectar THC (Lorente, 2005).
Glucocorticoesteroides	Se analizan las muestras usando un inmunoensayo comercial: CLIA, IBL-Hamburg (Skoluda, 2012).

A continuación se ejemplifican algunas de las técnicas referidas en la tabla 6 y como se aplican en los laboratorios de control antidopaje.

Método para diferenciar entre anabólicos endógenos y exógenos:

Los laboratorios de control de dopaje aplican métodos que permiten **diferenciar entre EAA endógenos y sus análogos sintéticos** mediante Cromatografía de gases con celda de combustión y espectrometría de masas de medidas de relaciones isotópicas (GC-C-IRMS) (Fig. 39). Partiendo del hecho de que la mayoría de los elementos existentes en la naturaleza se componen de una mezcla de varios isótopos en diferentes proporciones, dando lugar a que presenten una “huella dactilar isotópica” (compuestos y sustancias químicamente indistinguibles pueden diferenciarse isotópicamente). Esta metodología, aplicada al control de dopaje, se basa en la diferencia relativa de los isótopos estables ^{13}C y ^{12}C entre sustancias sintetizadas y sustancias generadas biológicamente. La fotosíntesis es un importante proceso de discriminación donde las plantas absorben dióxido de carbono de la atmósfera mostrando una discriminación por ^{13}C , los esteroides utilizados en la industria farmacéutica son derivados principalmente de plantas de tipo arroz, trigo, soja y plantas marinas (fitoesteroles) (^{13}C = 24 a 34 %), mientras que la dieta de los humanos se basa en una mezcla de vegetales, gramíneas, aves, pescado, carnes, etc, que dan una relación de isótopo muy diferente (^{13}C = 6 a 19%).

En este tipo de instrumentación en la celda de combustión es donde se produce la reacción de combustión catalítica donde la materia orgánica se convierte en CO_2 y H_2O , concentrándose el CO_2 e introduciéndolo al IRMS junto con un gas de referencia y suministrado de una fuente de CO_2 cuya relación isotópica conocemos, pequeñas diferencias entre la muestra y el gas de referencia nos dan resultados importantes para el control de dopaje. El IRMS es un espectrómetro de masas de sector magnético de simple enfoque, se registran y almacenan las masas correspondientes a las trazas de las diferentes formas isotópicas del CO_2 .



CG-C-IRMS asocia los beneficios de la técnica separativa cromatográfica a una alta exactitud en las medidas.

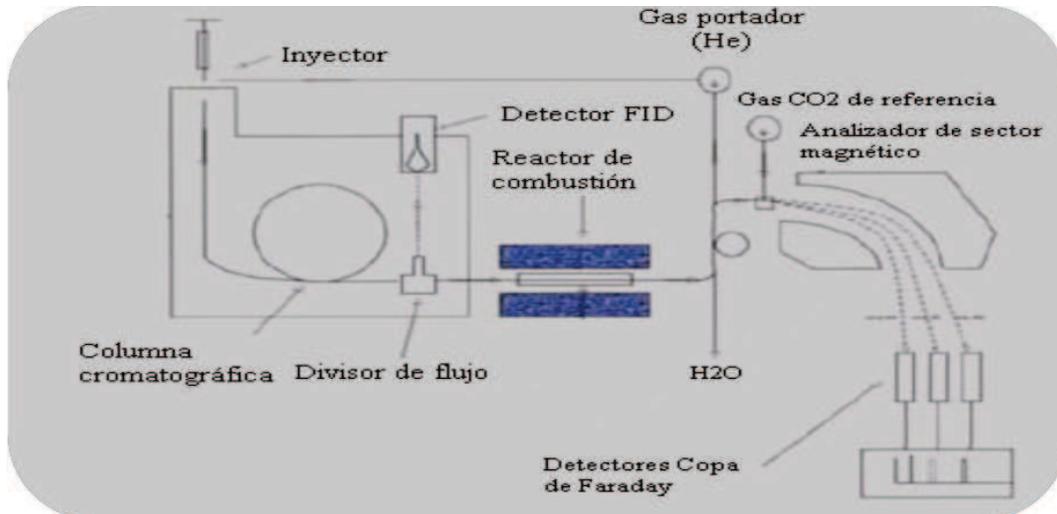


Fig. 39. Esquema de cromatógrafo de gases con celda de combustión acoplado a espectrometría de masas de medidas de relaciones isotópicas (Tomado de Muñoz-Guerra, 2008).

Se recomienda el uso de IRMS cuando se encuentre en un procedimiento de tamizado de muestras alguno de los siguientes criterios: relación T/E igual o mayor de 4, concentración de T/E (equivalente a su glucurónido) mayor de 200 ng/mL, concentración de androsterona o etiolcolanona (equivalente al glucurónido) mayor de 10,000 ng/mL, concentración de DHEA (equivalente al glucurónido) mayor de 100 ng/mL.

Método de detección de eritropoyetina y sus isoformas recombinantes:

Es un protocolo complejo por lo cual se han desarrollado pasos adicionales para mejorarlo uno de ellos es la purificación de muestras de orina con alto contenido proteico mediante columnas cromatográficas de inmunoafinidad (Fig. 40) lo que elimina interferencias que pudieran dificultar la electroforesis o la unión de la proteína al anticuerpo específico contra EPO. Este tipo de cromatografía en columna se caracteriza por utilizar como fase estacionaria partículas de gel cubiertas por anticuerpos afines a una o más proteínas presentes en la mezcla a separar, en este caso anticuerpos anti EPO y sus isoformas, la elución de la proteína se consigue interfiriendo entre la unión entre ésta y el anticuerpo.

El protocolo consta de los siguientes pasos:

Concentración de la muestra mediante centrifugaciones (y adicionalmente purificación por columnas de inmunoafinidad), separación de las isoformas (formas recombinantes

de EPO) según el punto isoeléctrico por técnica de Isoelectroenfoque (aquí es donde es importante la purificación previa ya que la presencia de otras proteínas interfiere con la electroforesis impidiendo una buena resolución de bandas), transferencia de las proteínas a membrana (primer blotting), incubación de la misma con anticuerpo primario específico para el reconocimiento de EPO, transferencia de este anticuerpo a una segunda membrana (segundo blotting), incubación con un anticuerpo secundario inespecífico dirigido contra el anticuerpo primario y finalmente quimioluminiscencia (Fig. 42 y 43).

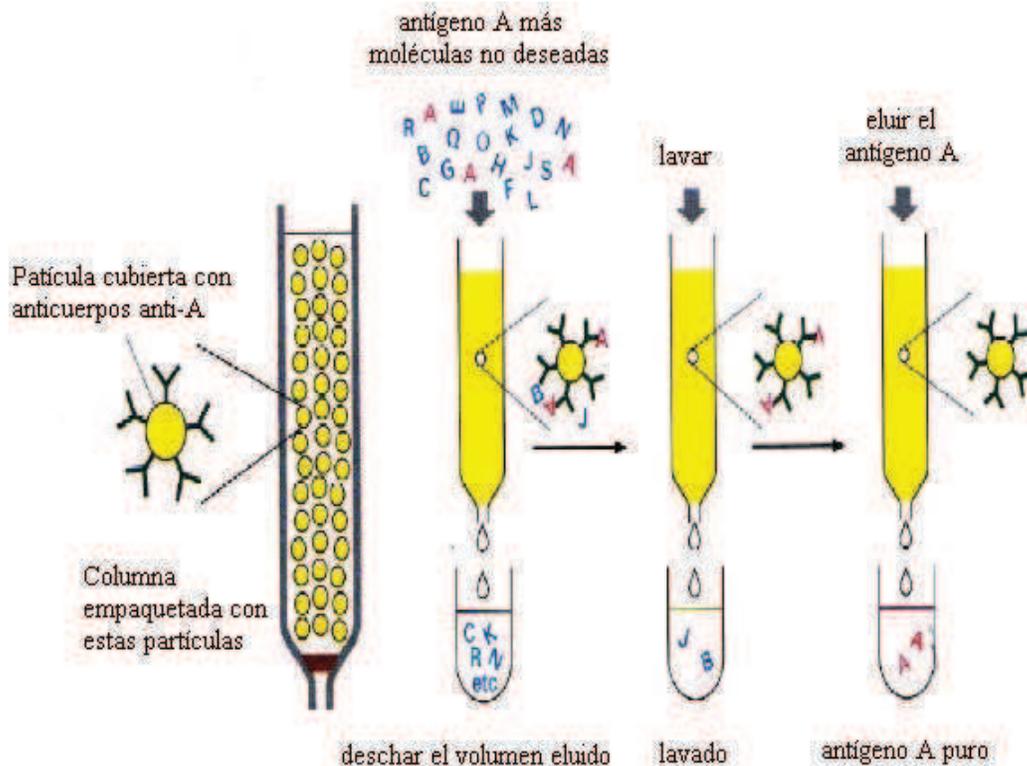


Fig. 40. Purificación de muestras de orina con alto contenido proteico mediante columnas cromatográficas de inmunoadfinidad (Recuperada el 19 de febrero de 2014 de http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Inmunoadfinidad_2.jpg).

Ya que la EPO es una glicoproteína con 3 sitios de N-glicosilación, durante la electroforesis migra entre un pH de 3.8 a 4.7, mientras que las formas recombinantes de EPO tienen diferente número de cadenas glucídicas unidas a la estructura proteica, diferente peso molecular y diferente carga eléctrica, lo que hace posible su diferenciación por técnicas electroforéticas como el Isoelectroenfoque (Fig. 41). Las recombinantes α y β son más básicas y migran a pH entre 4.4 y 5.1, NESP es ácida y su pH de migración es entre 3.0 y 3.9, Erypo y Dynepo tienen el mismo perfil que α y β .

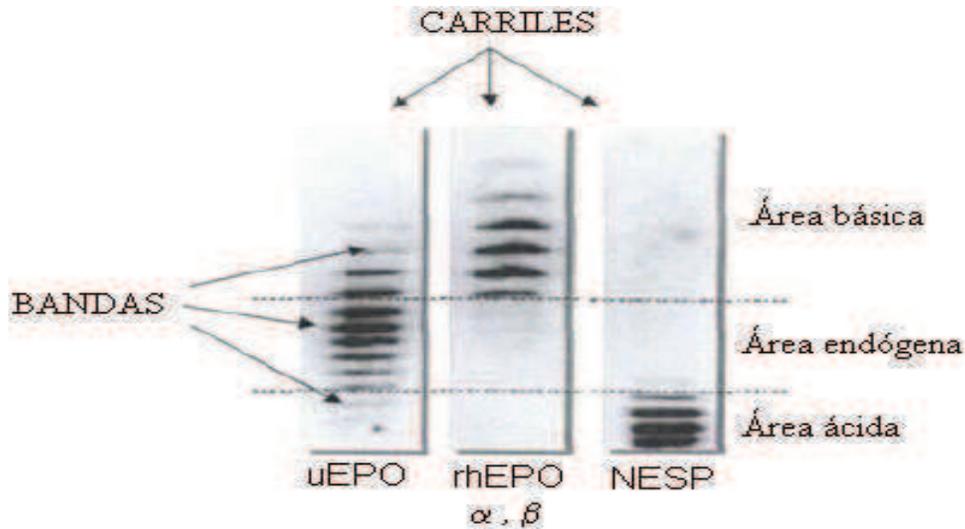


Fig. 41. Visualización de las isoformas de los distintos tipos de EPO mediante la aplicación de electroforesis por isoelectroenfoque seguido de doble blotting y detección quimioluminiscente. Donde uEPO: estándar de EPO endógena urinaria; rhEPO: EPO recombinante de los tipos α y β y NESP: Darbepoietina (Tomado de Muñoz-Guerra, 2008).

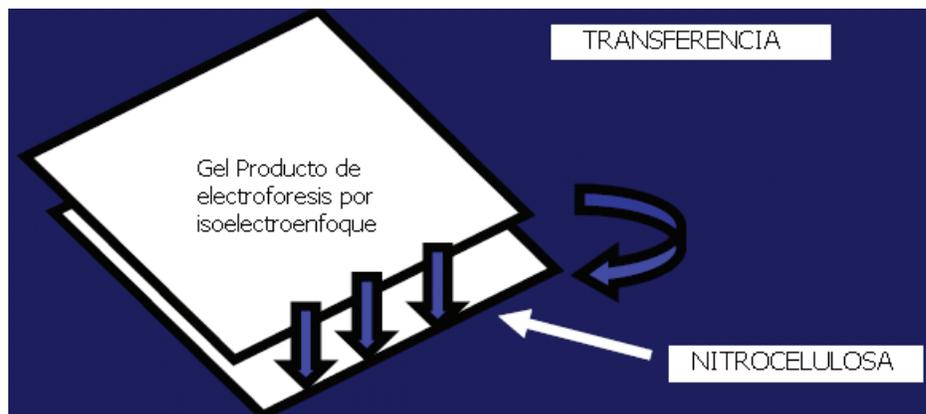


Fig. 42. Transferencia mediante inmunoblot de la información del gel producto de la electroforesis a membrana de nitrocelulosa (Recuperado el 16 de febrero de 2014 de <http://slideplayer.es/slide/1552466.jpg>).

Una vez transferida la información que contiene el gel producto de la electroforesis a un soporte de nitrocelulosa (inmunoblot) este se incuba con el o los anticuerpos contra las isoformas de EPO el cual está marcado con un reactivo que nos va a permitir visualizar la presencia de las bandas correspondientes a cada una de las isoformas (uEPO, rhEPO α y β y NESP) en este caso mediante quimioluminiscencia (se marca el anticuerpo con sustancias que participan en la reacción quimioluminiscente como luminol el cual se oxida al hacerlo reaccionar con peróxido, liberando energía como luz visible) (Muñoz-Guerra 2008).

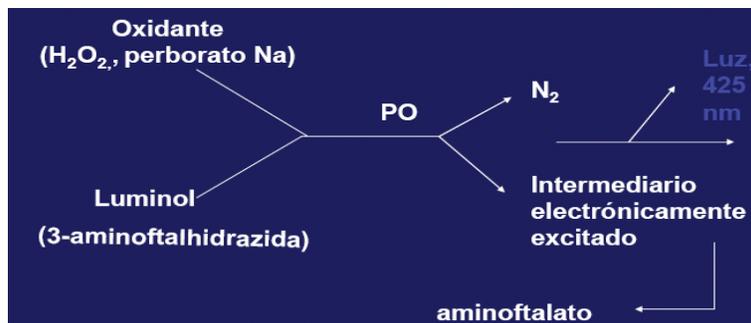


Fig. 43. Reacción de quimioluminiscencia ((Recuperado el 16 de febrero de 2014 de <http://slideplayer.es/slide/1552466.jpg>).

Por otra parte el análisis de sangre para detectar eritropoyesis alterada complementa al protocolo antes descrito para análisis de orina, ya que de esta forma se detectan cambios bruscos en la producción de precursores de eritrocitos (reticulocitos) causados por el consumo de EPO. La medición de reticulocitos se efectúa por marcación con fluorocromos que tiñen el DNA (residual) emitiendo fluorescencia (Muñoz-Guerra 2008).

Método de detección de hormona de crecimiento:

El mayor problema que se plantea actualmente es la dificultad en la detección del consumo de la Hormona de Crecimiento (GH), que tiende a resolverse basándose especialmente en técnicas por inmunoensayo dirigidas a diferenciar isoformas moleculares de Hormona del Crecimiento recombinante, ya que la hormona recombinante es virtualmente indistinguible de la natural (ambas tienen idéntica secuencia de aminoácidos) y es eliminada del organismo en aproximadamente 24 horas (Abellan, 2008). La Hormona de Crecimiento que secreta la hipófisis, es decir la endógena, contiene varias isoformas mientras que la recombinante consiste solo de una de 22 kDa. Cuando la hormona recombinante (recGH o rhGH) es administrada, la secreción de GH endógena se inhibe y la GH de 22 kDa se incrementa en relación con la GH total. Es por esto que se aplica desde el año 2004 esta evaluación para las isoformas de la GH (Holt, 2009).

La metodología se basa en el empleo de sistema del inmunoensayo de tipo sándwich con detección lumínica y empleo de dos anticuerpos anti GH altamente selectivos que pueden discriminar entre GH recombinante (rec GH) y GH de origen hipofisiario (hip GH) (Fig. 44) (Muñoz-Guerra, 2008).

Se utiliza un **anticuerpo de captura** que reconoce rec GH (la forma monomérica de 22kDa) y otro que reconoce hip GH (toda la gama de isoformas características de GH de hipófisis), ambos se encuentran anclados a la superficie del tubo de ensayo.



Un **anticuerpo trazador** que es un anticuerpo específico de GH que esta marcado con éster de acridinio (produce una señal luminiscente cuando es excitado con una energía específica dentro de un sistema de lectura denominado luminómetro).



Anticuerpo trazador marcado con éster de acridinio.

Se agregan todas las isoformas incluyendo la recombinante en dos diferentes tubos cada uno de ellos con los dos diferentes anticuerpos de captura anclados a la superficie y se incuban.

- GH isoforma de 22 kDa, recombinante.
- GH isoforma de 22 kDa, hipófisis.
- GH isoforma de 20 kDa, hipófisis.
- Resto de isoformas de GH, hipófisis.



Finalizado el proceso de incubación y lavado posterior para eliminar el posible exceso de muestra no anclado, se obtendría algo como lo que se muestra a continuación.



A continuación se añade el anticuerpo trazador, que tras la incubación y el lavado intenso, permite obtener el sándwich de anticuerpos que se muestra a continuación.



La intensidad lumínica medida en el Luminómetro es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo trazador anclado en cada tubo, que a su vez esta directamente vinculado a la cantidad de isoformas de GH unidas a las paredes de cada tubo, de este modo se calculan las concentraciones de rec GH e hip GH. El cálculo de la relación entre uno y otro permite determinar si ha existido un caso de dopaje.

Fig. 44. Metodología para la detección de hormona de crecimiento (Tomado de Muñoz-Guerra, 2008).

Esta metodología es aplicable, también, en la detección de hormonas peptídicas como Gonadotropina Coriónica (hCG) y hormona luteinizante (LH).

No obstante que el inmunoensayo es el único método reconocido para la detección de hCG en análisis antidopaje, este puede tener reacción cruzada con otras sustancias semejantes a hCG esto le da un pobre poder de discriminación. Un método alternativo es la HPLC acoplada a EM en tándem (HPLC/MS/MS). Ya que en la estructura de la hCG la subunidad β tiene una región extra de 30 a.a. denominada β CTP, la cual a su vez tiene sitios de unión O para oligosacáridos lo que le provee la ventaja de poder ser caracterizada y diferenciada de otras glicoproteínas mediante espectrometría de masas (EM). Aunado a esto se ha buscado efficientar la preparación de la muestra mediante la ya comentada extracción con columnas de inmovilización (Gam, 2003).

VII. CONCLUSIONES.

- Con esta revisión se cumple con el objetivo de generar un documento que integra los aspectos más importantes del uso de sustancias dopantes en el ámbito deportivo, los efectos nocivos para la salud que conlleva el abuso de estas sustancias, así como su farmacología.
- De igual manera se muestran las técnicas empleadas en la detección de sustancias dopantes en muestras biológicas.
- Se presenta un documento en el idioma español que puede ser utilizado por estudiantes del área química biológica, así como cualquier persona interesada en contar con información con respecto al dopaje en el deporte.
- Con la generación de este documento se integran y refuerzan los conocimientos que un estudiante de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo, adquirió durante su formación.

VIII. REFERENCIAS.

1. Abellan, R. Ventura, R.; Palmi, I.; Simonetta, di C.; Bacosi, A.; Bellver, M., Oliver, R., Immunoassays for the measurement of IGF-II, IGFBP-2 and -3, and ICTP as indirect biomarkers of recombinant human growth hormone misuse in sport: Values in selected population of athletes, *J Pharmaceut Biomed.* **2008**, *48*, 844-852.
2. Alfaro R. O. A., *El Uso de Anabólicos Para el Aumento de la Masa Corporal*, Venezuela, **2002** (http://www.es.fifa.com/mm/.../6.10.3_nandrolone_mystery_and_facts_es_6458.pdf).
3. Amendola, L.; Colamonici, C.; Rossi, F.; Botrè, F., Determination of clenbuterol in human urine by GC–MS–MS–MS: confirmation analysis in antidoping control, *J Chromatogr B.* **2002**, *773*, 7-16.
4. Ann, S. C.; Henderson, P. L., Behavioral and physiological responses to anabolic-androgenic steroids, *Neurosci Biobehav R.* **2003**, *27*, 413–436.
5. Argilés, J. M.; Orpí, M.; Busquets, S.; López-Soriano, F. J., Myostatin: more than just a regulator of muscle mass, *Drug Discov Today.* **2012**, *17*, 702-709.
6. Atwood, B. K.; Donghoon, L.; Straiker, A.; Widlanski, T. S.; Mackie, K., CP47, 497-C8 and JWH073, commonly found in ‘Spice’ herbal blends, are potent and efficacious CB₁ cannabinoid receptor agonists, *Eur J Pharmacol.* **2011**, *659*, 139-145.
7. Azzazy, H. M. E.; Mansour, M. M. H.; Christenson, R. H., Doping in the recombinant era: Strategies and counterstrategies, *Clin Biochem.* **2005**, *38*, 959-965.
8. Azzazy, H. M. E.; Mansour, M. M. H.; Christenson R. H., Gene doping: Of mice and men, *Clin Biochem.* **2009**, *42*, 435-441.

9. Barbany, J., Mecanismos de acción, efectos fisiológicos y riesgos indeseables para el deportista, *Apuntes: Educación Física y Esports*. **1990**, 20, 39-52.
10. Barrientos P. M., Uso de anabólicos por atletas adolescentes, *Revista de Endocrinología y Nutrición*. **2001**, 9, 133-140.
11. Bean, A., *La guía completa de la nutrición del deportista*, 3ª edición, Ed. A & C Black Publishers Ltd., Barcelona, España. **2005** (<http://www.books.google.com.mx>).
12. Betts, J. M., Doping in Sports: The Pediatric Perspective, *J Urology*. **2007**, 178, 1733-1737.
13. Bhattacharya, S.M., Effects of tibolone on health-related quality of life in menopausal women, *Int J Gynecol Obstet*. **2007**, 99, 43-45.
14. Buiarelli, F.; Cartoni, G. P.; Amendola, L.; Botrè, F., Screening and confirmation analysis of anabolic agents in human urine by gas chromatography –hybrid mass spectrometry (high resolution.time of flight), *Anal Chim Acta*. **2001**, 447, 75-88.
15. Botrè, F.; Pavan, A., Enhancement drugs and the athlete, *Neurol Clin*. **2008**, 26, 149-167.
16. Cabrera, O. V. M.; Hernández, H. A., Hormones in sports: an ancient tool with new perspectives, *Artículos Originales* (<http://www.imd.inder.com>).
17. Catlin, D.; Leder, B. Z.; Ahrens, B. D., Effects of androstenedione administration on epitestosterone metabolism in men, *Steroids*. **2002**, 67, 559-564.
18. Cruz; M. S., El cerebro y el consumo de drogas. *Rev Cinvestav*. **2006**, 2, 36-45.

19. Declaración de Consenso del COI, Nutrición en el deporte, *Medicina de l'Esport*. **2003**, *43*, 85-86.
20. Delgadillo, M. A.; Garrostas, L.; Pozo, O. J.; Ventura, R.; Velasco, B.; Segura, J.; Marcos, J., Sensitive and robust method for anabolic agents in human urine by gas chromatograph-tryple quadrupole mass spectrometry. *J Chromatogr B*. **2012**, *897*, 85-89.
21. Devlin, M. T., *Bioquímica: libro de texto con aplicaciones clínicas*, Editorial Reverté, **2004**, Barcelona, España, pags. 960-989.
22. Documento técnico de WADA, TD2013MRPL, www.wada-ama.org
23. Emmie, N. M. H.; Wan, T. S. M.; Wong, A. S. Y.; Lam, K. K. H., Doping control analysis of insulin and its analogues in equine urine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *J Chromatogr A*. **2011**, *1218*, 1139-1146.
24. Feraudi, M.; Weicker, H., Effects of training and methandrostenolone (an anabolic steroid) on energy metabolism in the guinea pig: Changes in enzyme activities in gastrocnemius muscle and myocardium, *Int J Biochem*. **1985**, *17*, 1191-1205.
25. Ferrán, G., Andrological implications of abuse of anabolic-androgenic steroids, *Rev Int Androl*. **2011**, *9*, 160-169.
26. Flórez, J.; Armijo, J. A.; Mediavilla, A., *Farmacología Humana*, 5ª edición, Ed. Elsevier Masson, Barcelona, España, **2008**, págs. 313, 418, 979, 1010- 1013.
27. Fonseca, Y.; Mendoza, N.; Velásquez, S.; Ruiz, M., Validación analítica de la medición de la hormona luteinizante (LH) por inmunoensayo enzimático automatizado y detección por quimioluminiscencia. *Bioquímica*. **1999**, *24*(1), 11-17.

28. Fragkaki, A. G.; Angelis, Y. S.; Koupparis, M., Structural characteristics of anabolic androgenic steroids contributing to binding to the androgen receptor and to their anabolic and androgenic activities: Applied modifications in the steroidal structure, *Steroids*. **2009**, *74*, 172-197.
29. Frontera, W.; Stanley, A.; Micheli, L.; Silver, J., *Medicina deportiva clínica: tratamiento medico y rehabilitación*, Ed. Elsevier, Madrid, España. **2008**, pags. 37-49.
30. Gam, L.; Tham, S.; Latiff, A., Immunoaffinity extraction and tandem mass spectrometric analysis of human chorionic gonadotropin in doping analysis, *J Chromatogr B*. **2003**, *792*, 187-196.
31. George, A. J., Central nervous system stimulants, *Best Pract Res Cl En*. **2000**, *14*, 79-88.
32. Gerber, P. A.; Kukova, G.; y Meller, S., The dire consequences of doping, *Lancet (Clinical Picture)*. **2008**, *23*, 656.
33. Gold, R.; Buttgereit, F.; Toyka, K. V., Mechanism of action of glucocorticosteroid hormones: possible implications for therapy of neuroimmunological disorders, *J Neuroimmunol*. **2001**, *117*, 1-8.
34. Goodman, L. S; Gilman, A., *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, 10ª edición, Ed. McGraw-Hill Interamericana. **2007**, Caps. 10, 17, 23, 24, 51, 53, 55, 57, 58, 59.
35. Gorostiaga, A. E., Efectos de la utilización de esteroides anabolizantes androgénicos sobre la aptitud física y la salud, *Centro de Estudios, Investigación y Medicina del Deporte de Navarra, España*. **2005**.

36. Gühring, H.; Schuster J.; Hamza, M.; Ates, M.; Kotalla, C. E.; Brune, K., HU-210 shows higher efficacy and potency than morphine after intrathecal administration in the mouse formalin test, *Eur J Pharmacol.* **2001**, *429*, 127-134.
37. Haber, E.; Muñoz-Guerra, J. A.; Soriano, C.; Carreras, D.; Rodriguez, C.; Rodriguez, F.A., Automated sample preparation and gas chromatographic–mass spectrometric analysis of urinary androgenic anabolic steroids, *J Chromatogr B-Biomed.* **2001**, *755*, 17-26.
38. Harris, D. C., *Análisis Químico Cuantitativo*, 2^a. Ed. Reverté S.A. Barcelona, España, **2001**, pags. 541-544, 623-637, 655-686.
39. Harrison, L. M.; Fennessey, P V., Methandrostenolone metabolism in humans: Potential problems associated with isolation and identification of metabolites, *J Steroid Biochem.* **1990**, *36*, 407-414.
40. Hemmersbach, P. J., History of mass spectrometry at the Olympic Games, *Mass Spectrom Rev.* **2008**, *43*, 839-853.
41. Holt, R. I. G.; Erotokritou-Mulligan, I.; Sonksen, P. H., The history of doping and growth hormone abuse in sport, *Growth Horm IGF Res.* **2009**, *19*, 320-326.
42. Hoffmann, E.; Stroobant, V., *Mass Spectrometry*, 3^a edición, Ed. John Wiley and Sons, Inglaterra. **2007**, págs 243-257.
43. Hunt, T.; Dimeo, P.; Jedlicka, S., The historical roots of today's problems: A critical appraisal of the international anti-doping movement. *Perform Enhancement & Health.* **2012**, *1(2)*, 55-60.

44. Jianghai, L.; Wang S.; Dong Y.; Wang, X.; Yang, S.; Deng, J.; Ouyang, G., Simultaneous analysis of fourteen tertiary amine stimulants in human urine for doping control purposes by liquid chromatography–tandem mass spectrometry and gas chromatography–mass spectrometry, *Anal Chim Acta*. **2010**, *657*, 45-52.
45. Jickells, S.; Negrusz A., *Clarke's Analytical Forens Toxicol*, Ed. Pharmaceutical Press, USA, **2008**, pags. 25, 28, 30-50 y 161-163.
46. Jenkins, J. K., Erythropoiesis-Stimulating Agents (ESA), *U.S. Food and Drug Administration*. **2007**(<http://www.fda.gov/cder/drug/infopage/RHE/default.htm>).
47. Jones, M., Blood doping: a literature review, *J Sport Sci Med*. **1989**, *23*, 84-88.
48. Kamber, M., Development of the role of National Antidoping Organisations in the fight against doping: From past to future, *Forensic Sci Int*. **2011**, *213* (1-3), 3-9.
49. Karl, E. F.; Dettori, J. R.; Hanna, C. J.; Patience, T. H.; Plymate, S. R., Comparison of the effects of high dose testosterone and 19-nortestosterone to a replacement dose of testosterone on strength and body composition in normal men, *The J Steroid Biochem*. **1991**, *40*, 607-612.
50. Kumar, N.; Crozat, A.; Li, F.; Catterall, J. F.; Bardin, C. W.; Sundaram, K., 7 α -methyl-19-nortestosterone, a synthetic androgen with high potency: structure-activity comparisons with other androgens, *J Steroid Biochem*. **1999**, *71*, 213-219.
51. Laudo, C.; Puigdevall, V.; Del Río, M. J.; Velasco, A., Hormones used as ergogenics: present state of the question, *An Sist Sanit Navar*. **2006**, *29*, 207-218.

52. López, V. J., Tesis de Tecnólogo Químico: Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos, **2008**, pags. 25-29.
53. Lorente, F. O.; Peretti-Watel, P.; Grelot, L., Cannabis use to enhance sportive and non-sportive performances among French sport students, *Addict Behav.* **2005**, *30*, 1382-1391.
54. Loureiro, R. M.; D'Amore, P. A., Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor in cancer. *Cytokine Growth F R*, **2005**, *16*(1), 77-89.
55. Mahmoud, S. E., Effects of alcohol ingestion post-exercise on platelet aggregation, *Throm Res.* **2002**, *105*, 147-151.
56. Male, D.; Brostoff, J.; Roth, D.; Roitt, I. *Inmunología*, 7a. Ed. Elsevier Mosby, Madrid, España. **2007**, pags. 59-74.
57. Martínez, M. V.; Muñoz, M. A.; Biñuela, B.; García, A. P.; Alonso, M. A.; Pérez M., Fulvestrant in heavily pretreated postmenopausal women with advanced breast cancer, *Med Clín.* **2009**, *133*(10, 19), 371-374.
58. Mataix, J., Cult of the Body Beautiful: At What Cost?, *Actas Dermo-Sifiliográficas.* **2012**, *103*, 655-660.
59. Mazzarino, M.; Baganó, M. C.; De la Torre, X.; Molaioni, F.; Botrè, F., Relevance of the selective estrogen receptor modulators tamoxifen, toremifene and clomiphene in doping field: Endogenous steroids urinary profile after multiple oral doses, *Steroids.* **2011**, *76*, 1400-1406.
60. Mazzarino, M.; de la Torre, X.; Botrè, F., Screening and confirmation analysis of stimulants, narcotics and beta-adrenergic agents in human urine by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *J Chromatogr A.* **2011**, *1218* (45), 8156-8167.

61. Mendoza, P., *Farmacología médica*, Editorial Médica Panamericana, **2008**, pags. 429-434 y 783.
62. Miah, A., *Genetic modified athletes: Biomedical ethics, gene doping and sport*, Edit. Routledge, Londres y New York. **2004**, pag. 208.
63. Miklós, T.; Zakár, T., Relative binding affinities of testosterone, 19-nortestosterone and their 5 α -reduced derivatives to the androgen receptor and to other androgen-binding proteins: a suggested role of 5 α -reductive steroid metabolism in the dissociation of “myotropic” and “androgenic” activities of 19-nortestosterone, *J Steroid Biochem.* **1982**, *17*, 653-660.
64. Miller, N., Sochi Winter Olympics: Drug cheat numbers irrelevant if system Works, *Australian Expats*, **2014** (<http://www.doping-prevention.sp.tum.de/typo3temp/pics/24eeea1c84.jpg>).
65. Montuy, A. C., Tesis de Químico Farmacéutico Biólogo: Problemas de determinación de estructuras de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos. **2006**, pags. 21-47.
66. Muñoz-Guerra R. J., *Aspectos analíticos y de aseguramiento de la calidad del control de dopaje*, Vol. II, Consejo superior de deportes, Ed. Lince Artes Gráficas, Madrid. **2008**, pags. 153, 169-283.
67. Numazawa, M.; Handa, W.; Hasegawa, C.; Takahashi, M., Structure–activity relationships of 2 α -substituted androstenedione analogs as aromatase inhibitors and their aromatization reactions, *J Steroid Biochem.* **2005**, *97*, 353–359.
68. Ortiz, C. F.; Corrales, C.; Román, R.; Bonilla, C.; Solis, S.; Morales, E.; Gómora, G.; López, S., *Diccionario de Especialidades Farmacéuticas*, Ed. Thomson PLM Mexicana, S. A. de C. V., **2009**.

69. Palacios, S., Tibolone: what does tissue specific activity mean?, *Maturitas*. **2001**, 37(3), 159-165.
70. Pawlowski, S.; Sauer, A.; Shears, J. A.; Tyler, C. R.; Braunbeck, T., Androgenic and estrogenic effects of the synthetic androgen 17 α -methyltestosterone on sexual development and reproductive performance in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) determined using the gonadal recrudescence assay, *Aquat Toxicol*. **2004**, 68, 277-291.
71. Phillis, B. D.; Rodney J. I.; Kennedy J. A., Combined cardiac effects of cocaine and the anabolic steroid, nandrolone, in the rat, *Eur J Pharmacol*. **2000**, 398, 263-272.
72. Pineda-Ortiz, J., Neurobiological and clinical basis of opiate dependence, *Univ. del País Vasco*, **2001**, 4, 159-176.
73. Prowse, C.V., Alternatives to standard blood transfusion: availability and promise. *Transfus Med*. **1999**, 9, 287-99.
74. Qin, Y.; Wang, X. B.; Zhao, M.; Wang, C.; Wu, M. T.; Xu, Y. X.; Peng, S. Q., Application of high-performance liquid chromatography–mass spectrometry to detection of diuretics in human urine, *J Chromatogr B*. **2003**, 794, 193-203.
75. Rabin, O., Involvement of the health industry in the fight against doping in sport, *Forensic Sci Int*. **2011**. 213(1-3), 10-14.
76. Ramos, G. A. S., Lucha contra el dopaje como objetivo de salud, *Adicciones*. **1999**, 11, 299-310.
77. Repetto, M., *Toxicología Fundamental*. 4^a. Ed. Díaz de Santos, España. **2006**, pags. 8, 15,21, 53, 56, 497 y 521-545.

78. Rodríguez, B., Influencia de la h.C.G. en la eliminación urinaria de hormonas endógenas-androgénicas, *Archivos de Medicina del Deporte*. **1991**, 8, 115-118.
79. Roland, G. L.; Wenger, H., Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression, *FASEB J*. **2002**, 16, 1151-1162.
80. Saavedra, M. S.; Filgueira, E. E.; Pessacq, M. T.; Schweizer, J. R.; Calcagno, M.; Fenili, C. A., Human Chorionic Gonadotropin (hCG) molecular forms: impact on clinical measurements, *Rev Argent Endocrin Metab*. **2004**, 41, 27-45.
81. Sanchis-Gomar F., Alternate methods to prevent protease use as a masking agent in sport, *J Sci Med Sport*. **210**, 13, 473-474.
82. Scarfó, R. L., Los factores de crecimiento muscular y los ejercicios de fuerza, *Revista Infarmate*. **2008**, 3, 18 (<http://www.efdeportes.com>).
83. Segura J.; Ventura, R.; Pascual, J. A., Current strategic approaches for the detection of blood doping practices, *Forensic Sci Int*. **2011**, 213, 42-48.
84. Shackleton, C., Steroid analysis and doping control 1960-1980: Scientific development and personal anecdotes, *Steroids*. **2009**, 74, 288-295.
85. Skoluda, N.; Dettenborn, L.; Stalder, T. Elevated hair cortisol concentrations in endurance athletes, *Psychoneuroendocrino*. **2012**, 37 (5), 611-617.
86. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A., *Principios de Análisis Instrumental*, 5ª ed., Edit. Mc-Graw Hill, Madrid, España. **2001**, pags. 537-573.
87. Skoog, D. A.; West D. M.; Holler J. F.; Crouch S. R., *Fundamentos de Química Analítica*. 8va. Ed. CENGAGE Learning, México, D.F. **2005**, pags. 854-866, 931-955, 960-984, 986-1005.

88. Snehal, V. C., Introduction to new chromatography technique-UPLC, *Pharma Tutor*. **2012**, 1206.
89. Swartz, M. E., Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC): An Introduction Separation Science Redefined, *Waters Corporation*. **2005**, 8-14 (www.chromatographyonline.com).
90. Thevis, M.; Geyer, H.; Sigmund, G.; Schonzer, W., Sports drug testing: Analytical aspects of selected cases of suspected, purported, and proven urine manipulation, *J Pharmaceut Biomed*. **2012**, *57*, 26-32.
91. Uotila, M.; Ruoslahti, E. Engvall, E., Two-site sandwich enzyme immunoassay with monoclonal antibodies to human alpha-fetoprotein, *J Immunol Methods*. **1981**, *42*, 11-15.
92. Veuthey, J.; Badoud, F. ; Guillaume, D.; Boccard, J.; Grata, E.; Saugy, M.; Rudaz, S., Analytical aspects in doping control: Challenges and perspectives, *Forensic Sci Int*. **2011**, *213*, 49-61.
93. Walker, J. M.; Huang, S. M., Cannabinoid analgesia, *Pharmacol & Therapeut*. **2002**, *95*, 127-135.
94. Widdowson W. M.; Healy, M. L.; Sonksen, P. H.; Gibney, J., The physiology of growth hormone and sport, *Growth Horm IGF Res*. **2009**, *19*, 308-319.
95. Wilson J. D., Androgen abuse by athletes, *Endoc Rev*. **1988**, *9*, 181-199.
96. World Anti-Doping Agency, the 2014 Prohibited List. *The World Anti-Doping Code*. **2014**, 1-9 (www.wada-ama.org).

ANEXO I: ESTEROIDES ANABOLICOS ANDROGENICOS (EAA).

Estructura Química de los Esteroides:

La estructura fundamental de los esteroides consta de cuatro anillos condensados (A, B, C y D). Químicamente estos hidrocarburos son ciclopentanoperhidrofenantrenos, los cuales contienen un anillo de cinco miembros (ciclopentano D) además de los tres anillos del fenantreno (Fig. 45 y 46).

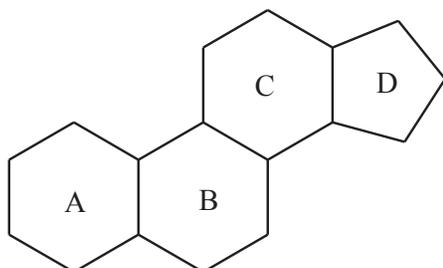


Fig. 45. Estructura fundamental de esteroides.

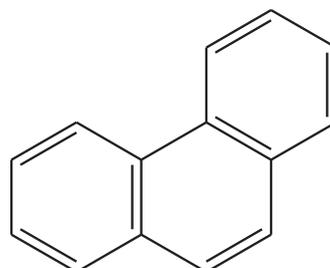


Fig. 46. Fenantreno.

Un perhidrofenantreno (anillos A, B y C) es el derivado completamente saturado del fenantreno. Para ilustrar el sistema de numeración de los esteroides puede utilizarse el hidrocarburo policíclico conocido como 5α colestano (Fig. 47).

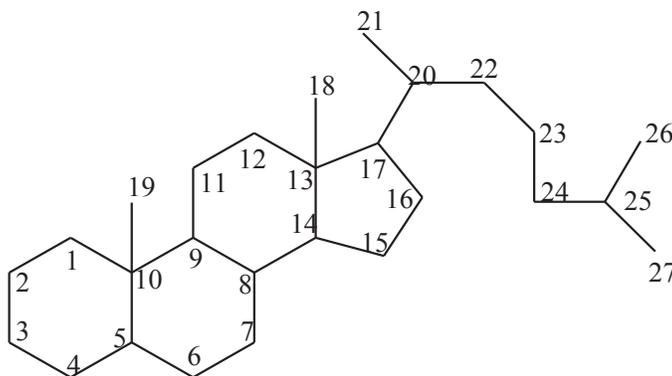


Fig. 47. 5α -colestano (Tomado de Devlin, 2004).

La notación 5α indica que el átomo de hidrógeno de la posición 5 está en la cara opuesta de los anillos con respecto a los grupos metilo de las posiciones 18 y 19, a los que se asigna la cara β de la molécula. El término colestano se refiere a un esteroide con 27 átomos de carbono que incluye una cadena lateral de ocho átomos de carbono en la posición 17 y dirigida hacia la cara β . Los grupos funcionales de la cara β de la molécula se señalan con líneas continuas; los de la cara α se designan con líneas de puntos. Las cadenas laterales sobre la posición 17 son siempre β , a menos que se

indique lo contrario por medio de líneas de puntos o en la nomenclatura del esteroide (p. e. 17α).

Los anillos de estos compuestos tienen una relación estereoquímica similar, modificaciones estructurales aparentemente mínimas, tales como cambios o inserción de grupos funcionales en distintas posiciones del núcleo de los esteroides, pueden producir alteraciones importantes en la actividad fisiológica. Se utilizan grupos químicos similares para hacer que algunos de estos agentes sean más hidrosolubles o activos cuando se administran por vía oral, o bien para modificar su absorción.

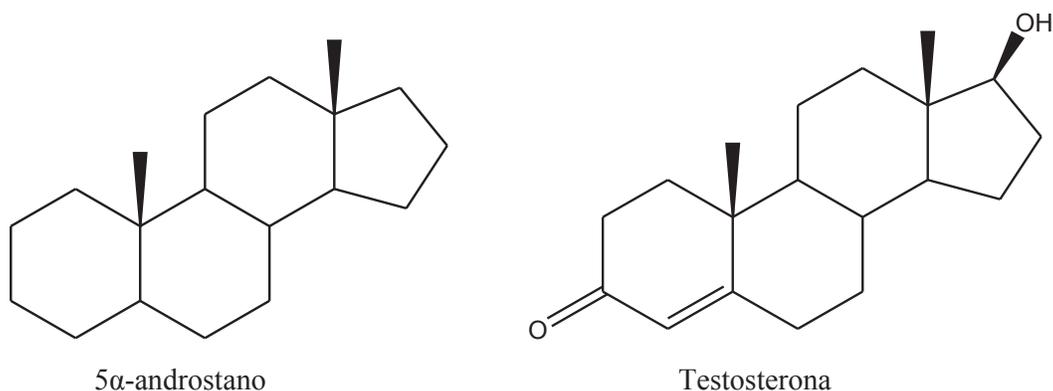


Fig. 48. Las hormonas sexuales masculinas (andrógenos) se basan en la estructura del 5 α -androstano (son esteroides con 19 átomos de carbono) (Tomado de Devlin, 2004).

En virtud de que los esteroides anabólico androgénicos hacen referencia a un conjunto de compuestos sintéticos relacionados con la testosterona (Fig. 48) tanto desde un punto de vista estructural como de su actividad biológica, las normas que definen su estructura, comportamiento químico y nomenclatura son las mismas (Devlin, 2004).

La administración de testosterona o dihidrotestosterona por vía oral va seguida por absorción hacia la sangre porta y desintegración expedita en hígado, la administración vía parenteral también va seguida por metabolismo rápido. De este modo, es necesario modificar la molécula de andrógeno para alterar sus propiedades e idear medios de administración que eviten su desintegración rápida o utilizar una formulación que pueda proporcionarse de modo que genere concentraciones fisiológicas sostenidas de la hormona en plasma.

El objetivo de la modificación química es la producción de derivados que son más anabólicos y menos androgénicos que la molécula de origen. Tres tipos generales de modificación han sido útiles:

1) Esterificación del grupo 17 β -hidroxilo con cualesquiera de varios ácidos carboxílicos disminuye la polaridad de la molécula, la hace más soluble en los vehículos lipídicos

usados para inyección, tornando lenta la liberación del esteroide inyectado hacia la circulación, prolongando la acción. Cuando la cadena de carbono en el éster es más larga, el esteroide se hace más liposoluble y el efecto es más prolongado. Los ésteres de testosterona pueden ser hidrolizados a testosterona libre, reducirse a 5α -dihidrotestosterona o aromatizar a estrógenos. Las moléculas que han sido 5α reducidas no son metabolizadas a estrógenos pero pueden ser metabolizadas a otros compuestos androgénicos como el 3α -androstenediol.

Casi todos los ésteres deben inyectarse, pero el acetato de metenolona (Fig. 49) y el undecanato de testosterona, tienen características que permiten la administración por vía oral. Este último compuesto se absorbe por medio de los conductos linfáticos intestinales más que por el sistema porta, de ahí que tenga acceso directo a la circulación sistémica. El grupo metil en la posición 1 del acetato de metenolona hace lenta la inactivación en hígado y permite alcanzar concentraciones sanguíneas eficaces. Como ya se menciona y al igual que los esteroides naturales tienen propiedades lipófilas y por tanto la capacidad de almacenarse en tejido graso.

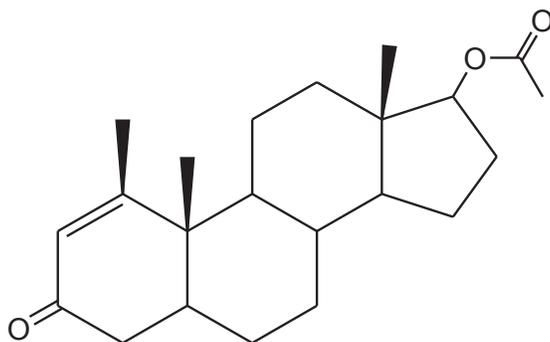


Fig. 49. Estructura química del acetato de metenolona (Tomada de Devlin, 2004).

2) La alquilación en la posición 17α (como en la metiltestosterona y la fluoximesterona) también permite que los andrógenos sean eficaces por vía oral, por que el catabolismo de los derivados alquilados es lento, ya que la alquilación retarda el metabolismo en el hígado. El grupo alquil en sí no se elimina durante el metabolismo; por consecuencia, los derivados alquilados median el efecto de la hormona dentro de las células. Algunos derivados hidroxilados de la 17α -metiltestosterona como la oximesterona y la oximetolona (Fig. 50) son agentes anabolizantes que poseen al menos tres veces la actividad anabólica y la mitad de la actividad andrógena del compuesto del que derivan (Devlin, 2004 y Goodman, 2007).

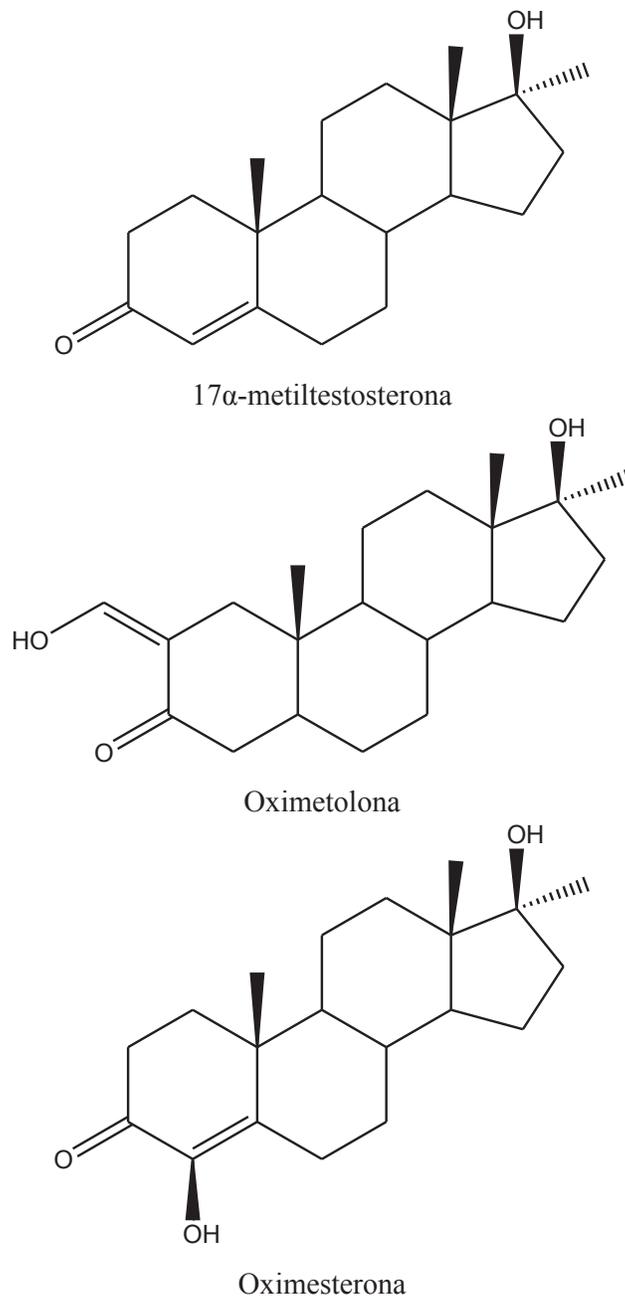


Fig. 50. Androgenos alquilados en posición 17 α (Tomada de Devlin, 2004).

3) Otras alteraciones empíricas de la estructura. En algunas circunstancias, el efecto es hacer lenta la velocidad de inactivación; en otras, la modificación aumenta la potencia y, aun en otras, altera el patrón de su metabolismo. Por ejemplo, la fluoximesterona (Fig. 51) es un andrógeno adecuado, pero con potencial reducido para actuar como un precursor de estrógenos, en tanto la 19-nortestosterona (Fig. 52), al igual que la

dihidrotestosterona, se une de manera más estrecha al receptor de andrógenos (Goodman, 2007 y Fragkaki, 2009).

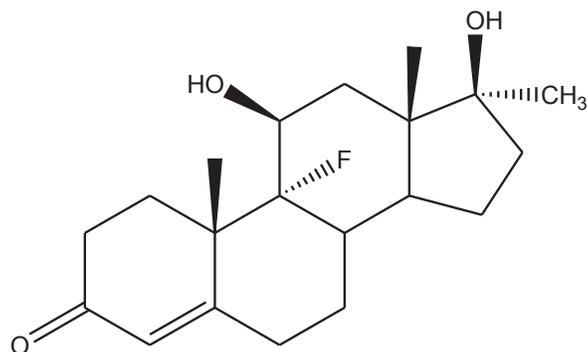


Fig. 51. Fluoximesterona (Tomada de Devlin, 2004).

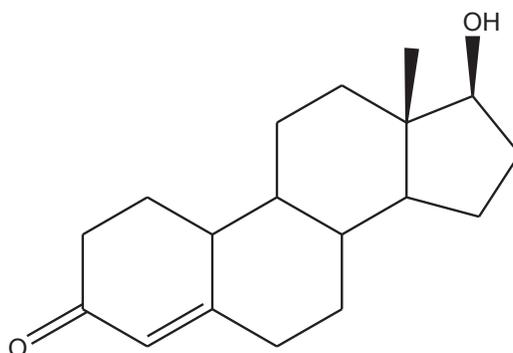


Fig. 52. 19-nortestosterona (Tomada de Devlin, 2004).

La nandrolona (Nortestosterona) se puede inyectar o administrar por vía oral. También se pueden utilizar los precursores como la 19-norandrostenediona o el 19-norandrostenediol, que actualmente son populares con los suplementos prohormonales nutricionales (Alfaro, 2002).

El hallazgo de una posible infracción por dopaje con nandrolona se funda en la detección de los dos metabolitos principales: 19-norandrosterona (19-NA) y 19-noreticolanolona (19-NE) en la orina. La nandrolona ha estado en la lista prohibida del Comité Olímpico Internacional (IOC) desde 1976. En 2004, la Agencia Mundial Antidopaje (WADA, por sus siglas en inglés) estableció el umbral para la 19-NA en 2 ng/mL, tanto para los hombres como para las mujeres (Declaración de Consenso del COI, 2008).

Justo antes de la Copa Mundial de 1998 en Francia, algunos casos de dopaje positivos plantearon la duda de si el cuerpo humano podría producir metabolitos de nandrolona

sin ningún consumo de sustancias prohibidas. En las mujeres, la nandrolona se ha encontrado en el líquido folicular de los ovarios y en la orina durante las semanas 6 y 14 de embarazo. En cuanto a los hombres, no se puede dar una respuesta clara hasta el momento. Los análisis realizados por todos los laboratorios acreditados por la WADA indican que la concentración de una posible producción por parte del cuerpo, de haber alguna, debería encontrarse por debajo de 2 ng/mL en la orina concentrada normalmente. Los instrumentos analíticos modernos son extremadamente sensibles y pueden detectar indicios de aproximadamente 0.2 ng/mL de 19-NA y 19-NE (Miklós, 1982 y Bean, 2005).

En resumen se ha tratado de modificar la molécula de los esteroides anabólicos para cambiar algunas de sus propiedades y satisfacer algunos objetivos dentro de los cuales se encuentran los siguientes:

- 1-Reducir los efectos androgénicos
- 2-Incrementar sus efectos anabólicos
- 3-Aumentar su biodisponibilidad oral y la duración de su acción
- 4-Minimizar sus efectos adversos (sin embargo, son conocidos sus efectos negativos sobre diferentes órganos debido al uso continuado) (Cabrera y Ramos, 1999).

Mecanismo de Acción de los EAA.

Los andrógenos en particular ejercen su acción al ligarse al receptor de andrógenos (AR, siglas en inglés) el cual está expresado en tejidos considerados “objetivo” para los andrógenos, tales como la próstata, músculo esquelético, hígado y sistema nervioso central (Fig. 53).

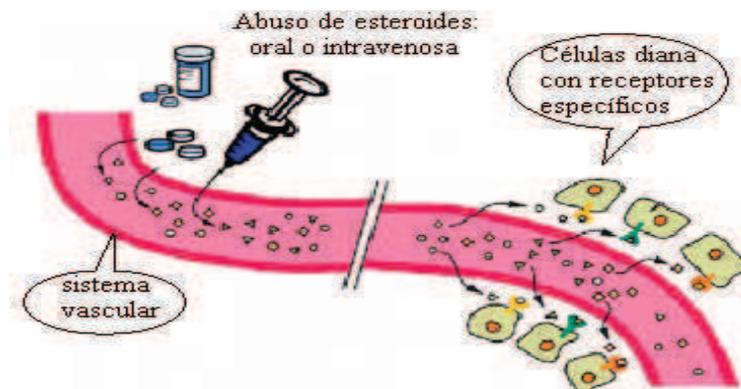


Fig. 53. Abuso de esteroides anabólicos (Recuperado el 23 de febrero de 2014 de <http://www.doping-prevention.sp.tum.de/typo3temp/pics/4c2a8aa82f.jpg>).

Una vez que se ha formado el complejo andrógeno-receptor, penetra en el núcleo de la célula, por un proceso denominado traslocación. Entonces, el complejo esteroide-receptor se une a los lugares aceptores sobre el cromosoma que contiene los genes celulares (DNA). La unión del complejo esteroide-receptor a la cromatina (DNA asociado a proteínas) desencadena la síntesis de RNAm. El RNAm abandona entonces el núcleo y dirige la síntesis de proteínas. Las proteínas sintetizadas proporcionan una respuesta característica en una célula o tejido en particular, es decir los esteroides anabolizantes andrógenos producen efectos diversos según el tejido sobre el cual ejerzan su acción (Fig. 54).

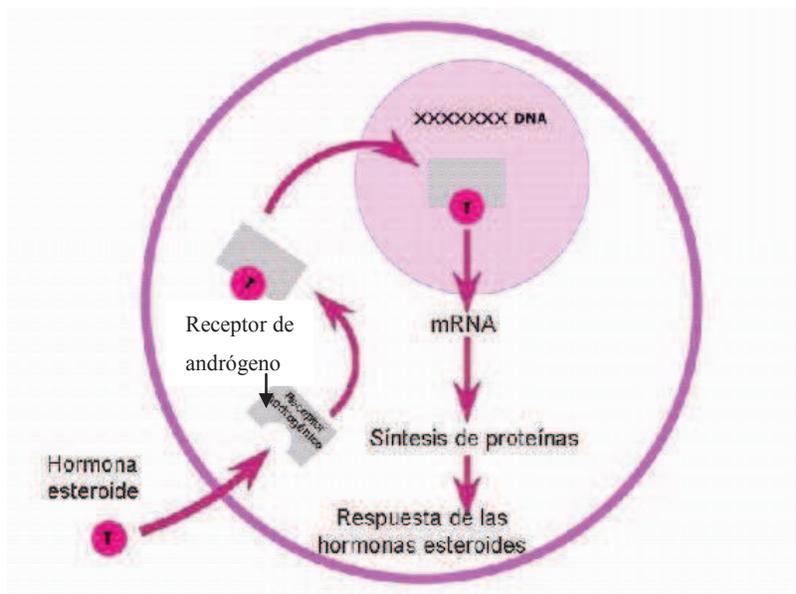


Fig. 54. Mecanismo de acción de EAA (Recuperado el 23 de febrero de 2014 de <http://www.doping-prevention.sp.tum.de/typo3temp/pics/bcc9759871.jpg>).

El receptor de andrógenos humano es un miembro característico de la superfamilia de receptores de hormonas esteroides y tiroideas. Está codificado por un gen sobre el cromosoma X y contiene dominios de unión a andrógeno, de unión a DNA y funcionales (Fragkaki, 2009 y Goodman, 2007).

Además de la promoción en la síntesis de proteínas, han sido propuestos varios mecanismos de acción relacionados con el mejoramiento del desempeño atlético incluyendo la promoción de la secreción de hormona de crecimiento o IGF (insulin-like growth hormone), el antagonismo a los efectos catabólicos de los glucocorticoides, incremento de la producción de glóbulos rojos y efectos a nivel de sistema nervioso central.

Durante el estrés (entrenamiento atlético vigoroso), los efectos catabólicos de los glucocorticoides generan un balance nitrogenado negativo al cual el organismo reacciona usando los depósitos de proteínas. Los esteroides anabólicos andrógenos (EAA) se oponen a este efecto a través de la competencia por los sitios de unión para los glucocorticoides. El desempeño físico también se ve incrementado en forma secundaria al incremento de la síntesis de eritropoyetina con el subsiguiente aumento del hematócrito y capacidad para el transporte de oxígeno. Además hay retención de sodio con lo que el volumen sanguíneo se incrementa en cerca del 15%. Se sabe que el cerebro y las motoneuronas- α tienen receptores de andrógenos que facilitan la liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular y liberan monoaminas del músculo. Esta activación del sistema nervioso central podría explicar el aumento de agresividad, la euforia, disminución de la fatiga, y el más importante, acortamiento en el tiempo de recuperación entre sesiones de trabajo, con lo que se incrementa y acelera el entrenamiento (Barrientos, 2001). El número de receptores androgénicos que se encuentran en la célula muscular es muy pequeño en el hombre sano normal y la mayoría de estos receptores están saturados por las hormonas circulantes e el hombre en condiciones de reposo. El entrenamiento físico se acompaña de un aumento del número de receptores androgénicos en el músculo y este aumento se acompaña de la capacidad del músculo para responder en presencia de esteroides anabolizantes, en este caso, los esteroides anabolizantes ingeridos podrían utilizar los receptores extra que se crean con el entrenamiento y potenciar los efectos anabólicos (Gorostiaga, 2005).

Modo de Uso de Esteroides Anabólicos (Ciclos de administración).

Quienes consumen esteroides anabólicos, típicamente usan una combinación de drogas inyectables y orales en ciclos de 7 a 14 semanas. Son preferidas las aplicaciones intramusculares ya que el efecto hepatotóxico es menor que con las preparaciones orales, sin embargo las preparaciones orales se eliminan más rápidamente del organismo y el usuario puede discontinuarlas si existe la posibilidad de que se le realice estudio para la detección de drogas.

El uso simultáneo de múltiples preparaciones esteroideas se denomina **stacking** cuya traducción sería apilamiento o amontonamiento y al patrón que habitualmente se sigue de ir incrementado en forma progresiva la dosis de anabólicos hasta terminar el ciclo, se le conoce como **pyramiding** (ir construyendo una pirámide, elevando la dosis al ir finalizando el ciclo). Estos dos procedimientos se realizan para maximizar la unión de

los esteroides a su receptor y minimizar los efectos tóxicos, llegando a dosis de hasta 8 a 40 veces mayores de las que se usan para indicaciones médicas.

En México aún no contamos con reportes del uso de Esteroides Anabólicos en adolescentes, pero sí se tienen resultados preliminares sobre el uso de estas drogas en individuos que se dedican al fisicoconstructivismo y realizan el curso que imparte la Federación Mexicana de Fisicoconstructivismo para ser entrenadores de este deporte, ellos serán quienes instruyan a nuestros adolescentes en la práctica de este deporte y quizá recomienden o no, el uso de estas drogas a los jóvenes; por lo que resulta interesante el conocer los resultados obtenidos.

Dicha encuesta se realizó por medio de la invitación para contestar un cuestionario a 152 sujetos con edades entre los 16 a 56 años, teniendo un porcentaje de respuesta del 89.5% (136 sujetos: 125 hombres y 11 mujeres), y reporta una prevalencia en el uso de Anabólicos Esteroides en este grupo del 26.4% (33 hombres y 3 mujeres), siendo este consumo más frecuente en el grupo de varones de los de 21 a 30 años. Lo más importante a considerar es que del total de usuarios de estas drogas, el 72% recomiendan su uso, aun cuando conocen los efectos colaterales que pueden llegar a presentarse y comprometer la salud.

Eficacia

A pesar de que múltiples estudios clínicos se han realizado, existe limitada evidencia que apoye su eficacia en el desempeño atlético. Desafortunadamente en la literatura hay problemas en el diseño de los estudios, el más importante problema metodológico es la disparidad en dosis entre los estudios clínicos y las realmente utilizadas por los atletas a nivel mundial. Ya que como se mencionó antes estas drogas son utilizadas incrementando progresivamente la dosis en ciclos y se combinan con varios esteroides anabólicos y no esteroideos en el transcurso de dichos ciclos; que duran entre 7 y 14 semanas y a menudo involucran 2 o 3 agentes orales, con 1 ó 2 esteroides anabólicos inyectables de larga acción. Por lo anterior los investigadores clínicos no pueden reproducir estos regímenes en condiciones experimentales por razones éticas.

Los estudios se han limitado a usar un agente ya sea por vía oral o inyectado, los atletas generalmente utilizan los agentes orales en dosis similares a la de los estudios clínicos, pero a menudo el agente inyectable es usado en dosis de 3 a 8 veces mayores, dependiendo del medicamento, hasta 40 veces mayor que en los estudios clínicos de investigación (Barrientos, 2001).

ANEXO II: AGENTES ESTIMULANTES DE LA ERITROPOYESIS (ESAs).

Clasificación:

ESAs de primera generación.

- Epoetina alfa: Eritropoyetina humana recombinante (r-HuEPO), aprobada por FDA con los nombres comerciales Procrit/Epogen en 1989 para el tratamiento de la anemia asociada a falla renal crónica (CRF), para elevar o mantener el nivel de eritrocitos y reducir la necesidad de transfusiones en estos pacientes. Se administra por inyección intravenosa o subcutánea. Cuando se aplica por vía intravenosa, se depura del plasma con una vida media de aproximadamente 10 horas. Después de inyección subcutánea, se obtienen concentraciones plasmáticas máximas en el transcurso de cinco a 24 horas.

- Epoetina beta (NeoRecormon)

- Epoetina delta o Dynepo

ESA de segunda generación.

- Darbepoetina alfa (Aranesp o NESP): Es un análogo de las r-HuEPO, se diferencia de ellas por que tiene una modificación en la secuencia de cinco aminoácidos, un mayor número de centros N-glicosilados y un mayor contenido en ácido siálico, en 2002 se empezó a comercializar, estimula la eritropoyesis por el mismo mecanismo que la hormona EPO endógena y tiene una vida media hasta tres veces superior. Ha sido utilizada como forma de dopaje en diversos deportes de resistencia; así, saltó a la fama tras dar varios deportistas (entre otros, el esquiador de fondo español Johann Mühlegg positivo por dicha sustancia en los Juegos Olímpicos de Salt Lake City 2002)

ESA de tercera generación.

- CERA: Continuous erythropoietin receptor activator (Mircera): En 2007 surge este nuevo agente denominado metoxi-polietilenglicol epoetina beta. Es un activador continuo del Receptor de la Eritropoyetina, al igual que la eritropoyetina endógena se une a un receptor sobre la superficie de células precursoras eritroides con la particularidad de poseer propiedades farmacológicas que le permiten mantener una estimulación continua de dichas células con lo que su administración se reduce a una vez por mes en lugar de 3 veces por semana como es el caso de la EPO clásica (Rabin, 2011, Jenkins, 2007 y Goodman, 2007).

En adición a los agentes estimulantes de eritropoyesis de los cuales su función principal es la de propiciar un mejor transporte de oxígeno hacia los tejidos con deficiencia del mismo por actividad física, se encuentran también sustancias que participan en

estabilizar o evitar que sea degradada la fracción HIF α necesaria para que se lleve a cabo la función del Factor de transcripción inducido por hipoxia del cual a continuación se mencionan sus principales funciones para favorecer el desempeño atlético.

Factor de transcripción inducido por hipoxia 1(HIF-1): Es una proteína compuesta por 2 subunidades: HIF-1 α y HIF-1 β . En una situación de falta de oxígeno como es el caso de la hipoxia, la HIF-1 α se une a la HIF-1 β dando lugar a la HIF-1 y con ello cambios en cascada por activación y estimulación de los genes regulados por el HIF-1 y sus efectos posteriores. El Factor de transcripción Inducido por Hipoxia-1 (HIF-1) lo encontramos en prácticamente todos los tejidos humanos: en el cerebro, corazón, pulmones, hígado, músculo esquelético, etc.

Generalidades.

El Factor Inducible por la Hipoxia-1 (HIF-1) actúa como el regulador principal en la expresión de los diferentes genes regulados por el oxígeno, hasta el momento se han detectado más de 2 docenas de genes regulados por el HIF-1, entre los que se relacionan con el rendimiento deportivo están los involucrados en el transporte de oxígeno (EPO, Transferrina y receptor de Transferrina), el aumento de la capilarización (factor de crecimiento de endotelio vascular), el metabolismo anaeróbico y la proliferación celular. (Roland, 2002).

ANEXO III: ESTIMULANTES.

- **Metanfetamina** (clorhidrato de metanfetamina): Está relacionada de manera estrecha, desde el punto de vista químico, con la anfetamina (Fig. 55). Sus efectos sobre el sistema nervioso central son más pronunciados que los de la anfetamina. El abuso crónico de dosis altas conduce a un estado psicótico con delirio y paranoia que es difícil de distinguir de la esquizofrenia (Goodman, 2007).

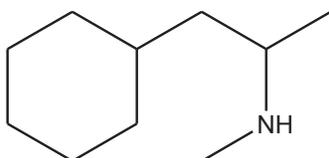
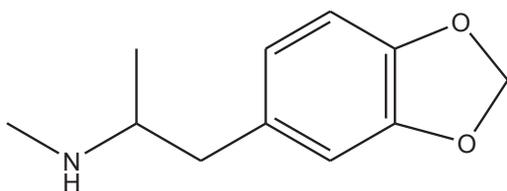
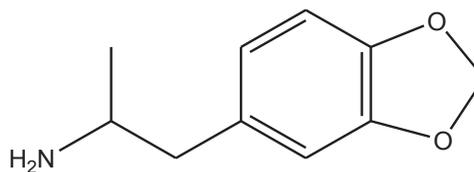


Fig. 55. Estructura química de metanfetamina (Tomada de Goodman, 2007).

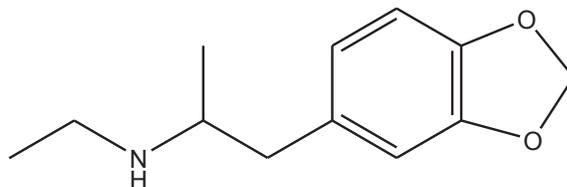
- **Metilendioximetanfetamina (MDMA)**: (3,4-metilendioximetanfetamina) Es el prototipo miembro de una larga serie de drogas denominadas fenetilaminas. Se cuenta con un número de compuestos homólogos con efectos en general similares, tales como metilendioxianfetamina (MDA), MDEA y N-metil-1-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-butamina (MBDB), estas sustancias son conocidas colectivamente como drogas “éxtasis” (Fig. 56), no obstante MDMA es la principal droga encontrada en tabletas de “éxtasis”.



Metilendioximetanfetamina (MDMA)



Metilendioxianfetamina (MDA)



Metilendioxietilamfetamina (MDEA)

Fig. 56. Estructuras químicas de drogas “éxtasis” (Tomada de Jickells, 2008).

Causa un efecto vigorizante, incremento de energía, euforia, sentimiento de empatía, sensaciones alucinógenas con distorsión de la percepción, del tiempo y de las experiencias táctiles. El MDMA puede dañar el juicio, resultando en peligrosos comportamientos. Los riesgos a la salud asociados con tomar MDMA incluyen hipertensión, hipertermia y deshidratación, así como depresión severa.

Efecto Farmacológico: La MDMA se une y bloquea al transportador de serotonina, que es el responsable de remover la serotonina de la sinapsis (el espacio que queda entre una neurona y otra) para extinguir la señal entre las neuronas. Es así que la MDMA aumenta y prolonga la señal de la serotonina. La MDMA también entra a las neuronas serotoninérgicas a través del transportador (porque la MDMA tiene una estructura química similar a la serotonina). Allí causa una liberación excesiva de serotonina de las neuronas (Jickells, 2008).

Cocaína:

La cocaína es extraída de la hoja del arbusto de la coca (*Erythroxylon coca*), hay dos formas químicas de la cocaína que suelen consumirse.

Sal de clorhidrato de cocaína: Es la forma en polvo de la cocaína, es soluble en agua y se consume de forma inyectada o inhalada (“snorting”).

Cristales de cocaína o base: conocida en inglés como “freebase”, que no es soluble en agua, los cristales de cocaína o “freebase” han sido procesados con amoníaco o bicarbonato sódico y agua calentados para eliminar el clorhidrato y producir una sustancia que se puede fumar. El término “crack”, el nombre de la calle para los cristales o base de cocaína, se refiere al sonido crujiente que se oye al fumar esta mezcla.

El clorhidrato de cocaína alcanza rápidamente altas concentraciones en plasma después de su administración intravenosa, pero su grado de absorción administrada intramuscular, subcutánea o tópica es limitado por su efecto vasoconstrictor. La absorción a través de membranas mucosas es rápida y esto explica la preferencia por su administración vía intranasal. La relativa biodisponibilidad e intensidad de los efectos es similar en la administración oral o nasal.

La mayor parte de cocaína se elimina en la orina como benzoilecgonina dentro de 24 a 36 horas después de su administración. La proporción de cocaína libre excretada se

incrementa cuando la orina es acidificada. La cantidad de droga no modificada que es excretada depende además de la dosis y la ruta de administración. La droga no modificada se excreta en eses.

La cocaína se metaboliza en humanos a ecgonina de metil éster (EME), benzoilecgonina y ecgonina (Fig. 57) (Mendoza, 2008).

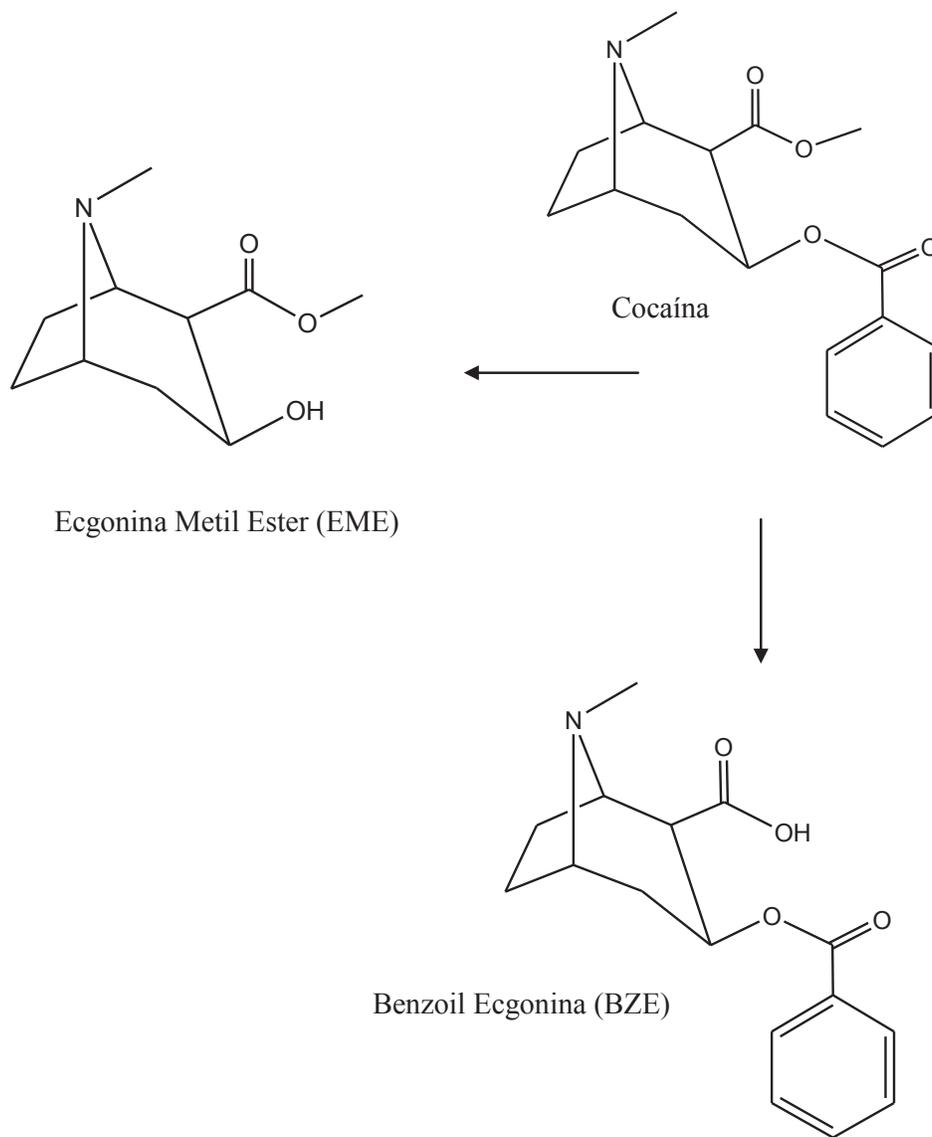


Fig. 57. Metabolitos de la cocaína (Tomada de Mendoza, 2008).

Otro estimulante importante que no es del tipo de anfetamina es **la efedrina** (sulfato de efedrina) es un agonista tanto α como β -adrenérgico; además, intensifica la descarga de noradrenalina desde las neuronas simpáticas. Contiene átomos de carbono asimétricos; sólo se emplean en clínica *l-efedrina* y *efedrina racémica*.

Efectos Farmacológicos de la efedrina: Estimula la frecuencia y el gasto cardiaco y aumenta de manera variable la resistencia vascular periférica; por lo que, suele elevar la presión arterial. La activación de los receptores β -adrenérgicos en los pulmones fomenta la broncodilatación. También es un potente estimulante del SNC, después de su administración oral, los efectos pueden persistir durante varias horas. Se elimina inalterado, principalmente en la orina, con una vida media de tres a seis horas. Entre los efectos adversos existe el riesgo de hipertensión y arritmias cardiacas, sobre todo después de administración parenteral. La alteración en el SNC se manifiesta por insomnio. Con la administración repetitiva puede ocurrir taquifilaxia.

La **fenilefrina**, **pseudoefedrina** (estereoisómero de la efedrina) y la **fenilpropanolamina**, son los fármacos simpaticomiméticos de mayor uso por vía oral, su uso clínico principal es para el alivio de la congestión nasal (aminas simpaticomiméticas), no obstante pueden ser utilizadas en el ámbito deportivo por compartir las propiedades farmacológicas de la efedrina. En el caso de clorhidrato de fenilpropanolamina comparte las propiedades farmacológicas de la efedrina y su potencia es casi igual, salvo que produce menos estimulación del SNC (Goodman, 2007).

ANEXO IV: CANNABIS.

La planta del cannabis es dioica, lo que quiere decir que hay macho y hembra, siendo esta última la que presenta mayor cantidad de principios activos; por eso, habitualmente lo que se consume es la hembra. La resina de la planta se encuentra principalmente en el área que florea, las hojas y los tallos de la parte superior, pero la mayor cantidad la contiene el área que florea. En temporada de florecimiento, las plantas hembras y machos contienen la misma cantidad de resina, pero después de que la planta macho pierde todo su polen empieza a morir.

Las hojas de Cannabis sativa, son compuestas y consisten de 5 a 11 folletos, cubiertos con vellos característicos, venas y con bordes cerrados. Bajo examinación microscópica, las características de cannabis se pueden ver en la hierba y en la resina: vellos quísticos y vellos glandulares (Fig. 58).

Los vellos quísticos contienen un depósito de carbonato de calcio en su base. Estos vellos son principalmente células simples. Los vellos glandulares (tricomas) son los más importantes ya que ellos contienen y secretan la resina, estos son cortos y pueden ser unicelulares o multicelulares (tienen un tallo multicelular con cabezas que contienen de 8 a 16 células) (Fig. 59).

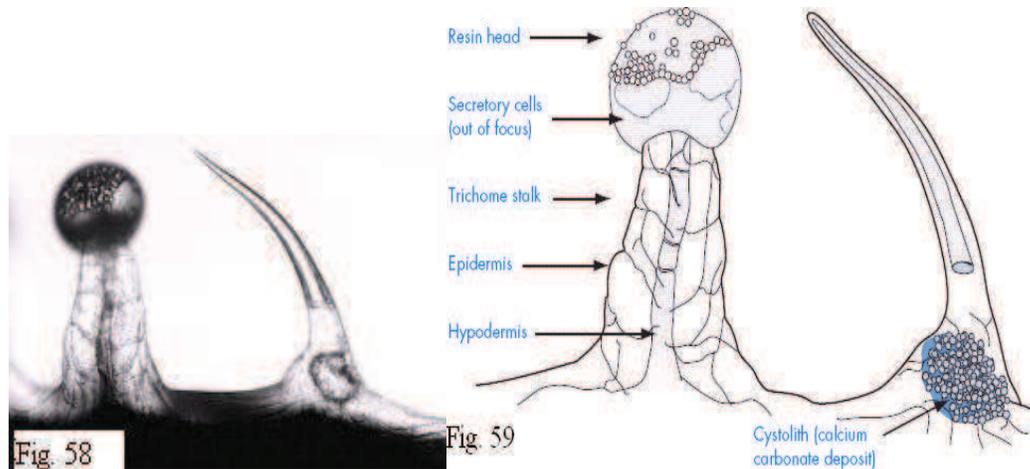


Fig. 58. Fotografía de tricoma glandular y tricoma quístico (Tomada de Jickells, 2008).

Fig. 59. Diagrama de un tallo de tricoma glandular (izquierdo) y un tricoma quístico no glandular (derecho) (Tomada de Jickells, 2008).

La marihuana consistente en hojas secas (Fig. 60) contiene 1- 8% de THC, mientras que las preparaciones hechas a partir de la resina y flores de la parte superior se denomina jashish (ganja o charas) (Fig. 61) pueden contener más del 15%. Aproximadamente la

mitad del total de THC disponible es liberado en el humo al quemar un cigarrillo de marihuana. El Δ^9 -THC es un sólido resinoso a 0°C y se licua a un aceite viscoso a 20°C, es insoluble en agua pero se disuelve en etanol y solventes orgánicos (Fig. 62) (Jickells, 2008).

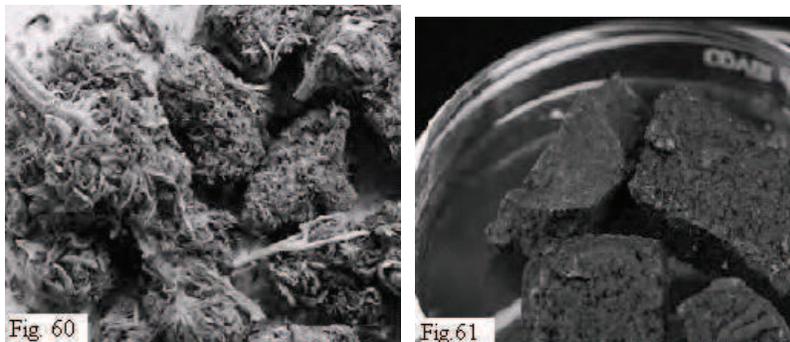


Fig. 60. Cannabis en presentación de hierba se encuentra en bloques de flores, tallos y hojas secas (Tomada de Jickells, 2008).

Fig. 61. La resina de cannabis (jashish) es un comprimido sólido hecho de las partes resinosas de la planta (Tomada de Jickells, 2008).

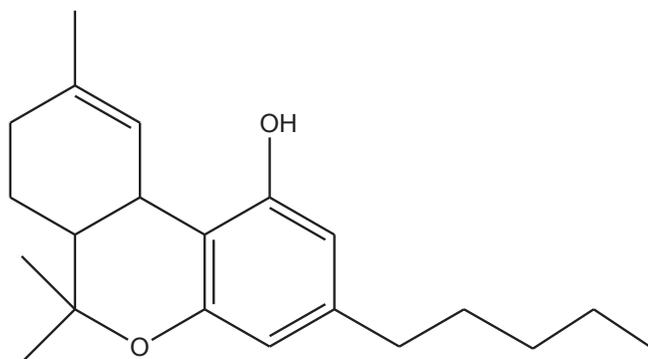


Fig. 62. Estructura química del Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Tomada de Jickells, 2008).

Farmacocinética: Después de la administración oral de preparaciones de cannabis el THC se asocia con lípidos. La absorción oral es baja, niveles irregulares en plasma indican una lenta y errática absorción, los niveles de absorción aumentan por emulsificación de THC con sales biliares. Las preparaciones fumadas de cannabis destruyen algunos THC por pirolisis, no obstante algunos se forman por pirolisis de ácidos de THC, después de la inhalación los efectos de cannabis son evidentes a unos pocos minutos, el pico máximo es aproximadamente a 30 minutos y dura alrededor de 2 horas. Después del consumo oral toma 1 a 2 horas que desarrolle efecto, su pico máximo es entre 2 y 3 horas y lo último a las 5 horas aproximadamente. El THC se liga poderosamente a las proteínas plasmáticas (albumina y lipoproteínas) y como resultado,

solo una pequeña cantidad penetra la barrera cerebral, no obstante su alta liposolubilidad. En ratones, por ejemplo, solo 0.6% de una dosis de 2mg/kg de THC penetra al cerebro. El THC es almacenado en tejido adiposo esto prolonga su existencia en el cuerpo, otros sitios de acumulación son los pulmones y el hígado. Después de alcanzar el pico, las concentraciones plasmáticas de Δ^9 -THC caen rápidamente (la vida media es de pocos minutos) reflejando la redistribución de la droga a los tejidos ricos en lípidos. Seguido de esto, ocurre una fase lenta de declinación (vida media de días:) durante la cual la droga es gradualmente metabolizada y excretada del cuerpo. En la circulación enterohepática se contabiliza un 10-15% de los metabolitos.

Principales Metabolitos:

El Δ^9 -THC es rápidamente transformado en su metabolito activo, 11-hidroxi- Δ^9 -THC, el cual produce el mismo efecto, este a su vez es convertido a un metabolito inactivo más polar, 8,11-dihidroxi-THC, el cual es excretado en orina y heces (Fig. 63). El fumador crónico de cannabis metaboliza Δ^9 -THC más rápidamente que los no fumadores. Cannabis disminuye el metabolismo de barbituratos, antipirina y alcohol (Goodman, 2007).

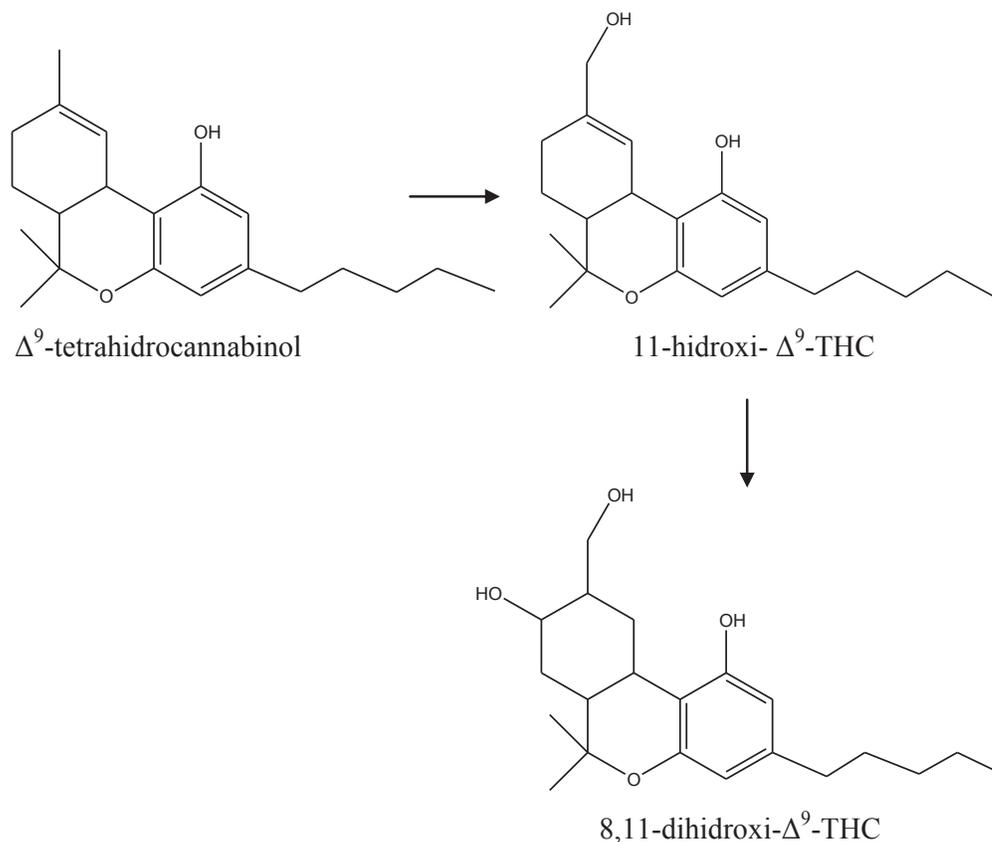


Fig. 63. Metabolitos del Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Tomada de Goodman, 2007).