

18.795



\* 5 3 0 9 5 5 9 3 5 7 \*

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

**ESTUDIO DE LOS ELEMENTOS DE ANALISIS  
UTILIZADOS Y PROPUESTOS  
COMO DETECTORES DE LA TESTOSTERONA  
EN EL CONTROL ANALITICO DEL DOPAJE**

**Cecilia Rodríguez Bueno**

**Madrid, 1.993**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA

**"Estudio de los elemento de análisis utilizados y propuestos  
como detectores de la testosterona en el control analítico del dopaje"**

Director: Dr. D. Rafael Cortés Elvira

MEMORIA

que para optar al grado de

Doctor en Ciencias Químicas

presenta

CECILIA RODRIGUEZ BUENO

Madrid, 1.993

**A mi esposo.**

**A mis hijas.**

**A mis padres y hermanos.**

Son vanas, y están llenas de errores,  
las ciencias que no nacen de la experimentación,  
madre de toda certidumbre.

Leonardo de Vinci (1.452-1.519)

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo ha sido realizado en el Laboratorio de Control del Dopaje, del Centro Nacional de Investigación y Ciencias del Deporte, del Consejo Superior de Deportes (Madrid).

La autora hace constar su sincero agradecimiento:

En primer lugar, al Prof. Dr. D. Rafael Cortés Elvira por su interés y ayuda en la realización de esta Tesis.

Asimismo, al Prof. Dr. D. Joaquín Plumet Ortega por aceptar la tutoría de esta Tesis, aportando durante la realización de esta Memoria sus valiosas observaciones.

Al Prof. Dr. D. Marcos Maynar Mariño por su específica aportación en los aspectos biomédicos que se tratan.

Al Prof. Dr. D. Juan I. Maynar Mariño, por su comprensión y facilidades en la realización de esta Tesis.

A mis compañeros del Laboratorio de Control del Dopaje, y en concreto a aquéllos que más directamente han colaborado en la realización de este trabajo; especialmente a Agustín F. Rodríguez Cano, Daniel Carreras Alvarez-Ossorio, Carmen Soriano Martínez, Jesús A. Muñoz-Guerra Revilla y Coral Fernández Gumiel.

A mi familia, que ha tenido que ceder y compartir con la Tesis muchas horas de convivencia.

A mis amigos, que han "soportado" con paciencia las charlas sobre la Tesis.

A todos, muchas gracias.

**PUBLICACIONES A QUE HA DADO LUGAR ESTA TESIS**



## **Publicaciones**

1. **Título:** Estudio preliminar de niveles de testosterona con respecto a la epitestosterona en población adolescente masculina-Comparación con niveles en deportistas de élite

**Autores:** Rodríguez, C.; Rubio, S.; Cortés, R.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Soriano, C.; Palacios, N.

**Publicación:** Archivos de Medicina del Deporte, VII(26):133-137, (1.990)
  
2. **Título:** "Nuevo estudio de niveles de testosterona en adolescentes masculinos con diferentes intensidades de actividad deportiva"

**Autores:** Rodríguez, C.; Rubio, S.; Cortés, R.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Soriano, C.; Palacios, N.

**Publicación:** Revista de Investigación y Documentación sobre las Ciencias de la Educación Física, 12-13:52-54, I-XIII, (1.989)
  
3. **Título:** Estudio de relaciones entre hormonas androgénicas medidas en muestras fisiológicas de orina.

**Autores:** Rodríguez, C.; Rodríguez, A.F.; Maynar, J.I.; Cortés, R.

**Publicación:** Revista de Investigación y Documentación sobre las Ciencias de la Educación Física, 18:7-18, (1.991)

4. **Título:** Influencia de la hCG en la eliminación urinaria de hormonas endógenas-androgénicas.
- Autores:** Rodríguez, C.; Maynar, M.; Rubio, M.D.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.
- Publicación:** Archivos de Medicina del Deporte, VIII(30):115-118, (1.991)
5. **Título:** Gonadotropina coriónica humana (hCG) y Dopaje.
- Autores:** Rodríguez, C.; Maynar, M.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.
- Publicación:** Archivos de Medicina del Deporte, VIII(32):315-318, (1.991)
6. **Título:** Modificación de las tendencias de abuso de los diferentes tipos de agentes dopantes
- Autores:** Rodríguez, C.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.; Maynar, M.
- Publicación:** Archivos de Medicina del Deporte, VIII(32):411-416, (1.991)
7. **Título:** Perfiles urinarios de hormonas androgénicas y deporte.
- Autores:** Maynar, M.; Rodríguez, C.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Rubio, M.D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.
- Publicación:** Archivos de Medicina del Deporte, VIII(N.e.):65, (1.991)

8. **Título:** Efecto de la hCG en la eliminación urinaria de hormonas androgénicas en deportistas.
- Autores:** Rodríguez, C.; Maynar, M.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Rubio, M.D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.
- Publicación:** Archivos de Medicina del Deporte, VIII(N.e.):65-66, (1.991)
9. **Título:** Stress, Testosterone and Steroid Profile
- Autores:** Rubio, M.D.; Maynar, M.; Rodríguez, C.; Rodríguez, A.F.; González, J.J.; Maynar, J.I.; Cortés, R.
- Publicación:** Second IOC World Congress on Sport Sciences, 241, (1.991)
10. **Título:** Urinary Elimination of Androgenics Hormones in Professional Cyclist Racers.
- Autores:** Maynar, M.; Mena, P.; Rodríguez, C.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.
- Publicación:** Second IOC World Congress on Sport Sciences, 264-265, (1.991)
11. **Título:** Niveles hormonales en deportistas de fuerza.
- Autores:** Rubio, M.D.; Maynar, M.; González, J.J.; Rodríguez, C.; Rodríguez, A.F.; Cortés, R.
- Publicación:** HalterSport, IV(10), 42-45, (1.992)

12. Título: Correcta cuantificación de la testosterona en un análisis de control del dopaje.

Autores: Rodríguez, A.F.; Rodríguez, C.; Carreras, D.; Soriano, C.; Fernández, C.; Cantón, I.; Maynar, J.I.; Cortés, R.

Publicación: Archivos de Medicina del Deporte, X(39), (1.993) (en prensa).

**TABLA GENERAL DE NOMBRES QUÍMICOS Y ESTRUCTURAS**

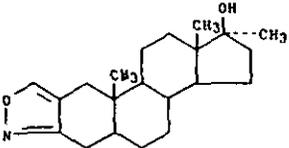
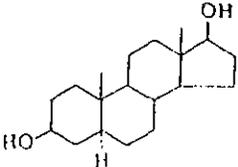
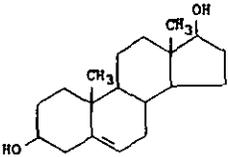


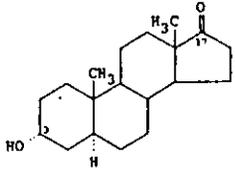
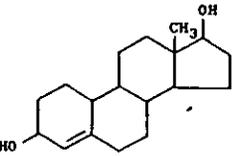
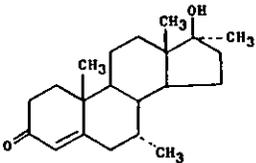
*Nombre químico genérico, trivial v/o simple*

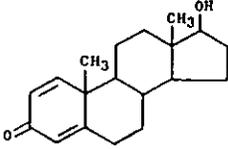
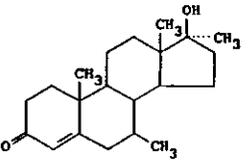
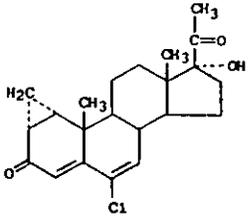
- \* Androisoxazol
- \* Androstandiol
- \* Androstanolona (ver Estanolona)
- \* Androstendiol
- \* Androsterona
- \* Bolandiol
- \* Bolasterona
- \* Boldenona
- \* Calusterona
- \* Ciproterona
- \* Clenbuterol
- \* Clomifeno
- \* Clortestosterona (ver Clostebol)
- \* Clostebol
- \* Danazol
- \* Dehidroclormetiltestosterona
- \* Dehidroepiandrosterona (ver Prasterona)
- \* Dihidrotestosterona (ver Estanolona)
- \* Dromostanolona
- \* Drostanolona (ver Dromostanolona)
- \* Epitestosterona

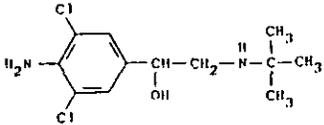
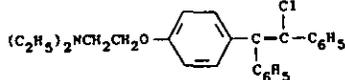
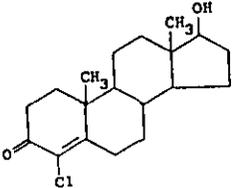
- \* **Estanolona**
- \* **Estanozolol**
- \* **Estenbolona**
- \* **Etilestrenol**
- \* **Etiocolanolona**
- \* **Fluoximesterona**
- \* **Formebolona (ver Formildienolona)**
- \* **Formildienolona**
- \* **Furazabol**
- \* **Hidroxiandrosterona**
- \* **Hidroxietiocolanolona**
- \* **Mestanolona**
- \* **Mesterolona**
- \* **Metandienona (ver Metandrostenolona)**
- \* **Metandriol**
- \* **Metandrostenolona**
- \* **Metilandrostendiol (ver Metandriol)**
- \* **Metenolona**
- \* **Metiltestosterona**
- \* **Mibolerona**
- \* **Nandrolona**
- \* **Norboletona**
- \* **Noretandrolona**

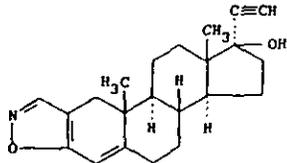
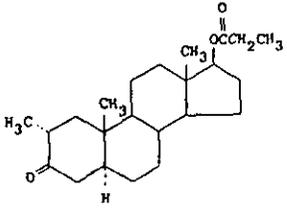
- \* Normetandrona
- \* Nortestosterona (ver Nandrolona)
- \* Oxabolona
- \* Oxandrolona
- \* Oximesterona
- \* Oximetolona
- \* Prasterona
- \* Quinbolona
- \* Testolactona
- \* Testosterona
- \* Tibolona
- \* Tiomesterona
- \* Trenbolona
- \* Zeranol

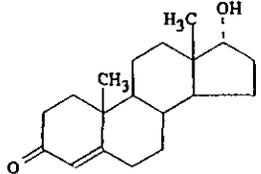
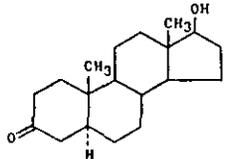
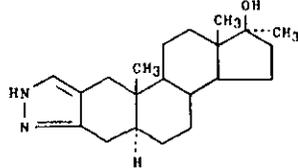
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Androisoxazol</b>	17-Metilandrostando[3,2-c]isoxazol-17-ol. 17 $\beta$ -Hidroxi-17-metil-5 $\alpha$ -androstan-[3,2-c]-isoxazol.		Anabolizante
<b>Androstandiol</b>	5 $\alpha$ -Androstando-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol.		Andrógeno
<b>Androstendiol</b>	5-Androsten-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol.		Anabolizante

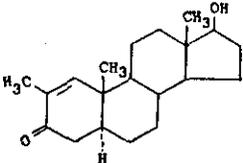
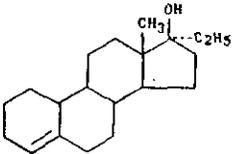
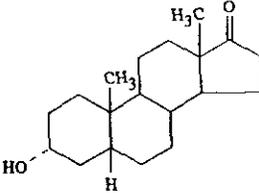
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
Androsterona	3 $\alpha$ -Hidroxi-5 $\alpha$ -androstan-17-ona		Andrógeno
Bolandiol	Estr-4-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol		Anabolizante
Bolasterona	17-Hidroxi-7,17-dimetilandro-4-en-3-ona		Anabolizante

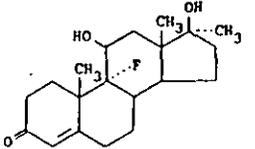
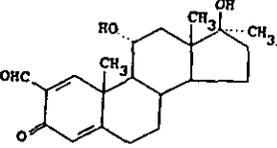
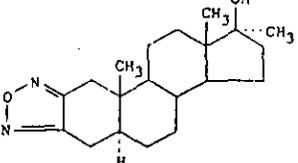
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Boldenona</b>	17-Hidroxiandrosta-1,4-dien-3-ona		<b>Andrógeno Anabolizante</b>
<b>Calusterona</b>	17-Hidroxi-7,17-dimetilandrosta-4-en-3-ona		<b>Antineoplásico</b>
<b>Ciproterona</b>	6-Cloro-1,2-dihidro-17-hidroxi-3'H-ciclopropa[1,2]pregna-1,4,6-trien-3,20-diona.		<b>Antiandrógeno</b>

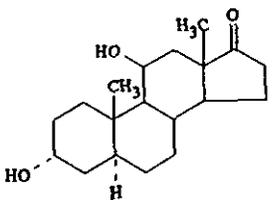
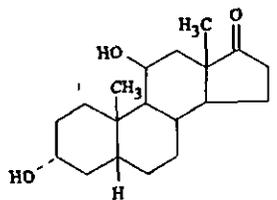
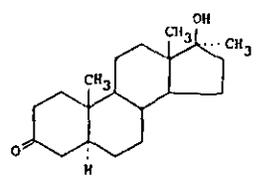
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Clenbuterol</b>	4-Amino-3,5-dicloro- $\alpha$ -{[(1,1-dimetiletil)amino]metil}-bencenometanol		Antiasmático
<b>Clomifeno</b>	2-[4-(2-Cloro-1,2-difeniletetil)fenoxi]-N,N-dietiletanamina		Estimulante gonadal
<b>Clostebol (Clortestosterona)</b>	4-Cloro-17 $\beta$ -hidroxiandrost-4-en-3-ona		Anabolizante

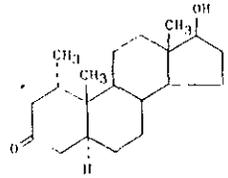
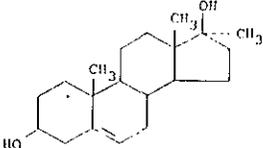
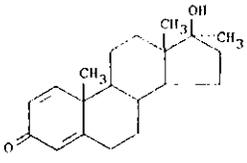
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Danazol</b>	Pregna-2,4-dien-20-inol[2,3-d]isoxazol-17-ol		Antigonadotrópico
<b>Dehidroclormetiltestosterona</b>	(17β)-4-cloro-17-hidroxi-17-metilandrosta-1,4-dien-3-ona		Anabolizante
<b>Dromostanolona (Drostanolona)</b> Nota: En forma de propionato	2α-Metil-17β-(1-oxopropoxi)-5α-androsta-3-ona		Antineoplásico

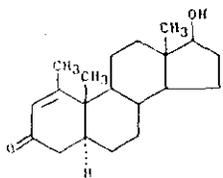
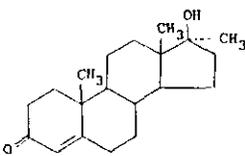
<b>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</b>	<b>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</b>	<b>Estructura</b>	<b>Categoría terapéutica</b>
<b>Epitestosterona</b>	17 $\alpha$ -Hidroxiandrost-4-en-3-ona 17 $\alpha$ -Hidroxi-4-androsten-3-ona		<b>Andrógeno</b>
<b>Estanolona (Androstanolona) (4-dihidrotestosterona) (DHT)</b>	17-Hidroxiandrostan-3-ona. 17 $\beta$ -Hidroxi-5 $\alpha$ -androstan-3-ona.		<b>Andrógeno</b>
<b>Estanozolol</b>	17-Metil-2'H-androst-2-eno[3,2-c]-pirazol-17-ol		<b>Andrógeno Anabolizante</b>

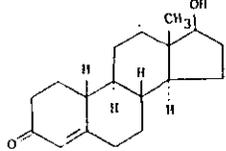
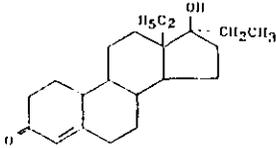
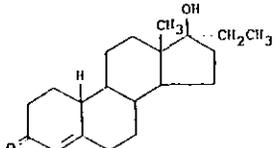
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Estenbolona</b>	<b>17<math>\beta</math>-Hidroxi-2-metil-5<math>\alpha</math>-androst-1-en-ona</b>		<b>Anabolizante</b>
<b>Etilestrenol</b>	<b>19-Nor-17<math>\alpha</math>-pregn-4-en-17-ol. 17<math>\alpha</math>-Etil-4-estren-17-ol.</b>		<b>Anabolizante</b>
<b>Etiocolanolona</b>	<b>5<math>\beta</math>-Androstan-3<math>\alpha</math>-ol-17-ona</b>		<b>Andrógeno</b>

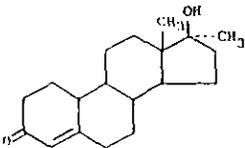
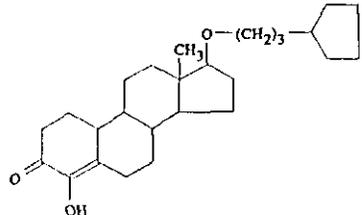
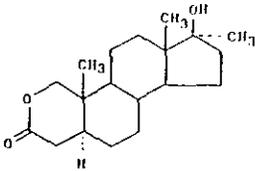
<b><u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u></b>	<b><u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u></b>	<b><u>Estructura</u></b>	<b><u>Categoría terapéutica</u></b>
<b>Fluoximesterona</b>	9-Fluoro-11,17-dihidroxi-17-metilandro-4-en-3-ona. 9 $\alpha$ -Fluoro-11 $\beta$ ,17 $\beta$ -dihidroxi-17-metil-4-androsten-3-ona.		<b>Andrógeno</b>
<b>Formildienolona (Formebolona)</b>	11 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihidroxi-17-metil-3-oxoandrosta-1,4-dien-2-carboxaldehido		<b>Anabolizante</b>
<b>Furazabol</b>	17 $\alpha$ -Metil-5 $\alpha$ -androstan-2,3-c-[1,2,5]oxadiazol-17 $\beta$ -ol		<b>Anticolesterémico</b>

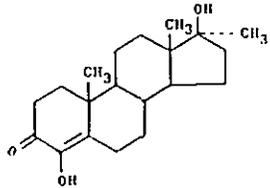
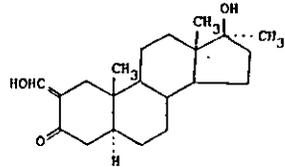
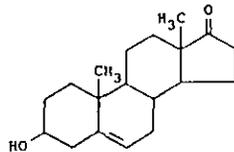
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Hidroxiandrosterona</b>	<b>5<math>\alpha</math>-Androstan-3<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-diol-17-ona</b>	 <p>The structure shows a steroid nucleus with a ketone group at C-17, a methyl group at C-13, and hydroxyl groups at C-3 and C-11. The C-5 position is saturated, and the C-10 position has a hydrogen atom pointing down.</p>	<b>Andrógeno</b>
<b>Hidroxietiocolanolona</b>	<b>5<math>\beta</math>-Androstan-3<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-diol-17-ona</b>	 <p>The structure is identical to the previous one, but the hydrogen atom at the C-5 position is pointing up.</p>	<b>Andrógeno</b>
<b>Mestanolona</b>	<b>17<math>\beta</math>-Hidroxi-17-metil-5<math>\alpha</math>-androstan-3-ona</b>	 <p>The structure shows a steroid nucleus with a ketone group at C-3, a methyl group at C-13, and a methyl group and a hydroxyl group at C-17. The C-5 position is saturated, and the C-10 position has a hydrogen atom pointing down.</p>	<b>Andrógeno</b>

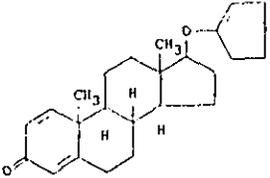
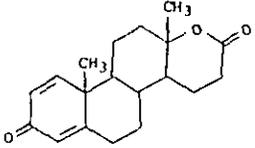
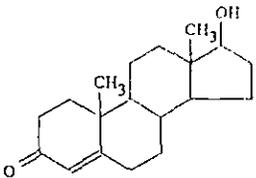
<b><u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u></b>	<b><u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u></b>	<b><u>Estructura</u></b>	<b><u>Categoría terapéutica</u></b>
<b>Mesterolona</b>	17-Hidroxi-1-metilandrostan-3-ona. 17 $\beta$ -Hidroxi-1 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3-ona.		<b>Andrógeno</b>
<b>Metandriol (Metilandrostandiol)</b>	17 $\alpha$ -Metil-5-androsten-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol		<b>Anabolizante</b>
<b>Metandrostenolona (Metandienona)</b>	17-Hidroxi-17-metilandrosta-1,4-dien-3-ona. 17 $\beta$ -Hidroxi-17-metil-1,4-androstadien-3-ona.		<b>Anabolizante</b>

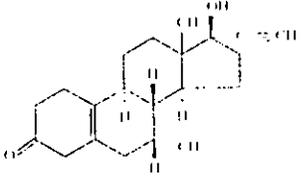
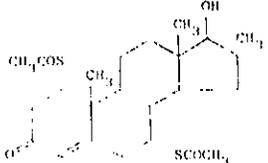
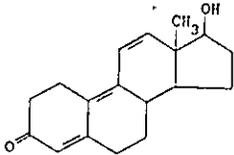
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Metenolona</b>	17β-Hidroxi-1β-metil-5α-androst-1-en-3-ona		Anabolizante
<b>17-Metiltestosterona (Metiltestosterona)</b>	17-Hidroxi-17-metilandrostr-4-en-3-ona		Andrógeno
<b>Mibolerona</b>	17-Hidroxi-7,17-dimetilestr-4-en-3-ona		Anabolizante Andrógeno

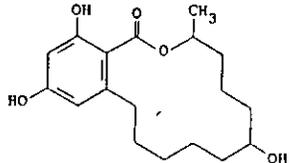
<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
Nandrolona (Nortestosterona)	17-Hidroxiestr-4-en-3-ona. 17 $\beta$ -Hidroxi-4-estren-3-ona.		Anabolizante
Norboletona	3-Etil-17-hidroxi-18,19-dinorpregn-4-en-3-ona		Anabolizante
Noretandrolona	17-Hidroxi-19-norpregn-4-en-3-ona. 17 $\alpha$ -Etil-17-hidroxi-4-estren-3-ona.		Andrógeno

<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
Normetandrona	17β-Hidroxi-17-metilestr-4-en-3-ona. 17α-Metil-17-hidroxi-4-estren-3-ona.		Andrógeno
Oxabolona	17β-(3-Ciclopentilpropioniloxi)-4-hidroxi-estr-4-en-3-ona. Estr-4-ene-4,17β-diol-3-ona-17-ciclopentanpropionato.		Anabolizante
Oxandrolona	17-Hidroxi-17-metil-2-oxaandrostan-3-ona. 17β-Hidroxi-17-metil-2-oxa-5-androstan-3-ona.		Andrógeno

<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Oximesterona</b>	4,17-Dihidroxi-17-metilandro-4-en-3-ona. 4,17β-Dihidroxi-17-metil-4-androsten-3-ona.		<b>Andrógeno Anabolizante</b>
<b>Oximetolona</b>	17-Hidroxi-2-(hidroximetil)-17-metilandrostan-3-ona. 17β-Hidroxi-2-(hidroximetil)-17-metil-5α-androstan-3-ona.		<b>Andrógeno Anabolizante</b>
<b>Prasterona (Dehidroepiandrosterona)</b>	3-Hidroxiandrost-5-en-17-ona. 3β-Hidroxi-5-androsten-17-ona.		<b>Andrógeno</b>

<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Quinbolona</b>	17β-(1-Ciclopenten-1-iloxi)androsta-1,4-dien-3-ona		Anabolizante
<b>Testolactona</b>	D-Homo-17α-oxaandrosta-1,4-dien-3,17-ona. 17α-Oxo-D-homo-1,4-androstadien-3,17-ona.		Antineoplásico
<b>Testosterona</b>	17β-Hidroxiandrost-4-en-3-ona. 17βHidroxi-4-androsten-3-ona.		Andrógeno

<b><u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u></b>	<b><u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u></b>	<b><u>Estructura</u></b>	<b><u>Categoría terapéutica</u></b>
<b>Tibolona</b>	<b>(7<math>\alpha</math>,17<math>\alpha</math>)-17-Hidroxi-7-metil-19-nor-pregn-5(10)-en-20-in-3-ona</b>		<b>Andrógeno Estrógeno Progestágeno</b>
<b>Tiomesterona</b>	<b>1,7-Bis(tioacetil)-17-hidroxi-17-metilandro-4-en-3-ona</b>		<b>Andrógeno</b>
<b>Trenbolona</b>	<b>17-Hidroxiestra-4,9,11-trien-3-ona</b>		<b>Anabolizante</b>

<u>Nombre químico genérico, trivial y/o simple</u>	<u>Nombre químico abstracto y/o sistemático (IUPAC)</u>	<u>Estructura</u>	<u>Categoría terapéutica</u>
<b>Zeranol</b>	3,4,5,6,7,8,9,10,11,12-Decahidro-7,14,16-trihidroxi-3-metil-1H-2-benzoxaciclotetradecin-1-ona		<b>Anabolizante</b>

**RELACION DE SIGLAS Y ABREVIATURAS**

**Siglas y abreviaturas utilizadas en el texto**

<b>An</b>	androsterona
<b>BUP</b>	Bachillerato Unificado Polivalente
<b>CIO</b>	Comité Olímpico Internacional
<b>CG</b>	cromatografía (o cromatógrafo) de gases
<b>CG/DSM</b>	sistema de cromatografía de gases y detector selectivo de masas
<b>CG/EM</b>	sistema de cromatografía de gases y espectrometría de masas
<b>CG/CL/EM</b>	sistema de cromatografía de gases, cromatografía de líquidos y espectrometría de masas
<b>CL</b>	cromatografía (o cromatógrafo) de líquidos
<b>CSD</b>	Consejo Superior de Deportes
<b>DHEA</b>	dehidroepiandrosterona
<b>DHT</b>	dihidrotestosterona
<b>dl</b>	decilitro
<b>DNA</b>	ácido desoxirribonucleico
<b>DSM</b>	detección (o detector) selectivo de masas
<b>E</b>	epitestosterona
<b>EAA</b>	esteroides anabolizantes androgénicos
<b>Et</b>	etiocolanolona
<b>FASEB</b>	"The Federation of American Societies for Experimental Biology"
<b>FSH</b>	hormona folículoestimulante
<b>GH</b>	hormona del crecimiento

<b>GHRH</b>	factor de liberación de la hormona del crecimiento
<b>h</b>	hora
<b>hCG</b>	gonadotropina (o gonadotrofina) coriónica humana
<b>HDL</b>	lipoproteínas de alta densidad
<b>ISTD</b>	patrón interno
<b>JJ.OO.</b>	Juegos Olímpicos
<b>Kg</b>	kilogramo/s
<b>LCD</b>	Laboratorio de Control del Dopaje
<b>LDL</b>	lipoproteínas de baja densidad
<b>LH</b>	hormona luteinizante
<b>MBHFBA</b>	N-metil-bis-heptafluorobutiramida
<b>MEIA</b>	enzimoinmunoensayo de micropartículas
<b>mg</b>	miligramo/s
<b>ml</b>	mililitro/s
<b>mm</b>	milímetros
<b>MSHFBA</b>	N-metil-N-trimetilsililheptafluorobutiramida
<b>MSTFA</b>	N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida
<b>mUI</b>	miliunidades internacionales
<b>m/z</b>	relación entre la carga y la masa
<b>ng</b>	nanogramos
<b>nM</b>	nanomoles
<b>OHAn</b>	11-hidroxi-androsterona

<b>OHEt</b>	11-hidroxi-etiocolanolona
<b>PHE</b>	perfil hormonal esteroideo
<b>ppm</b>	partes por millón
<b>RNA</b>	ácido ribonucleico
<b>RNA<sub>m</sub></b>	ácido ribonucleico mensajero
<b>RNA<sub>r</sub></b>	ácido ribonucleico ribosómico
<b>RNA<sub>t</sub></b>	ácido ribonucleico de transferencia
<b>R<sub>T/E</sub></b>	relación entre las concentraciones de testosterona y epitestosterona
<b>SHBG</b>	"Steroid Hormone Binding Globulin"
<b>SIM</b>	"selected ion monitoring"
<b>T</b>	testosterona
<b>T/E</b>	relación entre concentraciones de testosterona y epitestosterona
<b>TIC</b>	"total ion chromatogram"
<b>T/LH</b>	relación entre concentraciones de testosterona y hormona luteinizante
<b>TMS</b>	trimetilsilano
<b>TMSCI</b>	trimetilclorosilano
<b>TMSim</b>	trimetilsililimidazol
<b>μ</b>	micras
<b>μg</b>	microgramos
<b>μl</b>	microlitros



**JUSTIFICACION**



## **JUSTIFICACION**

El uso ilícito de **esteroides anabolizantes andrógenos** en el deporte, encubierto como un empleo terapéutico, pero realizado con el verdadero objetivo de mejorar la forma física del sujeto que los utiliza, se ha convertido en los últimos años en un verdadero problema al que deben enfrentarse las federaciones deportivas, los directivos del deporte, los entrenadores, los médicos deportivos y en última instancia el poder legislativo de cada país.

Por otra parte, el **dopaje** no es solamente una simple cuestión ética y fraudulenta, sino que es sobre todo un grave problema sanitario ante el que surge un deber de prevención hacia todos los deportistas. Es por tanto una obligación moral para las personas responsables de todos los estamentos relacionados con el deporte realizar la aportación que le sea específica con el fin de ayudar a disuadir al deportista de utilizar este tipo de agentes farmacológicos.

Entre los elementos de disuasión a emplear es incuestionable que el **control analítico del dopaje** ocupa una de las posiciones preminentes. Y por consiguiente es en este control donde se han de instaurar unas normas analíticas que, basadas en la química -analítica, orgánica, bioquímica-, en la fisiología y en la farmacología, permitan discernir inequívocamente sobre la utilización de las sustancias

dopantes, entre las que los **esteroides anabolizantes androgénicos** ocupan un destacado lugar tanto por su efecto como por la extensión e intensidad de su utilización.

Los anabolizantes inicialmente utilizados en el deporte fueron en su gran mayoría sustancias sintéticas obtenidas tras modificar la molécula natural de **testosterona** con diversas sustituciones químicas, para potenciar determinadas acciones terapéuticas y eliminar otras más perjudiciales específicas de la propia hormona. Pero ante la posibilidad de utilizar moléculas de testosterona u otros andrógenos, como la dihidrotestosterona, totalmente idénticas a las de los endógenos, se plantea no sólo el problema de tener que identificarlas analíticamente, lo que es relativamente sencillo, sino también que con los resultados analíticos se pueda discernir si ha existido o no práctica del dopaje con respecto a dichas sustancias.

Ante esta situación, se pretende en esta Tesis abordar un problema relacionado con la actual metodología analítica, cuestionable en nuestra opinión, la cual determina la positividad de un análisis con testosterona sólo en función del cociente de la concentración urinaria de este esteroide con respecto a la de la **epitestosterona**, otro esteroide endógeno. En este contexto presentaremos otros parámetros fisiológicos que se deberían tener en cuenta para lograr discernir, ante una **testosterona** detectada en un control del dopaje, si la procedencia de la hormona sólo es fisiológica, o si es exógena, o si es también endógena pero inducida artificialmente. La importancia social, jurídica y humana del problema planteado queda fuera de toda duda, como tendremos ocasión de comprobar más adelante.

**INDICE**



## INDICE

### I. INTRODUCCION

<u>I.1. Antecedentes del dopaje</u>	3
<u>I.2. Aspectos químicos de los esteroides anabolizantes androgénicos</u>	7
I.2.1. Clasificación y nomenclatura	7
I.2.2. Origen, estructura y síntesis	11
I.2.2.1. Generalidades	11
I.2.2.2. Esteroides naturales	13
I.2.2.3. Esteroides sintéticos	18
<u>I.3. Aspectos farmacológicos y fisiológicos de los esteroides anabolizantes androgénicos</u>	25
I.3.1. Conceptos básicos	25
I.3.2. Almacenamiento y secreción de andrógenos	27
I.3.3. Mecanismos de acción farmacodinámica de los andrógenos	30
I.3.4. Biosíntesis hormonal de los andrógenos	34

<b>I.3.5. Absorción, distribución, metabolismo y excreción de los esteroides androgénicos</b>	40
<b>I.3.6. Efectos producidos por los esteroides anabolizantes androgénicos</b>	48
<b>I.3.6.1. Efectos secundarios de los esteroides anabolizantes androgénicos</b>	50
<b><u>I.4. El uso de los esteroides anabolizantes androgénicos como dopaje en el deporte</u></b>	59
<b>I.4.1. Pasado</b>	63
<b>I.4.2. Presente</b>	65
<b>I.4.3. Futuro</b>	74
<b><u>I.5. Aspectos analíticos de los esteroides anabolizantes androgénicos androgénicos</u></b>	77
<b>I.5.1. Análisis directo de los esteroides anabolizantes androgénicos en el control del dopaje</b>	77
<b>I.5.1.1. Análisis identificativo de los esteroides anabolizantes androgénicos en general</b>	77
<b>I.5.1.2. Análisis de la testosterona en el control del dopaje. Índices utilizados y utilizables para detectar su administración</b>	86

<b>I.5.2. Análisis de los esteroides anabolizantes androgénicos</b>	
mediante el perfil hormonal esteroideo	89
<b>I.5.3. Consideraciones ante la situación actual en el análisis de</b>	
los esteroides anabolizantes androgénicos, incluida la testosterona	95
<b>II. <u>OBJETIVOS</u></b>	105
<b>III. <u>MATERIAL Y METODOS</u></b>	
<b>III.1. <u>Técnicas instrumentales de análisis empleadas</u></b>	111
<b>III.1.1. Técnicas cromatográficas</b>	111
<b>III.1.2. Técnicas espectrométricas</b>	113
<b>III.1.3. Técnicas inmunológicas</b>	114
<b>III.2. <u>Material utilizado</u></b>	115
<b>III.2.1. Instrumentación analítica</b>	115
<b>III.2.2. Material fungible</b>	118
<b>III.2.3. Población estudiada</b>	122

<b>III.3. <u>Metodología analítica aplicada</u></b>	123
<b>III.3.1. Procedimientos de extracción e hidrólisis</b>	124
<b>III.3.2. Procedimientos de derivatización</b>	126
<b>III.3.3. Procedimientos cromatográficos</b>	129
<b>III.3.4. Procedimientos espectrométricos</b>	131
<b>III.3.5. Procedimientos de cuantificación</b>	134
<b>III.3.6. Procedimientos analíticos para muestras con posible relación T/E superior a 6</b>	136
<b>III.3.7. Procedimientos inmunoanalíticos</b>	137
<b>III.3.8. Procedimientos estadísticos</b>	138

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSION**

<b>IV.1. <u>Puntualizaciones al procedimiento analítico aplicado en un control del dopaje para detectar los esteroides anabolizantes androgénicos en general y específicamente los andrógenos endógenos</u></b>	141
<b>IV.1.1. Preparación de la muestra. Factores de influencia</b>	150
<b>IV.1.1.1. Influencia de la probenecida en el perfil hormonal esteroideo</b>	151
<b>IV.1.1.2. Influencia del pH en el perfil hormonal esteroideo</b>	151

<b>IV.1.1.3. Influencia de la densidad en el perfil hormonal esteroideo. Elección del volumen de muestra a analizar</b>	158
<b>IV.1.1.4. Influencia del reactivo de hidrólisis sobre el perfil hormonal esteroideo</b>	162
<b><u>IV.2. Evolución analítica del uso de los esteroides anabolizantes androgénicos desde el inicio del control del dopaje en el deporte</u></b>	171
<b>IV.2.1. Evaluación del análisis de los esteroides anabolizantes androgénicos en el control del dopaje</b>	171
<b>IV.2.2. Evolución del uso de los esteroides anabolizantes en el deporte</b>	173
<b>IV.2.2.1. Evolución de los resultados de la detección de esteroides anabolizantes androgénicos en el Laboratorio de Control del Dopaje del CSD de Madrid</b>	174
<b>IV.2.2.2. Evolución en la detección analítica de los esteroides anabolizantes androgénicos en el ámbito internacional</b>	178

IV.2.3. Estudio, en las muestras fisiológicas analizadas en el control del dopaje, del cociente T/E y de su evolución	183
i. Primer estudio	183
ii. Segundo estudio	185
<b><u>IV.3. Modificaciones que diversos factores, endógenos y exógenos, pueden producir en el perfil hormonal esteroideo</u></b>	191
IV.3.1. Estudio de la posible influencia que sobre el perfil hormonal esteroideo pueden ejercer algunos factores intrínsecos	192
IV.3.1.1. Influencia del sexo	192
IV.3.1.2. Influencia del ritmo circadiano hormonal	203
IV.3.1.3. Influencia de la edad	210
i. Primer estudio	210
ii. Segundo estudio	212
IV.3.2. Estudio de los posibles efectos que sobre el perfil hormonal esteroideo pueden ejercer diversos factores extrínsecos	216
IV.3.2.1. Influencia de la intensidad de la actividad física realizada	216
IV.3.2.2. Influencia del entrenamiento de fuerza en mujeres	227

<b>IV.3.2.3. Influencia del tipo de entrenamiento</b>	
en varones	230
<b>IV.3.2.4. Influencia de la competición</b>	236
<b>IV.3.3. Estudio de los posibles efectos que sobre el perfil hormonal esteroideo pueden producir algunos fármacos</b>	249
<b>IV.3.3.1. Efecto producido por la administración de testosterona</b>	249
<b>IV.3.3.2. Efecto producido por la administración de gonadotropina coriónica humana</b>	253
i. Primer estudio	254
ii. Segundo estudio	256
iii. Tercer estudio	263
iv. Cuarto estudio	272
<b>IV.3.3.3. Efecto producido por la administración de anabolizantes</b>	285
<b>IV.3.3.4. Efecto producido por la administración de clomifeno</b>	292
<b><u>IV.4. Estudio de parámetros del perfil hormonal, complementarios de los actuales, medidos en muestras del control analítico del dopaje</u></b>	297
<b>IV.4.1. Estudio y discusión de 25 casos prácticos con diferentes anomalías en el perfil hormonal</b>	318

**V. CONCLUSIONES FINALES**

331

**VI. BIBLIOGRAFIA**

337

## **I. INTRODUCCION**



## **I. INTRODUCCION**

### **I.1 ANTECEDENTES DEL DOPAJE**

El **dopaje**, palabra española que se corresponde con la inglesa "doping" y con la francesa "dopage", se define como *"la promoción, incitación, consumo o utilización de las sustancias y grupos farmacológicos prohibidos y de los métodos no reglamentarios, destinados a aumentar las capacidades físicas de los deportistas o a modificar los resultados de las competiciones en las que participan"*<sup>1</sup>

La utilización de determinadas sustancias susceptibles de incrementar el rendimiento físico no es una práctica que la humanidad haya descubierto recientemente<sup>2</sup>. El hombre, a lo largo de la historia, y a través de diversas culturas y civilizaciones, se ha servido de toda suerte de brebajes, pócimas y fármacos con el objetivo, entre otros, de *ser el más fuerte, subir a lo más alto y correr más deprisa*, aspiraciones todas ellas íntimamente ligadas a la esencia de la naturaleza humana. No es de extrañar en consecuencia que, al constituirse el deporte, desde hace poco más de cien años, como una actividad social en progresivo incremento de extensión e

importancia, cada deportista que practica esta actividad intente sobresalir entre todos los demás deportistas con los que compite; y al buscar triunfar, al aspirar ser el primero -a veces por cualquier medio- alguno de ellos incluso llega a recurrir al **dopaje**, sin importarle la ética deportiva (competir con dopaje es competir con trampa, porque con su práctica se incrementa artificialmente el rendimiento deportivo de una persona), ni el precio que haya de pagar por ello. Este precio llega a ser a veces muy alto porque las sustancias dopantes pueden ser responsables, ante las circunstancias que concurren en una competición, de producir alteraciones en la salud de la persona que las utiliza, e incluso de provocarle la **muerte**, tanto directa o indirectamente como a corto, medio o largo plazo.

La práctica del **dopaje** se inició en el deporte cuando, con el fin de aumentar el rendimiento físico en una competición deportiva, se comenzaron a utilizar determinados fármacos cuyas acciones producían los efectos buscados. Y si bien el dopaje aparece en la historia formando parte de los antiguos Juegos de Grecia, donde se introdujeron determinadas prácticas cuyo propósito era aumentar el rendimiento deportivo y la fuerza física del deportista, es en el siglo XIX cuando, al nacer el deporte de competición moderno y resurgir la figura del vencedor en las pruebas deportivas, se renuevan las tentativas para descubrir fórmulas que artificialmente, y fuera del marco de entrenamiento, mejoren la forma física del deportista<sup>2</sup>.

En nuestra Era se han sustituido los misteriosos brebajes y las complicadas fórmulas de antaño por fármacos que en general son fácilmente asequibles,

los cuales se sintetizan con el objetivo inmediato de mejorar la calidad de vida del hombre. Sin embargo su uso se convierte con frecuencia en abuso; y es el deporte, por una casual y extraña conjunción de diversos factores, uno de los campos mejor abonados para este empleo abusivo, contra el cual, los organismos deportivos competentes (federativos, gubernamentales, nacionales, internacionales), tienen entablada, desde los años sesenta, una lucha para prevenir, reprimir, corregir y, en la medida de lo posible, erradicar la práctica del dopaje considerada como conducta no sólo antideportiva sino también antilegal<sup>3</sup>.

En el siglo XIX se comenzaron a detectar casos de dopaje, incluso con consecuencias mortales, en diversos deportes<sup>4</sup>. Ya en 1.865 se informó<sup>5</sup> del que posiblemente sea el primer caso conocido de dopaje en la Era Moderna, protagonizado por uno de los nadadores que atravesaron el canal de Amsterdam, que utilizó un producto con cola y anfetamina. Y relativamente pronto se produjo la primera muerte por dopaje, acaecida en 1.886 en la persona del ciclista galés Linton, quien falleció a causa de la ingestión de estupefacientes en la carrera de Burdeos a París, de 600 Km. de recorrido. Este dopaje, denominado *empírico*<sup>6</sup>, se basaba en la utilización de pociones o píldoras prescritas como tónicos en Medicina.

A este tipo de dopaje le siguieron otros. Primero, el denominado *sintomatológico*, que consistía en administrar productos farmacológicos, como por ejemplo tónicos cardíacos, anfetaminas, trinitrinas y extractos tiroideos, cuyos efectos interesaban a los deportistas de una manera especial. Ejemplos de estos tipos de dopaje

son los casos conocidos<sup>7</sup> de inyecciones de sulfato de estrocnina administradas al inglés Hicks y al italiano Pietri, respectivos ganadores de las maratones de los Juegos Olímpicos de San Luis (1.904) y Londres (1.908), y de la utilización de trinitina por el nadador japonés Kitamura en los JJ.OO. de Los Angeles (1.932)<sup>8</sup>.

El siguiente tipo de dopaje que surgió fué el *dopaje hormonal*, iniciado en los años cincuenta con el empleo de andrógenos y continuado con el uso de los **esteroides anabolizantes**, los cuales se introdujeron de forma espectacular en el mundo del deporte al inicio de los años sesenta, cuando empezaron a ser utilizados por deportistas interesados tanto en conseguir un aumento global de la fuerza muscular como en reforzar uno o varios grupos musculares, siendo los Juegos de la XXIII Olimpiada (Los Angeles, 1.984) los primeros JJ.OO. en los que se detectaron **esteroides anabolizantes**<sup>8</sup>.

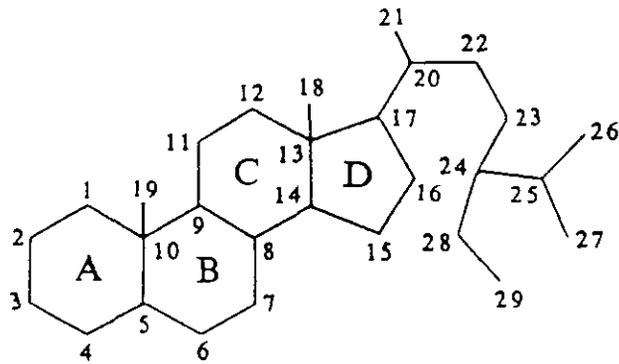
Buscando sus efectos dinamógenos o energéticos, en la década de los ochenta se empezaron a utilizar nuevas hormonas, como las peptídicas y la cortisona. Pero siempre sin abandonar la utilización de sustancias encuadradas en otros grupos farmacológicos, entre los que se encuentran los **esteroides anabolizantes androgénicos**, cuyo uso incluso se ha potenciado.

## **I.2. ASPECTOS QUÍMICOS DE LOS ESTEROIDES ANABOLIZANTES**

### **ANDROGENICOS**

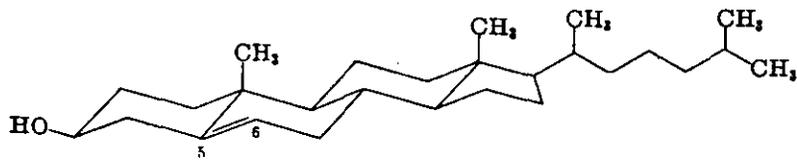
#### **I.2.1. Clasificación y nomenclatura**

El nombre general de "esteroide" se introdujo en 1.936 para nominar a todos los compuestos con un esqueleto del tipo del de los esteroides (figura 1<sup>9</sup>), alcoholes cristalinos (su nombre deriva del griego "stereos", duro, sólido) que se encuentran en la fracción insaponificable de los aceites vegetales y animales; todos, incluyendo el colesterol (figura 2<sup>10</sup>), de origen animal, son alcoholes secundarios tetracíclicos. Los esteroides androgénicos, hormonas androgénicas o andrógenos, que derivan específicamente del hidrocarburo androstano o etioalcolano (figura 3<sup>11</sup>) constituyen uno de los grupos químicos de los esteroides, los cuales incluyen además los esteroides, los ácidos biliares, las restantes hormonas sexuales (estrógenos), las hormonas adrenocorticales (corticosteroides), los glicósidos cardiotónicos, las sapogeninas, algunos alcaloides y otros grupos de menor importancia<sup>12</sup>. De la modificación sintética tanto de su esqueleto como de los sustituyentes del mismo surge un nuevo grupo, denominado esteroides anabolizantes y más recientemente ***esteroides anabolizantes androgénicos (EAA)***.



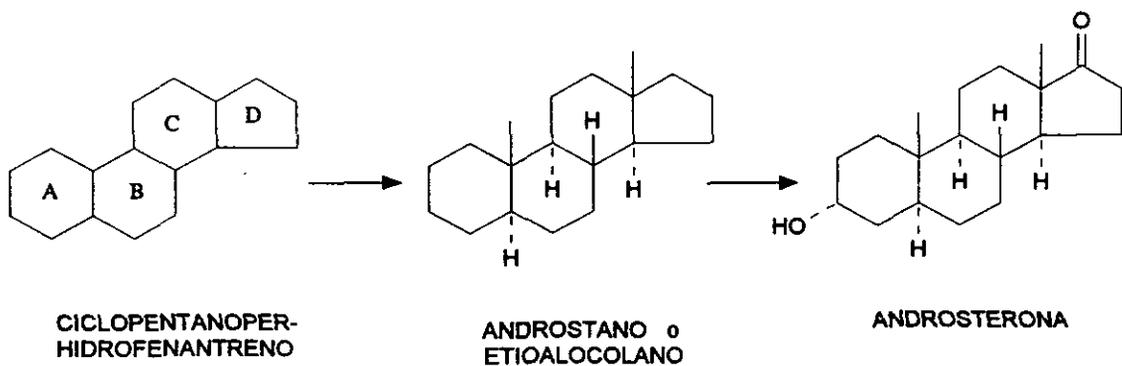
**Figura 1**

*Numeración de los carbonos del esqueleto y del anillo en el estigmastano. (Tomado de Briggs<sup>9</sup>).*



**Figura 2**

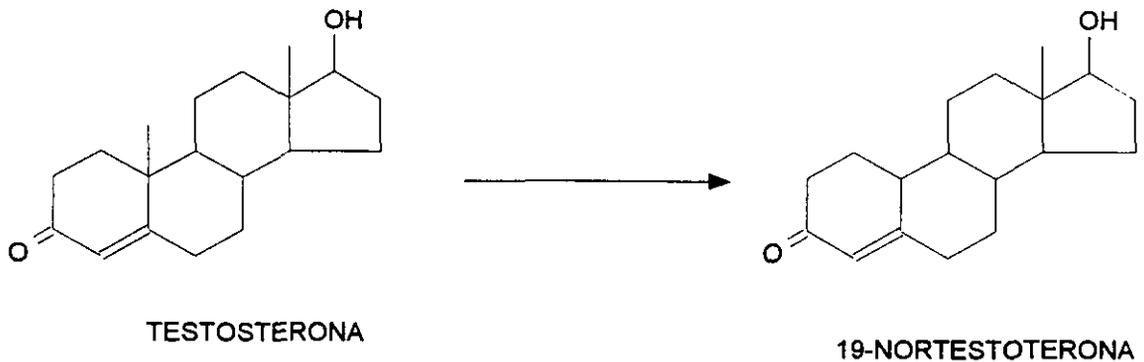
*Colesterol (Tomado de Fieser<sup>10</sup>)*



**Figura 3**

*Estructura química básica de los andrógenos. (Tomado de Litter<sup>11</sup>)*

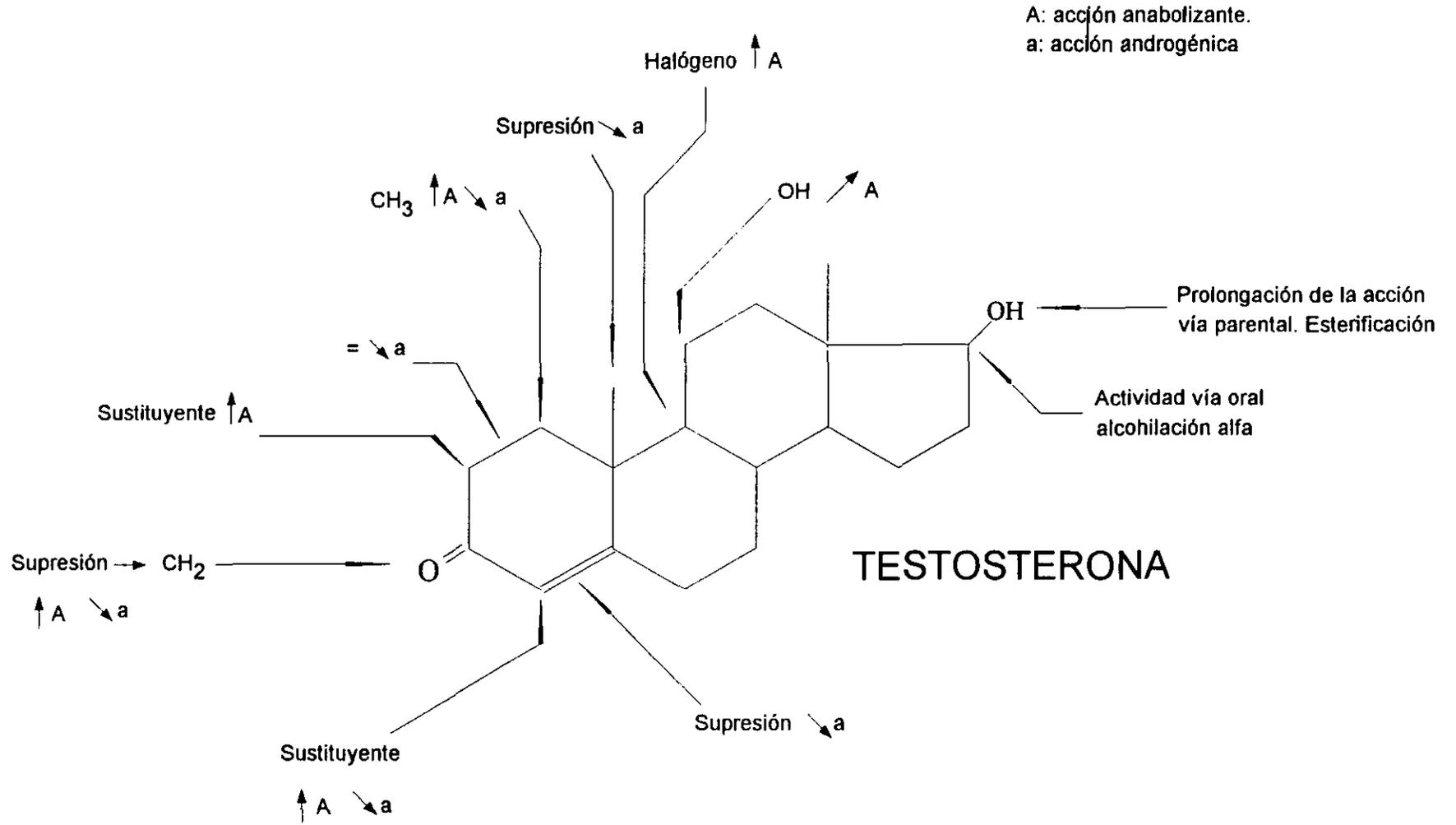
El grupo farmacológico de los esteroides anabolizantes androgénicos (EAA) está por tanto integrado, además de por las *hormonas sexuales androgénicas, endógenas, naturales*, por los numerosos derivados de la *testosterona*, o de otras hormonas sexuales masculinas con una estructura similar, esteroidea, que se sintetizan buscando, junto con un menor efecto virilizante que el que ejerce la *testosterona*, una mayor acción anabolizante que la que posee esta hormona natural, como ocurre con la *19-nortestosterona* (figura 4), que fué el precursor de los EAA sintéticos.



**Figura 4**

*Modificaciones en la testosterona natural para obtener 19-nortestosterona sintética.*

En la figura 5 se resumen las posibles modificaciones en la molécula de la *testosterona* para eliminar en ella las acciones androgénicas conservando e incluso incrementando sus efectos anabolizantes, aunque de hecho resulta imposible la total anulación de estos últimos.



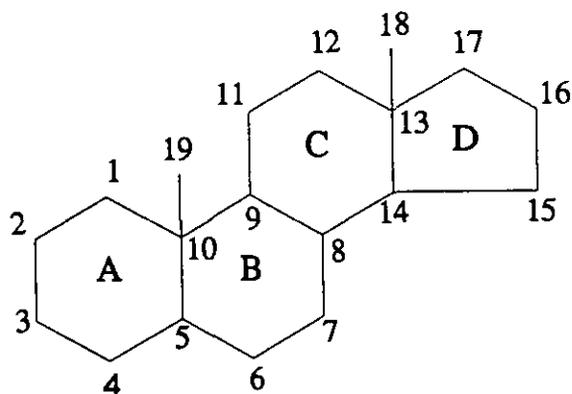
***Figura 5***

***Modificaciones en la estructura de la testosterona que disminuyen su potencia androgénica y refuerzan su acción anabolizante (Tomada de Noret <sup>6</sup>)***

## I.2.2. Origen, estructura y síntesis

### I.2.2.1. Generalidades

La estructura básica de todos los esteroides, y por tanto de los esteroides anabolizantes, es la de un anillo de fenantreno completamente reducido (perhidrofenantreno) que, fusionado a un anillo de cinco miembros, forma el núcleo tetranuclear del *ciclopentanoperhidrofenantreno*. Los anillos se nombran, de izquierda a derecha, y de abajo hacia arriba, como *A, B, C, D*; los carbonos se numeran correlativamente tal como se indica en la *figura 6*<sup>12</sup>.



**Figura 6**

*Núcleo esteroide.* (Tomado de Klyne<sup>12</sup>)

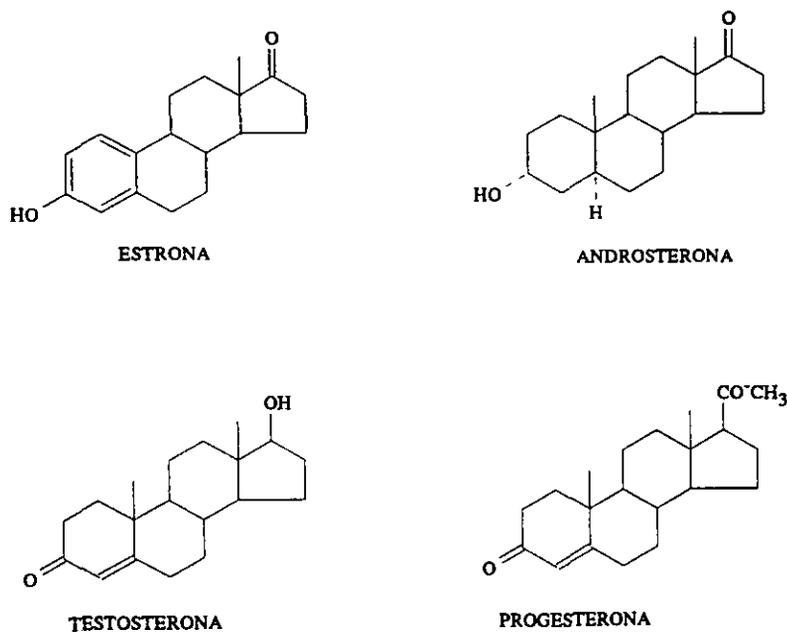
Una característica notable en la estructura de los esteroides **anabolizantes** es la presencia de dos grupos metilo angulares sobre los átomos de carbono *C10* y *C13*; los carbonos de estos grupos angulares se numeran como *18* y *19* respectivamente; es decir, son esteroides de 19 átomos de carbono. También se debe destacar la presencia de sustituyentes oxigenados en las posiciones *3* y *17*.

El núcleo de los esteroides, y concretamente el de los EAA, tiene una estructura que convencionalmente se representa como plana sobre el papel. Los grupos unidos al núcleo que se encuentran por encima del plano del sistema anular (es decir, en el mismo lado que los grupos metilo angulares unidos a los carbonos *10* y *13*) se denominan grupos de configuración  $\beta$ , y los enlaces que los unen al núcleo se representan por un trazo continuo, preferentemente grueso. Los grupos por debajo del plano del sistema anular se llaman grupos de configuración  $\alpha$  y sus enlaces al núcleo se representan por líneas de puntos o de trazos finos. Por lo que respecta a los grupos cuya configuración se desconoce, se les designa por la letra griega  $\xi$  y sus enlaces al núcleo se dibujan con líneas onduladas.

De los cuatro períodos en que se divide el desarrollo de la química de los esteroides<sup>12</sup>, los más interesantes, además del *clásico*, durante el que Windaus comenzó en 1.927 a desentrañar la compleja química de los esteroides, son: el período *moderno inicial*, en que se estableció con detalle la química básica de casi todos los grupos de esteroides de origen natural; y el *moderno posterior*, que en gran parte se caracteriza por la obtención de esteroides sintéticos.

### 1.2.2.2. Esteroides naturales

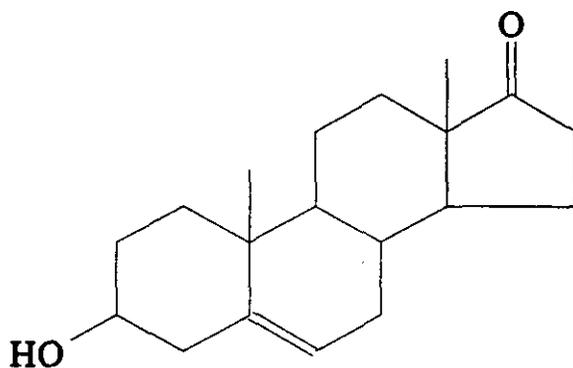
La primera prueba experimental de que los testículos producen una sustancia virilizante fué suministrada en 1.849<sup>13</sup>, como resultado de investigaciones que se consideran como el origen de la endocrinología experimental. Posteriormente, en 1.889, todavía en la *prehistoria* del desarrollo de la química de los esteroides, Brown-Séquar<sup>14</sup> demostró las propiedades dinamogénicas de los extractos glicerizados del testículo. Pero fué necesario esperar hasta los años treinta, en el comienzo del período moderno inicial para, tras haber sido aisladas, en muy pequeñas cantidades, de los extractos testiculares<sup>15</sup> y de la orina<sup>16</sup>, elucidar las estructuras de cuatro hormonas sexuales: estrona, androsterona, testosterona y progesterona<sup>12</sup> (*figura 7*).



**Figura 7**

*Estructura de las cuatro primeras hormonas sexuales conocidas.*

Fué en 1.931 cuando Butenandt anunció el primer proceso de aislamiento de un andrógeno al que denominó **androsterona**<sup>17</sup> (*figura 7*), obteniendo 15 mg. del mismo a partir de unos 25.000 litros de orina masculina. Al año siguiente propuso para el andrógeno la fórmula  $C_{19}H_{30}O_2$ , deduciendo correctamente que pertenecía a un 3-oxi-17-cetoesteroide completamente saturado, con un resto hidroxilo y una función cetónica. En 1.934 Ruzicka comprobó por síntesis la exactitud de la fórmula, y ese mismo año Butenandt aisló a partir de la orina otro principio androgénico, de origen suprarrenal<sup>18</sup> que tenía un doble enlace en la estructura, y al que denominó **dehidroepiandrosterona** o **androstenolona** (*figura 8*). Este esteroide cetónico no saturado atrajo la atención como un posible precursor de andrógenos y estrógenos.

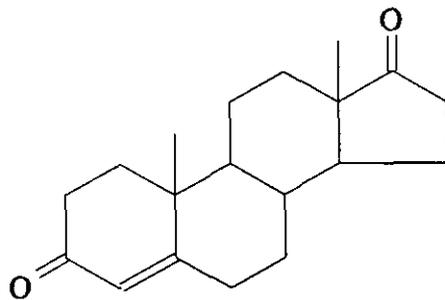


DEHIDROEPIANDROSTERONA  
O  
ANDROSTENOLONA

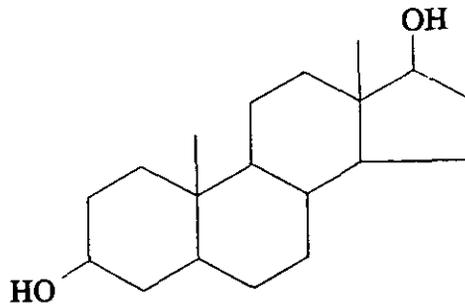
***Figura 8***

*Estructura química de la dehidroepiandrosterona o androstenolona.*

De los numerosos derivados que se prepararon en 1.935 a partir de la **androsterona** y la **androstenediona**, dos de ellos resultaron particularmente interesantes<sup>19</sup>: la **androstendiona** (*figura 9*), que resultó tener casi la misma actividad que la androsterona<sup>20</sup>; y el **androstandiol** (*figura 9*), que proviene de la reducción de la androsterona y que androgénicamente resulta ser unas tres veces más activo que esta hormona.



ANDROSTENDIONA

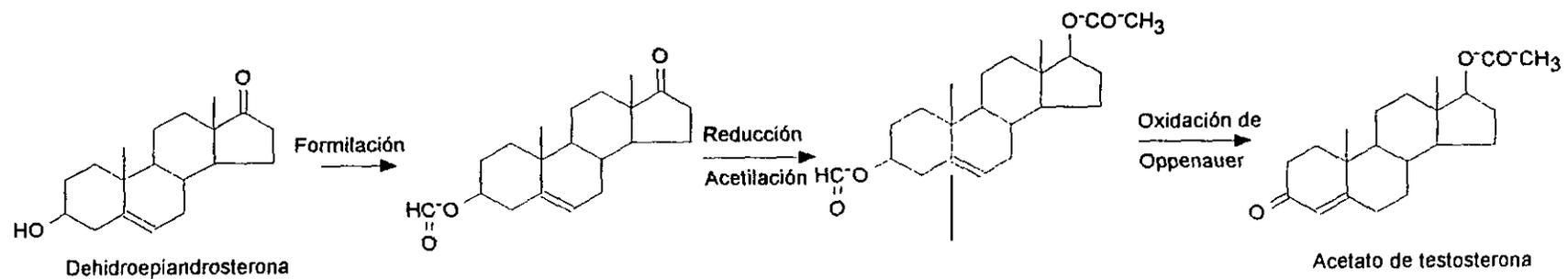


ANDROSTANDIOL

***Figura 9***

*Andrógenos derivados de la androsterona*

Las observaciones pertinentes sugerían que la **androsterona** pudiera ser un metabolito de la auténtica hormona testicular y todos los indicios parecían señalar a ésta como una androstendiona que simplemente tuviese un grupo hidroxilo  $\beta$  en  $C_{17}$ . Tras utilizarse el testículo como fuente de hormonas sexuales masculinas, se observó que existía diferencias fisiológicas y químicas entre la **androsterona** y el extracto de los testículos. El esteroide androgénico más activo del testículo<sup>21</sup> fué aislado por Laqueur en 1.935<sup>17, 22</sup>, obteniendo unos 10 mg. a partir de 100 Kg. de tejido testicular de toro, y a la hormona cristalina resultante la denominó **testosterona**, de la cual pronto se dilucidó su estructura química de 19 átomos de carbono: 17 $\beta$ -Hidroxi-4-androsten-3-ona. La sustancia es diez veces más activa que la **androsterona**, y por oxidación produce **androstendiona**. Butenandt y Ruzicka anunciaron en el mismo año de 1.935<sup>23, 24</sup> la posibilidad de sintetizar el producto<sup>19</sup>, partiendo por ejemplo del acetato de androstenolona y, a continuación y sucesivamente, reduciendo, benzoilando, hidrolizando selectivamente el grupo acetilo, oxidando el dibromuro, desbromando y, finalmente, saponificando. Para obtener ésteres de **testosterona** se puede aplicar por ejemplo la *oxidación de Oppenauer* (figura 10<sup>10</sup>) para oxidación de alcoholes insaturados, que es específica para el grupo alcohólico y que no altera los dobles enlaces, por cuya razón esta reacción encuentra numerosas aplicaciones en la oxidación del **colesterol** y de otros 5-esteroles homoalifáticos.



**Figura 10**

*Reacción de Oppenauer.* (Tomada de Fieser<sup>10</sup>)

Posteriormente se encontraron métodos, aunque con bajo rendimiento, para sintetizar todos estos compuestos, excepto la estrona, a partir del colesterol, sustancia barata y accesible. Actualmente se preparan todos por síntesis<sup>12, 25, 26, 27</sup>.

### **I.2.2.3. Esteroides sintéticos**

También fue en el *período moderno* cuando se determinaron las posiciones de los sustituyentes en casi todos los compuestos esteroideos disponibles; así por ejemplo se dilucidó que en las hormonas sexuales, como en casi todos los esteroides de origen natural, la posición 3 se halla sustituida por oxígeno; y que estas hormonas poseen además, como las suprarrenales, sustituyentes adicionales en el anillo *D* o en el fragmento de cadena lateral unido al mismo. Durante esta época se elaboró la estereoquímica fundamental de los esteroides y se aclaró que la estructura era una molécula relativamente plana, normalmente con todas las uniones *trans*.

A partir de entonces, el ritmo de crecimiento de los procesos químicos de los esteroides ha sido muy rápido, especialmente en lo que se refiere a la síntesis de nuevos fármacos derivados de los **andrógenos**, en los que se ha conseguido aumentar la actividad anabólica frente a la androgénica, aunque sin lograr la total desaparición de esta última. Este objetivo se consigue químicamente mediante:

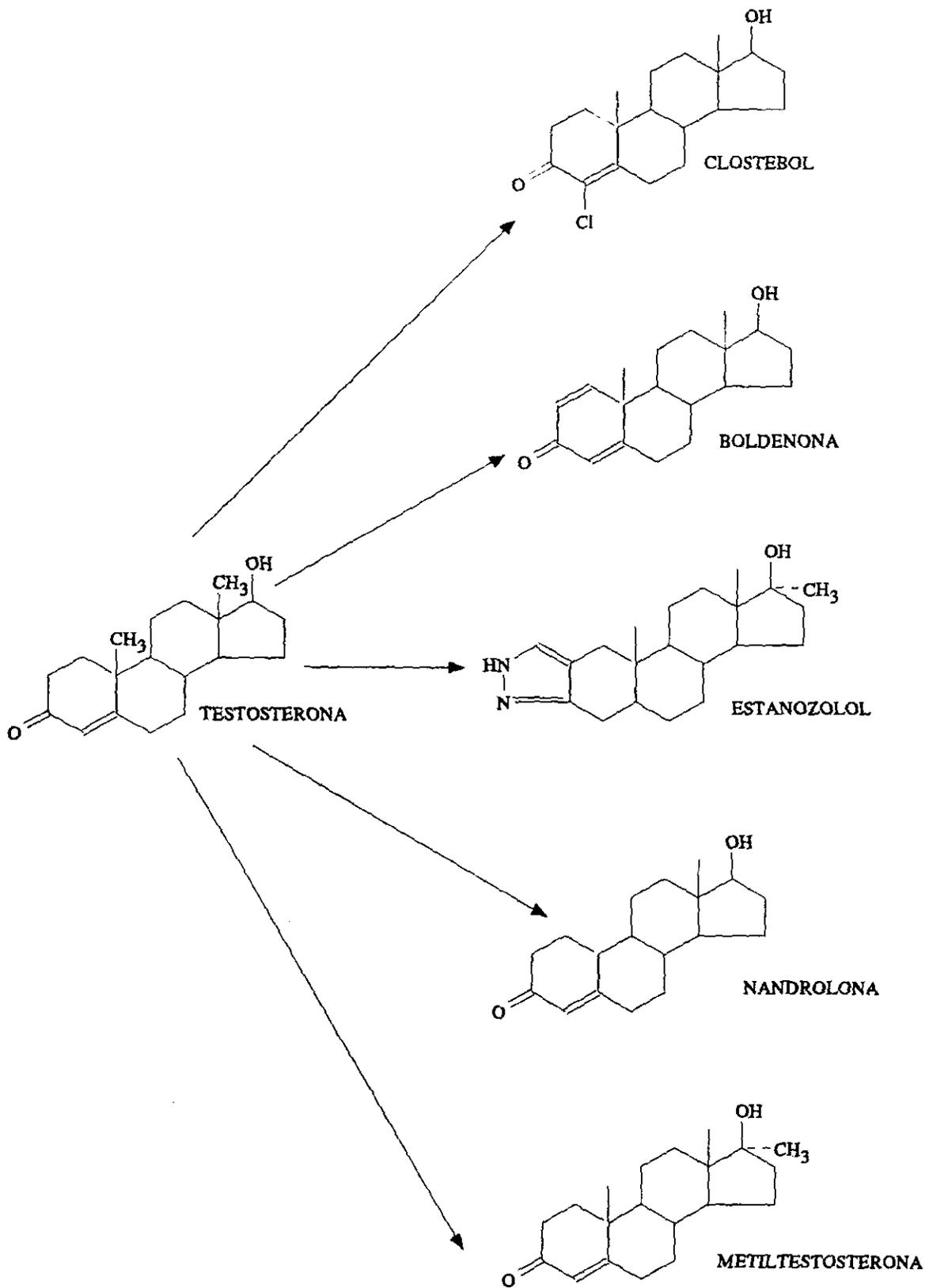
# La introducción de un sustituyente en posición 1 ó 4 (por ejemplo, *clostebol*) (figura 11).

# La introducción de un doble enlace en el anillo A del esteroide (por ejemplo, *boldenona*) (figura 11).

# La fusión de un anillo heterocíclico (por ejemplo, *estanozolol*) (figura 11).

# La pérdida del grupo metilo en la posición 19 (por ejemplo, *nandrolona*) (figura 11).

Por otra parte, con el objetivo de poder modificar la absorción, se varía la estructura mediante la introducción de un grupo alquilo en posición 17 con estereoquímica *trans* (por ejemplo, *metiltestosterona*) (figura 11).

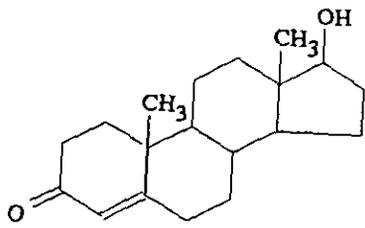


**Figura 11**

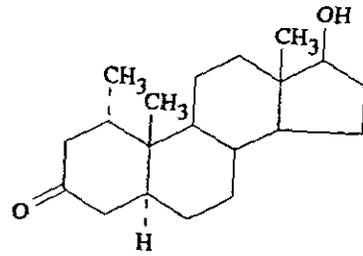
*Anabolizantes sintéticos derivados de andrógenos*

La mayoría de los EAA sintéticos derivan de la testosterona<sup>27, 28</sup> (figura

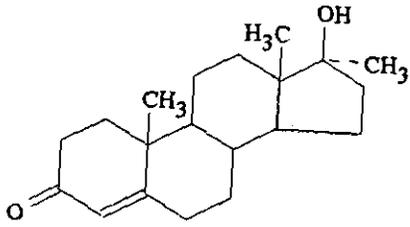
12). Los que poseen mayor actividad androgénica son (figura 12 la **mesterolona** y los derivados  $17\alpha$ -alquilados, entre los que destacan la **metiltestosterona** y la **fluoximesterona**, que es la droga de acción androgénica más potente<sup>28, 29</sup>. Entre los derivados en los que las diversas modificaciones de la molécula han reducido su actividad androgénica a la vez que han incrementado la anabolizante se encuentran la **nandrolona**, la **oximetolona**, la **metenolona**, la **oxandrolona**, el **etilestrenol**, el **estanozolol**, la **testolactona** y la **dromostanolona**. Mención aparte merece el **danazol**, derivado sintético de la  $17\alpha$ -etilttestosterona o **etisterona**, que muestra débil actividad androgénica y carece de actividad estrogénica y gestágena. Un derivado con propiedades antagonistas es el esteroide **ciproterona**<sup>18</sup> (figura 15), el cual, lo mismo que la **flutamida**, produce un notable aumento en las concentraciones plasmáticas de **testosterona**<sup>20</sup> y en las de una hormona con ella relacionada, la **hormona luteinizante (LH)**. Por último se puede considerar la **testolactona**, que además de poseer acción antineoplásica puede incrementar la acción de la **testosterona**<sup>30, 31</sup>.



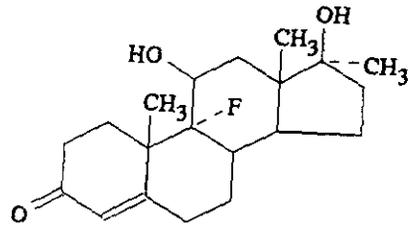
TESTOSTERONA



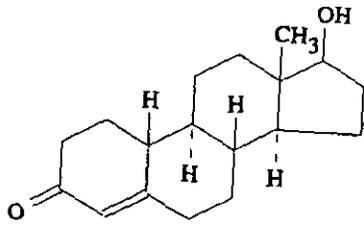
MESTEROLONA



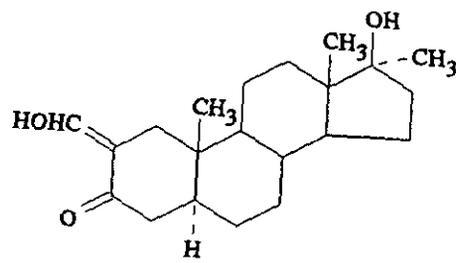
METILTESTOSTERONA



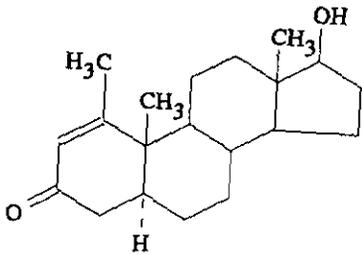
FLUOXIMESTERONA



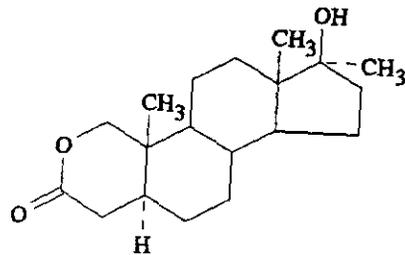
NANDROLONA



OXIMETENOLONA



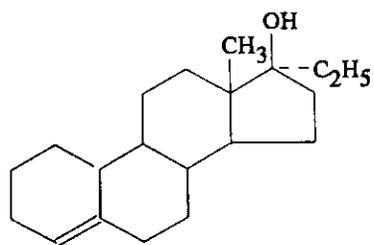
METENOLONA



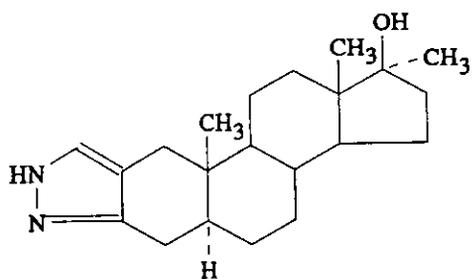
OXANDROLONA

**Figura 12** (inicio)

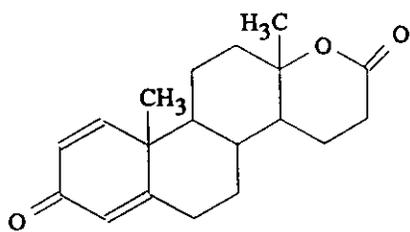
*Diversos EAA sintéticos*



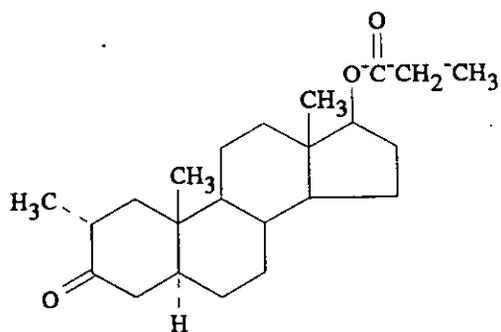
ETILESTRENOL



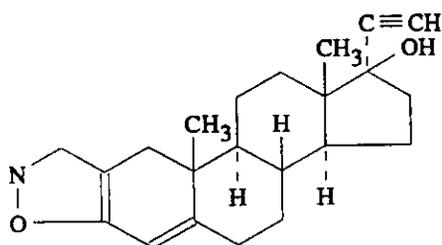
ESTANOZOLOL



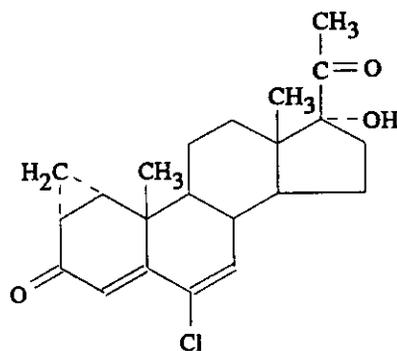
TESTOLACTONA



DROMOSTANOLONA



DANAZOL



CIPROTERONA

***Figura 12*** (final)

*Diversos EAA sintéticos.*



### **I.3. ASPECTOS FARMACOLOGICOS Y FISIOLÓGICOS DE LOS ESTEROIDES ANABOLIZANTES ANDROGENICOS**

#### **I.3.1. Conceptos básicos**

Una **hormona** es una sustancia química que, secretada por una célula o un grupo de células de un tejido específico, y transportada por los fluidos fisiológicos, ejerce sobre las células de otros tejidos u órganos un efecto fisiológico regulador estimulante o inhibidor.

La mayor parte de las hormonas se producen y secretan en las glándulas endocrinas y a continuación son transportadas por la sangre hacia todo el cuerpo. Sin embargo otras hormonas afectan solamente a tejidos específicos, que se denominan "*tejidos blanco*", porque sólo ellos tienen los receptores específicos que fijan las respectivas hormonas para iniciar sus acciones.

Se denominan *hormonas sexuales masculinas, andrógenos*<sup>25, 32</sup>, *hormonas androgénicas*<sup>33</sup> o *esteroides androgénicos*, a determinadas hormonas, con estructura esteroidea, que poseen acciones virilizantes, es decir, que son capaces de desarrollar los caracteres sexuales masculinos, tanto genitales como extragenitales<sup>34</sup>.

El término *andrógeno* (del griego "andros", varón), se refiere no sólo a cualquier hormona esteroidea, incluida la propia *testosterona*, que producida en el testículo posea efectos masculinizantes, sino que también califica y define a las hormonas sexuales masculinas sintetizadas en otros órganos, como el ovario normal, que produce pequeñas cantidades, no significativas, de andrógenos; la corteza suprarrenal, que secreta por lo menos cinco andrógenos diferentes, aunque con acciones virilizantes débiles y la placenta<sup>18</sup>. Estas hormonas se sintetizan en forma de precursores que posteriormente se convierten en andrógenos activos en los tejidos periféricos: hígado, piel y tejido adiposo. Entre estos andrógenos naturales, más débiles que la *testosterona*, se incluyen: sus precursores suprarrenales, los proandrógenos *androstenediona* y *dehidroepiandrosterona*; y sus metabolitos: la *dihidrotestosterona* (*estanolona*), el *5 $\alpha$ -androstano-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol* y la *androsterona*<sup>20</sup>. Es necesario considerar, sin embargo, que estas inclusiones se han criticado<sup>20</sup> en el sentido de que dichos esteroides se fijan tan débilmente a los receptores de los andrógenos que es poco probable que puedan actuar directamente como tales en concentraciones fisiológicas, considerándose actualmente que sólo son andrógenos en la medida en que son convertidos en *testosterona* y/o *dihidrotestosterona* en vivo, con lo que el concepto previo de *andrógenos débiles* se ha transformado en el de *precursores débiles de andrógenos*.

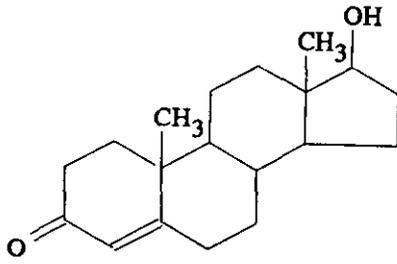
Generalmente se sintetizan compuestos análogos a las hormonas, pero que difieren de ellas en algunos aspectos importantes; los derivados sintéticos de los *andrógenos* son los denominados *esteroides anabolizantes*<sup>32</sup>. El conjunto de los *andrógenos* y de los *esteroides anabolizantes* constituyen el grupo farmacológico de

los *esteroides androgénicos anabolizantes (EAA)*. Esta denominación se basa en la consideración de que los esteroides anabolizantes poseen, aunque en diferente grado, propiedades androgénicas, mientras que, a su vez, los andrógenos ejercen acciones anabolizantes<sup>27, 32</sup>, ya que, en definitiva, los efectos hormonales androgénicos no pueden dissociarse de los anabolizantes sobre las proteínas porque en ambos el intermediario es un único receptor de andrógenos.

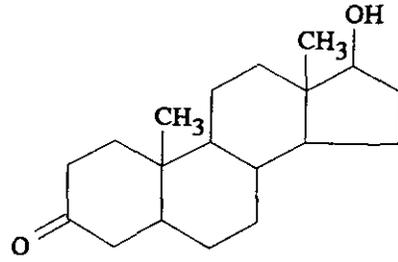
### **1.3.2. Almacenamiento y secreción de andrógenos**

En las células glandulares se almacenan, en cantidades que suelen ser muy pequeñas, las hormonas secretadas por la corteza suprarrenal, el ovario y los testículos; pero en esas células se encuentran grandes cantidades de moléculas precursoras, en especial **colesterol**, y diversas moléculas intermediarias entre esta sustancia y las hormonas resultantes. Tras la estimulación apropiada, las enzimas de estas células pueden originar, en plazo de minutos, las conversiones químicas hasta las hormonas finales, a lo que casi de inmediato sigue la secreción.

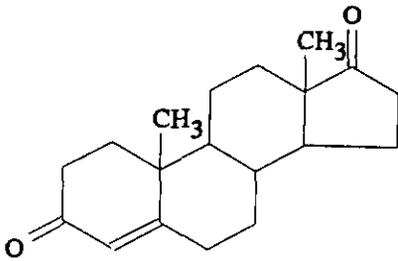
Los testículos segregan varias hormonas sexuales masculinas (figura 13), que colectivamente se denominan *andrógenos* y que además de la **testosterona**, que es el principal producto de secreción androgénica, incluyen la **dihidrotestosterona** y la **androstendiona<sup>35</sup>**; curiosamente también producen un *estrógeno*, el **estradiol<sup>36</sup>**.



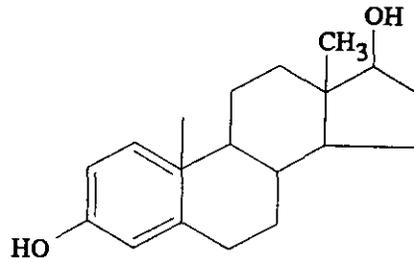
TESTOSTERONA



DIHIDROTESTOSTERONA



ANDROSTENDIONA

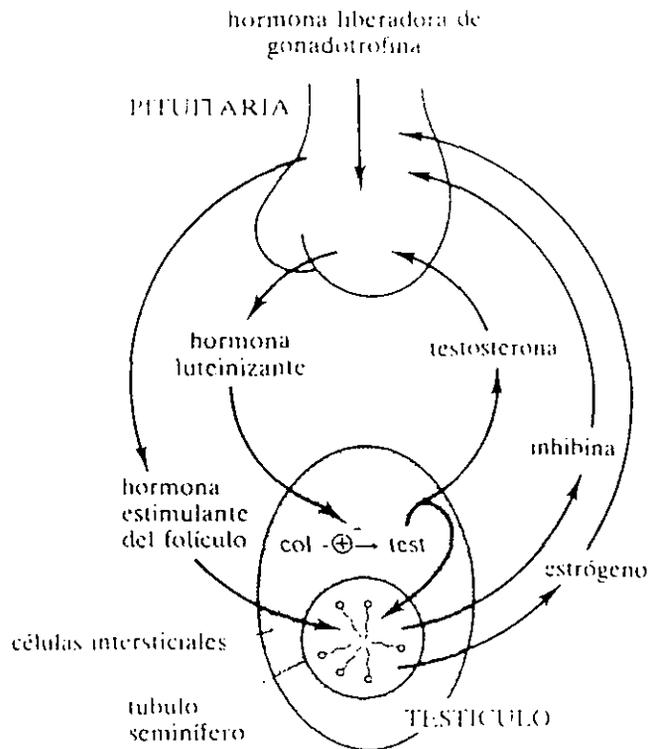


ESTRADIOL

***Figura 13***

*Hormonas sexuales segregadas por los testículos*

La hormona luteinizante, LH, que es una gonadotropina segregada por la pituitaria anterior, controla la velocidad de formación y secreción de la **testosterona** por las células intersticiales de Leydig<sup>34</sup>, que constituyen más del 20% de la masa del testículo adulto; mientras que a su vez la testosterona regula, por control de retroalimentación, la secreción de LH por la pituitaria (***Figura 14***)



***Figura 14***

***Relaciones de retroalimentación entre el testículo y la glándula hipofisiaria.***

(Tomada de Newsholme<sup>36</sup>)

El testículo produce diariamente 2,5-11 mg de testosterona en el hombre adulto, originando unos niveles plasmáticos de 300-1.200 ng/dl. (10-35nM) en el varón; en el adulto castrado los niveles son de 45 ng/dl. y en los varones impúberes, de 6-7 ng/dl. En las mujeres, los andrógenos producidos por el ovario y las suprarrenales alcanzan sólo 0,25 mg, siendo los correspondientes niveles plasmáticos de 15-65 ng/dl<sup>18, 20</sup>. ***(Tabla I)***

Sexo		Concentraciones de testosterona plasmática (ng/dl)
<u>Varones</u>	Impúber	6 - 7
	Prepuberal	< 20
	Adulto normal	300 - 1200
	Adulto castrado	45
<u>Mujeres</u>		15 - 65

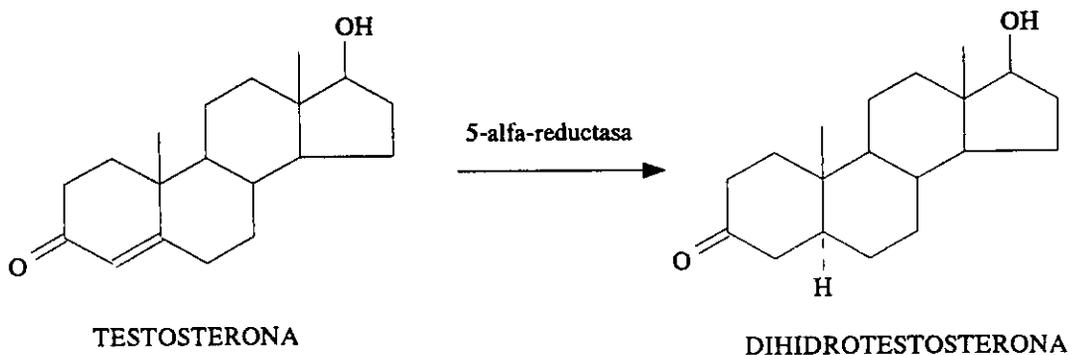
**Tabla 1**

**Concentraciones de testosterona plasmática en varones y mujeres**

**1.3.3. Mecanismos de acción: farmacodinámica de los andrógenos**

La testosterona, como ejemplo representativo de los **andrógenos**, ejerce una doble acción anabolizante y androgénica<sup>18</sup>. Esta hormona, después de secretarse en las células de Leydig, se transporta en la sangre, unida a la albúmina y a la globulina fijadora de estradiol-testosterona **SHBG** ("**Steroid Hormone Binding Globulin**"), que es una proteína transportadora específica, a los tejidos "blanco" o "diana". La testosterona, que es en realidad una *prohormona*<sup>25</sup> actúa como tal en la circulación<sup>20</sup> formando dos clases de esteroides: los **andrógenos reducidos en la**

*posición 5 $\alpha$*  y los *estrógenos*. Esta hormona se encuentra implicada en varios cambios importantes en la pubertad y en el mantenimiento de tales cambios en los adultos; sus efectos son complicados porque puede convertirse en estrógenos<sup>37</sup> en otros tejidos, y éstos pueden antagonizar su acción, y también porque en los tejidos "blanco" puede ser reducida, en la posición 5 $\alpha$ , por una enzima que se encuentra en estos tejidos, la 5 $\alpha$ -reductasa, en otro andrógeno, que actúa como mediador intracelular de la mayoría de las acciones androgénicas de la *testosterona*, y que es más activa que ella: la *dihidrotestosterona*<sup>34, 38</sup> (figura 15<sup>36</sup>).



**Figura 15**

***Conversión de testosterona a dihidrotestosterona.*** (Tomada de Newsholme<sup>36</sup>)

La transformación de la *testosterona* en *dihidrotestosterona* se efectúa en el citoplasma, donde la *testosterona*, debido a su solubilidad, penetra en el retículo endoplasmático y en la membrana nuclear<sup>39</sup>. Sin embargo, la regulación de la

producción de LH por el sistema hipotalámico-hipofisiario no requiere la conversión de **testosterona** en **dihidrotestosterona**<sup>40, 41</sup>, sino que ambas hormonas se pueden fijar en un receptor proteico intracelular y el complejo hormona-receptor actúa sobre el núcleo en puntos de fijación específicos situados sobre los cromosomas. El receptor androgénico del ser humano es un miembro típico de la superfamilia de receptores de hormonas esteroideas y tiroideas<sup>42</sup>.

El mecanismo de acción de la hormonas **dihidrotestosterona** y **testosterona**, corresponde a una estimulación de la síntesis proteica<sup>33, 39</sup> especialmente de enzimas celulares, lo que se realiza por intermedio de receptores androgénicos específicos del citoplasma celular. Todo el proceso atraviesa por las siguientes etapas: a) entrada de la **testosterona** en la célula "blanco"; b) transformación de la prohormona en **dihidrotestosterona**; c) unión de ésta última a receptores intracelulares proteicos específicos, en el citosol, para formar un complejo esteroide-receptor; d) penetración de este complejo al núcleo celular (translocación) y unión con la cromatina, el ácido desoxirribonucleico o DNA; e) estimulación de la síntesis del ácido ribonucleico o RNA, tanto el mensajero (RNAm) como el de transferencia (RNAt) y el ribosómico (RNAr)<sup>34, 39, 43</sup>.

La **testosterona** y la **dihidrotestosterona** son, en el organismo humano, los responsables<sup>20, 35</sup> de las siguientes acciones fisiológicas:

# Acciones androgénicas. Estas acciones producen efectos sobre: la distribución del pelo corporal; la voz; las glándulas sebáceas; el tamaño de los genitales; la capacidad secretora de las vesículas seminales, próstata y glándulas bulbouretrales<sup>17, 34, 44</sup>.

# Acciones anabolizantes. Las acciones anabolizantes se ejecen gracias a la presencia en el citosol del músculo estriado esquelético de un receptor de andrógenos que permite su utilización celular y desencadena la síntesis proteica<sup>45, 46, 47</sup>.

# Acciones sobre el músculo. Los andrógenos provocan la síntesis de las proteínas musculares y secundariamente un aumento del volumen muscular que conduce a la hipertrofia del músculo y mejora de la forma física<sup>48, 49, 50</sup>.

# Acciones sobre el tejido óseo. También los andrógenos juegan un papel primordial en el crecimiento de los huesos<sup>51, 52, 53, 54, 55</sup>.

# Acciones sobre el tejido hematopoyético. Producen un aumento de la eritropoyesis<sup>56</sup>.

# Acciones sobre el metabolismo glucídico y basal. Aumentan el glucógeno muscular<sup>40, 44</sup>.

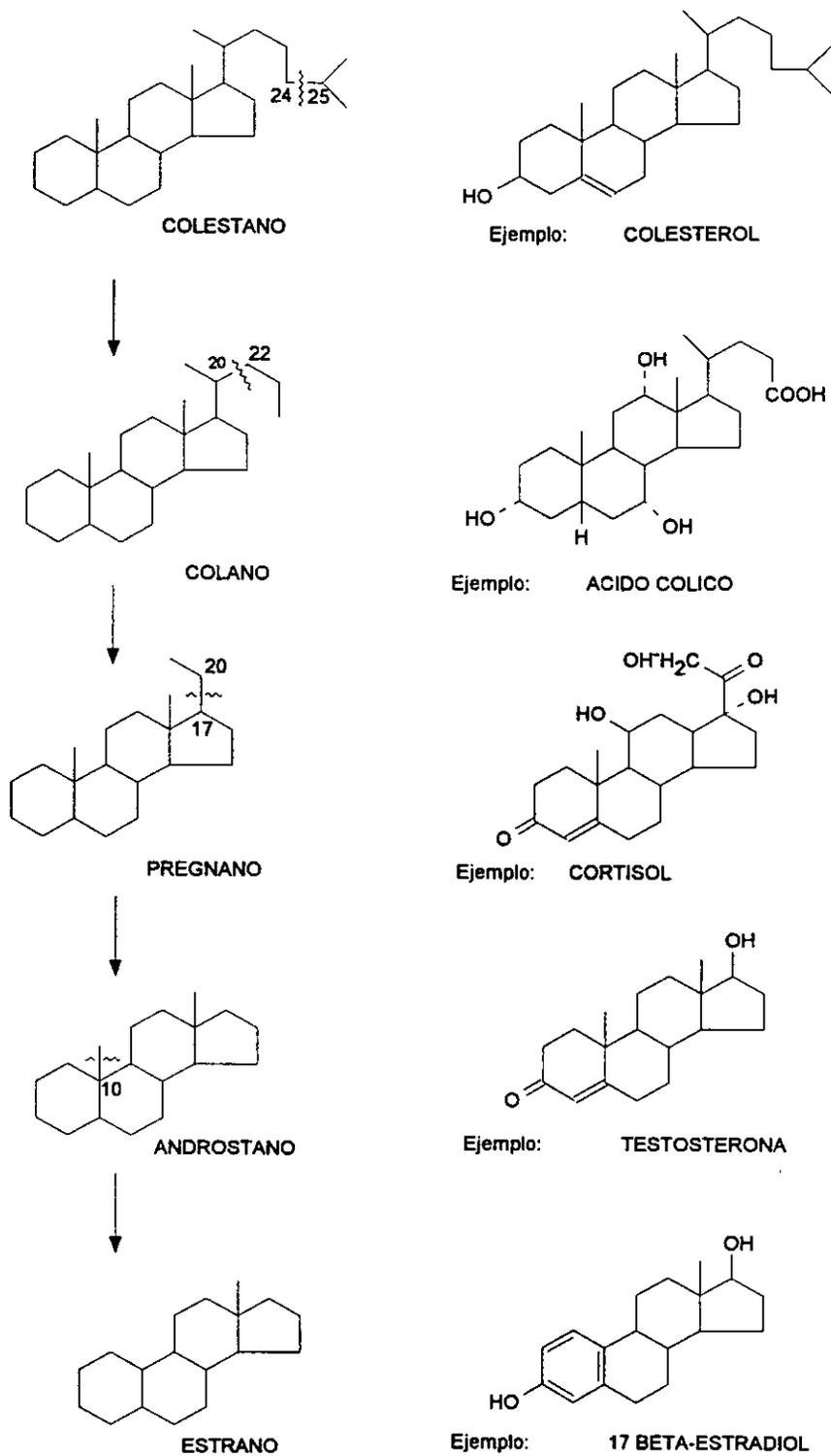
# Acciones sobre la hipófisis. También provocan inhibición de la secreción gonadotrófica de la adenohipófisis<sup>17, 34, 50</sup>.

# Otras acciones. Entre los restantes efectos producidos por estas hormonas se encuentran: el denominado "*efecto carcinogénico*", una impulsión de la conducta agresiva, y una cierta influencia en el equilibrio de electrolitos y agua<sup>34</sup> y en el metabolismo de los lípidos (descenso del HDL-colesterol).

#### **1.3.4. Biosíntesis hormonal de los andrógenos**

Los principales tejidos implicados en la formación de andrógenos son la corteza suprarrenal, los testículos y los ovarios. Estas hormonas pueden ser sintetizadas directamente desde la acetilcoenzima A o a partir del colesterol como precursor.

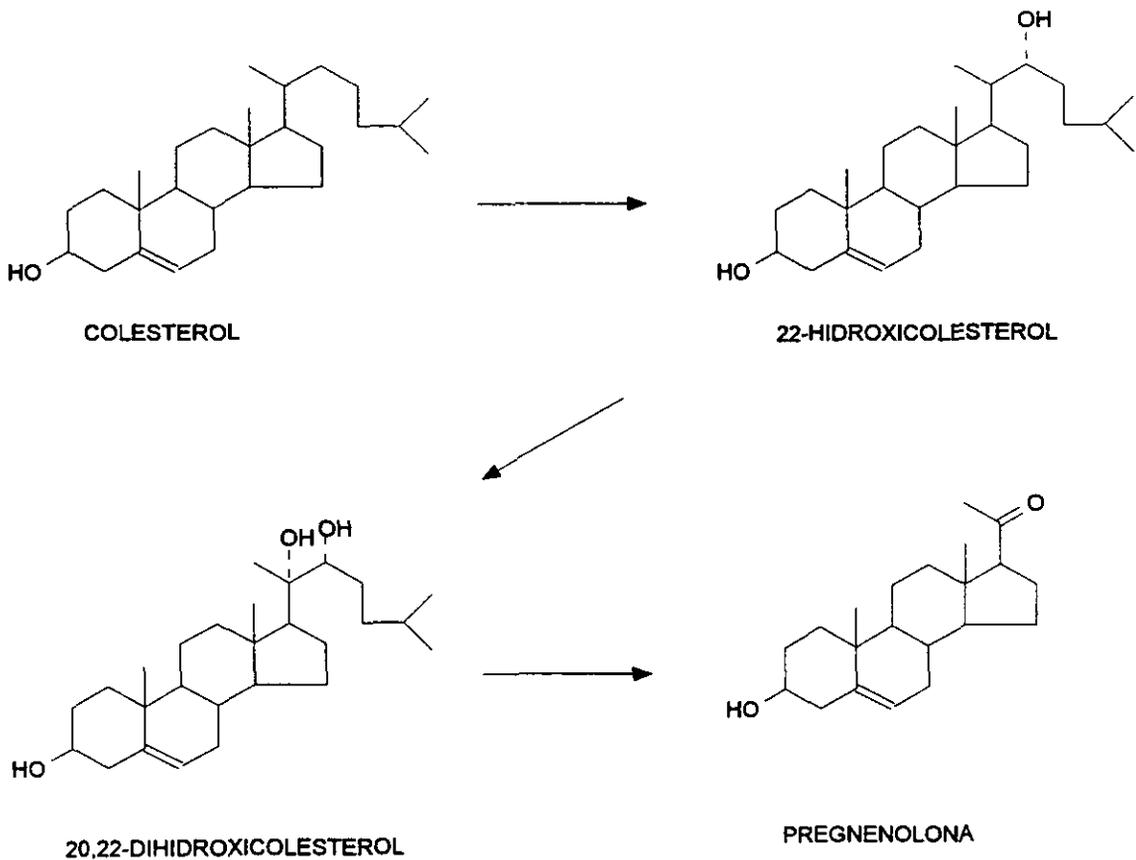
Los andrógenos son esteroides naturales que están contenidos en el *grupo del androstano*, el cual deriva del *grupo del pregnano* por eliminación en él de toda cadena lateral a través de la ruptura entre el carbono 17 y el carbono 20, dando origen a los C<sub>19</sub> esteroides (*Figura 16<sup>36</sup>*).



**Figura 16**

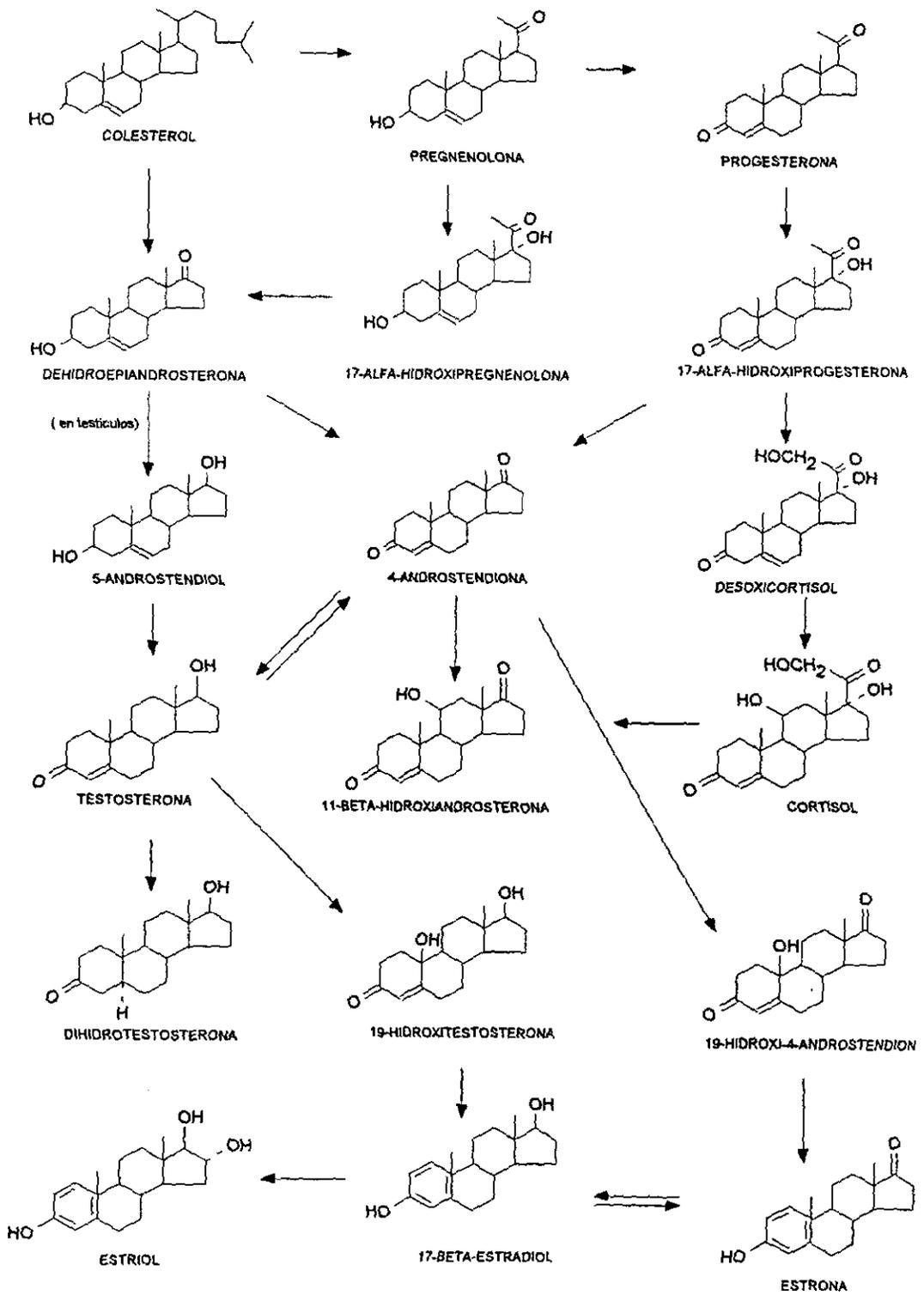
*Relaciones estructurales entre los grupos de esteroides naturales de los compuestos parentales del colestano, colano, pregnano, androstano y estrano. (Tomado de Newsholme<sup>36</sup>)*

La reacción principal en la síntesis de hormonas esteroideas es la escisión de la cadena lateral del **colesterol** para formar **pregnenolona**<sup>17, 25, 33, 34</sup> (*figura 17*); a su vez, y a través de una serie de transformaciones químicas relativamente pequeñas la **pregnenolona** da lugar a todas las hormonas esteroideas, *siendo la llave intermedia de la biosíntesis de los andrógenos la **androstendiona**, según se puede observar en el esquema propuesto en la **figura 18***<sup>11, 18, 36, 57</sup>.



***Figura 17***

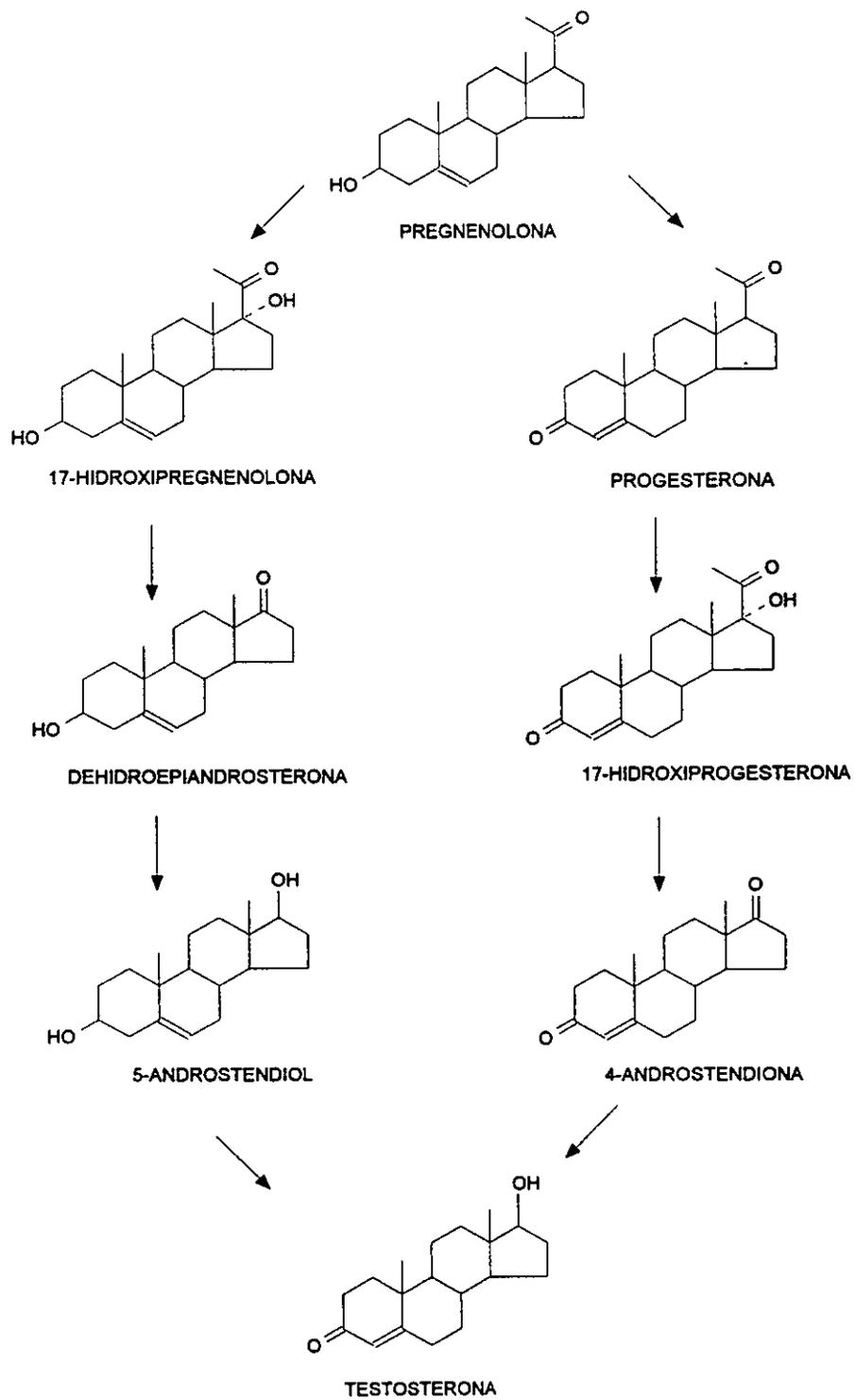
*Vía de conversión del colesterol a la pregnenolona.*  
(Tomada de Newsholme<sup>36</sup>)



**Figura 18**

*Biosíntesis de esteroides andrógenos y estrógenos.*

A pesar del número relativamente pequeño de tipos de reacciones implicadas, las vías para la biosíntesis de los esteroides son, como se ha podido observar, desalentadoramente complejas. En resumen parece ser que para la síntesis de la **testosterona** en el testículo humano<sup>25, 34</sup> hay dos rutas principales (figura 19<sup>36</sup>). En la **primera vía**, la síntesis de los esteroides andrógenos sigue en las células de Leydig del testículo la vía  $5\delta$ , de acuerdo con la posición en que se va a mantener la insaturación de la molécula esteroide; la **pregnenolona** se convierte en **17 $\alpha$ -hidroxipregnenolona**, y a continuación en **dehidroepiandrosterona (DHEA)** por escisión de la cadena lateral, catalizada por una 17,20-desmolasa, que está unida al retículo endoplásmico y requiere para su actividad NADPH y oxígeno molecular. Posteriormente, por una parte la reducción del grupo ceto en el carbono 17 de la **DHEA** transfiere el doble enlace de 5,6 a 4,5, produciendo **androstendiol**, y por otra, la oxidación del hidroxilo en el carbono 3 da lugar a **testosterona**<sup>18, 25, 36</sup>. Estas reacciones están catalizadas por dos isomerasas: la 17 $\beta$ -hidroxisteroide deshidrogenasa y la 5- $\alpha$ -3- $\beta$ -hidroxisteroide deshidrogenasa, respectivamente. En la **segunda vía**, la **pregnenolona** se convierte en **progesterona**, que es entonces hidroxilada en el carbono 17, antes de la escisión de la cadena lateral, para producir **androstendiona**, la cual se convierte en **testosterona** por reducción del grupo 17-ceto por 17 $\beta$ -hidroxisteroide deshidrogenasa. El estímulo proviene de la LH segregada por la hipófisis; la **testosterona** circulante, a su vez, ejerce una acción negativa sobre la GnRH hipotalámica y la LH hipofisiaria<sup>18</sup>. De las sustancias formadas por el testículo, la testosterona es la hormona androgénica principal<sup>17</sup>, mientras que la androstendiona y la dehidroepiandrosterona son andrógenos de escasa actividad.



***Figura 19***

*Esquema de las vías principales desde la pregnenolona para la síntesis de la testosterona en el testículo. (Tomada de Newsholme<sup>36</sup>)*

Los andrógenos son también sintetizados en otros órganos, como los ovarios, la corteza suprarrenal y la placenta, en la forma de precursores que posteriormente se convierten en andrógenos activos en los tejidos periféricos: hígado, piel, tejido adiposo. En los ovarios y la corteza suprarrenal los proandrógenos son la **dehidroepiandrosterona** y la **androstenediona**, hormonas que pueden ser convertidas en **testosterona** y **estradiol** en los tejidos periféricos.

### **1.3.5. Absorción, distribución, metabolismo y excreción de los esteroides androgénicos**

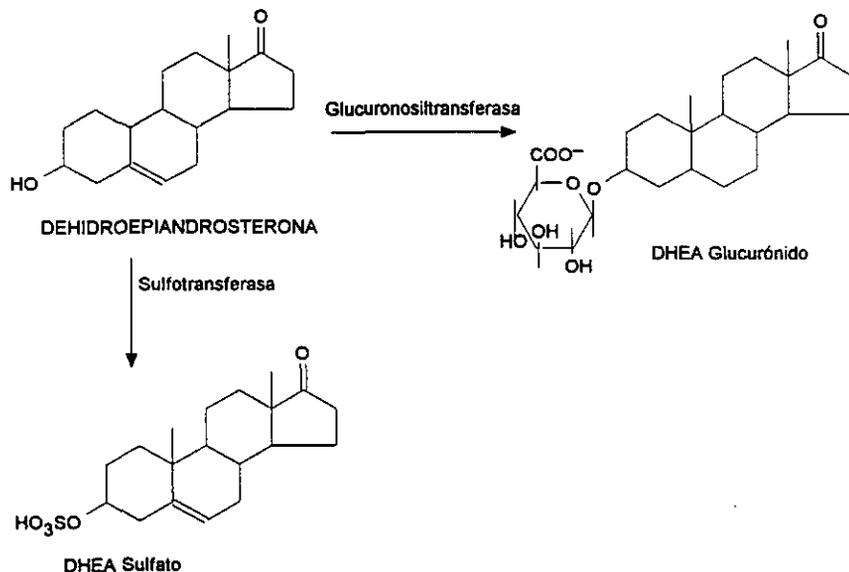
Al ser liposolubles, todos los andrógenos se absorben bien, aunque lentamente, cuando se administran por vía intramuscular en solución oleosa<sup>32, 34, 58</sup>. Una vez absorbidos pasan a la sangre donde son transportados, por lo menos la **testosterona**, en combinación con las proteínas del plasma, especialmente con una  $\beta$ -**globulina**, la globulina fijadora de **testosterona** y **estradiol** o **SHBG**<sup>28</sup>.

El conocimiento de los productos terminales del metabolismo de las hormonas esteroideas es de sumo interés para el estudio de estos agentes farmacológicos, ya que diversas reacciones dan como resultado productos terminales característicos derivados de cada una de estas hormonas.

Los procesos de biotransformación se llevan a cabo en diversos órganos y tejidos, entre los que el hígado y el riñón son los más importantes. En ellos se llevan a efecto reacciones que hacen a las moléculas más polares, y esta polaridad se incrementa además porque la mayoría de los metabolitos se convierten, probablemente en el hígado, y antes de la excreción a través del riñón, en compuestos que, al ser solubles en agua, pueden excretarse por la orina, y que son (*figura 20*<sup>36</sup>):

1) Los *glucurónidos*, que son glucósidos formados por la transferencia de un grupo glucuronosil desde el ácido UDP-glucurónico al esteroide, en una reacción catalizada por una glucuronosiltransferasa.

2) Los *esteroides sulfatados*, que se forman en una reacción que se produce entre uno de los grupos hidroxilo del esteroide y el 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato y que es catalizada por una sulfotransferasa).



***Figura 20***

*Ejemplo de las vías de conjugación para la excreción de esteroides (Formación de glucurónidos y sulfatación). Tomada de Newsholme<sup>36</sup>)*

Los procesos farmacológicos de los esteroides androgénicos pueden estudiarse desde el punto de vista del grupo en general, pero a la vez han de considerarse las características específicas debidas a las diferencias químicas estructurales de cada esteroide. Tras identificar la **testosterona** como el principal y más representativo andrógeno testicular, y advirtiéndose que, inyectada como solución oleosa es absorbida, metabolizada y excretada tan rápidamente que el efecto androgénico no es intenso y que, aunque administrada oralmente es fácilmente absorbida pero resulta ser incluso menos efectiva porque gran parte del total de la hormona se metaboliza en el hígado antes de alcanzar la circulación sistemática, se inició una cadena de modificaciones químicas para retardar el catabolismo o estimular la potencia androgénica de la molécula. Los tipos generales de modificaciones son:

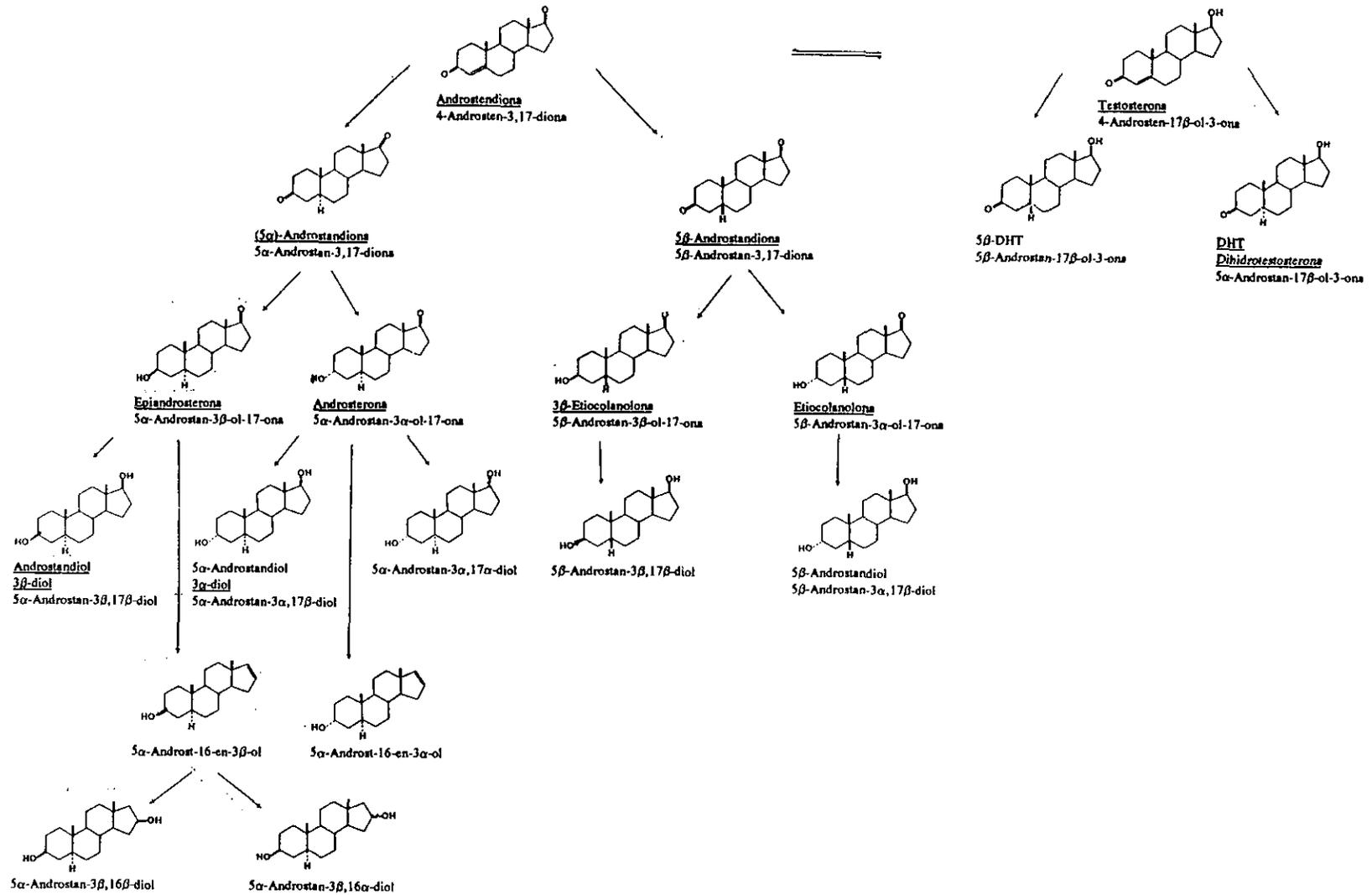
1) Esterificación del grupo 17 $\beta$ -hidroxilo con diferentes ácidos carboxílicos (propionato, enantato)<sup>59</sup>. Como consecuencia del aumento de liposolubilidad resultante se produce una disminución en la velocidad de la absorción y prolongación en la acción, fenómenos que se acrecientan en función de la longitud de la cadena del ácido<sup>34</sup>.

2) Alquilación de la posición 17 $\alpha$ <sup>27, 28</sup>. Es el caso de la **metiltestosterona**, la **fluoximesterona** y la **mesterolona**<sup>34, 60</sup>, consiguiéndose con esa modificación que se produzca un aumento de la efectividad por vía oral por catabolización lenta en el hígado, probablemente porque el radical hidrocarbonado introducido impide la destrucción del grupo hidroxilo a nivel del carbono 17<sup>20, 29, 60, 61</sup>.

3) Otras modificaciones. Se producen para retardar la inactivación, estimular la potencia y alterar el metabolismo. Es el caso de la **19-nortestosterona** y la **testolactona**<sup>12, 20, 30, 31</sup>.

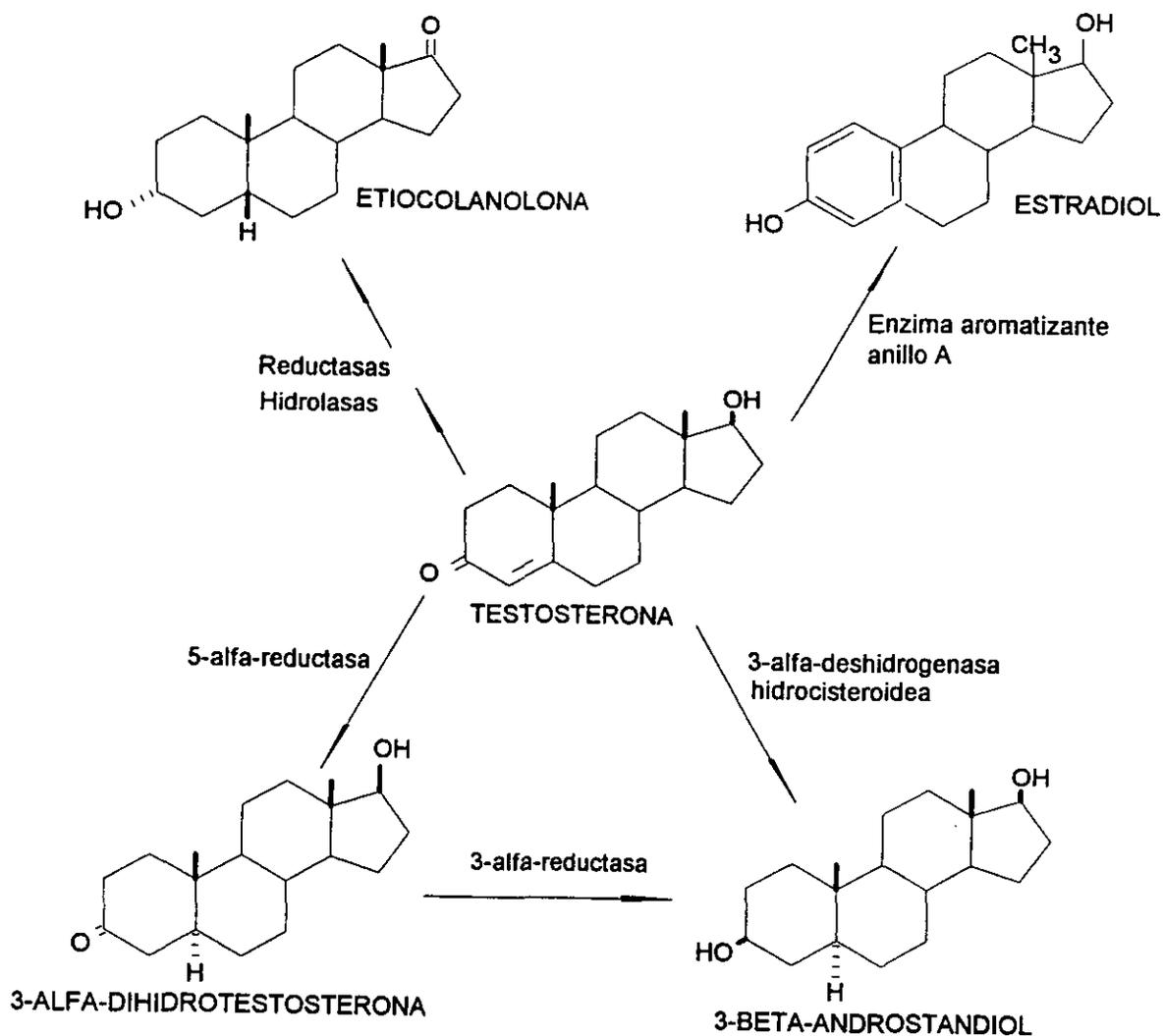
#### **I.3.5.1. Metabolismo de la testosterona**

El metabolismo de los andrógenos es complejo<sup>21, 34, 62, 63</sup> (*figura 21*), siendo el de la **testosterona** el más significativo. La **testosterona** endógena se biotransforma en el organismo humano en diferentes órganos y tejidos, principalmente en el hígado, formándose en el metabolismo numerosos compuestos con estructura similar a la del compuesto padre, y en todo caso derivada de la suya. Los principales metabolitos activos<sup>64</sup> se indican en la *figura 22*; de forma general se puede indicar que la mayor parte de los metabolitos de la testosterona son producto de reacciones de óxido-reducción catalizadas por el citocromo P450 o enzimas isómeros suyos.



**Figura 21**

*Metabolismo de los andrógenos (Propuesta)*



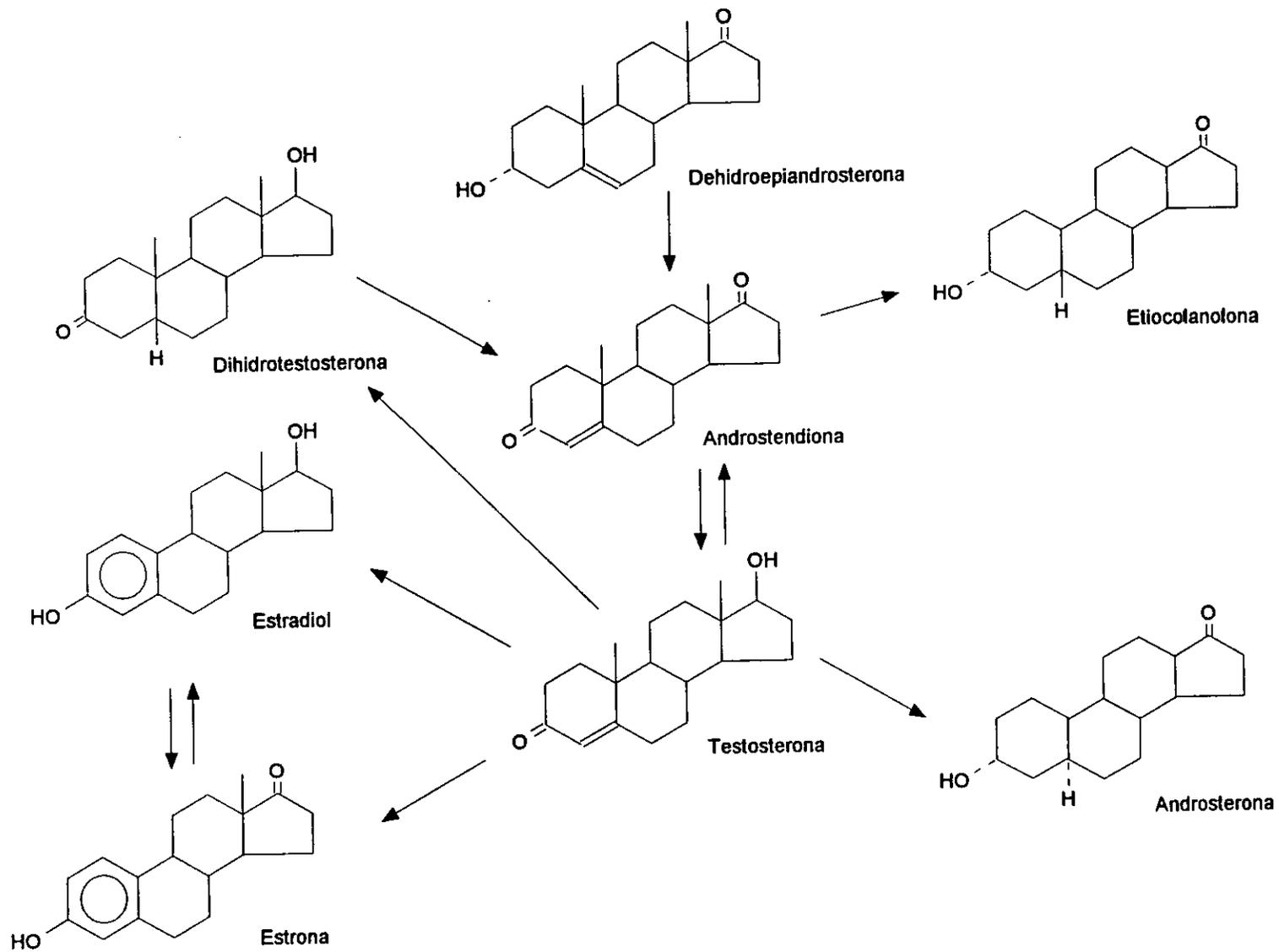
**Figura 22**

*Principales metabolitos activos de la testosterona*

En el hígado, su transformación a **androstendiona** implica la oxidación del grupo 17-OH; la reducción en 5 $\alpha$  del anillo A de la **androstendiona** lleva a la **androstandiona**, y la reducción del grupo 3-ceto conduce a **androsterona** y **epiandrosterona** (poco activos); alternativamente, la **androstendiona** puede ser

reducida en la posición  $5\beta$  y puede sufrir una 3-ceto reducción para formar **etiocolanona** (inactivo). En el retículo endoplasmático y en el núcleo de los tejidos efectores para andrógenos, la **testosterona** es reducida, por la  $5\alpha$ -reductasa a **dihidrotestosterona (DHT)**, que actúa como mediador intracelular en la mayoría de las acciones de la hormona. La **DHT** se fija al receptor proteico celular para andrógenos, con una fuerza diez veces mayor que la **testosterona**; y el complejo formado, dihidrotestosterona-receptor, es más estable que el correspondiente a la **testosterona**. La **DHT** es por tanto un metabolito activo de la **testosterona**, siendo de 1,5 a 2,5 veces más potente que el compuesto padre<sup>65</sup>, pero su concentración plasmática es muy baja, del orden de 35-75 ng/dl.<sup>18</sup>. La **DHT** a su vez es convertida en el hígado en **androsterona**, **androstandiona** y **androstandiol**<sup>66</sup>. Los 17-cetoesteroides urinarios proceden fisiológicamente no sólo de la hormona del testículo, la **testosterona**, sino de las hormonas androgénicas de la corteza suprarrenal; sin embargo, la **dehidroepiandrosterona**, 17-cetoesteroide urinario con escasa actividad, procede esencialmente de la corteza suprarrenal<sup>25, 34</sup>. La **testosterona** se transforma también en estrógenos, como el **estradiol** y la **estrona**<sup>67</sup>, pero la cantidad formada normalmente es escasa, salvo cuando se administran altas dosis de **testosterona**<sup>34, 68</sup>.

En la **figura 23** se representan los principales productos del metabolismo de la **testosterona**.



**Figura 23**

*Principales metabolitos urinarios de la testosterona*

Estos metabolitos, que poseen oxígeno en el carbono 17, son 17-cetoesteroides neutros que aparecen en la orina como sulfatos y conjugados con el ácido glucurónico, y su determinación, entre las de otros, es un índice de la presencia de andrógenos en el organismo<sup>34</sup>.

Los ésteres de la testosterona son hidrolizados a testosterona libre y luego metabolizados en la misma forma que esta última, aunque otras modificaciones de la molécula alteran el curso de degradación metabólica. Los compuestos inalterados, los metabolitos y los conjugados se excretan por orina y heces<sup>66</sup>.

### **1.3.6. Efectos de los esteroides anabolizantes androgénicos**

El mecanismo de acción de los esteroides anabolizantes androgénicos incluyen tanto efectos *anabólicos* como *anticatabólicos*<sup>69</sup>. Los efectos anticatabólicos de los EAA incluyen su capacidad de invertir los efectos catabólicos de los glucocorticosteroides que se liberan durante los períodos de esfuerzo e intenso trabajo. Los efectos anabólicos transcurren a nivel celular e inducen la síntesis de las proteínas en las células del músculo esquelético<sup>70, 71</sup>. Como consecuencia, los efectos fisiológicos de las hormonas esteroides se plantean como resultado de su influencia sobre la velocidad de la síntesis proteica o el tipo de proteína que se sintetiza en el tejido diana<sup>72, 73, 74</sup>. En el organismo, el efecto neto de la acción de los andrógenos es la

suma de los efectos de la **testosterona** (sintetizada en los testículos, los ovarios y la corteza suprarrenal), de la **dihidrotestosterona**, su metabolito  $5\alpha$ -reducido, y del **estradiol**, su derivado estrogénico.

Los efectos positivos de los andrógenos en el anabolismo de las proteínas, sospechados durante mucho tiempo, fueron documentados en 1.935<sup>75</sup>, tras observarse que la **testosterona** determinaba una perceptible disminución en la excreción del nitrógeno urinario en perros sometidos a un régimen proteico equilibrado y constante. Posteriormente, estos efectos fueron confirmados<sup>76, 77</sup>, una vez que se estudiaron los efectos anabólicos producidos por una dosis de 25 mg. de propionato de testosterona, que dieron por resultado una retención media de 63 mg de nitrógeno/Kg. al día, apareciendo un proceso activado de neoformación, que daba lugar a nuevo tejido muscular esquelético<sup>49</sup> y al aumento de peso de algunos órganos como el hígado y el riñón, lo cual puede deberse a la retención de agua asociada con la de electrolitos y proteínas; el nitrógeno orgánico retenido quedaba almacenado durante varias semanas después de dejar el tratamiento<sup>31</sup>. Con ello se dejó establecido de forma irrefutable el efecto anabolizante de los andrógenos, cuyas acciones están mediadas por la misma proteína receptora que interviene en las de las hormonas en otros tejidos efectores<sup>78</sup>.

De los estudios realizados con animales experimentales se extraen diversas conclusiones sobre la influencia de los EAA sobre la **composición corporal**<sup>79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90</sup>. Tanto las pruebas experimentales y terapéuticas realizadas con personas de distinto sexo<sup>91, 92, 93, 94</sup>, como la mayoría de los estudios de

entrenamiento de fuerza<sup>82, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104</sup>, permiten concluir que *los EAA pueden contribuir a incrementar el peso corporal, por aumento de la masa magra*; sin embargo resulta pequeño, aunque significativo, el aumento de la ganancia de peso en los estudios de entrenamiento.

#### **I.3.6.1. Efectos secundarios de los EAA**

La mayoría de las encuestas indican<sup>20</sup> que, de la mitad de los deportistas que abusan de los EAA, unos los obtienen clandestinamente y otros mediante prescripción médica. Esto resulta particularmente grave, ya que muchos de los aspectos del abuso de EAA todavía no son bien conocidos<sup>105</sup>, en parte porque muchos de los agentes empleados son fármacos para uso veterinario, en parte porque son derivados de los **andrógenos** que todavía no han sido sanitariamente aprobados, para los que no existen datos acerca de la seguridad de su aplicación en el hombre y de los que se carece de estudios de toxicidad a largo plazo. Pero en conjunto se ha preconizado que los efectos adversos de los EAA sobre la presión sanguínea, los lípidos y el metabolismo hepático, sugieren un riesgo a largo plazo de hepatotoxicidad y prematura aterogénesis en deportistas que utilizan EAA<sup>106, 107</sup>.

El análisis de los efectos secundarios de los EAA es complicado por problemas de definición<sup>108</sup>. Se conocen tres tipos de efectos adversos de los **andrógenos**:

1) *Efectos secundarios virilizantes* mediados por los receptores androgénicos<sup>92, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122</sup>.

2) *Efectos secundarios feminizantes* mediados por metabolitos estrogénicos del esteroide administrado.

3) *Efectos secundarios tóxicos* generalmente mediados por mecanismos desconocidos.

Estos efectos se pueden clasificar, en función de los órganos o funciones afectadas, de la manera siguiente:

a) ***En el hígado.*** A los EAA se les ha implicado con efectos potencialmente peligrosos, a corto y largo plazo, en el hígado<sup>107, 123, 124</sup>. La administración de EAA alteran la estructura y función hepática, asociándose los cambios histológicos<sup>125</sup> al grupo molecular *17 $\alpha$ -cetónico* de algunos esteroides como la oximetolona, la oxandrolona, el estanozolol y la metiltestosterona (ver anexo). Las alteraciones de diversas pruebas funcionales hepáticas, consecuentes a la utilización de estos esteroides, son frecuentes, e incluyen un aumento en la concentración de la bilirrubina y de las actividades de la aspartatoaminotransferasa y fosfatasa alcalina en el plasma; y en concreto, la eritropoyesis y las funciones específicas del hígado son significativamente estimuladas<sup>126</sup>.

Al respecto, el "*American College*" llamó la atención en 1.978 sobre las alteraciones de la función hepática normal sufridas por el 80% de una serie de 69 personas tratadas con C17-alquilderivados de la **testosterona**, recogiendo cinco comunicaciones que documentaron hepatitis en 17 pacientes, 7 de los cuales murieron de insuficiencia hepática. Diversas comunicaciones<sup>127, 128</sup> describen cambios estructurales observados en el hígado tras la administración de EAA. También se han observado<sup>125</sup> variaciones en los niveles de las transaminasas, fosfatasa alcalina, bilirrubina e incremento en la retención de bromosulfaleína, lo cual es un indicador de trastornos de la función secretora del hígado.

El primer caso de carcinoma hepato-celular asociado con la ingestión de esteroides anabolizantes androgénicos fué comunicado en 1965. Desde entonces se han descrito otros 13 pacientes que lo han desarrollado<sup>129</sup>. Las complicaciones hepáticas más serias asociadas con ellos, y específicamente con la familia de los esteroides 17 $\alpha$ -alquilados<sup>130, 131</sup>, son: **hepatitis colestásica**, con ictericia, que puede llegar a ser letal, como característica clínica más destacada<sup>34, 128, 132</sup>, inducida por la **metiltestosterona** y otros andrógenos con sustituyentes 17 $\alpha$ -alquílicos; **peliosis hepática**<sup>133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145</sup>, de los que se han comunicado hasta 23 casos tras haberse utilizado EAA<sup>70</sup>; y **carcinoma hepático**<sup>130, 131, 143, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158</sup>, con tumores benignos<sup>148, 151, 153, 157, 159</sup> pero también malignos<sup>147, 155, 157</sup>. La posible relación causa-efecto entre el uso de EAA y el desarrollo de tumores está apoyada por un informe de regresión del tumor al cesar dicha utilización<sup>125, 131, 160</sup>. Pero así como no se han publicado casos de peliosis hepática en deportistas que utilizan

o han usado **esteroides anabolizantes**<sup>130</sup> -si bien es cierto que tampoco se han realizado estudios específicos<sup>161</sup>-, en cambio se ha informado del caso de un físicoculturista de 26 años que murió de cáncer de hígado tras haber abusado, durante un mínimo de cuatro años, de una gran variedad de **esteroides anabolizantes**<sup>162</sup>. Se considera que los tumores hepáticos se producen en el 1-3% de las personas que utilizan **EAA**, con un período de latencia de 2 a 30 años.

**b) En el sistema cardiovascular.** El uso de los **EAA** también se ha asociado a efectos secundarios, potencialmente peligrosos, sobre el sistema cardiovascular<sup>163</sup>. Por ejemplo se considera que inducen **hiperinsulinismo**<sup>164</sup> y **aumento de la presión sanguínea arterial**<sup>107, 165</sup>. Además la **hipertensión** puede implicar una combinación de efectos, como aumento en las catecolaminas y cambios en el metabolismo del sodio que pueden conducir a edemas. En animales de laboratorio se ha demostrado que los **EAA** producen alteraciones patológicas en las estructuras de las miofibrillas y las mitocondrias del tejido cardíaco<sup>166, 167, 168</sup>.

**c) En las constantes hematológicas.** Los **EAA**, principalmente los que se utilizan por vía oral, disminuyen la concentración plasmática de la globulina fijadora del tiroides, y en consecuencia aumentan la excreción de 17-cetoesteroides, elevan las concentraciones plasmáticas del colesterol-LDL, y disminuyen las del colesterol-HDL<sup>107, 126, 169, 170, 171, 172</sup>, bajando notablemente las relaciones HDL/LDL, lo que

conduce a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares<sup>173, 174, 175</sup>. Los esteroides  $17\alpha$ -alquil-sustituídos inducen un incremento de la síntesis hepática y de las concentraciones plasmáticas de diversas glucoproteínas<sup>176</sup>. Aunque en algunos individuos los niveles de triglicéridos se reducen con los EAA<sup>171, 177</sup>, en otros sin embargo aumentan<sup>178, 179</sup>. También se ha observado un aumento de las transaminasas<sup>107</sup>.

**d) En el sistema reproductor masculino.** Hay estudios que demuestran que con el uso de los EAA se produce una disminución del tamaño y función testicular y una disminución en la producción de espermatozoides. En 1.971, siete atletas americanos, lanzadores de peso, fueron operados de próstata a edades muy inferiores a las que se producen habitualmente<sup>129</sup>. En pruebas terapéuticas<sup>180</sup> y en limitados estudios de investigación con voluntarios<sup>181</sup>, en entrenamiento<sup>82, 182, 183</sup> y con deportistas que utilizaban los EAA<sup>184, 185, 186</sup> se ha demostrado la aparición, en el sistema reproductor masculino, de efectos secundarios potencialmente peligrosos causados por el uso de dichas sustancias. Estos efectos incluyen: **oligospermia y azoospermia; reducción en el tamaño testicular; disminución en los niveles de hormonas gonadotrópicas y testosterona; e hipertrofia de la próstata.** Se cree que la alteración responsable de estas anormalidades es una supresión de la producción de las gonadotrofinas inducidas por los esteroides<sup>181, 182, 186, 187</sup>. A pesar de que pueden ser efectos reversibles, se ha informado de anormalidades residuales en la morfología testicular<sup>181</sup>. Finalmente, existe la posibilidad, por el metabolismo de andrógenos a compuestos estrogénicos, de que

esas hormonas puedan inducir **ginecomastias** en varones<sup>85, 172, 188, 189</sup>.

e) *En el sistema reproductor femenino.* Los efectos secundarios de los EAA incluyen: **reducción en los niveles circulantes de la hormona luteinizante, la hormona folículo-estimulante, los estrógenos y la progesterona; atrofia del ovario por acción inhibidora en la función de la hipófisis; inhibición de foliculogénesis y ovulación; y alteraciones en el ciclo menstrual incluyendo prolongación de la fase folicular, acortamiento de la fase luteal y amenorrea**<sup>129, 190, 191, 192</sup>.

f) *En el sistema endocrinológico.* La administración de EAA produce en el hombre un estado temporal hiperandrogénico, y por consiguiente una **hipofunción de los sistemas pituitario-testicular y pituitario-tiroideo**. En deportistas varones adultos, los EAA ocasionan durante su período de administración unos niveles suprafisiológicos de **estradiol, androstendiona y dihidrotestosterona**. Asimismo, se produce un hipogonadismo hipogonadotrópico, caracterizándose además el correspondiente estado por una **atrofia testicular**<sup>193</sup>, por la disminución de la concentración circulante de la **hormona luteinizante, la hormona folículoestimulante, la testosterona endógena y sus principales precursores y metabolitos**<sup>194, 195</sup> (*Tabla II*<sup>196</sup>)

<i>Hormonas endógenas</i>	<i>Efecto</i>
Hormona luteinizante	Disminuye
Hormona folículoestimulante	Disminuye
Hormona estimulotiroidea	Disminuye o no varía
Prolactina	No se modifica
Hormona adenocorticotrópica	Disminuye o no varía
Hormona del crecimiento	Aumenta
Testosterona	Disminuye
Dihidrotestosterona	Disminuye
Precusores esteroideos	Disminuye
Estradiol	Aumenta
Cortisol	No se modifica
Tiroxina	Disminuye
Triyodotironina	Disminuye
Tiroxina libre	Disminuye

***Tabla II***

*Efectos de los EAA en las concentraciones de hormonas endógenas (Tomada de Alén<sup>196</sup>)*

*g) En el estado emocional.* Los efectos psicológicos de los EAA en ambos sexos incluyen, entre otros<sup>197</sup>: **aumento o disminución del deseo sexual, alteraciones en el estado de ánimo y comportamiento agresivo<sup>69, 198, 199, 200, 201, 202</sup>**. Se ha comunicado que tras la utilización de EAA aparece una **agresividad incontrolable<sup>121,</sup>**  
<sup>172</sup> (lo que fué el fundamento para administrar EAA al ejército alemán en la 2ª Guerra

Mundial), **esquizofrenia**<sup>203</sup>, **hipomanía**<sup>204</sup> y **problemas psicóticos**<sup>205, 206, 207</sup>. Estos efectos pueden conducir a la **violencia en el deporte**<sup>208, 209</sup>.

*h) Otros efectos secundarios.* Entre otros asociados a los EAA se incluyen: **ataxia**<sup>210</sup>; **cierre epifiseal prematuro en jóvenes**<sup>17, 85, 129, 189, 211, 212, 213</sup>; **virilización en jóvenes y mujeres**, incluyendo **hirsutismo**<sup>129, 214</sup>, **clítoromegalia**<sup>188, 190</sup> y **agravamiento irreversible del tono de la voz**<sup>111, 189, 211</sup>; efectos dermatológicos graves, como **acné**, **pérdida temporal de pelo y alopecia**<sup>214</sup>, **quistes sebáceos**, **ictericia**, **forunculosis** y otras infecciones bacterianas e **infecciones micóticas superficiales**<sup>215</sup>; y **rupturas tendinosas**<sup>216</sup>.

Y también la utilización de EAA pueden producir **adicción**<sup>217, 218</sup> y **dependencia**<sup>202</sup>, tanto **física** como **psicológica**, con síntomas que incluyen **depresión**, **fatiga**, **descenso del impulso sexual**, **insomnio** y **anorexia**, pudiendo producirse durante la fase inicial de la retirada **ansiedad**, **irritabilidad**, **náuseas**, **dolor de cabeza**, **mareos**, **escalofríos** y **sudoración**.

Estos efectos secundarios, algunos potencialmente peligrosos, pueden aparecer con el uso de EAA, y se cree que dependen del tipo de esteroide, la dosificación y la duración del tratamiento<sup>85</sup>. También se ha comunicado<sup>219</sup> la interconexión entre los niveles de testosterona y el **estrés**.

i) **Efecto placebo**. Se ha asociado<sup>220</sup> un profundo efecto placebo al uso de EAA.

j) **Efectos indirectos**. Aparte de los efectos directos indicados, los EAA provocan **riesgos en la salud**, como los que implican "shock" anafiláctico, abscesos, septicemias y cicatrices en los músculos asociados con la autoadministración de inyecciones. Asimismo otro riesgo asociado es que los EAA pueden convertirse **en la puerta de entrada hacia otras drogas**.

**I.4. EL USO DE LOS ESTEROIDES ANABOLIZANTES**  
**ANDROGENICOS (EAA) COMO DOPAJE EN EL DEPORTE**

El abuso que de los EAA hacen los deportistas<sup>221, 222</sup> constituye sólo uno de los aspectos del problema planteado por el mal uso que la población en general hace de estos agentes farmacológicos<sup>211, 223</sup>; y ante el porcentaje (más del 50%) que suponen los EAA sobre el total de sustancias dopantes prohibidas<sup>224, 225</sup>, su utilización podría parecer que representa sólo una parte minoritaria del problema general que plantea el dopaje en el deporte<sup>226, 227</sup>. Como consecuencia del uso y abuso de los EAA, la atención pública ha ido enfocando este problema, disponiéndose reglamentaciones y desarrollándose acciones, tanto educativas como represivas, dirigidas hacia su control en el deporte<sup>222, 228</sup>.

Los deportistas comenzaron a utilizar los EAA como ayudas ergogénicas en la década de los cincuenta<sup>69, 229, 230</sup>, habiéndose incrementado su uso a través de los años<sup>95, 184, 230, 231, 232, 233</sup> a pesar de las llamadas de atención sobre las reacciones adversas que podían producir<sup>188, 230, 233, 234</sup>. Por ejemplo, una encuesta confidencial anónima realizada en 1.979 por la Comisión francesa del deporte de alto nivel ofrecía el dato estadístico de que alrededor del 70% de los deportistas franceses de varias modalidades deportivas específicas estaban utilizando esteroides anabolizantes<sup>235</sup>. Al surgir posteriormente la posibilidad de su detección por los laboratorios, su utilización

absoluta se redujo, pero no así su uso relativo con respecto a las restantes sustancias dopantes; aunque el problema no capturó la atención del gran público hasta 1.983, tras el escándalo surgido en los Juegos Panamericanos celebrados en Caracas al retirarse diversos equipos nacionales cuando se conoció que la detección de **esteroides anabolizantes** en los Juegos era posible y efectiva<sup>70, 236</sup>, confirmándose la posibilidad cuando sorpresivamente se detectaron un 5% de casos positivos con estas sustancias<sup>237</sup>.

Los deportistas recurren a los EAA para aprovechar algunas de sus acciones predominantes que podían incidir en su rendimiento deportivo. Por ejemplo, las propiedades anabólicas de los andrógenos se pueden utilizar en diferentes aplicaciones<sup>238, 239</sup>, siendo precisamente esos efectos los buscados por los deportistas practicantes de deportes de gran resistencia<sup>240</sup>; efectos que, como el incremento en el rendimiento y la potenciación de la resistencia muscular sólo se consiguen si junto con la utilización de **esteroides anabolizantes** se realiza también un trabajo constante<sup>241, 242</sup>.

Por otra parte, la fuerza muscular es un factor de importancia para competir en determinadas pruebas deportivas. Teniendo en cuenta que en las funciones humanas los efectos hormonales son el resultado de la confrontación entre las hormonas y sus receptores en los tejidos "blanco"<sup>243</sup> y que, además, la regulación del metabolismo de las proteínas es el resultado de un complicado balance entre las hormonas **anabolizantes** (andrógenos, insulina y la hormona del crecimiento) y las **catabólicas** (glucocorticoides y las hormonas tiroideas)<sup>244</sup>, los principales mecanismos propuestos para la acción de los **andrógenos** en el aumento de la fuerza muscular son:

a) un incremento de la síntesis de proteínas en el músculo como acción directa de los EAA; y b) un bloqueo post-ejercicio del efecto catabólico de los glucocorticoides para aumentar la cantidad disponible de la hormona anabolizante androgénica<sup>79, 188, 245, 246, 247</sup>. Existe una amplia literatura concerniente a la eficacia de los EAA en la promoción de la fortaleza muscular, aunque toda ella es controvertida<sup>161</sup>. Pero a pesar de estas controversias, se puede concluir que el uso de los EAA, especialmente por determinados deportistas experimentados, puede incrementar los niveles de fuerza sobre los obtenidos sólo con dieta y entrenamiento; y aunque este incremento sea usualmente mínimo, puede ser sin embargo importante cuando se va a competir en una prueba deportiva<sup>161</sup>.

Estos razonamientos se han intentado rebatir bajo la afirmación de que sólo se puede presuponer el uso de los EAA en el deporte. Pero estas suposiciones dejan de ser tales y se convierten en hechos constatados ante el conocimiento público de que el uso de esteroides anabolizantes por algunos deportistas aumentan la masa muscular<sup>248</sup>, y sobre todo porque los mismos deportistas han declarado que los EAA aumentan la agresividad y disminuyen la fatiga, permitiéndoles llevar a cabo entrenamientos más largos e intensos<sup>231, 248, 249, 250</sup>, cuyo efecto se materializa varias semanas después de finalizado el tratamiento. En definitiva, se puede afirmar que los deportistas recurren a los EAA con el objetivo final de mejorar su rendimiento deportivo<sup>235</sup>, al conseguir con su uso:

- # mayor atención y lucidez durante el esfuerzo;
- # más rapidez en la recuperación psíquica y física durante el esfuerzo;
- # aumento de la intensidad y duración del esfuerzo diario;
- # sensible incremento de la forma física.

Finalmente es necesario constatar que, a pesar de todo, el verdadero efecto de los EAA sobre el rendimiento deportivo no es fácil de cuantificar por las siguientes razones:

- # En las dosis usadas por los deportistas sus efectos secundarios son tan pronunciados que impiden los estudios ciegos acerca de su eficacia.
- # Es posible que sólo un pequeño subgrupo de todos los deportistas que los utilizan tengan una respuesta favorable, haciendo difícil su identificación.
- # Los efectos sobre el rendimiento físico-deportivo son más difíciles de evaluar a medida que aumenta la capacidad del deportista.

#### **I.4.1. Pasado**

La primera vez que se conoció que se habían utilizado **esteroides anabolizantes androgénicos** en el deporte fué en 1.950<sup>230, 251</sup>. Y en otras comunicaciones se ha sugerido<sup>252</sup> que en los Juegos Olímpicos de 1.964 el uso de estas sustancias constituyó un significativo problema.

Pero no fué hasta 1.966 cuando los **esteroides anabolizantes androgénicos** se incluyeron por primera vez como sustancias dopantes, y bajo la denominación de **esteroides anabolizantes**, en la lista que elaboró el Comité Olímpico Internacional (C.I.O.) durante el transcurso de la LXV Sesión mantenida en Teherán<sup>253</sup>. Esta lista se consideró vigente a partir de los Juegos Olímpicos de verano de Mexico'68, y en el apartado 7 de dicha lista se indica: **Se considera "doping" el empleo de esteroides anabolizantes, excepto si existe indicación médica.**

Inexplicablemente, y quizás por la dificultad que todavía presentaba su detección y confirmación en un ***análisis de control del dopaje***, los **esteroides anabolizantes** desaparecieron de las listas siguientes, hasta que en el apartado "E" de la establecida para los Juegos Olímpicos de Moscú, en 1.980, se especificaron como **sustancias dopantes las siguientes: (Ver Anexo)**

**\* Esteroides anabolizantes, tales como:**

- **decanoato de nandrolona**
- **estanozolol**
- **fenilpropionato de nandrolona**
- **metandienona**
- **oximetolona**
- **y sustancias relacionadas.**

Esta lista presentaba la novedad de no ser cerrada; es decir, cualquier fármaco con la misma acción que la ejercida por los citados como ejemplos en el grupo de referencia se consideraba como *dopante*, y por consiguiente se vetaba a los deportistas su uso en el deporte.

Para los Juegos de la XXIII Olimpiada, que se celebrarían en Los Angeles en 1.984, la Comisión Médica del Comité Olímpico Internacional aprobó una nueva lista más amplia, la cual, respecto a los **esteroides anabolizantes**, estaba integrada por los siguientes (Ver Anexo):

- |                                       |                            |
|---------------------------------------|----------------------------|
| - <b>Clostebol</b>                    | - <b>Metiltestosterona</b> |
| - <b>Dehidroclormetiltestosterona</b> | - <b>Nandrolona</b>        |
| - <b>Estanozolol</b>                  | - <b>Noretandrolona</b>    |
| - <b>Fluoximesterona</b>              | - <b>Oximesterona</b>      |
| - <b>Mesterolona</b>                  | - <b>Oximetolona</b>       |

- **Metandienona**

- **Testosterona**

- **Metenolona**

- **y sustancias relacionadas**

En este caso la novedad consistió en la inclusión de la testosterona como sustancia dopante, la cual, al ser una hormona fisiológica, presentaba el inconveniente de no poder ser prohibida sólo cualitativamente, ya que su detección es normal en toda orina humana. Otro problema añadido era el no poder considerar como límite de positividad un determinado valor absoluto, ya que las cifras normales de la testosterona presente en una orina se mueven en un intervalo muy amplio de valores<sup>18, 20</sup>, y además varían con determinados factores externos, como es por ejemplo el ejercicio. En conclusión, y buscando soluciones, se estableció, de una forma absolutamente estadística, y con el concepto de cuantificación relativa, el límite de positividad en el valor de 6 de la cifra obtenida como cociente entre las concentraciones de la testosterona y de la epitestosterona, medidas en la misma muestra y en el mismo momento.

#### ***1.4.2. Presente***

Hoy día siguen siendo los **esteroides anabolizantes androgénicos** la clave del **dopaje**: bien por su utilización como moléculas sintéticas con estructura química diferente a la cualquier endógeno presente en el organismo; bien por su uso

como moléculas sintéticas completamente similares a las naturales; o bien por aplicación de causas externas que fuerzan una producción endógena, superior a la normal, del esteroide en cuestión.

La lista vigente actual, respecto de estas sustancias dopantes, del Comité Olímpico Internacional y del Convenio contra el dopaje del Consejo de Europa es la siguiente (Ver Anexo):

**# Esteroides anabolizantes androgénicos, tales como por ejemplo:**

- |                                |                             |
|--------------------------------|-----------------------------|
| - Bolasterona                  | - Metiltestosterona         |
| - Boldenona                    | - Nandrolona                |
| - Clostebol                    | - Noretandrolona            |
| - Dehidroclormetiltestosterona | - Oxandrolona               |
| - Estanozolol                  | - Oximesterona              |
| - Fluoximesterona              | - Oximetolona               |
| - Mesterolona                  | - Testosterona *            |
| - Metandienona                 | - y sustancias relacionadas |
| - Metenolona                   |                             |

\* para la testosterona, una muestra se ha de considerar positiva si por administración de testosterona o cualquier otra manipulación se obtiene en la orina una relación testosterona/epitestosterona superior a 6.

Sin embargo, a partir de los comienzos de 1.992, empezaron a surgir nuevos planteamientos oficiales sobre los problemas de los esteroides anabolizantes. En primer lugar, se reconsideró el valor marcado como 6 en la relación testosterona / epitestosterona para delimitar un caso positivo con **testosterona**, cifra que ya era motivo de controversia entre los expertos en materia de dopaje desde hacía varios años. A este respecto, la Comisión Médica del CIO, las federaciones deportivas internacionales, y organismos nacionales y supranacionales recomiendan que en los valores superiores a 6 e inferiores a 10 se realicen pruebas para excluir posibles condiciones fisiológicas o patológicas. Actualmente se empieza a barajar la posibilidad de que incluso se realicen estas pruebas "a priori" cuando existan serias dudas de una patología o de una fisiología anormal del deportista.

Por otra parte, se han añadido nuevos nombres a las listas, que incluso se subdividen para dar entrada a las nuevas sustancias que, sin estructura esteroidea, entre sus acciones se encuentran también las de ser **anabolizante**, como es el caso del **clenbuterol**. La lista oficial de España, que se detalla, es un ejemplo (Ver Anexo):

## **ANABOLIZANTES**

### **C<sub>1</sub>. ESTEROIDES ANABOLIZANTES ANDROGENICOS**

- |               |                     |
|---------------|---------------------|
| - Bolasterona | - Metiltestosterona |
| - Boldenona   | - Nandrolona        |

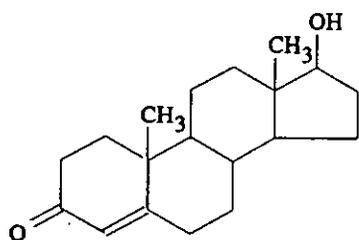
- Calusterona
- Clostebol
- Dehidroclormetiltestosterona
- Drostanolona
- Estanozolol
- Fluoximesterona
- Mesterolona
- Metandienona
- Metenolona
- Noretandrolona
- Oxabolona
- Oxandrolona
- Oximesterona
- Oximetolona
- Quimbolona
- Testosterona \*
- Trembolona

\* En el caso de la testosterona la definición depende de lo siguiente: La administración de testosterona o la utilización de cualquier otra manipulación que tenga como resultado aumentar la proporción de testosterona/epitestosterona en la orina por encima de 6.

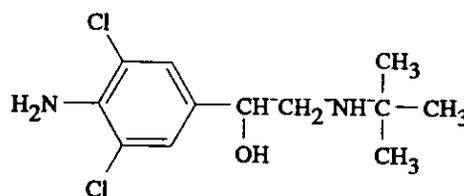
## **C<sub>2</sub>. OTRAS SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD ANABOLIZANTE**

- Clenbuterol
- Clomifeno
- Zeranol

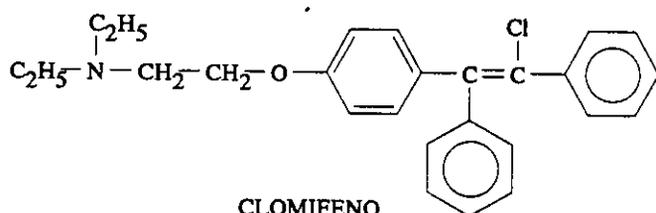
Estas nuevas sustancias no esteroideas no poseen una estructura química común (*figura 24*), sino que según su actividad farmacológica prioritaria pertenecen a grupos muy diferentes, aunque todas ellas, directa o indirectamente, ejercen una acción anabolizante secundaria.



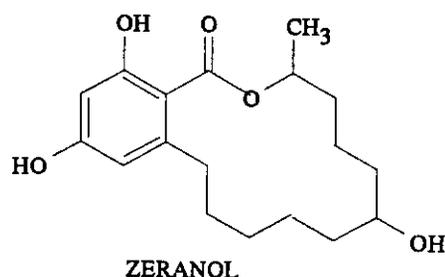
TESTOSTERONA



CLEMBUTEROL



CLOMIFENO



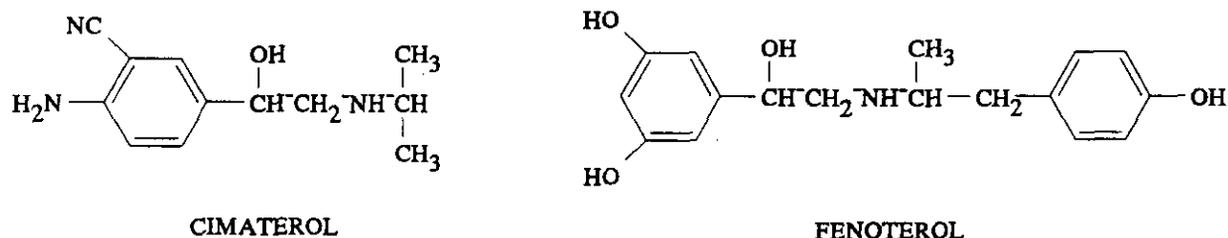
ZERANOL

***Figura 24***

*Diferentes estructuras químicas de varios anabolizantes*

El zeranol (3,4,5,6,7,8,9,10,11,12-decahidro-7,14,16-trihidroxi-3--metil-1H-2-benzoxaciclotetradecin-1-ona) (*figura 24*) es una lactona, utilizada como agente anabolizante en los animales, aunque no se ha definido el mecanismo de acción<sup>261</sup>.

El clenbuterol (4-Amino-3,5-dicloro- $\alpha$ -[[1,1-dimetiletil) amino]metil]bencenometanol) (figura 24) es un agonista adrenérgico  $\beta$ -2-selectivo de tercera generación, con acción principal estimulante simpaticomimética<sup>254</sup>; sin embargo, su administración también puede producir acciones secundarias<sup>255</sup>, provocando un significado aumento en la síntesis proteica<sup>256</sup>, incrementando una retención de nitrógeno, induciendo una reducción del porcentaje de grasa subcutánea y total corpórea y potenciando un crecimiento del músculo esquelético y cardíaco<sup>257</sup>.<sup>258</sup>. Aunque el uso del clenbuterol, igual que el del cimaterol (2-amino-5-[1-hidroxi-2-[(1-metiletil)amino]etil]benzonitrilo) (figura 25) y en menor grado el del fenoterol (5[1-hidroxi-2-[[2-(4-hidroxifenil)-1-metiletil]amino]etil]-1,3-bencenodiol) (figura 25), ha sido veterinario hasta época reciente<sup>259</sup>, el clenbuterol ha pasado a ser una de las sustancias elegidas por los deportistas para competir con dopaje.

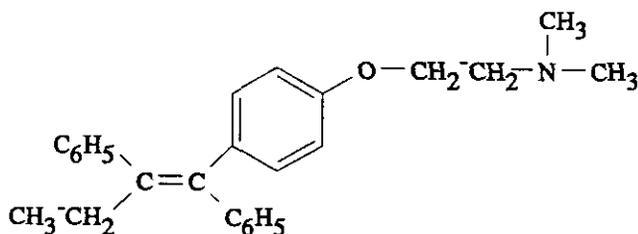


**Figura 25**

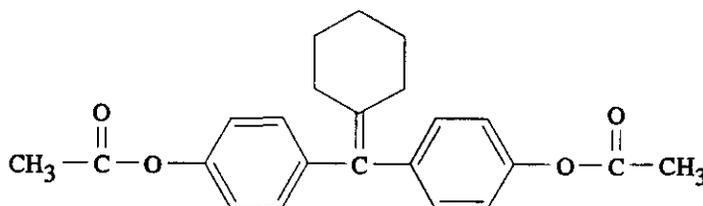
*Estructuras químicas de  $\beta$ 2-agonistas con acción anabolizante*

El clomifeno (2-[4-(2-cloro-1,2-difeniletetil)-N,N-dietiletanamina) (figura 24), como el tamoxifeno ([Z]-2-[4-(1,2-difenil-1-butenil)-fenoxi]-N,N-dimetiletanamina) (figura 26) y el ciclofenil (4-[[4-(acetiloxi)

*fenil]ciclohexilidenmetil]fenol acetato) (figura 26), son antiestrógenos<sup>260</sup>, que actúan sobre el hipotálamo, y que se utilizan para aumentar la testosterona endógena burlando el límite T/E de positividad<sup>261</sup>, así como para intentar disminuir los efectos femenizantes de los esteroides anabolizantes aromatizables y aumentar el colesterol HDL como protección parcial a los problemas cardiovasculares producidos por los EAA. Estas sustancias provocan un aumento del nivel sanguíneo de la **hormona luteinizante (LH)** y de la **hormona folículoestimulante (FSH)**, glucoproteínas ambas de origen hipofisiario, con propiedades físicas recientemente estudiadas<sup>262</sup>, de alto peso molecular (28500-40000 y 25000-34000 respectivamente), constituídas ambas por dos cadenas polipeptídicas  $\alpha$  y  $\beta$  y carbohidratos, con estructura que no está totalmente dilucidada.*



TAMOXIFENO



CICLOFENIL

**Figura 26**

*Estructuras químicas de antiestrógenos con actividad anabolizante*

Por otra parte, la sola variación de la lista de anabolizantes no incluye todas las posibilidades de dopaje con sustancias utilizadas con ese objetivo farmacológico. Por ejemplo, se ha denunciado el empleo de aerosoles de derivados de la **testosterona** o de **androstendiona**, indetectables; y la inyección simultánea de ésteres de **testosterona** y de **epitestosterona**, que permiten mantener el nivel de testosterona urinaria por debajo del umbral que caracteriza un aporte exógeno; la utilización de hormonas capaces de incrementar los niveles séricos de **testosterona**.

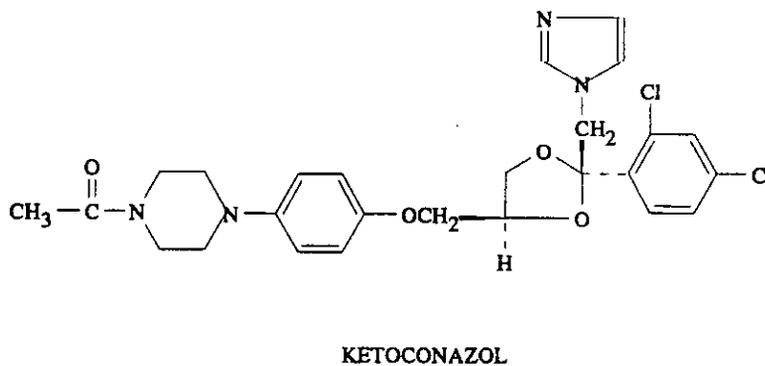
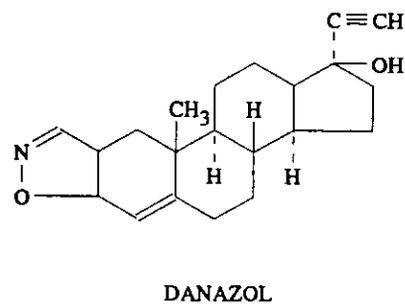
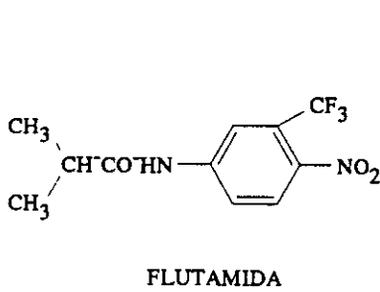
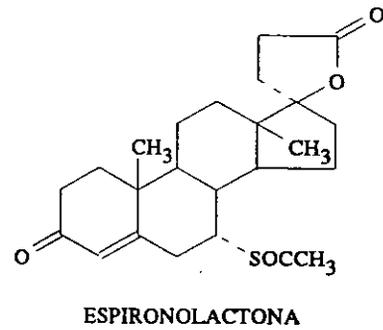
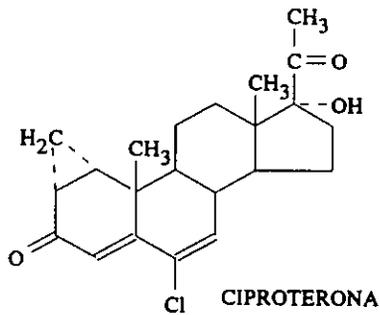
Tampoco puede dejar de constatarse el empleo actual, que al parecer puede extenderse, de **antiandrógenos**, que son fármacos que bloquean los receptores androgénicos<sup>25</sup>; pero con una acción que no sólo es la antiandrogénica, sino que también son androgénos débiles<sup>263, 264</sup>, por lo que ejercen acción dual y reciben el nombre de "andrógenos impedidos"<sup>51</sup>. Los principales antiandrógenos sintéticos empleados<sup>64</sup>, además de la **ciproterona**<sup>265</sup> (*6-cloro-1,2-dihidro-17-hidroxi-3'H-ciclopropa[1,2]pregna-1,4,6-trien-3,20-diona*), son (figura 27):

- la **espirolactona** (*( $\gamma$ -lactona del ácido 7-(acetiltio)-17-hidroxi-3-oxo-pregna-4-en-21-carboxílico)*), cuya acción farmacológica principal es la diurética;

- la **flutamida** (*2-metil-N-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]propanamida*), que por bloqueo de la retroalimentación inhibitoria de la **testosterona** produce un aumento notable de las concentraciones plasmáticas de la **hormona luteinizante, LH**, y por tanto de la **testosterona**, lo cual limita sus efectos antiandrogénicos<sup>266, 267</sup> y por lo tanto

potencia la acción androgénica;

- y con mayor acción androgénica, el danazol<sup>268</sup> (*pregna-2,4-dien-20-inol[2,3-djisoaxazol-17-ol]*).



**Figura 27**

*Estructuras químicas de antiandrógenos con acción androgénica débil*

También el **ketoconazol** (*cis-1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina*), figura 27), un derivado del imidazol, cuya actividad farmacológica primaria es la de agente antimicótico<sup>269</sup>, es un potente inhibidor de la síntesis de los esteroides gonadales y adrenales<sup>270</sup> por inhibición del citocromo P-450<sup>271</sup>.

#### ***1.4.3. Futuro***

El dopaje con los esteroides anabolizantes que se podrían denominar como "*clásicos*" se tiende a sustituir en el futuro, que ya casi es el presente, por:

a) Aportaciones exógenas de **testosterona** como esteroide anabolizante androgénico de elección.

b) Administración de andrógenos naturales relacionadas con la **testosterona** por reacciones de biosíntesis, los cuales, o sus metabolitos, se encuentran normalmente presentes en la orina, como por ejemplo la **dihidrotestosterona (DHT)** y la **dehidroepiandrosterona (DHEA)**.

c) Aplicación de diversos compuestos utilizados como:

- ayudas ergogénicas;
- agentes enmascarantes para ocultar el uso de los EAA, y
- sustancias terapéuticas para tratar los efectos secundarios de los EAA.

d) Administración de hormonas peptídicas, tales como **gonadotropina coriónica humana (hCG)** y la del **crecimiento (GH)**, sus estimuladores (**arginina**, **ornitina**, **clonidina ...**), su hormona liberadora (**GHRH**) y sus inductores, como la **galanina**, neuropéptido de cadena directa de 29 aminoácidos recientemente descubierto<sup>260</sup>.

e) Utilización de sustancias no hormonales, como algunos  $\beta$ 2-agonistas por ejemplo, que no ejercen en forma primaria la acción anabolizante de los EAA, pero que producen un efecto similar, por influencia en el equilibrio hormonal esteroideo.

Las perspectivas de evolución del uso de los EAA en el deporte se proyectan por tanto hacia la utilización de sustancias que, no sólo no posean una estructura esteroidea, similar a la de los EAA, sino que además ni siquiera ejerzan acciones anabolizantes por sí mismas, actuando por influencia en todo el delicado equilibrio hormonal con el fin de que sea precisamente un efecto anabolizante la consecuencia final de su acción. E incluso se tiende a utilizar sustancias que, sin actuar específicamente como anabólicos, inducen una ganancia de peso, como puede ser la **cianocobalamina (vitamina B<sub>12</sub>)**, la **dibencozida** (la forma metabólicamente activa de la B<sub>12</sub>), los aminoácidos (**arginina**, **ornitina**, **triptófano ...**), los aminoácidos ramificados (**leucina**, **valina**, **isoleucina**), e incluso la hormona polipeptídica **insulina**.

Y no sólo se puede pensar en sustancias que, de alguna forma, se encuentran implicadas en la regulación hormonal de las fuentes de energía para el cuerpo. En esta dirección empiezan a surgir informes sobre algo al parecer tan lejano del anabolismo proteico como son los oligoelementos, sobre específicamente el **romo** y el **boro**. Así, en la Convención celebrada por "The Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB)" en 1.992, en la que se reunieron mas de 6.000 investigadores científicos americanos para compartir sus descubrimientos, se presentaron estudios<sup>272, 273, 274</sup> sobre un tema controvertido: la posibilidad de que el boro, además de reducir la excreción de calcio y magnesio, puede incrementar notoriamente los niveles de testosterona. Las investigaciones, recién iniciadas, se apoyan en estudios de creatinina, de masa molecular, de diferencias en las dosis...; sin encontrarse todavía ninguna confirmación absoluta a las suposiciones, pero sin que tampoco se puedan negar éstas.

A pesar de todo, casi resulta impredecible el camino que va a seguir el dopaje cuyo objetivo primario, entre otros secundarios, sea el anabolismo proteico, el incremento de la masa muscular, con el fin de conseguir un mayor rendimiento, un aumento de la resistencia y la energía, unos mejores resultados, en unos deportes específicos e incluso en el deporte en general. El problema se centra, además de en la ética deportiva, en el desconocimiento de los efectos secundarios, previsiblemente serios, al utilizar como dopaje cada una de las "nuevas" sustancias y sobre todo las reacciones cruzadas a que puede dar lugar una administración simultánea de varias de ellas.

## **I.5. ASPECTOS ANALITICOS DE LOS ESTEROIDES ANABOLIZANTES**

### **ANDROGENICOS**

#### **I.5.1. Análisis directo de los EAA en el control del dopaje**

##### **I.5.1.1. Análisis identificativo de los EAA en general**

Los esteroides anabolizantes androgénicos se analizan, en el contexto del control del dopaje, utilizando un sistema de **cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM)** tras haber preparado la muestra fisiológica mediante los correspondientes procesos de **extracción, hidrólisis y derivatización**. Esta muestra es **orina recogida a un deportista**, único fluido biológico disponible en la actualidad según la normativa del control del dopaje.

Aunque en algún caso en la orina se detecta el compuesto padre, la molécula química que usualmente se identifica es la de algún principal metabolito urinario del esteroide, aunque también la monitorización de los principales iones de los derivados de algún otro compuesto de biotransformación del anabolizante permiten su identificación<sup>275</sup> (*tabla III*).

**Advertencia: Picos bases en el rango de masas 100-700**

78

<i>Anabolizante prohibido</i>	<i>Sustancia química detectada</i>	<i>Compuesto excretado</i>	<i>Forma de excreción</i>	<i>Derivado fracción libre (m/z)</i>	<i>Derivado fracción conjugada (m/z)</i>
Bolasterona	7 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -dimetil-5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ , 17 $\beta$ -diol	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 464 (PM) 449 374 284 269 143 (PB)
Boldenona	5 $\beta$ -androst-1-en-17 $\beta$ -ol-3-ona	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 432 (PM) 417 206 194 (PB) 181
Boldenona	17 $\beta$ -hidroxandrostano-1,4-dien-3-ona (Boldenona)	Compuesto padre	Conjugado		bis-TMS 430 (PM) 415 325 229 206 (PB) 191
Clostebol	4-cloro-androst-4-en-3 $\alpha$ -ol-17-ona	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 468 466 (PB,PM) 453 451 431 169

***Tabla III (inicio)***

*Identificación analítica directa, por espectrometría de masas, de los esteroides anabolizantes androgénicos o sus metabolitos urinarios*

<i>Anabolizante prohibido</i>	<i>Sustancia química detectada</i>	<i>Compuesto excretado</i>	<i>Forma de excreción</i>	<i>Derivado fracción libre (m/z)</i>	<i>Derivado fracción conjugada (m/z)</i>
Dehidroclormetiltestosterona	6 $\beta$ -hidroxi-dehidroclormetiltestosterona	Metabolito	Libre	bis-TMS 494 (PM) 317 315 245 243 143 (PB)	
Drostanolona	2 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ -ol-17-ona	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 448 (PM) 433 (PB) 343 253 169
Estanozolol	3'-hidroxi-estanozolol	Metabolito	Libre y Conjugado	tris-TMS 560 (PM) 545 254 143 (PB)	tris-TMS 560 (PM) 545 254 143 (PB)
Estanozolol	3'-hidroxi-17-epi-estanozolol	Metabolito	Libre	bis-TMS,N-HFB 684 (PM) 669 594 143 (PB)	
Estanozolol	4 $\beta$ -hidroxi-estanozolol	Metabolito	Conjugado		tris-TMS 560 (PM) 545 254 143 (PB)

***Tabla III (continuación)***

*Identificación analítica directa, por espectrometría de masas, de los esteroides anabolizantes androgénicos o sus metabolitos urinarios*

<i>Anabolizante prohibido</i>	<i>Sustancia química detectada</i>	<i>Compuesto excretado</i>	<i>Forma de excreción</i>	<i>Derivado fracción libre (m/z)</i>	<i>Derivado fracción conjugada (m/z)</i>
Estanozolol	16 $\beta$ -hidroxi-estanozolol	Metabolito	Conjugado		tris-TMS 560 (PM) 470 381 231 218 (PB) 117
Fluoximesterona	9 $\alpha$ -fluoro-17 $\alpha$ -metil-androst-4-en-3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ -tetrol	Metabolito	Libre	tetra-TMS 642 (PM) 552 462 447 143 (PB)	
Fluoximesterona	9 $\alpha$ -fluoro-18-nor-17,17-dimetilandrostan-4,13-dien-11 $\beta$ -ol-3-ona	Metabolito	Libre	bis-TMS 462 447 357 208	
Formildienolona	2-hidroximetil-17 $\alpha$ -metil-androstan-1,4-dien-11 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol-3-ona	Metabolito	Libre	tris-TMS 562 (PM) 547 472 457 382 367 143 (PB)	

***Tabla III (continuación)***

*Identificación analítica directa, por espectrometría de masas, de los esteroides anabolizantes androgénicos o sus metabolitos urinarios*

<i>Anabolizante prohibido</i>	<i>Sustancia química detectada</i>	<i>Compuesto excretado</i>	<i>Forma de excreción</i>	<i>Derivado fracción libre (m/z)</i>	<i>Derivado fracción conjugada (m/z)</i>
Furazabol	16-hidroxi-furazabol	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 490 (PB) 475 400 311 231 218
Mestanolona	17 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 450 (PM) 435 360 255 143 (PB)
Mesterolona	1 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ -ol-17-ona	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 448 (PM) 433 (PB) 343 169
Metandienona	6 $\beta$ -hidroxi-metandienona	Metabolito	Libre	bis-TMS 460 (PM) 370 281 209 143 (PB)	

***Tabla III (continuación)***

<i>Anabolizante prohibido</i>	<i>Sustancia química detectada</i>	<i>Compuesto excretado</i>	<i>Forma de excreción</i>	<i>Derivado fracción libre (m/z)</i>	<i>Derivado fracción conjugada (m/z)</i>
Metandienona	17-epimetandienona	Metabolito	Libre	Mono-TMS 372 (PM) 282 219 161 143 (PB)	
Metandriol	17 $\alpha$ -metil-5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 450 (PM) 435 345 270 143 (PB)
Metenolona	1-metilen-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ -ol-17-ona	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 446 (PM) 431 (PB) 341 251 169
Metenolona	17 $\beta$ -hidroxi-1 $\beta$ -metil-5 $\alpha$ -androst-1-en-3-ona (Metenolona)	Compuesto padre	Conjugado		bis-TMS 446 (PM) 431 355 208 195 (PB)

***Tabla III (continuación)***

*Identificación analítica directa, por espectrometría de masas, de los esteroides anabolizantes androgénicos o sus metabolitos urinarios*

<i>Anabolizante prohibido</i>	<i>Sustancia química detectada</i>	<i>Compuesto excretado</i>	<i>Forma de excreción</i>	<i>Derivado fracción libre (m/z)</i>	<i>Derivado fracción conjugada (m/z)</i>
Metiltestosterona	17 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 450 (PM) 435 360 255 143 (PB)
Metiltestosterona	17 $\alpha$ -metil-5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 450 (PM) 435 360 345 270 143 (PB)
Nandrolona	5 $\alpha$ -estran-3 $\alpha$ -ol-17-ona	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 420 (PM) 405 (PB) 315 225 169
Nandrolona	5 $\beta$ -estran-3 $\alpha$ -ol-17-ona	Metabolito	Conjugado		bis-TMS 420 (PM) 405 (PB) 315 225 169

***Tabla III (continuación)***

*Identificación analítica directa, por espectrometría de masas, de los esteroides anabolizantes androgénicos o sus metabolitos urinarios*

<i>Anabolizante prohibido</i>	<i>Sustancia química detectada</i>	<i>Compuesto excretado</i>	<i>Forma de excreción</i>	<i>Derivado fracción libre (m/z)</i>	<i>Derivado fracción conjugada (m/z)</i>
Noretandrolona	17 $\alpha$ -etil-5 $\beta$ -estran-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	Metabolito	Conjugado		bis-TMS (450) (PM) 435 421 331 241 157 (PB) 144
Oxandrolona	17-hidroxi-17-metil-2-oxaandrostan-3-ona (Oxandrolona)	Compuesto padre	Libre	mono-TMS 378 (PM) 363 321 308 143 (PB)	
Oxandrolona	17-epi-oxandrolona	Metabolito	Libre	mono-TMS 378 (PM) 363 321 308 143 (PB)	
Oximesterona	4 $\beta$ ,17 $\beta$ -dihidroxi-17 $\alpha$ -metilandro-4-en-3-ona (Oximesterona)	Compuesto padre	Conjugado		tris-TMS 534 (PB, PM) 519 444 389 143

***Tabla III (continuación)***

*Identificación analítica directa, por espectrometría de masas, de los esteroides anabolizantes androgénicos o sus metabolitos urinarios*

<i>Anabolizante prohibido</i>	<i>Sustancia química detectada</i>	<i>Compuesto excretado</i>	<i>Forma de excreción</i>	<i>Derivado fracción libre (m/z)</i>	<i>Derivado fracción conjugada (m/z)</i>
Oximetolona	2-hidroximetil-17 $\alpha$ -metil-5 $\alpha$ -androstan-3z,4z,17-triol	Metabolito	Conjugado		tetra-TMS 640 (PM) 625 550 460 405 370 315 143 (PB)
Trenbolona	17-epi-trenbolona	Metabolito	Conjugado		mono-TMS 342 (PB, PM) 327 237 211 209 181
Trenbolona	17-epi-trenbolona	Metabolito	Conjugado		Metoxim, TMS 371 (PM) 356 340 266 240 (PB)
Trenbolona	17-hidroxiestra-4,9,11-trien-3-ona	Compuesto padre	Conjugado		mono-TMS 342 (PB, PM) 327 237 211 209 181

***Tabla III (final)***

*Identificación analítica directa, por espectrometría de masas, de los esteroides anabolizantes androgénicos o sus metabolitos urinarios*

### 1.5.1.2. Análisis de la testosterona en el control del dopaje.

#### Indices utilizados y utilizables para detectar su administración

La detección analítica de la **testosterona** administrada como sustancia dopante es, como se indica intensivamente, un problema reciente en el control del dopaje en el deporte<sup>276, 277</sup>, pero que a diferencia del resto de **EAA** posee unas características propias. Al ser este esteroide una sustancia endógena, su control analítico en el dopaje requiere una especial atención para llegar a diferenciar el origen exógeno del endógeno de esta hormona<sup>278</sup>. La detección cuantitativa no es en este caso significativa, ya que al existir **testosterona** normalmente en el organismo, la positividad de un análisis no puede únicamente basarse, como es válido en el resto de los **EAA**, en la detección, identificación y confirmación de la presencia, en la orina, del esteroide y/o de alguno/s de sus metabolitos urinarios.

Se deduce en consecuencia la necesidad de medir su concentración en la muestra de orina que se analiza. Pero a pesar de que existen procedimientos analíticos cada vez más sencillos, rápidos, efectivos y garantizables para realizar este análisis cuantitativo<sup>279</sup>, tampoco es suficiente realizar una determinación cuantitativa absoluta, porque los niveles de testosterona no son los mismos en todas las personas<sup>280</sup>, pudiendo variar con diversos factores, como el sexo, el período de la vida en el hombre y el ciclo menstrual en las mujeres. Además, para detectar un abuso de **testosterona** mediante valores absolutos los métodos analíticos desarrollados se basan en los amplios cambios que se producen en la concentración urinaria de la testosterona, difícil de

aplicar en el control del dopaje por las fluctuaciones que se producen en la excreción del líquido fisiológico, y que *sólo se pueden recolectar tomas puntuales de orina en un tiempo indeterminado dentro del ciclo circadiano*.

En consecuencia, al prohibir el uso de la **testosterona** en el deporte, fué necesario introducir en su analítica el concepto de cuantificación relativa, propugnando la medida relativa de la concentración de esta hormona como la única vía válida.

Ya en 1.979 se propuso<sup>281</sup> utilizar la **hormona luteinizante (LH)** como factor analítico de referencia frente a la **testosterona**, como un prototipo para detectar una administración exógena de esta sustancia, basándose en el efecto "*feedback*", ocasionado en este caso por la supresión de la **LH**. En efecto, el uso de **testosterona** exógena causa, dependiendo de la dosis administrada, una supresión en la secreción pituitaria de las gonadotrofinas<sup>195</sup>; en consecuencia, tras la inyección de ésteres de **testosterona**, los valores de la concentración sérica de la hormona androgénica (**T**) se incrementan, mientras que los de la luteinizante (**LH**) caen, por lo que el cociente **T/LH** podía presentarse como una alternativa al cociente **T/E**, con las mismas deducciones respecto a la administración exógena de **testosterona**; además este cociente tenía también a su favor su independencia del volumen de líquido excretado<sup>282</sup>. Pero al no poder ratificar por **CG/EM** esta medida, se rechazó la propuesta.

En consecuencia, y tratando de buscar la mejor solución<sup>283</sup>, se propuso en 1.983 un método alternativo relacionando la **testosterona (T)** con la **epitestosterona**

(E), molécula natural de configuración esteroidea muy similar a la de la **testosterona**, siendo su  $17\alpha$ -epímero. La **epitestosterona** no es activa en los tejidos ni sufre procesos de biotransformación; también se secreta por las gónadas, aunque parece que no ocupa ningún lugar en la actuación de los andrógenos<sup>284</sup>, y se encuentra presente, junto a la **testosterona**, en la orina de hombres y mujeres (fué aislada en 1.964 de la orina humana). Las concentraciones urinarias de ambas hormonas son aproximadamente iguales<sup>283, 285</sup>, y las plasmáticas casi equimoleculares<sup>284</sup>. Tras diversas medidas estadísticas por CG/EM<sup>283</sup>, y basándose en que la **epitestosterona** representa sólo un mínimo porcentaje (inferior al 1%) entre los productos resultantes del metabolismo de la **testosterona**, la **androstendiona** y la **dehidroepiandrosterona**<sup>283, 286, 287, 288</sup> y en que los valores de excreción de la **epitestosterona** decrecen después de la administración de la **testosterona**<sup>282</sup>, en 1.983 el C.I.O. adoptó el cociente entre las concentraciones urinarias de **testosterona** y **epitestosterona** (**T/E**) *como la única prueba válida para detectar si se ha administrado testosterona como sustancia dopante*, correlacionándola con un incremento del cociente T/E con independencia del grado de dilución de la orina<sup>289</sup>.

Es por tanto este valor de referencia relativo el que se adoptó, y se sigue utilizando en la actualidad, como indicador de una posible administración exógena de **testosterona**<sup>290</sup>, considerándose que en ausencia de un aporte de esta hormona el intervalo normal del cociente T/E es 6 ó inferior a 6<sup>291, 292</sup>.

Actualmente surgen propuestas para detectar una administración exógena

de **testosterona**, buscando una posible influencia sobre otros esteroides, tanto andrógenos como estrógenos, o sobre otras hormonas<sup>277</sup>, pero que sólo son válidos para análisis de suero y no de orina<sup>293, 294</sup>.

En resumen, en la determinación de **testosterona** en un control de dopaje no sólo se ha de realizar el procedimiento general analítico para la detección de cualquier EAA<sup>295</sup>, sino que ha de considerarse que en este caso la positividad ha de depender de que la cantidad de **testosterona** que exista en la orina sea anormalmente alta por razones no fisiológicas y que no esté influida por otros factores que, aunque en casos aislados, puedan afectar al resultado de un control de dopaje, como podría ser la edad del deportista<sup>216, 296, 297, 298, 299</sup>, o el etanol<sup>300, 301</sup>.

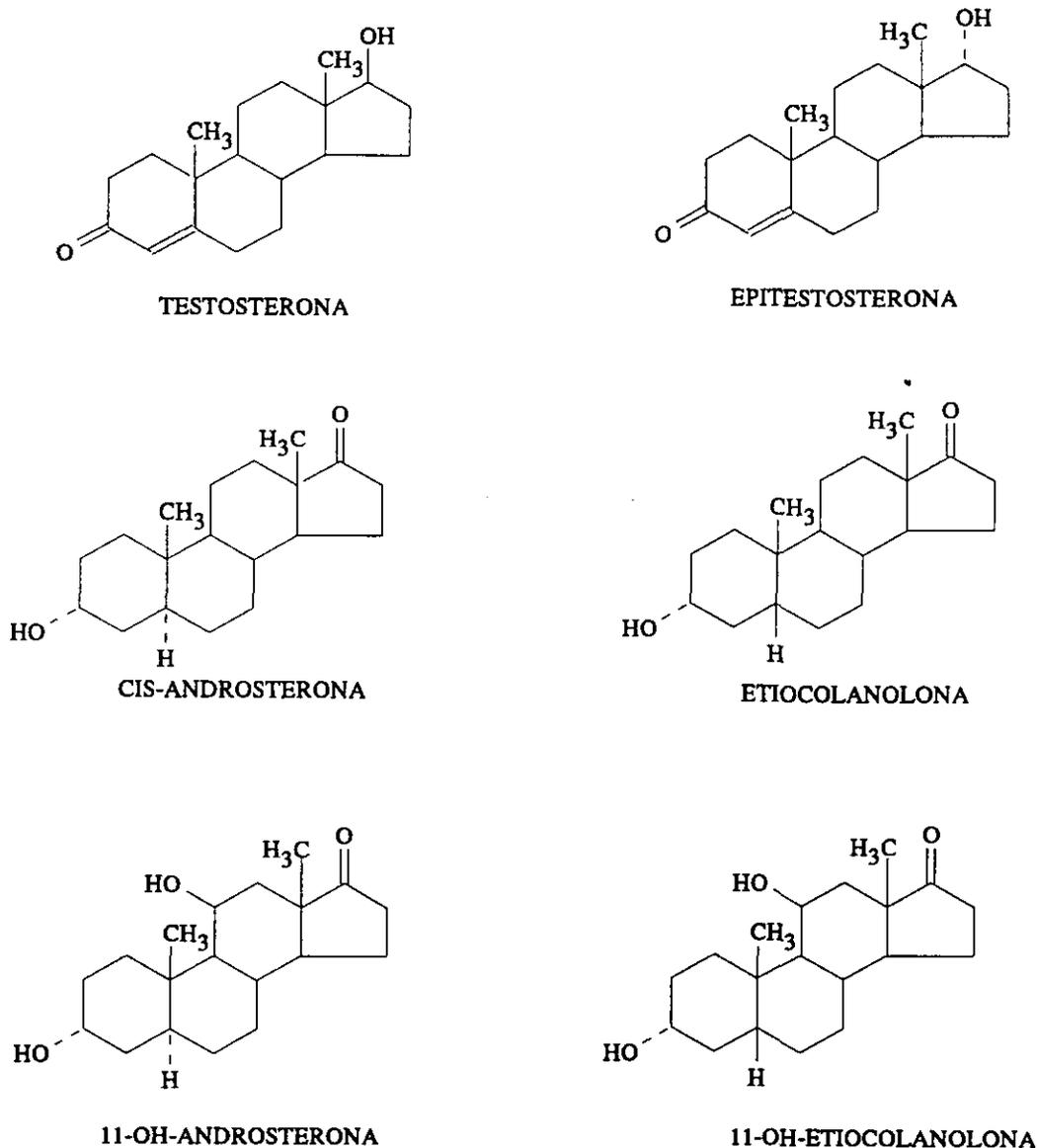
### **1.5.2. Análisis de los EAA mediante el perfil hormonal esteroideo (PHE)**

El llamado "**perfil hormonal esteroideo**" (**PHE**) está integrado por los **esteroides hormonales endógenos**, o sus metabolitos, presentes en el medio analizado, el cual, en el caso del control del dopaje, es la orina. Si se hace referencia a las concentraciones urinarias excretadas de estos esteroides, en  $\mu\text{g/ml}$ , se define el **perfil hormonal esteroideo absoluto**, mientras que si se presentan cocientes entre dichas concentraciones se define el **perfil hormonal esteroideo relativo**<sup>302</sup>.

Las hormonas esteroideas se encuentran en el organismo guardando un delicado equilibrio<sup>303</sup>, de forma que cualquier factor, tanto exógeno como endógeno, que influya sobre cualquiera de ellas, bien porque varíe directamente su concentración, bien porque actúe sobre los centros de secreción, bien porque modifique su eliminación, puede desplazar este equilibrio en sentidos que, a veces, son los buscados, pero que otras veces son imprevisibles.

La administración de esteroides anabolizantes es uno de los factores que precisamente provoca una alteración en este perfil<sup>304, 305, 306</sup>, y por tanto en la concentración de los esteroides endógenos, ya que los metabolitos urinarios de los andrógenos se excretan en cantidades proporcionales a los niveles circulantes de testosterona; por consiguiente, cualquier administración de un anabolizante o un andrógeno sintético modificará esta excreción en un plazo más o menos largo. Los esteroides endógenos más directamente afectados en este perfil<sup>307</sup> son los que se encuentran relacionados con la **testosterona**, además de ella misma; es decir (figura 28):

- \* **testosterona;**
- \* **cis-androsterona y eticolanolona**, sus principales metabolitos urinarios;
- \* **11-hidroxi-androsterona y 11-hidroxieticolanolona**, y
- \* **epitestosterona.**



***Figura 28***

*Esteroides endógenos usualmente incluidos en el P.H.E.*

Por ejemplo, la administración de dosis relativamente bajas de **metandienona** provoca a los 8 días una reducción en la secreción endógena de un 90-95%, con una brusca disminución que puede explicarse por el mecanismo de retroacción de la **testosterona**, y de los esteroides anabolizantes íntimamente relacionados con ella, sobre la regulación endocrina<sup>308</sup>.

Estadísticamente se ha establecido como premisa que:

- i) el uso de EAA provoca una disminución en la concentración de los esteroides endógenos en la orina;
- ii) la administración de EAA influye en los cocientes entre esteroides isómeros, como son la *cis-androsterona* y la *etiocolanona*;
- iii) los cambios en la concentración de los esteroides y en la variación de su cociente permanecen incluso cuando los EAA responsables de este efecto ya no se pueden detectar en la orina.

Por tanto, se puede considerar que, mientras que el uso indebido de **esteroides anabolizantes** puede controlarse directamente en el análisis urinario detectando el esteroide como tal o mediante sus metabolitos, para controlar el *uso indebido crónico de esteroides anabolizantes* a largo plazo, en circunstancias en las que ya no puedan encontrarse en la orina cantidades detectables ni de ellos mismos ni de los productos de su biotransformación, se han de utilizar otros métodos, basados en la influencia que los EAA ejercen sobre el conjunto de los esteroides endógenos, empleándose para ello los dos siguientes conjuntos de parámetros estadísticamente significativos<sup>308</sup>:

1) la *concentración presente de endógenos*, en relación con la cual se encuentra la *velocidad de su producción*, expresada en  $\mu\text{l/h}$ , la cual no puede obtenerse habitualmente en una toma de control del dopaje, pero cuya importancia se pone de manifiesto si se tiene en cuenta que las velocidades de producción compensan la dilución de la orina;

2) la *relación cis-androsterona/etiocolanolona*, independiente de la densidad de la orina.

Entre ambos parámetros existe una correlación intensa, de modo que una baja concentración o un bajo ritmo de producción de esteroides andrógenos endógenos se corresponde con una relación cis-androsterona/etiocolanolona alterada, mientras que cuando la producción es normal la correlación es de cero o muy próxima a este valor.

Como es obvio, si un esteroide anabolizante actúa sobre el perfil hormonal esteroideo, la testosterona, por sus características de andrógeno endógeno, influirá aún más directamente sobre este perfil, y por tanto las medidas indicadas no sólo son válidas, sino que son especialmente indicadas para estudiar un posible caso positivo de dopaje causado por la testosterona. Pero en este caso específico se ha planteado además que una información adicional puede obtenerse de medir el cociente entre la testosterona urinaria excretada como glucurónido y otros esteroides endógenos<sup>309</sup>, a la vez que se considera que puede y debe estudiarse cualquier otra

hormona, directamente relacionada con las andrógenas endógenas, cuya concentración en el organismo pueda verse alterada por la administración de **testosterona** o de cualquier otros **esteroide anabolizante androgénico**.

Y como ya se ha indicado, no sólo los **EAA**, y por lo tanto la **testosterona**, pueden influir sobre el **perfil hormonal esteroideo**, sino que existen otros factores exógenos que pueden modificar las concentraciones normales, o sus relaciones, de los endógenos que integran el perfil, al variar la excreción de los mismos. Estos factores pueden ser muy diversos, como por ejemplo el *ejercicio* (por su diferente intensidad o modalidad)<sup>310, 311, 312</sup>, o la administración de diversas *sustancias químicas*, como por ejemplo la **hCG**<sup>282, 289, 313, 314, 315, 316, 317, 318</sup>, el **clomifeno**, el **ketoconazol**<sup>270, 319, 320, 321, 322, 323, 324</sup>, la **dihidrotestosterona**<sup>325, 326</sup> y la **probenecida**<sup>327</sup> además de la misma **testosterona** administrada exógenamente<sup>195, 277, 328</sup>.

Los deportistas utilizan los fármacos para manipular el **PHE**, buscando las diferentes influencias que producen en el mismo. Tratan, según el efecto buscado, de estimular o inhibir, directa o indirectamente, el testículo y/o las glándulas suprarrenales. La estimulación directa del testículo se consigue con **LH** y **hCG**; la indirecta, con **clomifeno** o **tamoxifeno**, como ejemplos de antiestrógenos. Para inhibir el testículo directamente, por cambios en el metabolismo, se utilizan **ketoconazol** y **cimetidina** por ejemplo; la inhibición indirecta, por producción de interferencias, se busca con **danazol** o **EAA**<sup>302</sup>.

La **probenecida** es un agente uricosúrico que actúa de forma distinta a los fármacos anteriormente citados, pero con el resultado de obtenerse unas inusuales bajas concentraciones de esteroides endógenos, debido al efecto inhibitor que la **probenecida** ejerce sobre los 17-cetoesteroides en general y, en particular, sobre los metabolitos conjugados de los **esteroides anabolizantes androgénicos**.

Se puede considerar por tanto que el análisis de los *perfiles hormonales esteroideos* es el medio, complementario del análisis directo, idóneo para controlar mediante la analítica el uso de los **esteroides anabolizantes androgénicos**, y específicamente de la testosterona, en el deporte.

**I.5.3. Consideraciones ante la situación actual en el análisis de los EAA, incluida la testosterona**

Incuestionablemente, la evolución en la frecuencia cualitativa y cuantitativa en la detección de los EAA es el reflejo de la evolución de su uso. Y aunque estadísticamente el incremento porcentual progresivo de los **esteroides anabolizantes** detectados puede ser paralelo al también incremento de su uso, considerado relativamente frente al de otras sustancias dopantes, no se puede dejar de tener en cuenta que en la evolución estadística de la detección analítica de los EAA igualmente puede influir:

a) la mejora en las posibilidades instrumentales, lo que permite la detección de cantidades progresivamente inferiores de los metabolitos de los esteroides utilizados, y

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

Pero a la vez que el número de EAA detectados en el control del dopaje se incrementa frente a la cuantificación del resto de las sustancias dopantes<sup>225</sup> identificadas, también aumenta la proporción de los resultados positivos por **testosterona** frente a los basados en la detección de los otros EAA. Las razones de la actual elección de la **testosterona** como sustancia dopante anabolizante pueden quizá "justificarse" por los indeseables efectos secundarios producidos por los EAA sintéticos -en particular por los riesgos de hepatotoxicidad, hepatoma y carcinoma prostático asociados a la administración de los esteroides  $17\alpha$ -alquilados-, junto con el reconocimiento de las indudables garantías que ofrece la CG/EM en la sistemática detección de estos agentes farmacológicos<sup>282</sup>. Esta situación resalta la importancia progresiva que en el dopaje alcanza actualmente la **testosterona**, y por consiguiente que su determinación analítica, directa o indirecta, como confirmación de su administración

o de una manipulación, sea un tema de alto interés en el control del dopaje.

En relación al control *de la administración de testosterona*, el parámetro inicial estadísticamente significativo es la *relación testosterona/epitestosterona* medida en los controles analíticos de dopaje. Para discernir un caso positivo con *testosterona* se ha establecido internacionalmente el límite de 6 en el cociente  $T/E^{291}$ , límite fijado con un amplio margen sobre valores fisiológicos estadísticamente normales. Sin embargo, la determinación del cociente  $T/E$  para resolver entre una administración exógena de *testosterona* o una manipulación frente a una situación fisiológica normal puede conducir a **falsos positivos** ( $T/E > 6$  con concentraciones de testosterona endógena superiores a la media normal) o **falsos negativos** ( $T/E < 6$ , a pesar de existir por causas exógenas un incremento en la concentración de testosterona endógena). El límite de 6 en el cociente  $T/E$ , no es por tanto tan incuestionable como se pretendió al determinar su valor numérico, ya que esta relación puede depender de:

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

Si por otra parte se considera que:

1º) los niveles urinarios de testosterona y epitestosterona difieren sustancialmente según los individuos, especialmente en el caso de los varones<sup>280</sup>, y

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

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

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

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

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

influirán en el rendimiento en la competición;

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

**a<sub>2</sub>) Una administración conjunta de testosterona y epitestosterona que conduzca a un normal cociente urinario de T/E de aproximadamente 1. Basándose en que sólo el 1% de la testosterona se excreta inalterada (aparte de la conjugada con ácido glucurónico) mientras que de la epitestosterona el correspondiente porcentaje se eleva al 30%, una administración intramuscular de estas dos hormonas en una respectiva relación de 30:1 puede conducir a un normal cociente urinario de 1, siendo posible evadir la detección si sólo se depende del cociente T/E<sup>277</sup>.**

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

producción endógena de testosterona y epitestosterona, con la consiguiente "beneficiosa" elevación de la concentración de la testosterona en sangre sin que se altere el cociente T/E urinario.

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

**b<sub>1</sub>)** Haber existido una posible ingesta de alcohol, que puede incrementar el índice de T/E<sup>300</sup>.

**b<sub>2</sub>)** Encontrarse el sujeto en una fase del desarrollo puberal masculino, el cual puede inducir a que el equilibrio fisiológico entre la testosterona y la epitestosterona se desplace hacia la segregación de la primera hormona<sup>298, 299</sup>.

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

**b<sub>4</sub>)** El incremento anormal de testosterona provenga de una causa patológica.

b.) El sujeto haya tenido que utilizar alguna sustancia específica, como el **ketoconazol**, que es un antifúngico, inhibidor del citocromo P-450, que suprime la síntesis de los esteroides andrógenos<sup>270</sup>, pudiendo producir una baja en la epitestosterona superior a la inducida en la testosterona, y por consiguiente elevar el cociente T/E.

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

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

La utilización complementaria o sustitutiva de otros parámetros, distintos de la **testosterona** y la **epitestosterona**, que intervengan o estén relacionados con el perfil hormonal esteroideo (**PHE**), o incluso simplemente con el *perfil hormonal* en general, podría resolver, o contribuir en la resolución, de la problemática generada por los falsos resultados basados simplemente en la medida de la **T/E**.

## ***II. OBJETIVOS***



## **OBJETIVOS**

Dado el uso de los esteroides anabolizantes androgénicos exógenos en el mundo del deporte, y la dificultad de su detección, el objetivo buscado con esta investigación es el estudio de la posibilidad de que una administración de testosterona previa a la competición pueda detectarse mediante otros parámetros analíticos que los actualmente establecidos, los cuales se considera que pueden no ser ni los más idóneos ni los únicos que sea necesario emplear analíticamente para poder discernir algunos casos de positividad en el control del dopaje con respecto a la testosterona.

Para poder cumplir con este objetivo general, es necesario:

- 1º) Evaluar el procedimiento analítico actualmente aplicado para analizar los esteroides androgénicos anabolizantes en general y la testosterona en particular en el control del dopaje.**
  
- 2º) Evaluar la evolución en el tiempo del uso de los EAA, con especial referencia a la testosterona, mediante su detección en el control analítico del dopaje.**

**3º) Evaluar las posibles influencias, tanto endógenas como exógenas, en los perfiles hormonales urinarios.**

Por lo cual, y para un mejor desarrollo del trabajo, el objetivo general lo hemos dividido en los siguientes tres objetivos parciales:

**A) El estudio de los perfiles hormonales en muestras procedentes de poblaciones diferentes con respecto a diversas variables y en las que las circunstancias de toma de muestras fuera distinta, para considerar la posibilidad de la existencia de un *perfil normal o específico* para una determinada población. Para ello se realizó:**

**a<sub>1</sub>) Comparación de perfiles en población sedentaria, población con actividad física media y población con práctica deportiva profesional, para estudiar la posible influencia del ejercicio físico.**

**a<sub>2</sub>) Perfiles basales (realizados en muestras recogidas fuera de competición) de deportistas de diferentes modalidades deportivas, para estudiar la posible influencia de los diferentes tipos fisiológicos de ejercicio físico (aeróbico y anaeróbico por ejemplo)**

**a<sub>3</sub>) Perfiles realizados tras la realización de actividad física.**

**B)** Estudio de los perfiles no sólo con la introducción de los parámetros analíticos hasta ahora considerados, sino también de otras variables de referencia innovadoras, como la LH y la FSH, que permita estudiar e interpretar la posible correlación con un aporte exógeno de testosterona.

**C)** Estudio de perfiles tras administración de posibles sustancias influyentes en él, como la testosterona, los esteroides anabolizantes andrógenos y la gonadotropina coriónica humana (hCG).



### ***III. MATERIAL Y METODOS***



### **III. MATERIAL Y METODOS**

#### **III.1. TECNICAS INSTRUMENTALES DE ANALISIS EMPLEADAS**

Las técnicas instrumentales analíticas que se han utilizado en toda la analítica realizada como fundamento y objetivo de esta tesis son fundamentalmente cromatográficas, espectroscópicas e inmunológicas.

##### **III.1.1. Técnicas cromatográficas**

Entre las técnicas cromatográficas que pueden utilizarse en el análisis de las sustancias objeto del presente estudio, la empleada ha sido la cromatografía de gases.

La cromatografía es un método físico de separación que se caracteriza porque los componentes de una mezcla se distribuyen entre dos fases no miscibles: una normalmente fija, denominada "*fase estacionaria*", con una gran área, y otra fluída,

denominada "fase móvil", que se infiltra por la estacionaria; siendo la velocidad de migración de cada sustancia por separar, función de la distribución de equilibrios de ambas fases.

La *cromatografía de gases* es una técnica cromatográfica de columna en la que el fluido que constituye la fase móvil es un gas que circula a través de la fase estacionaria, la cual puede ser un sólido (cromatografía gas-sólido o de adsorción), o un líquido sobre un sólido que actúa de soporte (cromatografía gas-líquido o de absorción), siendo esta última la que se ha utilizado. La fase móvil, gaseosa, está constituida por un gas inerte, denominado *portador*, que arrastra los componentes vaporizados de la mezcla que se va a analizar; la fase estacionaria se dispone dentro de una columna, como relleno, o depositada sobre su pared interna<sup>328, 329, 330, 331, 332, 333</sup>.

En la cromatografía de gases se opera "en el tiempo"; es decir, los componentes de la mezcla, una vez diferenciados durante su paso a través de la fase estacionaria, emergen de la columna según dicho factor. El análisis directo de estos componentes, resueltos por la columna, se realiza mediante el detector apropiado que proporcione una respuesta para cada componente.

El análisis por cromatografía de gases se realiza mediante el denominado cromatógrafo de gases, cuyos elementos son: la fente del gas portador; el sistema de inyección, portal de inyección o inyector; la columna cromatográfica; y el detector.

### **III.1.2. Técnicas espectroscópicas**

Entre las posibles técnicas espectroscópicas a utilizar en el análisis de los EAA, la **espectrometría de masas** es la de elección, e incluso es la técnica insustituible en la actualidad para que los correspondientes procesos analíticos cumplan las garantías exigidas.

La **espectrometría de masas** es una técnica de análisis estructural basada en la separación y medida de las masas de los iones de un compuesto, generalmente orgánico. Ofrece información sobre la masa molecular de cada sustancia estudiada, cuyos iones, tras ser obtenidos al fragmentarse la molécula, se separan según la relación entre su carga y su masa, obteniéndose unas señales que, una vez registradas en forma tabular o como diagrama de barras, constituyen el **espectro de masas**. Este, *específico para cada sustancia*, proporciona información sobre su estructura, representándose gráficamente la abundancia relativa de sus iones en función de sus respectivas masas<sup>334</sup>.

La obtención de un espectro de masas se basa en el bombardeo, con electrones de baja energía, del vapor de la muestra que se ha de analizar, en una cámara a baja presión (alto vacío). Como consecuencia de ello, se ionizan positivamente las moléculas en fase de vapor, las cuales además suelen sufrir roturas,

originándose fragmentaciones de menor masa molecular. Estos iones y fragmentos se aceleran fuera de la cámara de ionización, entrando en un estrecho campo magnético bajo cuya influencia se seleccionan en función de la relación entre su carga y su masa  $(m/z)^{335, 336}$ .

Los componentes de un espectrómetro de masas son: la fente de iones; el analizador de masas; el detector; y el sistema de control y tratamiento de datos<sup>337</sup>.

El espectrómetro de masas se utiliza en este estudio acoplado a un cromatógrafo de gases-líquido, actuando como detector de este instrumento.

### ***III.1.3. Técnicas inmunológicas***

Entre las técnicas inmunológicas con posibilidad de utilización, el enzimoinmunoensayo de micropartículas (MEIA) es la empleada. Esta técnica, mediante la cual se analizan compuestos de alto peso molecular, se basa en la utilización de micropartículas de  $0,47\mu\text{m}$ . de diámetro como fase sólida; las micropartículas quedan retenidas en un filtro de fibra de vidrio, mientras que el resto de los compuestos no unidos se eliminan por lavados de la matriz. El MEIA permite la realización de técnicas de tipo "sandwich" y competitivo, aunque la utilizada en los análisis reseñados en esta tesis es la de tipo "sandwich".

## **III.2. MATERIAL UTILIZADO**

### **III.2.1. Instrumentación analítica**

Los instrumentos analíticos utilizados, en esta tesis y en general, en la detección, identificación y confirmación de los EAA son básicamente sistemas de cromatografía de gases/espectrometría de masas. Específicamente, los sistemas que se han utilizado tanto en los análisis de control de dopaje como en los propios de la investigación desarrollada en esta tesis son:

#### **A. Equipamiento básico analítico:**

1. Un sistema cromatógrafo de gases/espectrómetro de masas (CG/EM) "Hewlett-Packard, modelo 5995, equipado con un inyector automático "H.P." modelo 7673A, y una impresora "H.P." modelo 2934A, controlado por un sistema de datos "H.P." modelo 9000 de la serie 300 con impresora "H.P." modelo 2934A y con disco duro modelo 7914.

2. Idem.

3. Un sistema cromatógrafo de gases/detector selectivo de masas (CG/DSM) "Hewlett-Packard" modelo 5970), con inyector automático "H.P." modelo 7673A. El instrumento y el tratamiento de datos están controlados por un sistema de datos "H.P." modelo 9000 de la serie 300 que incluye una impresora "H.P." modelo 2934A y un disco duro 7914.

4. Idem.

5. Un sistema cromatógrafo de gases/detector selectivo de masas (CG/DSM) "Hewlett-Packard, modelo 5971 A), con inyector automático "H.P." modelo 7673A. El instrumento y el tratamiento de datos están controlados por un sistema de datos "H.P." modelo 9000 de la serie 300 que incluye una impresora "H.P." modelo 2934A y un disco duro 7958.

6. Un sistema cromatógrafo de gases/cromatógrafo de líquidos/espectrómetro de masas (CG/CL/EM), "Hewlett-Packard" modelo 5989A, equipado con una interfase "Particle Beam LC/MS" ("H.P." modelo 1090M, equipado con un inyector automático y un detector "diode-array" y UV-VIS. La instrumentación y el procesamiento de los datos está controlado por un sistema de datos "H.P." modelo 9000, serie 300, que incluye una impresora "H.P." modelo 2934A y un disco duro 7914.

**B. Equipamiento analítico complementario:**

Además, como instrumentación específica de investigación, se ha utilizado:

7. Un **analizador de enzimoimmunoensayo**, automático (Syva ETS System), para detección toxicológica en orina. Los principales componentes son: el "keypard/display", el carrusel, el fotómetro y la impresora.

**C. Equipamiento complementario general:**

8. Evaporadores rotatorios de vacío (Büchi)

9. Multibloques calefactores (Selecta)

10. Refrigerador criostático (Julabo)

11. Centrifugas (Beckman)

12. Agitadores-mezcladores (Lab-line)

13. Desecadores (Heron y Arthur H. Thomas C.O.)

14. Densímetro (Anton Paar)
15. Evaporador (Pierce)
16. Sistema "Milli-Q" de destilación y purificación de agua (Millipore)
17. Balanzas analíticas (Mettler AE 260 Delta Range y H 10 W).
18. pHmetro (691 Metrohm).

### ***III.2.2. Material fungible utilizado***

En los análisis de EAA a los que se hace referencia en esta tesis se ha empleado diverso tipo de material fungible, que se puede agrupar en:

**a) Reactivos y disolventes comerciales:**

<u>Reactivo</u>	<u>Casa comercial</u>	<u>Referencia</u>
Acetato de etilo	Merck	9623
Amberlita XAD-2	Serva	42825
Bicarbonato sódico	Merck	6329
Carbonato potásico	Merck	4928

L-Cisteína	Merck	2838
Ditioeritritol	Serva	20697
Estanozolol	Zambow	---
EtantioI	Sigma	E 3630
Eter dietílico	Carlo Erba	447534
Fosfato potásico	Merck	4873
$\beta$ -glucuronidasa	Boehringer	127698
$\beta$ -glucuronidasa	Boehringer Mannheim	127680
Metanol	Merck	306
Metiltestosterona	Serva	29560
MBHFBA	Machery-Nagel	70142
MSHFBA	Machery-Nagel	70126
MSTFA	Serva	37074

**b) Disoluciones preparadas:**

\* **Tampón pH = 9.2** ( $\text{NaHCO}_3$ : $\text{KCO}_3$  3:2)

Se mezclan 300 gr. de  $\text{NaHCO}_3$  con 200 gr. de  $\text{KCO}_3$ .

\* **Tampón pH = 7** (fosfato sódico)

Se mezclan 25 ml. de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2M (6,2 gr/250 ml) con 29,63 ml. de  $\text{NaOH}$  0,1N, y se diluye esta solución con 100 ml. de agua bidestilada.

**c) Patrones internos preparados:**

Se preparan disoluciones de 1000 p.p.m. de metiltestosterona y estanozolol.

Cada disolución de patrón interno se prepara añadiendo 5 mg. de la sustancia patrón a 5 ml. de metanol.

Como en el caso del estanozolol se usa una disolución de 10 ppm, se ha de diluir 0.1 ml. de la de 1000 ppm con 10 ml. de metanol.

Una vez preparadas, las disoluciones se almacenan en un refrigerador a 4°C hasta su uso.

**d) Material de adsorción:**

La preparación de las columnas XAD-2 se realiza de la manera siguiente:

- Se introduce una esfera de vidrio de 2.5 mm. de diámetro en una pipeta Pasteur de 5 mm. de diámetro para obturarla.
  
- Se lava la resina XAD-2 en suspensión sucesivamente con acetona, metanol y agua bidestilada.

- La pipeta Pasteur se rellena con esta suspensión hasta una altura de 25 mm. Después de este proceso, y antes de pasar la orina a su través, se lava la columna con 2ml. de agua bidestilada.

**e) Columnas de CG/EM:**

WCOT FUSED SILICA, de 25 m. de longitud x 0.25 mm. de diámetro interno y 12  $\mu$  CP-SIL 5CB (Chrompack 007710).

En lo que respecta a los análisis de enzimoimmunoensayo, para hCG, LH y FSH, se han utilizado el siguiente material fungible:

**f) Reactivos:**

- \* Micropartículas recubiertas con Anti- $\alpha$ -HCG Monoclonal.
- \* Micropartículas recubiertas con Anti- $\beta$ -HCG Monoclonal.
- \* Micropartículas recubiertas con Anti- $\beta$ -LH Monoclonal.
- \* Micropartículas recubiertas con Anti- $\beta$ -FSH Monoclonal.
- \* Anti- $\beta$ -HCG conjugada con Fosfatasa Alcalina.
- \* Anti- $\alpha$ -LH conjugada con Fosfatasa Alcalina.
- \* Anti- $\alpha$ -FSH de cabra conjugada con Fosfatasa Alcalina.

- \* Sustrato: 4-Metil-Umbeliferona-Fosfato.
- \* Especímenes diluyentes.
- \* Tampones de lavado.
- \* Calibradores.
- \* Controles (rango de control bajo, medio y alto).

### ***III.2.3. Población estudiada***

Al haberse realizado esta investigación con una población muy diversa, los grupos utilizados en ella se especifican con mayor detalle en el apartado de ***Resultados y Conclusiones.***

### **III.3. METODOLOGIA ANALITICA APLICADA**

La metodología desarrollada en el análisis de los **esteroides anabolizantes androgénicos** y/o de sus metabolitos presentes en muestras fisiológicas de orina recogidas en un control del dopaje, incluye diversos procesos que se pueden agrupar de la siguiente forma:

#### **\* Procesos de preparación de la muestra**

- Extracción
- Hidrólisis
- Derivatización

#### **\* Procesos analíticos**

- Cromatográficos
- Espectrométricos

Además se han de considerar los **procesos de enzimoimmunoanálisis** complementarios de la investigación, así como los **procedimientos de tratamiento de datos y estadísticos**.

### **III.3.1. Procedimientos de extracción e hidrólisis de la muestra**

Los posibles analitos, es decir, los **anabolizantes** en general y los **esteroides anabolizantes androgénicos** en concreto, se encuentran en un medio acuoso (orina humana) como tales esteroides libres o conjugados. Actualmente, su análisis por CG/EM obliga a preparar la muestra para que dichos analitos se encuentren en las condiciones físicas y químicas requeridas para llevar a efecto dicho análisis instrumental.

La **extracción** es posiblemente la técnica más utilizada en un laboratorio analítico para separar un compuesto orgánico de una mezcla; en este caso, y formando parte de los procesos de preparación de la muestra fisiológica a analizar, la extracción de la orina permite llevar los analitos de la fase acuosa a una fase orgánica. La **extracción** para preparar la analítica de los EAA es, principalmente por las características polares de estas sustancias, una **extracción líquido-sólido**, mediante la cual se separan componentes de una mezcla basándose en las propiedades físicas que presentan frente a un determinado sólido, de forma que al pasar la muestra líquida quedan retenidas en el sólido las sustancias que se desean extraer; esta extracción para analizar **esteroides anabolizantes androgénicos** se realiza siguiendo los siguientes procesos:

1º) 2 ml. de **orina** se eluyen a través de una pipeta Pasteur rellena de XAD-2, añadiendo 100 ng. de **estanozolol** como patrón interno, y 2 ml. de **agua**

*destilada* para lavarla.

2º) Se eluye 3 veces con 0,5 ml. de *metanol*.

3º) El eluido de XAD-2 se lleva a sequedad, añadiendo a continuación 1 ml. de tampón de  $Na_3PO_4$  0,2 M a pH=7 y 5 ml. de *éter*.

Tras estos procesos, en la fase orgánica decantada se han extraído los *esteroides eliminados libres*, sin conjugar. Para poder extraer los *esteroides eliminados en forma conjugada* se desarrollan los siguientes procedimientos:

4º) A la fase acuosa resultante se añaden 500 ng. de *metiltestosterona* como patrón interno, así como 0,025 ml. de  $\beta$ -*glucuronidasa* procedentes de E.Coli.

5º) Se lleva a cabo la **hidrólisis** durante 1 hora a 50°C, y mientras se agita se añaden 250  $\mu$ l. de una disolución de  $K_2CO_3$  al 5% (pH = 9-10), 5 ml. de *éter* y 2 g. de  $Na_2SO_4$ .

6º) Después de 10 min. se centrifuga y se decanta la fase etérea, llevando a sequedad el residuo, el cual constituye la fase conjugada.

La **hidrólisis** que se lleva a efecto en el análisis de los EAA en un control de dopaje es, como se ha indicado, una **hidrólisis enzimática**, por emplearse

una enzima como reactivo. Con este proceso se consigue, además de poder identificar la sustancia como tal y no como aparece tras su conjugación en los procesos metabólicos, poder analizar con menor complejidad una molécula de inferior peso molecular a la excretada conjugada.

### **III.3.2. Procedimientos de derivatización**

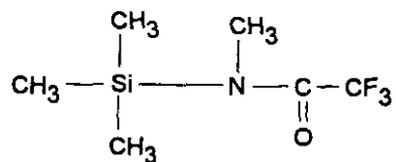
En el análisis de los EAA el objetivo prioritario de la derivatización es, mediante la obtención de trimetilsililderivados:

- a) **mejorar la detección por cromatografía de gases;**
- b) **modificar la fragmentación en una espectrometría de masas.**

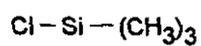
Los reactivos de derivatización utilizados son (**figura 29**):

- \* MSHFBA (*N*-metil-*N*-trimetilsililheptafluorobutiramida).
- \* TMSCI (trimetilclorosilano).
- \* TMSim (trimetilsililimidazol).
- \* MBHFBA (*N*-metil-bis-heptafluorobutiramida).
- \* MSTFA (*N*-metil-*N*-trimetilsililtrifluoroacetamida).

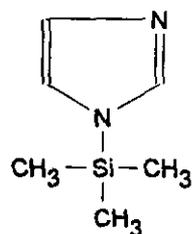
MSTFA:



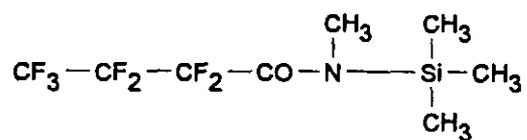
TMSCl:



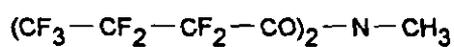
TMSimidazol:



MSHFBA:



MBHFBA:



***Figura 29***

*Fórmulas de diversos reactivos de derivatización*

La metodología de derivatización desarrollada para los EAA comprende los siguientes procedimientos:

**a) Fracción libre (obtención de O-TMS-éteres):**

- a<sub>1</sub>) A la fracción libre se añaden 40  $\mu$ l. de la mezcla MSHFBA:TMSCl:TMSim (100:1:5 v:v:v)
- a<sub>2</sub>) Se calienta durante 5 min. a 80°C.
- a<sub>3</sub>) Se añaden 10  $\mu$ l. de MBHFBA.
- a<sub>4</sub>) Se calienta durante 20 min. a 80°C.
- a<sub>5</sub>) Se enfría el producto y se transfiere a un vial.

**b) Fracción conjugada (obtención de O-TMS-enol-éteres):**

- b<sub>1</sub>) A la fracción conjugada se le añaden 50  $\mu$ l. de una mezcla de MSTFA:yoduro de amonio:ditioeritritol (1000:2:4 v:g:g)
- b<sub>2</sub>) Se calienta durante 20 min. a 60°C.
- b<sub>3</sub>) Después de enfriar el producto se transfiere a un vial.

### **III.3.3. Procedimientos cromatográficos**

Las condiciones cromatográficas ajustadas son las siguientes:

**a) Para la fracción libre:**

#### **# Parámetros CG/EM:**

\* Gas portador: 1 ml./min. a 100°C

\* Split: 1:10

\* Columna:

CP-SIL5CB

Espesor película: 0,12  $\mu$

Diámetro interior: 0,25 mm.

Longitud: 25 m.

\* Temperatura del detector: 300°C

\* Temperatura del inyector: 280°C

\* Temperatura programada:

180°C; 4,5 min.; 15°C/min.; 300°C.

\* Tiempo de adquisición: De 6 a 14 minutos.

**b) Para la fracción conjugada:**

**# Parámetros CG/EM:**

\* Gas portador: 1 ml/min. a 180°C

\* Split: 1:10

\* Columna:

CD-SIL5CB

Espesor de la película: 0,12  $\mu$

Diámetro interno: 0,25 mm.

Longitud: 25 m.

\* Temperatura del detector: 300°C

\* Temperatura del inyector: 280°C

\* Temperatura programada:

180°C; 4,5 min.; 3°C/min.; 230°C; 20°C/min.; 300°C;  
10 min.

\* Tiempo de adquisición: De 6,5 a 26,5 min.

#### **III.3.4. Procedimientos espectrométricos**

Se ha utilizado como método de ionización el **impacto electrónico, EI**. La adquisición de iones por SIM ("selected ion monitoring") aplicada en el análisis de los **EAA**, y por tanto en el correspondiente a los **andrógenos endógenos** que integran el **PHE**, se describe en la tabla IV.

La **sensibilidad** alcanzada en el análisis por SIM de los **EAA** es de **5 p.p.m.**

GRUPO	IONES/DWELL TIME													
GRUPO 1 DWELL	86 50	178 50	369 50	377 50	392 50	440 50								
GRUPO 2 DWELL	86 200	300 200	335 200											
GRUPO 3 DWELL	82 50	240 50	257 50	328 50	342 50	361 50								
GRUPO 4 DWELL	143 50	194 50	272 50	358 50	405 50	417 50	420 50	422 50	432 50	448 50				
GRUPO 5 DWELL	178 50	192 50	291 50	405 50	420 50	422 50	434 50							
GRUPO 6 DWELL	169 100	433 100	434 100	448 100										
GRUPO 7 DWELL	360 80	430 80	431 50	432 50	433 50	435 50	446 50	448 50						
GRUPO 8 DWELL	143 30	157 30	206 30	308 30	321 40	331 40	415 40	421 40	430 40	432 50	433 30	448 30	522 40	
GRUPO 9 DWELL	143 40	157 40	284 40	308 40	321 40	331 40	374 40	421 40	451 40	466 40	468 40	522 40		
GRUPO 10 DWELL	301 40	315 40	355 40	445 40	446 40	460 40								
GRUPO 11 DWELL	143 50	245 50	331 50	421 50	552 50	642 50								
GRUPO 12 DWELL	143 50	308 50	321 50	387 50	389 50	402 50	519 70	534 70						
GRUPO 13 DWELL	143 50	315 50	317 50	389 50	495 50	519 50	534 50	550 50						
GRUPO 14 DWELL	143 40	315 40	317 40	339 40	351 40	385 40	469 40	489 40	495 40	550 40				
GRUPO 15 DWELL	143 40	218 70	231 40	490 40	545 40	560 40								

*Tabla IV (inicio)*

*Adquisición de iones por SIM*

<u>GRUPO</u>		<u>Sustancias identificadas dentro de cada grupo</u>
<b>GRUPO 1</b>	<b>6.00 min.</b>	<i>Pemolina; Salbutamol.</i>
<b>GRUPO 2</b>	<b>7.50 min.</b>	<i>Clenbuterol.</i>
<b>GRUPO 3</b>	<b>10.00 min.</b>	<i>Benzoilecgonina; Probenecida.</i>
<b>GRUPO 4</b>	<b>14.00 min.</b>	<i>met. Metandienona; met. Nandrolona; met. Boldenona.</i>
<b>GRUPO 5</b>	<b>17.00 min.</b>	<i>Amineptina; met. Nandrolona; <u>Androsterona; Etiocolanolona.</u></i>
<b>GRUPO 6</b>	<b>18.60 min.</b>	<i>Drostanolona; <u>Androsterona; Etiocolanolona.</u></i>
<b>GRUPO 7</b>	<b>19.30 min.</b>	<i><u>Epitestosterona;</u> Metenolona; Metiltestosterona; met. Mesterolona.</i>
<b>GRUPO 8</b>	<b>20.80 min.</b>	<i><u>Testosterona; 11-OH-Androsterona; 11-OH-Etiocolanolona;</u> Oxandrolona; met. Boldenona; met. Mesterolona; met. Noretandrolona.</i>
<b>GRUPO 9</b>	<b>21.80 min.</b>	<i><u>ISTD (Metiltestosterona);</u> Clostebol; met. Noretandrolona; met. Bolasterona.</i>
<b>GRUPO 10</b>	<b>22.60 min.</b>	<i>Calusterona; Bolasterona PC.</i>
<b>GRUPO 11</b>	<b>23.50 min.</b>	<i>Fluoximesterona; Norpregnanotriol.</i>
<b>GRUPO 12</b>	<b>24.15 min.</b>	<i>Furazabol; Oximesterona.</i>
<b>GRUPO 13</b>	<b>24.70 min.</b>	<i>Dehidroclorometiltestosterona; Oximetolona; Oximesterona.</i>
<b>GRUPO 14</b>	<b>25.15 min.</b>	<i>Oximetolona; Dehidroclorometiltestosterona; Formidienolona; Canrenona.</i>
<b>GRUPO 15</b>	<b>25.75 min.</b>	<i>met. Estanozolol; 11-OH-Furazabol.</i>

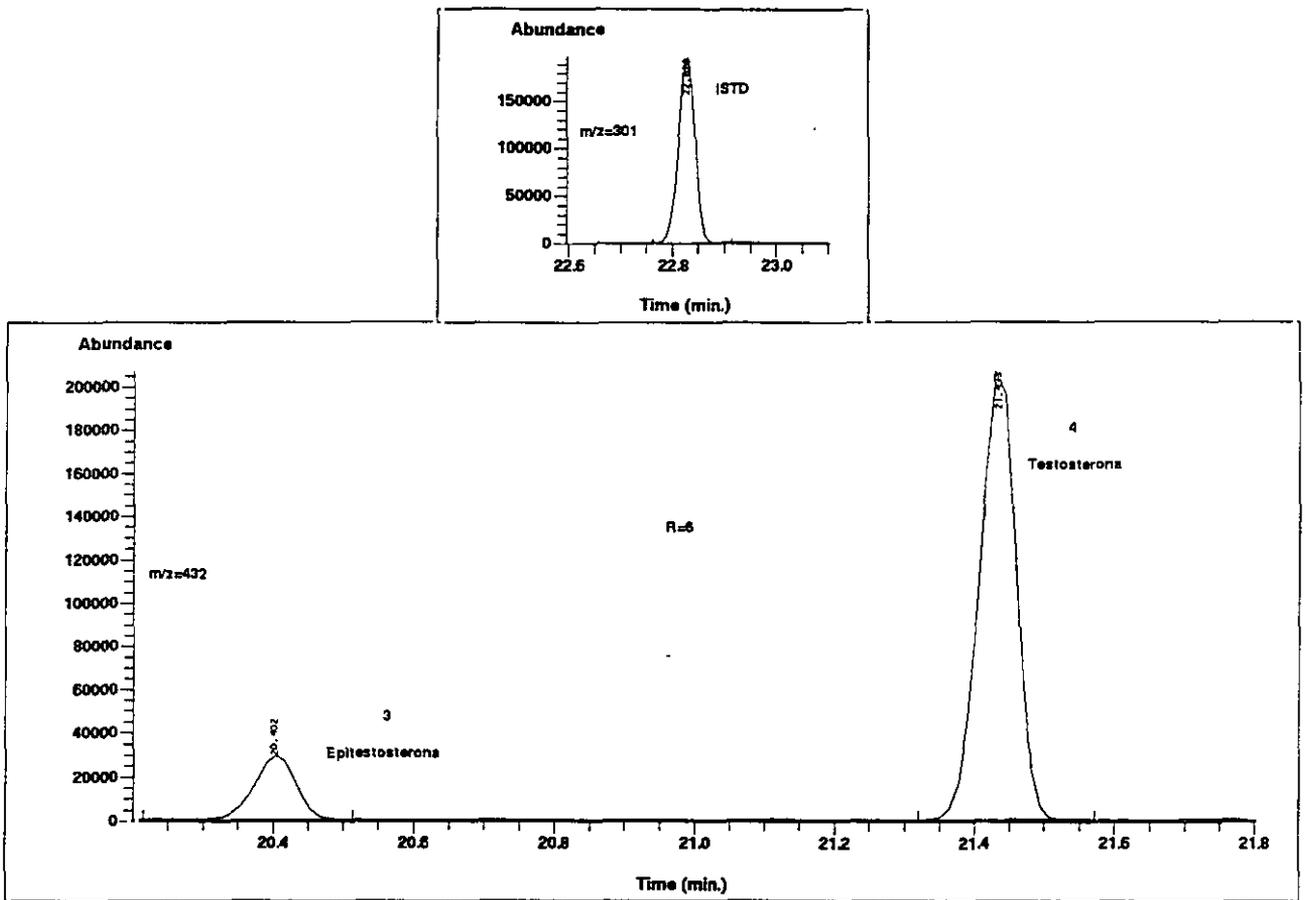
**Tabla IV (final)**

*Adquisición de iones por SIM*

### **III.3.5. Procedimientos de cuantificación de los andrógenos endógenos**

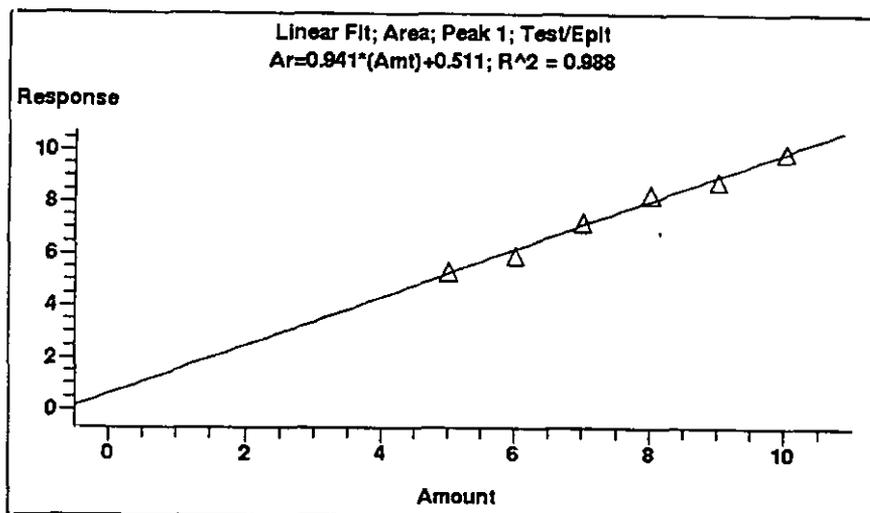
Como las intensidades de la señal para los iones moleculares de los **esteroides andrógenos endógenos** en el espectro de masas no son siempre las mismas, para poder obtener resultados más precisos al tener que cuantificar las concentraciones de estas hormonas presentes en la orina analizada, y específicamente de la **testosterona** y **epitestosterona**, se corrigen sus valores con respecto a un **calibrador  $R_{T/E} = 6$**  (**figura 30**) o de forma más precisa se elabora una **curva de calibración del cociente T/E** (**figura 31**), la cual, en caso de tener que confirmar un sospechosos alto valor T/E, ha de estar construída con valores cercanos al límite 6 requerido por el CIO y otros organismos. Durante el proceso de detección rutinaria no es necesario realizar una curva de calibración, pero para una correcta interpretación de los cocientes T/E en los procesos analíticos ha de tenerse en cuenta esta posible incorrección para subsanar posibles errores de apreciación cuantitativa.

Debido a las posibles variaciones analíticas se recomienda **realizar el análisis por triplicado**. Además, como los deportistas usan los esteroides anabolizantes en períodos anteriores al análisis suficientemente largos como para influir en los niveles de los esteroides androgénicos urinarios, la **desviación estándar** obtenida es incluso a veces insatisfactoria debido a los bajos niveles que presentan los **andrógenos endógenos**.



**Figura 30**

*Cromatograma por SIM de un calibrador  $R_{T/E}=6$*



**Figura 31**

*Curva de calibración en el rango  $R_{T/E}$  5-10*

### **III.3.6. Procedimiento analítico para muestras con posible relación T/E superior a 6**

Cuando en el transcurso de un análisis surge la posibilidad de que se mida una  $R_{T/E}$  superior a 6, se debe proceder a analizar, excepto si la imposibilidad de ello es absoluta, 3 parte alícuotas de la muestra y 2 réplicas (2 inyecciones) de cada una de estas alícuotas. En este caso es obligatorio realizar una curva de calibración, para corregir los valores obtenidos; esta curva ha de incluir al menos 2 puntos, uno correspondiente a una  $R_{T/E}$  inferior a la relación esperada en la muestra sospechosa y otro punto con una  $R_{T/E}$  superior a ella. Es importante que la media de las dos determinaciones de cada alícuota estén en el mismo rango que en la inicial analizada.

La media de las dos determinaciones de cada alícuota se corrigen en la curva de calibración, calculándose el resultado final como la media de estas relaciones T/E corregidas.

Para que el resultado final pueda considerarse positivo, todas las relaciones T/E medidas en la muestra sospechosa han de ser superiores a 6, y además, después de la sustracción del triple de la desviación estándar, la relación también debe ser superior a 6.

### **III.3.7. Procedimientos de inmunoanálisis**

Las hormonas peptídicas, como la hCG, aún no se analizan con resultados garantizables por cromatografía de gases y espectrometría de masas. La técnica analítica de elección en este caso es el **enzimoimmunoensayo**, aplicado, si no específicamente para los EAA, sí para los trabajos de investigación complementarios a su detección.

En la realización de la técnica de MEIA para la hCG se utilizan unas micropartículas recubiertas de anti- $\alpha$ -hCG a las cuales se les une, por una parte, un conjugado que es una anti- $\beta$ -hCG con fosfatasa alcalina, y por otro lado la muestra, que en referencia a la hCG aparece como una cadena  $\alpha$  que se une a las micropartículas y una cadena  $\beta$  que se une al conjugado, formando un complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo. Una vez formado este complejo se añade el sustrato, que en este caso es la 4-Metil-Umbeliferona-Fosfato, que reacciona con la fosfatasa alcalina rompiendo la molécula y dejando libre la 4-metil-umbeliferona. La concentración de hCG en la muestra es directamente proporcional a la cantidad de 4-metil-umbeliferona que se forma.

La **sensibilidad** para el ensayo de hCG es de 2 mUI/ml., con un rango dinámico de 0-1.000 mUI/ml., y un rango normal <5 mUI/ml.

### ***III.3.8. Procedimientos estadísticos***

El tratamiento de los datos analíticos obtenidos se ha realizado mediante el uso de diversos programas informáticos.

#### ***IV. RESULTADOS Y DISCUSION***

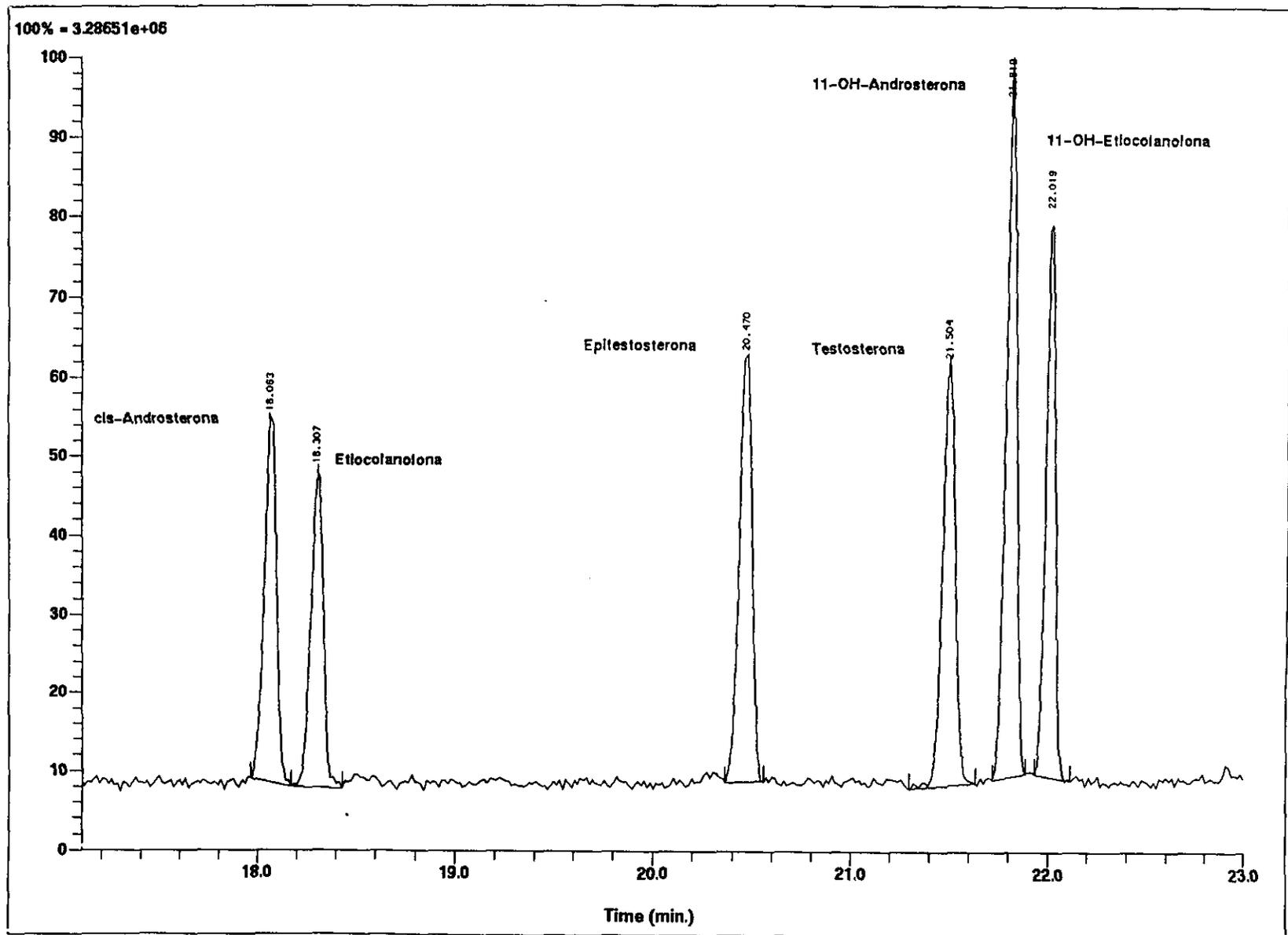


#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSION**

##### **IV.1. PUNTUALIZACIONES AL PROCEDIMIENTO ANALITICO APLICADO EN UN CONTROL DEL DOPAJE PARA DETECTAR EN GENERAL LOS EAA Y ESPECIFICAMENTE LOS ANDROGENOS ENDOGENOS**

En un control del dopaje, el análisis de los esteroides anabolizantes androgénicos, y por tanto de la testosterona y de los restantes andrógenos endógenos, se realiza empleando la técnica de la cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM). Por las características físicas de la instrumentación, las fisiológicas de la muestra a analizar y las químicas de las moléculas a detectar, este tipo de analítica exige, a lo largo de los procesos desarrollados en el análisis, incluyendo los correspondientes a la preparación de la muestra (extracción, hidrólisis, derivatización), unos requerimientos propios debidos a las peculiaridades específicas de este control analítico.

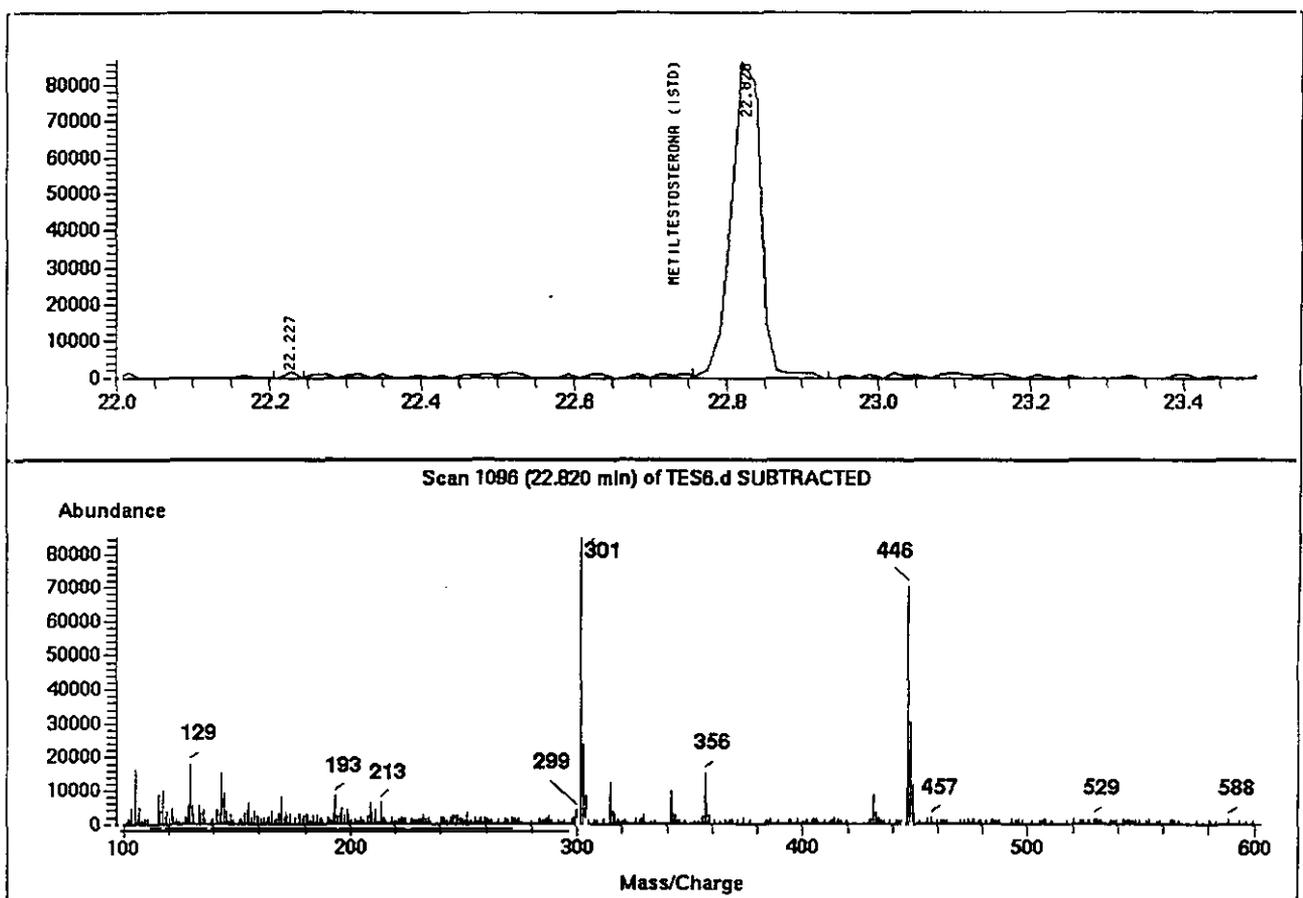
Limitando la problemática a los esteroides andrógenos endógenos, integrantes del **perfil hormonal esteroideo**, usualmente detectados y cuantificados en los análisis de control del dopaje, se presenta en la figura 32 un *TIC* ("*Total Ion Chromatogram*") realizado por *SCAN* de un *calibrador* de dichos andrógenos endógenos.



**Figura 32**

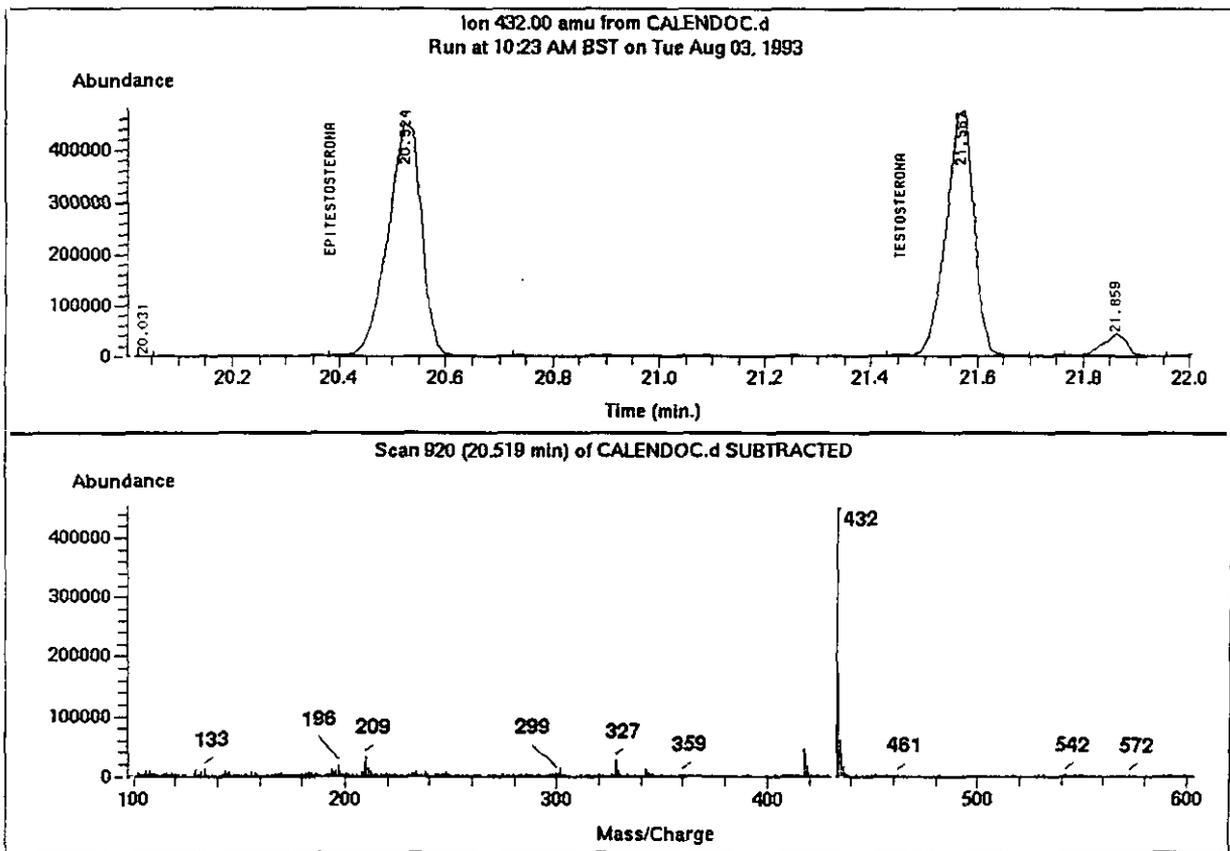
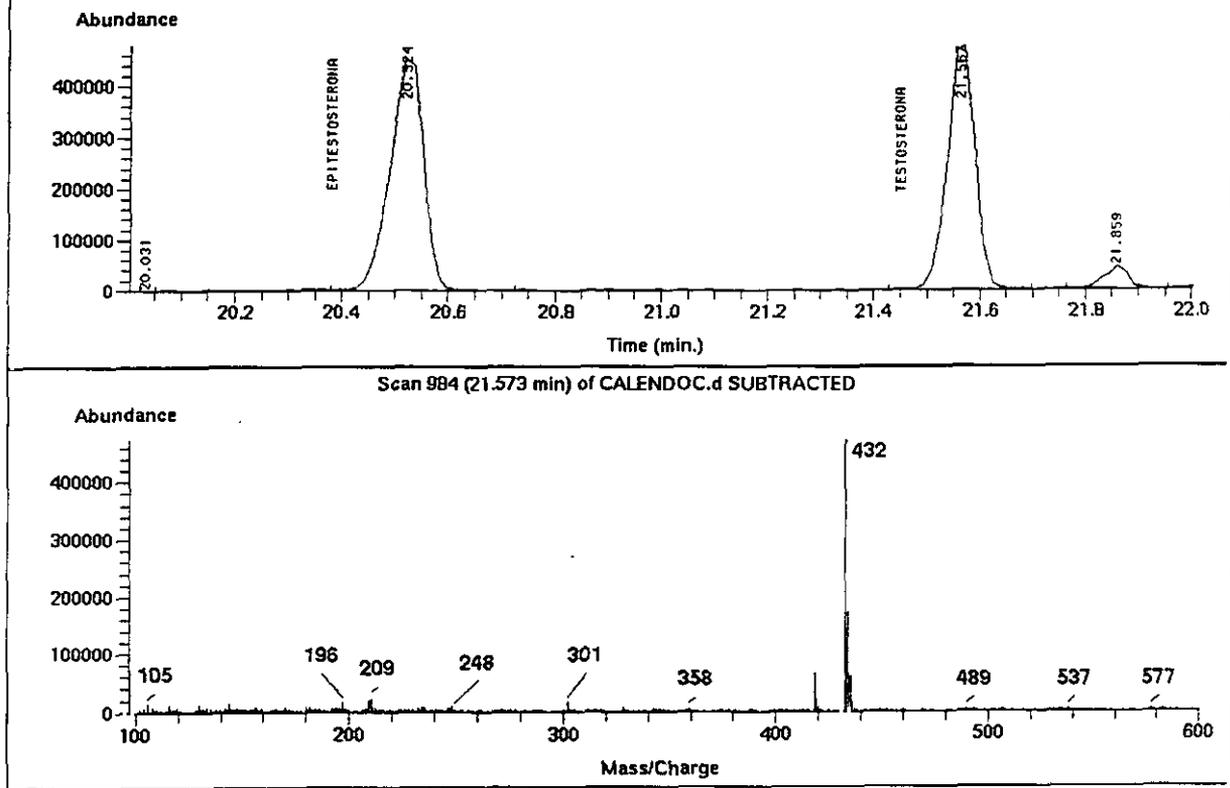
*TIC de un calibrador de endógenos realizado por SCAN*

En la **figura 33** los espectros de masas de los esteroides usualmente detectados e identificados en el calibrador de endógenos utilizado en el análisis de los esteroides anabolizantes androgénicos, incluidos la testosterona y la epitestosterona de obligada cuantificación. También se presenta el espectro de masas de la metiltestosterona, utilizada como patrón interno. Evidentemente los espectros corresponden a los *O-TMS-derivados*.



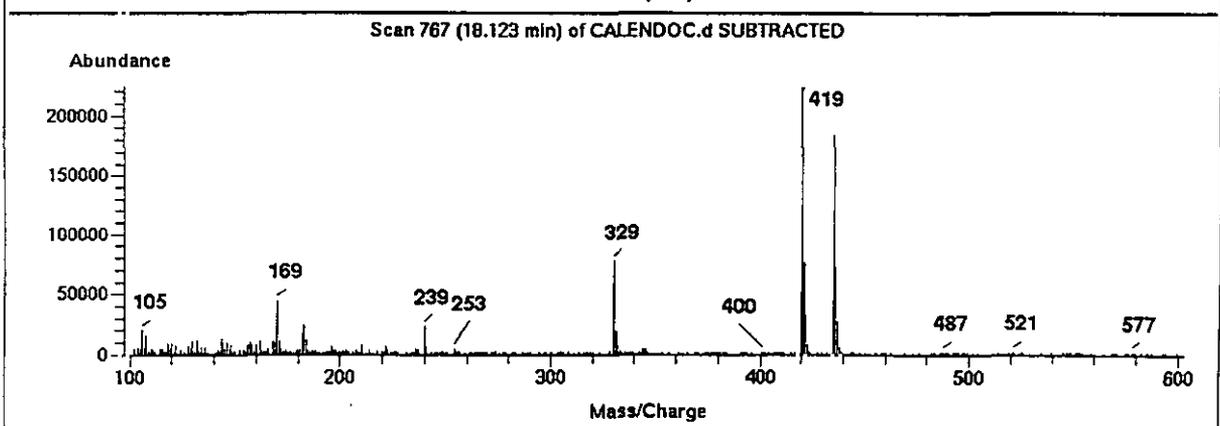
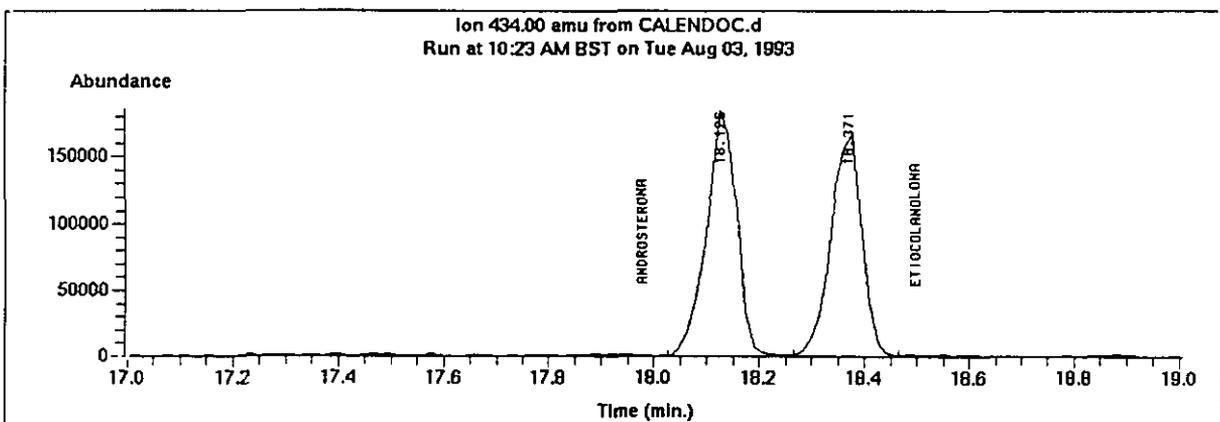
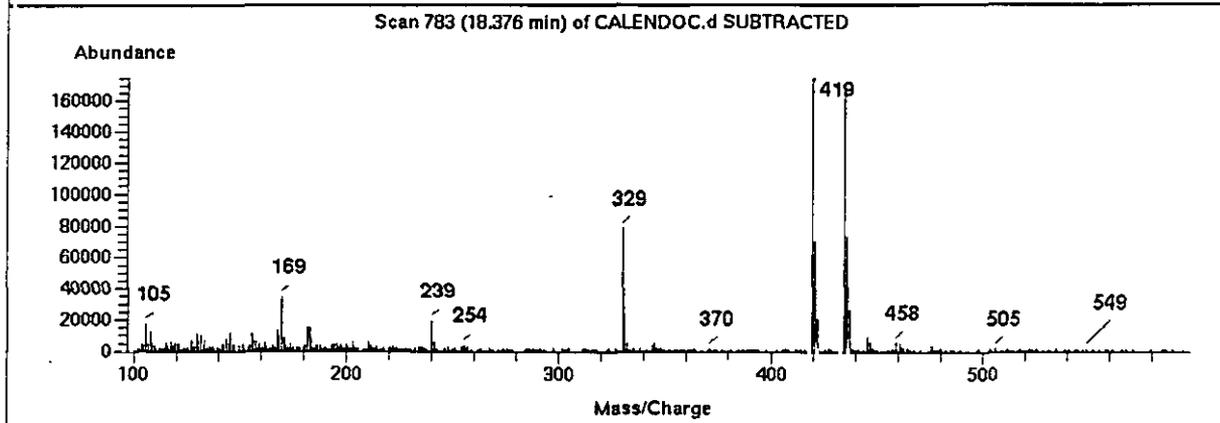
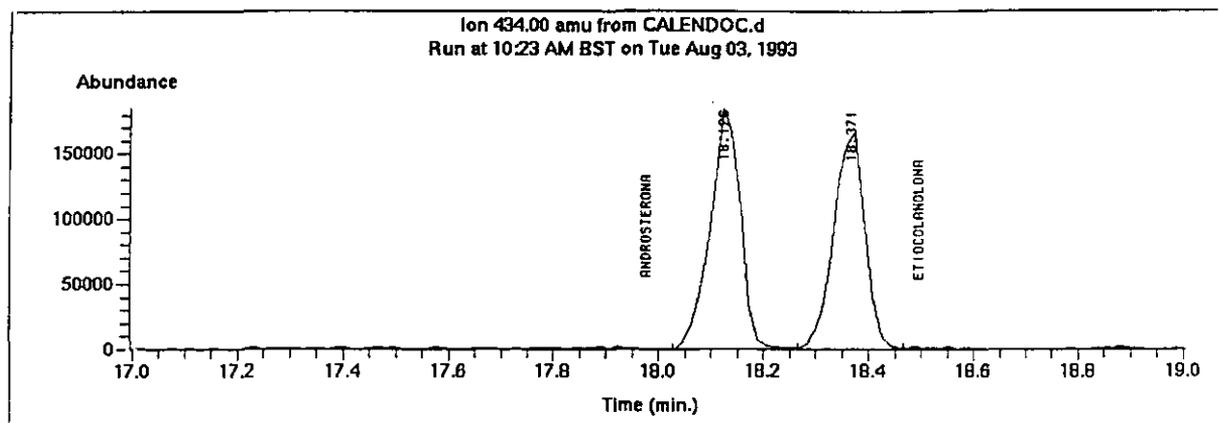
**Figura 33 (inicio)**

*Espectro de masas de la metiltestosterona (ISTD)*



**Figura 33 (continuación)**

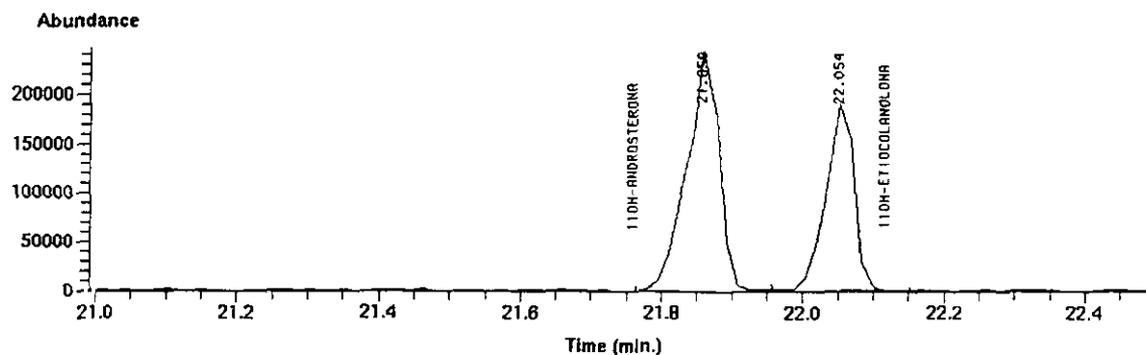
*Espectros de masas de la testosterona y de la epítosterona*



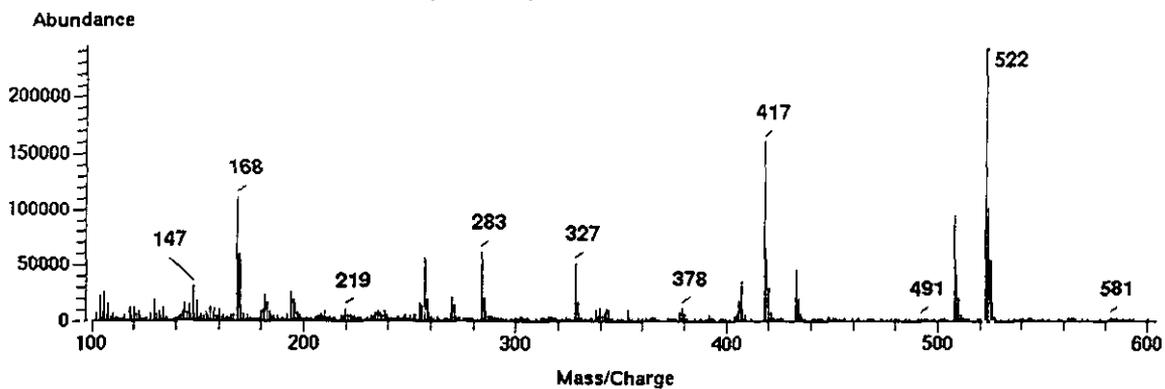
**Figura 33 (continuación)**

*Espectros de masas de la cis-Androsterona y la Etiocolanolona*

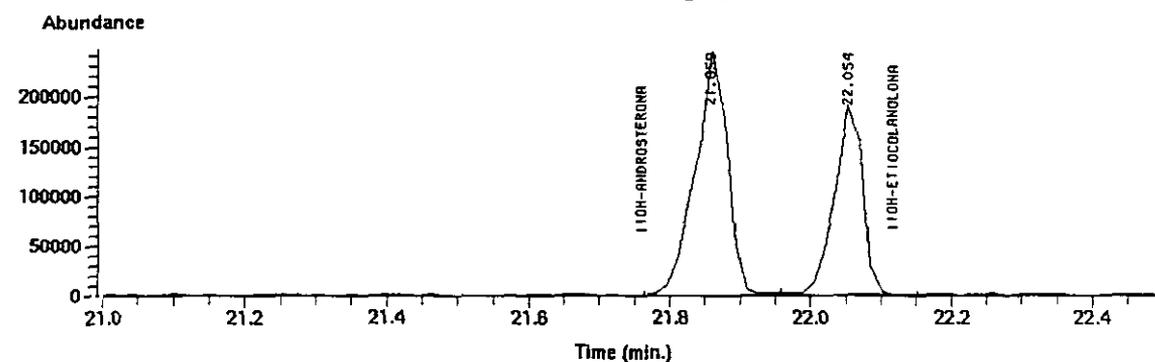
Ion 522.00 amu from CALENDOC.d  
Run at 10:23 AM BST on Tue Aug 03, 1993



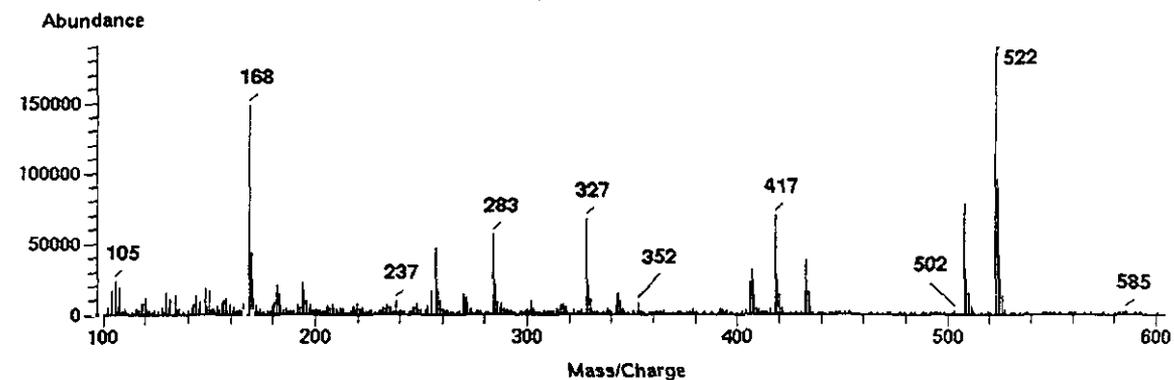
Scan 1002 (21.859 min) of CALENDOC.d SUBTRACTED



Ion 522.00 amu from CALENDOC.d  
Run at 10:23 AM BST on Tue Aug 03, 1993



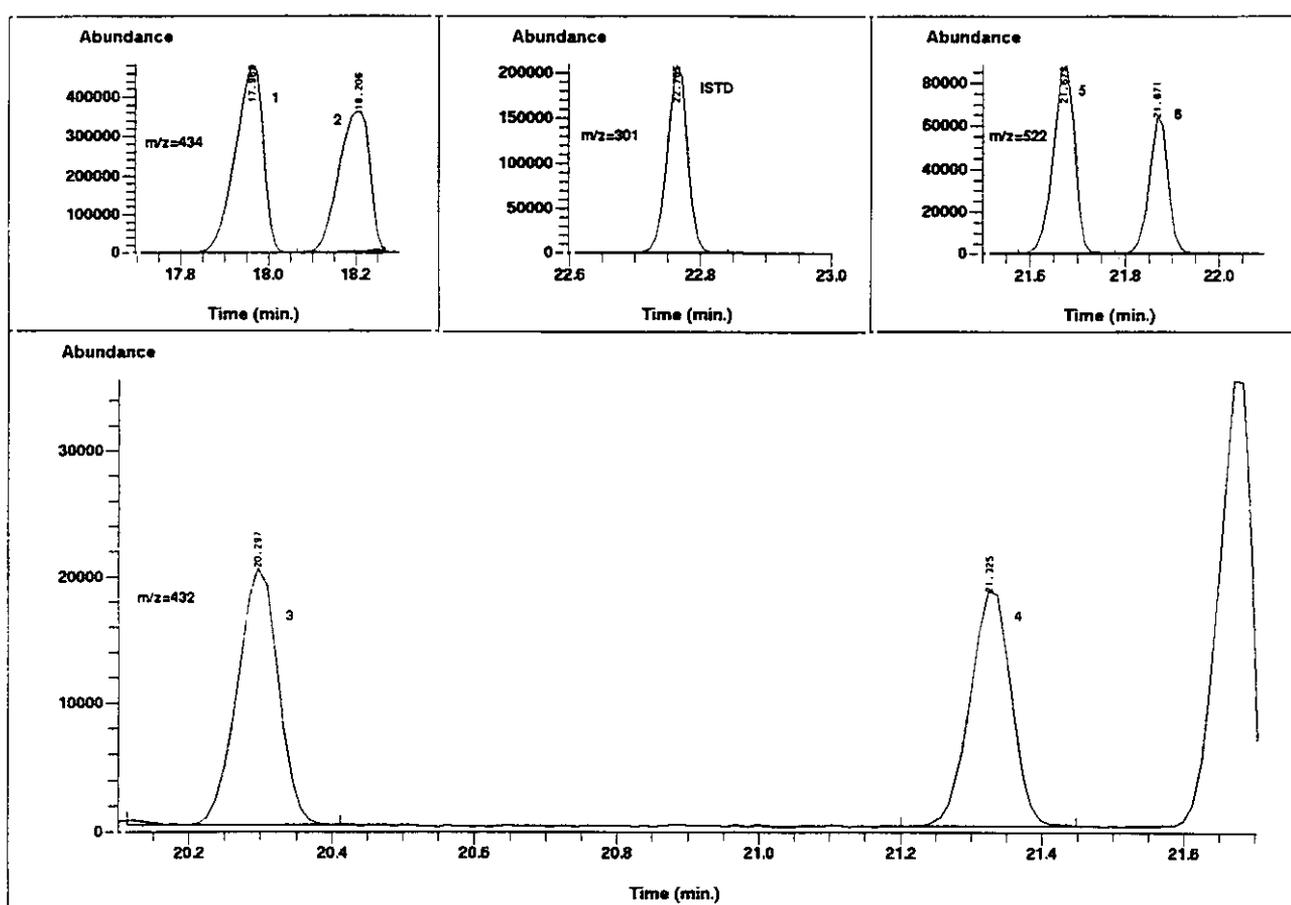
Scan 1014 (22.051 min) of CALENDOC.d SUBTRACTED



**Figura 33 (final)**

*Espectros de masas de la 11-OH-Androsterona y 11-OH-Etiocolanolona*

En la **figura 34** se presenta un cromatograma por *SIM* de los esteroides que integran el *calibrador de andrógenos endógenos*, incluyendo el patrón interno (*metiltestosterona*), con las condiciones específicas que se reseñan en la **tabla V**.



**Figura 34**

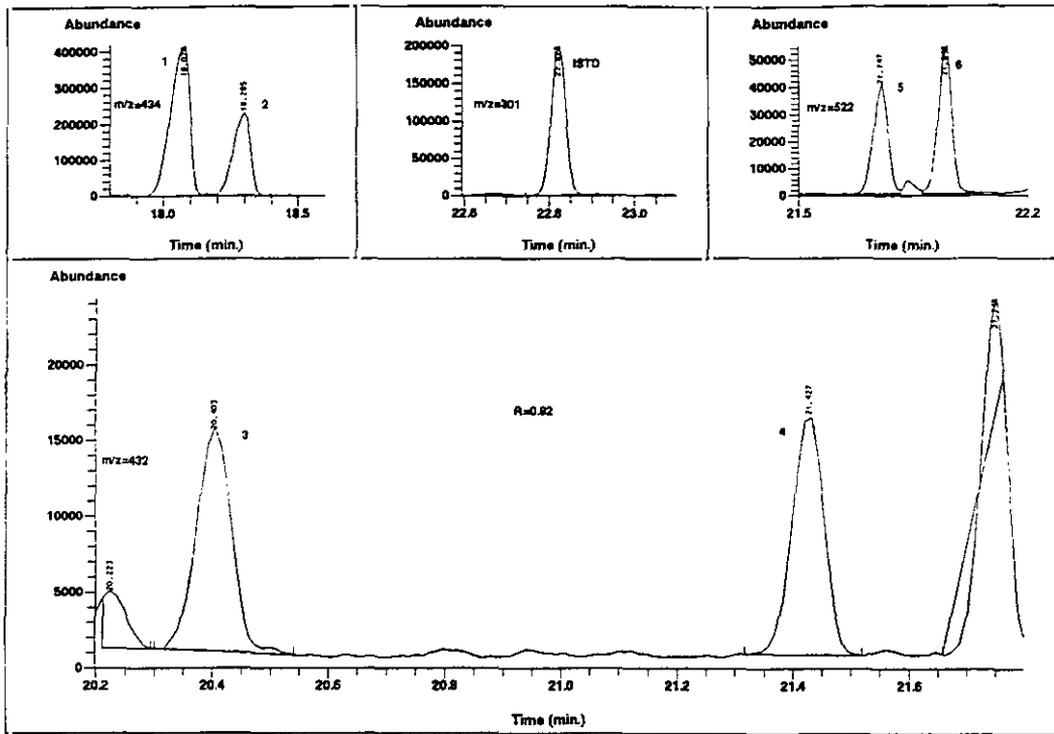
*Cromatograma por SIM de un calibrador de andrógenos endógenos*

	<b>Esteroides</b>	<b>m/z</b>	<b>Concentración</b>
1	<b>cis-Androsterona</b>	434	2000 ng/ml
2	<b>Etiocolanolona</b>	434	2000 ng/ml
3	<b>Epitestosterona</b>	432	40 ng/ml
4	<b>Testosterona</b>	432	40 ng/ml
5	<b>11-OH-Androsterona</b>	522	400 ng/ml
6	<b>11-OH-Etiocolanolona</b>	522	200 ng/ml
ISTD	<b>Metiltestosterona</b>	301	250 ng/ml

***Tabla V***

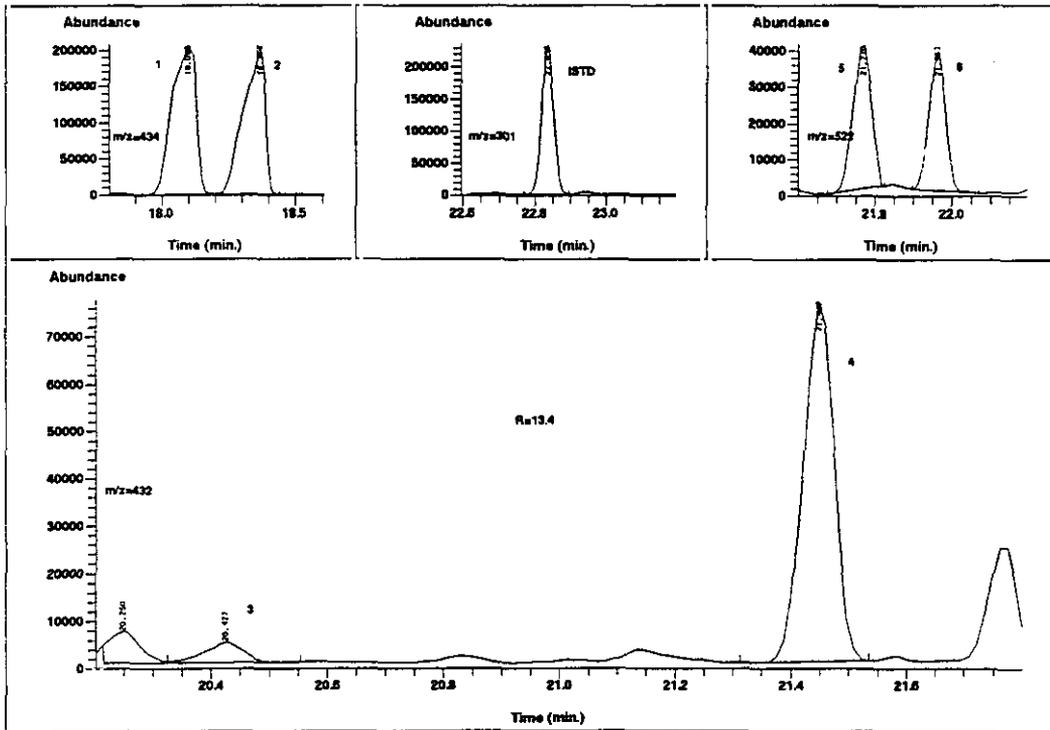
*Características (m/z de los iones y concentraciones) del calibrador de endógenos*

Este calibrador es el utilizado cuando es necesario cuantificar los **esteroides andrógenos endógenos** de un análisis de control de dopaje o de una investigación con él relacionada, concentraciones que suelen diferir en función de que la  $R_{T/E}$  sea inferior o superior a 6, como se puede observar al comparar las figuras 35 y 36:



**Figura 35**

*Perfil de endógenos en una orina normal con  $R_{TIE} < 6$*



**Figura 36**

*Perfil de endógenos en una orina con  $R_{TIE} > 6$*

#### **IV.1.1. Preparación de la muestra. Factores de influencia**

Al preparar la muestra es obvio que se han de tener en cuenta diversos factores, como son: 1) las características físicas de dicha muestra; 2), el medio instrumental con el que se va a analizar, y 3) las propiedades químicas de la sustancia a identificar. Pero además en este caso se ha de tener en cuenta la posibilidad de un intento de fraude previa o simultáneamente a la recogida de la muestra.

Los métodos de dopaje utilizados para disminuir o anular la posibilidad de detección de una sustancia dopante, y por consiguiente de los EAA, incluida la **testosterona**, son:

- a) **Sustitución de la orina**
- b) **Utilización de enmascarantes, como la probenecida**
- c) **Incremento del pH de la muestra**
- d) **Disminución de la densidad de la muestra**
  - d<sub>1</sub>) **Dilución**
  - d<sub>2</sub>) **Diuresis**

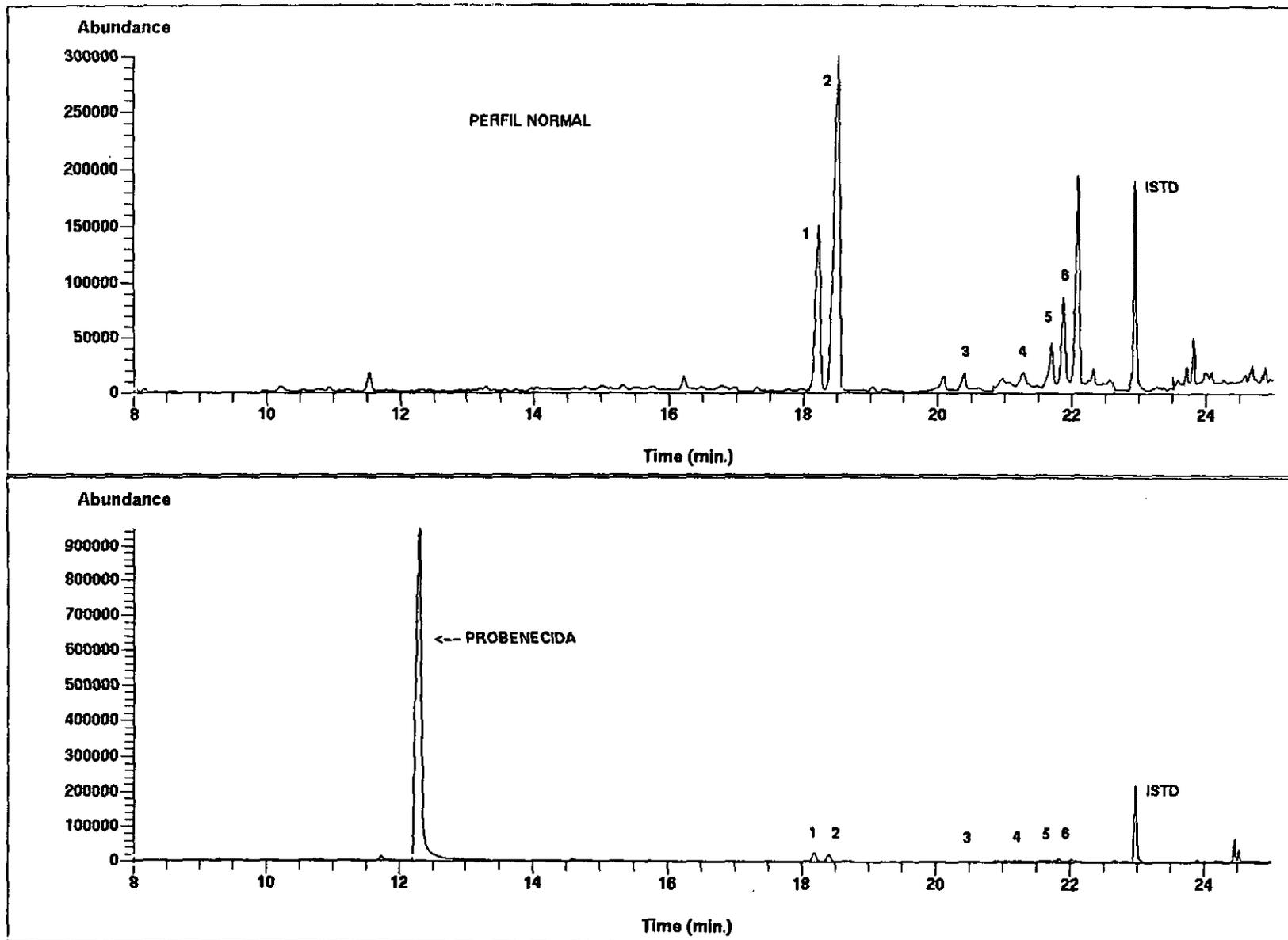
La **sustitución** de la orina que ha de analizarse en un control del dopaje constituye una manipulación, y puede no ser detectable en el laboratorio cuando es otra orina humana la que sustituye a la que debía recogerse. La sustitución por cualquier otro líquido sí se puede detectar, fundamentalmente por el **PHE**.

#### **IV.1.1.1. Influencia de la probenecida en el Perfil Hormonal Esteroideo**

Los andrógenos endógenos son *esteroides* que aparecen conjugados en la orina, por cuya razón la **probenecida** afecta a su excreción influyendo por tanto en el **PHE**. En la **figura 37** se compara un cromatograma del perfil normal de un voluntario con otro obtenido tras haber administrado **probenecida**, en dosis terapéuticas, a la misma persona.

#### **IV.1.1.2. Influencia del pH en el P.H.E.**

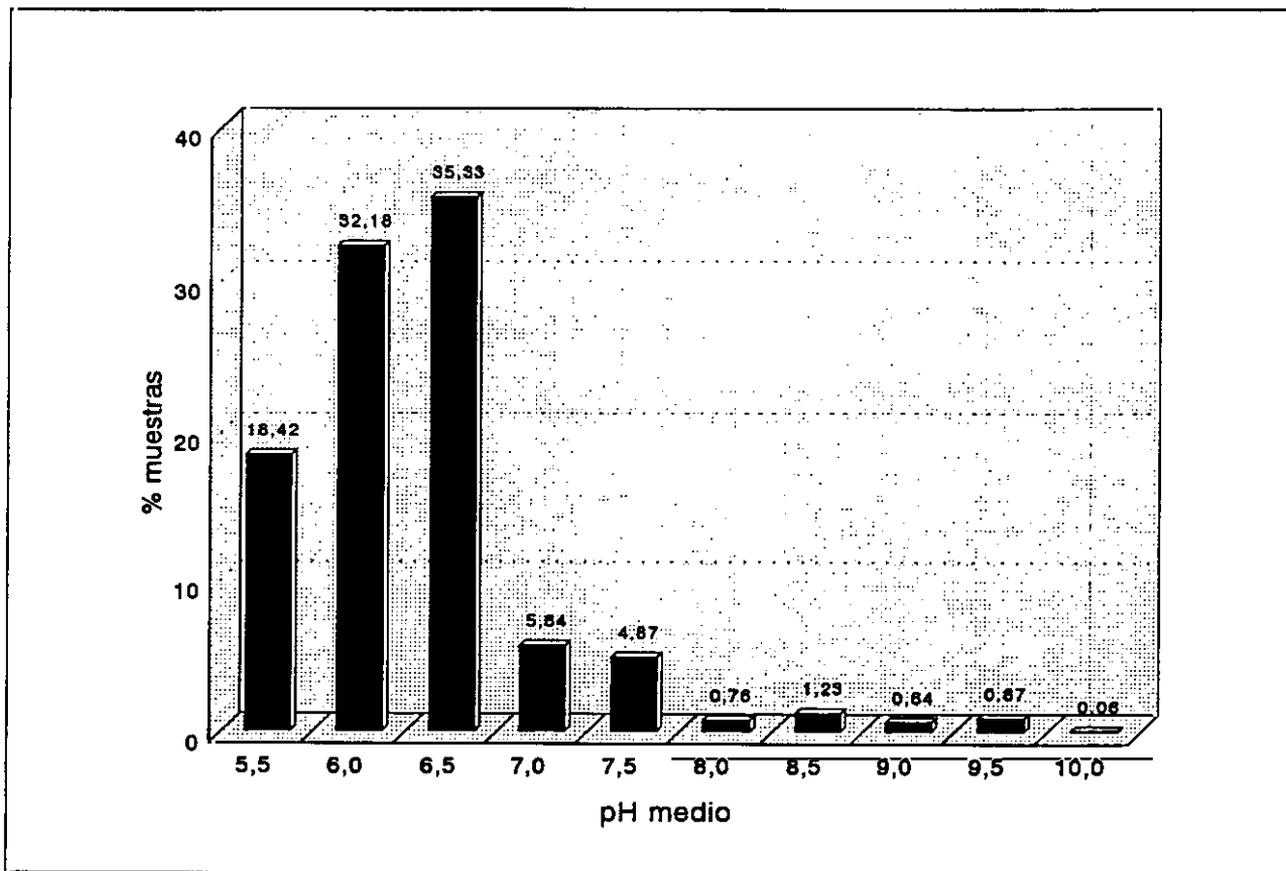
Al llegar unas muestras al Laboratorio de Control del Dopaje para su análisis, entre otros procesos se mide su **pH**. En la **figura 38** se representa en un histograma de frecuencia la distribución porcentual de los valores de **pH** medidos en las muestras analizadas en el **Laboratorio de Control del Dopaje del C.S.D.** durante 1.992, recogidas a deportistas en competición y fuera de competición, de forma aleatoria o por clasificación, participantes de 32 deportes diferentes.



**Figura 37**

*Comparación entre un PHE normal y el obtenido tras la administración de probenecida*

(Nota. 1: cis-Androsterona. 2: Etiocolanolona. 3: Epitestosterona. 4: Testosterona.  
5: 11-OH-Androsterona. 6: 11-OH-Etiocolanolona. ISTD: Metiltestosterona.)



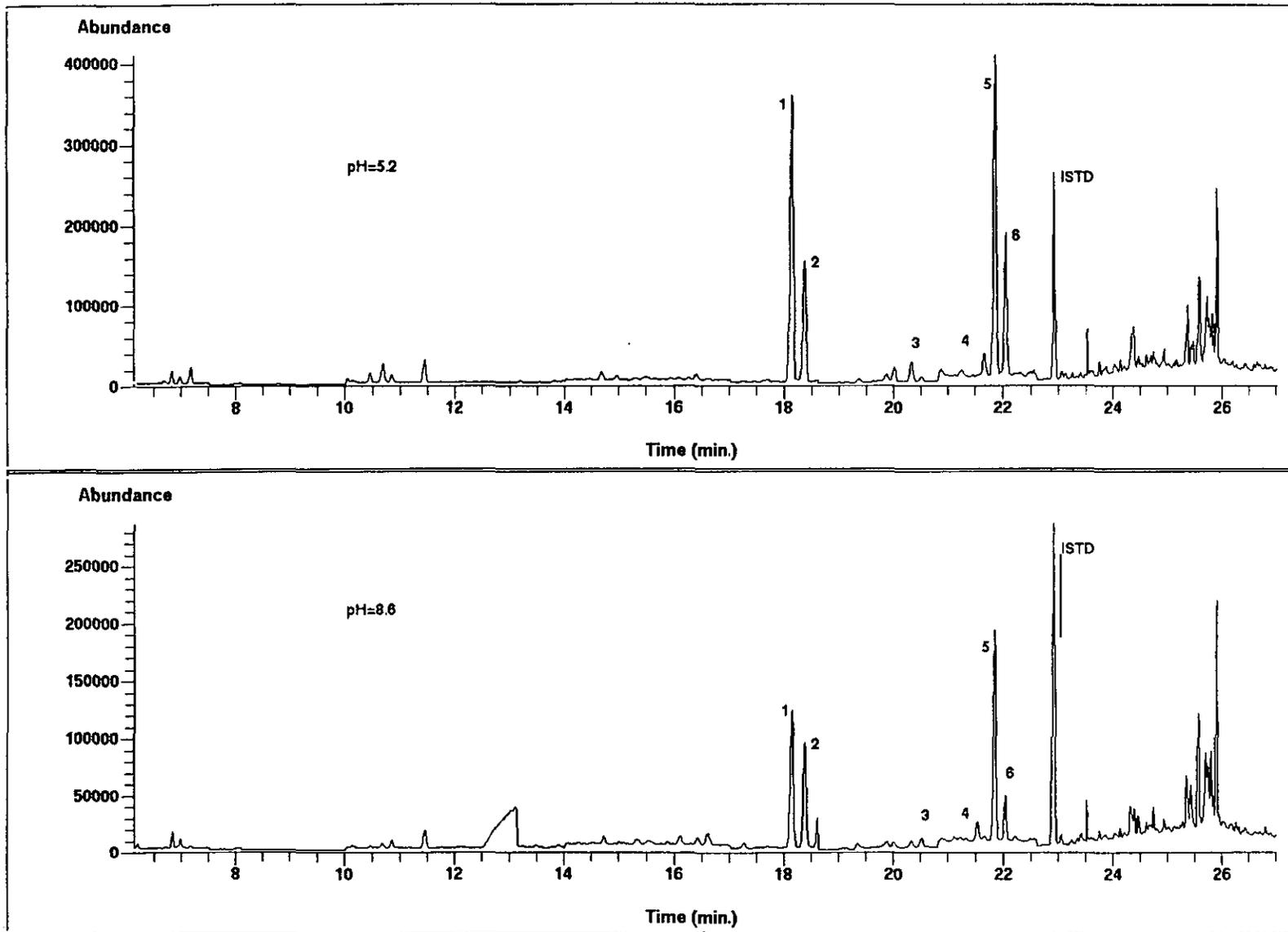
***Figura 38***

*Histograma de frecuencia de los valores del pH medidos en 5.070 muestras*

En lo que respecta al análisis de EAA, el *perfil hormonal esteroideo* de una muestra es normal, si no existe otra causa que influya en él, cuando el pH es *normal*, es decir, inferior a 7,0. Mientras que en el caso de una muestra con pH básico, superior a 7,0, puede verse alterado dicho perfil en el sentido de que disminuyen las abundancias de los esteroides andrógenos endógenos, como se puede observar en el ejemplo presentado en la *figura 39*).

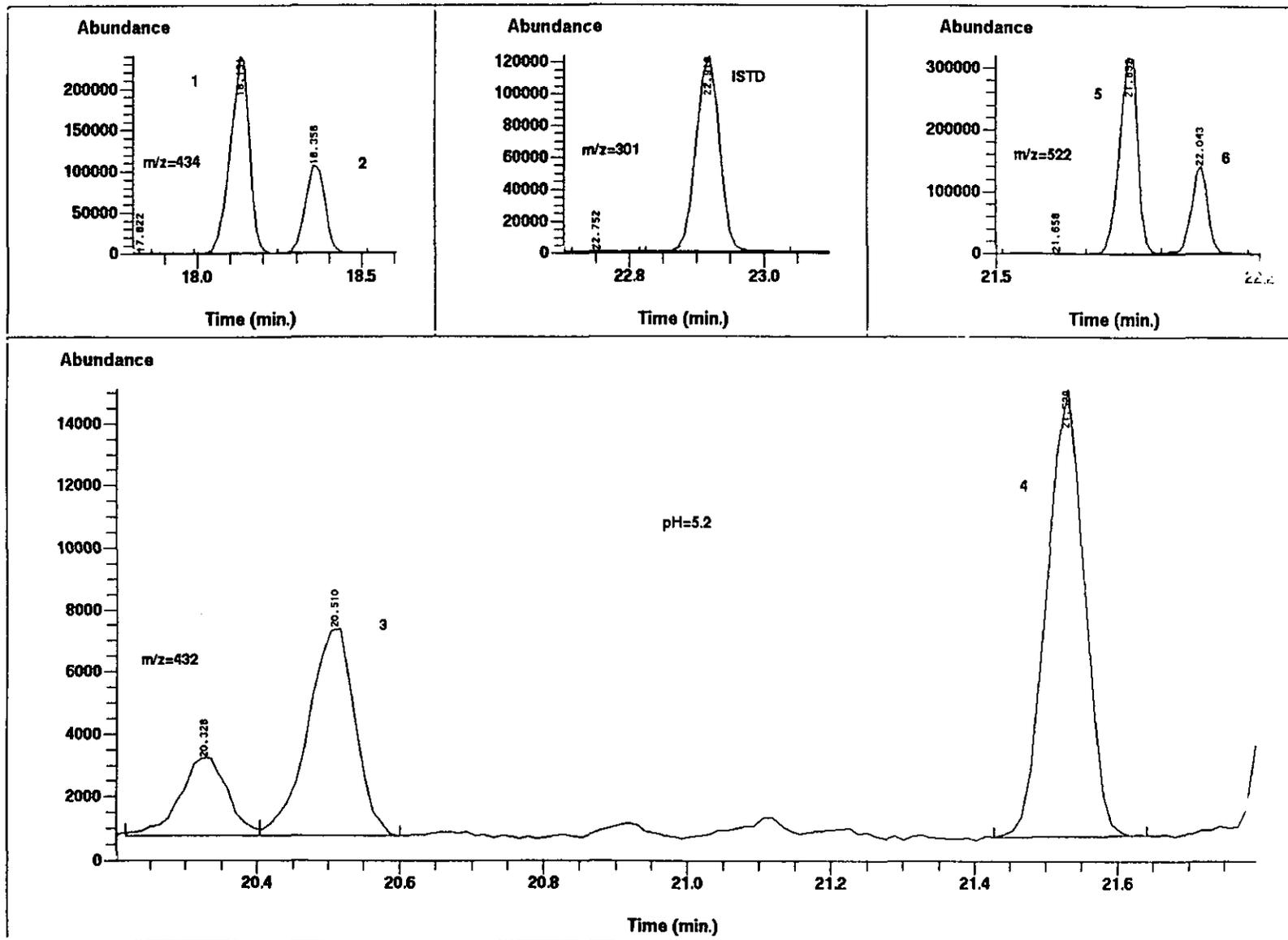
Esta conjunción de factores (perfil con bajas abundancias de endógenos junto con un pH básico), representadas en las figuras 40(a) y 40(b), ha de tenerse en cuenta al analizar muestras de control del dopaje, al poder constituir un indicio de manipulación o intento de fraude, ya que basándose en las circunstancias que concurren en una competición deportiva, un valor de pH superior a 7 sólo podría explicarse en algunos de los siguientes casos:

- dieta excesivamente alcalina;
  
- ingesta de bicarbonato sódico;
  
- administración de diuréticos, y específicamente los inhibidores de la anhidrasa carbónica, como es la acetazolamida;
  
- posible infección del tracto urinario;
  
- presencia de bacterias.



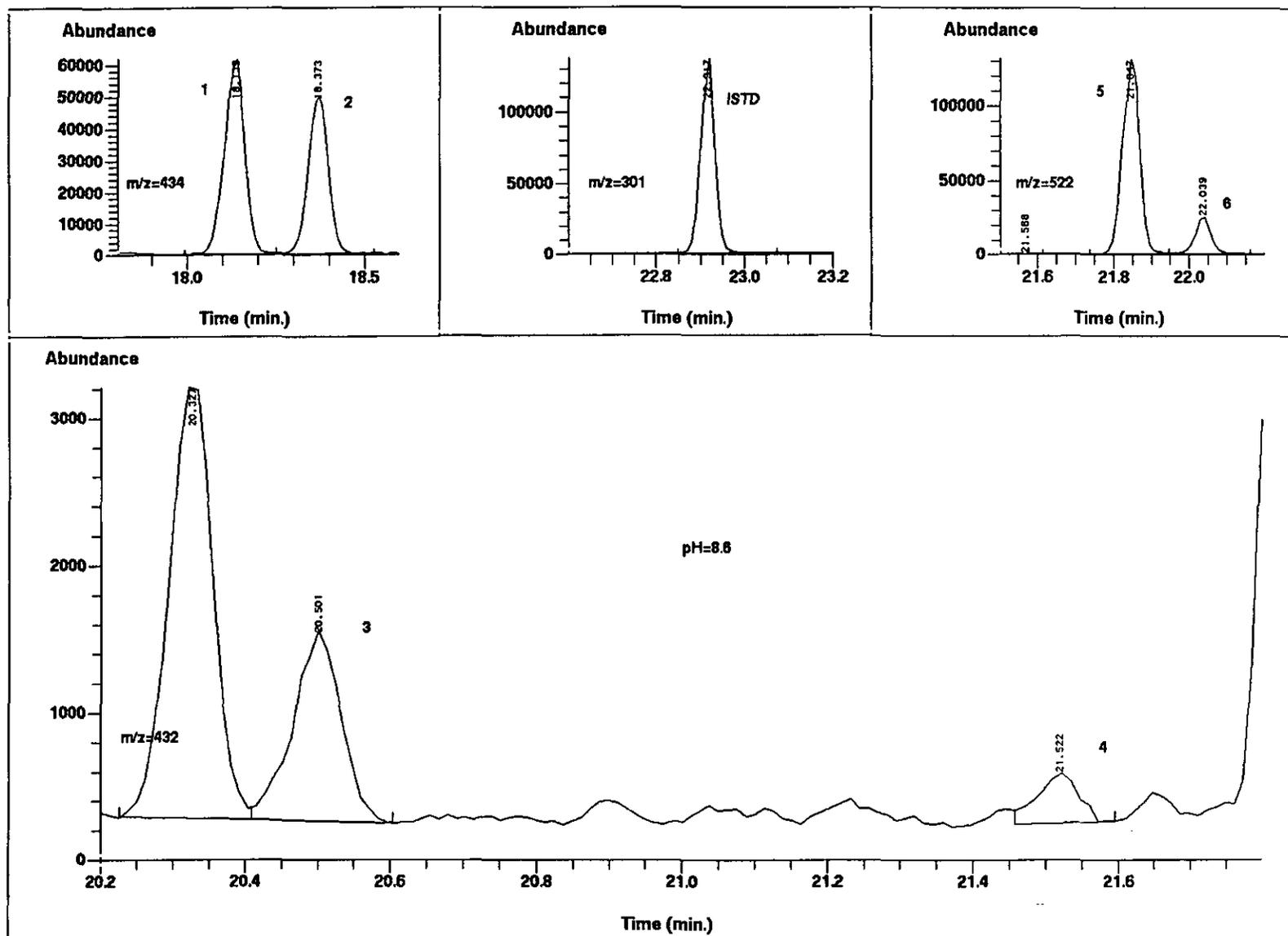
**Figura 39**

*Comparación de los perfiles hormonales de dos muestras con diferente pH*



**Figura 40 (a)**

*Cromatograma de andrógenos endógenos por SIM en una muestra con pH normal*



**Figura 40(b)**

*Cromatograma de andrógenos endógenos por SIM en una muestra con pH básico*

*IV.1.1.3. Influencia de la densidad en el PHE. Elección del volumen de muestra a analizar*

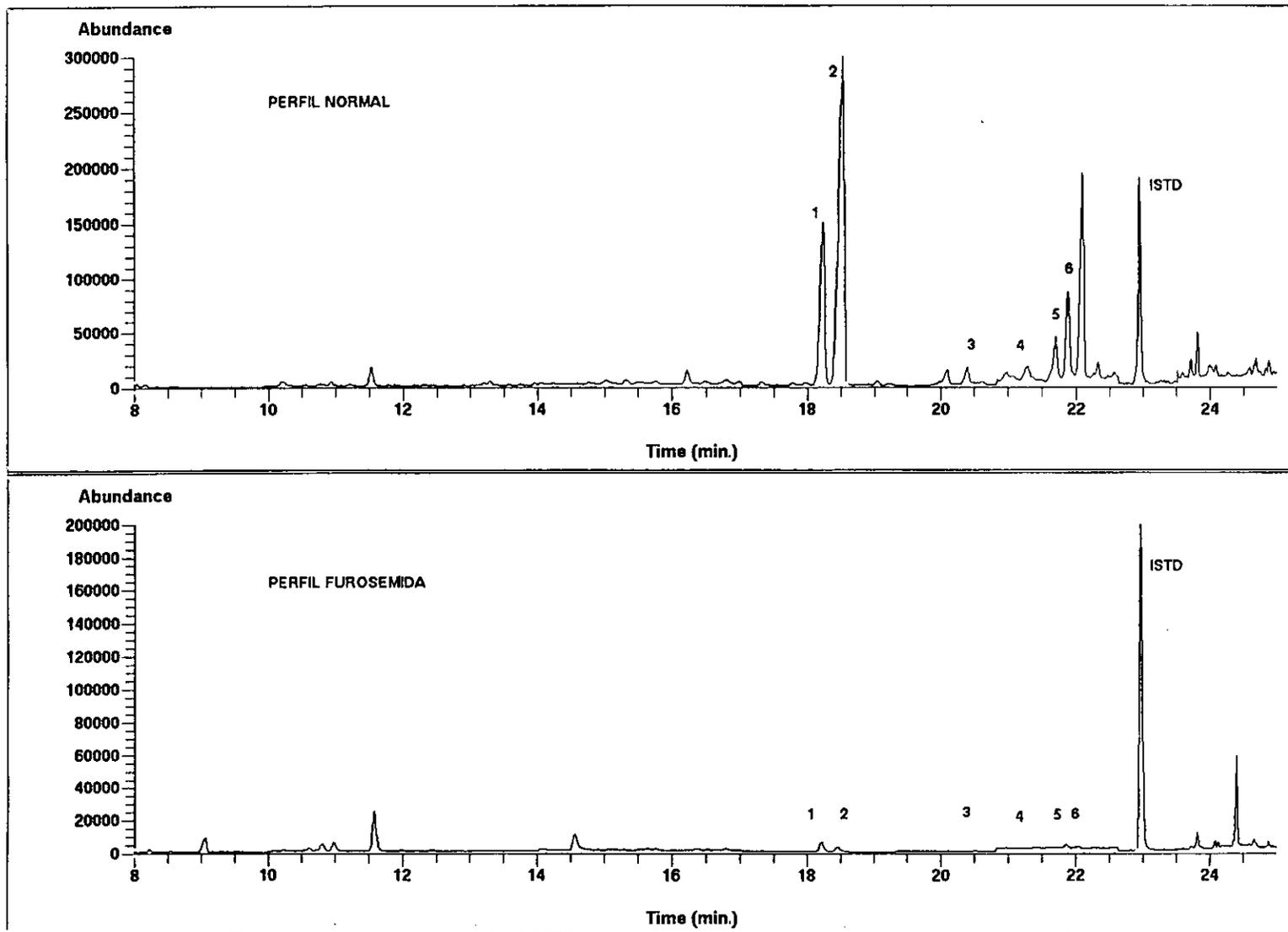
En lo que se refiere a la densidad de la muestra de orina, un valor inferior a 1,010, considerado como normal, puede ser debido a:

a) **dilución**, por adición de líquido (agua) tras la toma directa de la muestra (manipulación de la orina);

b) **diuresis**, por ingesta previa de líquidos o de un **diurético**.

En cualquier caso, una densidad anormalmente baja incita a la sospecha de un pretendido enmascaramiento de posibles sustancias dopantes mediante la disminución de su concentración en la orina por debajo de los valores límites de su detección analítica, con el fin de escapar a dicha detección. En el caso de que se produzca una diuresis por utilización de un diurético, el de elección es la **furosemida**, aunque también puede aparecer una diuresis provocada por una ingesta de grandes cantidades de líquidos.

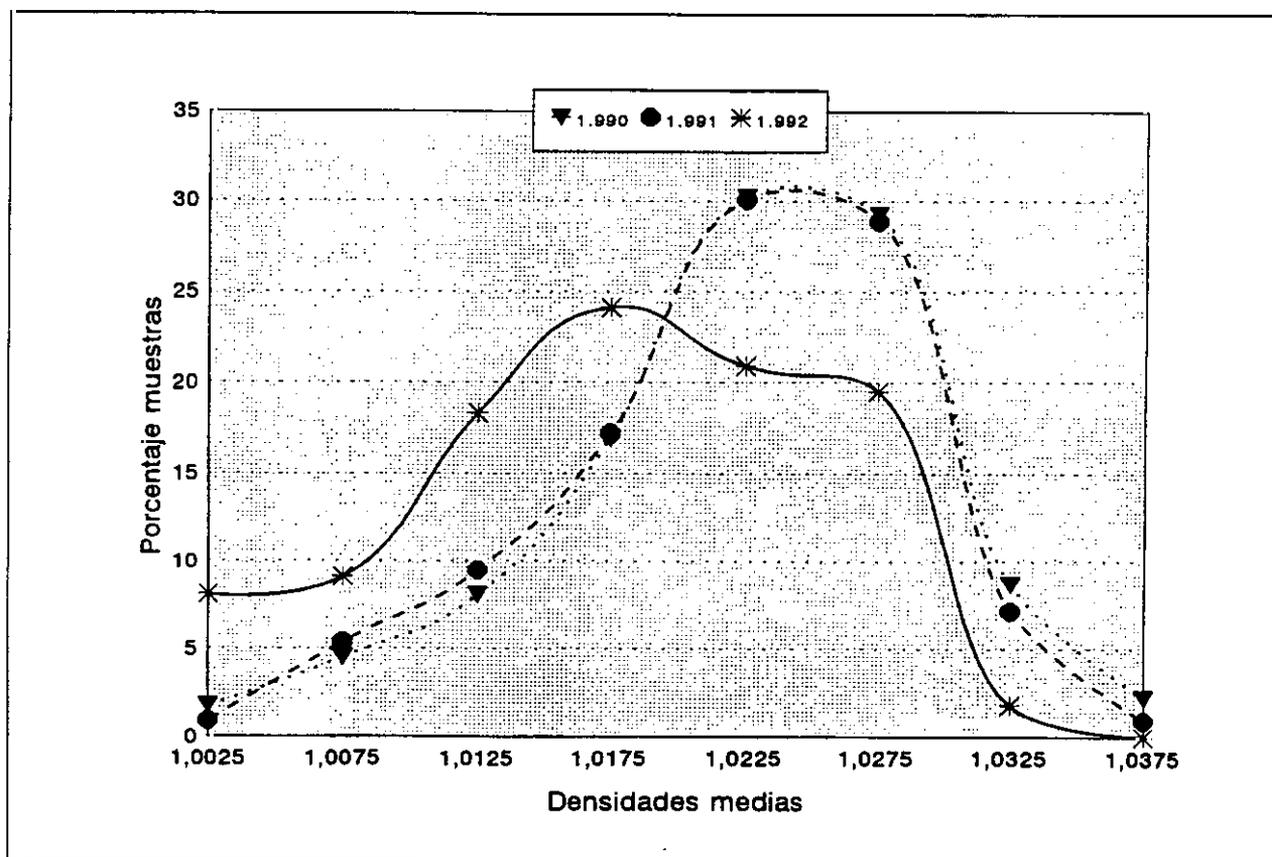
En la **figura 41** se compara un **perfil** obtenido en el análisis de una orina normal, sin sustancias dopantes ni ningún otro indicio de manipulación, con el perfil resultante al analizar una muestra obtenida tras la administración de **furosemida**.



***Figura 41***

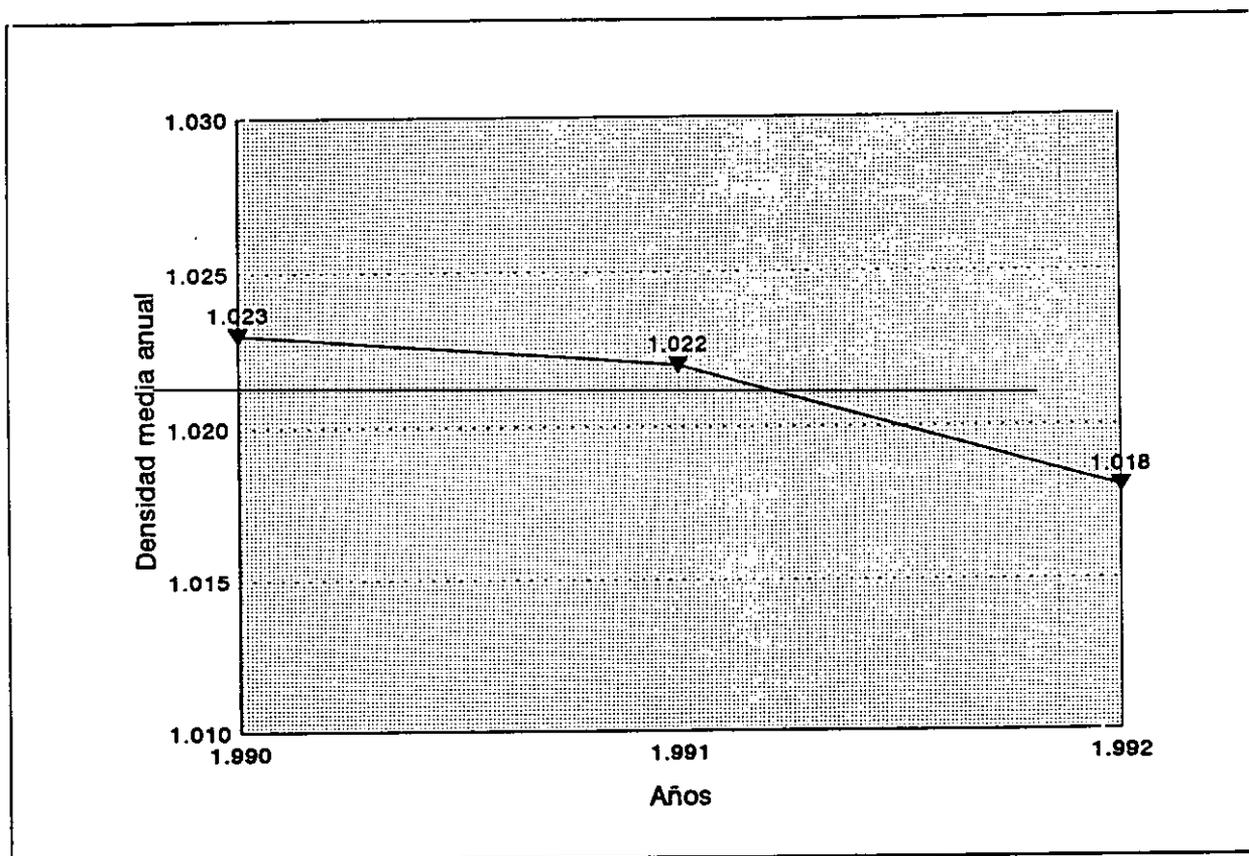
*Comparación entre un P.H.E. normal y el consecuente a una administración de un diurético (furosemida)*

Con este planteamiento es preocupante la situación detectada al evaluar los datos estadísticos correspondientes a la variación de la frecuencia de las densidades de las 14.834 muestras de orina analizadas en el trienio 1.990-92 en el Laboratorio de Control del Dopaje del Consejo Superior de Deportes, ya que, tal como se observa en la *figura 42*, la distribución de los resultados anuales obtenidos se desplazan hacia los valores bajos, tendencia que también puede observarse en la comparación que se establece entre las densidades medias anuales (*figura 43*).



*Figura 42*

*Frecuencia anual de distribución de densidades medidas a 14.834 orinas*



***Figura 43***

*Densidades medias anuales de las 14.834 orinas analizadas en 1.990-92*

Esta situación ha de tenerse en cuenta ante la circunstancia de que la cuantificación de los esteroides endógenos, y especialmente de la **testosterona** y de la **epitestosterona**, debe ser más precisa en muestras de orina diluídas, para en lo posible subsanar analíticamente este problema: Con este objetivo, para detectar los EAA se ha de utilizar una fracción alícuota de orina proporcional a la densidad medida (*tabla VI*).

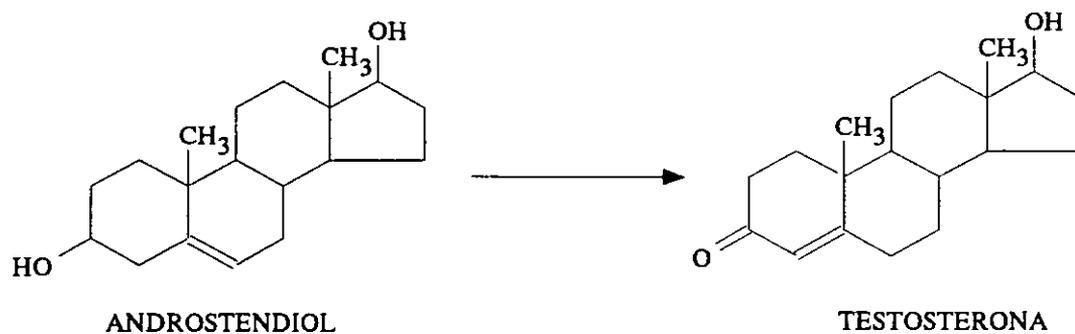
Densidad	Fracción alícuota de orina
$\rho > 1,010$	2 ml.
$1,010 > \rho > 1,005$	4 ml.
$1,005 > \rho > 1,0025$	8 ml.
$1,0025 > \rho > 1,001$	16 ml.
$\rho < 1,001$	20 ml.

***Tabla VI***

*Fracciones de orina a utilizar en función de la densidad de la misma*

***IV.1.1.4. Influencia del reactivo de hidrólisis sobre el P.H.E.***

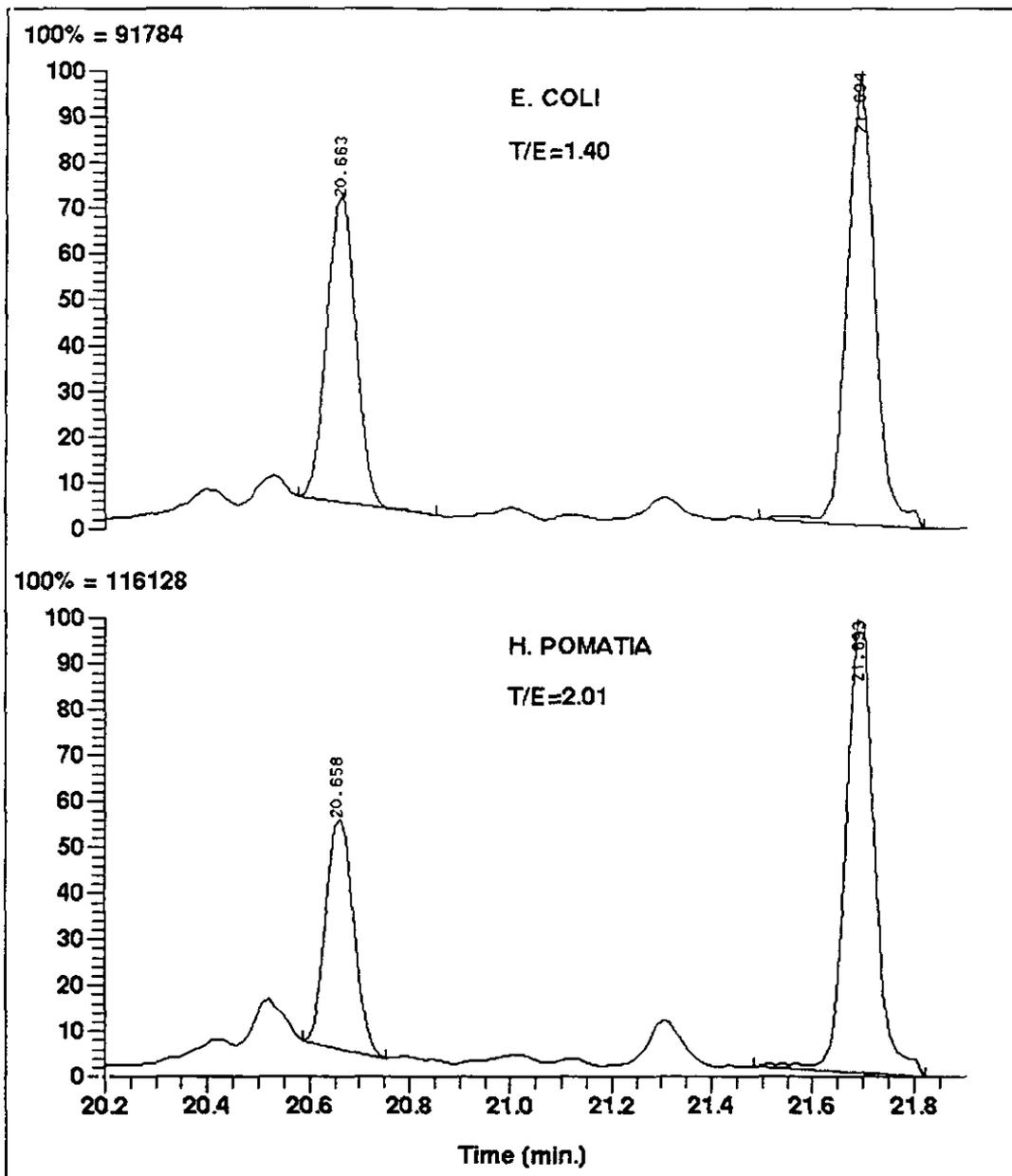
La hidrólisis a la que se somete la muestra ha de realizarse, como el resto de los procesos de su preparación al análisis instrumental, en las condiciones que garanticen al máximo no sólo la detección, sino también, y sobre todo en el caso de la testosterona, su cuantificación. Es por esta causa por lo que se ha de tener en cuenta que si la hidrólisis de los esteroides urinarios conjugados se realiza con  $\beta$ -glucuronidasa-arilsulfatasa, procedente de "Helix pomatia", el valor del cociente T/E puede distorsionarse, no midiéndose el real, debido a que dicha mezcla enzimática puede convertir el androstendiol en testosterona (*figura 44*):



***Figura 44***

*Conversión del androstendiol en testosterona por la  $\beta$ -glucuronidasa-arilsulfatasa*

En este caso, se elevaría dicho cociente T/E por incrementarse la concentración de la testosterona respecto a la realmente existente en la muestra de orina. Por esta razón, esta mezcla enzimática no debe utilizarse en un control analítico del dopaje para confirmar una posible administración de testosterona exógena, siendo una buena alternativa el empleo de  *$\beta$ -glucuronidasa* procedente de *Escherichia coli*, modificando las condiciones del proceso de hidrólisis (3 horas a 37°C) a 1 hora a 50°C, con el resultado que se puede observar en la ***figura 45***.

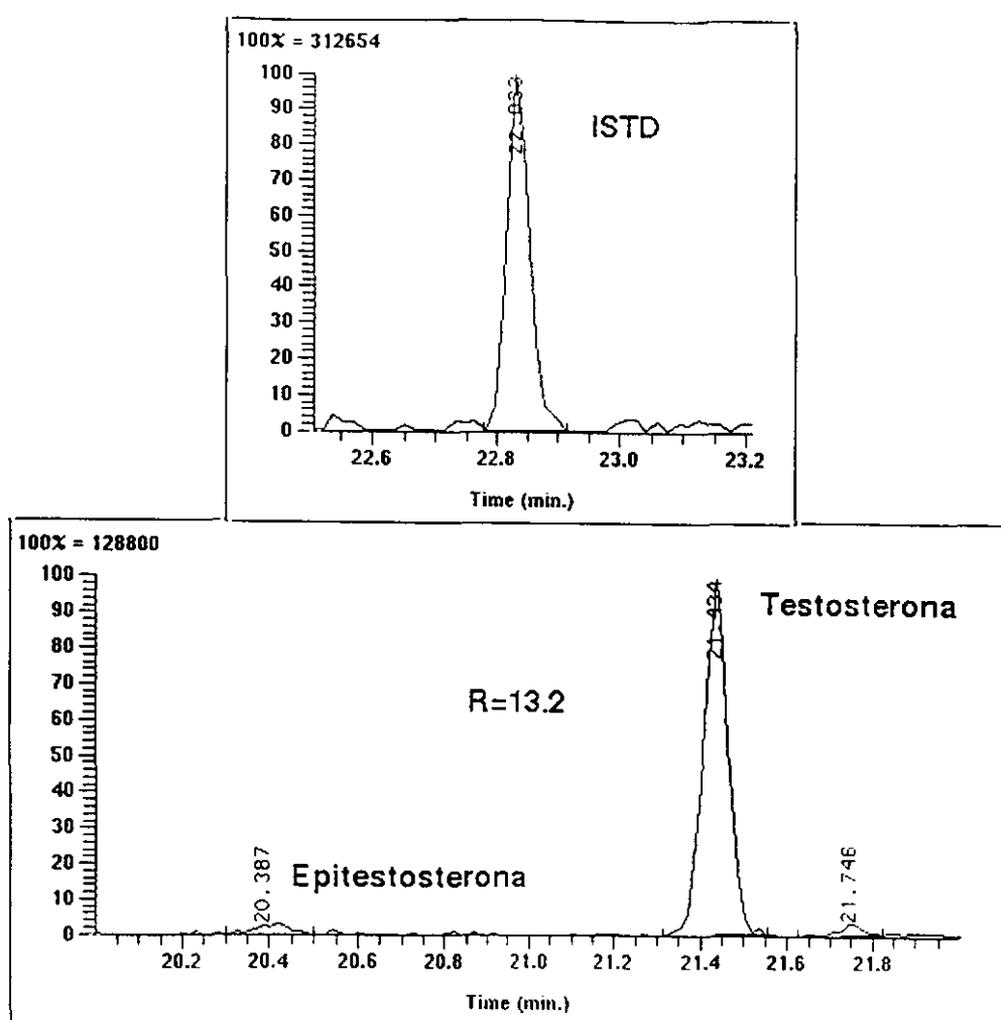


***Figura 45***

*Variación del cociente T/E en dos fracciones de la misma muestra en las que se ha utilizado diferente reactivo de hidrólisis*

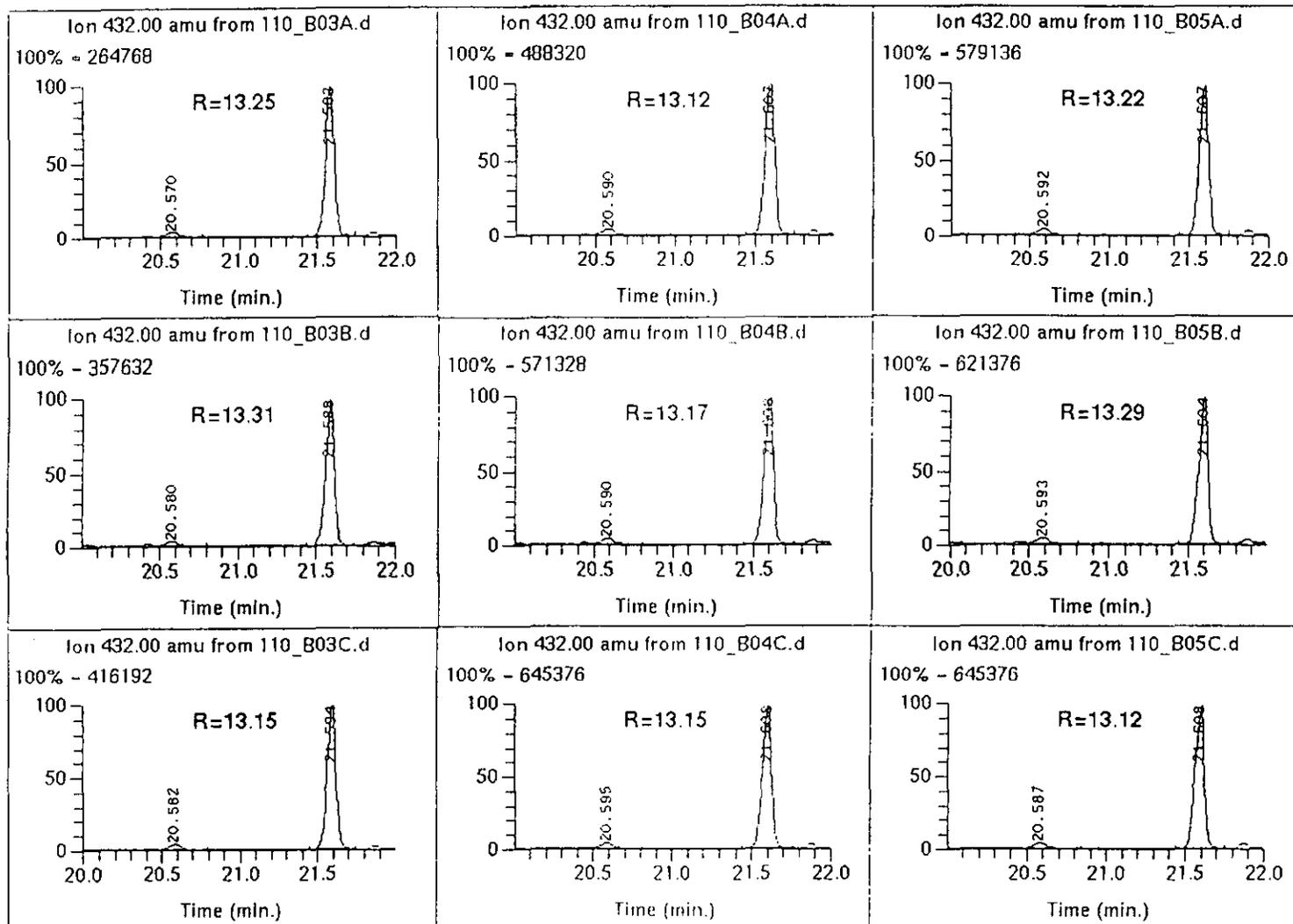
#### **IV.1.1.5. Influencia de la integración analítica**

Cuando en un análisis aparece una relación T/E superior a 6, como en el ejemplo presentado en la **figura 46**, se realizan de inmediato nuevas extracciones de la muestra e inyecciones de las mismas, tal como se (**figura 47**), para obtener su valor medio con una desviación estándar que estadísticamente lo defina como válido.



**Figura 46**

***Cromatograma por SIM de una muestra con T/E > 6***



**Figura 47**

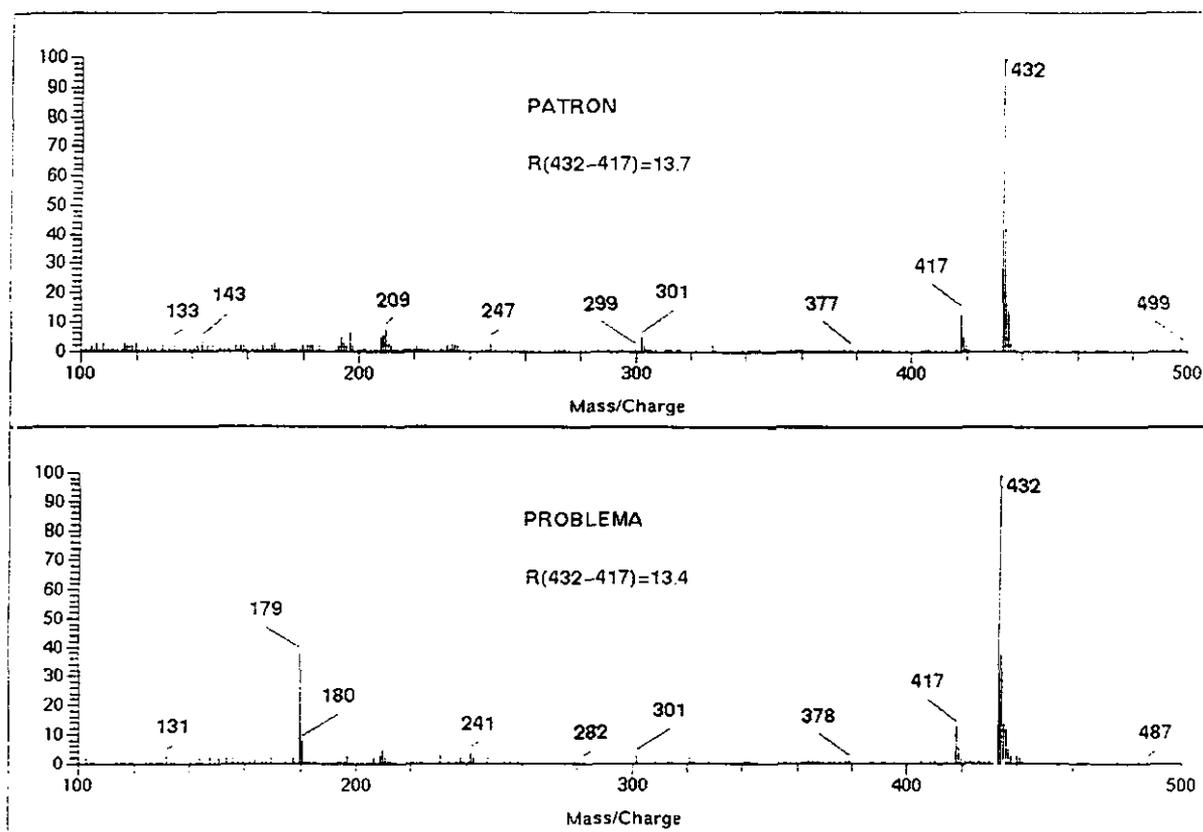
*Cromatogramas de las diversas inyecciones realizadas a las diferentes extracciones de una misma muestra*

Sin embargo, estos procesos, siendo correctos, pueden ser incompletos, por lo que han de complementarse con otros que garanticen el resultado, aplicando los conceptos de la espectrometría de masas a la interpretación de los resultados cuantitativos. Así, al detectar la **testosterona** y la **epitestosterona**, utilizando el procedimiento de control de iones seleccionados (SIM), se supone que en principio no se va a detectar ningún otro compuesto que no tenga el ión 432; pero como en la orina coexisten una serie de sustancias endógenas estructuralmente relacionadas con estas hormonas, en general precursoras de la **testosterona**, que pueden ser procesadas a la vez que este esteroide, es necesario cerciorarse que el pico cromatográfico de la testosterona detectada es puro y no tiene participación alguna de ningún otro, para lo cual se utiliza el análisis por SCAN. Para ello se estudian las proporciones entre los fragmentos más característicos en los espectros del patrón y el problema, que en el caso de la **testosterona** son los iones 432 (M) y 417 (M-15); puede entonces ocurrir que estas proporciones:

1º) sean las mismas, como en el ejemplo de la **figura 48**, a pesar de que en el ejemplo presentado aparece en el espectro del problema una masa 179 que no existe en el del patrón, pero que en consecuencia tiene que provenir de alguna causa orgánica no analítica (sangrado de columna por ejemplo) y no contribuye a la abundancia del ión 432 en la cuantificación; o que

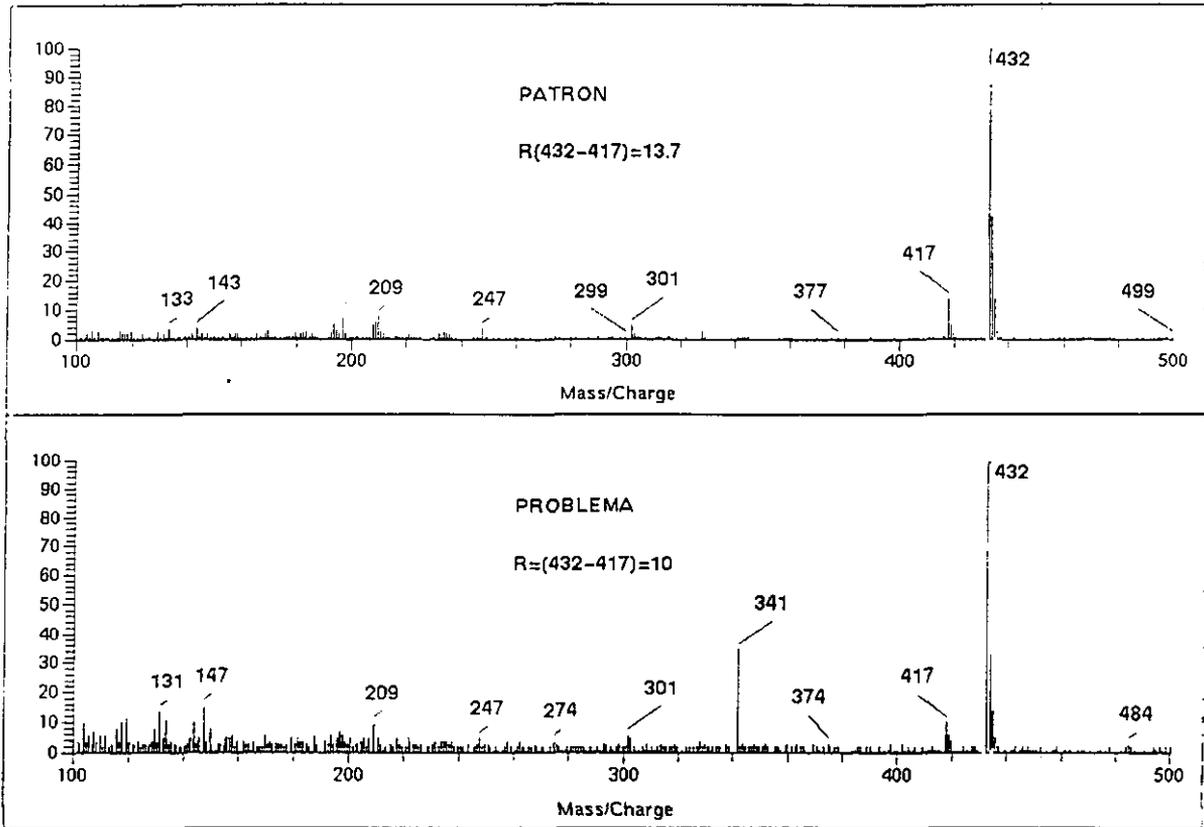
2º) difieran, como ocurre en el ejemplo presentado en la **figura 49**, en cuyo caso se concluye que en el espectro del problema el ión 432 tiene una contribución de

otra sustancia además de la proveniente de la testosterona pura, debiéndose en este caso aislar cromatográficamente esta hormona, separándola de la sustancia contribuyente que falsea el resultado de su concentración.



***Figura 48***

***Espectros de la testosterona realizados por SCAN en un patrón y en una muestra con la misma relación de intensidades de las masas 432 y 417***



***Figura 49***

*Espectros de la testosterona realizados por SCAN en un patrón y en una muestra con diferente relación de intensidades de las masas 432 y 417*



**IV.2. EVOLUCION ANALITICA DEL USO DE LOS ESTEROIDES  
ANABOLIZANTES ANDROGENICOS DESDE EL INICIO DEL  
CONTROL DEL DOPAJE EN EL DEPORTE**

**IV.2.1. Evaluación del análisis de EAA en el Control del Dopaje**

Los **esteroides anabolizantes androgénicos** no se comenzaron a analizar oficialmente en los **controles del dopaje** hasta comienzos de los años ochenta. Aunque el análisis clínico de estas sustancias ya se realizaba sistemáticamente antes de esa fecha, la demora de su inclusión en la analítica del control del dopaje se debió a:

1º) Las **características específicas, propias y circunstanciales, del medio analizado**, el cual es una orina:

a<sub>1</sub>) que se encuentra disponible sólo en cantidades limitadas, las cuales no pueden ampliarse ni en la misma toma ni posteriormente a la misma;

a<sub>2</sub>) en la que se debe identificar, sin diagnóstico previo, cualquier sustancia prohibida, o relacionada química y/o farmacológicamente con ella, o cualquier

producto final de su metabolismo que, por otra parte, puede encontrarse en cualquier concentración;

a<sub>3</sub>) que ha sido recogida puntualmente en cualquier hora del día, sin ninguna acumulación y sin preparación ni condicionante previos algunos.

**2º) Los analitos presentes en el medio a analizar, los cuales, en el caso de estos agentes farmacológicos:**

b<sub>1</sub>) son básicamente metabolitos del esteroide administrado y no el propio esteroide;

b<sub>2</sub>) en función de las dosis administradas y de las biotransformaciones sufridas por la sustancia padre, se encuentran en la orina en concentraciones imprevisibles y, en la mayor parte de los casos, mínimas;

b<sub>3</sub>) pueden permanecer en el organismo, y por tanto ser susceptibles de detectarse, en un plazo muy variable de tiempo, incluso de meses, lo que también conduce a diferencias en las concentraciones detectadas.

3º) **Las posibilidades de las técnicas instrumentales empleadas en su análisis**, pues hasta que no se tuvo la certeza de que, con estas técnicas, y específicamente con la espectrometría de masas, era incuestionable la detección de EAA en el control del dopaje, no se desarrolló una metodología analítica específica que garantizara que con su aplicación en el control no sólo no aparecieran falsos resultados negativos, sino tampoco falsos positivos.

#### **IV.2.2.Evolución del uso de los EAA en el deporte**

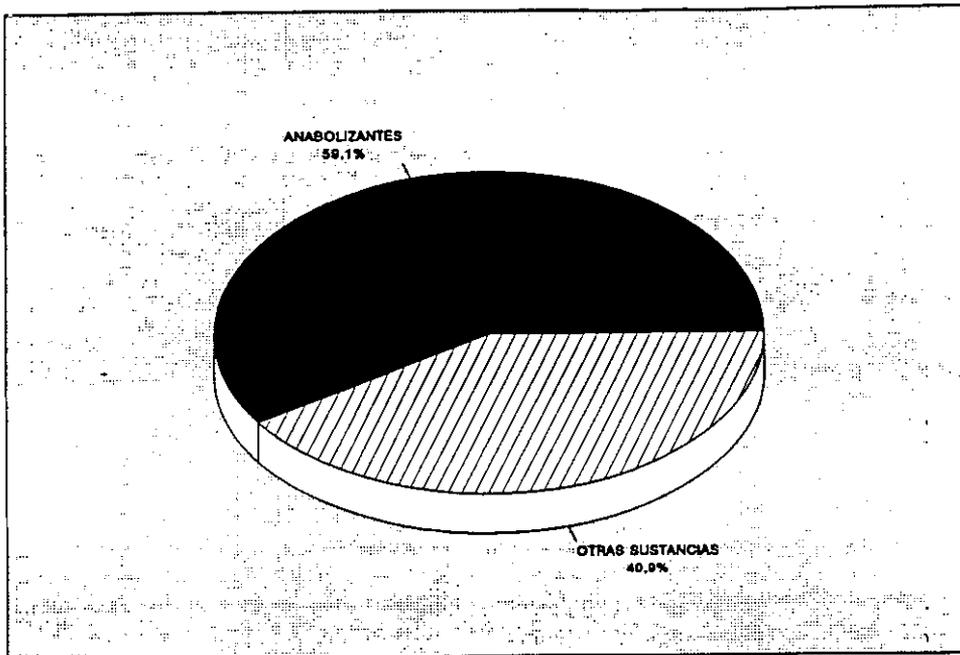
El estudio de la evolución cuantitativa y cualitativa de los EAA identificados en el control analítico del dopaje puede reflejar la incidencia del uso de estas sustancias dopantes en el deporte. Este seguimiento puede realizarse en función tanto de los datos procedentes del Laboratorio de Control del Dopaje de Madrid como de los datos internacionales más relevantes (resultados conjuntos de los laboratorios acreditados por el C.I.O. y de los análisis efectuados en los Juegos Olímpicos). De cualquier modo, es significativo el hecho de que, aunque estadísticamente sea imposible conocer las consecuencias del empleo de los EAA sobre la forma física y la disminución de la fatiga, estos fármacos constituyen un importante porcentaje sobre el total de las sustancias dopantes detectadas en los laboratorios analíticos de control del dopaje.

**IV.2.2.1. Evolución de los resultados de la detección de EAA en el Laboratorio de Control del Dopaje del C.S.D. (Madrid)**

El Laboratorio de Control del Dopaje de Madrid, perteneciente al Consejo Superior de Deportes -uno de los 10 únicos laboratorios que entonces estaban autorizados en el mundo para realizar oficialmente análisis internacionales de control del dopaje- introdujo en 1.983, entre los procedimientos de metodología analítica aplicados en el control del dopaje, los específicos para detectar EAA, siendo sus resultados equiparables a los obtenidos por el resto de los laboratorios internacionales oficialmente acreditados. Se presenta el estudio realizado en referencia a la evolución cualitativa y cuantitativa de los esteroides anabolizantes androgénicos en este intervalo de tiempo.

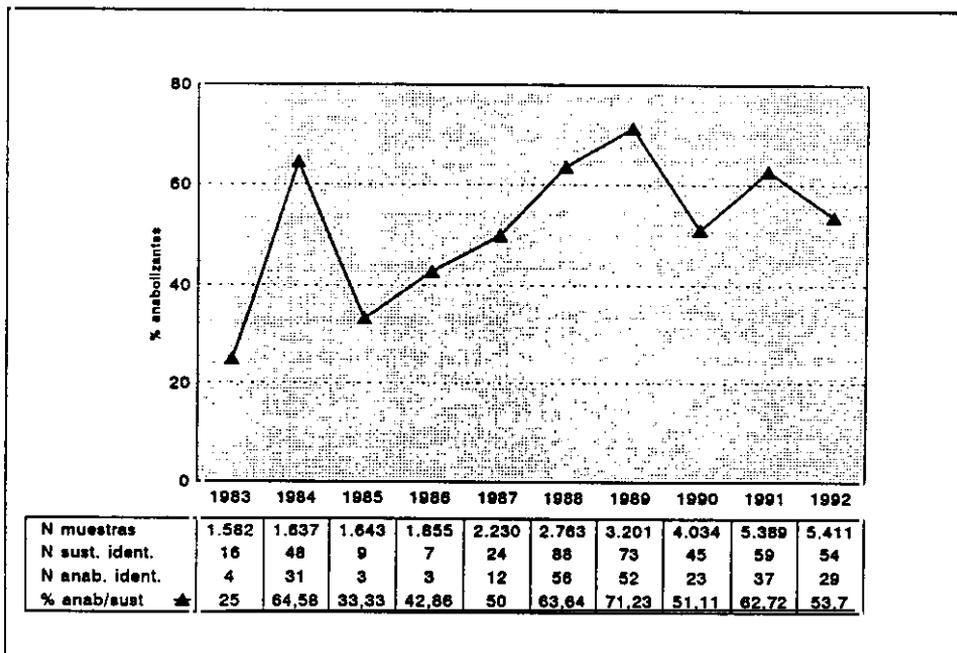
**Resultados**

En los 10 años comprendidos entre 1.983 y 1.992, este Laboratorio ha detectado **250** esteroides anabolizantes androgénicos de un total de **421** sustancias dopantes identificadas en las 29.745 muestras fisiológicas analizadas durante el mismo plazo; el **59,2%** de las sustancias detectadas corresponden por tanto sólo a EAA (*figura 50*). La distribución de la frecuencia anual de detección se representa en la *figura 51*.



**Figura 50**

*Porcentaje de esteroides anabolizantes androgénicos detectados en el Laboratorio de Control del Dopaje del C.S.D. (Madrid) durante los años 1.983-92*



**Figura 51**

*Frecuencia anual de detección de EAA con respecto al total de sustancias dopantes detectadas en el L.C.D. del C.S.D. (Madrid) durante los años 1.983-92*

La comparación del número absoluto de veces que se ha detectado cada uno de los anabolizantes durante estos diez años se ha especificado en la *tabla VII*, mientras que el porcentaje de detección anual de cada uno de ellos, en relación con los restantes anabolizantes, se detalla en la *tabla VIII*.

EAA	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	Total
BOLDENONA	-	-	-	-	-	-	6	-	1	-	7
DROSTANOLONA	-	-	-	-	-	-	-	1	1	2	4
ESTANOZOLOL	-	-	-	-	-	-	5	2	3	-	10
MESTEROLONA	-	-	-	-	-	2	1	1	2	2	8
METANDIENONA	-	3	1	-	-	1	-	-	-	1	6
METENOLONA	-	-	-	-	1	17	8	4	8	5	43
METILTESTOSTERONA	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	2
NANDROLONA	4	26	2	3	5	31	25	8	12	11	127
NORETANDROLONA	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
OXANDROLONA	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	3
OXIMESTERONA	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
TESTOSTERONA	-	2	-	-	6	5	5	4	9	7	38
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>31</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>12</b>	<b>56</b>	<b>52</b>	<b>23</b>	<b>37</b>	<b>29</b>	<b>250</b>

*Tabla VII*

*Frecuencia absoluta de identificación de cada esteroide anabolizante androgénico identificado en el Laboratorio de Control del Dopaje del CSD entre 1.983 y 1.992*

EAA	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992
BOLDENONA							11,5		2,7	
DROSTANOLONA								4,3	2,7	6,9
ESTANOZOLOL							9,6	8,7	8,1	
MESTEROLONA						3,6	1,9	4,3	5,4	6,9
METANDIENONA		9,7	33,3			1,8				3,45
METENOLONA					8,3	30,4	15,4	17,4	21,6	17,2
MEILTTESTOSTERONA							1,9			3,4
NANDROLONA	100	83,9	66,7	100	41,7	55,3	48,1	34,8	32,43	37,93
NORETANDROLONA								4,3		
OXANDROLONA							1,9	4,3	2,7	
OXIMESTERONA								4,3		
TESTOSTERONA		6,4			50	8,9	9,6	17,4	24,32	24,14

**Tabla VIII**

*Frecuencia porcentual anual de identificación de cada EAA identificado en el LCD del CSD entre 1.983 y 1.992*

**Discusión y conclusiones**

Un estudio detallado de estos datos conduce a las siguientes conclusiones:

1º) Los esteroides anabolizantes androgénicos constituyen desde 1.987 **más del 50%** del total de las sustancias dopantes identificadas.

2º) De todos los esteroides, es la **nandrolona** el más detectado, lo cual puede

tener su explicación en el largo plazo durante el cual permanece en el organismo tras su administración y en la dificultad de conocer en cada caso específico cuándo puede dejar de detectarse este anabolizante en los correspondientes análisis.

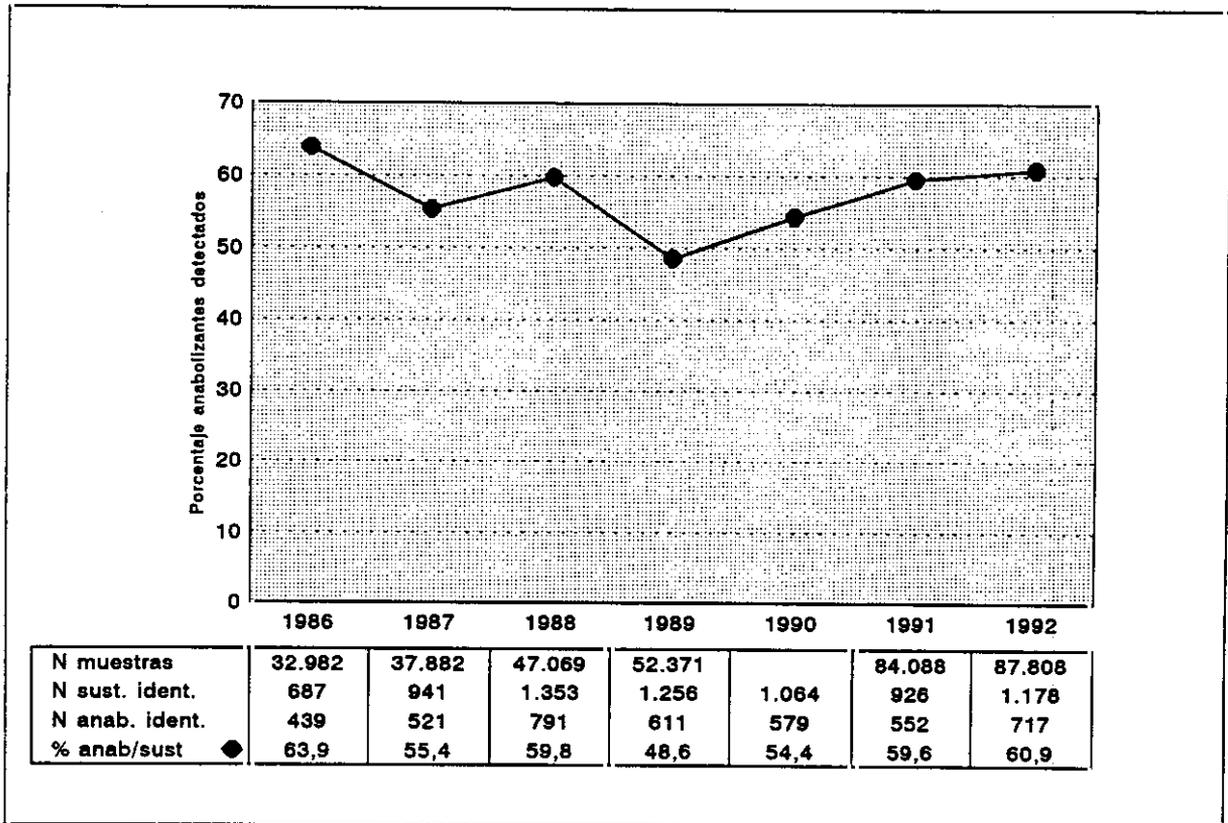
3º) A continuación son la **metenolona** y la **testosterona** los anabolizantes más frecuentemente identificados. Pero debe señalarse como significativa la evolución en la frecuencia de detección de la **testosterona** en los últimos años, de forma que, tras un muy elevado valor en 1.987, aparece en progresivo aumento desde 1.988, con importantes cifras porcentuales de detección en 1.991 y 1.992, años en los que ocupa el segundo lugar entre los anabolizantes más detectados, y por tanto probablemente mayoritariamente elegidos como sustancias dopantes, tras la **nandrolona**.

#### **IV.2.2.2. Evolución en la detección analítica de los EAA en el ámbito internacional**

Dentro del programa a seguir en el tema de investigación propuesto, como base de la investigación también es importante conocer cómo ha evolucionado internacionalmente la detección de los **EAA**, estudiando los pertinentes datos asequibles.

## Resultados

Los datos a los que se ha tenido acceso y que se han podido recopilar son los correspondientes al conjunto de los resultados de los análisis de control del dopaje realizados por los laboratorios acreditados por el Comité Olímpico Internacional, que se presentan en la tabla IX y se representan en la figura 52, y por los obtenidos en los Juegos Olímpicos celebrados durante los años estudiados (tabla X, figura 53).



**Figura 52**

*Frecuencia anual de detección de EAA con respecto al total de sustancias dopantes detectadas en los laboratorios de control del dopaje acreditados por el CIO (1.986-92)*

ANABOLIZANTE/AÑO	86	87	88	89	91	92	Total
BOLDENONA	-	17	19	11	13	10	70
CLENBUTEROL	-	-	-	-	-	39	39
CLOSTEBOL	4	9	6	4	2	11	32
DEHIDROCLORMETILTES- TOSTERONA	5	7	-	13	-	2	27
DIHIDROTESTOSTERONA	-	-	-	-	-	1	1
DROSTANOLONA	-	1	4	2	8	18	33
ESTANOZOLOL	19	37	89	77	52	75	349
FLUOXIMESTERONA	-	3	1	-	-	1	5
FORMEBOLONA	-	-	2	-	-	2	4
MESTEROLONA	1	1	11	8	4	21	46
METANDIENONA	72	27	54	37	44	77	311
METANDRIOL	-	1	1	-	-	1	3
METENOLONA	28	42	60	22	52	64	268
METILTESTOSTERONA	25	20	33	25	14	19	136
NANDROLONA	250	262	304	224	165	152	1357
NORETANDROLONA	1	1	-	-	1	-	3
OXANDROLONA	10	6	22	10	3	3	54
OXIMESTERONA	-	-	-	1	-	-	1
OXIMETOLONA	2	3	12	11	6	11	45
QUIMBOLONA	-	1	-	-	-	-	1
TESTOSTERONA	22	83	155	166	187	208	821
TREMBOLONA	-	-	1	-	1	2	4
Total	439	521	790	611	552	717	3630

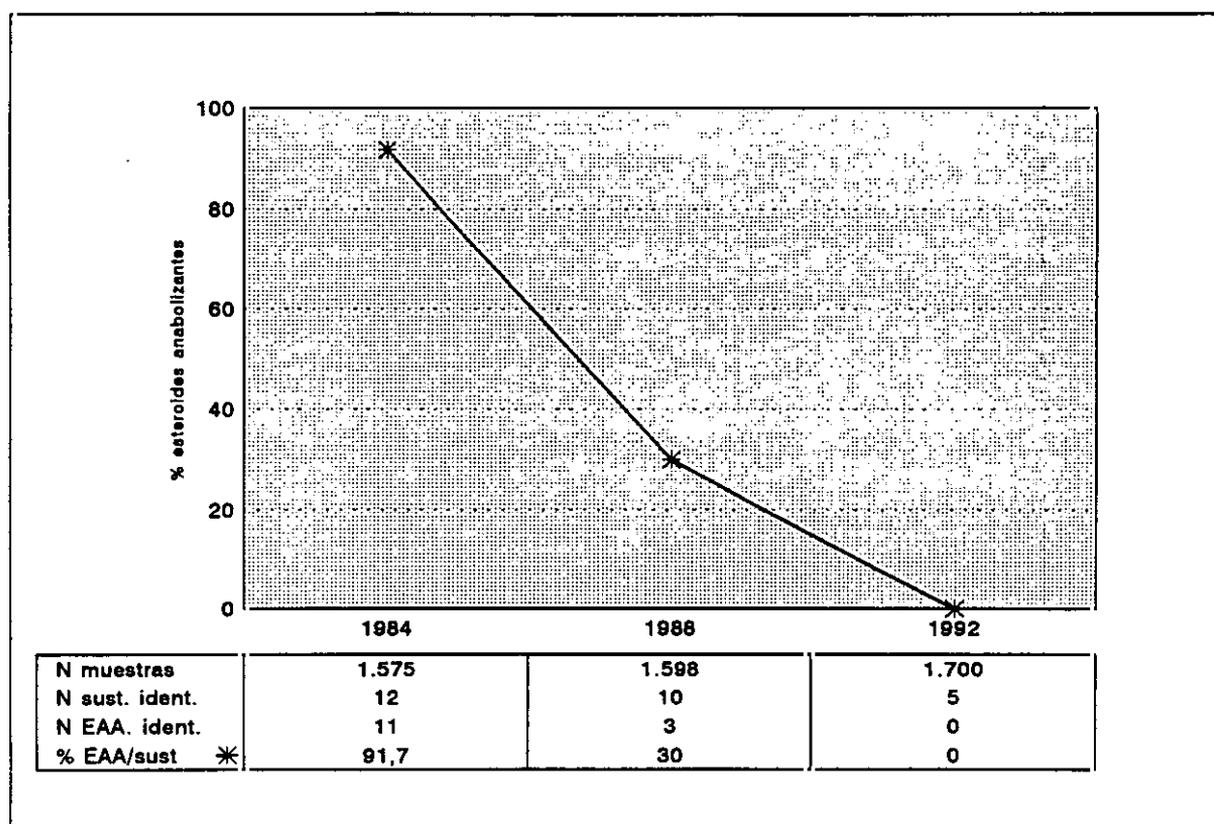
***Tabla IX***

*Frecuencia absoluta de identificación de cada EAA identificado en los laboratorios de control del dopaje acreditados por el CIO (1.986-92)*

EAA / AÑO	1.984	1.988	1.992	Total
ESTANOZOLOL	-	3	-	3
METENOLONA	2	-	-	2
NANDROLONA	7	-	-	7
TESTOSTERONA	2	-	-	2
<u>Total</u>	11	3	0	14

**Tabla X**

*Frecuencia absoluta de identificación de cada EAA identificado en los JJOO (1984-92)*



**Figura 53**

*Frecuencia anual de detección de EAA con respecto al total de sustancias dopantes detectadas en los Juegos Olímpicos (1.984-92)*

### Discusión y conclusiones

La evaluación de los resultados de los laboratorios acreditados por el C.I.O. es idéntica a la realizada con respecto a los resultados del Laboratorio de Control del Dopaje del Consejo Superior de Deportes (Madrid), y por tanto las conclusiones son las mismas.

Sin embargo, es necesario reseñar que al evaluar los resultados de los JJ.OO. se observa una tendente disminución en la detección de los **esteroides anabolizantes androgénicos**, lo cual puede deberse a los exhaustivos análisis de control que, previamente a los Juegos, se realizan, en el marco del control del dopaje fuera de competición, a todos los deportistas que van a competir en ellos. Este hecho confirma la tesis de que los EAA se administran preferentemente en épocas de entrenamiento y no de competición<sup>221, 261</sup>. Es importante sin embargo resaltar que, si bien en los JJ.OO. de 1.992 no se detectó ningún **esteroide anabolizante androgénico**, sí que se identificó **clembuterol**, un anabolizante no esteroideo, en dos de las muestras analizadas, lo cual es un indicador de las posibles nuevas vías que se abren en el *dopaje con anabolizantes*.

Por último es necesario resaltar el incremento que se está produciendo en la detección absoluta y relativa de **testosterona** como sustancia dopante, mediante la medida del cociente de su concentración en las orinas analizadas con respecto a la de la **epitestosterona** que también se encuentra en el mismo medio fisiológico. Este

hecho puede constituir una llamada de atención sobre la problemática actual del uso de los **anabolizantes** en el deporte, sobre todo si se tiene en cuenta que los deportistas que buscan competir con dopaje intentan utilizar, entre otros medios, aquéllos que incrementen las concentraciones de **testosterona** sin que paralelamente se eleven los cocientes **T/E**, con el fin de burlar los controles de dopaje. Esta realidad es la causante, precisamente, de una gran inquietud entre los responsables de la lucha contra el dopaje, y es precisamente la base de la presente tesis.

**IV.2.3. Estudio, en las muestras fisiológicas analizadas en el control del dopaje, del cociente T/E y de su evolución**

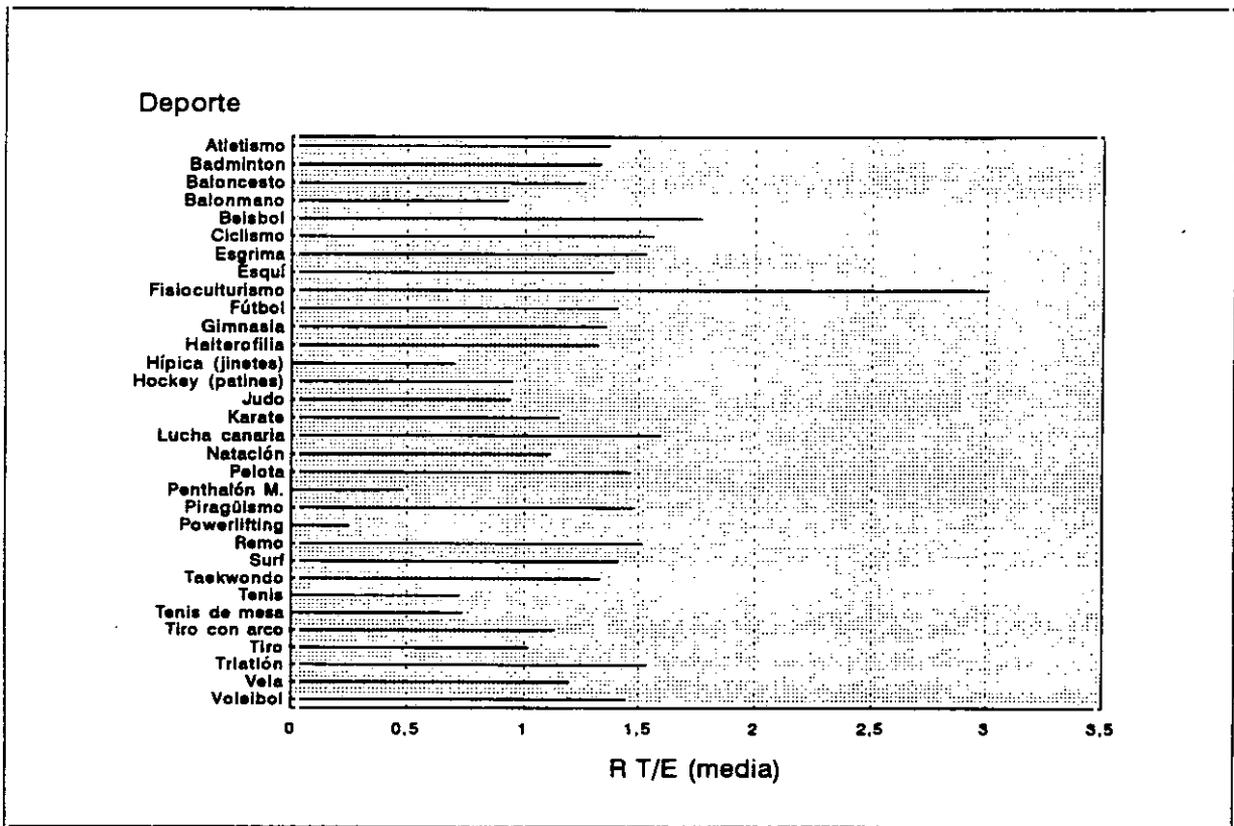
El estudio de la evolución en la detección de la **testosterona** no permite conocer exactamente la incidencia del uso de este anabolizante como sustancia dopante en el deporte, por lo que es necesario realizar una investigación más amplia y profunda de la situación, fundamentalmente en lo que concierne al conocimiento de otros datos estadísticos de los resultados analíticos en relación al cociente **T/E**.

**i. Primer estudio**

En primer lugar, es importante revisar los valores medios de las relaciones **T/E** obtenidas en las diferentes poblaciones practicantes de distintos deportes con distinta actividad física.

## Resultados

En la figura 54 se presenta este estudio realizado a 5.411 muestras de deportistas practicantes de diferentes deportes, con diferentes valores de  $R_{T/E}$  entre 0,25 (powerlifting) y 3,01 (fisicoculturismo), y una media de  $1,26 \pm 0,46$ .



**Figura 54**

*Comparación de los valores medios de T/E en 5.411 muestras de orina de deportistas federados practicantes de 32 diferentes deportes, analizadas en el Laboratorio de Control del Dopaje de Madrid durante 1.992*

## Discusión y conclusiones

Este estudio permite conocer el intervalo en el que se mueven los valores de las relaciones T/E medidas a los deportistas sujetos de los controles de dopaje en el LCD del CSD, encontrándose como valor medio  $R_{T/E} = 1,5 \pm 0,9$ . Estos datos no pueden compararse con los de otros laboratorios por no existir publicaciones al respecto.

### ii. Segundo estudio

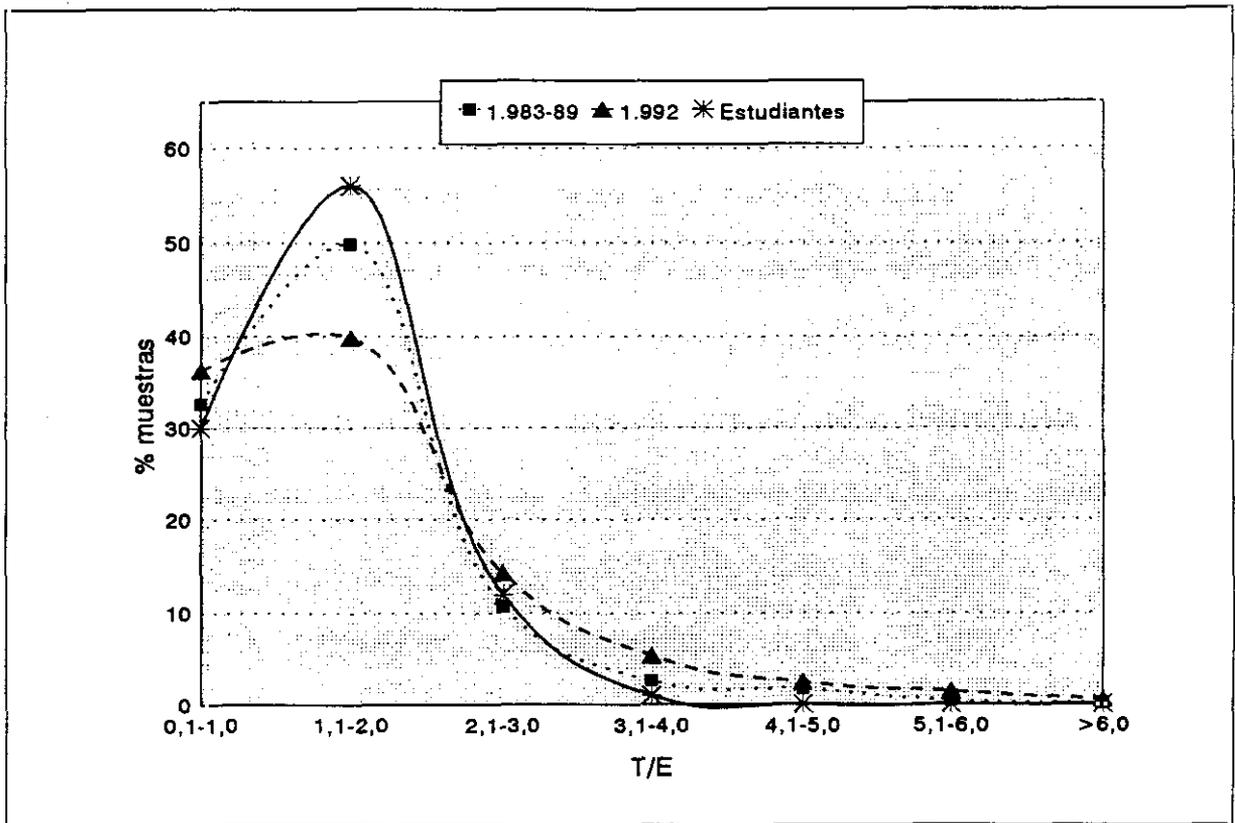
Además de los valores medios del parámetro T/E estudiado en cada deporte, también es interesante conocer la distribución estadística, mediante curvas de frecuencia, de los diferentes valores de  $R_{T/E}$  obtenidos en los análisis a los deportistas. Con este objetivo, se ha realizado un estudio con las muestras fisiológicas de orina recogidas a 20.322 deportistas federados, agrupados en dos épocas características:

- ▶ antes de surgir la problemática de la testosterona (1.983-89, 14.911 deportistas), y
- ▶ en la actualidad (1.992, 5.411 deportistas).

Y se compara esa distribución con la correspondiente a un estudio realizado a un grupo de 40 varones, estudiantes, con una actividad física media, y una edad media de  $21 \pm 2,7$  años.

## Resultados

En la figura 55 se representa gráficamente la distribución porcentual de valores T/E medidos, en el Laboratorio de Control del Dopaje del C.S.D., a las muestras fisiológicas indicadas.



**Figura 55**

*Distribución porcentual de los valores  $R_{T/E}$  medidos en muestras de orina de deportistas y de una población no deportiva*

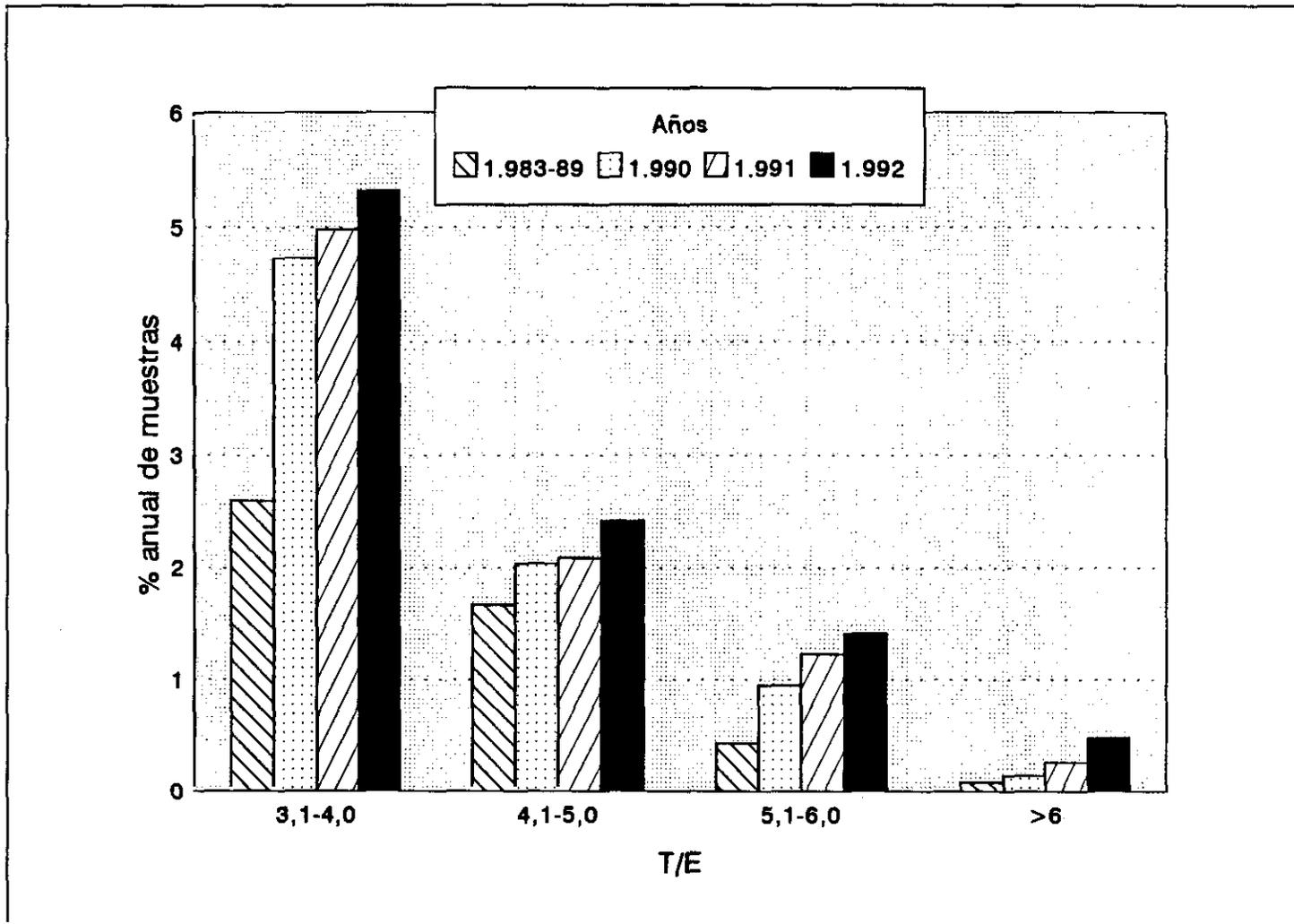
Con el fin de conocer estos valores más detalladamente, en la **tabla XI** se presenta la distribución porcentual de los valores  $R_{T/E}$  en las 29.748 muestras de deportistas federados analizadas en el período 1983-89 y en los tres últimos años. También se detallan los valores de la misma distribución en la población de estudiantes, sin actividad física intensa.

T/E	Estudiantes	1.983-89	1.990	1.991	1.992
0,1-1,0	30	32,62	34,84	36,60	36,25
1,1-2,0	56	49,88	40,42	40,52	39,84
2,1-3,0	12	10,72	16,88	14,32	14,27
3,1-4,0	1	2,60	4,73	4,98	5,32
4,1-5,0	0	1,67	2,04	2,09	2,42
5,1-6,0	0	0,43	0,95	1,23	1,42
>6	0	0,08	0,14	0,26	0,48

**Tabla XI**

*Frecuencia porcentual de los valores de  $R_{T/E}$  medidos en 29.748 muestras analizadas a deportistas y 40 muestras de no deportistas en el Laboratorio de Control del Dopaje del Consejo Superior de Deportes*

En la **figura 56** se representa gráficamente la evolución de los valores  $T/E > 3$  en las muestras de deportistas.



**Figura 56**

*Evolución interanual de la frecuencia relativa de los valores T/E > 3 medidos en muestras de orina de deportistas*

### Discusión y conclusiones

Se puede observar el desplazamiento existente en los valores de la población deportiva con respecto a la no deportiva, pero también el que se ha producido entre los valores medios de las muestras de deportistas correspondientes a los años 1.983-89 y los del año 1.992. Y sobre todo, es interesante apreciar el importante y progresivo incremento del número porcentual de muestras que presentan valores de T/E superiores a 3.

Estos datos estadísticos inducen a considerar la existencia de un **progresivo incremento en la utilización de la testosterona como sustancia dopante en el deporte**, pero al no existir en la actualidad otra fuente de documentación que la citada estadística de cuantificación de los resultados analíticos respecto al cociente T/E, pueden existir otros casos de dopaje con testosterona que no se detectan porque no inciden en dicho cociente T/E.



**IV.3. MODIFICACIONES QUE DIVERSOS FACTORES, ENDOGENOS Y EXOGENOS, PUEDEN PRODUCIR EN EN PERFIL HORMONAL ESTEROIDEO**

La *testosterona*, o más exactamente su *concentración en ng/ml*, forma parte del llamado *perfil hormonal esteroideo, (P.H.E.)*, integrado por las concentraciones de los esteroides hormonales endógenos presentes en el medio analizado, el cual, en el caso del control del dopaje, es la *orina*. Su correcto estudio e interpretación se debe hacer teniendo en cuenta que estos esteroides pueden proceder, fundamentalmente, de:

- a) testículo en el hombre y ovario en la mujer;
- b) glándulas suprarrenales;
- c) ambas procedencias.

Al estar directamente relacionada la *testosterona* con el resto de las hormonas del perfil, se presupone que cualquier alteración en la concentración de esta hormona, que en principio debería ser un caso de dopaje, puede no ser detectado mediante la medida del cociente T/E, y que por tanto se deberían considerar otros

procedimientos, posiblemente complementario: al actual de detección de **testosterona** como causa de dopaje.

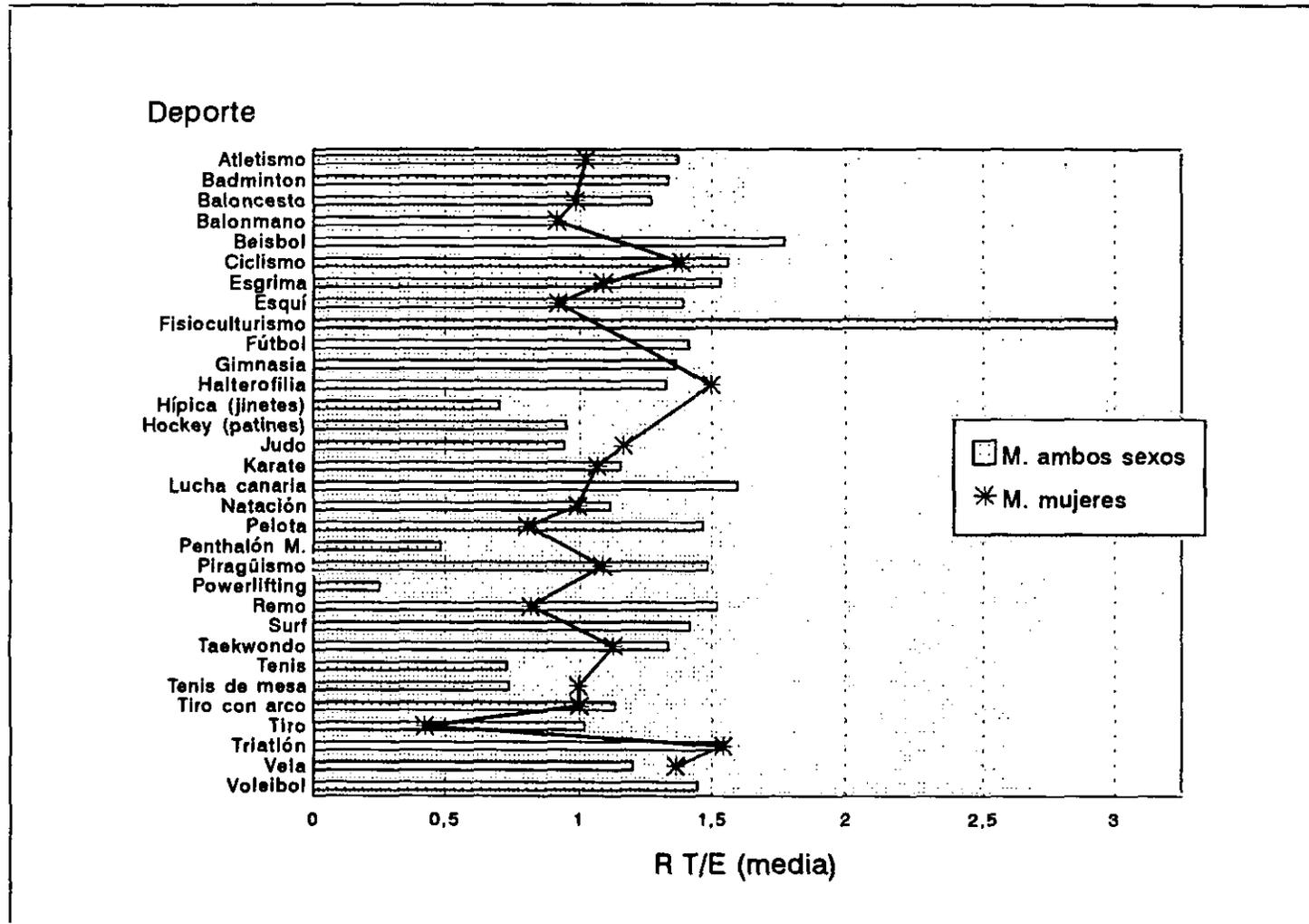
Los resultados de los diferentes estudios buscando unas posibles alternativas complementarias a la metodología actual se exponen a continuación.

**IV.3.1. Estudio de la posible influencia que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo pueden ejercer algunos factores intrínsecos**

**IV.3.1.1. Influencia del sexo**

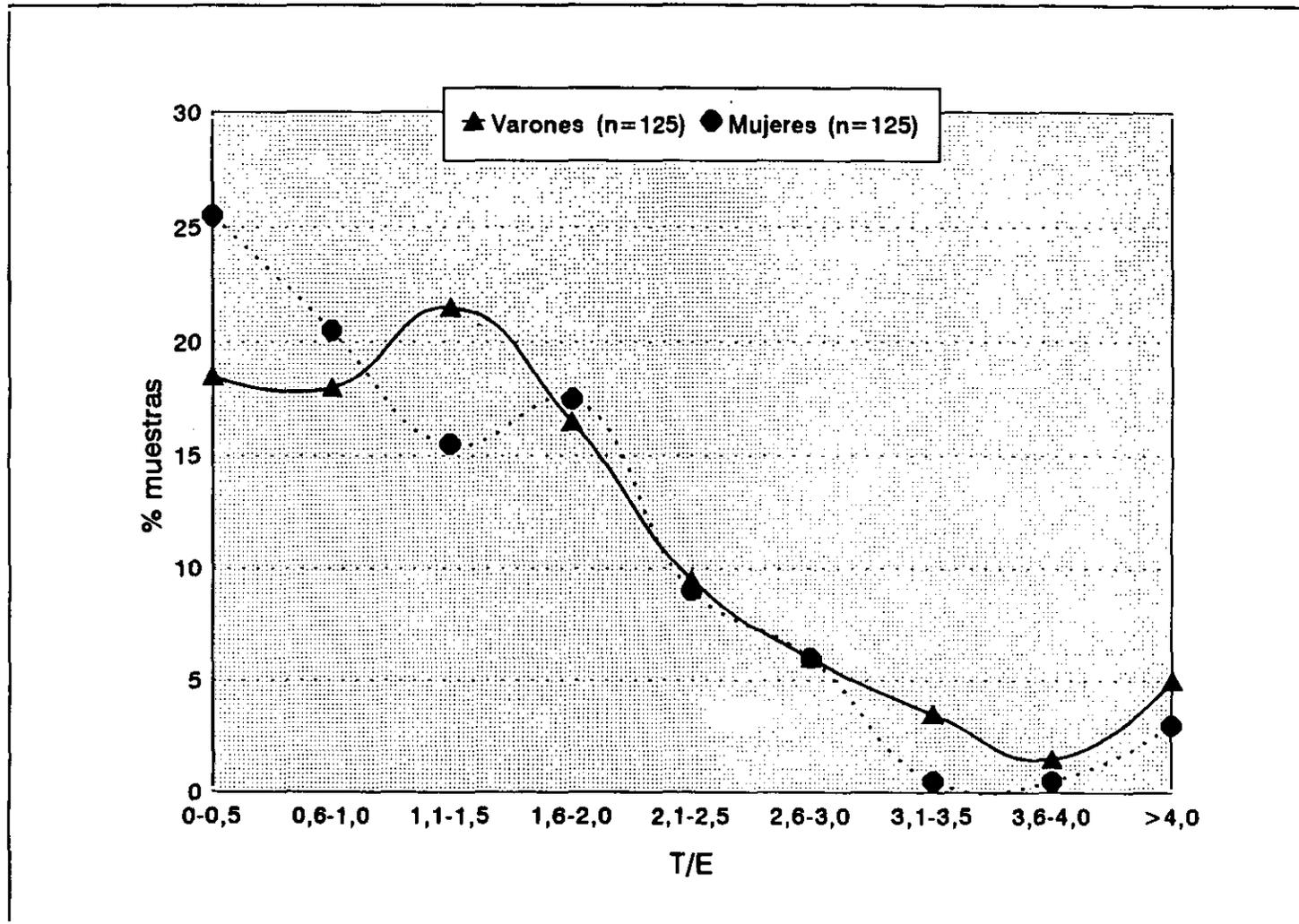
Cuando se comparan estadísticamente los valores medios obtenidos en las relaciones T/E medidas en deportistas federados de ambos sexos (mayoritariamente varones) practicantes de diferentes deportes, con los específicos medidos a las mujeres practicantes de esos mismos deportes (figura 57), se encuentra por lo general una discrepancia, con tendencia a la baja en el caso de las mujeres, de estas  $R_{T/E}$  medias.

Y si se estudia la distribución porcentual de los valores de T/E y An/Et en muestras de poblaciones de deportistas federados varones y mujeres, se observan también diferencias significativas, como se puede apreciar en las figuras 58 y 59.



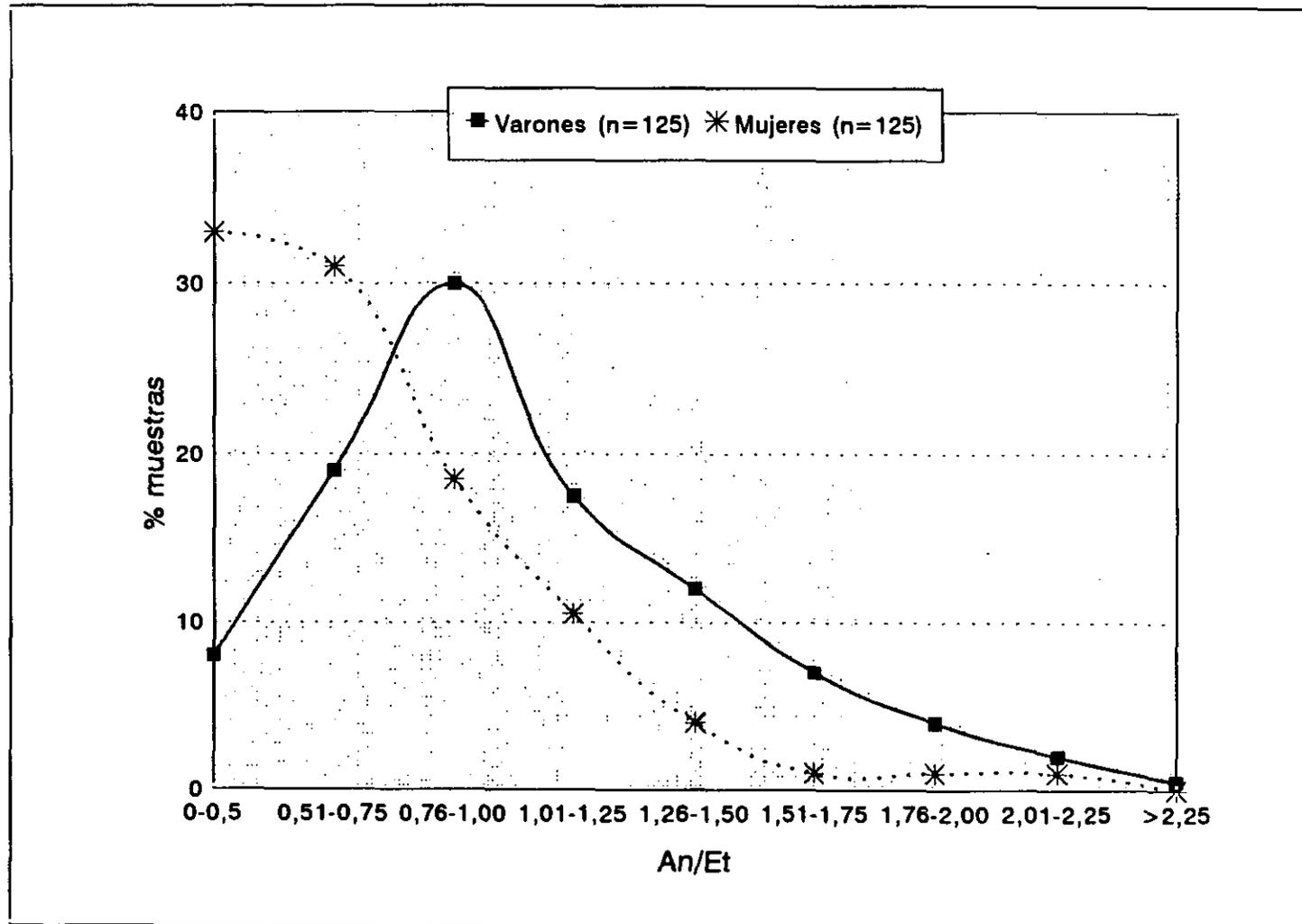
**Figura 57**

*Comparación de los valores medios de T/E en muestras de deportistas de ambos sexos y de mujeres, practicantes de diferentes deportes, analizadas en el control del dopaje de 1.992*



**Figura 58**

*Frecuencia de distribución de los valores medios de T/E en deportistas de diferente sexo con  $R_{T/E} < 6$*



**Figura 59**

*Frecuencia de distribución de los valores medios de An/Et en deportistas de diferente sexo con  $R_{T/E} < 6$*

Ante estos datos básicos obtenidos, se consideró la necesidad de realizar el estudio de la posible influencia del sexo en los valores de los parámetros del P.H.E., teniendo además en cuenta la posibilidad de que a su vez influyera la circunstancia de que las muestras fueran recogidas fuera de competición o en competición.

Con este objetivo, se realizó en primer lugar el estudio del P.H.E. en la población deportiva de los preolímpicos españoles de Barcelona'92:

**Población:** Deportistas de diferente sexo.

**Muestra:** 390 orinas de varones y 44 de mujeres recogidas fuera de competición (mes anterior a los JJ.OO. de Barcelona'92).

A continuación, y de forma comparativa, se realizó un estudio en muestras elegidas al azar recogidas, en competición, a deportistas de ambos sexos, con la única condición de que la T/E fuera inferior a 3, por ser éste el límite que se empieza a considerar como normal y para que no haya en los resultados influencias de otro género.

**Población:** Deportistas de diferente sexo.

**Muestra:** 32 orinas de varones y 28 de mujeres recogidas en competición.

### Resultados

Los resultados, con los valores medios del P.H.E. obtenidos se presentan respectivamente en las tablas XII y XIII.

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

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

### Tabla XII

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

Al comparar ambos grupos estadísticamente, mediante el test de la "*t de Student*", se encuentra, al analizar las muestras recogidas fuera de competición:

1º) Una disminución muy significativa ( $p < 0,001$ ) en las concentraciones de **testosterona** y **epitestosterona** en las mujeres con respecto a los varones.

2º) Una disminución significativa ( $p < 0,01$ ) en la relación **An/Et** en las mujeres.

3º) Una menor concentración de **androsterona** ( $p < 0,5$ ) en las mujeres.

4º) Sin embargo no se observaron diferencias significativas en la relación **T/E** entre ambos grupos.

Al analizar las muestras recogidas en competición, se encuentra:

1º) Como en las muestras recogidas fuera de competición, una menor concentración de **testosterona** ( $p < 0,001$ ) y **epitestosterona** en las mujeres.

2º) Menor relación **T/E** ( $p < 0,01$ ) y **An/Et** ( $p < 0,01$ ) en las mujeres.

3º) Una disminución ( $p < 0,05$ ) en la concentración urinaria de **androsterona**.

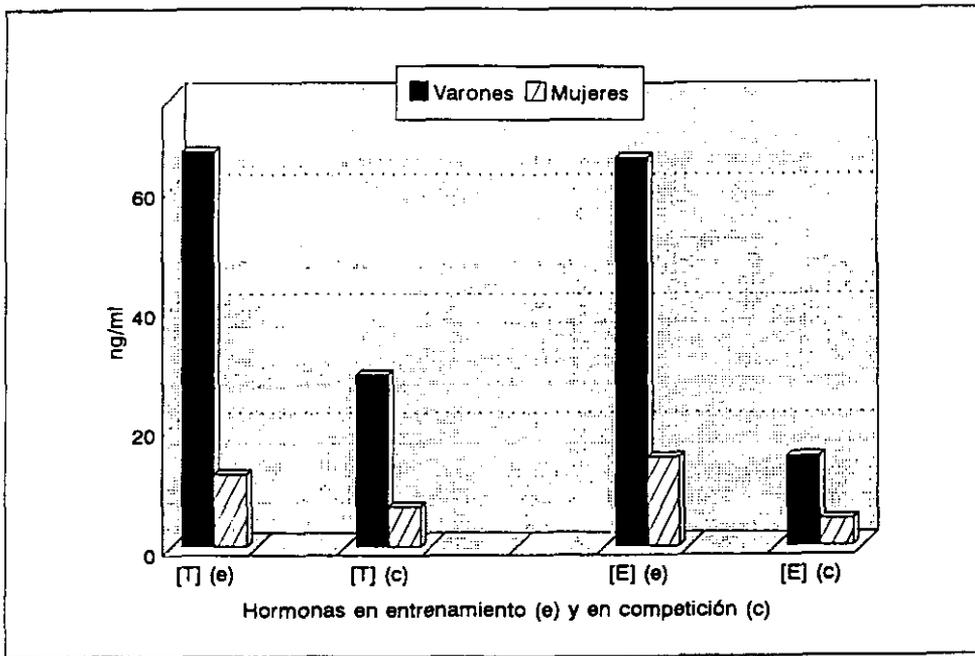
Concentraciones de endógenos	Varones (n=32)	Mujeres (n=28)
T (ng/ml)	28,6±23,0	6,6±4,3 **
E (ng/ml)	14,9±11,0	4,4±2,8
An (ng/ml)	3814,7±2931,7	2227,8±2120 +
Et (ng/ml)	3008,3±1577,3	2211,8±1324,6
OHAn (ng/ml)	401,3±230,3	284,2±207,1
OHEt (ng/ml)	286,3±189,5	226,6±220,5
<b>Relaciones de endógenos</b>		
T/E	2,1±1,3	1,3±0,6 *
An/Et	1,2±0,6	0,9±0,3 *
OHAn/OHEt	1,9±1,1	1,2±2,4

\*\* p<0,001; \* p<0,01; + p<0,05 (Test de Studen)

***Tabla XIII***

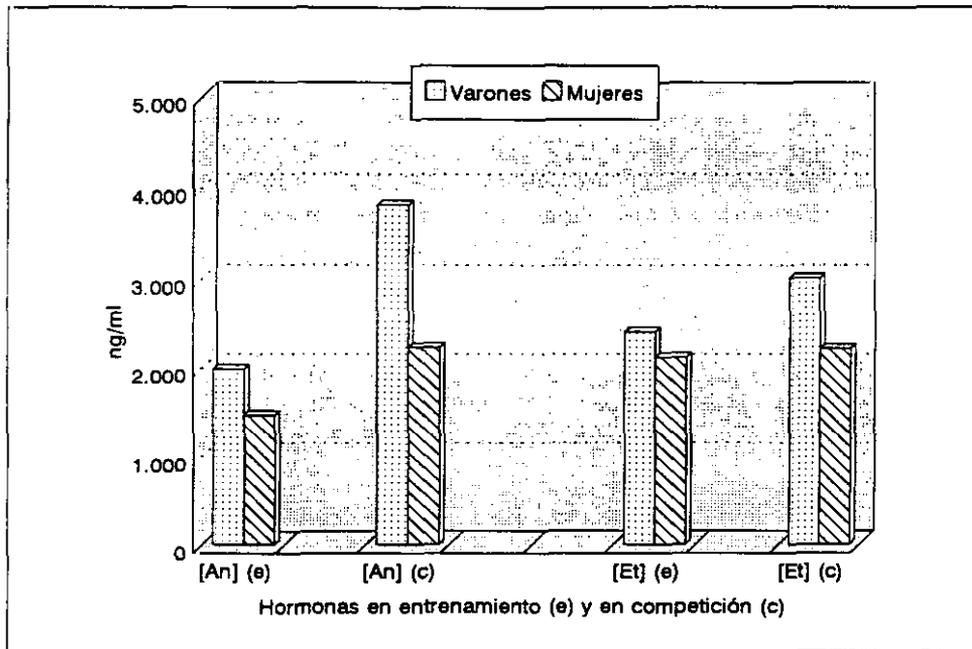
*Valores medios de concentraciones urinarias de endógenos y sus relaciones medidas en muestras de deportistas de diferente sexo recogidas en competición*

En las *figuras 60, 61, 62 y 63* se presentan gráficamente los parámetros más significativos de los resultados de estas comparaciones.



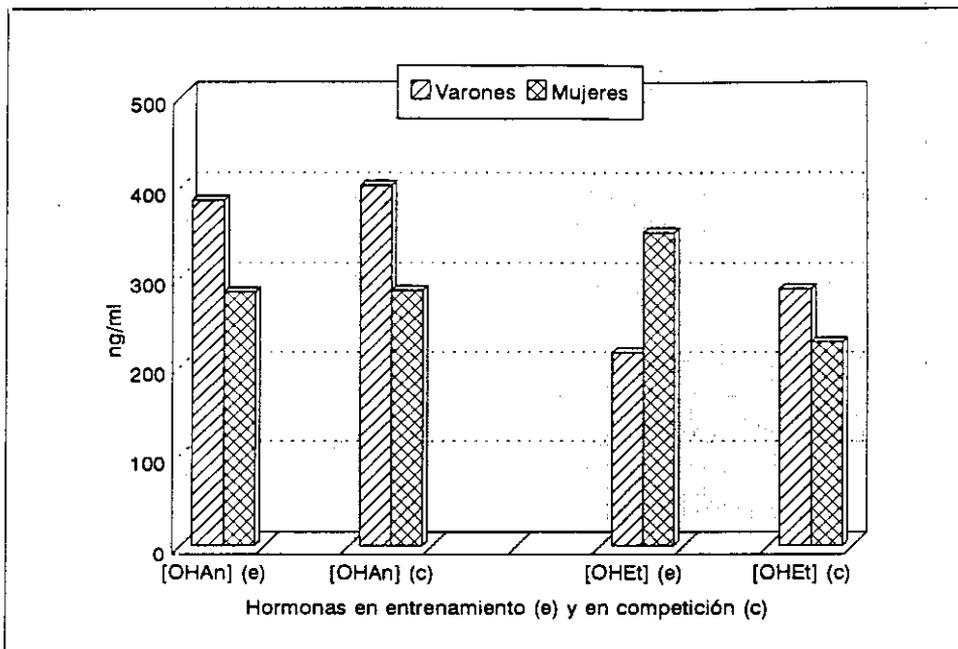
**Figura 60**

*Concentraciones medias de [T] y [E] en varones y mujeres en fase de entrenamiento preolímpico y en competición*



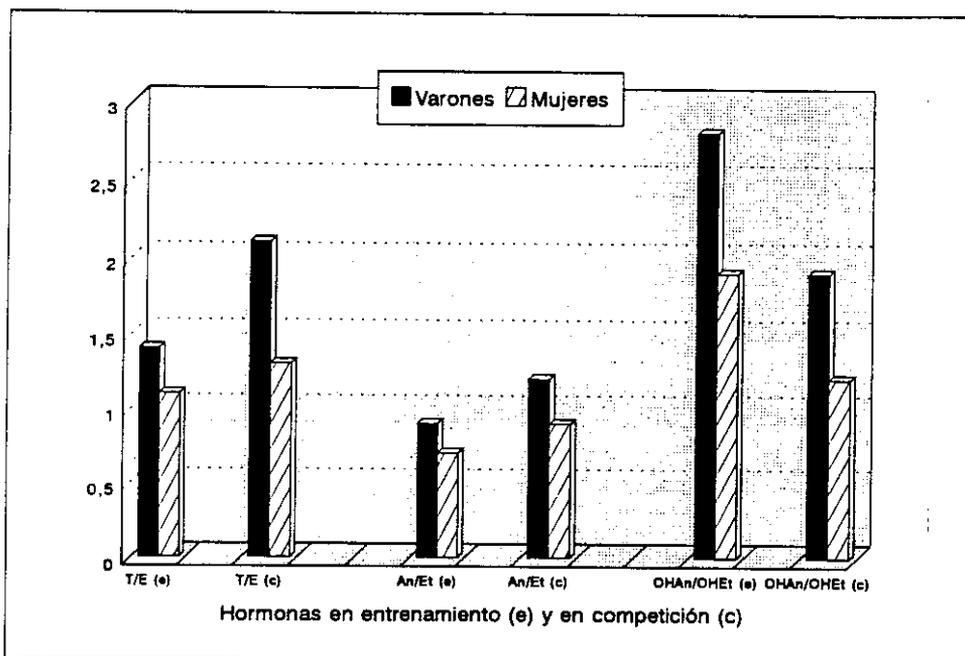
**Figura 61**

*Concentraciones medias de [An] y [Et] en varones y mujeres en fase de entrenamiento preolímpico y en competición*



**Figura 62**

*Concentraciones medias de [OHAn] y [OHET] en varones y mujeres en fase de entrenamiento preolímpico y en competición*



**Figura 63**

*Concentraciones medias de relaciones entre endógenos en varones y mujeres en fase de entrenamiento preolímpico y en competición*

### Discusión y conclusiones

Es conocido que la producción de hormonas androgénicas en la mujer es cuantitativamente menor que en el hombre<sup>11</sup>. Por ello, tal como se puede observar, en ambos estudios los valores medidos en las deportistas femeninas son inferiores a los correspondientes de los deportistas masculinos (excepto en la **11-hidroxi-etioanolona** de las muestras recogidas fuera de competición), aunque las diferencias relativas no influyen para convertir en errónea una  $R_{T/E}$  en los casos límites de dopaje por **testosterona**.

También ha de tenerse en cuenta que, en general, los valores obtenidos en competición son inferiores a los obtenidos en las respectivas muestras recogidas fuera de competición, excepto en los casos de **T/E** y **An/Et**, los cuales tanto en varones como en mujeres son ligeramente superiores en las muestras de competición.

Por tanto el sexo va a influir tanto sobre el **P.H.E.**, en el sentido de una disminución cuantitativa de las sustancias que lo integran, como en la relación **T/E**, que disminuye en las muestras tomadas tras competir.

### IV.3.1.2. Influencia del ritmo circadiano hormonal

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

### Resultados

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

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

Tabla XIV

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

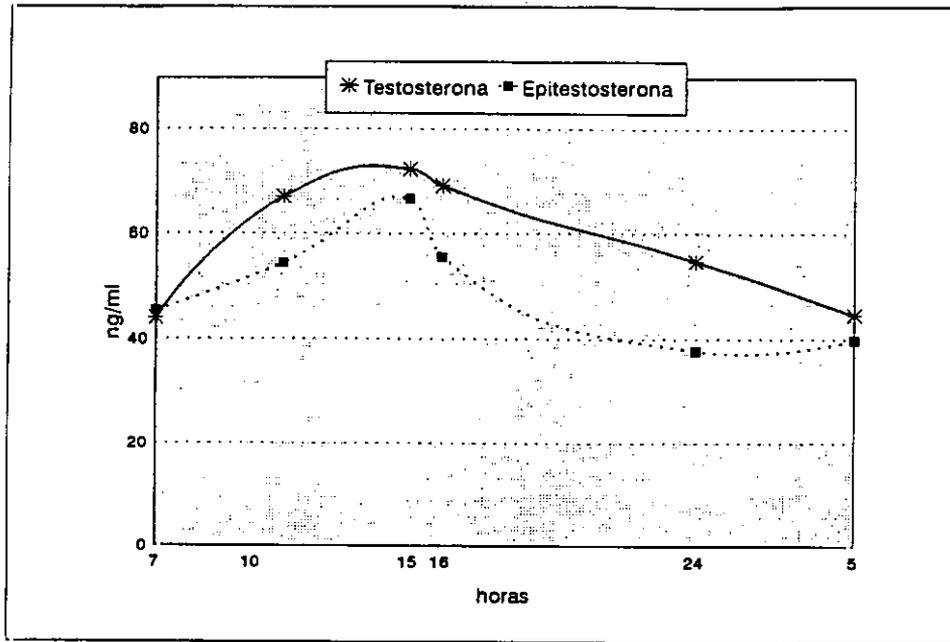
Concentración de endógenos (ng/ml)	7 h.	9 h.	15 h.	18 h.	22 h.	24 h.	2 h.	5 h.	Mezcla
Testosterona	1,9	8,8	3,1	2,9	4,2	10,2	3,2	3,8	3,5
Epitestosterona	4,3	13,6	5,5	6,8	10,7	23,1	9,1	13,7	8,2
Androsterona	803,7	2441,7	1418,1	1531,3	1986,7	4727,4	2375,7	3140,7	1360,8
Etiocolesterolona	767,0	2502,2	1127,5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

**Tabla XV**

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

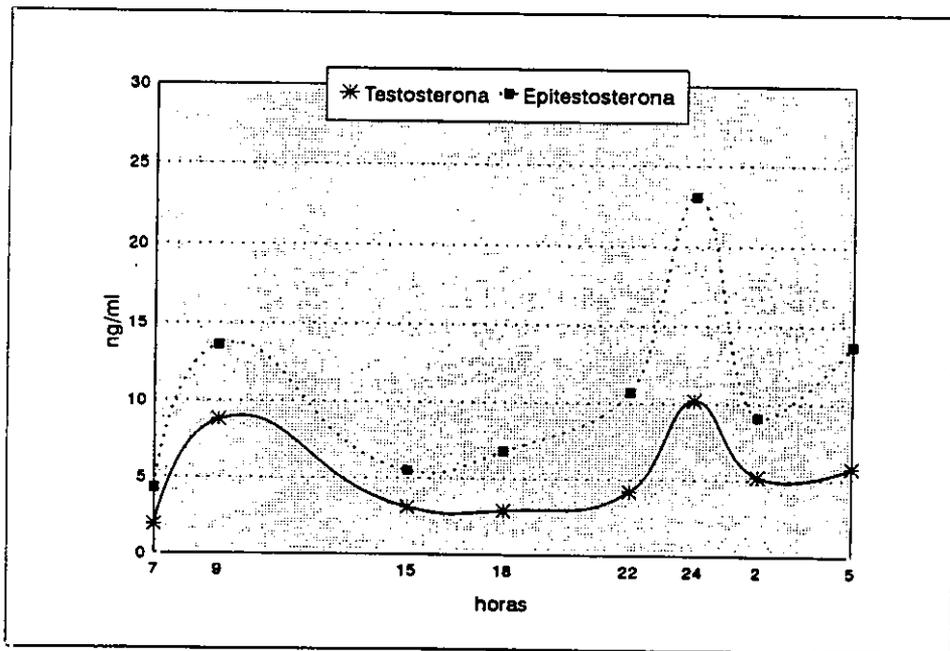
Además se puede observar que existen diferencias en el caso de la  $R_{T/E}$ , que llegan en el hombre al 149,48% y en la mujer al 160%. Estas diferencias incluso son mayores para otras relaciones (en  $R_{An/Et}$  del 194,52% para el hombre y del 195,20% para la mujer) y sobre todo para algunas concentraciones, sobre todo en la mujer (536,8% para la [T] y 537,2% para la [E]).

En las *figuras 64 - 71* se representan gráficamente estos datos.



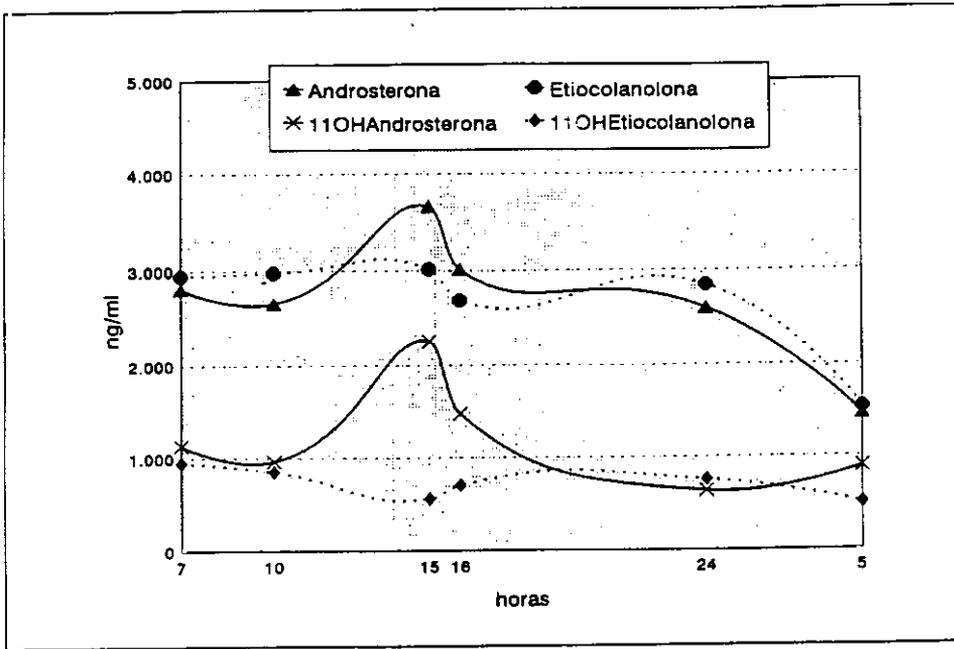
**Figura 64**

*Concentraciones de T y E en muestras de orina de varón recogidas en diferentes horas del ciclo circadiano*



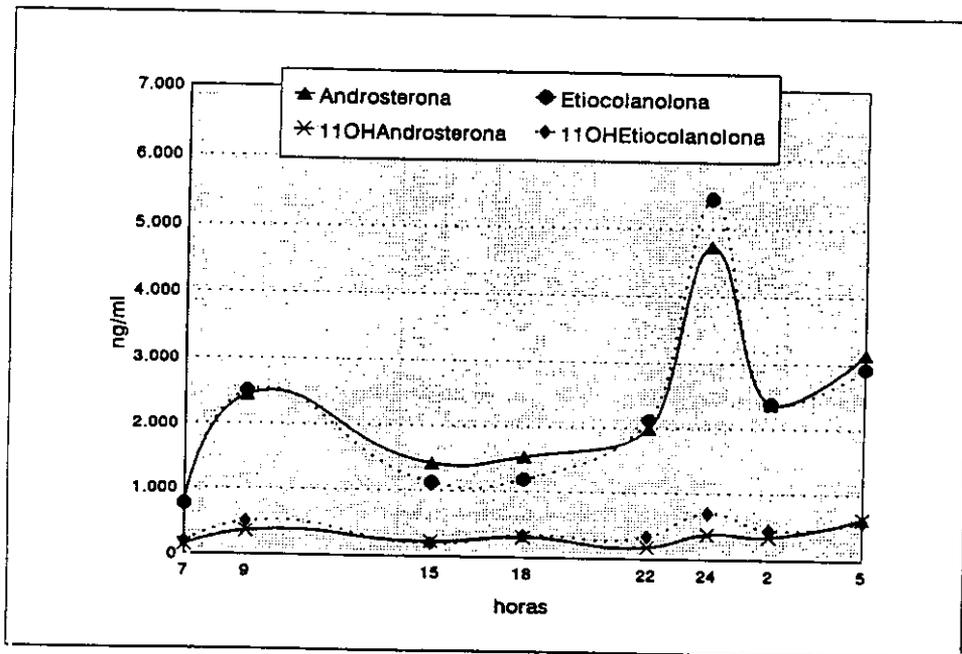
**Figura 65**

*Concentraciones de T y E en muestras de orina de mujer recogidas en diferentes horas del ciclo circadiano*



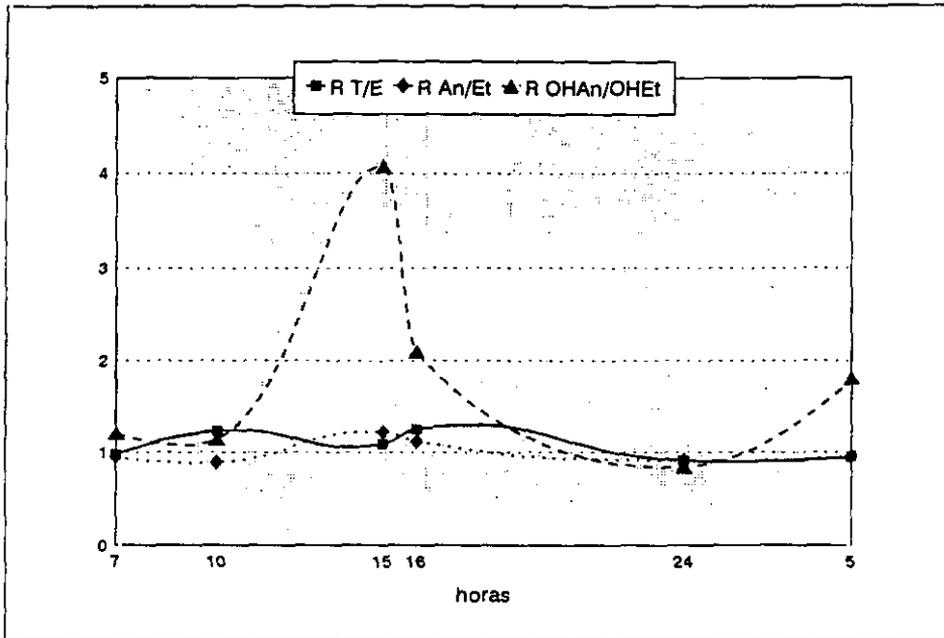
**Figura 66**

*Concentraciones de An, Et, OHAn y OHEt en muestras de orina de varón recogidas en diferentes horas del ciclo circadiano*



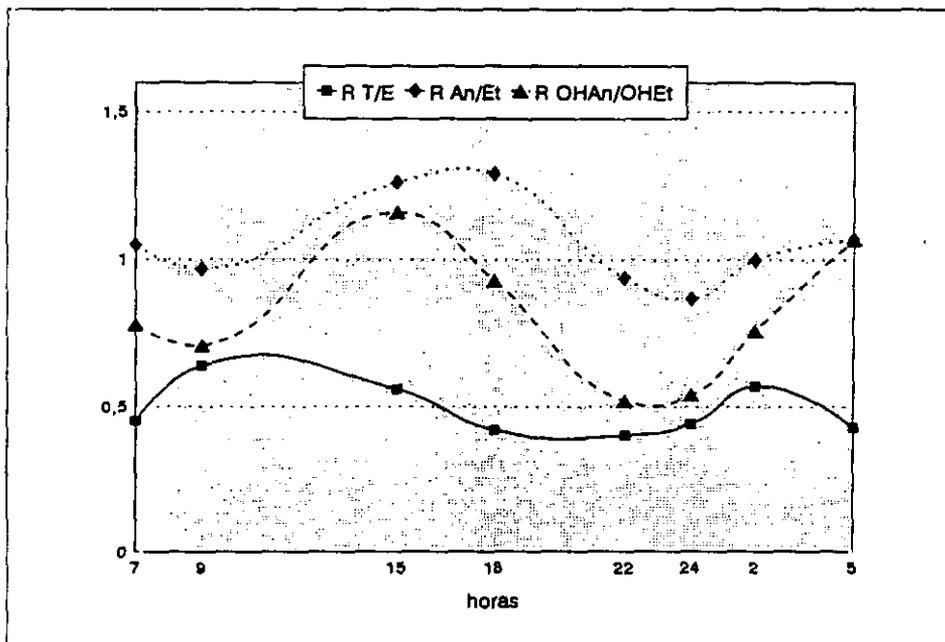
**Figura 67**

*Concentraciones de An, Et, OHAn y OHEt en muestras de orina de mujer recogidas en diferentes horas del ciclo circadiano*



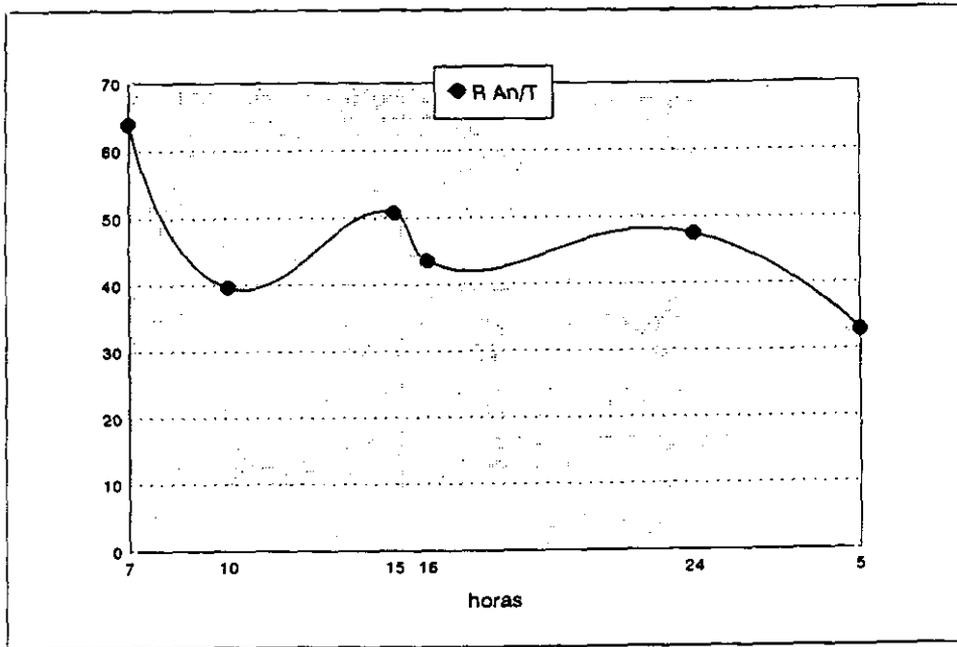
**Figura 68**

*Relaciones clásicas de endógenos en muestras de orina de varón recogidas en diferentes horas del ciclo circadiano*



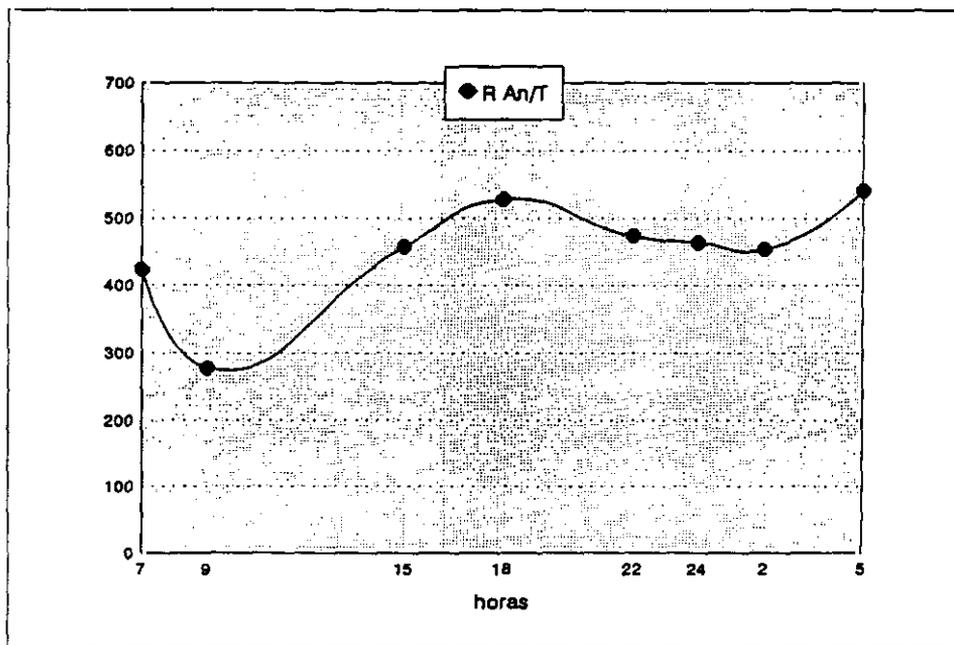
**Figura 69**

*Relaciones clásicas de endógenos en muestras de orina de mujer recogidas en diferentes horas del ciclo circadiano*



***Figura 70***

*Relación An/T en muestras de orina de varones recogidas en diferentes horas del ciclo circadiano*



***Figura 71***

*Relación An/T en muestras de orina de mujeres recogidas en diferentes horas del ciclo circadiano*

### Discusión y conclusiones

Las diferencias que se han encontrado en los resultados confirman que efectivamente el *ritmo circadiano hormonal* ejerce también una determinada influencia en las hormonas eliminadas por la orina; y aunque las diferencias no sean excesivas, el hecho en sí obliga a considerar que, al recoger en un control del dopaje una orina emitida en un momento indeterminado y variable del ciclo circadiano, puede ocurrir que haya casos extremos en que se mida una  $R_{T/E}$  máxima o mínima.

En consecuencia, en unas circunstancias límites de dopaje, con una relación T/E aproximada a 6, si la toma de la muestra coincide con el valor T/E máximo no hay problema; pero si la muestra corresponde al valor mínimo, se puede llegar a emitir un resultado *positivo* como *negativo*, si no se tiene en cuenta ningún otro parámetro del P.H.E. que pueda aportar una información complementaria respecto a la posibilidad de una elevación artificial de la concentración de **testosterona** en el organismo.

#### **IV.3.1.3. Influencia de la edad**

En los últimos años algunos deportistas han presentado recursos en casos de controles declarados positivos por  $T/E > 6$ , basándose en la posibilidad de que en estados puberales, en algún momento indeterminado sin relación con la edad del púber, se incremente la producción de **testosterona** sin que aparezca un incremento similar en la excreción de **epitestosterona**.

Buscando si el **P.H.E.** podía verse influenciado por la edad, hasta el punto de que pudiera falsearse en algún caso el resultado de un control del dopaje basado sólo en la  $R_{T/E}$ , se han realizado dos estudios al respecto.

##### **i. Primer estudio**

En primer lugar, se trabajó con una población constituida por un grupo de adolescentes varones, con una edad media de  $16 \pm 1,9$  años, estudiantes de BUP, sin relación con el deporte de competición y con la actividad física y deportiva normales en su ámbito. Se efectuó la medida de las relaciones de las concentraciones de los esteroides endógenos **testosterona** y **epitestosterona** y se realizó una comparación con los obtenidos en análisis de control de dopaje en una población de 2496 deportistas federados, practicantes de 23 deportes diferentes.

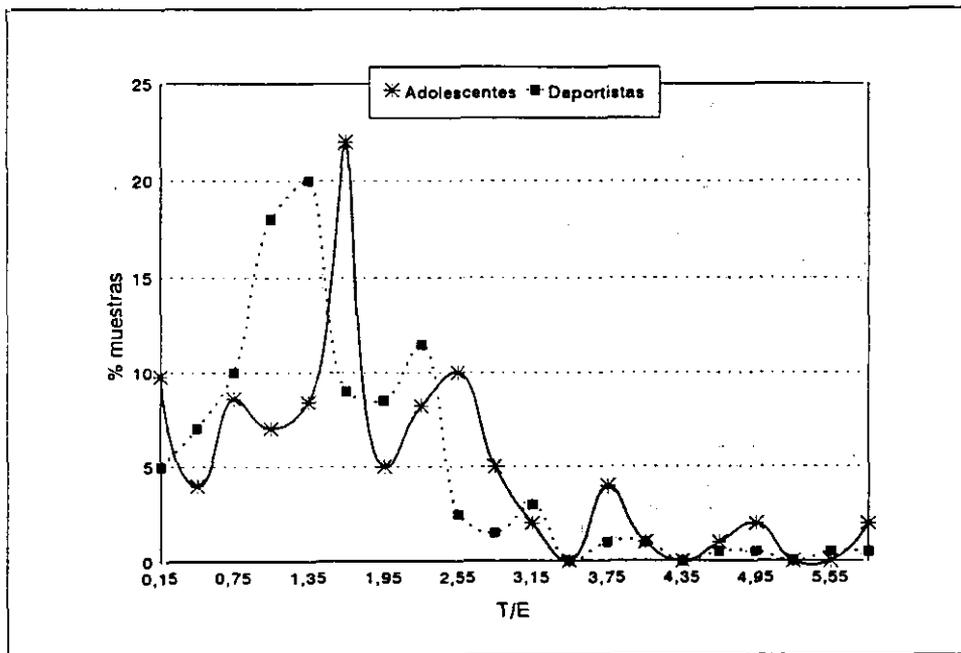
### i. Resultados

En la figura 72 se representan gráficamente los resultados correspondientes a la distribución porcentual de la  $R_{T/E}$  en las dos poblaciones estudiadas:

\* Adolescentes (n=52)

\* Deportistas federados de 23 deportes (n=2.496)

En esta figura se aprecia efectivamente que la relación T/E es superior en los adolescentes respecto a los deportistas maduros.



**Figura 72**

*Distribución porcentual de los valores del cociente T/E medidos en muestras de orina de adolescentes y de deportistas federados*

## ii. Segundo estudio

Ante los resultados obtenidos en el primer estudio, se repitió el estudio con un grupo de 97 adolescentes, desglosados por edades de la forma siguientes:

Estudiantes de 14 años (n=30)

Estudiantes de 15 años (n=33)

Estudiantes de 16 años (n=18)

Estudiantes de 17-19 años (n=16)

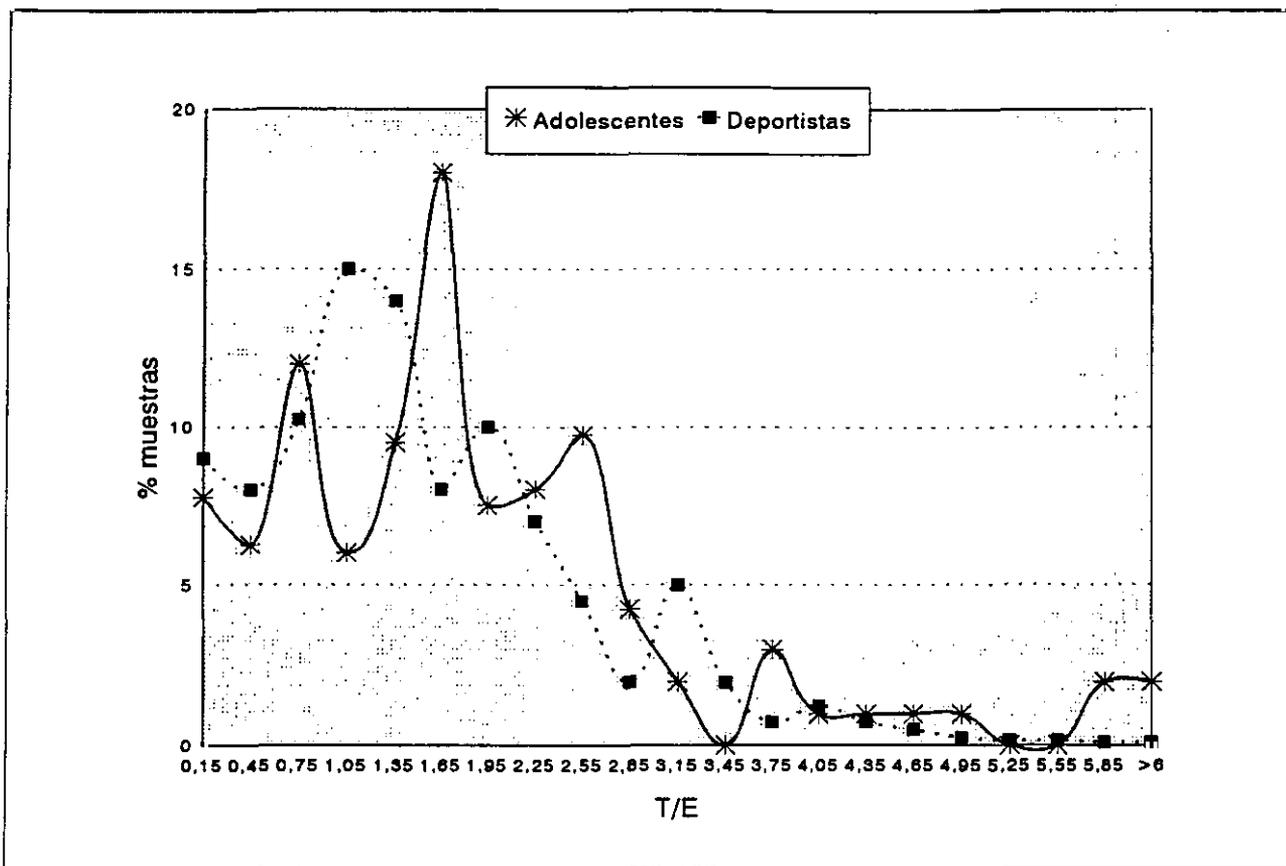
El estudio comparativo se realizó con los valores de T/E medidos en las muestras de 3.201 deportistas federados de 8 deportes diferentes (atletismo, ciclismo, esgrima, fisicoculturismo, fútbol, halterofilia, piragüismo y taekwondo).

## ii. Resultados

En la figura 73 se representa gráficamente la distribución porcentual de los valores de T/E en ambos grupos, volviéndose a repetir una distribución similar a la de la figura 72:

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

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

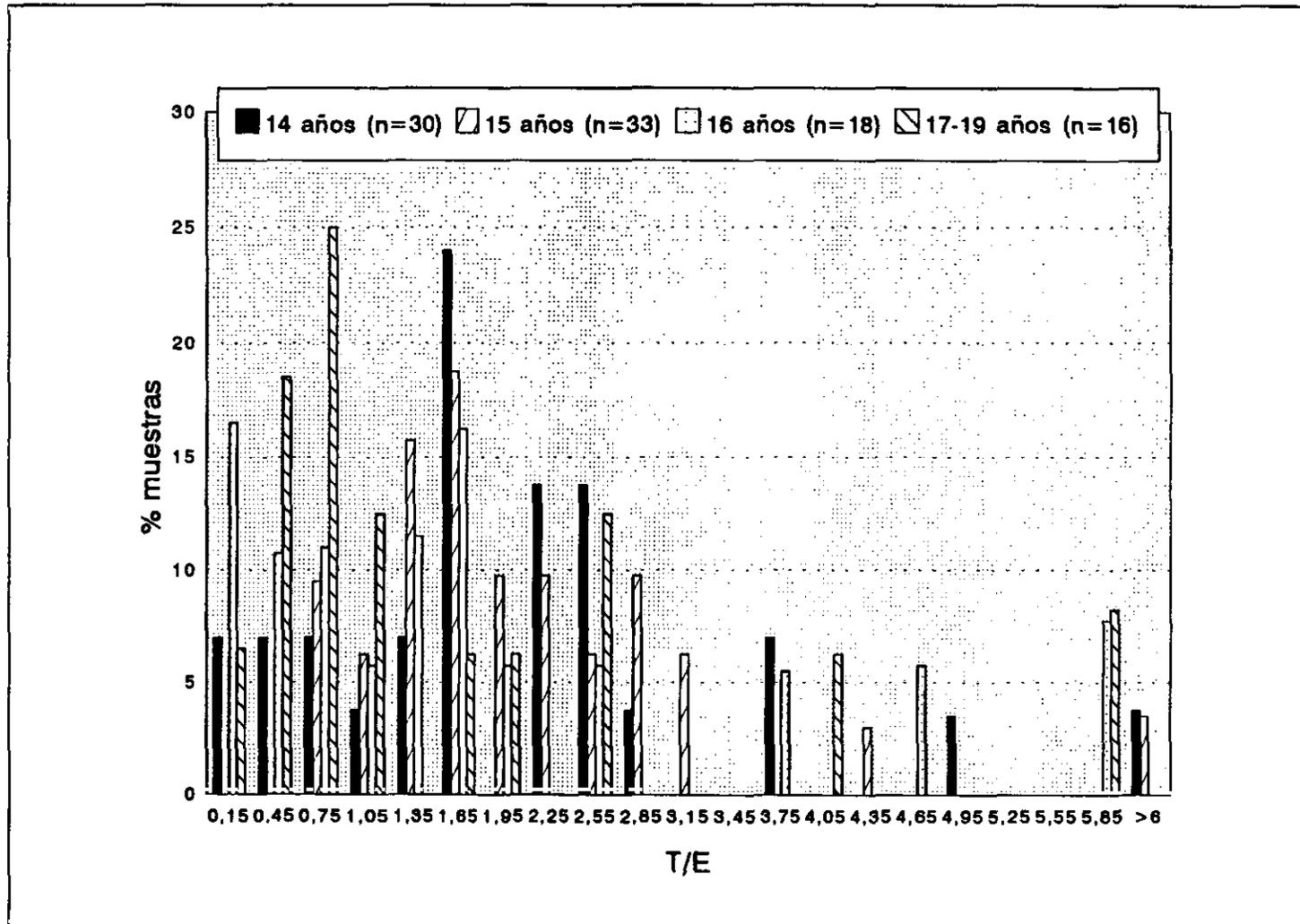


**Figura 73**

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

En la figura 74 se presenta la distribución de las relaciones T/E medidas en los subgrupos puberales diferenciados por la edad (14, 15, 16 y 17-19 años).

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



**Figura 74**

*Distribución de los valores T/E medidos en muestras de adolescentes puberales, agrupados según edades*

### Discusión y conclusiones

Los resultados obtenidos en los dos estudios realizados descubren la posibilidad de que algunos casos de  $R_{T/E}$  superiores a 6 no sean debidos a un dopaje por administración de **testosterona** o a inducción de su secreción endógena por medios artificiales, sino que fisiológicamente puede ocurrir que en algún momento del desarrollo puberal, específicamente del varón, las intensas modificaciones hormonales que se producen pueden causar una descarga de **testosterona** que no es paralela a la de **epitestosterona**, originando un pasajero y reversible desequilibrio entre las concentraciones de ambas hormonas endógenas<sup>295, 299</sup>.

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

**IV.3.2. Estudio de los posibles efectos que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo pueden ejercer diversos factores extrínsecos**

**IV.3.2.1. Influencia de la intensidad de la actividad física realizada**

Al basarse esta tesis en la búsqueda de una aportación para resolver un problema específico del deporte, y por consiguiente del deportista, se consideró la conveniencia de estudiar la posible influencia que los diferentes grados de actividad física pueden ejercer sobre los parámetros de P.H.E.

En principio se realizó un estudio de la distribución porcentual de las relaciones entre las concentraciones de los andrógenos endógenos medidos en el perfil hormonal esteroideo en las siguientes tres poblaciones:

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

En las **tablas XVI, XVII, XVIII, XIX, XX y XXI** se presentan las **descripciones estadísticas** de las concentraciones de esteroides endógenos y de las relaciones de dichas concentraciones.

## Resultados

ESTEROIDE ENDOGENO	Media (ng/ml)	Desviación estándar	Coefficiente variación (%)	Mínimo (ng/ml)	Máximo (ng/ml)	Mediana (ng/ml)
Testosterona (T)	62,49	46,48	74,38	30,01	180,5	44,41
Epitesterona (E)	76,04	50,58	66,52	19,72	193,2	64,98
cis-Androsterona (An)	3189,91	1527,6	47,89	1440	6016	2711
Etiocolanolona (Et)	2058,45	1054,47	51,23	1218	5090	1928
11hidroxiandrosterona (OHAn)	550,26	848,05	154,12	48,6	2981	234,6
11hidroxietiocolanolona (OHEt)	401,36	553,56	137,92	61,1	2027	275,3

**Tabla XVI**

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

ESTEROIDE ENDOGENO	Media (ng/ml)	Desviación estándar	Coefficiente variación (%)	Mínimo (ng/ml)	Máximo (ng/ml)	Mediana (ng/ml)
Testosterona (T)	44,74	5,94	18,31	8,82	153,3	39,68
Epitesterona (E)	44,80	24,87	55,51	3,89	91,29	41,24
cis-Androsterona (An)	3194,56	2116,89	66,27	431,1	8507	2884,5
Etiocolanolona (Et)	3720,82	2272,6	61,08	627,1	9999,9	3465
11hidroxiandrosterona (OHAn)	334,09	480,41	143,80	10,8	2527	218,5
11hidroxietiocolanolona (OHEt)	558,31	376,24	67,39	6	1528	547,9

**Tabla XVII**

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

ESTEROIDE ENDOGENO	Media (ng/ml)	Desviación estándar	Coef. variación (%)	Mínimo (ng/ml)	Máximo (ng/ml)	Mediana (ng/ml)
Testosterona (T)	41,39	24,85	60,04	1,54	101,4	39,72
Epitestosterona (E)	29,32	18,85	64,29	4,2	89,6	25,29
cis-Androsterona (An)	1581,98	948,91	59,98	258	4498	1450
Etiocolanolona (Et)	1416,67	782,31	55,22	420,9	4205	1326
11hidroxiandrosterona (OHAn)	421,60	315,08	74,73	19,9	1491	331,8
11hidroxietiocolanolona (OHEt)	205,58	150,54	73,22	24	699,7	163,9

***Tabla XVIII***

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

COCIENTES DE ESTEROIDES	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
T/E	0,93	0,52	55,91	0,48	2,25	0,82
An/Et	1,70	0,94	55,29	0,72	3,57	1,32
OHAn/OHEt	1,55	1,53	98,71	0,15	5,79	1,08

***Tabla XIX***

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

COCIENTES DE ESTEROIDES	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
T/E	1,41	0,94	66,67	0,28	4,04	1,02
And/Et	0,68	0,24	35,29	0,28	1,45	0,66
OHA <sub>n</sub> /OHE <sub>t</sub>	0,64	0,48	75,00	0,20	1,73	0,42

***Tabla XX***

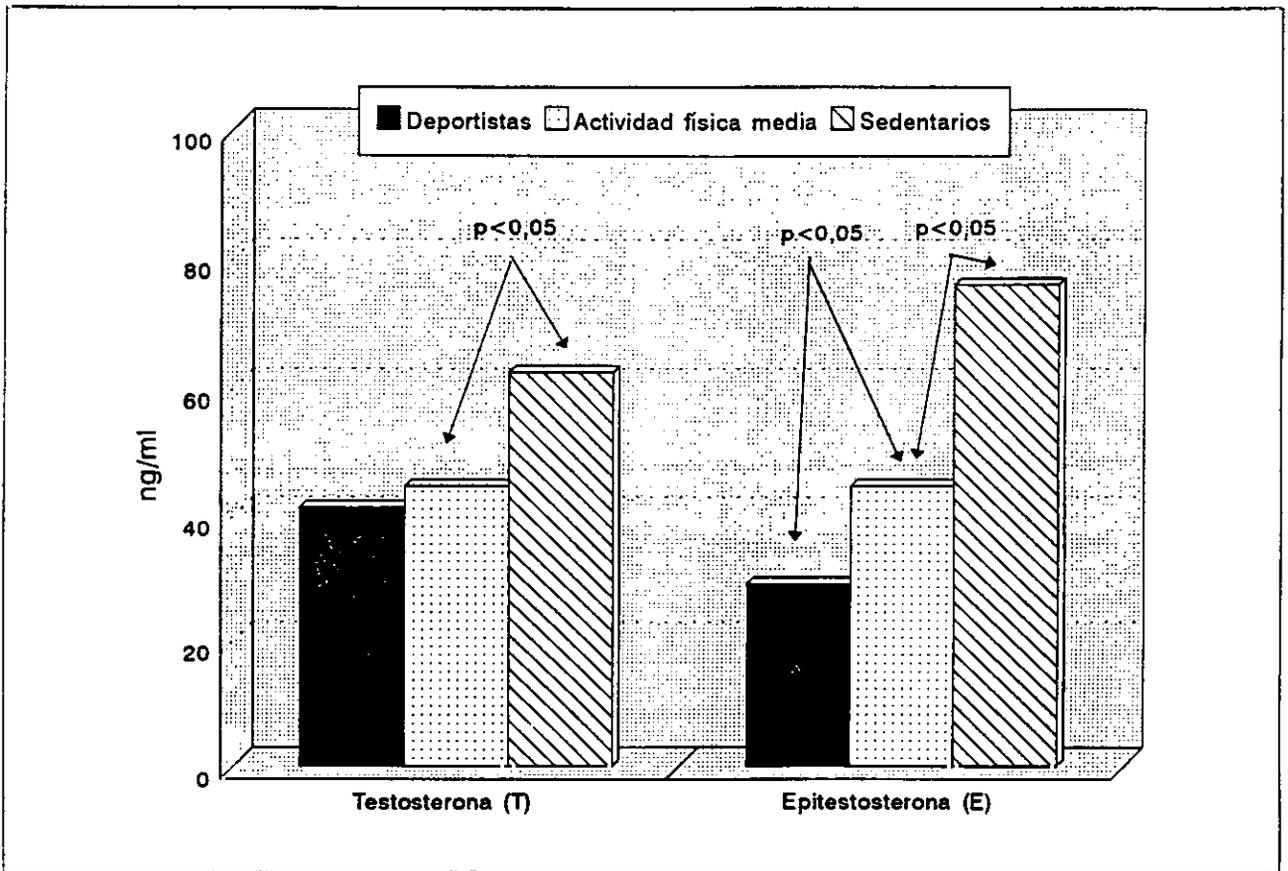
*Descripción estadística de los cocientes entre las concentraciones urinarias de endógenos medidas dentro del perfil hormonal esteroideo a una población con una actividad física media*

COCIENTES DE ESTEROIDES	Media	Desviación estándar	C.V. (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
T/E	1,90	1,28	67,37	0,13	4,75	1,48
And/Et	1,18	0,49	41,53	0,24	2,42	1,10
OHA <sub>n</sub> /OHE <sub>t</sub>	2,21	1,27	57,47	0,78	6,68	1,89

***Tabla XXI***

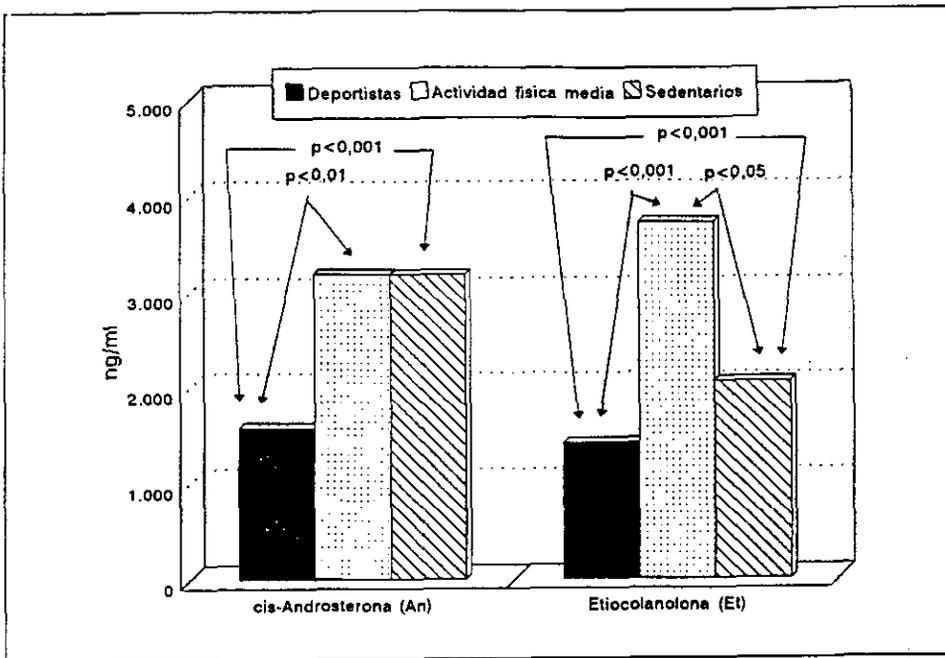
*Descripción estadística de los cocientes entre las concentraciones urinarias de endógenos medidas dentro del perfil hormonal esteroideo a una población con una intensa actividad física*

Para representar gráficamente estos valores, se han elegido los dos grupos más significativos (los de intensa y escasa actividad física) para comparar los valores medios urinarios de las concentraciones de los esteroides andrógenos endógenos identificados (*figuras 75, 76 y 77*) y de los cocientes entre estas concentraciones (*figura 78*).



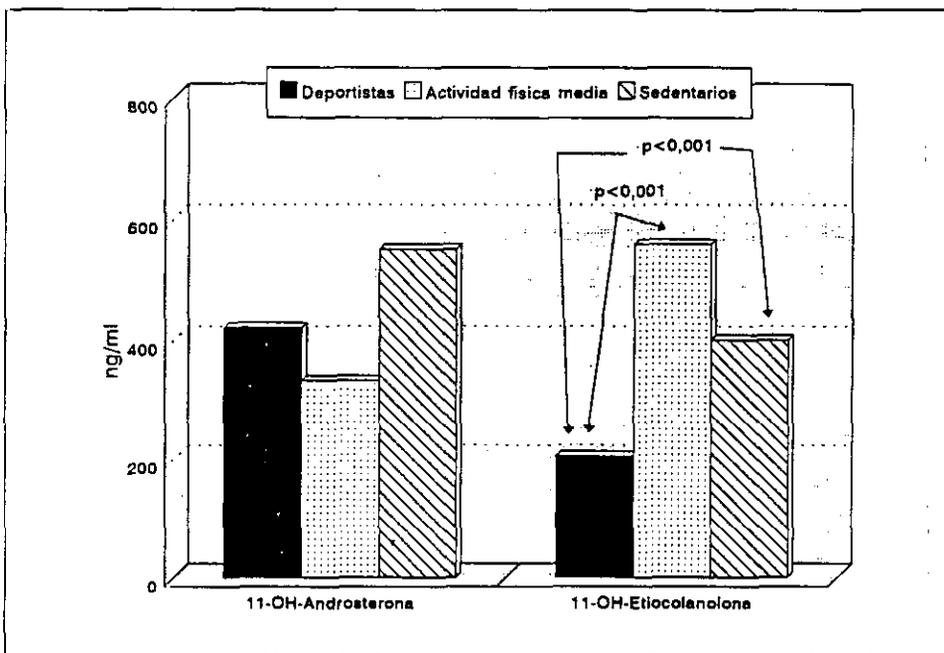
**Figura 75**

*Valores medios urinarios de [T] y [E] en dos grupos de población con distinto grado de actividad física*



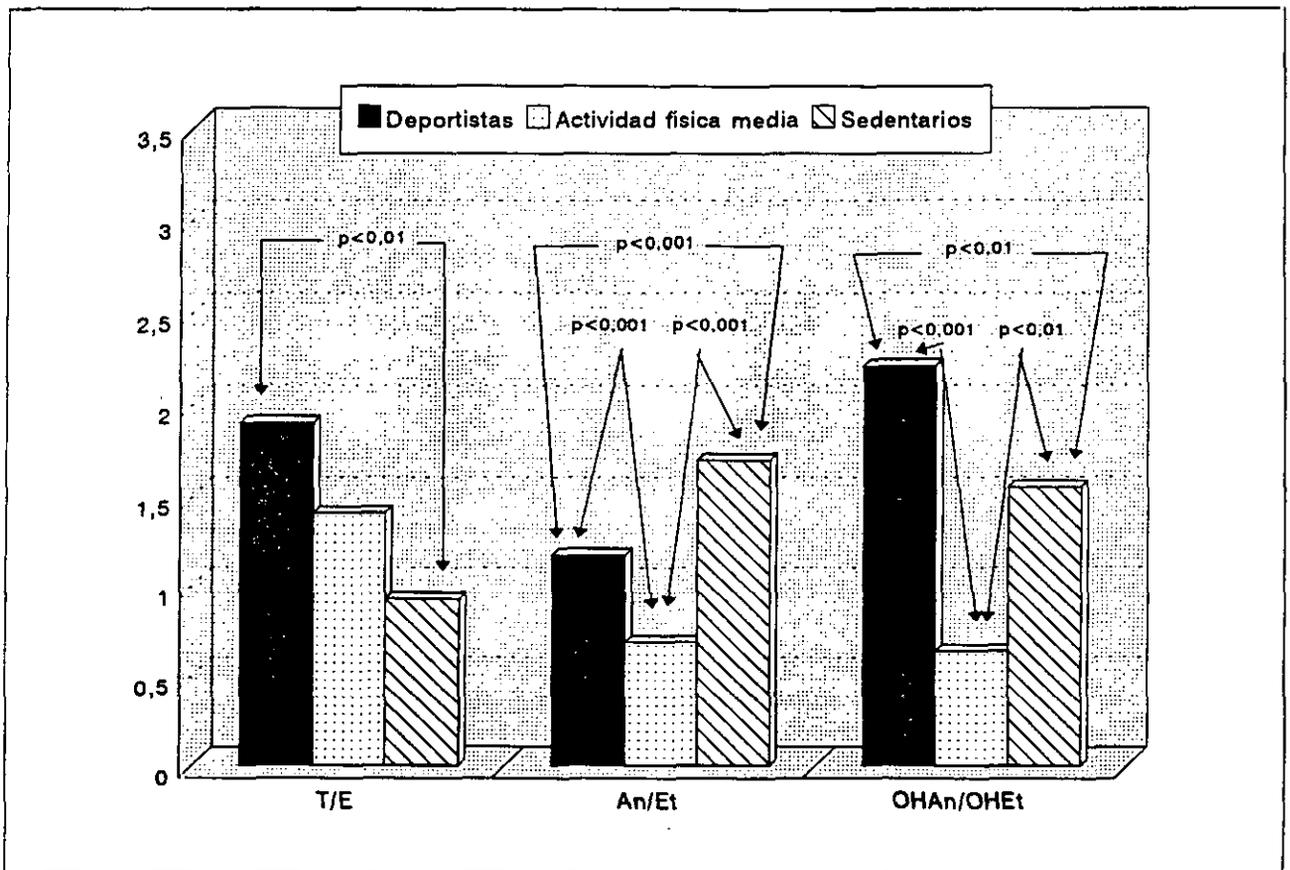
**Figura 76**

*Valores medios urinarios de [An] y [Et] en dos grupos de población con distinto grado de actividad física*



**Figura 77**

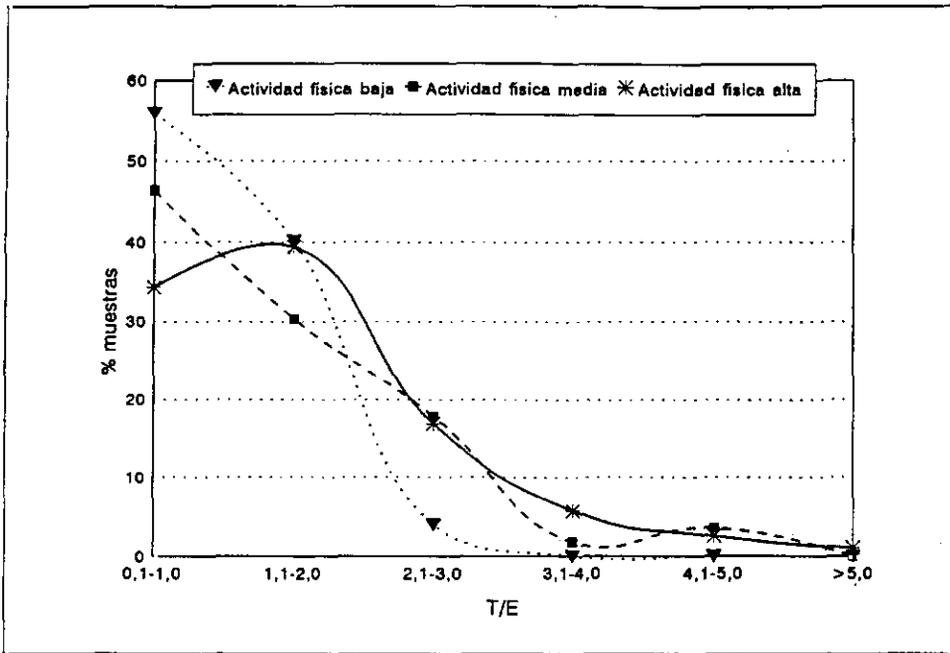
*Valores medios urinarios de [OHAn] y [OHEt] en dos grupos de población con distinto grado de actividad física*



***Figura 78***

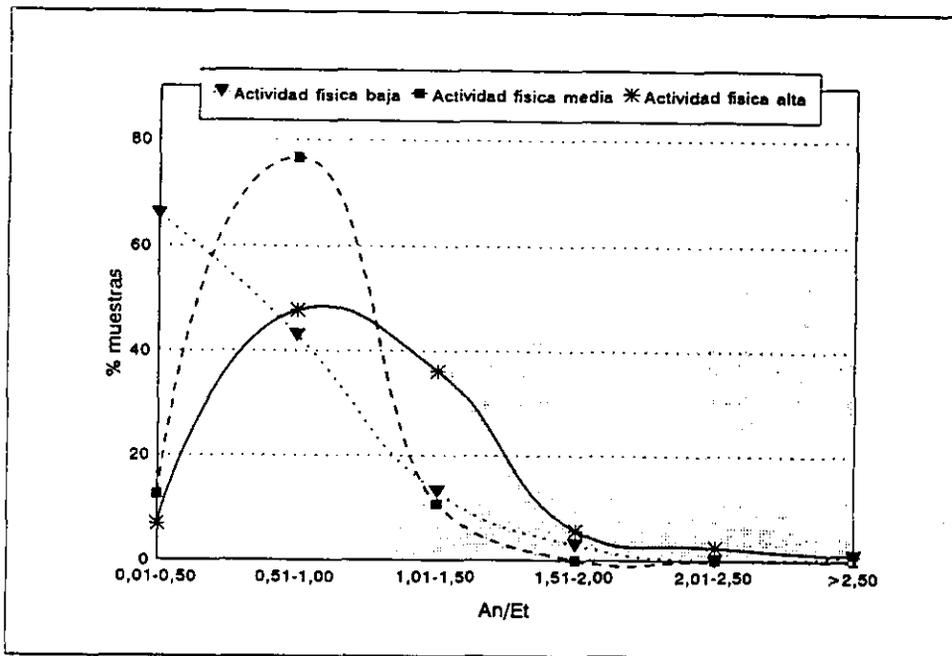
*Valores medios de los cocientes entre las concentraciones urinarias de endógenos en dos grupos de población con distinto grado de actividad física*

Los valores urinarios de los cocientes T/E, An/Et y OHAn/OHEt correspondientes a su distribución porcentual en cada población de los tres grupos, se representan en las *figuras 79, 80 y 81*.



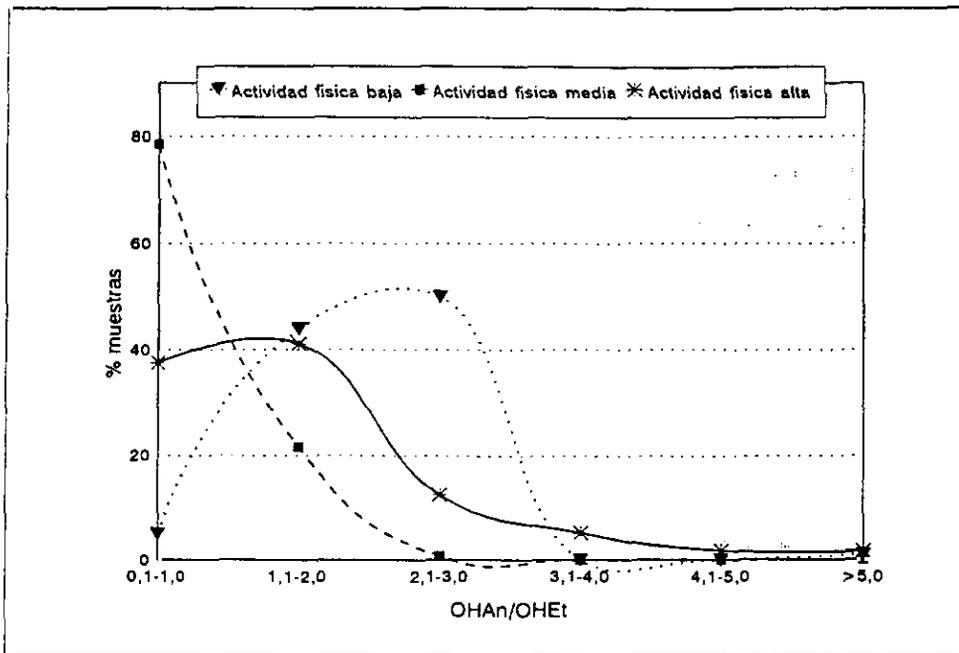
**Figura 79**

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



**Figura 80**

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



***Figura 81***

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

Realizado un estudio comparativo entre los tres grupos (*t de Student*), se ha encontrado que:

1º) Entre el grupo de intensa actividad física y el de actividad física moderada existe:

- Una disminución, en el grupo de deportistas de actividad física intensa, en las concentraciones de **etiocolanolona** ( $p < 0,001$ ), **11-hidroxietiocolanolona** ( $p < 0,001$ ), **androsterona** ( $p < 0,01$ ) y **epitestosterona** ( $p < 0,05$ ).

► En cuanto a las relaciones, se encuentra un aumento de las tres valoradas, aunque únicamente con significación estadística en An/Et ( $p < 0,001$ ) y OHAn/OHEt ( $p < 0,001$ ).

2º) Entre el grupo de actividad física moderada y el sedentario existen:

► Unos niveles más elevados, tanto de **testosterona** como de **epitestosterona** ( $p < 0,05$ ) entre los sedentarios.

► Sin embargo, la **etiocolanolona** presenta unos niveles inferiores en el grupo de sedentarios ( $p < 0,05$ ) frente al de moderada actividad.

► Únicamente las relaciones An/Et ( $p < 0,001$ ) y OHAn/OHEt ( $p < 0,01$ ) presentaron niveles significativamente superiores en el grupo de moderada actividad.

3º) Entre el grupo de **intensa actividad física** y el **sedentario** existe:

► Una disminución general en la concentración de todos los parámetros en el grupo de deportistas, alcanzando significación en la **etiocolanolona** ( $p < 0,001$ ), **11-hidroxi-etiolanolona** ( $p < 0,001$ ) y **androsterona** ( $p < 0,01$ ).

- ▶ En cuanto a las relaciones se produce elevación de las relaciones T/E y OHAn/OHEt ( $p < 0,001$ ) y un descenso de la relación An/Et ( $p < 0,001$ ) en los deportistas con respecto a los sedentarios.

### Discusión y conclusiones

Valorando los datos presentados, se puede observar, por lo general y con algunas excepciones, que las concentraciones de los esteroides andrógenos endógenos son más bajas en los grupos que desarrollan alguna actividad física que en el integrado por una población sedentaria. Ello está en relación con la disminución plasmática de estas hormonas en deportistas. Sin embargo, las relaciones entre dichas concentraciones (no en An/Et), se elevan a la inversa.

No obstante, los incrementos relativos que se producen, cercanos al 200%, con las reservas propias consecuentes a que se obtienen de comparar poblaciones diferentes, hacen considerar que los estudios en poblaciones sedentarias no pueden ni deben extrapolarse a poblaciones deportivas, y que por tanto la actividad física, y probablemente el grado de entrenamiento, tienen influencia directa sobre el P.H.E. y la relación T/E.

#### IV.3.2.2. Influencia del entrenamiento de fuerza en mujeres

El entrenamiento de las distintas cualidades físicas básicas del individuo (fuerza, velocidad, resistencia) puede tener influencia en sus sistemas hormonales, y con ello en la eliminación urinaria de las hormonas que los integran. Por ello valoraremos las variaciones que del P.H.E. se producen en relación a los distintos deportes que utilizan, en diferente proporción, dichas cualidades básicas.

Ante la constancia que el entrenamiento deportivo produce adaptaciones hormonales<sup>311,312</sup>, que las mujeres están menos estudiadas a este nivel que los varones, y puesto que el entrenamiento de fuerza en las mujeres se ha incrementado en los últimos 5 años, se consideró interesante estudiar las respuestas de este tipo de entrenamiento en mujeres, realizándose con este objetivo un trabajo con la siguiente población:

n = 11 mujeres

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

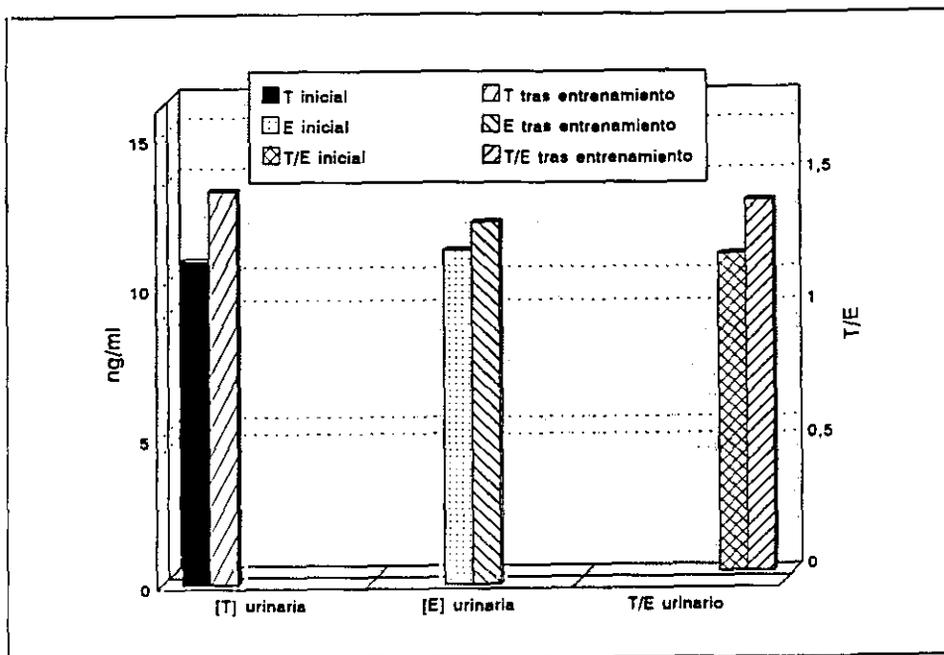
## Resultados

Los resultados obtenidos de este trabajo se recogen en la tabla XXII, representando en la figura 82 los correspondientes a la testosterona y epitestosterona.

	Valores medios iniciales	Valores medios en períodos de máximo entrenamiento	Correlación (t del test de Student)
<b>T plasmática (ng/ml)</b>	0,36±0,26	0,41±0,24	p<0,05
<b>T urinaria (ng/ml)</b>	10,87±12,03	13,21±11,97	p<0,001
<b>E urinaria (ng/ml)</b>	11,21±7,49	11,15±8,65	p<0,05
<b>An urinaria (ng/ml)</b>	1920,5±1678,3	2501,0±2323,1	p<0,05
<b>Et urinaria (ng/ml)</b>	2113,4±1924,2	2430,8±2528,8	n. s.
<b>OHAn urinaria (ng/ml)</b>	304,0±288,0	345,2±367,9	n. s.
<b>OHET urinaria (ng/ml)</b>	194,7±198,7	213,6±258,7	n. s.
<b>T/E</b>	1,2±1,4	1,4±1,3	p<0,01
<b>An/Et</b>	0,9±0,2	1,1±0,3	p<0,05
<b>OHAn/OHET</b>	1,8±1,4	1,9±1,2	n. s.

**Tabla XXII**

*Variaciones producidas en el perfil hormonal esteroideo de las mujeres por el entrenamiento de fuerza*



***Figura 82***

*Comparación de las concentraciones de testosterona y epitestosterona, y de sus cocientes, antes y después de un período de máximo entrenamiento en mujeres*

**Discusión y conclusiones**

En nuestro grupo el entrenamiento ha producido un efecto que se traduce, además de en un aumento de la testosterona plasmática, como ocurre en otros trabajos<sup>291, 292, 311, 312</sup>, en un incremento en las concentraciones urinarias de endógenos, elevándose asimismo sus cocientes, lo cual coincide con la tendencia que presentan los resultados de comparar diferentes grupos con distinta actividad física. Sólo es necesario hacer la salvedad de que en este caso se están midiendo de inmediato los parámetros consecuentes al entrenamiento, lo cual en el tiempo pueden conducir a diferentes modificaciones del P.H.E.

#### **IV.3.2.3. Influencia del tipo de entrenamiento en varones**

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

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

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

Las características de las poblaciones estudiadas son las siguientes:

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

## Resultados

En la tabla XXIII se presentan los valores analíticos obtenidos.

	Atletismo (n=27)	Baloncesto (n=28)	Ciclismo (n=11)	Fútbol (n=20)	Halterofilia (n=248)	Deportes (varios) (n=432)
Testosterona	68,5±52,4	63,9±47,4	90,7±76,2	107,8±78,7	59,8±58,2	60,6±60,5
Epitestosterona	63,8±79,4	55,9±42,9	61,8±41,6	118,2±62,1	61,2±76,3	60,0±69,7
Androsterona	2298,1±1701,5	2622,4±1868,9	3119,1±2381,4	2957,2±1448,6	1451,4±949,0	1932,2±1579,9
Etiocolanona	2584,4±1624,0	2527,8±1313,2	4423,1±2523,6	3427,1±1707,0	1860,6±972,0	2373,5±1719,4
OHAandrosterona	294,9±369,0	443,6±495,1	513,2±584,4	518,2±349,6	328,8±313,5	375,5±363,9
OHEtiocolanona	526,1±953,3	163,7±169,7	172,3±113,9	428,0±353,5	141,0±118,4	228,4±477,1
T/E	1,7±1,2	1,6±1,2	1,8±1,7	1,0±0,6	1,4±1,3	1,3±1,1
An/E1	0,9±0,3	1,0±0,5	0,7±0,2	0,9±0,4	0,8±0,4	0,8±0,4
OHA <sub>n</sub> /OHE <sub>1</sub>	3,6±9,5	3,0±3,3	3,6±3,5	1,0±0,8	3,0±2,5	2,8±3,3

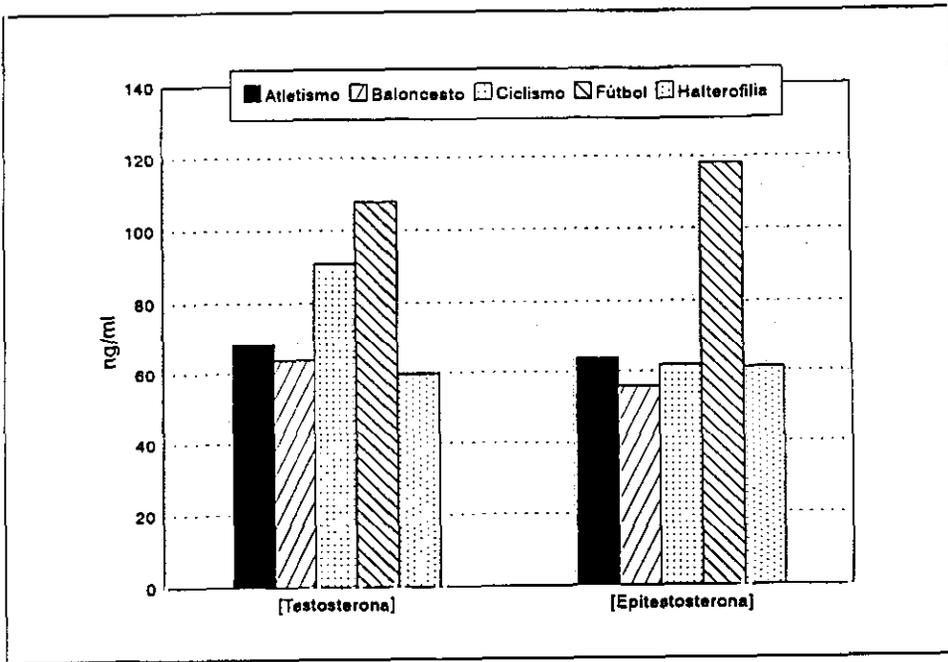
**Tabla XXIII**

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

Al efectuar el estudio estadístico comparativo entre los diferentes grupos mediante el test de la "t de Student", se presentaron, entre los resultados, las siguientes relaciones al comparar cada deporte con las medias totales:

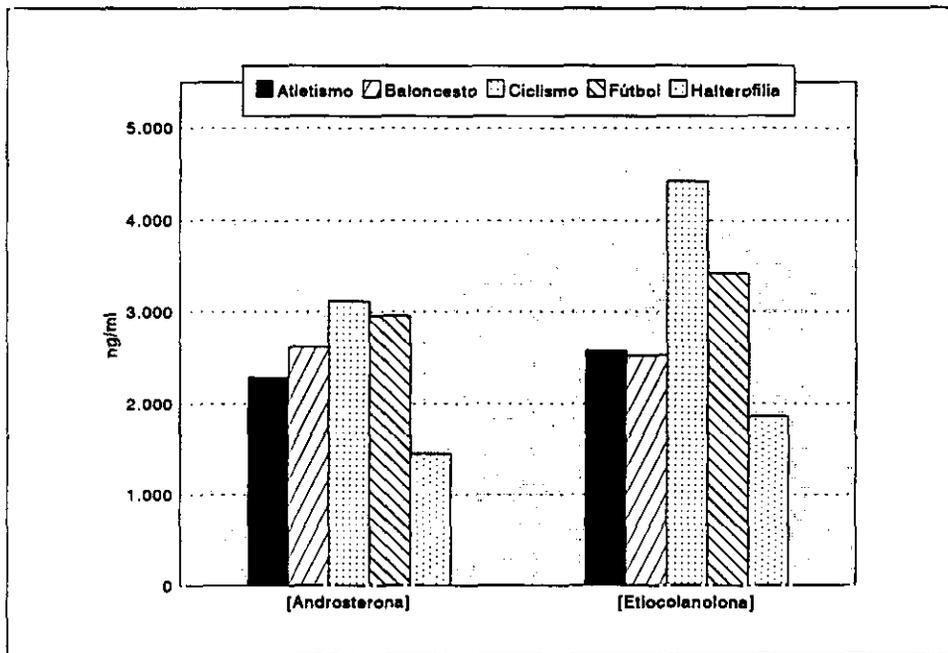
- a) **p < 0,001** [OHEt] Deportistas en general y practicantes de Atletismo (↑)  
 [Et] Deportistas en general y practicantes de Ciclismo (↑)  
 [An] Deportistas en general y practicantes de Halterofilia (↓)  
 [Et] Deportistas en general y practicantes de Halterofilia (↓)  
 [OHEt] Deportistas en general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

En las figuras 83-86 se comparan gráficamente los valores medios obtenidos al medir en estas muestras, recogidas fuera de competición, las concentraciones de los andrógenos endógenos y de sus cocientes. En ellas se aprecian claramente las diferencias encontradas en estas hormonas urinarias de diferentes especialidades deportivas.



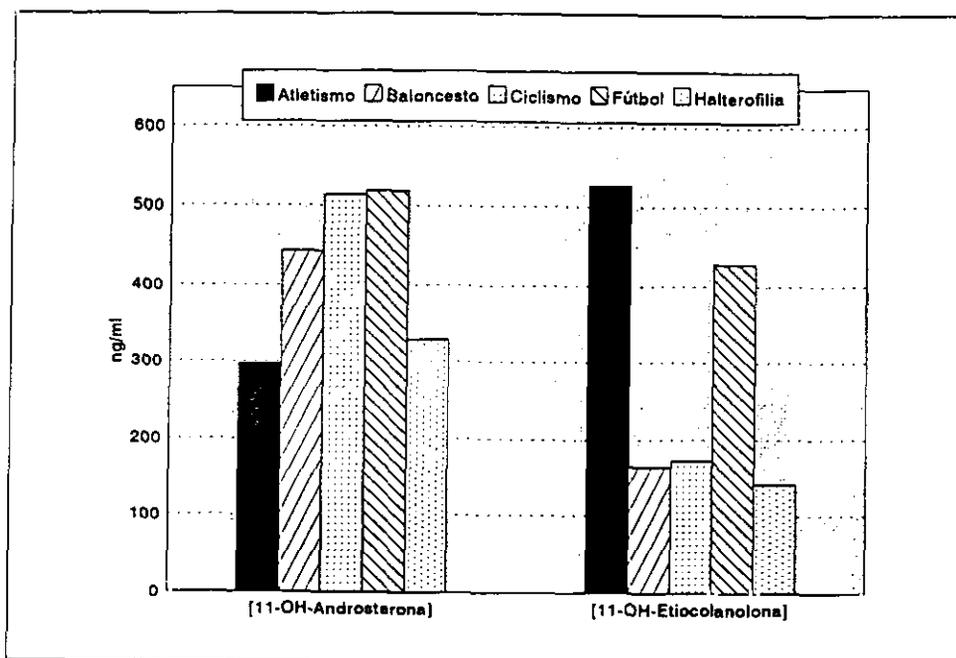
**Figura 83**

*Comparación de las concentraciones urinarias de testosterona y epitestosterona en muestras de diferentes deportes recogidas en fase preolímpica*



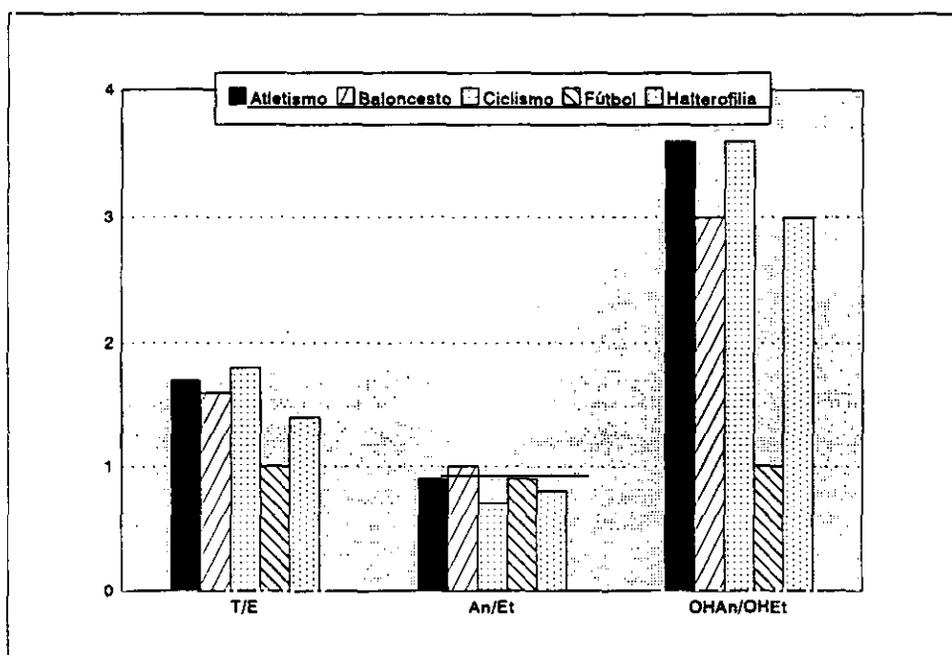
**Figura 84**

*Comparación de las concentraciones urinarias de androsterona y etiocolanolona en muestras de diferentes deportes recogidas en fase preolímpica*



**Figura 85**

*Comparación de las concentraciones urinarias de 11-OH-androsterona y 11-OH-etioolanona en muestras de diferentes deportes recogidas en fase preolímpica*



**Figura 86**

*Comparación de los cocientes entre andrógenos en muestras de orina de diferentes deportes recogidas en fase preolímpica*

### Discusión y conclusiones

Las diferencias encontradas en los resultados de los diferentes deportes está en consonancia con el entrenamiento específico de cada deporte, de características aeróbicas, anaeróbicas o mixtas, e incluso con el anaerobismo láctico o aláctico. Precisamente en la halterofilia, que es el deporte que presenta estas últimas características citadas, se obtienen los valores más bajos (excepto para la epitestosterona, el cual no obstante es el anterior al más bajo) de las concentraciones de endógenos medidas.

Así pues se observa que el entrenamiento puede ejercer una importante influencia sobre estas sustancias.

Este estudio se complementa con los que se presentan a continuación.

#### **IV.3.2.4. Influencia de la competición**

Con este estudio se ha querido valorar si el estrés que supone la competición puede actuar sobre la eliminación de las sustancias integrantes del **perfil hormonal**.

Para llevarlo a cabo, se han elegido sujetos practicantes de 5 deportes característicos, en los que se han medido las concentraciones de endógenos del **P.H.E.**, y sus cocientes, en muestras de orina recogidas sin una actividad física inmediata anterior (fuera de competición) o tras haber realizado una intensa actividad (en competición). Se han utilizado las muestras fisiológicas recogidas en el control del dopaje de España en 1.992 en el período preolímpico y parte de las recogidas en competiciones nacionales. Todas las muestras corresponden a:

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

#### **Resultados**

En las tablas XXIV-XXIX se presentan los resultados obtenidos.

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

***Tabla XXIV***

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

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

***Tabla XXV***

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

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

**Tabla XXVI**

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

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

***Tabla XXVII***

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

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

**Tabla XXVIII**

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

**DEPORTES: ATLETISMO + BALONCESTO + BOXEO +  
CICLISMO + FUTBOL + HALTEROFILIA + HOCKEY HIERBA +  
JUDO + LUCHA + PENTHALON M. + PIRAGÜISMO + REMO**

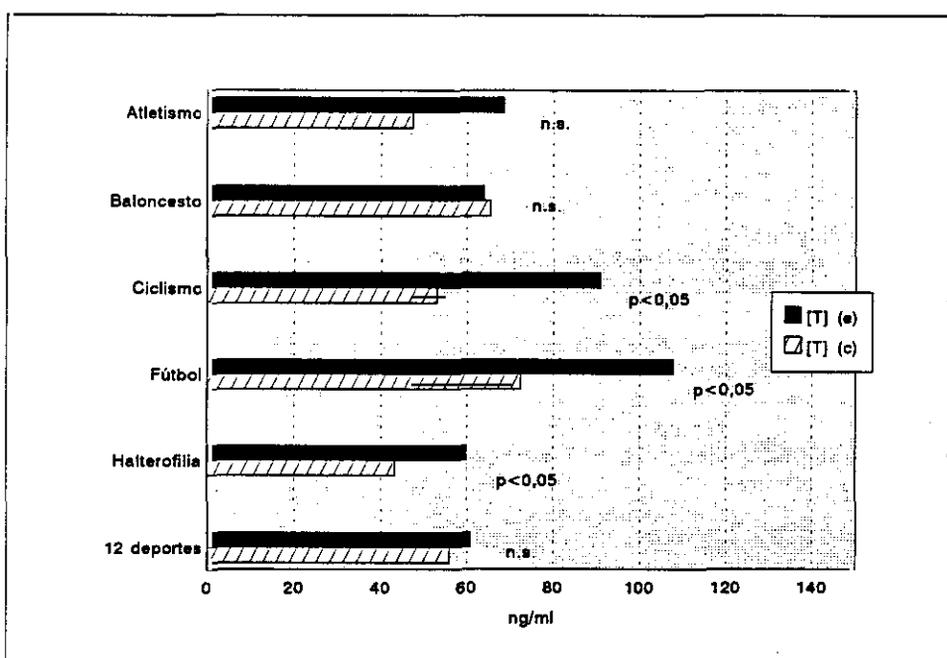
	Fuera de competición (n=434)	En competición (n=270)	Correlación (test de la t de Student)
Testosterona	60,7±60,3	55,9±58,9	n.s.
Epitestosterona	59,8±69,7	36,4±38,4	p<0,001
Androsterona	1927,9±1577,5	2242,8±1987,7	p<0,05
Etiocolanolona	2371,2±1715,9	2200,3±2002,6	n.s.
OHAndrosterona	374,5±363,4	360,7±651,9	n.s.
OHEtiocolanolona	228,0±476,0	228,5±249,5	n.s.
T/E	1,4±1,2	1,8±1,2	p<0,001
An/Et	0,8±0,4	1,2±0,7	p<0,001
OHA <sub>n</sub> /OHE <sub>t</sub>	2,7±3,3	1,8±1,4	p<0,001

**Tabla XXIX**

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

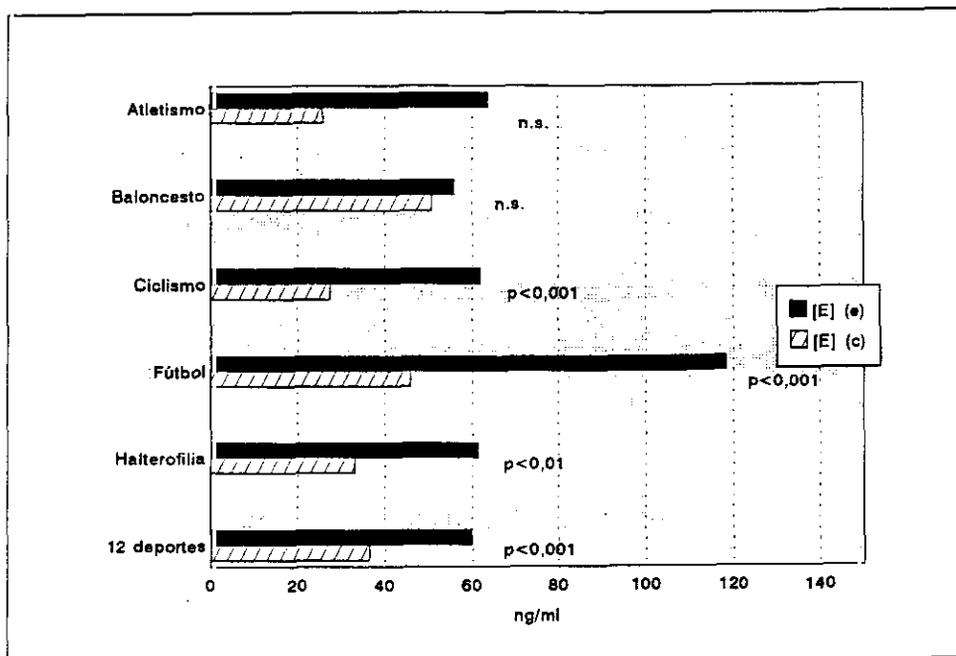
En todos estos resultados se aprecia, por lo general, unas diferenciaciones claras entre las situaciones de competición y fuera de ella. Pero es de destacar que estas diferencias se hacen más significativas en los resultados correspondientes a los deportes de ciclismo, halterofilia y fútbol.

Por otra parte, en las *figuras 87-95* se presentan gráficamente, mediante histogramas de frecuencia, los resultados comparativos de cada parámetro estudiado. En ellas se ponen de manifiesto dichos cambios.



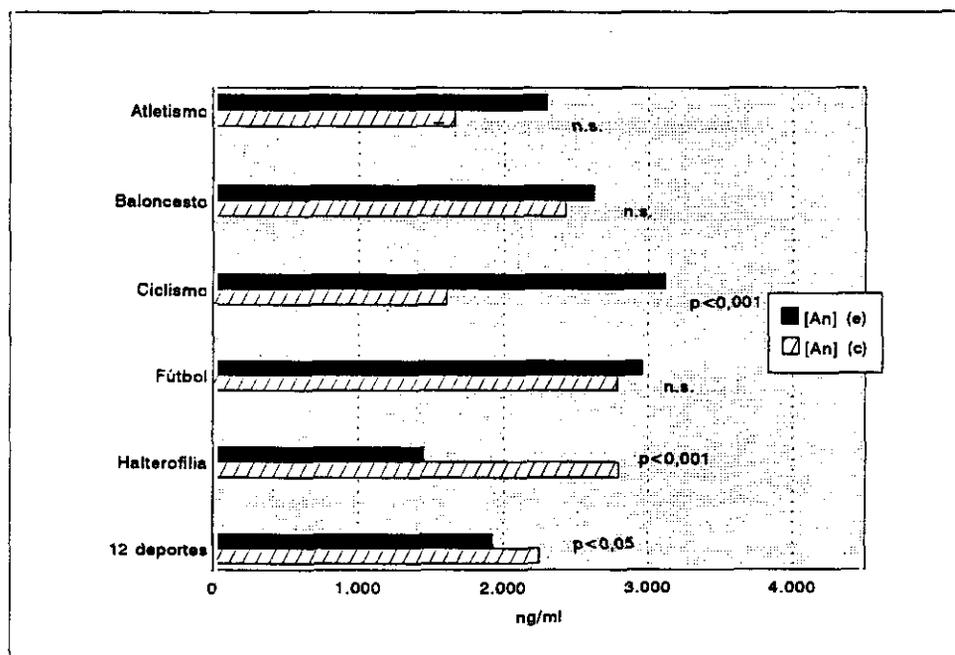
**Figura 87**

*Concentraciones urinarias medias de T en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*



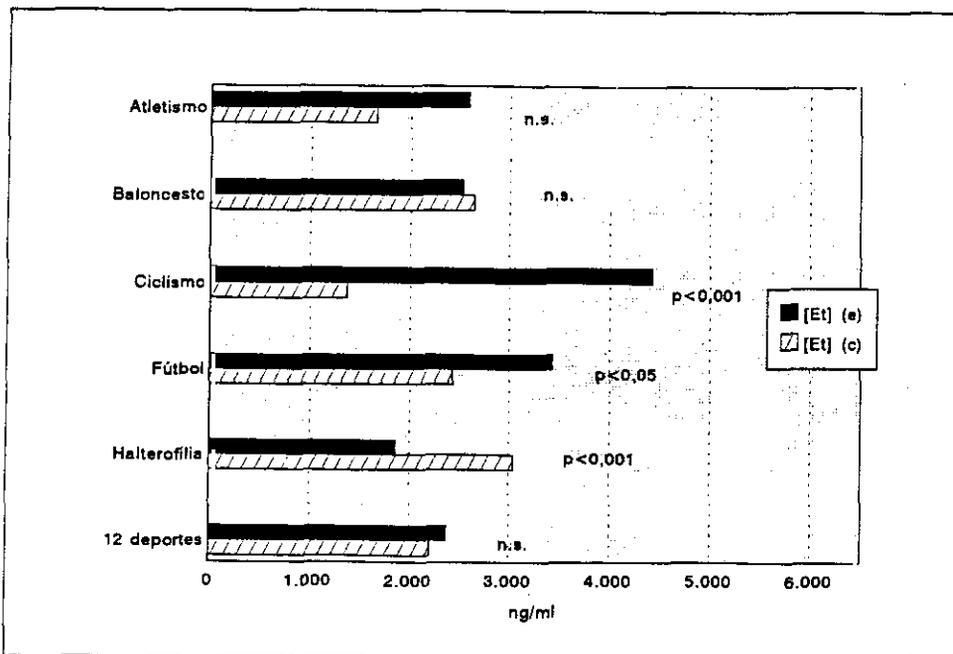
**Figura 88**

*Concentraciones urinarias medias de E en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*



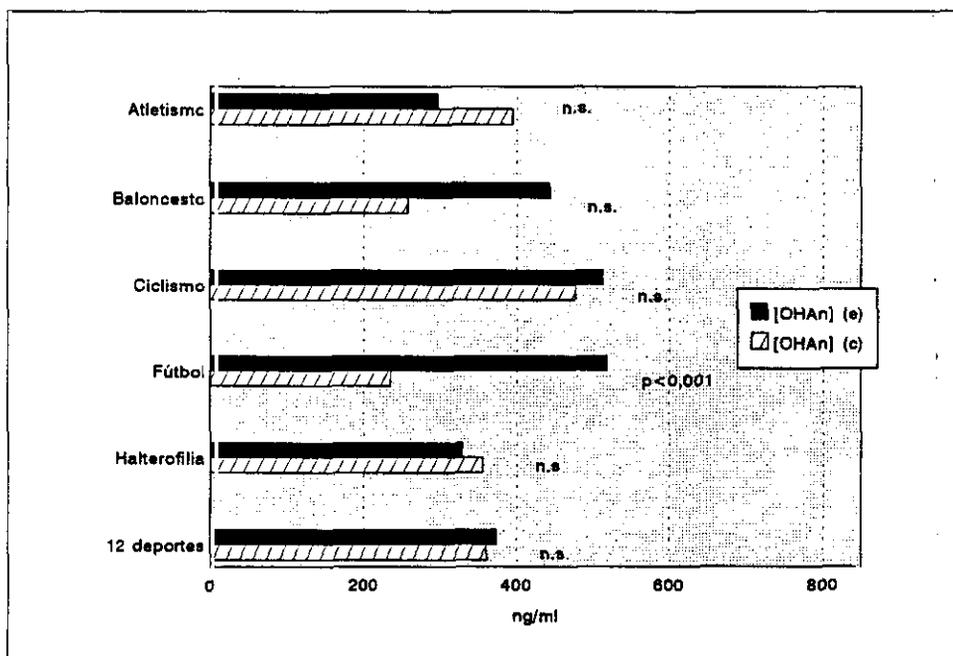
**Figura 89**

*Concentraciones urinarias medias de An en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*



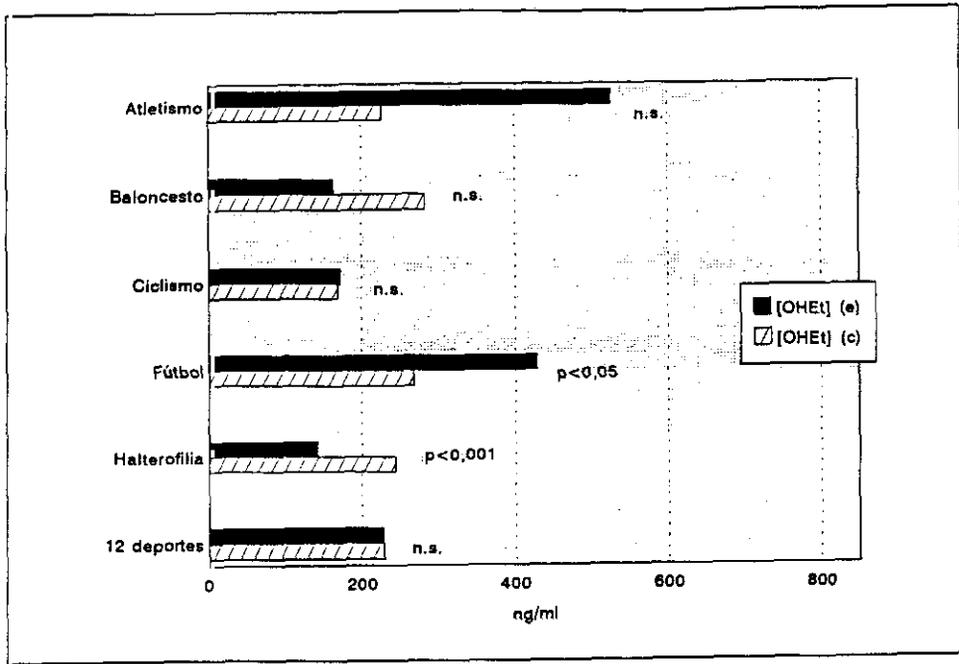
**Figura 90**

*Concentraciones urinarias medias de Et en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*



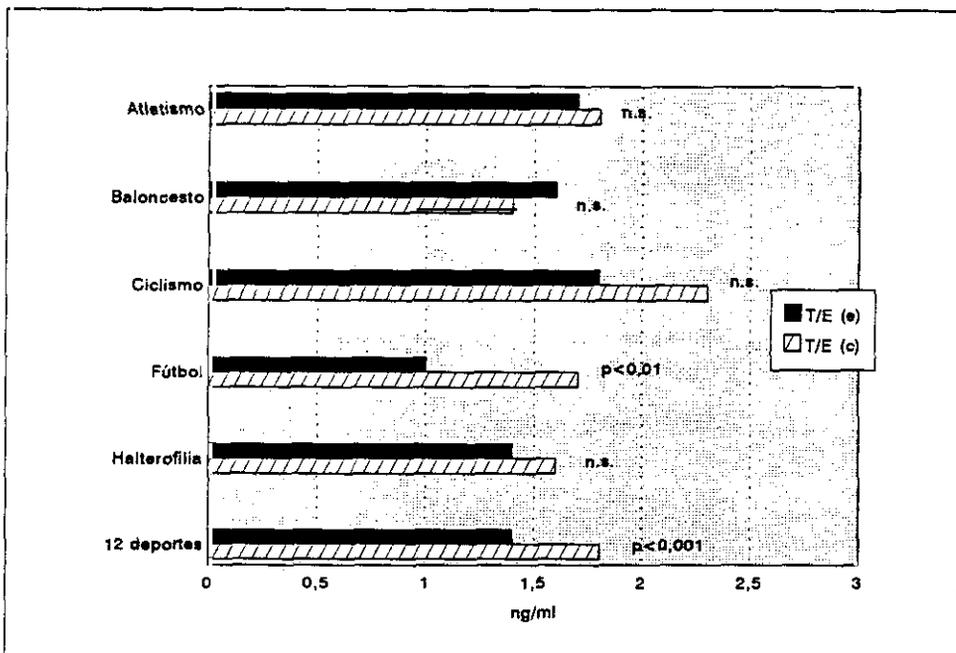
**Figura 91**

*Concentraciones urinarias medias de OHAn en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*



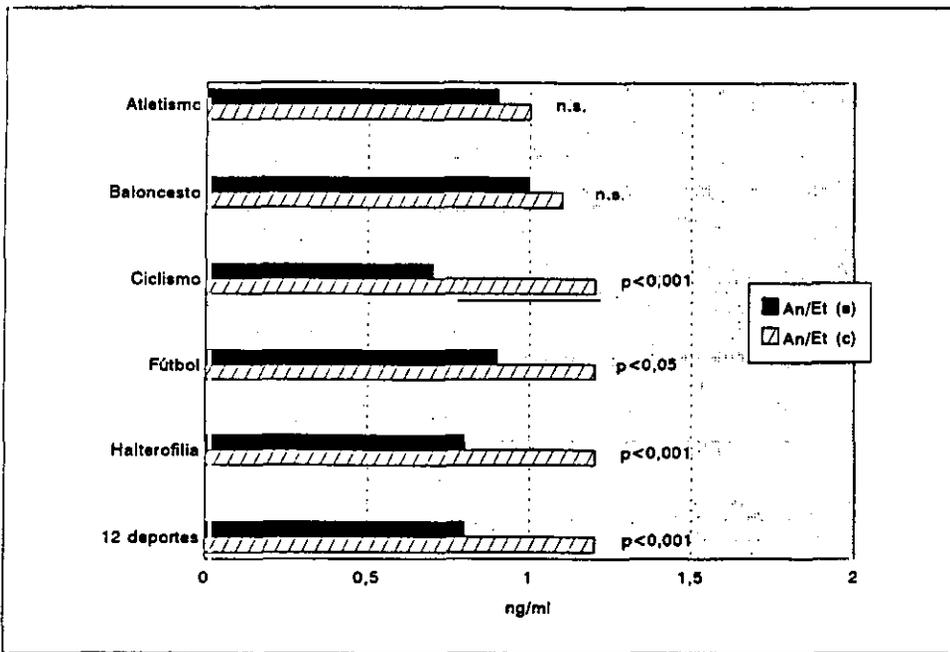
**Figura 92**

*Concentraciones urinarias medias de OHEt en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*



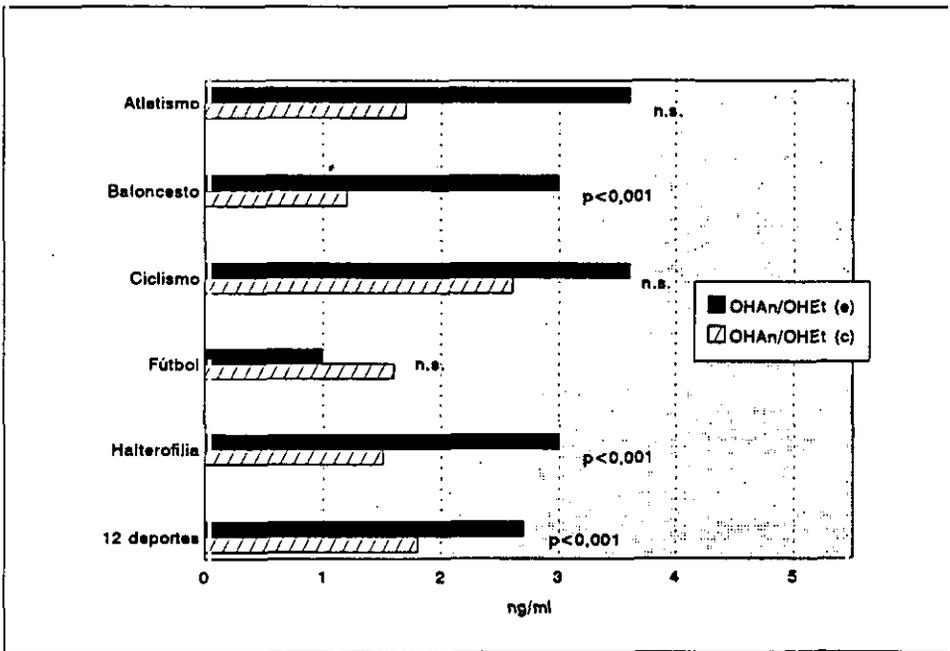
**Figura 93**

*Cocientes urinarios medios de T/E en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*



**Figura 94**

*Cocientes urinarios medios de An/Et en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*



**Figura 95**

*Cocientes urinarios medios de OHAn/OHEt en muestras, recogidas en período de entrenamiento y en competición, a deportistas practicantes de diferentes deportes*

### Discusión y conclusiones

Nuestros resultados ponen de manifiesto un descenso significativo en la mayoría de los parámetros estudiados comparando los correspondientes a la época de entrenamiento y a los recogidos tras competir. Este descenso se produce en las concentraciones, mientras que en los correspondientes cocientes el resultado no es tan uniforme. Sin embargo, el estudio de correlación resulta significativo también en la mayoría de los estudios comparativos realizados.

Estos resultados indican por consiguiente la existencia de una clara influencia de la competición sobre las hormonas androgénicas eliminadas en orina

**IV.3.3. Estudio de los posibles efectos que sobre el Perfil Hormonal Esteroideo pueden producir algunos fármacos**

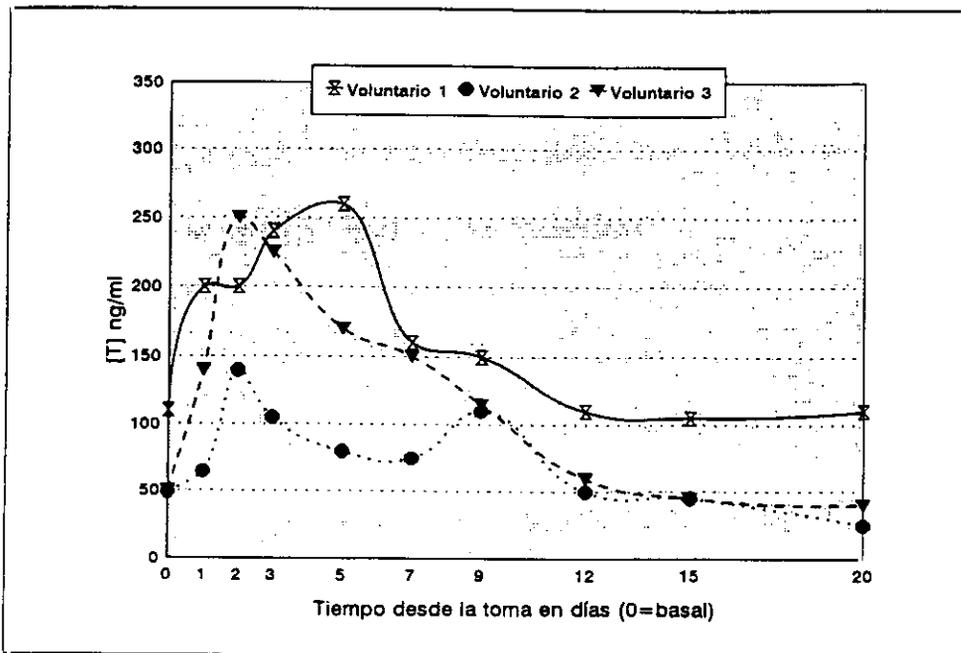
**IV.3.3.1. Efecto producido por administración de testosterona**

La forma básica más simple de elevar la concentración de testosterona en el organismo es administrar directamente testosterona exógena que, aunque sintetizada, es totalmente similar a la endógena.

Para conocer la incidencia media en el tiempo por las modificaciones que produce, se ha realizado un estudio con 3 voluntarios, varones con una edad media de  $23 \pm 0.7$  años, a los que se les ha inyectado una dosis única de 250 mg. de enantato de testosterona.

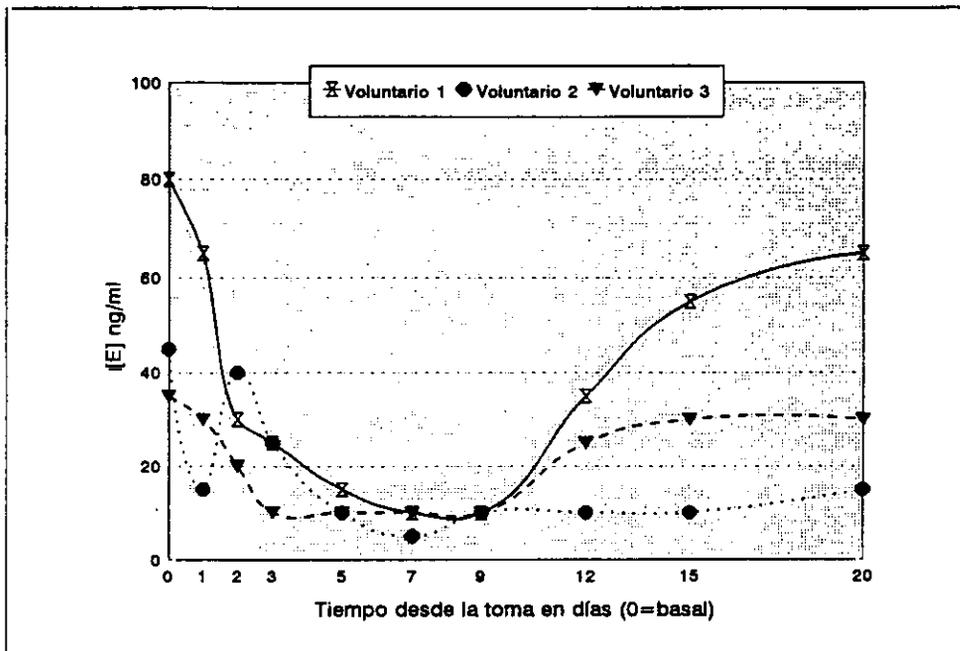
**Resultados**

Los datos correspondientes a la evolución de la [T], de la [E] y del cociente T/E durante los 20 días siguientes a la inyección de la monodosis indicada se representan gráficamente en las figuras 96, 97 y 98.



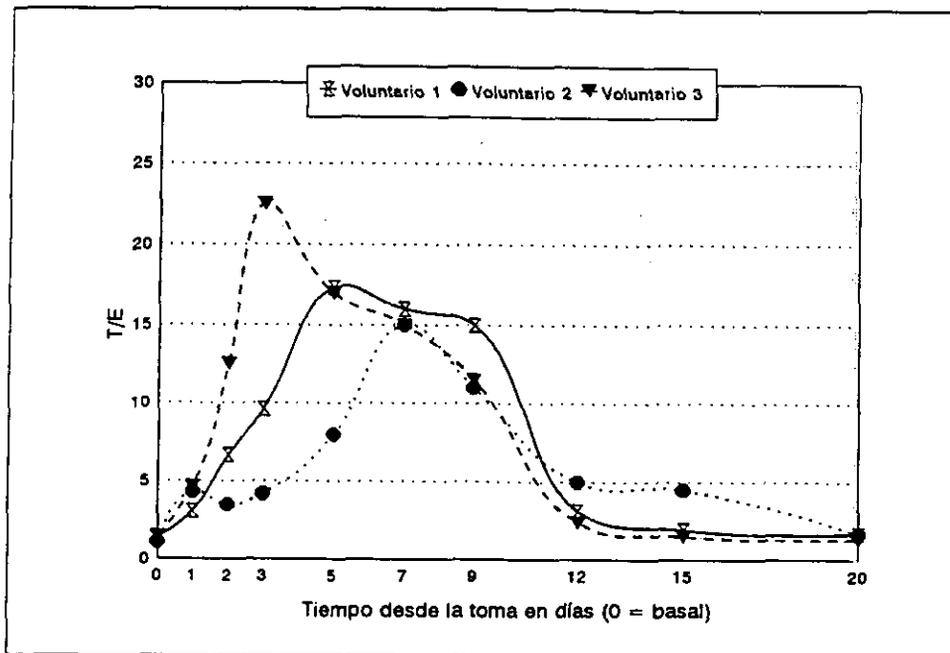
**Figura 96**

*Efecto que sobre la concentración de testosterona urinaria ha producido en tres voluntarios la administración de 250 mg. de enantato de testosterona*



**Figura 97**

*Efecto que sobre la concentración de epitestosterona urinaria ha producido en tres voluntarios la administración de 250 mg. de enantato de testosterona*



**Figura 98**

*Efecto que sobre el cociente testosterona/epitestosterona urinaria ha producido en tres voluntarios la administración de 250 mg. de enantato de testosterona*

El efecto obtenido se puede resumir como sigue:

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

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

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

### Discusión y conclusiones

Consecuentemente con la teoría<sup>338</sup>, y por tanto como se esperaba, la administración de testosterona conduce a incrementar inmediatamente la concentración de la testosterona urinaria eliminada. Sin embargo, la concentración de epitestosterona decrece, por la acción de la testosterona sobre las gónadas; y por consiguiente, y como suma de ambos efectos, el cociente T/E se eleva<sup>313, 317</sup>.

Es necesario incidir sobre el hecho de que, aún no apareciendo relaciones  $T/E > 6$  a partir del 3º-9º día, las secuelas de la administración permanecen hasta el 12º-15º día, siendo los parámetros [E] y T/E los indicadores de la situación anormal, y por tanto datos a tener en cuenta, tras la oportuna evaluación, en posibles casos que en principio se consideran negativos por  $R_{T/E} < 6$ .

**IV.3.3.2. Efecto producido por administración de gonadotropina coriónica humana**

La hormona peptídica hCG funciona como agonista de la LH, estimulando la producción de andrógenos y endógenos. Se utiliza como sustancia dopante porque tras su administración incrementa la concentración de la testosterona endógena, pero por otra parte enmascara el uso de testosterona exógena porque al incrementar también la concentración de epitestosterona reduce el cociente  $T/E^{313, 314, 315, 316, 317, 318}$ .

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

### ***i. Primer estudio***

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

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

#### **Población:**

# Muestras con reacción negativa (concentración < 5 mUI/ml) a la hCG (n=25)

# Muestras con reacción positiva (concentración > 5 mUI/ml) a la hCG (n=22)

*i. Resultados*

Los resultados analíticos, junto con un estudio estadístico de la "t de Student" de cada variables en los dos grupos estudiados, se presentan en la tabla XXX.

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

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

**Tabla XXX**

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

### *i. Discusión*

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

### *ii. Segundo estudio*

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

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

ii. *Resultados*

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

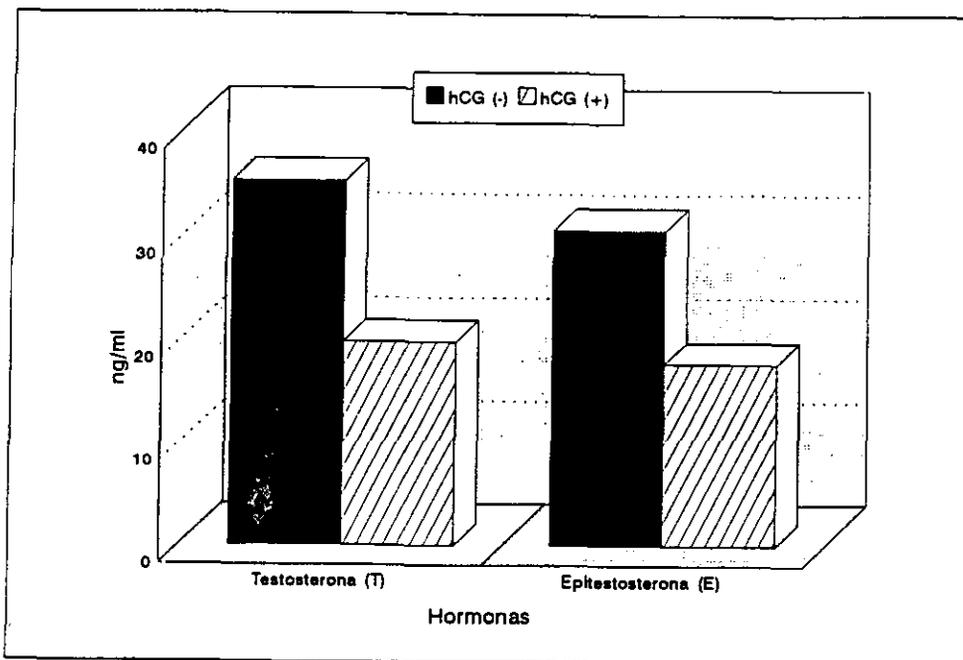
	VARONES (n=32)		MUJERES (n=29)	
	hCG (-) (n=25)	hCG (+) (n=7)	hCG (-) (n=25)	hCG (+) (n=4)
<b>T (ng/ml)</b>	35,23±9,7	19.85±12,1 +	7,47±3,2	3,35±2,1 +
<b>E (ng/ml)</b>	30,68±11,4	17.74±8,2 *	14,4±8,3	2,86±1,5
<b>An (ng/ml)</b>	4601±1203	2063±945 *	2468±1129	1217±920
<b>Et (ng/ml)</b>	3555±2101	1946±730	2282±943	1730±1111
<b>OHAn (ng/ml)</b>	622±130	352±78,3 +	314±213	154±97 +
<b>OHEt (ng/ml)</b>	357±233	177±81,2	252±187	115±101
<b>T/E</b>	1,65±1,1	1,64±1,2	1,26±0,9	1,30±0,9
<b>An/Et</b>	1,34±0,7	1,19±1,1	0,89±0,4	0,76±0,5
<b>OHAn/OHEt</b>	2,36±1,3	2,06±1,5	1,47±0,9	1,27±1,1

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

***Tabla XXXI***

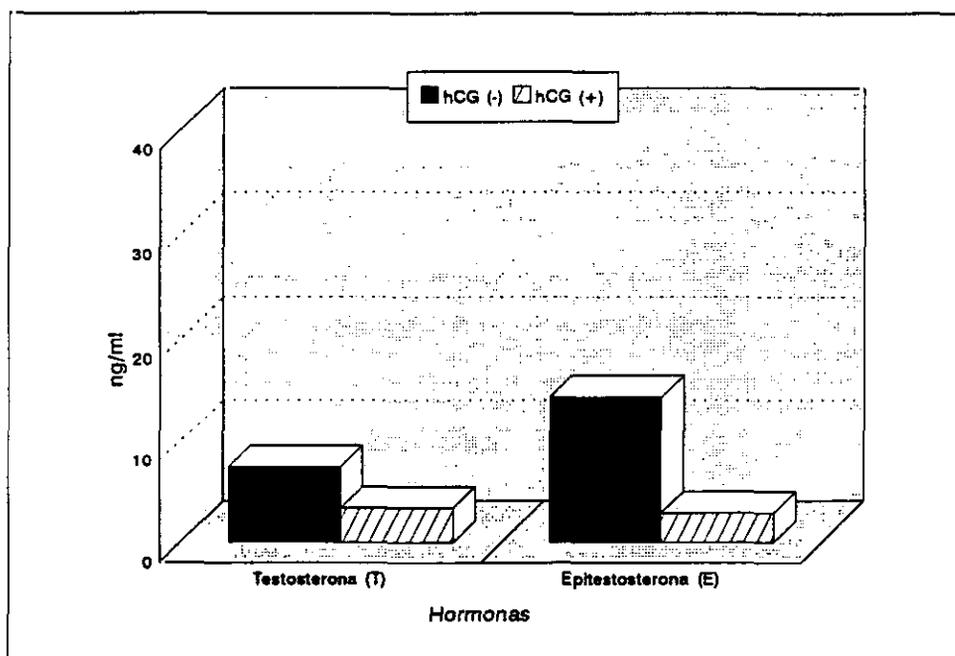
*Valores medios de las concentraciones de andrógenos endógenos y de sus relaciones medidas en poblaciones de distinto sexo y con diferente respuesta al análisis de la hCG*

En las *figuras 99 - 106* se representan gráficamente las variaciones existentes entre diferentes parámetros del P.H.E. de las poblaciones estudiadas.



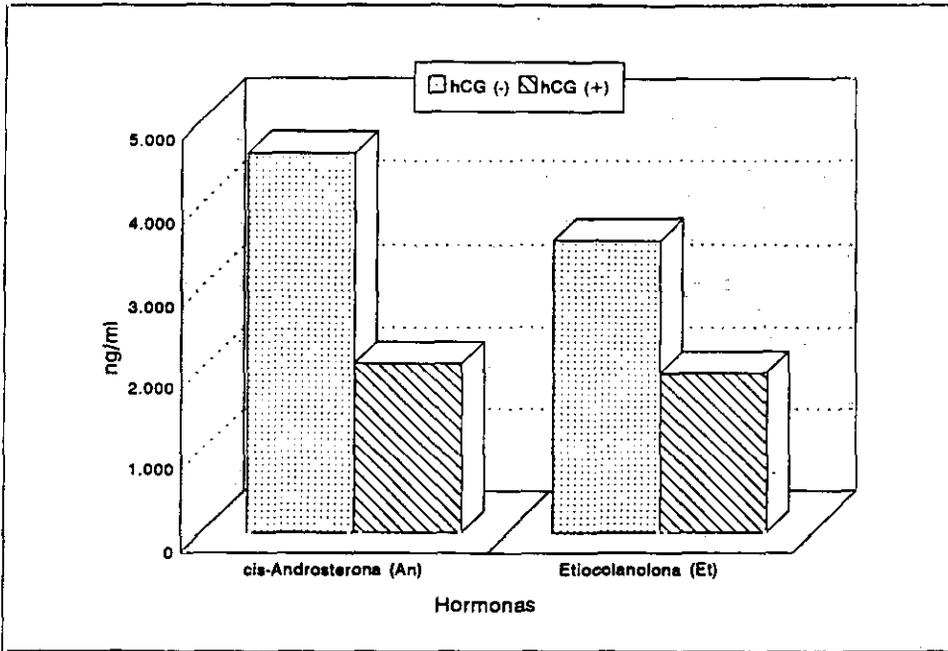
**Figura 99**

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



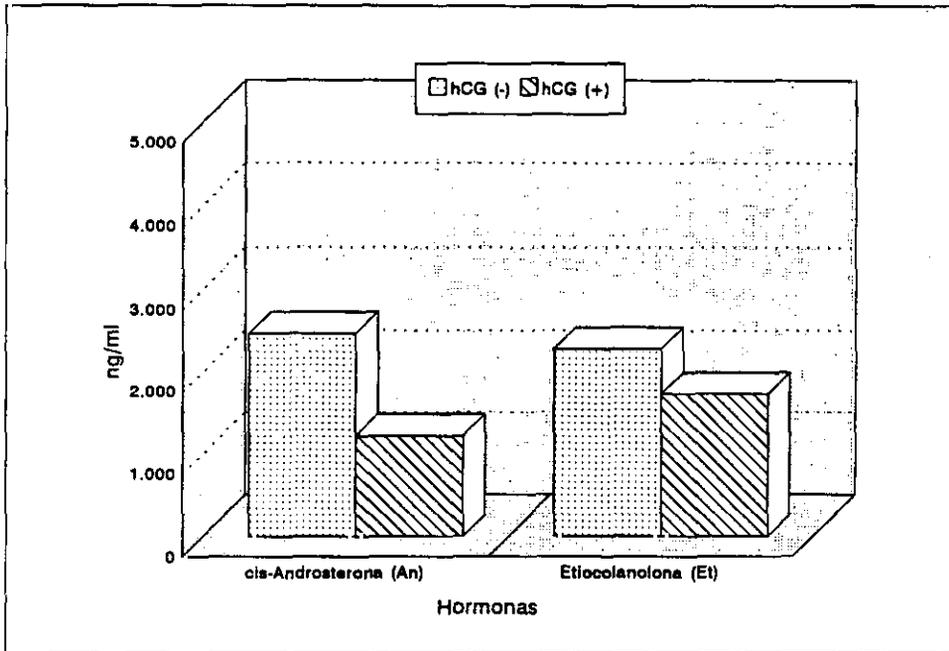
**Figura 100**

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



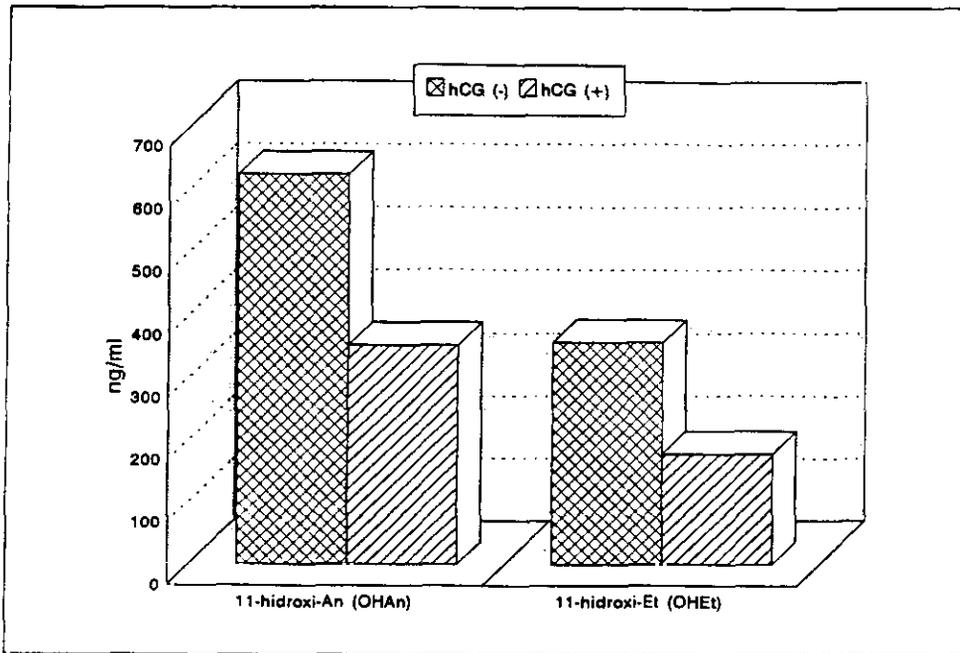
**Figura 101**

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



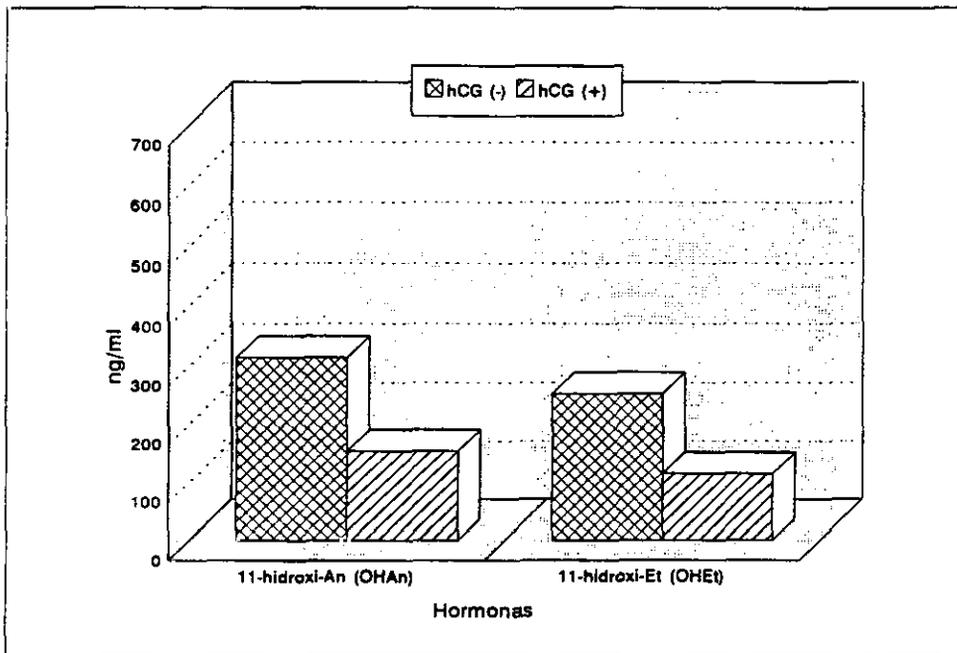
**Figura 102**

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



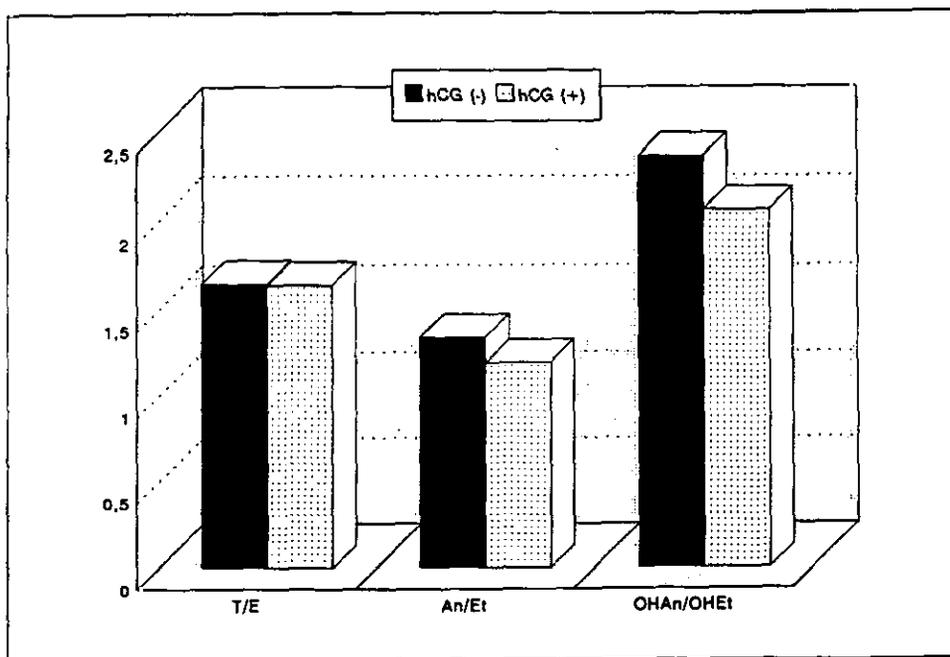
**Figura 103**

*Valores urinarios de [OHAn] y [OHEt] en 32 deportistas del sexo masculino con diferente reacción a la hCG*



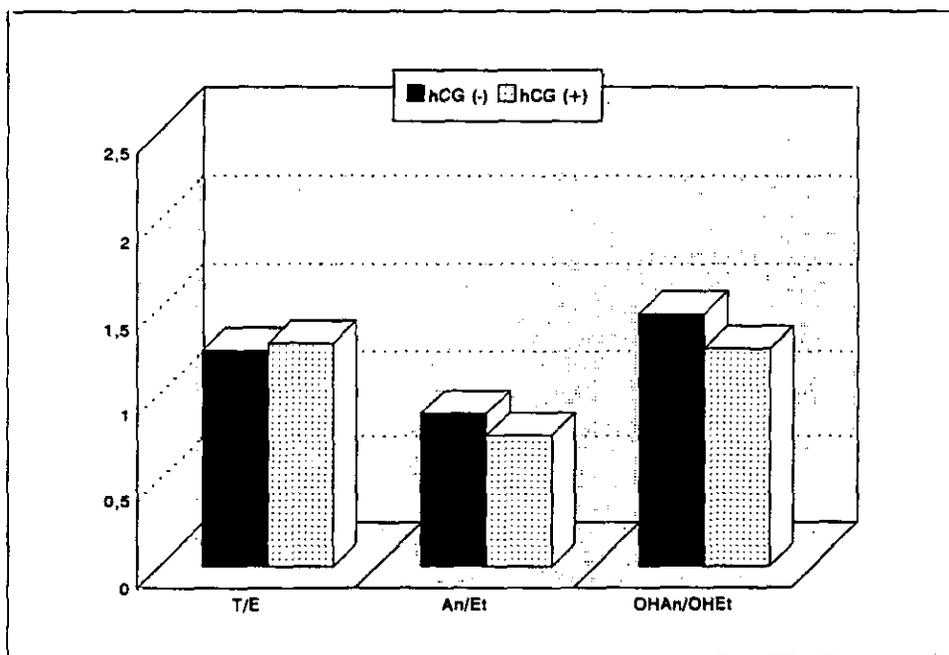
**Figura 104**

*Valores urinarios de [OHAn] y [OHEt] en 29 deportistas del sexo femenino con diferente reacción a la hCG*



**Figura 105**

*Valores urinarios medios de T/E, An/Et y OHA/OHEt en 32 deportistas del sexo masculino con diferente reacción a la hCG*



**Figura 106**

*Valores urinarios medios de T/E, An/Et y OHA/OHEt en 29 deportistas del sexo femenino con diferente reacción a la hCG*

## *ii. Discusión y conclusiones*

Se puede observar que tanto en varones como en mujeres los valores de las concentraciones de los andrógenos endógenos son, aunque no altamente significativos, más bajos en los grupos con reacción positiva a la hCG que en los correspondientes con reacción negativa, lo que puede interpretarse como una cierta influencia de la hCG sobre la excreción o sobre la producción de esteroides andrógenos endógenos.

Sin embargo, las relaciones entre los andrógenos no se modifican significativamente en ningún subgrupo, en principio posiblemente por las interrelaciones que entre ellos existen y que no se alteran con la hCG.

No obstante, al tratarse de grupos independientes la influencia en principio no es concluyente.

### ***iii. Tercer estudio***

Para aclarar los efectos de la **gonadotropina coriónica humana** sobre la eliminación o producción de las sustancias estudiadas, se realizó un estudio de los valores urinarios de diferentes hormonas androgénicas constituyentes del **perfil hormonal esteroideo** medidos en 98 deportistas varones practicantes de tres diferentes deportes:

**# atletismo (14 atletas);**

**# ciclismo (37 ciclistas);**

**# fútbol (47 futbolistas).**

Se han estudiado los grupos en función del deporte y agrupadas las muestras según presentaran reacción negativa o positiva a la **hCG**. En el trabajo se han medido, además de las concentraciones de los andrógenos endógenos más significativos, los cocientes entre estas relaciones y las densidades de las orinas. Este último parámetro se ha estudiado para investigar una posible alteración en la eliminación de las hormonas estudiadas.

Asimismo se ha efectuado un estudio de correlación de la **t de Student**.

### iii. Resultados

En las tablas XXXII, XXXIII y XXXIV se presentan los valores obtenidos, con las determinaciones estadísticas más representativas.

a) Tabla XXXII:

	hCG(-) n=57	hCG(+) n=41
T (ng/ml)	23,89 ± 20 (c.v. 83,71)	21,57 ± 12 (c.v. 55,63)
E (ng/ml)	19,74 ± 19 (c.v. 96,25)	17,63 ± 10 (c.v. 56,72)
An (ng/ml)	2580 ± 2650 (c.v. 102,71)	1901 ± 1547 (c.v. 81,38)
Et (ng/ml)	2593 ± 1879 (c.v. 72,46)	1948 ± 1383 + (c.v. 71,00)
OHAn (ng/ml)	425,8 ± 720 (c.v. 169,09)	284 ± 289 (c.v. 101,76)
OHET (ng/ml)	304,5 ± 572 (c.v. 187,85)	161,6 ± 151 (c.v. 93,44)
T/E	1,57 ± 1,16 (c.v. 73,89)	1,60 ± 1,61 (c.v. 100,62)
An/Et	1,01 ± 0,70 (c.v. 69,31)	0,98 ± 0,45 (c.v. 45,92)
OHAn/OHEt	1,73 ± 1,27 (c.v. 73,41)	1,83 ± 1,31 (c.v. 71,58)
Densidad	1,023 ± 0,005 (c.v. 0,49)	1,014 ± 0,006 ** (c.v. 0,59)

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

#### Tabla XXXII

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

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

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

b) Tabla XXXIII:

	Atletismo		Ciclismo		Fútbol	
	hCG(-) (7)	hCG(+) (7)	hCG(-) (25)	hCG(+) (12)	hCG(-) (25)	hCG(+) (22)
T (ng/ml)	29,92±21	20,73±8	10,02±13	25,21±14	35,23±23	19,85±12 *
E (ng/ml)	23,07±21	17,65±10	13,43±5	17,42±10	30,68±25	17,74±10 +
An (ng/ml)	1802±831	1772±2322	1452±808	1680±945	4601±3378	2063±1579 *
Et (ng/ml)	1767±978	1457±655	2094±917	2236±1256	3555±2434	1946±1603 *
OHAn (ng/ml)	196,4±63	69,6±40 **	431,2±983	285,2±277	622,4±615	351,6±313 +
OHEt (ng/ml)	121,5±40	60,4±41 *	380±847	192,3±207	357,2±397	177±127 +
T/E	2,77±2,2	1,37±0,88	1,55±1,09	1,64±0,83	1,65±0,86	1,64±2,08
An/Et	1,22±0,97	0,66±0,25	0,69±0,31	0,80±0,4	1,34±0,61	1,19±0,42
OHAn/OHEt	1,70±0,52	1,22±0,81	1,29±0,76	1,76±1,2	2,36±1,60	2,06±1,44

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

Tabla XXXIII

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

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

c) Tabla XXXIV

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

Tabla XXXIV

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

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

### iii. Discusión y conclusiones

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

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

En el estudio estadístico realizado al grupo de atletas y futbolistas pone de manifiesto, posiblemente, los auténticos efectos que la hCG tiene sobre el perfil urinario de hormonas androgénicas. Es decir, la hCG va a producir directamente, y no a través de la densidad, una disminución en la excreción urinaria de estas sustancias, lo que lleva a una mayor utilización por el organismo de las mismas. Además, produce una secreción similar de testosterona y epitestosterona testicular, con lo cual se mantiene constante el cociente entre las concentraciones de ambas hormonas. E incluso la producción endógena de hormonas testiculares puede ser un potente estímulo para la producción hepática de la proteína transportadora (SHBG), con lo que en consecuencia habría un menor componente de testosterona libre, y en caso de utilización de testosterona exógena ésta tendría igualmente mayor capacidad de fijación y con ello su eliminación sería menor. Esto podría explicar en parte la descrita actividad enmascaradora de la hCG<sup>313, 314</sup>.

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

#### *iv. Cuarto estudio*

Al haber observado, en los anteriores experimentos, importantes modificaciones en los perfiles urinarios de sustancias androgénicas endógenas tras la utilización de hCG, se ha pretendido a continuación valorar cuál era el efecto que dicha hormona tenía sobre el **perfil hormonal esteroideo** urinario:

- \* en un varón adulto sano;
- \* con actividad física media;
- \* durante los tres días siguientes a su utilización.

Para ello un voluntario de las características antedichas se inyectó 2500 unidades de gonadotrofina coriónica, recogiendo orina basal en la noche anterior a la inyección y a las 24, 48 y 72 horas de la misma.

#### *iv. Resultados*

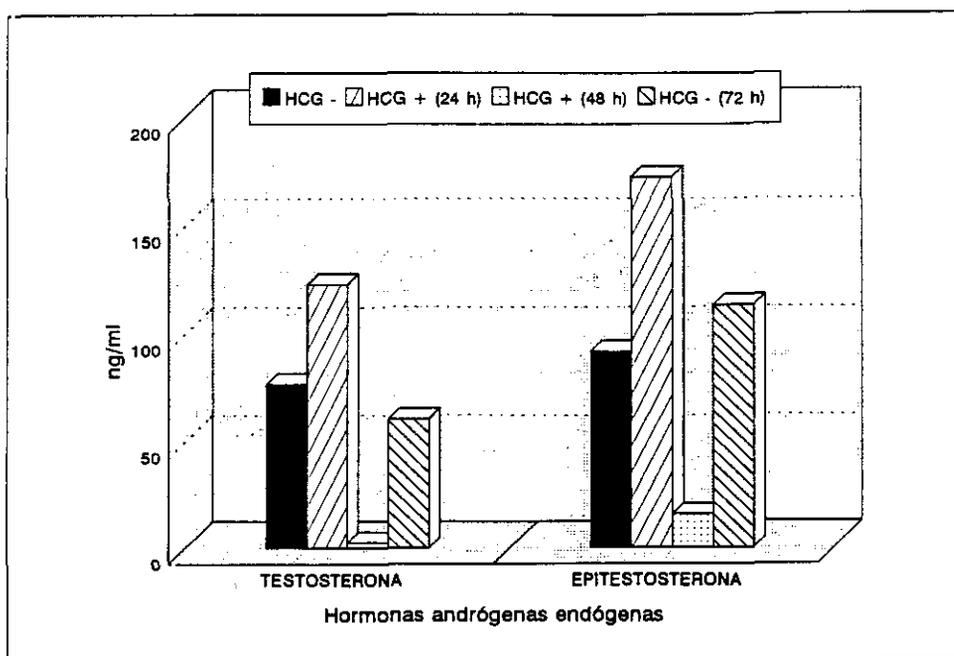
En la tabla XXXV se muestran los valores obtenidos para las concentraciones de las hormonas endógenas estudiadas, los cocientes de las mismas y la densidad urinaria en los períodos de seguimiento.

	hCG(-) (0 horas)	hCG(+) (24 horas)	hCG(+) (48 horas)	hCG(+) (72 horas)
[T] ng/ml	76.93	123.1	2.48	60.71
[E] ng/ml	91.94	172.3	15.91	113.1
[An] ng/ml	2190	4425	146.8	3098
[Et] ng/ml	2329	1879	421	9520
[OHAn] ng/ml	174.1	1114	307.9	738.5
[OHEt] ng/ml	59.11	401.3	391.3	1418
[LH] mUI/ml	2,4	0,7	0,02	1,1
T/E	0.83	0.71	0.15	0.53
An/Et	0.94	2.35	0.34	0.32
OHAn/OHEt	2.94	2.77	0.78	0.52
T/LH	32,05	175,86	124	55,19
Densidad	1.023	1.012	1.010	1.019

***Tabla XXXV***

*Efecto de la hCG sobre [T], [E], [An], [Et], [OHAn], [OHEt], [LH], T/E, An/Et, [OHAn/OHEt], T/LH y densidad urinarias en las correspondientes muestras fisiológicas*

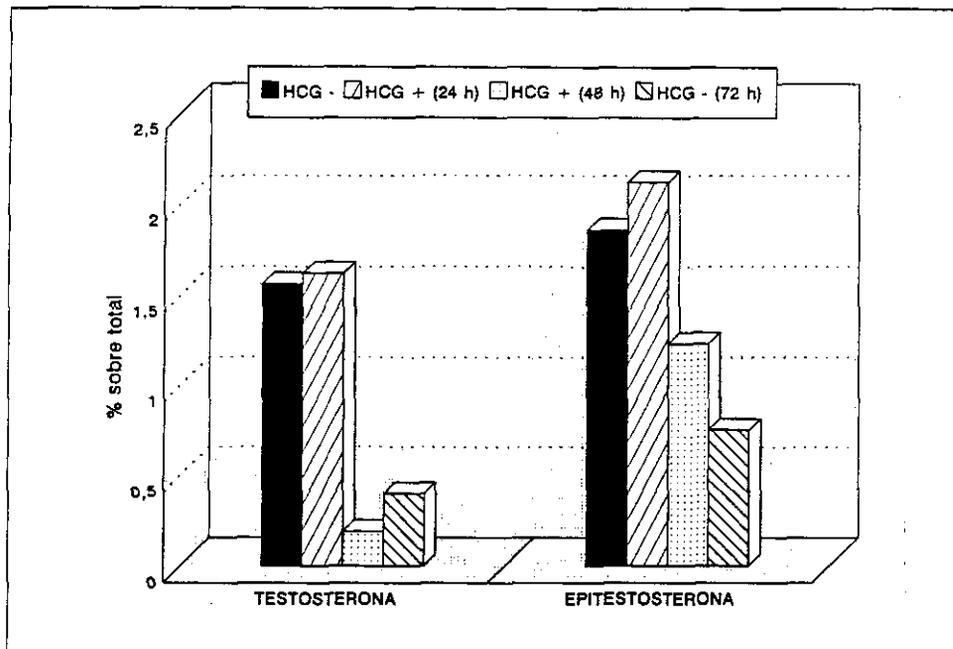
Los resultados obtenidos en esta investigación se representan gráficamente en las ***figuras 107 - 116.***



***Figura 107***

*Estudio cinético del efecto de la hCG sobre [T] y [E]*

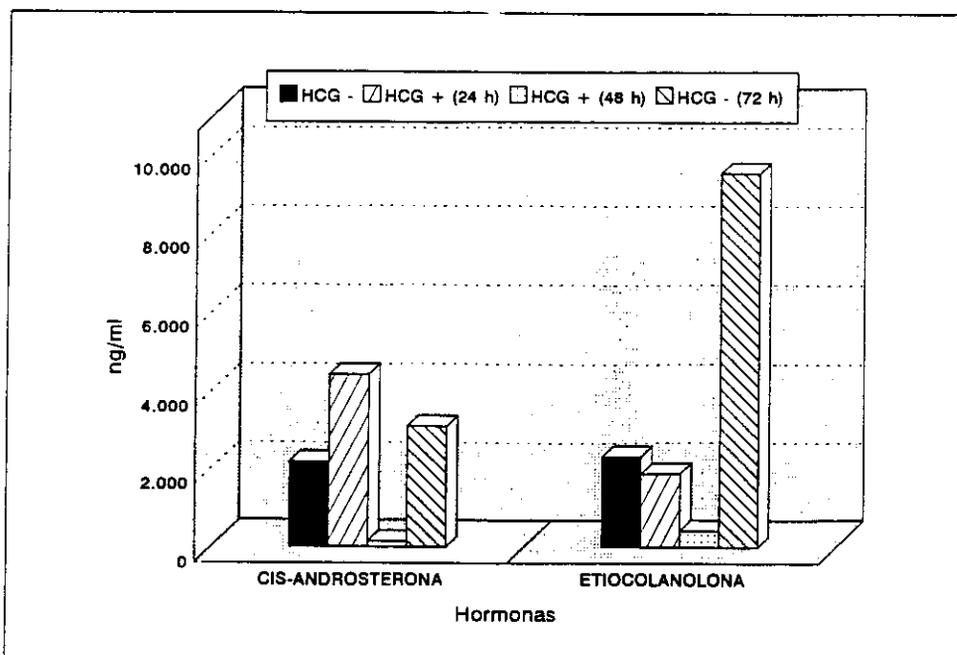
En esta ***figura 107*** se observa cómo la producción y eliminación de **testosterona** y **epitestosterona**, en ng/ml, aumentó a las 24 horas de la administración de la **hCG**. Sin embargo, a las 48 horas sufrió un importantísimo descenso en los niveles de ambas, para recuperar los valores a las 72 horas. La elevación observada a las 24 horas obedecería a una hiperestimulación androgénica inicial; pero la elevación de **testosterona** produce un freno hipotalámico e hipofisiario que hace que, a las 48 horas, se produzca una importante disminución en la producción hormonal. Es este descenso en la producción de **testosterona** lo que desactiva el freno hipofisiario e hipotalámico y hace que, a las 72 horas, la producción de esas hormonas prácticamente alcance valores similares a los basales.



***Figura 108***

*Estudio cinético del efecto de la hCG sobre [T] y [E]  
(Porcentaje sobre total de endógenos medidos)*

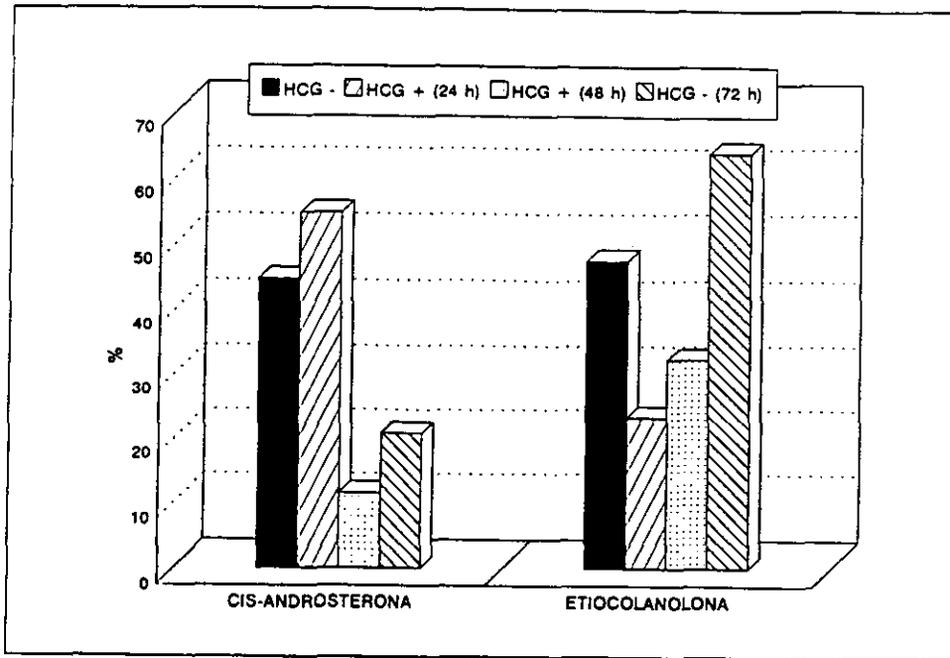
En la figura 108 se presenta el porcentaje de testosterona y epitestosterona respecto al total de hormonas eliminadas. Con este tratamiento se obtiene una visión diferente, al haberse eliminado una serie de parámetros que podrían ser interferentes, como la densidad, el pH, la cantidad de orina emitida, etc.



***Figura 109***

*Estudio cinético del efecto de la hCG sobre [An] y [Et]*

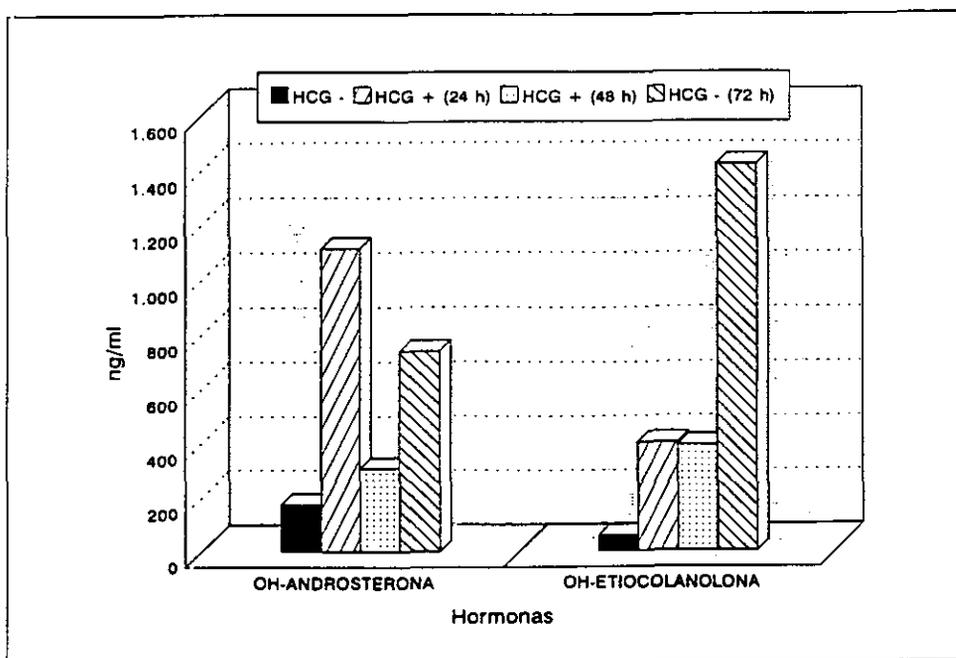
*En la **figura 109**, en la que se representan los valores obtenidos de cis-**androsterona** y **etiocolanolona**, en ng/ml., se observa que es la **androsterona** la que responde a la estimulación, aumentando sus valores a las 24 horas, para caer a las 48 horas y aumentar nuevamente los niveles a las 72 horas.*



***Figura 110***

*Estudio cinético del efecto de la hCG sobre [An] y [Et]  
(Porcentaje sobre total de endógenos medidos)*

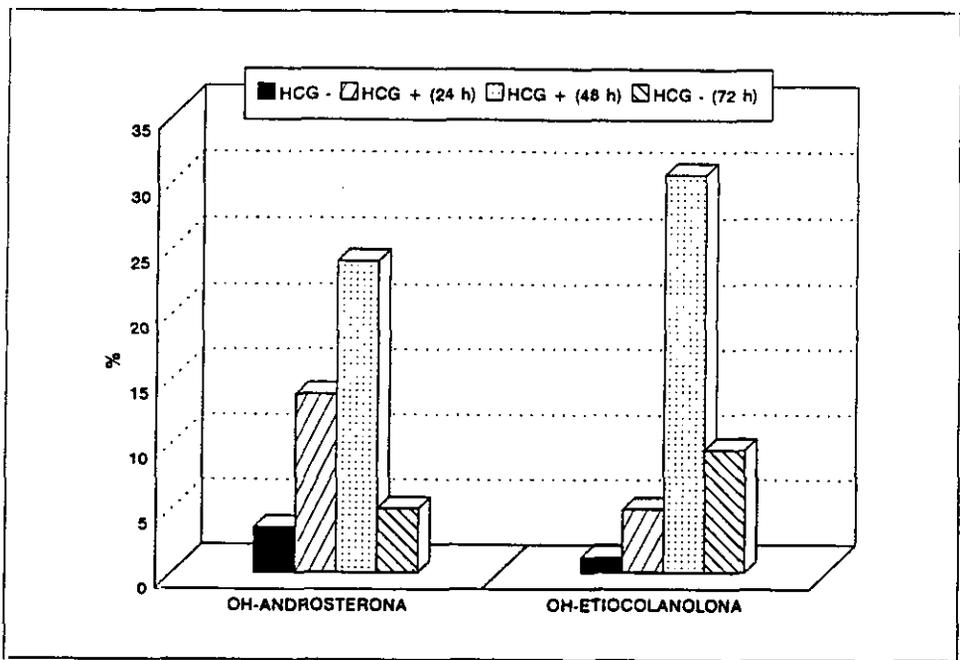
En la ***figura 110*** se expresan los valores de [An] y [Et] en porcentajes del total de sustancias eliminadas, y se puede observar un esquema similar para la **androsterona**; sin embargo la **etiocolanolona** presenta un descenso a las 24 horas, mientras que experimenta un importante aumento a las 48 horas, que se hizo más patente a las 72 horas. Ello puede indicar que en una primera fase la metabolización de las sustancias producidas por la influencia de la hCG serían metabolizadas por la vía de la **cis-androsterona**, mientras que transcurridas 24 horas sería más utilizada la vía de la **etiocolanolona**.



***Figura 111***

*Estudio cinético del efecto de la hCG sobre [OHAn] y [OHEt]*

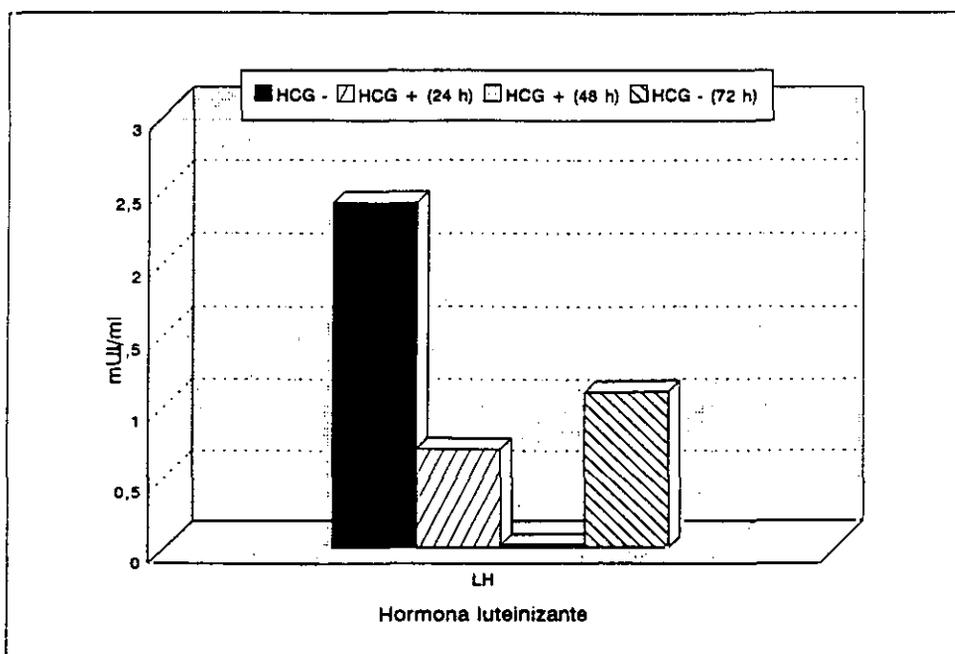
En la ***figura 111*** se valora gráficamente la eliminación de **11-hidroxi-androsterona** y **11-hidroxi-eticolanolona**; se puede observar cómo sobre ambas sustancias la **gonadotropina coriónica humana** ejerce unas acciones similares como las que produce sobre la **testosterona** y la **epitestosterona**.



**Figura 112**

*Estudio cinético del efecto de la hCG sobre [OHAn] y [OHEt]  
(Porcentaje sobre total de endógenos medidos)*

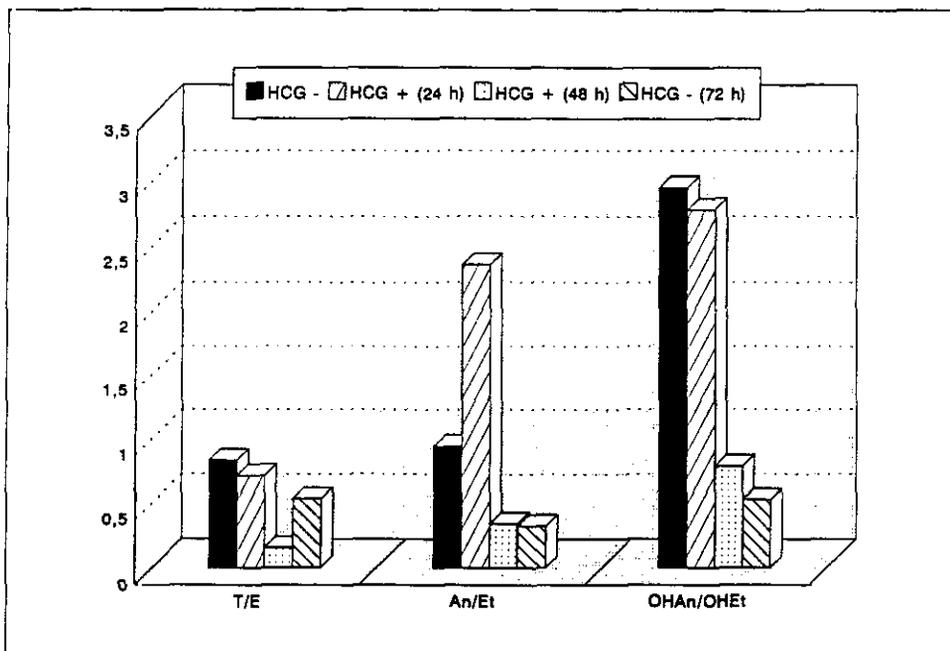
Sin embargo, si se transforman los valores absolutos de la **11-hidroxiandrosterona** y de la **11-hidroxieticolanolona** en porcentajes, tal como se representa en la **figura 112**, se observa cómo a las 48 horas, cuando los porcentajes de los otros parámetros eran menor que en las horas anteriores, estas sustancias presentaban un aumento de los suyos.



***Figura 113***

***Estudio cinético del efecto de la hCG sobre [LH]***

En la ***figura 113*** se presenta gráficamente las modificaciones que sobre la excreción de la **hormona luteinizante (LH)** ejerce en el tiempo la **gonadotropina coriónica humana (hCG)**. Esta excreción disminuye, probablemente por el efecto "rebote" producido por la **testosterona**. Es de destacar la disminución de la excreción a las 48 horas.

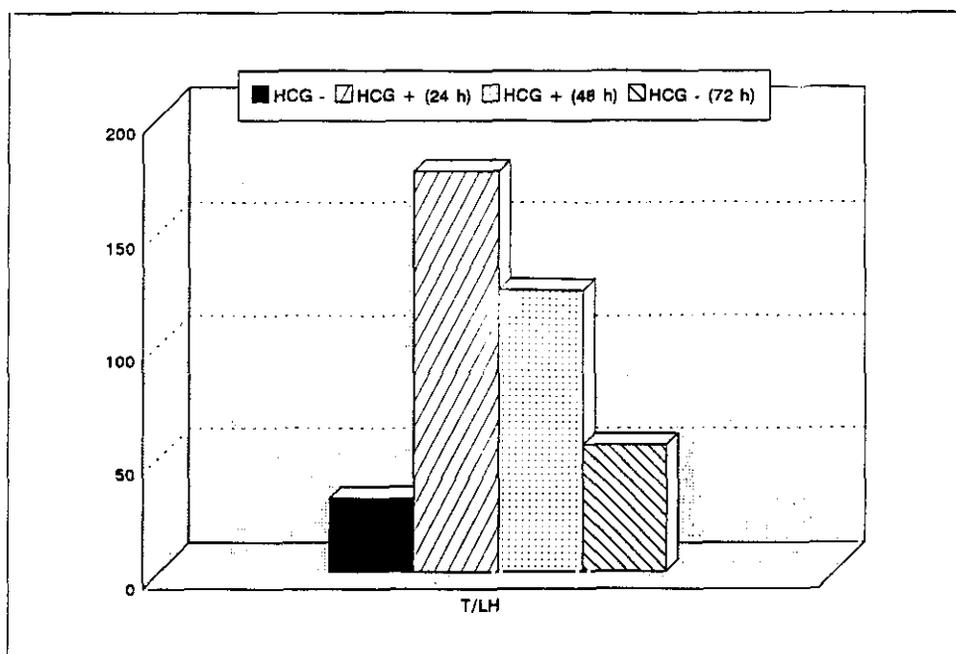


***Figura 114***

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

En la ***figura 114*** se presentan los cocientes T/E, An/Et y OHAn/OHEt.

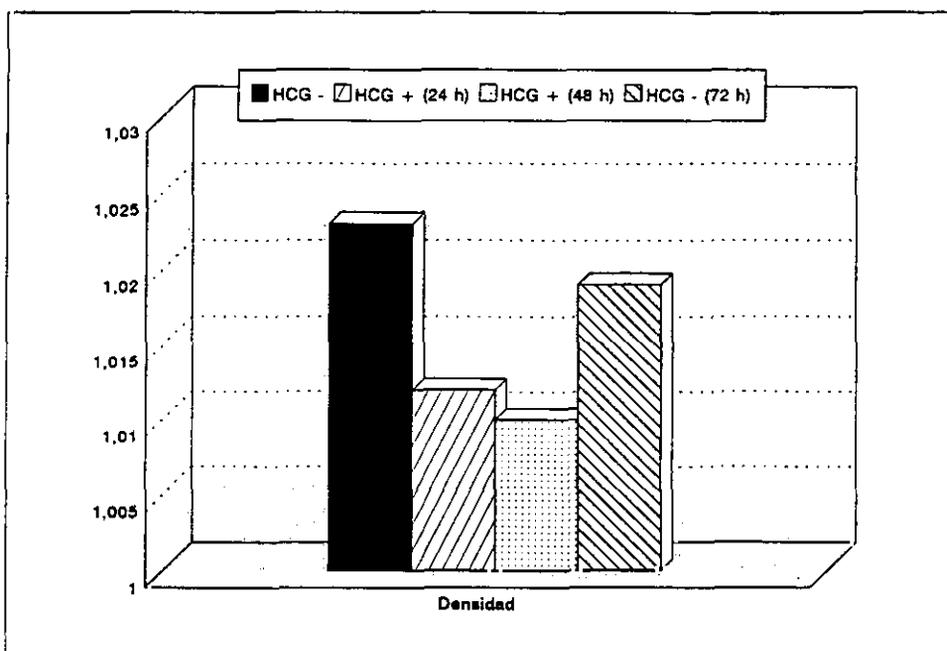
Se observa una pequeña disminución del cociente T/E a las 48 horas, sin otras variaciones destacables respecto a este cociente. La relación An/Et experimentó sin embargo un aumento destacable a las 24 horas, seguido de una disminución.



***Figura 115***

***Relaciones entre las concentraciones de testosterona y la hormona luteinizante tras la administración de hCG***

La relación T/LH se eleva notablemente, y aunque el efecto va desapareciendo en el tiempo, es suficientemente importante como para ser destacado entre otros efectos producidos por la hCG.



***Figura 116***

*Variaciones en la densidad urinaria tras la administración de hCG*

En la ***figura 116*** se presentan las variaciones sufridas por la **densidad urinaria**. En ella, así como en los correspondientes valores de la ***tabla XXXV***, se puede observar que la **densidad urinaria** sufrió un importante descenso en sus valores tras la administración de **hCG**, llegando incluso a cifras de 1.010 a las 48 horas. Se observa claramente cómo es la densidad la que presenta una mayor modificación con la utilización de **hCG** y probablemente es esta disminución la que hace que se presente a las 48 horas un pobre perfil.

#### iv. Discusión y conclusiones

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

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

#### **IV.3.3.3. Efecto producido por la administración de anabolizantes**

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

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

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

**Grupo 3)** Deportistas federados, varones, con resultado positivo en el análisis de control del dopaje por una  $R_{T/E} > 6$  (n=10).

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

## Resultados

Los datos numéricos de los resultados se presentan en las tablas XXXVI.

XXXVII y XXXVIII.

	Media	Desviación estándar	Coefficiente variación (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
[T] ng/ml	41,39	24,85	60,03	1,54	101,4	39,72
[E] ng/ml	29,32	18,85	64,29	4,2	89,6	25,29
[An] ng/ml	1581,98	948,91	59,98	258	4498	1450
[Et] ng/ml	1416,67	782,31	55,22	420,9	4205	1326
[OHAn] ng/ml	421,60	315,09	74,73	51,11	1491	331,85
[OHEt] ng/ml	205,58	150,54	73,22	24	699,7	163,95
T/E	1,90	1,28	67,37	0,13	4,75	1,48
An/Et	1,18	0,49	41,52	0,24	2,42	1,10
OHAn/OHEt	2,21	1,27	57,46	0,78	6,68	1,89

Tabla XXXVI

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

	Media	Desviación estándar	Coefficiente variación (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
[T] ng/ml	32,22	33,85	105,05	0,5	128,1	33,4
[E] ng/ml	18,77	19,22	102,39	0,9	67,9	14,2
[An] ng/ml	716,33	515,31	71,93	21,3	1743	898,7
[Et] ng/ml	871,1	732,89	84,13	11,3	2624	682,9
[OHAn] ng/ml	158,94	167,20	105,19	15,4	790,9	109,5
[OHEt] ng/ml	130,82	101,77	77,79	12,7	376,9	108,6
T/E	2,15	1,42	66,04	0,08	5,87	1,89
An/Et	1,25	1,79	143,20	0,39	10,02	0,82
OHAn/OHEt	1,31	0,90	68,70	0,1	3,93	1,07

***Tabla XXXVII***

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

	Media	Desviación estándar	Coefficiente variación (%)	Mínimo	Máximo	Mediana
[T] ng/ml	250,47	364,05	145,35	25,29	1264,8	185,55
[E] ng/ml	16,29	16,02	98,34	2,43	58,5	12,45
[An] ng/ml	2537,75	1546,32	60,93	579,6	6389,1	2350,9
[Et] ng/ml	2696,28	1633,08	60,57	1139,3	6624,1	2127,5
[OHAn] ng/ml	293,2	231,79	79,06	72,9	912	264,1
[OHEt] ng/ml	172,09	169,05	98,23	52,9	631	127,15
T/E	12,26	5,92	48,29	6,19	23,12	10,96
An/Et	0,99	0,40	40,40	0,54	1,94	0,95
OHAn/OHEt	1,94	0,81	41,75	0,5	3,47	1,89

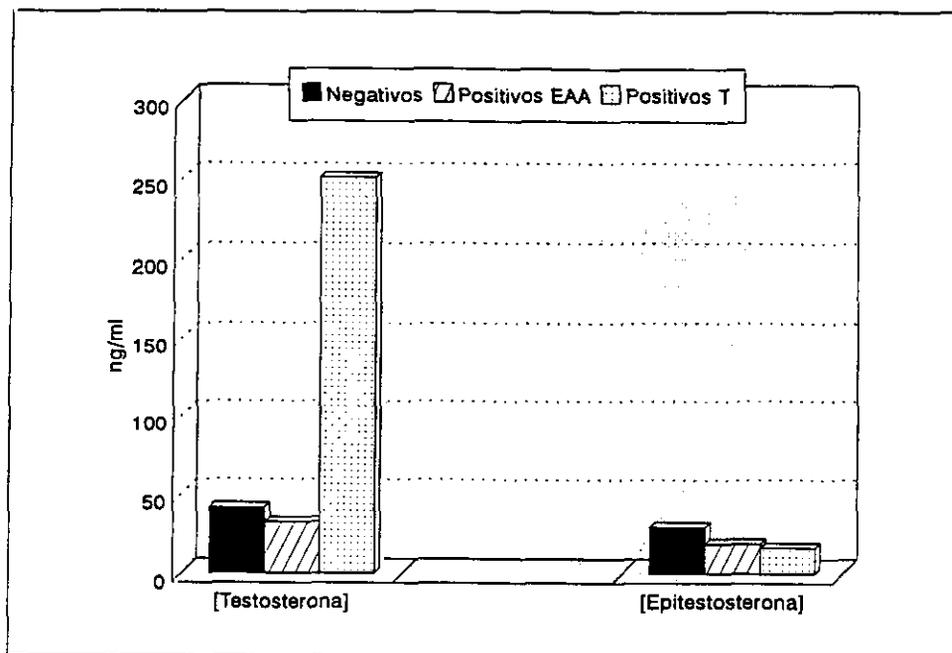
***Tabla XXXVIII***

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

También se ha realizado un estudio comparativo estadístico (*test de la t de Student*), alcanzándose niveles de significación en los siguientes casos:

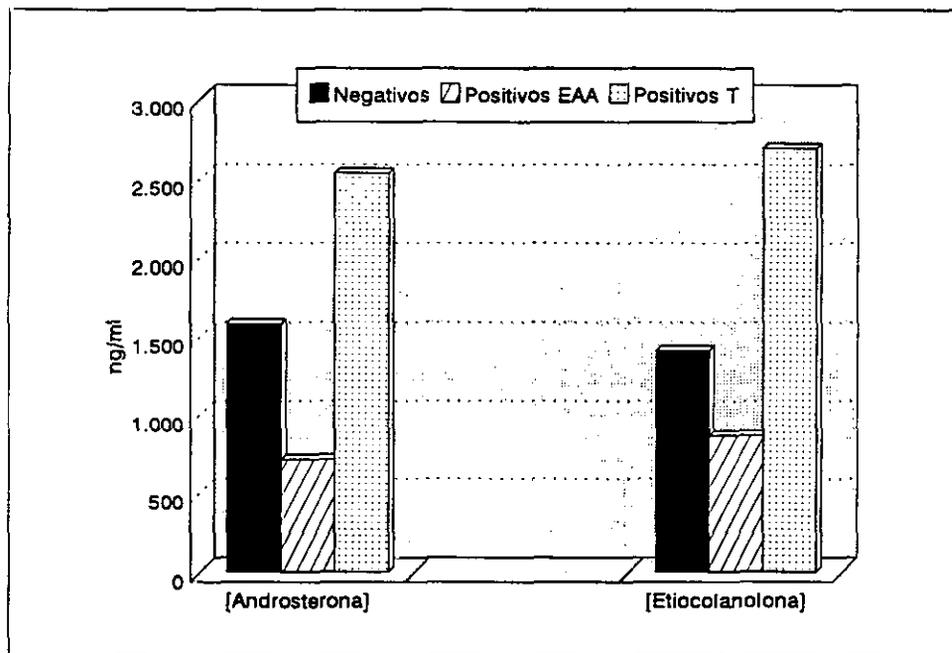
Nivel de significación	Variable	Grupos
* $p < 0,001$	[T]	1 - 3
	[An]	1 - 2
	[An]	1 - 3
	[Et]	1 - 3
	[Et]	2 - 3
	[OHAn]	1 - 2
	T/E	2 - 3
* $p < 0,01$	[T]	2 - 3
	[Et]	1 - 2
* $p < 0,05$	[E]	1 - 2
	[An]	1 - 3
	[OHEt]	1 - 2
	[OHAn/OHEt]	1 - 2

Por último, se han representado en las figuras 117, 118, 119 y 120 los resultados más significativos para su comparación gráfica.



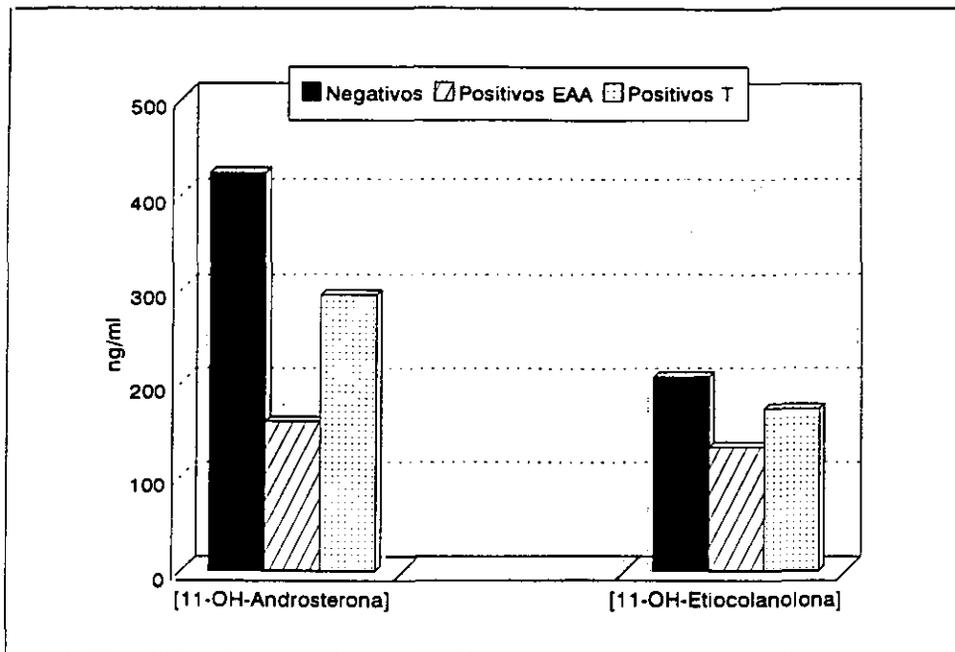
**Figura 117**

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



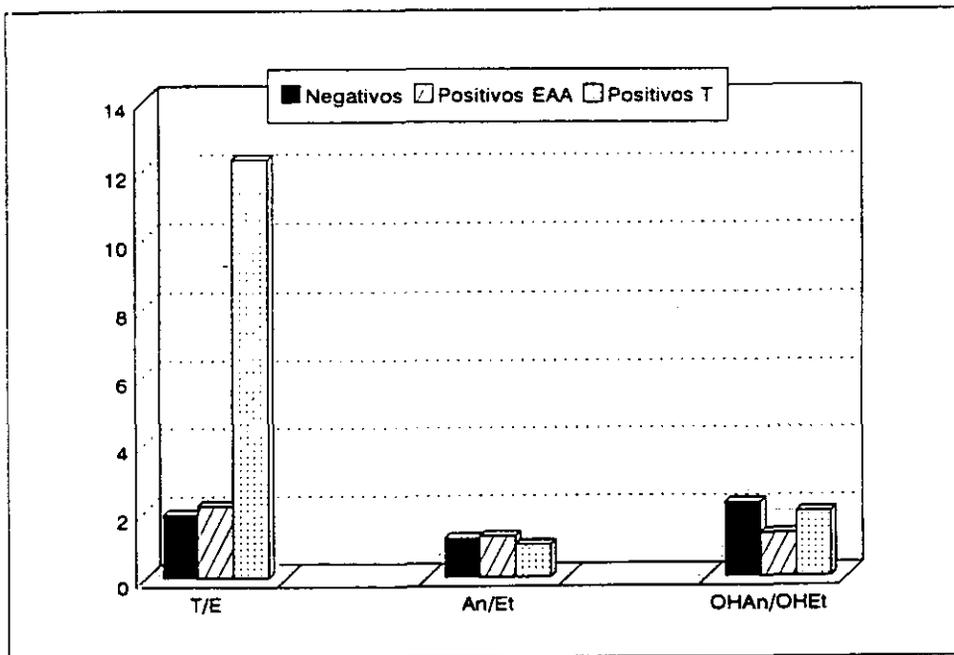
**Figura 118**

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



**Figura 119**

*Concentraciones medias de OHAn y OHEt en muestras negativas en el control del dopaje, positivas con EAA (no T) y positivas por T/E*



**Figura 120**

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

### Discusión y conclusiones

En los resultados presentados, se puede observar que la utilización de **esteroides anabolizantes androgénicos** actúa sobre el **perfil hormonal esteroideo** incidiendo sobre las concentraciones de las hormonas que lo integran, de forma que, en general, y salvo en el caso lógico de la **testosterona**, producen una disminución de los valores medios de dichas concentraciones, siendo la **androsterona** y la **etiocolanolona** los andrógenos más influenciados, lo cual es lógico ante el papel que estos esteroides poseen en el equilibrio hormonal. Probablemente esto es debido a una inhibición de estas sustancias del eje hipotálamo-hipofisiario, con la consecuente disminución en la producción endógena de estas sustancias<sup>11</sup>.

Es por este motivo por lo que se propuso la utilización de los **perfiles hormonales esteroideos** para valorar el uso de los **esteroides anabolizantes androgénicos**, incluso sin la presencia objetiva de estas sustancias en la orina. Tras la administración de estos agentes farmacológicos el organismo puede tardar incluso meses en restaurar sus funciones endocrinas endógenas, con la consiguiente disminución de las concentraciones de sus hormonas<sup>304</sup>.

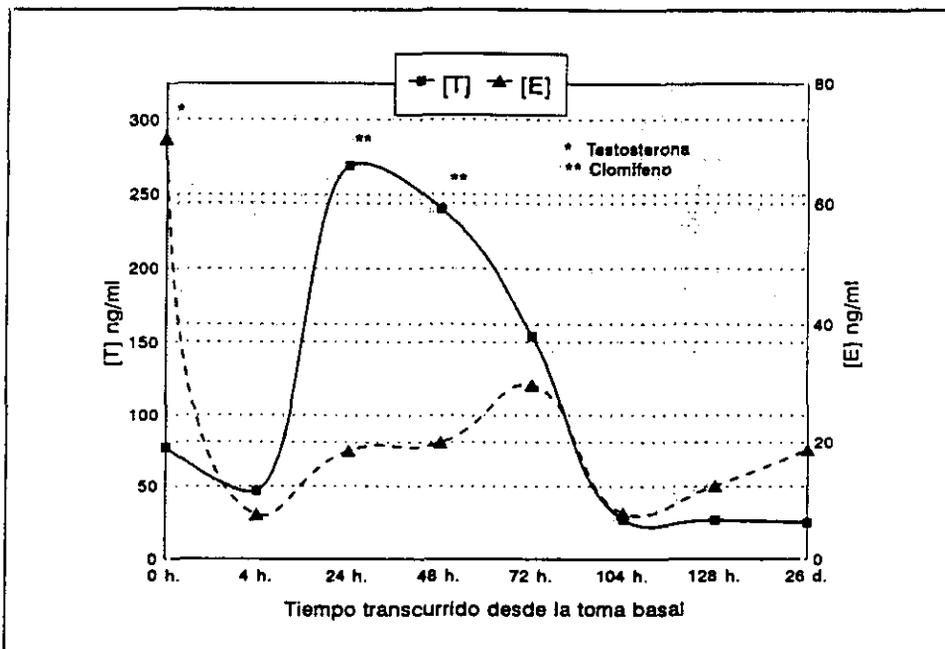
#### **IV.3.3.4. Efecto producido por la administración de clomifeno**

El **clomifeno** es un antiestrógeno que actúa sobre el hipotálamo, elevando la producción endógena de las gonadotropinas **LH** y **FSH**<sup>11</sup>. Además, por la elevación en los niveles de gonadotropinas puede producir un aumento de los niveles endógenos de **testosterona**. Igualmente, por la acción de estimulación de gonadotropinas, el **clomifeno** evitaría la atrofia testicular que el uso de **esteroides anabolizantes androgénicos** exógenos puede producir al deportista.

Para valorar los efectos de este fármaco, lo que hasta la actualidad no se ha realizado, se ha realizado un estudio práctico de la posible influencia del clomifeno sobre los parámetros, clásicos e innovadores, más esenciales del **P.H.E.**, administrando a un sujeto voluntario, varón, dos dosis en 24 horas, durante 5 días, a las 48 horas de haber suministrado una dosis de 100 mg. de enantato de testosterona inyectable.

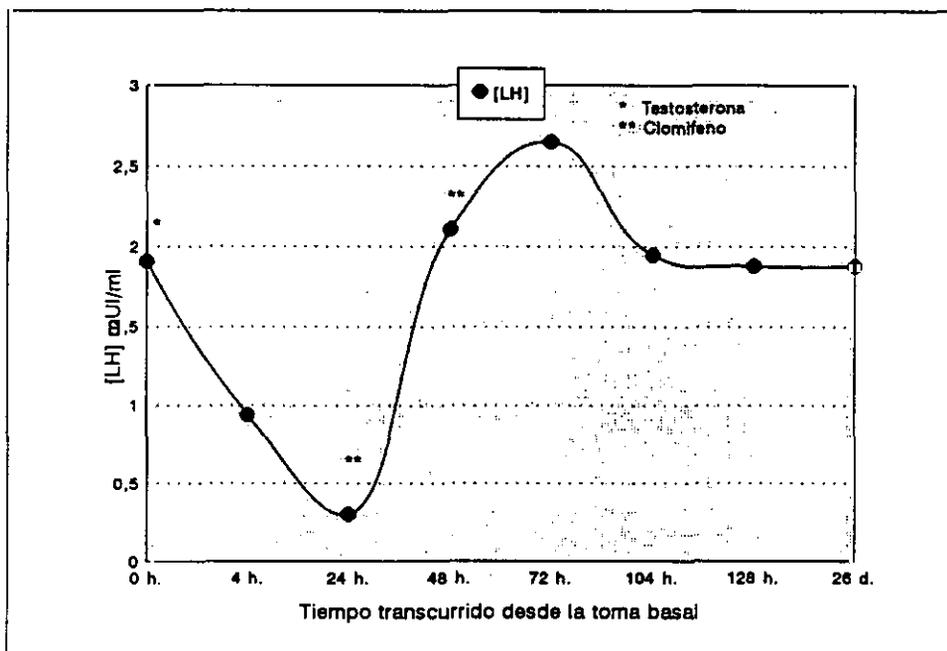
#### **Resultados**

Los resultados más significativos, es decir, las concentraciones de las hormonas **T** y **LH** y las relaciones de endógenos que más interés tienen en la actualidad y pueden tener en el futuro para discernir los posibles casos positivos de dopaje con **testosterona**, se han representado gráficamente en las **figuras 121, 122, 123 y 124.**



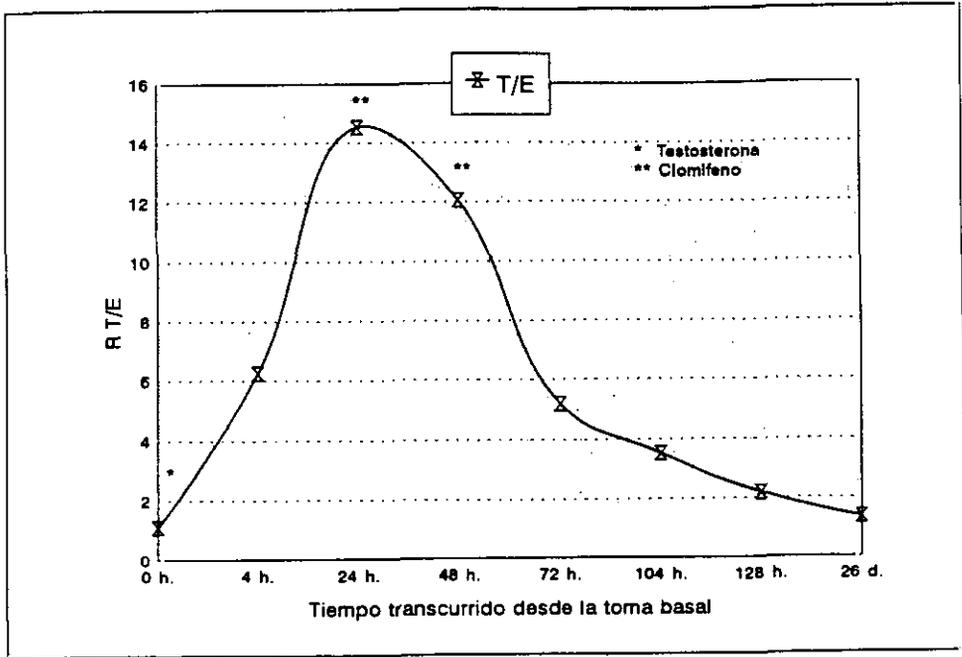
**Figura 121**

*Incidencia de la administración de clomifeno, tras una administración de testosterona, sobre [T] y [E]*



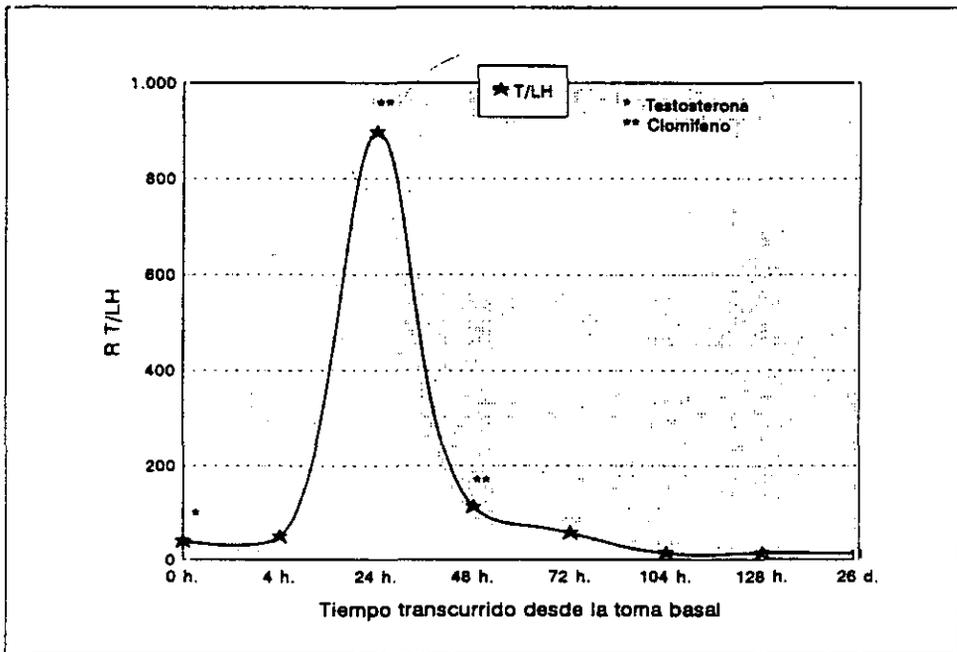
**Figura 122**

*Incidencia de la administración de clomifeno, tras una administración de testosterona, sobre [LH]*



**Figura 123**

*Incidencia de la administración de clomifeno, tras una administración de testosterona, sobre T/E*



**Figura 124**

*Incidencia de la administración de clomifeno, tras una administración de testosterona, sobre T/LH*

### Discusión y conclusiones

De estos resultados se puede concluir fundamentalmente que:

1º) Aunque la administración de **testosterona** provoca un descenso en la excreción de esta hormona por bloqueo del eje hipotálamo-hipofisario, al administrar **clomifeno** no parece que se aumente la producción de **testosterona** endógena, e incluso puede que el **clomifeno** provoque una cierta disminución de la esteroidogénesis testicular.

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

Como consecuencia, se observa que el **clomifeno** puede actuar como *enmascarador* para la **testosterona** y para las relaciones T/E y T/LH. Ello pone de manifiesto que el control de utilización de **testosterona** exógena por el deportista es un problema de difícil solución, ya que la mayoría de los parámetros utilizados para su detección pueden ser artificialmente falseados.



**IV.4. ESTUDIO DE PARAMETROS DEL PERFIL HORMONAL ESTEROIDEO**  
**COMPLEMENTARIOS DE LOS ACTUALMENTE MEDIDOS**  
**EN EL CONTROL ANALITICO DEL DOPAJE**

Con la finalidad de resolver la problemática generada al emitir posibles "*falsos positivos*" o "*falsos negativos*" de testosterona, basados solamente en los valores del cociente T/E obtenido entre las concentraciones de las hormonas andrógenas endógenas testosterona y epitestosterona, y en base de las influencias que sobre esta relación pueden tener ciertos agentes farmacológicos (gonadotropina coriónica human, clomifeno, etc.) se ha realizado, con muestras recogidas, en período de competición, y tras competir, a deportistas varones federados de alta competición, un estudio de diversos parámetros, clásicos (T, E, An, Et, OHAn, OHEt, T/E, An/Et, OHAn/OHEt) e innovadores (LH, FSH, An/T, Et/T, An/E, Et/E), integrantes del perfil hormonal esteroideo, tanto absoluto como relativo, en función de determinados valores de la citada  $R_{T/E}$ , habiéndose elegido, de acuerdo con los actuales criterios de positividad para la testosterona, y teniendo en cuenta la problemática presentada, los siguientes:

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

### **Resultados**

Los resultados obtenidos se presentan en las **tablas XXXIX - XLVI.**

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

**Tabla XXXIX**

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

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

**Tabla XL**

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

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

**Tabla XLI**

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

$$0,6 < R_{T/E} < 2$$

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

**Tabla XLII**

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

$$3 < R_{T/E} \leq 6$$

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

**Tabla XLIII**

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

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

***Tabla XLIV***

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

$$6 < R_{T/E} < 10$$

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

**Tabla XLV**

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

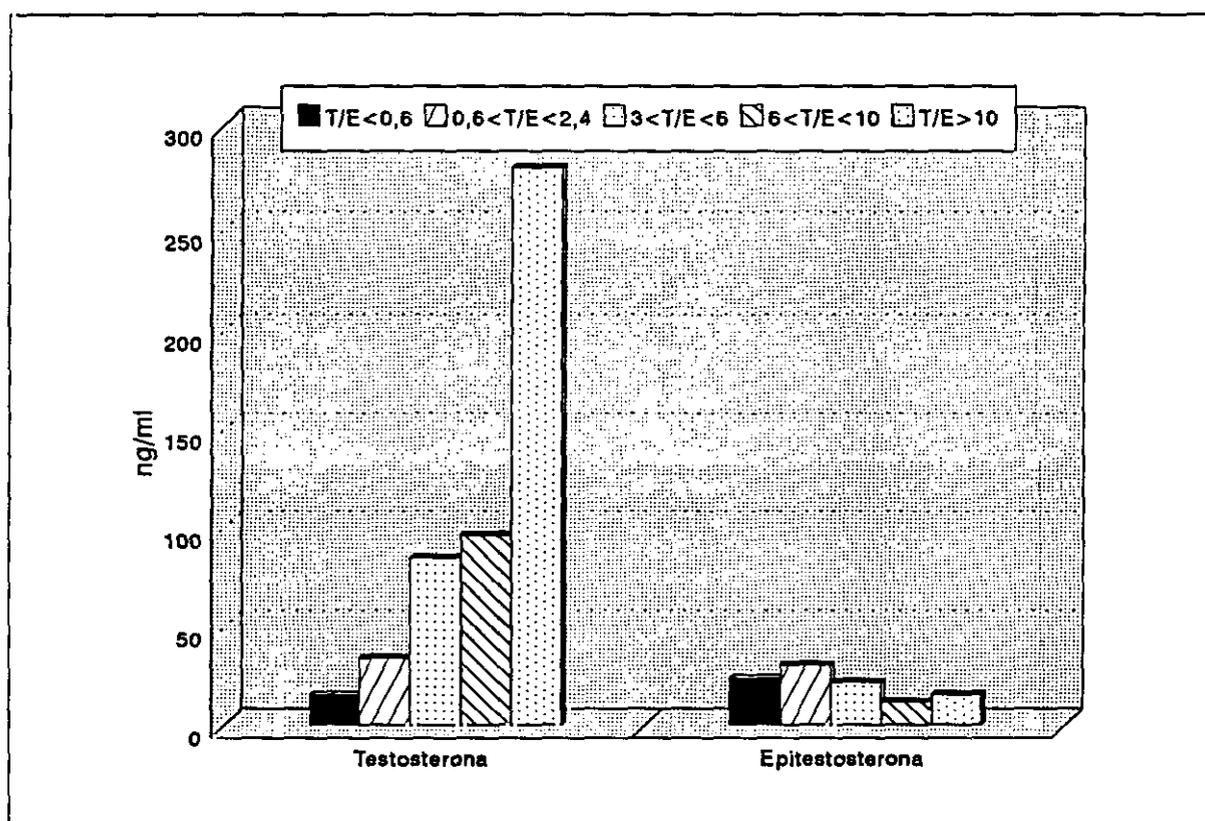
$$R_{T/E} \geq 10$$

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

**Tabla XLVI**

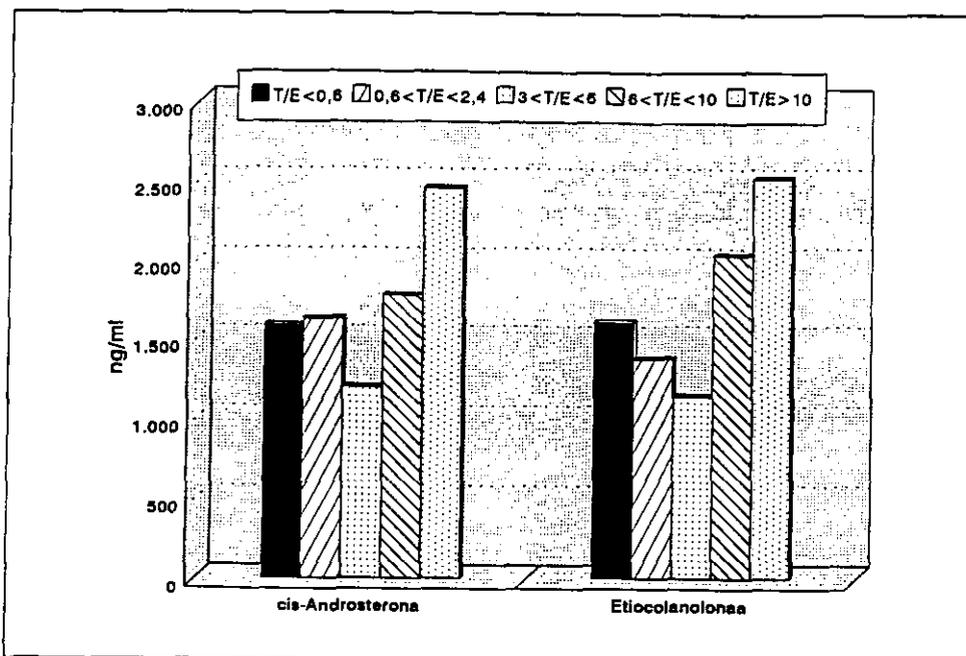
*Descripción estadística de las concentraciones urinarias de sustancias del perfil hormonal esteroideo y de otras hormonas relacionadas con ellas, medidas, tras competir, a una población de 7 varones, deportistas federados*

Las comparaciones más significativas de estos resultados se presentan en las figuras 125-131



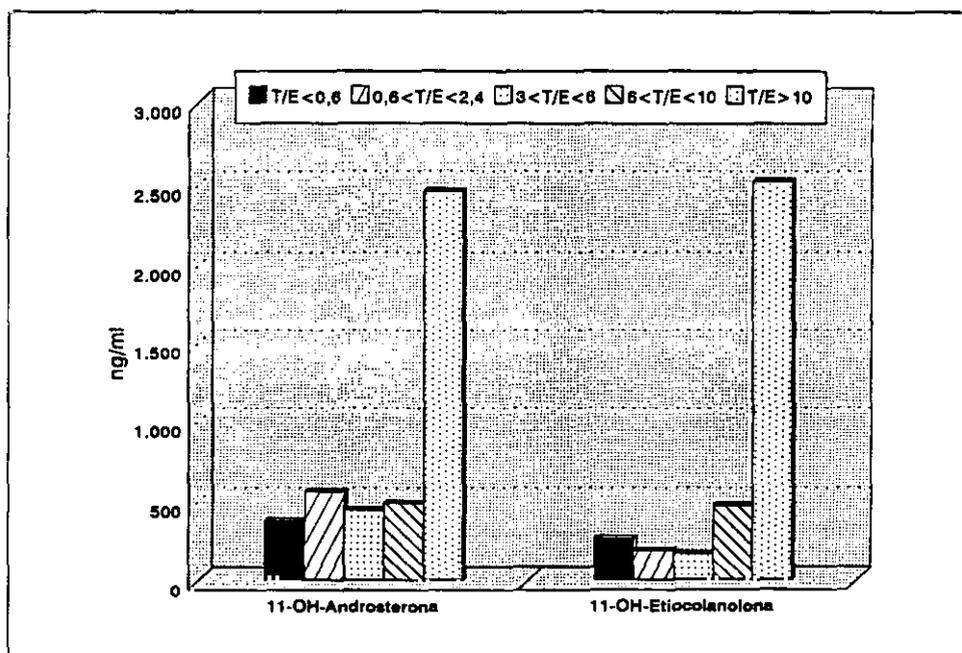
**Figura 125**

*Concentraciones medias de T y E en muestras con diferentes valores de T/E*



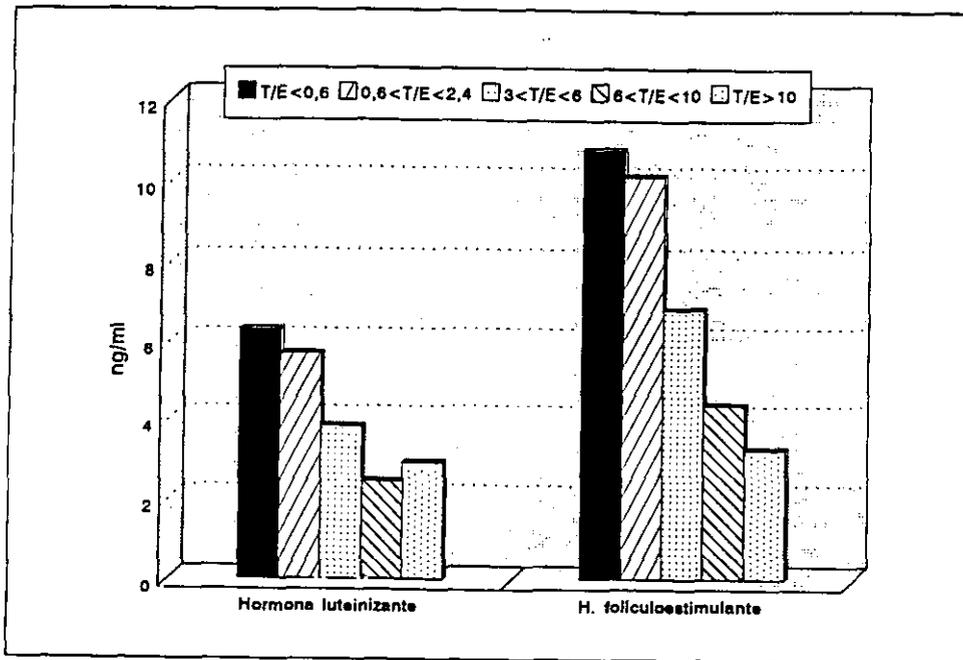
**Figura 126**

*Concentraciones medias de An y Et en muestras con diferentes valores de T/E*



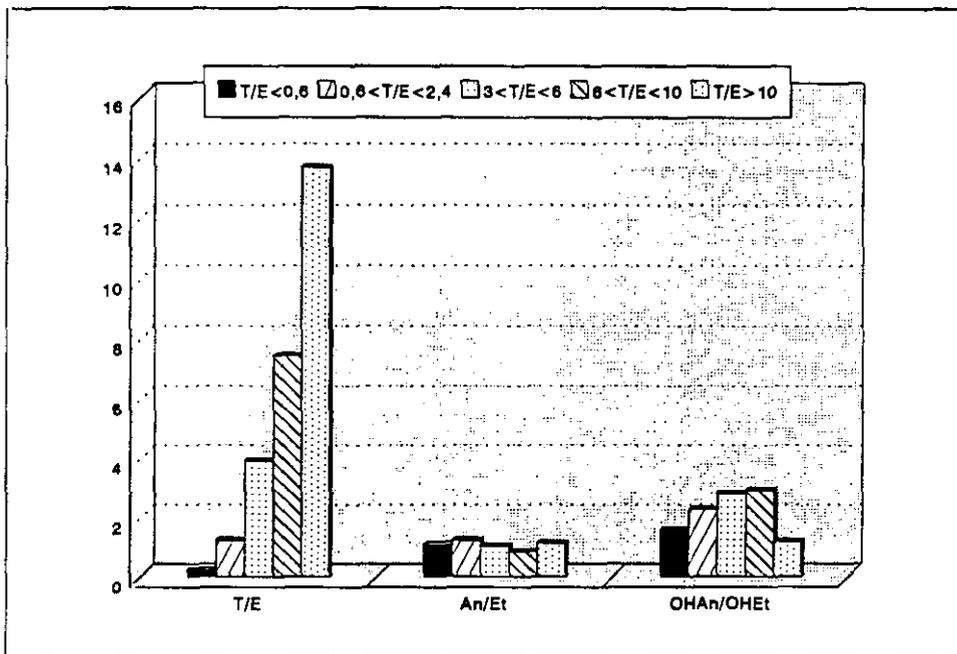
**Figura 127**

*Concentraciones medias de OHAn y OHEt en muestras con diferentes valores de T/E*



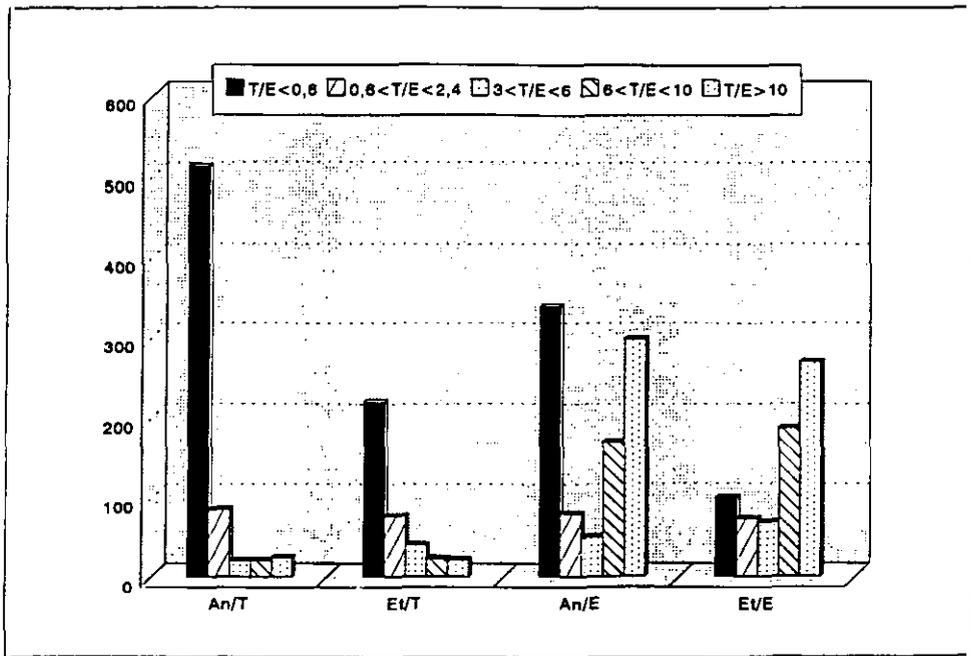
**Figura 128**

*Concentraciones medias de LH y FSH en muestras con diferentes valores de T/E*



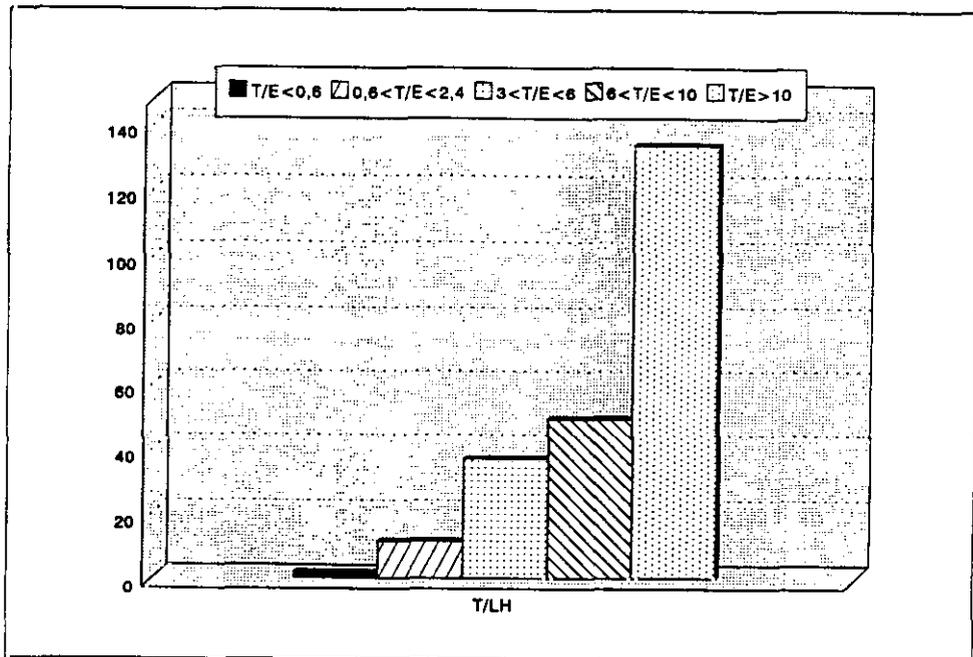
**Figura 129**

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



**Figura 130**

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



**Figura 131**

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

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

<u>Nivel de significación</u>	<u>Variable</u>	<u>Grupos</u>	
<b>p &lt; 0,001</b>			
	T/E	T/E < 0,6	0,6 > T/E > 2,4
	An/T	T/E < 0,6	0,6 > T/E > 2,4
	An/E	T/E < 0,6	0,6 > T/E > 2,4
	[T]	0,6 > T/E > 2,4	3 > T/E > 6
	T/E	0,6 > T/E > 2,4	3 > T/E > 6
	T/E	T/E < 0,6	6 > T/E > 10
	T/LH	T/E < 0,6	6 > T/E > 10
	[T]	0,6 > T/E > 2,4	6 > T/E > 10
	T/E	0,6 > T/E > 2,4	6 > T/E > 10
	An/E	0,6 > T/E > 2,4	6 > T/E > 10
	E/E	0,6 > T/E > 2,4	6 > T/E > 10
	T/E	0,6 > T/E > 2,4	T/E > 10
	T/LH	0,6 > T/E > 2,4	T/E > 10
	[T]	T/E < 3	3 > T/E > 6
	T/E	T/E < 3	3 > T/E > 6
	[T]	T/E < 3	6 > T/E > 10
	T/E	T/E < 3	6 > T/E > 10
	T/E	T/E < 3	T/E > 10

T/LH	T/E < 3	T/E > 10
T/E	3 > T/E > 6	6 > T/E > 10
T/E	3 > T/E > 6	T/E > 10
T/E	T/E < 10	T/E > 10
T/LH	T/E < 10	T/E > 10

**p < 0,01**

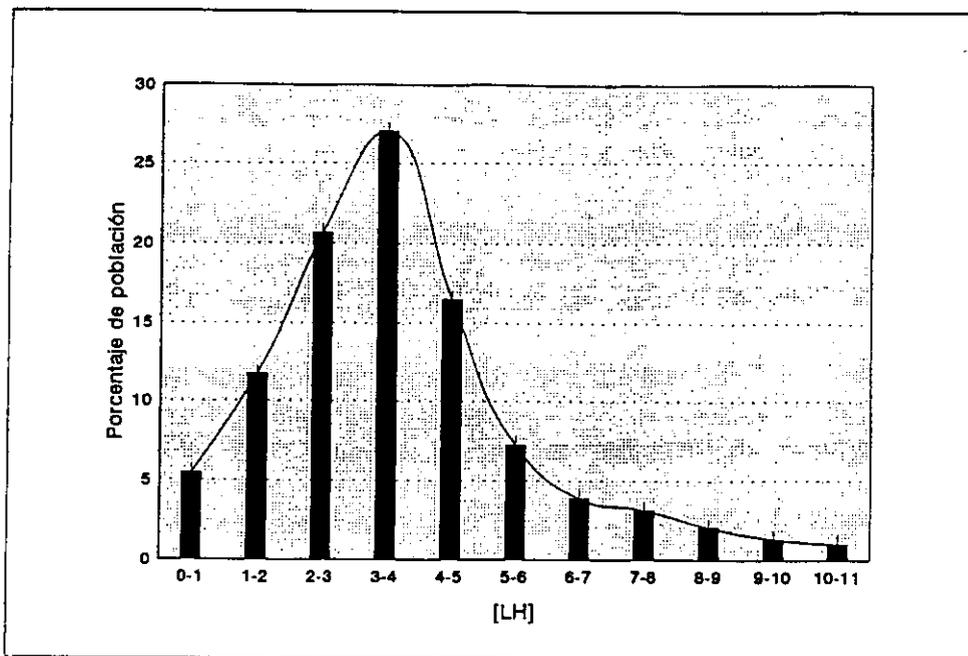
T/LH	0,6 > T/E > 2,4	3 > T/E > 6
An/T	0,6 > T/E > 2,4	3 > T/E > 6
T/LH	0,6 > T/E > 2,4	6 > T/E > 10
T/LH	3 > T/E > 6	T/E > 10
T/LH	T/E < 3	3 > T/E > 6
T/LH	T/E < 3	6 > T/E > 10

**p < 0,05**

[FSH]	0,6 > T/E > 2,4	3 > T/E > 6
Et/E	0,6 > T/E > 2,4	6 > T/E > 10
[T]	0,6 > T/E > 2,4	T > 10
[E]	0,6 > T/E > 2,4	T > 10
[FSH]	0,6 > T/E > 2,4	T > 10
An/T	T/E < 3	3 > T/E > 6
[T]	T/E < 3	T/E > 10
[LH]	3 > T/E > 6	T/E > 10

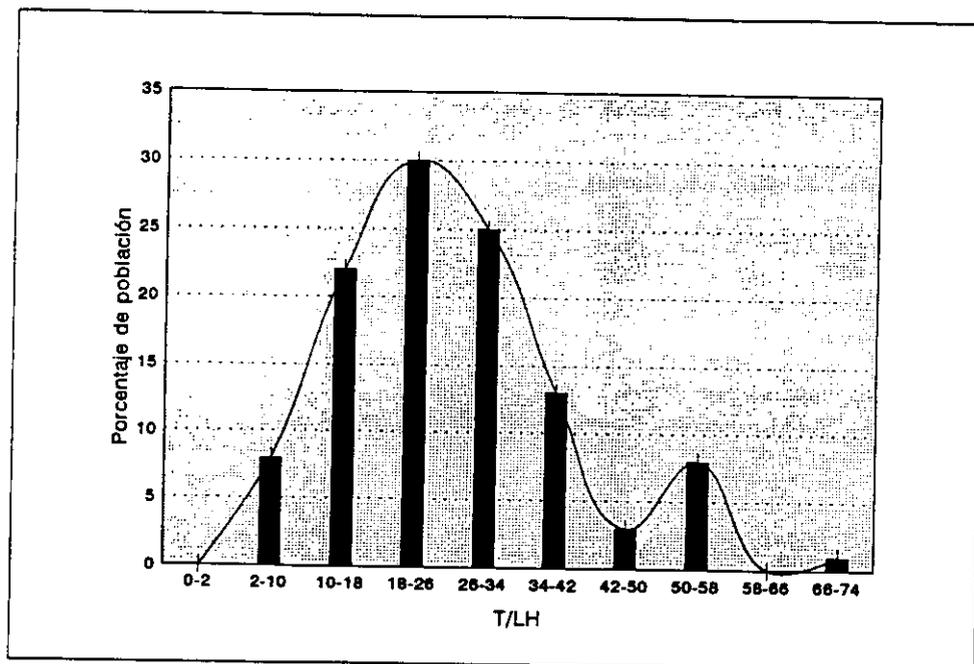
Llama poderosamente la atención el alto número de niveles de significación alcanzados por diversas variables del P.H.E. entre los diferentes grupos estudiados. Pero sobre todo, además de las significaciones (lógicas por las condiciones de valores de T/E para formar dichos grupos) entre los cocientes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

Ante el interés que presenta el cociente T/LH, se realizó un estudio de distribución de frecuencias de valores de [LH] y T/LH en una población normal, de 54 varones con una edad media de  $21 \pm 2,3$  años, con actividad física media (*figuras 132 y 133*).



***Figura 132***

*Frecuencias de distribución de [LH] en una población de actividad física media*



***Figura 133***

*Frecuencias de distribución de T/LH en una población de actividad física media*

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

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

**Tabla XLVII**

*Coefficiente de relación y significación estadística entre pares de variables de diversos grupos con diferente T/E*

### Discusión y conclusiones

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

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

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

Igualmente esta evaluación de los datos nos hace pensar que la valoración de una orina como *positiva* o *negativa* para la testosterona es muy difícil de realizar en la actualidad, pues son múltiples parámetros los que se deben evaluar. Además, esta evaluación ha de realizarse a título individual, ya que en cada individuo puede verse alterado un parámetro o una relación diferentes que en otro.

Estas conclusiones nos hacen ser pesimistas en la forma actual de valoración de la testosterona en el *control del dopaje*.

En el estudio presentado a continuación, en el que valoramos varios casos prácticos, se documentan las dudas al respecto.

**IV.4.1. Estudio y discusión de 25 casos prácticos con diferentes anomalías  
en el Perfil Hormonal**

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

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

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

En consecuencia, en este caso no se han incluido ni poblaciones femeninas, ni con actividad física media o baja, ni con reacciones positivas a la hCG y/o a los esteroides anabolizantes (incluida la testosterona), ni voluntarios, ni deportistas federados en período de entrenamiento.

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

***Tabla XLVIII***

*Valores medios de las principales variables del perfil hormonal correspondientes a poblaciones deportivas sin influencias endógenas ni exógenas observables*

Caso	T/E	[T] (ng/ml)	[E] (ng/ml)	[An] (ng/ml)	[Et] (ng/ml)	[LH] (mUI/ml)	An/Et	An/T	T/LH	[hCG] (mUI/ml)
1	21,81	1265	58	6389	6624	4,30	0,96	5,05	294,18	0,3
2	14,70	209,7	9,10	2298	2127	2,36	1,08	10,95	88,90	0,8
3	13,50	21,88	1,62	728,7	701,6	0,90	32,07	33,30	24,31	0,9
4	12,48	33,94	2,72	168,2	86,8	0,60	1,94	4,96	56,56	0,2
5	11,59	197	17	2946	3089	3,90	0,95	14,95	50,52	0,7
6	11,28	203	18	2568	3364	8,10	0,76	12,65	25,06	0,7
7	10,40	24,86	2,39	2124,2	1662,6	0,20	1,28	85,45	394,35	0,3
8	8,4	11,5	1,3	343	429	0,4	0,79	29,82	28,75	0,3
9	4,98	114,5	23	1033,8	825,6	0,68	1,25	9,02	168,40	164,7
10	4,80	245	50	1946	1750	1,4	1,11	7,94	172,4	1,2
11	4,40	360	81	3241	2781	2,9	1,17	9,00	123,4	0,3
12	4,29	3	0,7	203	406	0,1	0,50	67,67	30	2,3

***Tabla II. (inicio)***

*Parámetros del perfil hormonal en 25 muestras analizadas en el control del dopaje*

Caso	T/E	[T] (ng/ml)	[E] (ng/ml)	[An] (ng/ml)	[Et] (ng/ml)	[LH] (mUI/ml)	An/Et	An/T	T/LH	[hCG] (mUI/ml)
13	4,24	42	9,90	244	830	3,8	0,29	5,81	11,05	1,1
14	4,12	33	8	206	453	6,0	0,45	6,24	5,5	4,5
15	3,43	33,90	9,90	261,2	435,9	10,10	0,60	7,7	3,36	0,5
16	3,40	21,4	6,3	183,7	152,1	0,52	1,21	8,58	41,15	3,2
17	1,56	3,2	2,10	246,1	529,5	1,31	0,47	76,90	2,44	0,9
18	0,92	115	125	1233	966	0,6	1,28	10,72	191,7	0,4
19	0,91	21,60	22,60	2295	1467	30,89	1,56	106,3	0,69	2,4
20	0,70	23	33	104	205	0,07	0,50	4,52	328,6	0,9
21	0,60	1,90	3,30	821,6	425,9	1,22	1,93	432,42	1,56	3,4
22	0,19	38	204	999	1633	3,1	0,61	26,29	12,26	2,1
23	0,13	1,54	12,20	16221	1431	5,17	1,13	1052,6	0,30	2,4
24	0,11	18,3	166,4	109,2	238,4	0,3	0,46	5,97	61	3,7
25	0,10	1,10	3,20	732,3	679,2	5,30	1,08	665,73	0,21	0,6

*Tabla II (final)*

*Parámetros del perfil hormonal en 25 muestras analizadas en el control del dopaje*

Se pueden destacar los siguientes resultados:

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

$a_1$ ) [T] con valores muy superiores (casos 1, 2, 5 y 6);

$a_2$ ) [E] con valores muy inferiores (casos 3, 4 y 7);

$a_3$ ) [An] con valores muy inferiores (casos 3 y 4);

$a_4$ ) [Et] con valores muy inferiores (caso 4);

$a_5$ ) [LH] con valores elevados (caso 6);

$a_6$ ) An/Et con valores muy superiores (caso 3);

$a_7$ ) An/T con valores           \* muy inferiores (casos 1, 4, 5 y 6)  
  \* muy superiores (caso 7);

$a_8$ ) T/LH con valores muy superiores (casos 1, 2, 4, 5 y 7);

**a<sub>2</sub>) hCG** con valores normales en todos los casos.

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

**b<sub>1</sub>) [E], [An] y [Et]** con valores por debajo de lo normal;

**b<sub>2</sub>)** la relación **An/T** algo elevada.

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

**c<sub>1</sub>) [T]** con valores: \* elevados en los casos 9, 10 y 11;

\* muy bajos en el 12;

**c<sub>2</sub>) [E]** con valores: \* algo elevados en el caso 11;

\* muy por debajo de lo normal en los casos 12, 13, 14,  
15 y 16.

- c<sub>3</sub>) [An]** con valores:           \* bajos en el caso 9;  
  \* muy inferiores a la media de los grupos de referencia  
  en los casos 12, 13, 14, 15 y 16.
- c<sub>4</sub>) [Et]** inferior a la media de referencia en los casos 12, 14, 15 y 16.
- c<sub>5</sub>) [LH]** inferior a la media considerada como normal en los casos 9, 16 y,  
sobre todo, 12.
- c<sub>6</sub>) An/Et** algo baja en los casos 12, 14 y 15, y algo más inferior en el 13.
- c<sub>7</sub>) An/T** muy por debajo del valor medio de referencia en los casos 9, 10, 11,  
13, 14, 15 y 16.
- c<sub>8</sub>) T/LH** con valores:           \* muy superiores a la media considerada normal  
  en los casos 9, 10 y 11;  
  \* y por debajo de lo normal en 14 y 15.
- d<sub>9</sub>) [hCG]** con valores considerados como positivos en el caso 9.

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

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

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

\* y muy superior en el 18.

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

\* y muy por debajo de ellos en 17, 21 y 25.

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

\* muy superiores en el 23.

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

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

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

d<sub>9</sub>) An/T con valores elevados en el caso 17, muy elevados en los casos 19, 21, 25 y, sobre todo, 23.

d<sub>9</sub>) T/LH presenta valores: \* muy elevados sobre la media de referencia en los casos 18 y 20;

\* e inferiores en los 17, 19, 21, 23 y 25.

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

### Discusión y conclusiones

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

Probablemente, la utilización de sangre como material fisiológico de muestreo haga que disminuya el uso de las sustancias consideradas; y ello no porque resuelva los problemas analíticos que su detección y confirmación presenta, sino por su significación represiva. Es pues necesario continuar las investigaciones en desarrollo en iniciar otras nuevas, en la intención de asegurar algún índice o parámetro analítico suficientemente fiable como para considerarlo como significativo para constatar una infracción de dopaje con testosterona.



**V. CONCLUSIONES FINALES**



## **V. CONCLUSIONES FINALES**

Como consecuencia del trabajo experimental llevado a cabo en la realización de esta Tesis Doctoral, se pueden extraer como conclusiones las siguientes:

1. Que el uso y abuso de **esteroides anabolizantes androgénicos**, y sobre todo de **testosterona**, se encuentra en el momento actual en una fase de claro aumento.

2. Que la detección, identificación y confirmación analítica de estas sustancias debe realizarse, por sus características endógenas, teniendo en cuenta los posibles factores de influencia en el análisis.

3. Que el sexo produce cambios cuantitativos en el **perfil hormonal** en general y en el **perfil hormonal esteroideo** en particular, y modificaciones mínimas, pero significativamente apreciables, en la relación **T/E**.

4. Que, en el deportista, el ritmo circadiano para estas hormonas puede modificar tanto el **P.H.E.** como la relación **T/E**.

5. Que según la edad del deportista este factor puede inducir a incrementos en la relación T/E.

6. Que la actividad física "per se" ejerce una clara influencia sobre los niveles de hormonas androgénicas endógenas urinarias.

7. Que los diferentes sistemas de entrenamiento pueden tener influencia sobre los **perfiles hormonales**.

8. Que la competición deportiva modifica los parámetros integrantes del **Perfil Hormonal Esteroideo**.

9. Que el uso de la **gonadotrofina coriónica humana** puede manipular tanto la relación T/E como la relación T/LH y enmascarar la administración de **testosterona endógena**.

10. Que el **clomifeno** manipula el metabolismo de la **testosterona**, enmascarando las relaciones T/E y T/LH.

11. Que para determinar una positividad o negatividad al uso de la **testosterona**, no parece fiable establecer la relación T/E como único índice de evaluación, al ser esta relación fácilmente manipulable.

12. Que es necesario establecer un estudio individualizado de varios parámetros del **perfil hormonal** para poder demostrar el uso de **testosterona exógena**.

13. Que es necesario una revisión del índice de positividad, al no ser el adecuado el actual  $T/E > 6$ , o incluso el  $T/E > 10$ .

14. Que igualmente se necesita revisar el índice de negatividad, ya que el establecido como  $T/E < 6$  tampoco parece ser el adecuado.



**VI. BIBLIOGRAFIA**



## VI. BIBLIOGRAFIA

1. Ley 10/1.990, de 15 de octubre, del Deporte. BOE 249, 25037, pp. 30397-30408.
2. *Rodríguez, C.*: "Historia del dopaje". En: "Dopaje", Ed. McGraw-Hill-Interamericana de España, (1.991) pp. 7-17.
3. *Alvarez-Santullano, L.*: "La lucha contra el dopaje. Marco legal". Civitas, 1:87-95, (1.993).
4. *Cortés, R.*: "¿Qué es el doping?". En: "Control del dopaje en fútbol", Ed. RFEF, (1.991), pp. 9-16.
5. *Puffer, J.*: "The use of drugs in swimming". Clin. Sports Med., 5:77, (1.986).
6. *Noret, A.*: "Le dopage". Edit. Vigot, París, (1.981).
7. *Yagüe, F.*: "Historias de las Olimpiadas", Ed. Plaza y Janes, (1.992).
8. *Rodríguez, A.F.; Rodríguez, C.; Carreras, D.*: "El dopaje en los Juegos Olímpicos". Sport @ Medicina, 18:22-28, (1.992).
9. *Briggs, M.H.; Brotherton, J.*: "Steroid Biochemistry and Pharmacology", Academic Press, New York, (1.970).
10. *Fieser, L.F.; Fieser, M.*: "Química Orgánica Superior", Ed. Grijalbo, (1.966).
11. *Litter, M.*: "Compendio de Farmacología", Ed. El Ateneo, Argentina, (1.988).
12. *Klyne, W.*: "Química de los Esteroides", Trad. cast. Comp. Editorial Continental, Mexico (1.970).

13. *Berthold, A.A.*: "Transplantation der Hoden". Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin, Berlin, 42-46, (1.849).
14. *Brown-Séquard, C.E.*: "Des effets produits chez l'homme par des injections souscutanées d'un liquide retiré des testicules frais de cobaye et de chien". C. Séanc. Soc. Biol., 1:420-430, (1.989).
15. *Loewe, S.; Voss, H.E.*: "Der Sand der Erfassung des männlichen Sexualhormons (Androkinins)". Klin. Wschr., 9:481-487, (1.930).
16. *Butenandt, A.*: "Über die chemische Untersuchung des Sexualhormons. Z. Angew. Chem., 44:905-908, (1.930).
17. *Hoocker, C.W.*: "Reproduction in the male". En Rucha, T.C.; Patton, H.D.: "Physiology and Biophysics", 19th ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, (1.965).
18. *Flórez, J.*: "Hormonas sexuales: estrógenos, gestágenos, anticonceptivos hormonales, andrógenos". En: "Farmacología Humana", 2ª ed., Masson-Salvat Medicina, Barcelona (1.992), pp. 775-797.
19. *Fieser, L.F.; Fieser, M.*: "Natural Products Related to Phenantrene". Reinhold Publ. Corp., New York (1.949).
20. *Wilson, J.D.*: "Andrógenos". En: Goodman y Gilman: "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica", Ed. Médica Panamericana, Mexico (1.991), pp. 1367-1384.
21. *Dorfman, R.I.*: "The metabolism of androgens". En: Pincus, G.: "Recent Progress in Hormone Research", Academic Press Inc., New York (1.948).

22. *David, K.; Dingemans, E.; Freud, J.; Laqueur, E.:* "Über krystallinisches männliches Hormon aus oder aus Cholesterin bereitetes Androsteron". Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem., 233:281-282, (1.935).
23. *Butenandt A.; Hanisch, G.:* "Über Testosteron Umwandlung des Dehydroandrosterons in Androstendiol und Testosteron: ein Weg zur Darstellung der Testosterone aus Cholesterin". Hoppe-Syler's Z Physiol Chem. 237:89-98, (1.935).
24. *Ruzicka, L.; Wettstein, A.:* "Synthetische Darstellung des Testishormons, Testosteron (Androsten-3-on-17-ol). Helv. Chim. Acta, 18:1264-1275, (1.935).
25. *Bowman, W.C.; Rand, M.J.:* "Textbook of Pharmacology" 2nd. Ed. Blackwell Scientific Publications, London (1.980).
26. *Fieser, L.F.; Fieser, M.:* "Steroids", 3<sup>a</sup> ed., Nueva York (1.959), pp. 1-89, 330-340.
27. *Fullerton, D.S.:* "Steroids and therapeutically related compounds". En: Wilson, C.O.; Gisvold, O.; Doerge, R.F.: Textbook of Organic Medical and Pharmaceutical Chemistry, 7th. ed., Lippincott Co. Philadelphia, (1.977).
28. *Gisvold, O.:* "Steroids, nonsteroidal estrogens and cardiac glycosides". En: Wilson, C.O.; Gisvold, O.; Doerge, R.F.: Textbook of Organic and Pharmaceutical Chemistry, 6th. ed., Lippincott Co. Philadelphia, (1.971).
29. *Bishop, P.M.F.:* "Hormonas sexuales masculinas", Dia Med., 32:965, (1.960).
30. *Lerner, L.J.; Bianchi, A.; Borman, A.:* " <sup>1</sup>-Testolactona, a nonandrogenic augmentor and inhibitor of androgens". Cancer, 13:1201, (1.960).

31. *Schwarting, G.; Neth, R.* "Über anabole Wirkstoffe. Klinische und Stoffwechseluntersucungen mit einem neuen anabol wirkenden Steroid". *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 90:1092, (1.960).
32. *Grollman,A.; Grollman, E.F.:* "Pharmacology and Therapeutics", 7th. ed., Lea @ Febiger, Philadelphia, (1.970).
33. *Harper, H.A.;; Rodwell, V.W.; Mayes, P.A.:* "Manual de Ouímica Fisiológica", 17ª ed., Edit. El Manual Moderno, Mexico, (1.980).
34. *Bardin, C.W.; Paulsen, C.A.:* "The testes". En: Williams, R.H.: "Textbook of Endocrinology", 6th ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, (1.981).
35. *Guyton, A. C.:* "Funciones hormonales y reproductoras del varón". En: "Tratado de Fisiología Médica", 7ª ed., Ed. Interamericana McGraw-Hill, Madrid, (1.989).
36. *Newsholme, E.A.; Leech, A.R.:* "Biosíntesis y metabolismo del colesterol y hormonas esteroideas". En: "Bioquímica Médica", Ed. Interamericana McGraw-Hill (1.987), pp. 594-620.
37. *Siiteri, P.K.; MacDonald, P.C.:* "Role of extraglandular estrogen in human endocrinology". En: "Female Productive System", vol.2, 17. Endocrinology, Handbook of Physiology (Greep, R.O.; Astwood, E.B. ed.). American Physiological Society, Washington (1.973), pp. 615-629.
38. *Rendic, S.:* "Metabolism of Testosterone". En: "10th Cologne Worshop on Dope Analysis. Proceedings", Donike, M.; Geyer, H.; Gotzmann, A.; Mareck-Engelke, U.; Rauth, S., editors, Köln (1.993), pp. 27-46.

39. *Wilson, J.D.*: "Recent studies on the mechanism of action of testosterone". N. Engl. J. Med., 287:1284, (1.972).
40. *Mainwaring, W.I.P.*: "The mechanism of action of androgens". Monogr. Endocrinol., 10:1-178, (1.977).
41. *Odell, W.D.; Swerdloff, R.S.*: "Abnormalities of gonadal function in men". Clin. Endocrinol (Oxf.), 8:149-180, (1.978).
42. *Evans, R.M.*: "The steroid and thyroid hormone receptor superfamily". Science, 240:889-895, (1.988).
43. *O'Malley, B.W.*: "Recent studies on the mechanism of action of testosterone". N. Engl. J. Med., 287:1284, (1.972).
44. *Keele, C.A.; Neil, E.*: "Fisiología Aplicada", 11ª ed. Ed. Marin, S.A. Barcelona, (1.965).
45. *Kochakian, C.D.*: "Wirkung der Androgene auf den Stoffwechsel". Schweiz. Med. Wochenschr, 81:985, (1.951).
46. *Abels, J.C.; Young, N.F. Taylor, H.C.*: "Effects of testosterone propionate on protein formation in man". J. Clin. Invest., 4:198, (1.944).
47. *Wilkins, L.; Fleschmann, W.*: "The influence of various androgenic steroids on nitrogen balance and growth". J. Clin. Endocrinol. Metab., 6:382, (1.946).
48. *Aubert, P.; Duron, F.; Laince, J.*: "Les Médicaments Androgènes". En: "Les Entretiens de Bichart". Medecine Ed. Expansion Scientifique Française (1.978).
49. *Eisenberg, E.; Gordan, G.S.*: "The levator any muscle of the rat and index of myotrophic activity of steroidal hormones". J. Pharmacol. Exp. Ther., 99:38, (1.950).

50. *Galter, A.C.; Cohen, E.J.; Shorr, E.:* "The use of androgens in women". En: Harris, R.S.; Thimann, K.V.: "Vitamins and Hormones". Academic Press, Inc. New York, 5:317, (1.947).
51. *Laurence, D.R.; Bennet, P.N.:* "Clinical Pharmacology", 5th Ed. Churchill Livingstone, London, (1.980).
52. *Albright, F.:* "The effect of hormones on osteogenesis in man". En: Pincus, G.: "Recent Progress in Hormone Research". Academic Press Inc., Nueva York, 1:293, (1.947).
53. *Heller, C.G.; Maddock, W.O.:* "The clinical use of testosterone in the male". En: Harris, R.S.; Thimann, K.V.: "Vitamins and Hormones". Academic Press Inc., Nueva York, 5:393, (1.947).
54. *Salter, W.T.:* "A Textbook of Pharmacology", W.B. Saunders Co., Philadelphia (1.952).
55. *Simpson, M.E.; Marx, W.; Becks, H.C.; Evans, H.M.:* "Effect of testosterone propionate on the body weight and skeletal system of hypophysectomized rats. Synergism with pituitary growth hormon". *Endocrinology*, 35:309, (1.944).
56. *Wintrobe, M.M.; Lee, G.R.; Bogs, D.R.; Bithell, T.C.; Foerster, J.; Athens, J.W.; Lukens, J.N.:* "Clinical Hematology", 8th ed. Lea @ Febiger, Philadelphia, (1.981).
57. *Hefmann, E.:* "Androgens". En: "Steroid Biochemistry", Academic Press, Inc., New York, (1.970), pp. 115-200.
58. *Sollmann, T.A.:* "Manual of Pharmacology", 8th. ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, (1.957).

59. *Hamburger, C.*: "Mode d'administration des hormones steroïdes et son importance thérapeutique". *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 81:995, (1.951).
60. *Neumann, F.; Wiechert, R.; Kramer, M.; Raspe, G.*: "Tierexperimentelle Untersuchungen mit einem neuen Androgen, Mesterolone ( $1\alpha$ -Methyl-5 $\alpha$ -androstan-17 $\beta$ -ol-3-on)". *Arznelm. Forach*, 16:455, (1.966).
61. *Heller, C.G.; Maddock, W.O.*: "The use of androgens in men". *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 24:179, (1.948).
62. *Mason, H.L.; Engstrom, W.W.*: "The 17-ketosteroids: their origin, determination and significance". *Physiol. Rev.*, 30:321, (1.950).
63. *Samuels, L.T.*: "The metabolism of androgens by tissues". En: *Pincus, G.*: "Recent Progress in Hormone Research". Academic Press Inc., New York, 4:65, (1.949).
64. *Rahwan, R.G.*: "The Pharmacology of Androgens and Anabolic Steroids". *American Journal of Pharmaceutical Education*, 52:167-177, (1.988).
65. *Kovacs, W.J.; Griffin, J.E.; Weaver, D.D.; Carlson, B.R.; Wilson, J.D.*: "A mutation that causes lability of the androgen receptor under conditions that normally promote transformation to the DNA-binding state". *J. Clin. Invest.*, 73, 1095-1104, (1.984).
66. *Fotherby, K.; James, F.*: "Metabolism of synthetic steroids". *Adv. Steroid Biochem. Pharmacol.*, 3:67-165, (1.972).
67. *Cook, B.; Beastall, G.H.*: "Measurement of steroid hormone concentrations in blood, urine and tissues". En: *Green B.; Leake, R.E.*: "Steroid hormones: A practical approach". IRL Press, (1.987).

68. *Myers, W.P.L.; West, C.D.; Pearson, O.H.; Karnofsky, D.A.*: "Androgen-induced exacerbation of breast cancer measured by calcium excretion. Conversion of androgen to estrogen as a possible underlying mechanism". *J.A.M.A.*, 161:127, (1.956).
69. *Haupt, H.A.*: "Drugs in Athletics". *Clinics in Sports Medicine*, 8(3):561-582, (1.989).
70. *Haupt, H.A.; Rovere, G.D.*: "Anabolic steroids: A review of the literature". *Am. Journal Sports Med.*, 12:469-484, (1.984).
71. *Kochakian, C.D.*: "Anabolic-androgenic steroids". En: "Handbook of Experimental Pharmacology". Berlin, Springer-Verlag, 43:37-39, 49-52, 58-63, 366-367, 388-401, (1.976).
72. *King, R.J.C.*: "Intracellular receptors of steroids hormones". *Essay in Biochem.*, 12:41-76, (1.976).
73. *O' Malley, B.W.*: "Studies on the molecular mechanism of steroid hormone action". *Harvey Lectures*, 72:53-90, (1.978).
74. *O'Malley, B.W.; Woo, S.L.C.; Tsai, M.J.*: "Structure and hormonal control of the ovoalbumin gene cluster". *Curr. Topics. Cellul. Regul.*, 18:437-453, (1.981).
75. *Kochakian, C.D.; Murlin, J.R.*: "The effect of male hormone on the protein and energy metabolism of castrate dogs". *Journal Nutr.*, 10:437-459, (1.935).
76. *Kenyon, A.T.; Knowlton, K.; Sandiford, I.*: "The anabolic effects of the androgens and somatic growth in man". *Ann. Intern. Med.*, 20:632-654, (1.944).

77. *Papanicolau, G.N.; Falk, E.A.*: "General muscular hypertrophy induced by androgenic hormones". *Science*, 87:238-239, (1.938).
78. *Saartok, T.; Dahlberg, E.; Gustafsson, J.*: "Relative binding affinity of anabolic-androgenic steroids: comparison of the binding to the androgen receptors in skeletal muscle and in prostate, as well as to sex hormone binding globulin". *Endocrinology*, 114:2100-2106, (1.984).
79. *Rogozkin, V.A.*: "Anabolic steroid metabolism in skeletal muscle". *J. Steroid Biochem.*, 11:923-926, (1.979).
80. *Exner, G.U.; Staudte, H.W.; Pette, D.*: "Isometric training of rats-effects upon fast and slow muscle and modification by an anabolic hormone (Nandrolone Decanoate). I. Female rats". *Pfluges Arch.*, 345:1-14, (1.973).
81. *Heitzman, R.J.*: "The effective ness of anabolic agents in increasing rate of growth in farm animals; report on experiments in cattle". En: "Anabolic Agents in Animal Production". F.C. Lu and J. Rendell (eds.). Stuttgar, Georg Thiern Publishers, 89-98, (1.976).
82. *Hervey, G.R.; Hutchinson, I.; Knibss, A.V. y col.*: "Anabolic effects of methandienone in mean undergoing athletic training". *Lancet*, 2:699-702, (1.976).
83. *Hickson, R.C.; Heusner, W.W.; Van Huss, W.D. y col.*: "Effects of dianabol and high-intensity sprint training on body composition of rats". *Med. Sci. Sports*, 8:191-195, (1.976).

84. *Kochakian, C.D.; Endalh, B.R.*: "Changes in body weight of normal and castrated rats by different dosis of testosterone propionate". *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 100:520-522, (1.959).
85. *Kruskemper, H.L.*: "Anabolic steroids". New York, Academic Press, (1.982), pp. 128-133, 162-164.
86. *Nesheim, M.C.*: "Some observations on the effectiveness of anabolic agents in increasins the growth rate of poultry". En: "Anabolic Agents in animal production". F.C. Lu y Rendel Eds, Stuttgart, Georg Thieme Publishers, 1110-1114, (1.976).
87. *Richardson, J.H.*: "A comparison of two drugs on stregh increase in monkeys". *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 17:251-254, (1.977).
89. *Vanderwal, P.*: "General aspects of the effectiveness of anabolic agents in increasing protein production in faun animals, in particular in bull calves". En: "Anabolic Agents in Animal Productions", F.C. Lu y Rendel, eds., Stuttgart, Georg Thieme Publishers, 60-78, (1.976).
90. *Young, M.; Crookshank, H.R.; Ponder, L.*: "Effects of an anabolic steroid on selected parameters in male albino rats". *Res. Q.*, 48:653-656, (1.977).
91. *Buchwald, D.; Argyres, S.; Easterling, E. y col.*: "Effects of nandrolone decanoate on the anemia of chronic hemodialysis patients", *Nephron*, 18:232-238, (1.977).
92. *Carter, C.H.*: "The anabolic steroid. Stanazolol its evaluation in debilitated children", *Clin. Pediatr.*, 4:671-680, (1.965).

93. *Heller, C.G.; Moore, D.J.; Paulsen, C.A.; Nelson, W.O.; Laidlaw, W.M.:* Effects of progesterone and synthetic progestins on the reproductive physiology of normal men". *Fed. Proc.*, 18:1057-1065, (1.959).
94. *Spiers, A.S.D.; de Vita, S.F.; Allar, M.J.; Richards, S.; Sedrans, N.:* "Beneficial effects of an anabolic steroid during cytotoxic chemotherapy for metastatic cancer". *J. Med.*, 12:433-445, (1.981).
95. *Steinbach, M.:* "Über den Einfluss Anaboler Wirkstoffe auf Körpergewicht, Muskelkraft und Muskeltraining". *Sportarzt Sportmed.*, 11:485-492, (1.962).
96. *Casner, S.W.; Early, R.G.; Carlson, B.R.:* "Anabolic steroid effects on body composition in normal young men". *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 11:98-103, (1.971).
97. *Crist, D.M.; Stackpole, P.J.; Peake, G.T.:* "Effects of androgenic-anabolic steroids on neuromuscular power and body composition". *J. Appl. Physiol.*, 54:366-370, (1.983).
98. *Fahey, T.D.; Brown, C.H.:* "The effects of an anabolic steroid on the strength, body composition and endurance of college males when accompanied by a weight training program". *Med. Sci. Sports*, 5:272-276, (1.973).
99. *Herverny, G.R.; Knibbs, A.V.; Burkinshaw, L. y col.:* "Effects of methandienone on the performance and body composition of men under going athletic training". *Clin. Sci.*, 60:457-461, (1.981).
100. *Johnson, L.C.; Fisher, G.; Silvester, L.J.; Hofheins, C.C.:* "Anabolic steroid: effects of strength, body weight, oxygen uptake and spermatogenesis upon nature males". *Med. Sci. Sports*, 4:43-45, (1.972).

101. *Loughton, S.J.; Ruhling, R.O.:* "Human strength and endurance responses to anabolic steroid and training". *J. Sports Med.*, 17:285-296, (1.977).
102. *O'Shea, J.P.:* "The effects of an anabolic steroid on dynamic strength levels of weightlifters". *Nutr. Rep. Int.*, 4:363-370, (1.971).
103. *Stamford, B.A.; Moffatt, R.:* "Anabolic steroid: effectiveness as an ergogenic aid to experienced weight trainers". *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 14:191-197, (1.974).
104. *Ward, P.:* "The effect of an anabolic steroid on strength and lean body mass". *Med. Sci. Sports*, 5:277-282, (1.973).
105. *Forbes, G.:* "The effect of anabolic steroids on lean body mass; the dose response curve". *Metabolism*, 34:571-573, (1.985).
106. *Frield, K.E.:* "Reappraisal of the health risks associated with the use of high doses of oral and injectable androgenic steroids. Proceedings of the technical review meeting on anabolic steroid abuse". Rockville, Md., National Institute of Drug Abuse, 6-7, (1.989).
107. *Lenders, J.W.M.; Demacker, P.N.M.; Vos, J.A.; Jansen, P.L.M.; Hoitsma, A.J.; Laar, A. van; Thien, T.:* "Deleterious Effects of Anabolic Steroids on Serum Lipoproteins, Blood Pressure, and Liver Function in Amateur Body Builders". *Int. J. Sports Med.*, 9(1):19-23, (1.988).
108. *Griffin, J.E.; Wilson, J.D.:* "Disorders of the testes and male reproductive tract". In: *Wilson, J.D.; Foster, D.W., eds., Textbook of Endocrinology*, 7th ed. Philadelphia, W.B. Saunders, (1.985), pp. 291-293.

109. *Caminos-Torres, R.; Ma, L.; Synder, P.J.*: "Testosterone-induced inhibition of the LH and FSH responses to gonadotropin-releasing hormone occurs slowly". *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44:1142, (1.977).
110. *Cunningham, G.R.; Silverman, V.E.; Thornby, J.; Johler, P.O.*: "The potential for an androgen male contraceptive". *J. Clin. Endocrinol.*, 49:520, (1.979).
111. *Damste, P.H.*: "Voice change in adult women caused by virilizing agents", *J. Speech Har Disord*, 32:126-132, (1.967).
112. *Dyment, P.G.*: "Drug misuse by adolescent athletes". *Pediatr. Clin. North. Am.*, 29:1363, (1.982).
113. *Griffin, J.E.; Wilson, J.D.*: "Disorders of sexual differentiations". En: Walsh, P.C.; Gittes, R.F.; Perlmutter, A.D.; Stamey, R.A. (eds), "Campbell's Urology", W.B. Saunders Co., Philadelphia, (1.986), pp. 1819.
114. *Johnson, L.; George, F.W.; Neaves, W.B.; Rosenthal, I.M.; Christensen, R.A.; Decristoforo, A.; Schweikert, H.U.; Sauer, M.V.; Leshin, M.; Griffin, J.E.; Wilson, J.D.*: "Characterization of the testicular abnormality in 5 $\alpha$ -reductase deficiency". *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 63:1091, (1.986).
115. *Kovacs, W.J.; Griffin, J.E.; WEilson, J.D.*: "Androgen resistance in man". En: Chrousos, G.P.; Loriaux, D.L.; Lipsett, M.B. (eds)., "Steroid Hormone Resistance", Plenum Publishings, New York, (1.986), pp. 257.

116. *Mauss, J.; Borsch, G.; Bormarcher, K.; Richter, E.; Leyendercker, G.; Nocke, W.:* "Effect of long-term testosterone enanthate administration on male reproductive function: clinical evaluation, serum FSH, LH, testosterone and seminal fluid analyses in normal men". *Acta Endocrinol., Copenh.*, 78:373, (1.975).
117. *Palacios, A.; McClure, R.D.; Campfield, A.; Swerdloff, R.S.:* "Effect of testosterone enanthate on testis size". *J. Urol.*, 126:46, (1.981).
118. *Reddy, P.R.K.; Rao, S.J.:* "Reversible antifertility action of testosterone propionate in human males". *Contraception*, 5:295, (1.972).
119. *Rogol, A.D.:* "Drugs to enhance athletic performance in the adolescent". *Semin. Adolesc. Med.*, 1:317, (1.985).
120. *Steinberg, E.; Smith, K.D.:* "Effect of chorin administration of testosterone enanthate on sperm production and plasma testosterone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone levels: a primary evaluation of a possible male contraceptive". *Fertil Steril.*, 28:1320, (1.977).
121. *Strauss, R.H.; Liggett, M.T.; Lanese, R.R.:* "Anabolic steroid use and perceived effects in ten weight-trained women athletes". *Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 253:2871-2873, (1.985).
122. *Swerdloff, R.D.; Palacios, A.; McClure, R.D.; Campfield, L.A.; Brosman, S.A.:* "Male contraception: clinical assessment of chronic administration of testosterone enanthate". *Int. J. Androl.*, 2:231, (1.978).

123. *Marquardt, G.H.; Fisher, C.I.; Levy, P.; Dowben, R.M.:* "Effect of anabolic steroids on liver function tests and creatine excretion", *JAMA*, 175:851, (1.961).
124. *Sweeney, E.C.; Evans, S.D.J.:* "Hepatic lesions in patients treated with synthetic anabolic steroids". *Journal Clinical Pathology*, 29:626-633, (1.976).
125. *Martínez. J.L.; López. M.T.; Goñi, E.; Camarero, A.; Ramos, C.; Aguerzalde, A.; Garde, A.:* "Esteroides anabolizantes (y IV): Efecto de la toma continuada y simultánea sobre la función hepática". *Archivos de Medicina del Deporte*, X(37), 56:23-28, (1.993).
126. *Király, C.L.:* "Androgenic-Anabolic Steroid Effects on Serum and Skin Surface Lipids, on Red Cells, and on Liver Enzymes". *J. Sports Med.*, 9(4):249-252, (1.988).
127. *Taylor, W.N.; Black, A.B.:* "Pervasive anabolic steroid use among health club athletes". *Annals of Sports Medicine*, 3(3):155-159, (1.987).
128. *Schaffner, F.:* "Changes in bile canaliculi produced by norethandrolone: electron microscopic study of human and rat liver". *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 56:623-628, (1.960).
129. *Losada, A.:* "Doping y los problemas de su control". *Archivos de la Sociedad Chilena de Medicina del Deporte*, 31:49-53, (1.986).
130. *Ishak, K.G.:* "Hepatic lesions caused by anabolic and contraceptive steroids". *Semin. Liver Dis.*, 2:116-128, (1.981).

131. *Johnson, F.L.; Lerner, K.G.; Siegel, M. and al.:* "Association of androgenic-anabolic steroids therapy with development of hepatocellular carcinoma". *Lancet*, 2:1273, (1.972).
132. *Brick, I.B.; Kyle, L.H.:* "Jaundice of hepatic origin during the course of methyltestosterone therapy". *N. Engl. J. Med.*, 246:176, (1.952).
133. *Arnold, G.L.; Kaplan, M.M.:* "Peliosis hepatic due to oxymetholone; a clinically benign disorder". *Am. J. Gastroenterol.*, 71:213-216, (1.979).
134. *Asano, A.; Wakasa, H.; Kaise, S.; Nishimaki, T.; Kasukawa, R.:* "Peliosis hepatis. Report on two autopsy cases with a review of literature". *Acta Pathol. J.*, 32:861-877, (1.982).
135. *Bagheri, S.; Boyer, J.:* "Peliosis hepatis associated therapy; a severe form of hepatis injury". *Ann. Intern. Med.*, 81:610-618, (1.974).
136. *Bank, J.I.; Lykkebo, D.; Hagerstrand, I.:* "Peliosis hepatis in a child". *Acta Ped. Scand.*, 67:105-107, (1.978).
137. *Benjamin, D.C.; Shunk, B.:* "A fatal case of peliosis of the liver and spleen". *Am. J. Dis., Child.*, 132:207-208, (1.978).
138. *Boyer, J.:* "Androgenic-anabolic steroids associated peliosis hepatic in man: a review of 38 reported cases". *Advances in Pharmacology and Therapeutics*, 6:175-184, (1.978)
139. *Gross, G.; Arnold, G.H.; Britinger, G.:* "Peliosis hepatic after long-term administration of oxymetholone", *Lancet*, 1:874, (1.974).
140. *McDonald, E.C.; Speicher, C.E.:* "Peliosis hepatis associated with administration of the oxymetholone", *JAMA*, 240:243-244, (1.978).

141. *McGiven, A.R.*: "Peliosis hepatis: case report and review of pathogenesis". *J. Pathol.*, 101:283-285, (1.970).
142. *Nadell, J.; Kosek, J.*: "Peliosis hepatis". *Arch. Pathol, Lab. Med.*, 101:405-410, (1.977).
143. *Paradinas, F.*: "Hyperplasia and prolapse of hepatocytes into hepatic vein during long-term methyltestosterone therapy and possible relationship of these changes to the development of peliosis hepatic and liver tumors". *Histopatology*, 1:225-246, (1.977).
144. *Shapiro, P.; Ikedo, R.M.; Ruebner, B.H.; Conner, M.H.; Halsted, C.C.; Abildgaard, C.F.*: "Multiple hepatic tumors and peliosis hepatitis in Franconi's anemia treated with androgens", *Am. J. Dis. Child.*, 131:1104-1106, (1-977).
145. *Taxy, J.B.*: "Peliosis: a morphologic curiosity becomes an iatrogenic problem". *Hem. Pathol.*, 9:331-340, (1.978).
146. *Creagh, T.*: "Hepatic tumors induced by anabolic steroids in an athlete". *Journal of Clinical Pathology*, 4:441-443, (1.988).
147. *Falk, H.; Thomas, L.; Popper, H. ; Ishak, G.H.*: "Hepatic angiosarcoma associated with androgenic-anabolic steroids". *Lancet*, 2:1120-1123, (1.979).
148. *Farrell, G.C.; Joshua, D.E.; Uren, R.F.; Band, P.J.; Perkins, K.W.; Kronenberg, H.*: "Androgen-induced hepatoma". *Lancet*, 1:430, (1.975).
149. *González-Iturri, J.J.*: "Uso y abuso de los Esteroides Androgénicos-Anabolizantes". *Atletismo*, 64-65, (1.979).
150. *Ishak, K.*: "Hepatic neoplasms associated with contraceptive and anabolic steroids". *Recent Results in Cancer Research*, 66:73-128, (1.979).

151. *Meadows, A.T.; Naiman, J.L.; Valdés-Dapena, M.*: "Hepatoma associated with androgen therapy of aplastic anemia". *J. Pediatr.*, 85:109-110, (1.974).
152. *Mokrohisky, S.T.; Ambruso, D.R.; Hathaway, W.E.*: "Fulminant hepatic neoplasia after androgen therapy". *New England Journal Medicine*, 296:1411-1412, (1.977).
153. *Mulvihill, J.J.; Ridolfi, R.L.; Schultz, F.R.; Brozy, M.S.; Haughton, P.B.T.*: "Hepatic adenoma in Franconi anemia treated with oxymetholone". *J. Pediatr.*, 87:122-124, (1.975).
154. *Owerly, W.* "Androgens and hepatocellular carcinoma in a athlete". *Annals of Internal Medicine*, 100:158-159, (1.984).
155. *Stromeyer, F.W.; Smith, D.H.; Ishak, K.G.*: "Anabolic steroid therapy and intrahepatic cholangiocarcinoma". *Cancer*, 43:440-443, (1.979).
156. *Vesselinovitch, S.D.*: "Role oh hormones in the development of tumors and potential helath risk from hormonal doping". Comunicación personal en "II IAF World Symposium on Doping in Sport", Montecarlo, (1.989).
157. *Zevin, D.; Turani, H.; Cohen, A.; Levi, J.*: "Androgens and hepatocellular carcinoma in an athlete". *Ann. Intern. Med.*, 100:158-159, (1.984).
158. *Zimmermann, H.J.*: "Hormonal derivatives and other drugs used to treat endocrine diseases". En: *Zimmermann, H.J. (ed.): "Hepatotoxicity. The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver". Eat Norwalk. Conn. Appleton, S. Lange, (1.978), pp. 436-467.*

159. *Hernández, L.*: "Benign liver cell adenoma associated with long term administration of androgenic anabolic steroid (methandienone)". *Cancer*, 40:1764-1766, (1.977).
160. *Yesalid, C.*: "Self-reporter use of anabolic-androgenic steroids by elite powerlifters". *Physician and Sport Medicine*, 16:91-100, (1.988).
161. *American College of Sports Medicine*: "El uso de esteroides anabólicos andrógenos en el deporte". *Archivos de Medicina del Deporte*, IX(36):421-427 (1.992).
162. *Overly, W.L.; Dankoff, J.A.; Wang, B.K.; Singh, U.D.*: "Androgens and hepatocellular carcinoma in an athlete". *Ann. Intern. Med.*, 100:158-159, (1.984).
163. *Zuliani, V.; Bernardini, B.; Catapano, A.; Campana, M.; Cerioli, G.; Spattini, M.*: "Effects of Anabolic Steroids, Testosterone and HGH on Blood Lipids and Echocardiographic Parameters in Body Builders". *Int. J. Sports Med.*, 10, (1.989).
164. *Woodard, T.L.; Burgen, G.A.; Kitabchi, A.E.; Williams, J.A.*: "Glucose intolerance and insulin resistance in aplastic anemia treated with oxymetholone". *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 53:905-908, (1.981).
165. *Messerli, F.H.; Frohlich, E.D.*: "High blood pressure: a side effect of drugs, poisons and food". *Arch. Intern. Med.*, 139:682-687, (1.979).

166. *Appell, H.J.; Heller-Umpfenbach, B.; Faraudi, M.; Wicker, H.:* "Ultrstructural and morphometric investigations on the effects of training and administration of anabolic steroids on the myocardium of guinea pigs". *Int. J. Sports Med.*, 4:268-274, (1.983).
167. *Behrendt, H.:* "Effect of anabolic steroid on rat heart muscle cells. I. Intermediate filaments". *Cell. Tissue Res.*, 180:305-315, (1.977).
168. *Behrendt, H.; Boffin, H.:* "Myocardial cell lessions caused by anabolic hormones". *Cell. Tissue Res.*, 181:423.426, (1.977).
169. *Haffner, S.M.; Kushwaha, R.S.; Foster, D.M., et col.:* "Studies of the metabolic mechanism of reduced high density lipoprotein during anabolic steroid therapy". *Metabolism*, 32:413-420, (1.983).
170. *Leeds, E.M.; Wilkerson, J.E.; Brown, G.D.; Kamen, G.; Brdle, D.:* "Effects of exercise and anabolic steroids on total and lipoprotein cholesterol concentrations in male and female rats". *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 18(6):663-667, (1.986).
171. *Olsson, A.G.; Oro, L.; Rossner, S.:* "Effects of oxandrolone on plasm lipoproteins and the intravenous fat tolerance in man". *Atherosclerosis*, 19:337-346, (1.974).
172. *Strauss, R.H.; Wright, H.E.; Fineman, G.A.M.; Catlin, D.H.:* "Side effects of anabolic steroids in weight-trained men". *Physician and Sports Medicine*, 11(12):87-96, (1.983).

173. *Alén, M.; Rahkila, P.; Marniemi, J.*: "Serum lipids in power athletes self administering testosterone and anabolic steroids". *International Journal of Sports Medicine*, 6:139-144, (1.985).
174. *Amstrong, V.W.; Cremer, P.; Eberie, E. et al.*: "The association between serum Lpa concentration and angiographically assessed coronary atherosclerosis". *Atherosclerosis*, 62:249-257, (1.986).
175. *Rahkila, P.; Alen, M.*: "Lipid and lipoprotein metabolism during androgenic steroid doping". Comunicación personal en "I Simposium IAF", Florencia, (1.987).
176. *Barbosa, J.; Seal, H.; Doe, R.P.*: "Effects of anabolic steroids on haptoglobin, orosomuroid, plasminogen, fibrinogen, transferrin, ceruloplasmin,  $\alpha$ -antitrypsin,  $\beta$ -glucuronidase and total serum proteins". *J. Clin. Endocrinol.*, 33:388-398, (1.971).
177. *Doyle, A.E.; Pinkus, N.B.; Green, J.*: "The use of oxandrolone in hyperlipidaemia". *Med. J. Australia*, 1:127-129, (1.974).
178. *Choi, E.S.K.; Gungg, T.; Morrisson, R.S.; Myers, C.; Greenberg, M.S.*: "Hypertriglyceridemia in hemodialysis patients during oral dromostanolone therapy for anemia". *Am. J. Clin. Nutr.*, 27:901-904, (1.974).
179. *Reeves, R.D.; Morris, M.D.; Barbour, G.L.*: "Hyperlipidemia due to oxymetholone therapy". *J.A.M.A.*, 236:464-472, (1.976).
180. *Holma. P.; Aldercreutz, H.*: "Effect of an anabolic steroid (metandienone) on plasma LH, FSH and testosterone and on the response to intravenous administration of LRH". *Acta Endocrinol.*, 83:856-864, (1.976).

181. *Heller, C.G.; Moore, D.J.; Paulsen, C.A.; Nelson, W.O.; Laidlaw, W.M.:* "Effects of progesterone and synthetic progestins on the reproductive physiology of normal men". *Fed. Proc.*, 18:1057-1065, (1.959).
182. *Clerico, A.; Fendeglini, M.; Palombo, C. et al.:* "Effects of anabolic treatment on the serum levels of gonadotropins, testosterone, prolactin, thyroid hormones and myoglobin of male athletes under physical training". *J. Nuclear Med. Allied. Sci.*, 25:79-88, (1.981).
183. *Stromme, S.B.; Meen, H.D.; Aakvaag, A.:* "Effects of an androgenic-anabolic steroid on strength development and plasma testosterone levels in normal males". *Med. Sci. Sports*, 6:203-208, (1.974).
184. *Thomson, D.P.; Pearson, D.R.; Costill, D.L.:* "Use of anabolic steroids by national level athletes" (Abstract). *Med. Science Sports Exerc.*, 13:111 (1.981).
185. *Kilshaw, B.H.; Harkness, R.A.; Hobson, B.M.; Smith, A.W.M.:* "The effects of large doses of the anabolic steroid, methandrostanolone, on an athlete". *Clin. Endocrinol.*, 4:537-542, (1.975).
186. *Remes, K.; Vuopio, P.; Jarvinen, M.; Harkonen, M.; Adlescreutz, H.:* "Effect of short-term treatment with anabolic steroid (Methandienone) and dehydroepiandrosterone sulfate on plasma hormones, red cell volume and 2,3-diphosphoglycerate in athletes". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 37:577-586, (1.977).
187. *Harkness, R.A.; Lishaw, B.H.; Hobson, B.M.:* "Effects of large doses of anabolic steroids". *Br. J. Sports Med.*, 9:70-73, (1.975).

188. *Wright, J.E.:* "Anabolic steroids and athletes". *Exerc. Sports Science, Rev.*, 8:149-202 (1.980).
189. *Dorfman, R.I.; Shipley, R.A.:* "Androgens: Biochemistry, physiology and clinical significance". New York, J. Wiley and Son., (1.956).
190. *Cox, D.W.; Heinrichs, W.L.; Paulsen, C.A. et col.:* "Perturbations on the human menstrual cycle by oxymetholone". *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 121:121-126, (1.975).
191. *Maher, J.M.; Squires, E.L.; Voss, J.L.; Shideler, R.K.:* "Effect of anabolic steroids on reproductive function of young mares". *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 183:519-524, (1.977).
192. *Smith, K.D.; Rodríguez-Rigan, L.J.; Tcholakian, R.K.; Steinberg, E.:* "The relation between plasma testosterone levels and the lengths of phases of the menstrual cycle". *Fertil. Steril.*, 32:403-407, (1.979).
193. *Alén, M.; Reinila, M.; Vihko, R.:* "Response of serum hormones to androgen administration in power athletes". *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 17:354-359, (1.985).
194. *Alén, M.; Rahkila, P.; Reinila, M.; Vihko, R.:* "Androgenic-anabolic steroid effects on serum thyroid, pituitary and steroid hormones in athletes". *American Journal of Sports Medicine*, 15:357-361, (1.987).
195. *Fujioka, M.; Shinohara, Y.; Baba, S.; Irie, M.; Inone, K.:* "Acute suppression of endogenous testosterone levels by exogenous testosterone in normal men". *Life Sciences*, 41:945-949, (1.987).

196. *Alén, M.; Rahkila, P.:* "Anabolic-Androgenic Steroid Effects on Endocrinology and Lipid Metabolism in Athletes". *Sports Medicine* 6:327-332, (1.988).
197. *Bahrke, M.S.; Yesalis III, Ch.E.; Wright, J.E.:* "Physiological and behavioural Effects of Endogenous Testosterone Levels and Anabolic-Androgenic Steroids Among Males (A Review)". *Sports Medicine*, 10(5):303-337, (1.990).
198. *Calderaro, G.:* "Effetti psichici degli steroidi anabolizzanti nell'uso ed abuso in Medicina Sportiva". *Atletica studi, Federazione Italiana de Atletica Leggera*, 25-31, (1.990).
199. *Ehrenkranz, J.; Bliss, E.; Sheard, M.H.* "Plasma testosterone correlation with aggressive behavior and social dominance in man". *Psychosom. Med.*, 36:469-475, (1.974).
200. *Pope, H.G.Jr.; Katz, D.:* "Psychiatric effects of doping with anabolic-androgenic steroids". Comunicación personal en "II IAF World Symposium on doping in Sport", Monte-Carlo, 1.989. En: Belloti. P.; Benzi, G.; Ljungqvist, A., eds. *Official Proceedings of Second IAF World Symposium on Doping in Sport* 1.989. Supplied by the IAAF (London), 117-122, (1.990).
201. *Restout, Ph.:* "Dopage sportif et pharmaciens. Dossier". *Actualités pharmaceutiques*, 277:30-47, (1.990).
202. *Scaramuella, T.J.; Brown, W.A.:* "Serum testosterone and aggressiveness in hockey players". *Psychochom. Med.*, 40:262-265, (1.978).
203. *Annito, W.J.; Layman, W.A.:* "Anabolic steroids and acute schizophrenic episode". *Journal of Clinical Psychiatry*, 41(4):143-144, (1.980).

204. *Freinhar, J.P.; Alvarez, W.:* "Androgen-induced hypomania". Correspondence. *Journal of Clinical Psychiatry*, 46(8):354-355, (1.985).
205. *Muñoz, A.:* "Agresividad normal y patológica en la acción deportiva". En: "Sobre la Patología Psíquica en el Deporte", (1.988), pp. 75-87.
206. *Pope, H.G.; Katz, D.L.:* "Bodybuilders psychosis". Correspondence. *Lancet*, 1:863, (1.987).
207. *Pope, H.G.; Katz, D.L.:* "Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use". *American Journal of Psychiatry*, 145(4):487-490, (1.988).
208. *Rodríguez, C.:* "El dopaje. Su control. Relación con la violencia". *Archivos de la Sociedad Chilena de Medicina del Deporte*, 34:80-84, (1.989).
209. *Rodríguez, C.:* "Doping and its relationships with violence in sport". Paper contribution to a follow-up to Resolution 6 on Ethical Values in Sport. CDDS(89)25, Council of Europe, (1.989).
210. *Agrawal, B.L.:* "Ataxia caused by fluoxymesterone therapy in breast cancer". *Arch. Intern. Med.*, 141:953-959, (1.981).
211. *Wilson, J.D.; Griffin, J.E.:* "The use and misuse of androgens". *Metabolism*, 9:1278 (1.980).
212. *Mason, A.S. :* "Male precocity: the clinician's view". In: "The Endocrine Function of the Human Testis", V.H.T., James M. Sena and L. Martino (Eds.), New York, Academic Press, 131-143, (1.974).
213. *Whitelaw, M.J.; Foster, T.N.; Graham, W.N.:* "Methandrostanolone (Dianabol): a controlled study of its anabolic and androgenic effect in children". *Pediatric. Pharm. Ther.*, 68:291-296, (1.966).

214. *Houssay, A.B.*: "Effects of anabolic-androgenic steroids on the skin including hair an sebaceous glands". In: "Anabolic-Androgenic Steroids", C.D. Kochakan (Ed.), New York, Spronger-Verlag, (1.976), pp. 155-190.
215. *Manso, R.*: "Actividad biológica y mecanismo de acción de los esteroides anabólico-andrógenos". Archivos de Medicina del Deporte, VII(28):373-384, (1.990).
216. *Mondenard, J.P. de*: "Dictionnaire des substances et procédés dopants en pratique sportive", Masson, (1.991), pp. 23-27, 136-141.
217. *Chamorro, M.*: "Doping. ¿Qué son los esteroides anabolizantes?". Atletismo, 48-52, (1.989).
218. *Haupt, H.A.*: "Anabolic steroids". En: "Drugs in Athletics", Clinics in Sports Medicine, 8(3), 569-573, (1.989).
219. *Kreuz, L.E.; Rose, R.M.; Jennings, J.R.*: "Supression of plasma testosterone levels and psychological stress". Archives of General Psychiatru, 26:479-482, (1.972).
220. *Ariel, G.; Saville, W.*: "Anabolic steroids: The physiological effects of placebos". Med. Sci. Sports, 4:124-126, (1.972).
221. *Frankle, M.*: "Use of androgenic anabolic steroids by athletes". Journal of the American Medical Association, 252:482 (1.984).
222. *Hallagan, J.B.; Hallagan, L.F.; Snyder, M.B.*: "Anabolic-androgenic steroid used by athletes". The New England Journal of Medicine, 321(15):1042-1045 (1.989).

223. Windsor, R.; Dumitru, D.: "Prevalence of anabolic steroid use by male and female adolescents". *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 21(5):494-497 (1.989).
224. Catlin, D.H.; Kammerer, R.C.; Hatton, C.K.; Sekera, M.H.; Merdink, J.L.: "Analytical chemistry at the Games of the XXIIIrd. Olympiad in Los Angeles". *Clin. Chem.*, 33:319 (1.984).
225. Rodríguez, C.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.; Maynar, M.: "Modificación de las tendencias de abuso de los diferentes tipos de agentes dopantes". *Archivos de Medicina del Deporte*, VIII(32):411-416, (1.991).
226. Rosenbloom, D.; Sutton, J.R.: "Drugs and exercise". *Md. Clin. North Am.*, 69:177 (1.985).
227. Voy, R.: "Illicit drugs and the athlete". *Am. Pharm.*, 11:39, (1.986).
228. Rodríguez, C.: "Doping y su control". En: "Medicina del Deporte Federativo", Ed. COE, (1.989), pp 125-138.
229. Wadler, G.I.: "Anabolic Steroids" En: Wadler, G.I.; Hainline, B.: "Drugs and the Athlete (Part II. Drugs of Abuse in Sports)", Ed. Davis Company, (1.989), pp. 55-69.
230. Wade, N.: "Anabolic steroids: doctors denounce them, but athletes aren't listening". *Science*, 176:1399-1403, (1.972).
231. Ljungqvist, A.: "The use of anabolic steroids in top Swedish athletes". *British Journal of Medicine*, 9:82, (1.975).

232. *Macdougall, J.D.; Sale, D.G.; Elder, G.C.B.; Sutton, J.R.*: "Muscle ultrastructural characteristics of elite powerlifters and body builders". *Em. J. Applied Physiol.*, 48:117-126, (1.982).
233. *Ryan, A.J.*: "Anabolic steroids and fool's gold". *Fed. Proc.*, 40:2682-2688, (1.981).
234. *Brooks, R.V.*: "Anabolic steroids and athletes". *Phys. Sportsmed.*, 8, 3:161-163, (1.980).
235. *De Lignière, B.; Michel, G.*: "Androgènes et Médecine Sportive". En "Les Androgènes". Comunicación personal en la "XV Reunión de endocrinólogos de lengua francesa". Masson Ed., (1.979).
236. *Alcázar, A.*: "Doping con esteroides anabólicos". *Folios de Medicina del Deporte*, 15, (1.983).
237. *De Rose, E.H.; Chernilo, B.; Hernández, M.; Hanley, D.; Méndez, L.A.; Carvalho, M.*: "Aspectos organizacionales y científicos del control médico efectuado durante los IX Juegos Panamericanos. Caracas, 1.983". *Archivos de la Sociedad Chilena de Medicina del Deporte*, 28:126-128, (1.983).
238. *Ariel, G.*: "Prolonged Effects of Anabolic Steroid Upon Muscular Contractile Force". *Med. and Science in Sports*, 6, (1.974).
239. *Ariel, G.*: "Residual Effect on an Anabolic Steroid Upon Isotonic Muscular Force". *Journal Sports Med.*, 14, (1.974).
240. *Hervey, G.R.*: "Are athletes wrong about anabolic steroid?". *British Journal Sports Medicin*, 9:74-77, (1.975).

241. *Kuoppasalmi, K.*: "Effects of exercise stress on human plasma hormone levels with special reference to steroid hormones". Thesis. University of Helsinki. (1.981).
242. *Freed, D.L.J.; Banks, A.J.*: "A double-blind cross-over trial of Methandienone ("Dianabol") in moderate dosage on highly trained experienced athletes". *Bris. J. Sports Medicine*, 9:78-81, (1.975).
243. *Federman, D.D.*: "General principles of endocrinology". En: "Textbook of Endocrinology", Ed. Williams, R.H., W.B. Saunders Company, Philadelphia, (1.981), pp.1-14.
244. *Kuoppasalmi, K.; Härkönen, M.*: "Steroid hormones in Muscular Exercise". *Sports Medicine in Track Field Athletics*, 131-135, (1.985).
245. *Rogozkin, V.A.*: "The role of low molecular weight compound in the regulation of skeletal muscle genome activity during exercii. *Sports*, 8:1-4, (1.976).
246. *Snochowski, M.; Dahlberg, E.; Eriksson, E.; Gustalfsson, J.A.*: "Androgen and glucocorticoid receptors in human skeletal muscle cytosol". *J. Steroid Biochem.*, 14:765-771, (1.981).
247. *Aakvaag, A.; Benidol, O.; Quigstod, K.; Walstod, P.; Renningen, H.; Fonnunm, F.*: "Testosterone and testosterone binding globulin (TeBg) in young men during prolonged stress". *Int. J. Androl.*, 1:22-31, (1.978).
248. *Lucking, M.T.*: "Steroid hormones in sports". *Int. J. Sports Medicine*, 3:65-68, (1.982).

249. *Lamb, D.R.*: "Anabolic steroids in athletics: how well do they work and how dangerous are they?". *American Journal of Sports Medicine*, 12(1):31-38, (1.984).
250. *Lucking, M.T.*: "Obligatory random sport testing for administration of sex hormones and their derivatives to influence international sports performance". *Int. J. Sports Medicine*, 2:196-199, (1.981).
251. *Wright, J.E.*: "Anabolic steroids and sports". *Sports Science Consultants*, Natick M.A., (1.978).
252. *Payne, A.H.*: "Anabolic steroids in athletics". *British Journal of Sports Medicine*, 9:83-88, (1.975).
253. *Comité Olímpico Internacional*: "Doping". *Medicina de la Educación Física y el Deporte*, 4:180, (1.967).
254. *Hoffman, B.B.; Lefkowitz, R.J.*: "Catecolaminas y drogas simpaticomiméticas". En: Goodman y Gilman: "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica", 8ª ed., Ed. Médica Panamericana, Mexico (1.991), pp. 196-227.
255. *Polettini, A.; Ricossa, M.C.; Montagna, M.* En: "Proceedings of XXX Congresso Nazionale Società Italiana di Medicina Legale e delle Assicurazioni", Vimercati, F.; Colonna, M.; Vinci, F., editors, Bari (1.989). pp. 243.
256. *Leyssens, L.; Driessen, C.; Jacobs, B.; Czech, J.; Raus, J.*: "Determination of  $\beta$ 2-receptor agonists in bovine urine and liver by gas chromatography - tandem mass spectrometry". *Journal of Chromatography Biomedical Applications*, 564:515-527, (1.991).

257. Meyer, H.H.D.; Rinke, L.; Dürsch, I.: "Residue screening for the  $\beta$ -agonists clenbuterol, salbutamol and cimaterol in urine using enzymeimmunoassay and high performance liquid chromatography". Journal of Chromatography, Biomedical Applications, 564:551-556, (1.991).
258. Courtheyn, D.; Desaeveer, C.; Verne, R.: "High performance liquid chromatographic determination of clenbuterol and cimaterol using post-column derivatization". Journal of Chromatography, Biomedical Applications, 564:537-549, (1.991).
259. Lindsay, D.G.: Food Chem. Toxicol., 23:767, (1.985).
260. Clark, W.G.; Brater, D.C.; Johnson, A.R. "GOTH'S Medical Pharmacology", St. Louis, Missouri, (1992) pp. 549
261. Dipasquale, M.G.: "Más allá de los esteroides anabólicos". Ontario, (1.990) pp. 21-32, 77-78.
262. Ryan, R.J.; Charlesworth, M.C.; McCormick, D.J.; Miluis, R.P.; Keutmann, H.T.: "The glycoprotein hormones: recent studies of structure - function relationships". FASEB J., 2:2662-2669, (1.988).
263. Neumann, F.; Scheleusener, A.: "Pharmacology of cyproterone acetate with special reference to the skin". En: Vokaer, R.; Fanta, D.: "Combined Antiandrogen-Estrogen Therapy in Dermatology", Excerpta Medica, Amsterdam 19, (1.981).
264. Potts, G.O.; Schane, H.P.; Edelson, J.: "Pharmacology and pharmacokinetics of danazol". Drugs, 19:321, (1.980).

265. *Gaspard, U.J.; Romus, M.A.; Soyeur-Broux, M.; Chantraine, R.; Duvivier, J.:* "Clinical, endocrinological and metabolic evaluation of women treated for acne by a combination of cyproterone acetate and ethinylestradiol (Diane)". En: Vokaer, R.; Fanta, D.: "Combined Antiandrogen-Estrogen Therapy in Dermatology", Excerpta Medica, Amsterdam, 75, (1.981).
266. *Marchetti, B.; Labrie, F.:* "Characteristics of flutamide action on prostatic and testicular functions in the rat". *Journal Steroid Biochemie*, 29:691-698, (1.988).
267. *Knuth, A.A.; Hano, R.; Nieschlag, E:* "Effect of flutamide or cyproterone acetate on pituitary and testicular hormones in normal men". *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 59:963-969, (1.984).
268. *Dmowski, W.P.:* "Endocrine properties and clinical application of danazol". *Fertil. Steril.*, 31:237, (1.979).
269. *Grabyll, J.R.; Druz, D.J.:* "Ketoconazole: a major innovation for treatment of fungal disease". *Am. Int. Med.*, 93:921-923, (1.980).
270. *Sonino, N.:* "The use of ketoconazole as an inhibitor of steroid production". *The New England Journal of Medicine*, 812-818 (1.987).
271. *Oftebro, H.; Norman, N.:* "Ketoconazole as key substance to interpret a positive testosterone case". Comunicación personal en: "7th Cologne Workshop in Dope Analysis, (1.989).
272. *Ferrando, A.; Green, N.R.:* "The effect of boron supplementation in lean body mass, plasma testosterone levels and strenght in male weighlifters" (Abstract). *FASEB Journal*, 6(5):A1946, (1.992).

273. *Hunt, C.D.; Herbel, J.L.:* "Dietary boron modifies the effects of exercise training on energy metabolism in the rat" (Abstract). *FASEB Journal*, 6(5):A1946, (1.992).
274. *Nielsen, F.H.; Hunt, C.D.; Mullen, L.M.; Hunt, J.R.:* "Effect of dietary boron on mineral, estrogen and testosterone metabolism in postmenopausal women". *FASEB Journal*, 1:394-397, (1.987).
275. *Schänzer, W.; Donike, M.:* "Metabolism of anabolic steroids in man; synthesis and use of reference substances for identification of anabolic steroid metabolites". *Analytical Chimica Acta*, 275:23-48, (1.993).
276. *Catlin, D.H.:* "Critical Aspects of Drugs Use in Sports". Comunicación personal en la "III Conferencia Mundial Permanente sobre Antidopaje en el Deporte", Bergen (Noruega), (1.991).
277. *Kicman, A.T.; Brooks, R.V.; Collyer, S.C.; Cowan, D.A.; Nanjee, M.N.; Sothan, G.J.; Wheeler, M.J.:* "Criteria to indicate testosterone administration". *Br. J. S. Med.*, 24(4):253-264, (1.990).
278. *de Boer, D.; de Jong, E.G.; van Rossum, J.M.; Maes, R.A.A.:* "Doping Control of Testosterone and Human Chorionic Gonadotrophin: A Case Study". *Int. J. Sports Med.*, 12(1):46-51, (1.991).
279. *Venturelli, E.; Manzari, A.; Cavalleri, A.; Benzo, M.; Secreto, G.; Marubini, E.:* "Urinary testosterone measurement by gas chromatography after solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography". *Journal of Chromatography Biomedical Applications*, 582:7-12, (1.992).

280. *de Nicola, A.F.; Dorfman, R.I.; Forchielli, E.*: "Urinary excretion of epitestosterone in normal individuals and hirsute and virilized females". *Steroids*, 7:351-366, (1.966).
281. *Brooks, R.V.; Jeremiah, G.; Webb, W.A.; Wheeler, M.*: "Detection of anabolic steroid administration to athletes". *J. Steroid Biochem.*, 11:913-917, (1.979).
282. *Kicman, A.T.; Brooks, R.V.; Cowan, D.A.*: "Human chorionic gonadotrophin and sport". *Br. J. Sp. Med.*, 25(2):73-80, (1.991).
283. *Donike, M.; Barwald, K.R.; Klosterman, K.; Schanzer, W.; Zimmermann, J.*: "The detection of exogenous testosterone". In: Heck, H.; Hollmann, W.; Liesen, H., eds., *Sport: Leistung und Gesundheit*, Köln: Deutscher Ärzte-Verlag, (1.983), pp. 293-300.
284. *Wright, F.*: "Biologie des Androgènes". Comunicación personal en : "II Réunion du Groupe de Travail sur la Recherche", Groupe de Suivi, Convention contre le dopage, Conseil de l'Europe, (1.992).
285. *Dorfman, R.I.; de Nicola, A.; Gottfried, H.; Forchielli, E.*: "Testosterone and epitestosterone in human urine". *Testosterone* ed. Tamm. J., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1.968), pp. 216-219.
286. *Brooks, R.V.; Giuliani, G.*: "Epitestosterone isolation from human urine and experiments on possible precursors". *Steroids*, 4:101-116, (1.964).
287. *Korenman, S.G.; Wilson, H.; Lipsett, M.B.*: "Isolation of  $17\alpha$ -hydroxyandrost-4-en-3-one (epitestosterone) from human urine". *J. Biol. Chem.*, 239:1004-1006, (1.964).

288. *Wilson, H.; Lipsett, M.B.*: "Metabolism of epitestosterone in man". *J. Clin. Endocrinol.*, 26:902-914, (1.966).
289. *Cowan, D.A.; Kicman, A.T.; Walker, C.J.; Wheeler, M.J.*: Effect of administration of human chorionic gonadotrophin on criteria used asses testosterone administration in athletes". *Journal of Endocrinology*, 131:147-154, (1.991).
290. *Donike, M.; Barwald, K.R.; Klostermann, K.; Schanzer, W.; Zimmermann, J.*: "Nachweiss von exogen Testosteron". In: Heck, H.; Hollmann, W.; Liessen, H.; Rost, R. (eds.), *Sport: Leistung und Gesundheit Deutscher Ärzte-Verlag*, Cologne, (1.982), pp. 293.
291. *Donike, M.; Adamietz, B.; Opfermann, G.; Shanzer, W.; Zimmermann, J.; Mandel, F.*: "Die Normbereiche für Testosteron -und Epitestosteron-Urinspiegel sowie der Testosteron/Epitestosteron Quotienten". *Comunicación personal en el "3rd Cologne Workshop on Dope Analisis*, Cologne, (1.985).
292. "Control antidoping". En: "Manual de Medicina Deportiva", CIO, (1.990), pp. 95-132.
293. *Carlström, K.; Palonek, E.; Garle, M.; Oftebro, H.; Stanguelle, J.; Björkhem, I.*: "Detection of Testosterone Administration by Increased Ratio between Serum Concentration of Testosterone and 17 $\alpha$ -Hydroxiprogesterone". *Clin. Chem.*, 38(9):1779-1784, (1.992).

294. *Martínez, J.L.; Aguerzalde, A.; Camarero, A.; Garde, A.; Gofí, E.; López, M.T.; Ramos, C.*: "Esteroides anabolizantes (II). Efecto de la toma continuada y simultánea sobre los niveles séricos del eje hipófiso-gonadal". *Archivos de Medicina del Deporte*, IX(35):287-296, (1.992).
295. *Rodríguez, A.F.; Rodríguez, C.*: "El doping. Evaluación en el laboratorio". *Archivos de Medicina del Deporte*, III(9):43-53, (1.986).
296. *Dalzell, D.P.; Elattan, T.M.A.*: "Gas Chromatographic Determination of Urinary Excretion of Testosterone, Epitestosterone and Androstenedione in Pre-adolescent and Adolescent Children". *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36:1237-1240, (1.973).
297. *Dehennin, L.; Scholler, R.*: "Despistage de la prise de testostérone comme anabolisant chez les adolescents par la détermination du rapport des excretions urinaires de testostérone et d'épitéstosterone". *Pat. Biol.*, 38:920-922, (1.990).
298. *Rodríguez, C.; Rubio, S.; Cortés, R.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Soriano, C.; Palacios, N.*: "Estudio preliminar de niveles de testosterona con respecto a la epitestosterona en población adolescente masculina. Comparación con niveles en deportistas de élite". *Archivos de Medicina del Deporte*, VII(26):133-137, (1.990).
299. *Rodríguez, C.; Rubio, S.; Cortés, R.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Soriano, C.; Palacios, N.*: "Nuevo estudio de niveles de testosterona en adolescentes masculinos con diferentes intensidades de actividad deportiva". *Revista de Investigación y Documentación sobre las Ciencias de la Educación Física*, 12-13:52-54, I-XIII, (1.989).

300. *Falk, O.; Palonek, E.; Björkem, I.*: "Effect of ethanol on the ratio between testosterone and epitestosterone in urine". *Clin. Chem.*, 34:1462-1464, (1.988)
301. *Oftebro, H.*: "Evaluating an abnormal steroid in profile". *Lancet*, 359:941-942, (1.992).
302. *Oftebro, H.*: "Influence of Pharmaca on the Steroid Profile". Comunicación personal en: "Hormone Profile After Steroid Administration", II Congreso Mundial del COI de Ciencias del Deporte, Barcelona, (1.991).
303. *Shakleton, C.H.L.*: "Steroid Profiling in Clinical Chemistry". Comunicación personal en: "Hormone Profile After Steroid Administration", II Congreso Mundial del COI de Ciencias del Deporte, Barcelona, (1.991).
304. *Donike, M.; Geyer, H.; Kraft, M.; Rauth, S.*: "Influencia a largo plazo del uso indebido de los esteroides anabolizantes sobre el perfil esteroideo". *Archivos de Medicina del Deporte*, VII(26):167-172, (1.990).
305. *Small, M.; Beastall, G.H.; Semple, C.G.; Cowan, D.A.; Forbes, C.D.*: "Alteration of hormone levels in normal males given the anabolic steroid stanozolol". *Clinical Endocrinology*, 21:49-55, (1.984).
306. *Donike, M.*: "Steroid Profiles in Sports". Comunicación personal en: "Hormone Profile After Steroid Administration", II Congreso Mundial del COI de Ciencias del Deporte, Barcelona, (1.991).
307. *Donike, M.*: "Steroid Profiling in Cologne". En: "10th Cologne Workshop on Dope Analysis". 7th to 12th June 1.992. Proceedings. Ed. Donike et al., Köln, (1.993), pp. 47-68.

308. *Donike, M.; Rauth, S.; Wolansky, A.*: "Reference Ranges of Urinary Endogenous Steroids Determined by Gas-Chromatography/Mass Spectrometry". En: "10th Cologne Workshop on Dope Analysis". 7th to 12th June 1.992. Proceedings. Ed. Donike et al., Köln (1.993), pp. 69-86.
309. *Donike, M.*: "The steroid profile". Comunicación personal en "5th Cologne Workshop on Dope Analysis", Cologne (1.987).
310. *Rodríguez, C.; Rodríguez, A.F.; Maynar, J.I.; Cortés, R.*: "Estudio de relaciones entre hormonas androgénicas medidas en muestras fisiológicas de orina". *Revista de Investigación y Documentación sobre las Ciencias de la Educación Física*, 18:7-18, (1.991).
311. *Metivier, G.; Gauthier, R.; de la Chevrotière, J.; Grymala, D.*: "The effect of acute exercise on the serum levels of testosterone and luteinizing hormone in human male athlete". *Journal Sports Medicine Physiology*, 20:235-238, (1.980).
312. *Sutton, J.R.; Coleman, M.J.; Casey, J.; Lazarus, L.*: "Androgen responses during psysical exercise". *British Medical Journal*, 1:520-522, (1.973).
313. *Kicman, A.T.; Cowan, D.A.*: "Peptide hormones and sport: Misuse and detection". *British Medical Bulletin*, 48(3):496-517, (1.992).
314. *Rodríguez, C.; Maynar, M.; Rubio, M.D.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Maynar, J.; Cortés, R.*: "Influencia de la hCG en la eliminación urinaria de hormonas endógenas-androgénicas". *Archivos de Medicina del Deporte*, VIII(30):115-118, (1.991).

315. *Rodríguez, C.; Maynar, M.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.*: "HCG en el deporte: Efectos sobre la eliminación urinaria de hormonas endógenas-androgénicas". Presentación personal, (1.991).
316. *Rodríguez, C.; Maynar, M.; Rodríguez, A.F.; Carreras, D.; Maynar, J.I.; Cortés, R.*: "Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) y Dopaje". Archivos de Medicina del Deporte", VIII(32):315-318, (1.991).
317. *Brooks, R.V.; Collyer, S.P.; Kicman, A.T.; Southan, G.J.; Wheeler, M.A.*: "Doping con HCG en el deporte y métodos para descubrirlo". Archivos de Medicina del Deporte, VII(25):59-63, (1.990).
318. *Cowan, D.*: "The influence of Some Pituitary Hormones on the Steroid Profile". Comunicación personal en: "Hormone Profile After Steroid Administration", II Congreso Mundial del COI de Ciencias del Deporte, Barcelona, (1.991).
319. *Nagai, K.; Miyamori, I.; Ikeda, M. et al.*: "Effect of ketoconazole (an imidazole antimycotic agent) and other inhibitors of steroidogenesis on cytochrome P450-catalyzed reactions". J. Steroid Biochem., 24:321-323, (1.986).
320. *Pont, A.; Williams, P.L.; Azhar, S. et al.*: "Ketoconazole blocks testosterone synthesis". Arch. Intern. Med., 142:2137-2140, (1.982).
321. *Raifer, J.; Sikka, S.C.; Rivera, F.; Handelsman, D.J.*: "Mechanism of inhibition of human testicular steroidogenesis by oral ketoconazole". J. Clin. Endocrinol. Metabol., 63:1193-1198, (1.986).

322. *Schrümeyer, T.; Nieschlag, E.*: "Effect of ketoconazole and other imidazole fungicides on testosterone biosynthesis". *Acta Endocrin.*, 105:275-280, (1.984).
323. *Van den Bossche, H.; Lauwers, W.; Willemsens, G.; Cools, W.*: "Ketoconazole an inhibitor of the cytochrome P-450 dependent testosterone biosynthesis". *Prog. Clin. Biol. Res.*, 185A:187-196, (1.985).
324. *Van Tyle, J.H.*: "Ketoconazole: mechanism of action, spectrum of activity, pharmacokinetics, drugs interaction, adverse reactions and therapeutic use". *Pharmacotherapy*, 4:343-373, (1.984).
325. *Southan, G.J.; Brooks, R.V.; Cowan, D.A.; Kicman, A.T.; Unnadket, N.; Walker, C.J.*: "Possible indices for the detection of the administration of dihidrotestosterone to athletes". *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 42(1):87-94, (1.992).
326. *Keenan, B.S.; Eberle, A.J.; Sparrow, J.T.; Greger, N.G.; Pauko, W.B.*: "Dihydrotestosterone heptanoate: synthesis, pharmakinetiks and the effects on hypothalamic-pituitary-testicular function". *J. Clin. Endocr. Metab.*, 64:557-562, (1.987).
327. *Geyer, H.; Schänzer, W.; Donike, M.*: "Probenecid as Masking Agent in Dope Control - Inhibition of the Urinary Excretion os Steroid Glucoronides". En: "10th Workshop on Dope Analysis. 7th to 12th June 1.992. Proceedings". Ed. Donike et al., Köln, (1.993), pp. 141-151.
328. *Palonek, E.; Garle, M.*: "Single Injection of Testosterone to 7 Volunteers: Results from this Study". En: "10th Workshop on Dope Analysis. 7th to 12th June 1.992. Proceedings". Ed. Donike et al., Köln, (1.993), pp. 131-139.

329. Abbott, D.; Andrews, R.S.: "Introducción a la cromatografía", Ed. Alhambra, (1.977).
330. Tranchant, J.: "Manual práctico de cromatografía en fase gaseosa". Masson et Cie., París (1.972).
331. Gascó, L.: "Teoría y práctica de la Cromatografía en Fase Gaseosa". Ed. JEN, Madrid, (1.969).
332. Onuska, F.I.: "Basic principles, characteristics, and selection of open tubular columns in Gas Chromatography". En: "Gas Chromatography, Biochemical, Biomedical @ Clinical Applications", Ed. R.E. Clement, Canadá, (1.990), pp. 3-24.
333. Tashiro, C.; Clement, R.E.: "Characteristics of modern GC instrumentation". En: "Gas Chromatography, Biochemical, Biomedical @ Clinical Applications", Ed. R.E. Clement, Canadá, (1.990), pp. 25-54.
334. McLafferty, F.W.: "Mass Spectrometry of Organics Ions". Academic Press, Nueva York, (1.963).
335. McLafferty, F.W.: "Interpretación de los espectros de masas". Ed. W.A. Benjamín (Nueva York). Ed. española: Ed. Reverté, (1.969).
336. Webb, K.S.: "The Identification of Drugs by Mass Spectrometry". En: "The Analysis of Drugs of Abuse", Ed. T.A. Gough, (1.991), pp. 175-224.
337. Reiner, E.J.; Clement, R.E.: "The Mass Spectrometer as a GasChromatographic Detector". En: "Gas Chromatography, Biochemical, Biomedical @ Clinical Applications", Ed. R.E. Clement, Canadá, (1.990), pp. 87-108.

338. *Dehermin, L.; Matsumoto, A.M.*: "Long-term administration of testosterone enanthate to normal men: alterations of the urinary profile of androgen metabolites potentially useful for detection of testosterone misuse in sport". *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 44(2), 179-89, (1.993).