

**UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL DEPORTE
Departamento de Fisiología.**



**VARIACIONES DEL PERFIL ESTEROIDEO CON
DIFERENTES TIPOS DE EJERCICIOY ACTIVIDAD FÍSICA**

Memoria para optar al grado de DOCTOR, presentada por

RAFAEL TIMÓN ANDRADA

CÁCERES, 2002

***Edita: Universidad de Extremadura
Servicio de Publicaciones***

Caldereros 2. Planta 3^a
Cáceres 10071
Correo e.: publicac@unex.es
<http://www.unex.es/publicaciones>

“Si pudiéramos dar a cada individuo la cantidad justa de alimentos y de ejercicio, ni poco ni demasiado, habríamos encontrado la forma más segura de salud”.
(Hipócrates, hacia el año 400 a.C)

AGRADECIMIENTOS.

- A Marcos, por todos estos años bajo su tutela en los que me ha introducido en el mundo de la investigación y de los esteroides, así como por su apoyo incondicional y sus adecuados consejos.
- A Juan Maynar, Ángel y José Juan por su inestimable e impagable ayuda en la elaboración de la tesis, especialmente en lo referente al apartado químico.
- A Guillermo, Diego y Pedro Ángel, por su amistad y por los buenos momentos pasados juntos en el laboratorio y en cafetería, momentos sin los cuales no se podría haber concluido esta Tesis.
- A todo el laboratorio de fisiología de la Facultad de Ciencias del Deporte, por facilitarme el trabajo, y a todos aquellos que colaboraron en el transporte de las muestras y su análisis.
- A Hebe Sol, por su paciencia y comprensión, además de por ser mi musa e inspiración.
- A mis padres y hermanos, por su apoyo y por las muchas horas que no he podido disfrutar de ellos a consecuencia de la elaboración de esta Tesis.
- Y por supuesto, a los ciclistas y universitarios que participaron en el estudio porque sin ellos no se podría haber realizado esta Tesis Doctoral.

ÍNDICE

ÍNDICE.

| | |
|---|----|
| I. INTRODUCCIÓN. | 5 |
| I.A. QUÍMICA DE LOS ESTEROIDES | 6 |
| I.A.1. Aspectos químicos | |
| I.A.2. Síntesis hormonal y metabolismo. | |
| I.A.3. Regulación de la síntesis | |
| I.A.4. Mecanismo de acción | |
| I.A.5. Excreción urinaria | |
| I.A.6. Efectos de los andrógenos en el organismo | |
| I.A.7. Efectos de los corticosteroides en el organismo | |
| I.A.8. Abuso exógeno de esteroides | |
| I.B. EJERCICIO FÍSICO Y PERFIL ESTEROIDEO | 28 |
| I.B.1. Consideraciones generales | |
| I.B.2. Efecto agudo. Variaciones a nivel sanguíneo | |
| I.B.3. Efecto crónico. Variaciones a nivel sanguíneo | |
| I.B.4. Otros marcadores fisiológicos. Efecto agudo y crónico. | |
| I.C. OTROS FACTORES QUE INFLUYEN EN EL PERFIL ESTEROIDEO | 37 |
| II. OBJETIVOS | 41 |
| III. MATERIAL Y MÉTODOS | 44 |
| III.A. REACTIVOS Y DISOLUCIONES | 45 |
| III.B. APARATOS UTILIZADOS | 46 |
| III.C. SUJETOS DE ESTUDIO | 47 |

| | |
|---|----|
| III.D. DISEÑO EXPERIMENTAL | 48 |
| III.E. LA ORINA COMO MUESTRA PARA ANALIZAR | 55 |
| III.F. DETERMINACIÓN DEL PERFIL ESTEROIDEO | 55 |
| III.F.1. Aspectos generales | |
| III.F.2. Determinación de andrógenos en orina | |
| III.F.3. Determinación de corticosteroides en orina | |
| III.F.4. Detección y cuantificación. Fundamento del Método | |
| III.F.5. Las condiciones instrumentales óptimas | |
| III.F.6. Curvas de calibrado | |
| III.G. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN URINARIA DE CREATININA | 71 |
| III.H. MÉTODO ESTADÍSTICO. | 72 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. | 73 |
| IV.A. CONSIDERACIONES GENERALES | 74 |
| IV.B. EFECTO AGUDO | 75 |
| IV.B.1. Andrógenos | |
| IV.B.2. Corticosteroides | |
| IV.B.3. Estrógenos y progesterona. | |
| IV.B.4. Relaciones | |
| IV.C. EFECTOS DEL ENTRENAMIENTO CONTINUADO SOBRE EL PERFIL ESTEROIDEO. | 88 |
| IV.C.1. Andrógenos. | |
| IV.C.2. Corticosteroides | |
| IV.C.3. Estrógenos y progesterona | |

IV.C.4. Relaciones

IV.D. EFECTO CRÓNICO 95

IV.D.1. Evolución del nivel de fuerza máxima

IV.D.2. Variación de la creatinina urinaria

IV.D.3. Variaciones del perfil esteroideo

IV.D.3.1 Androsterona + Etiocolanolona

IV.D.3.2 Testosterona

IV.D.3.3 Epitestosterona

IV.D.3.4 Dehidroepiandrosterona

IV.D.3.5 Androstenodiona

IV.D.3.6 Epiandrosterona

IV.D.3.7 Estrona

IV.D.3.8 B-estradiol

IV.D.3.9 Progesterona

IV.D.3.10 THC y THCol

IV.D.3.11 Relación testosterona/epitestosterona

IV.D.3.12 Relaciones andrógenos/corticosteroides

V. CONCLUSIONES 136

VI. BIBLIOGRAFÍA 139

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.A. QUÍMICA DE LOS ESTEROIDES.

I.A.1. Aspectos químicos

El nombre general de “esteroide” se introdujo en 1936, siendo todos ellos alcoholes secundarios tetracíclicos. El núcleo de su estructura básica es el ciclopentanoperhidrofenantreno, numerándose sus posiciones como se muestra en el gráfico I.

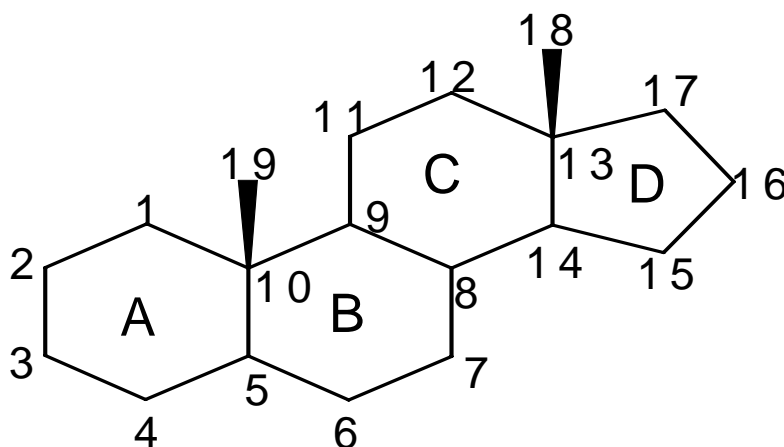


Gráfico I. Núcleo esteroideo básico

El término esteroides incluye diferentes grupos químicos, entre ellos; andrógenos (C19), los esteroides, los ácidos biliares, las restantes hormonas sexuales (estrógenos (C18)), los corticosteroides (C21) y otros grupos de menor importancia.

Por otra parte, de la modificación sintética y artificial tanto del esqueleto como de los sustituyentes de los andrógenos surge un nuevo grupo, los denominados esteroides anabolizantes o esteroides anabolizantes androgénicos.

Se sintetizan buscando disminuir el efecto androgénico (aunque resulta imposible su total eliminación) y manteniendo o aumentando su poder anabolizante. Este objetivo se consigue químicamente mediante:

- La introducción de un sustituyente en posición 1 ò 4 (p ej. Clostebol)

- La introducción de un doble enlace en el anillo A del esteroide (p ej. Boldenona)
- La fusión de un anillo heterocíclico (p ej . Estanozolol)
- La pérdida del grupo metilo en la posición 19 (p ej. Nandrolona)

Con el objetivo de poder modificar la absorción, se varía la estructura mediante la introducción de un grupo alquilo en posición 17 (p ej. Metiltestosterona)

No obstante, en el estudio que nos ocupa, nos centraremos fundamentalmente en los andrógenos y en los corticosteroides de origen natural, y en su variación como consecuencia del ejercicio físico.

Los **andrógenos**, que derivan específicamente del hidrocarburo *androstano*, son compuestos de 19 átomos de carbono, con grupos metilo en C10 y C13 y un átomo de oxígeno en el carbono 17 (Wilson et al. 1988). Dentro de este grupo, la testosterona es considerado como el principal andrógeno y el más representativo. (Ver estructura química en el Gráfico II)

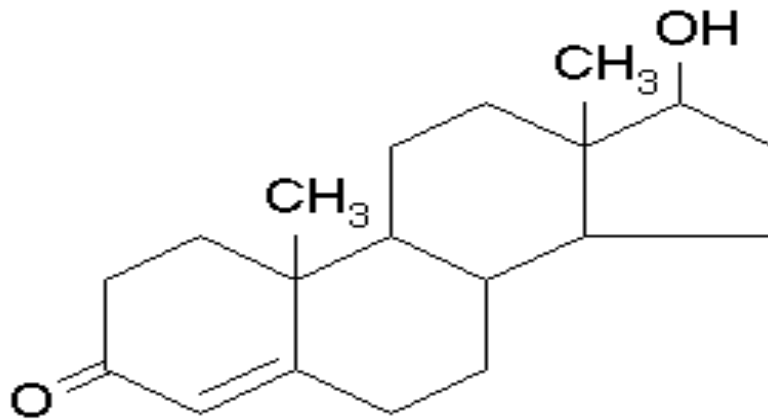


Gráfico II. Estructura química de la testosterona.

Se denominan hormonas androgénicas o andrógenos a las sustancias que poseen acciones masculinizantes o virilizantes, es decir, que son capaces de desarrollar los caracteres sexuales secundarios, genitales o extragenitales (por ejemplo, testosterona, dehidroepiandrosterona, su derivado sulfatado o DHEAS, androstenodiona). Dichas hormonas sexuales masculinas, como hemos visto, son esteroides y de ellas derivan

sustancias cuya acción principal es estimular el anabolismo proteico, propiedad que lógicamente también poseen los mismos andrógenos.

Los **corticosteroides** derivan del hidrocarburo *pregnano*, poseen 21 átomos de carbono. Distinguimos dos grupos principales:

- *Glucocorticoides*. Elevan la concentración de glucosa en sangre y aceleran el catabolismo proteico. Podemos distinguir la corticosterona, la cortisona y el cortisol o hidrocortisona. En muchos casos la función glucorticoide viene determinada, además de por la cadena lateral en las posiciones C20 y C21, por la presencia del cetóxigeno sobre C3 y por la de un átomo de oxígeno en C11.

En el gráfico III podemos observar la estructura química de dos de los glucocorticoides más conocidos.

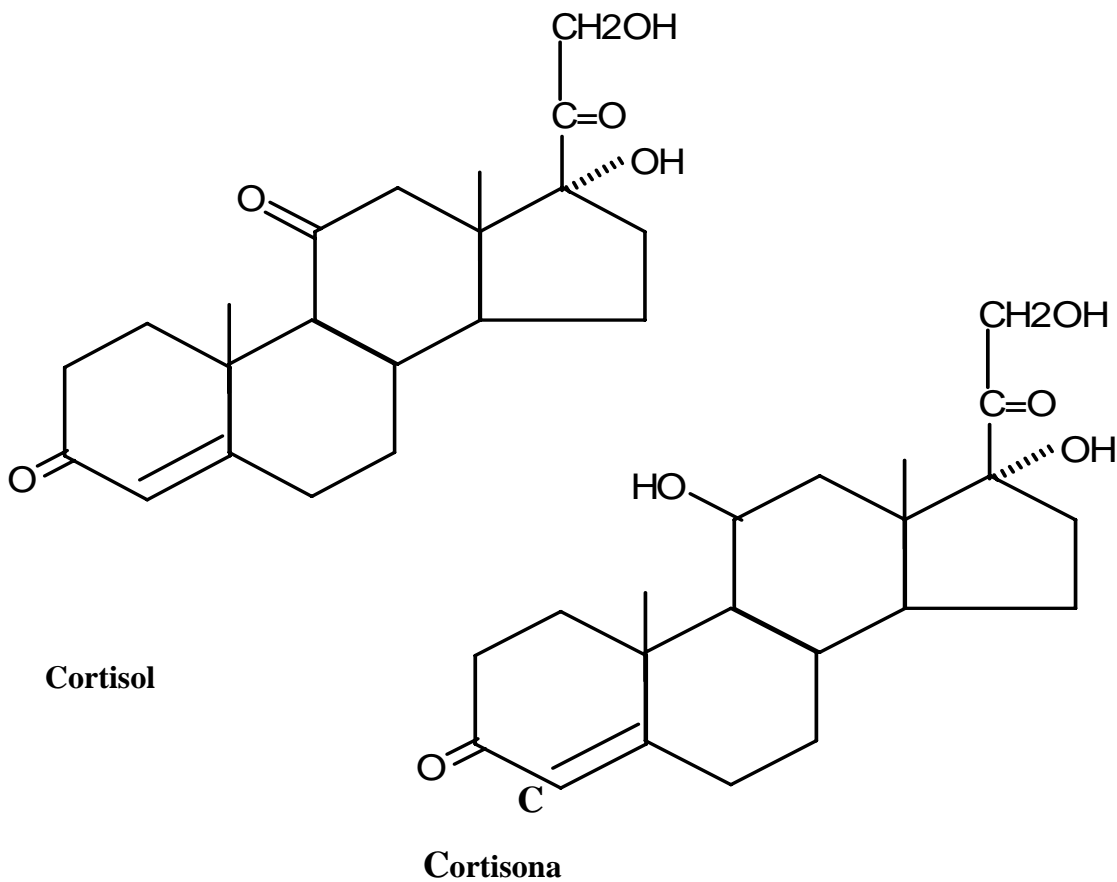


Gráfico III. Estructura química del cortisol y de la cortisona

- *Mineralocorticoides*. Actúan fundamentalmente sobre los electrolitos de los líquidos extracelulares, modificando la reabsorción de sodio, potasio y agua. Entre ellos destacan la aldosterona y desoxicorticosterona. Esta función viene determinada a nivel estructural por el enlace del átomo de oxígeno en el carbono 18.

I.A.2. Síntesis hormonal y metabolismo.

Los andrógenos se sintetizan principalmente en los testículos aunque también hay otros que se sintetizan en los ovarios, en la glándula suprarrenal y en la placenta. Las glándulas suprarrenales están constituidas por una corteza y una médula. La médula segrega catecolaminas y la corteza segrega hormonas esteroideas. La corteza a su vez se encuentra dividida en tres capas; la glomerular, que es la más externa, la fascicular y la zona reticular, que es la más interna.

Los andrógenos derivados de la corteza adrenal son la androstenodiona, dehidroepiandrosterona (DHEA) (ambos precursores de la testosterona), su derivado sulfatado (DHEAS) y una pequeña cantidad de testosterona, se sintetizan fundamentalmente en la zona reticular y en pequeña cantidad en la zona fascicular. La corteza suprarrenal segrega diariamente 2 mg de DHEA y aparece en cantidades de 5 ng/ml en las concentraciones plasmáticas.

Las células de Leydig del testículo segregan testosterona y en menores cantidades androstenodiona, dehidroepiandrosterona y dihidrotestosterona (DHT). Las células de la teca del ovario producen cantidades significativas de androstenodiona y otros andrógenos, que pueden ser convertidos a estrógenos. Sin embargo, la producción de esteroides no está limitada sólo a glándulas endocrinas, ya que pequeñas cantidades pueden ser producidas en el cerebro (Hu et al.1987). De todos estos andrógenos, la testosterona es cualitativamente y cuantitativamente el andrógeno más importante en la circulación (Tabla I)

Tabla I. Tasa de secreción y concentraciones de esteroides en el hombre

| Esteroides | Tasa de secreción por testículos (µg/día) | Concentración vena periférica (ng/100ml) | Concentración vena espermática (ng/100ml) |
|---------------------|---|--|---|
| Testosterona | 5000 | 700 | 10000-60000 |
| Dihidrotestosterona | 50-100 | 30 | 60-800 |
| Estradiol | 10-15 | 2-3 | --- |

Los corticosteroides son segregados por las glándulas suprarrenales y son muy importantes para la vida de un individuo, sin ellas las alteraciones del metabolismo electrolítico y de carbohidratos podrían producir la muerte por colapso circulatorio o coma hipoglucémico

Aldosterona y cortisol son respectivamente las hormonas mineralocorticoide y glucocorticoide principales. La suprarrenal segrega diariamente, en condiciones normales, 20 mg de cortisol y 0.15 mg de aldosterona. (Tabla II)

Tabla II. Tasa de secreción, concentración plasmática de diversos corticosteroides suprarrenales

| Esteroides | Tasa de secreción (mg/día) | Concentración plasmática (ng/ml) | Actividad Glucocorticoide | Actividad Mineralocorticoide |
|---------------------|----------------------------|----------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| Cortisol | 20 | 150 | 1 | 1 |
| Corticosterona | 3 | 3 | 0.3 | 15 |
| Deoxicorticosterona | 0.6 | 0.15 | 0.2 | 100 |
| Deoxicortisol | 0.4 | 1.5 | -- | 0.5 |
| Aldosterona | 0.15 | 0.15 | 0.3 | 3000 |

La aldosterona constituye el 95% o más de la actividad mineralocorticoide. Es sintetizada por la zona glomerular.

El cortisol, sintetizado fundamentalmente por la zona fascicular y en menor cantidad por la zona reticular, representa el 95% de la actividad glucocorticoide de las secreciones suprarrenales. Intervienen en menor proporción la corticosterona y, mucho menos todavía, la cortisona.

Como ya hemos comentado, los andrógenos son esteroides naturales que están contenidos en el grupo del androstano (C19) y los corticosteroides forman parte del grupo del pregnano (C21). Es por eliminación en él de toda la cadena lateral, a través de la ruptura entre el carbono 17 y el carbono 20, lo que da lugar a los C19 esteroides, gracias a unas enzimas del retículo endoplásmico que se encuentran tanto en el testículo como en la glándula suprarrenal.

Estas hormonas esteroideas pueden ser sintetizadas directamente desde la acetilcoenzima A o a partir del colesterol como precursor (Ver la estructura química del colesterol en el gráfico IV).

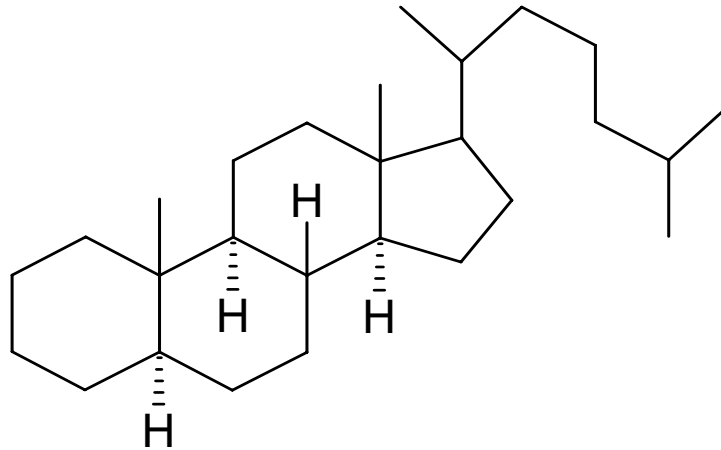


Gráfico IV. Estructura del colesterol

La mayoría del colesterol, utilizado por las suprarrenales y gónadas se obtiene a partir de las lipoproteínas plasmáticas de baja densidad (LDL). Se sintetizan también pequeñas cantidades de colesterol dentro de las células corticales a partir de la acetilcoenzima A. Este colesterol entra por endocitosis en la célula y es transportado hasta la mitocondria, lugar donde se producirá la transformación a pregnenolona. La reacción principal en la síntesis de hormonas esteroideas es la escisión de la cadena lateral del **colesterol** para formar **pregnenolona**, que a su vez, y a través de una serie de transformaciones químicas relativamente pequeñas da lugar a todas las hormonas esteroideas. La conversión de colesterol a pregnenolona es el primer paso y el paso

limitador en la síntesis de todos los esteroides. Este paso está regulado por la hormona adrenico-córtico-tropa (ACTH) y la angiotensina II en la glándula adrenal (Kramer et al, 1980) y por la hormona luteinizante (LH) en el testículo. La reacción está catalizada por el sistema del citocromo P450 (P450_{scc}), cuya función es la de una oxidasa terminal y la de la escisión del colesterol. Se ha comprobado que una deficiencia del P450_{scc} ocasiona una disminución de todas las hormonas esteroideas (Solish et al. 1988).

A partir de aquí la biosíntesis de esteroides puede seguir dos vías diferentes, la delta 4 y la delta 5 (Toscano V, 1991), que darán lugar a las diferentes hormonas esteroideas (Mineralocorticoides, glucocorticoides y testosterona, como máximo representante de los andrógenos), ya sea en la glándula suprarrenal o en los testículos. En el caso del testículo humano la mayoría de los andrógenos que se forman son a través de la vía delta 5

Si nos centramos, primeramente, en la síntesis de corticosteroides por la glándula suprarrenal, diremos que esta pasa por varias fases una vez que se ha obtenido la pregnenolona. La pregnenolona se transforma en progesterona y a partir de ahí surgen dos vías, una para glucocorticoides y otra para mineralocorticoides.

Glucocorticoides: Progesterona → → 17HidroxiProgesterona (misma ruta delta 4) → 11Deoxycortisol → → **Cortisol**

Mineralocorticoides: Progesterona → → 11-deoxycorticosterona → Corticosterona → → **Aldosterona**

En segundo lugar, para la síntesis de testosterona en el testículo humano parece ser que hay dos rutas principales.

Pregnenolona → 17Hidroxi pregnenolona → DHEA → 5Androstenediol → → **Testosterona.** (Vía Delta 5)

Pregnenolona → Progesterona → 17Hidroxi progesterona → Androstenediona → → **Testosterona** (Vía Delta 4)

De las sustancias formadas por el testículo, la testosterona es la hormona androgénica principal, mientras que la androstenodiona y la DHEA son andrógenos de escasa actividad.

Cada etapa y cada transformación se encuentra catalizada por un sistema enzimático específico. Destacan por su importancia la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD), la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD) y el sistema enzimático del P450.

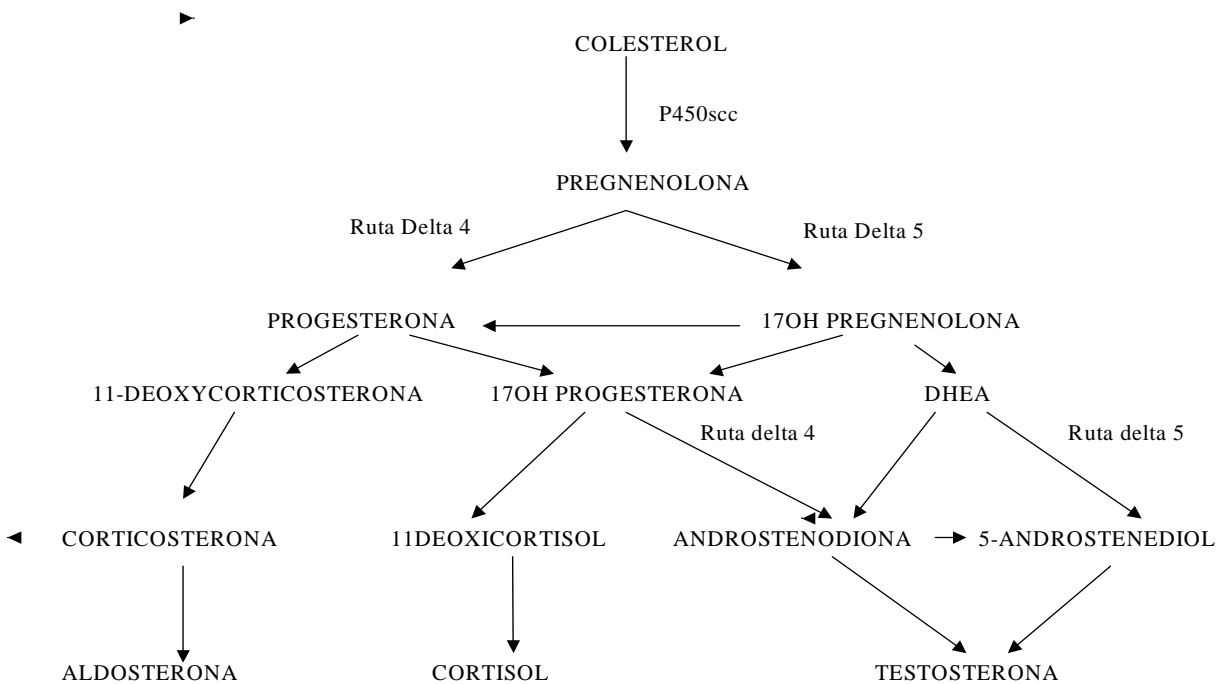


Gráfico V. Esquema simplificado de la síntesis esteroidea.

Una vez formada la testosterona, esta se puede reducir a Dihidrotestosterona (DHT), gracias a la enzima 5 α -reductasa, (compuesto de 1.5 a 2.5 veces más potente que la misma testosterona) o puede convertirse en estrógenos, a β -estradiol, en otros tejidos (la tasa de secreción de β -estradiol en los testículos es de 10-15 μ g/día).

I.A.3. Regulación de la síntesis.

En el testículo, el estímulo de la producción de testosterona proviene de la LH (Hormona luteinizante), hormona segregada por la hipófisis. Controla la velocidad de formación y secreción de la testosterona; ambas se retroalimentan y se regulan. Cuando hay poca testosterona se elevan los niveles de LH y cuando hay mucha deja de producirse LH. Algunos autores opinan que en esta regulación también influiría la FSH, ya que, aunque se cree que sus efectos principales se ejercen sobre la espermatogénesis, algunos de los estudios han indicado que esta hormona también puede aumentar la síntesis de testosterona y la actividad de la LH. (Bartke et al, 1978, Ewing et al, 1978).

Durante el embarazo la placenta segrega grandes cantidades de gonadotropina coriónica, que estimula la formación de las células de Leydig y causa producción de testosterona.

La actividad de las enzimas que intervienen en la síntesis de andrógenos está influenciada por la edad, por lo que la síntesis de andrógenos varía a lo largo de la vida de un individuo. En el curso del desarrollo fetal los testículos son estimulados por la gonadotropina coriónica para producir un poco de testosterona. Durante la infancia los niveles son bajos hasta los 10-13 años, momento en el que se incrementa la producción de testosterona con rapidez, alcanzando el pico máximo en torno a los 20 años. A partir de este momento los niveles comienzan a bajar progresivamente.

En la *glándula suprarrenal*, se producen mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos. Vamos a ver su regulación.

Los mineralocorticoides, que no son el principal motivo de investigación de este estudio, son secretados por la zona glomerular y su secreción está regulada por las concentraciones de electrolitos en líquidos extracelulares y por los volúmenes de líquidos y de sangre.

Sin embargo, la secreción de glucocorticoides y de andrógenos suprarrenales, esta controlada por la hormona adreno-cortico-tropa (ACTH). Esta hormona secretada por la hipófisis anterior activa a la adenilciclase en la membrana celular de la glándula suprarrenal, lo que induce a la formación de AMP cíclico en el citoplasma y este a su vez, activa a las enzimas intracelulares (p ej, la enzima desmolasa) que catalizan los procesos de producción hormonal.

La estimulación prolongada de la corteza suprarrenal por la ACTH, no sólo aumenta la secreción, sino que también produce hipertrofia y proliferación de las células corticosuprarrenales.

Cualquier tipo de tensión física o mental aumenta, en plazo de minutos, la secreción de ACTH y Glucocorticoides. Al igual que en el caso de la testosterona y la LH, el cortisol (principal glucocorticoide) tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la producción de ACTH, es decir, siempre que su concentración aumenta de forma considerable, la retroalimentación reduce en forma automática la ACTH.

I.A.4. Mecanismo de acción.

Después de haber sido sintetizados en las gónadas y suprarrenales, los andrógenos y corticosteroides entran en el torrente sanguíneo para ser distribuidos por todo el cuerpo. En el plasma humano existen dos proteínas extracelulares circulantes que tienen una gran afinidad por las hormonas esteroideas:

- La globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), descrita por Daughaday en 1958, la cual posee gran afinidad por la Dihidrotestosterona, testosterona y estradiol, en este orden. Al mismo tiempo que desempeña una función transportadora, también regula la fracción biológicamente activa de la testosterona y parece probable que proteja a los esteroides de su degradación hepática (Vermeulen et al. 1982, Rosenfield et al, 1983).

- La globulina transportadora de corticoides (CBG o transcortina), descrita por Daughaday en 1956, la cual tiene gran afinidad por corticosteroides y progesterona. Los estrógenos inducen la síntesis hepática de transcortina, con lo que aumenta su concentración plasmática y, por tanto, la capacidad de fijación del cortisol.

La testosterona, ejemplo representativo de los andrógenos, es secretada en las células de Leydig y se transporta en la sangre, en un 75% unida a SHBG (si los niveles de SHBG son altos, el % de testosterona libre es bajo), en un 20% unido a albúmina y el resto representa la fracción libre. La fracción libre o no unida a proteínas sería la activa biológicamente, ya que es la fracción capaz de penetrar en el interior de las células de los tejidos “blanco” o “lugares de destino”. Una vez allí se inicia el proceso (Gorski 1986):

- Entrada de la testosterona en la célula
- Transformación en el citoplasma de testosterona a DHT
- Unión a receptores intracelulares proteicos específicos
- Complejo esteroide-receptor entra en el núcleo y se une a la cromatina. Actualmente, se ha sugerido que los receptores esteroideos se localizan exclusivamente en el núcleo de la célula, tanto si están como si no ocupados por esteroides (Brown y Migeon, 1989).
- Este complejo se fija específicamente a un lugar de alta afinidad de la cromatina y se produce la transcripción de un RNA mensajero específico.
- Traducción del ARN mensajero a los polirribosomas que darán como resultado la síntesis proteica.

En el receptor se reconocen tres regiones : Una central responsable de la fijación al ADN, la región N terminal que se cree interviene en la activación y la región C-terminal que es la región de fijación con el esteroide. Es el cambio conformacional que ocurre cuando el esteroide activo se fija al receptor lo que hace que pueda interactuar con el ADN.

Estudios realizados indican que existen dos receptores androgénicos, uno para la testosterona y otro para la DHT (Mordían et al.1987).

Los corticosteroides una vez sintetizados no se almacenan en la suprarrenal, sino que se liberan a la circulación. Se combinan, como ya hemos dicho, con el CBG o transcortina (en un 75%), y en menor grado con la albúmina (10-15%). En condiciones normales, cerca del 90% se transporta en forma fija y cerca del 7-10% en forma libre. La fracción ligada de cortisol, como máximo ejemplo de glucocorticoides, carece de actividad biológica, no se metaboliza en el hígado, no puede atravesar la barrera placentaria y no se excreta por los riñones; constituye una reserva de la hormona.

En las formas tanto combinadas como libre las hormonas se transportan por todo el compartimento del líquido extracelular. En general estas hormonas se fijan en los tejidos “blanco” en plazo de una o dos horas, como sucede con el cortisol

El mecanismo de acción de los glucocorticoides es similar al de los andrógenos. Lo que sucede es que su fijación en los receptores específicos estabiliza la forma inactiva y no induce la síntesis del ARN Mensajero, con lo que se produce una disminución proteica. Sin embargo, frente a este empobrecimiento proteico generalizado a nivel muscular, se produce un aumento de las proteínas hepáticas, como consecuencia de que los glucocorticoides en las células hepáticas (pero no en otras) estimulan el transporte de aminoácidos.

No obstante, los esteroides anabolizantes androgénicos también pueden actuar en el músculo a través de los receptores glucocorticoides, antagonizando la actividad catabólica de los glucocorticoides endógenos (Mordían et cols, 1987).

I.A.5. Excreción urinaria.

Los esteroides que circulan por el torrente sanguíneo no sólo van a llegar a los órganos diana, sino que también van a parar a lugares en los que existen enzimas metabolizadoras de esteroides.

Este fenómeno es importante por dos razones:

- Mecanismo de inactivación y preparación para la excreción de esteroides.
- Mecanismo de activación de metabolitos inactivos

En el organismo humano el hígado es el lugar principal de metabolismo de las hormonas esteroideas, debido al alto flujo sanguíneo que recibe y por su riqueza en enzimas metabolizadoras de esteroides. La concentración plasmática de esteroides será el resultado de la secreción de los mismos, por las gónadas y suprarrenales, y su destrucción enzimática, influenciado por las proteínas transportadoras plasmáticas (SHBG y CBG).

Los **glucocorticoides** se inactivan principalmente en el hígado, a consecuencia de una serie de conversiones enzimáticas y conjugación posterior, que hacen hidrosolubles estos esteroides y permiten su excreción. Esta excreción se produce en un 90 % por la orina. El proceso que se produce se expone a continuación.

En primer lugar, una 11- β -deshidrogenasa reduce el cortisol a cortisona, de actividad biológica similar, dada la reversibilidad de esta reacción. Estas dos hormonas, cortisol y cortisona, experimentan a continuación idénticas transformaciones metabólicas, las cuales se pueden resumir en cuatro etapas principales:

1. Supresión del doble enlace en el núcleo A, entre C4 y C5, lo que da lugar a dihidrocortisol
2. Reducción del grupo 3-ceto a 3-Hidro con formación de tetrahydrocortisol y tetrahydrocortisona.
3. Hidroxilación del grupo C20, que da lugar a la formación de cortol a partir de cortisol y de cortolona a partir de la cortisona (pueden tener forma α o β , en los hombres aparece en forma β)
4. Separación de la cadena lateral en la posición 17, que dan lugar a los llamados 17-cetoesteroides. Estos 17-cetoesteroides representan un 5-10% del total de los 17-cetoesteroides urinarios, de los que un 90-95% proceden de la inactivación de esteroides androgénicos

Desde el punto de vista cuantitativo, los metabolitos urinarios que pueden aparecer son los siguientes.

- Cortisol y cortisona, una pequeña cantidad de forma libre (representa un 1% aprox. del total).
- Tetrahydrocortisol y tetrahydrocortisona. Representan con un 42-45% la fracción más importante de los metabolitos urinarios.
- Cortol y cortolona, con sus diferentes epímeros, aparecen en un porcentaje menor.
- 5- β -hidrocortisol y 5- β -hidrocortisona, aparece también en cantidades mínimas.

Tanto el cortisol y sus metabolitos, todos los derivados tetrahydroconjugados y los metabolitos de la cortisona constituyen los llamados 17-hidroxicorticosteroides (17-OHCS), que representan la mayor parte de los metabolitos catabólicos en la orina (Fischer HG et cols, 1992). La mayor parte de dichos metabolitos se excreta en forma de glucuroconjugados hidrosolubles (60-70%), y en una menor proporción, en forma de sulfatos.

Todos los **andrógenos** son liposolubles y dan productos terminales característicos de cada una de las hormonas. Los procesos de biotransformación son llevados a cabo en hígado y riñón. No obstante, otros tejidos también son importantes, particularmente por la activación de precursores de baja actividad. Así, por ejemplo, se produce la conversión de androstenodiona a testosterona o de testosterona a dihidrotestosterona, así como testosterona y androstenodiona se pueden producir a partir del metabolismo periférico de la Dehidroepiandrosterona (DHEA) (Rivarola et al. 1989).

Los diferentes metabolitos aparecen en la orina como sulfatos o glucorónidos, puesto que de esta manera se incrementa su hidrosolubilidad y se facilita así su excreción renal. Su determinación, entre las de otros, es un índice de la presencia de andrógenos en el organismo.

La testosterona, como máximo representante del grupo de andrógenos, puede degradarse por dos vías catabólicas distintas (Ver esquema simplificado de excreción. Gráfico VI)

La primera, comprende la oxidación del grupo 17- β -hidróxilo para formar Δ^4 -androstenediona, la cual se reduce en posición 5 para formar la 5 α o 5 β -androstenediona; para dar lugar posteriormente a la androsterona, la dehidroepiandrosterona y la eticolanolona o 5 β -androsterona (Forest MG,1989), constituyendo de esta forma el grupo de los llamados metabolitos 17-cetoesteroides (a excepción de ese 10% del total que provienen del cortisol). En el varón normal, una tercera parte de los 17-cetoesteroides proviene de los testículos, y los dos tercios restantes de las suprarrenales (Baulieu E et cols, 1975).

La segunda, consiste en la reducción directa de la testosterona a 5 α o 5 β , que da lugar a la formación de 5 α o 5 β -androstenediol, y luego a 5 α -androstane 3 α / β 17diol. Finalmente se produce la glucuroconjugación de estos 5 α o 5 β androstenediols. (Forest MG,1989).

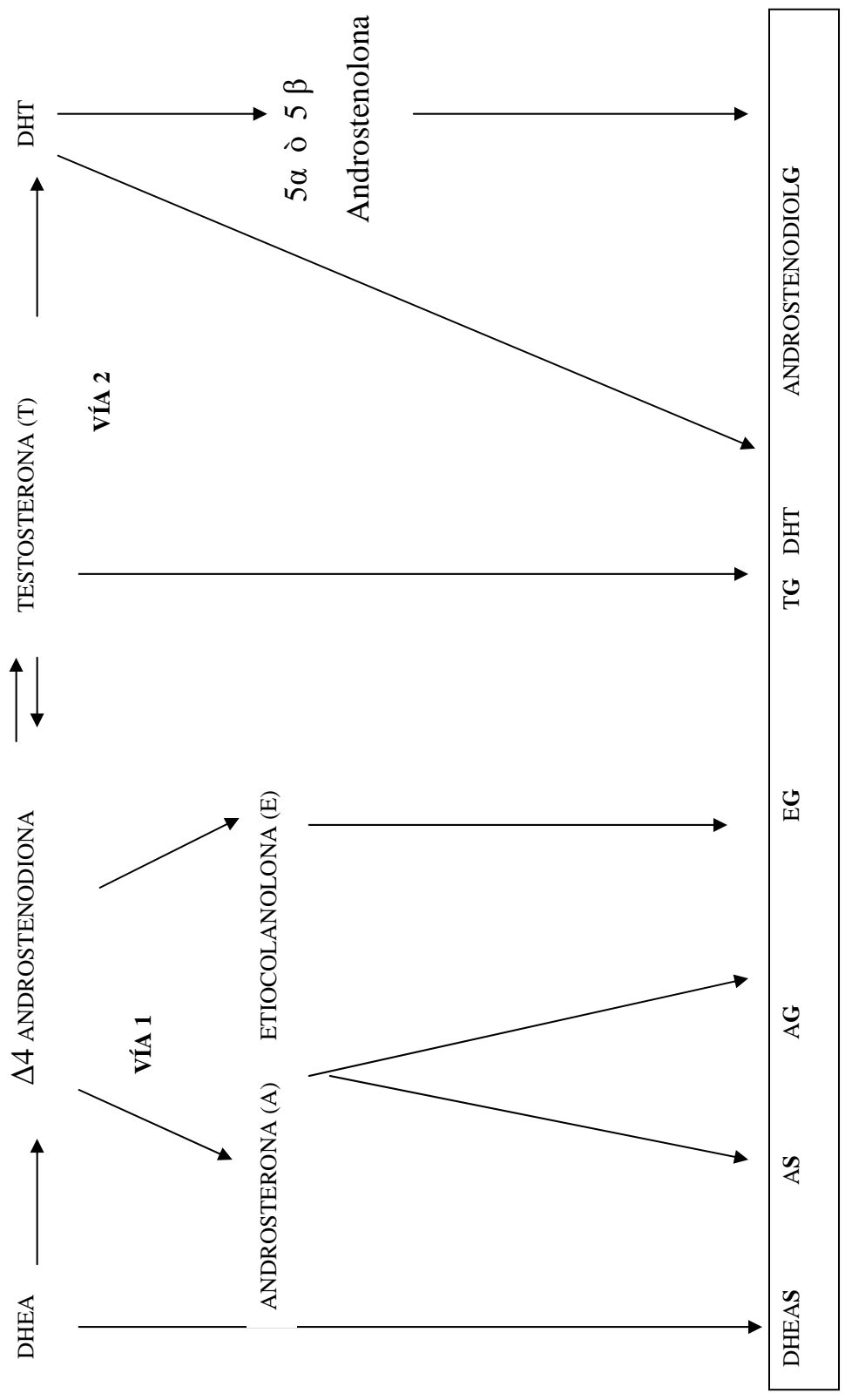
Todos estos metabolitos urinarios contribuyen a constituir el grupo de los 17-cetoesteroides urinarios, metabolitos representantes de la actividad anabólica del organismo (Fischer HG et cols, 1992), excepto los 5 α -androstane 3 α / β -17diol (DIOL Glucuroconjugados) que son 17- β hidroxisteroides conjugados. Aproximadamente del 20 al 70% de la testosterona plasmática aparece en la orina como androsterona + eticolanolona, un 5-10% como androstenediols conjugados (Baulieu et al.1964) y otra pequeña cantidad será excretada como andrógenos libre (Rommerts, 1990).

En la orina también aparecen metabolitos conjugados de dehidroepiandrosterona, especialmente en forma sulfatada, que siguen otra vía.

Otra sustancia que aparece en la orina es la dihidrotestosterona (DHT), aunque esta puede ser convertida en el hígado en androsterona, androstenediona y androstenediol.

Por otra parte, hay que decir que una fracción de la testosterona puede transformarse en estradiol o en estrona a partir de la androstenodiona. Se ha calculado que en el hombre el 20% de la estrona proviene de la conversión de la androstenodiona en estrona, en tanto que el 50% del estradiol circulante procede de la conversión de la testosterona. (Yen S, 1978) .

Otra sustancia que también aparece en la orina es la epitestosterona (ET), que es un 17 alfa-epímero de la testosterona. Se ha utilizado como un índice del abuso de testosterona exógena, puesto que la epitestosterona presenta una estrecha relación con la testosterona endógena (Donike et al 1990, Dehenin et al. 1993), y su excreción es independiente de esta última (Starka, 1993). Su biosíntesis se produce principalmente en los testículos, donde 5-androstene-3beta,17alfa-diol es formado desde pregnenolona mediante una reacción de primer paso con la consecuente oxidación e isomerización a epitestosterona (Weusten y cols, 1989).



ORINA

G y S indican las formas glucuronizada y sulfatada

Gráfico VI. Excreción urinaria de testosterona y sus metabolitos.

I.A.6. Efectos de los andrógenos en el organismo.

Los andrógenos, y la testosterona como máximo representante, van a presentar una serie de efectos fisiológicos importantes. Entre todos ellos destacan los efectos androgénicos y anabólicos. Estos efectos no son resultado de distintas acciones de una misma hormona, sino que son el reflejo de la misma acción sobre diferentes tejidos.

- ❖ *Acciones androgénicas.* Los andrógenos son los responsables de que se desarrollen los caracteres sexuales secundarios del varón, que empiezan en la pubertad y terminan en la madurez. La testosterona origina:
 - Crecimiento y maduración de los órganos sexuales.
 - Crecimiento del pelo
 - Efecto sobre la voz, hipertrofia de la mucosa laríngea.
 - Aumenta el espesor de la piel y la resistencia de los tejidos subcutáneos.

- ❖ *Acciones anabolizantes (síntesis proteica).* Los andrógenos favorecen el desarrollo muscular mediante la incorporación de aminoácidos en las proteínas musculares (Salvador y cols, 1999). En este sentido han sido administrados en la vejez para aumentar la fortaleza muscular y el vigor. (Johansen y cols , 1999). También se ha observado un bloqueo post-ejercicio del catabolismo proteico (se invierten los efectos catabólicos de los glucocorticoides puesto que sus receptores son ocupados por los andrógenos (Wilson, 1988).

- ❖ *Efecto sobre el crecimiento óseo y la retención del calcio.* Gracias a la acción de los andrógenos el espesor de los huesos aumenta de manera considerable, tanto a nivel cortical como trabecular (Chesney y cols 1987, Alden JC 1989) y además, se depositan en ellos gran cantidad de sales de calcio.

- ❖ *Aumento de la eritropoyesis.* Los andrógenos incrementan el número de células rojas, hemoglobina y hematocrito, además de incrementar también la síntesis de eritropoyetina (Palacios et al. 1983). Hecho por el cual se produce un aumento de la capacidad aeróbica.

- ❖ *Efecto sobre el equilibrio de electrolitos y agua.* Aumenta la reabsorción de sodio en los riñones, por lo que se retiene agua y cloruro sódico. Este fenómeno provoca un aumento de peso.
- ❖ *Estimulan la lipólisis.* Al parecer aumentando el número de Beta-adrenorreceptores en el tejido adiposo (Xu et al,1990)
- ❖ *Otros efectos.* Los andrógenos inhiben la secreción gonadotrópica de la adenohipófisis (Bijlsma y cols, 1982), disminuyen la concentración plasmática de SHBG, elevan las concentraciones plasmáticas de LDL-colesterol y provocan un descenso del HDL colesterol (Crist y cols, 1986), aumentan la excreción de 17-cetoesteroides.

I.A.7. Efectos de corticosteroides en el organismo.

Vamos a distinguir entre glucocorticoides y mineralocorticoides. Analizaremos con brevedad los mineralocorticoides, por que lo que realmente nos interesa son los glucocorticoides.

Por separado, podemos destacar las siguientes acciones fisiológicas:

Mineralocorticoides:

La función más importante es, con mucho, la de regular el metabolismo inorgánico. Modifica la reabsorción de sodio, potasio y agua. De tal forma, que la falta total de secreción de aldosterona puede causar una pérdida urinaria de hasta 20 gramos diarios de sodio corporal. (Miller M, 1984).

Glucocorticoides:

Los glucocorticoides tienen funciones casi tan importantes para la vida como los mineralocorticoides. Veremos detenidamente las diferentes funciones.

- ❖ *Aumento de la gluconeogénesis hepática.* Esto resulta de dos diferentes efectos:
 - En primer lugar, convierten los aminoácidos en glucosa, mediante la transcripción de ADN en los núcleos de las células hepáticas para producir las enzimas requeridas (Rousseau,1984).
 - En segundo lugar, la movilización de aminoácidos desde tejidos extrahepáticos, sobre todo desde el músculo (Kraus-Friedman, 1984).

- ❖ *Elevan la glucemia en sangre.* Acción opuesta a la insulina. El aumento de la glucemia es consecuencia del proceso de gluconeogénesis y de la reducción del ritmo de utilización de glucosa por las células.

- ❖ *Aceleran el catabolismo proteico.* Disminución de la reserva proteínica en casi todas las células corporales exceptuando las del hígado (Lan 1984). También se produce una disminución del transporte de aminoácidos a través de las membranas extrahepáticas, pero un aumento de dicho transporte en el hígado.

- ❖ *Estimulan la lipogénesis.* Los glucocorticoides favorecen la movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo, lo que incrementa la concentración de ácidos libres en el plasma y también eleva su utilización para obtener energía.

- ❖ *Acción antiinflamatoria.* Esto depende, quizás, de los mismos factores que permiten que el organismo resista otros muchos tipos de estrés físico cuando se secretan grandes cantidades de cortisol (por ejemplo, cuando se realiza un ejercicio o entrenamiento físico muy intenso). Este efecto es debido a su capacidad para estabilizar las membranas lisosómicas.

- ❖ *Otros efectos resaltables.* Se ha comprobado que una inyección de cortisol disminuye el número de eosinófilos y linfocitos en sangre (Homo-Delarche F, 1984). También se ha comprobado como el cortisol, aumenta la producción de eritrocitos.

I.A.8. Abuso exógeno de esteroides.

La administración exógena no controlada y abusiva de esteroides androgénicos anabolizantes o corticosteroides puede tener una serie de efectos cuyos resultados no son fáciles de cuantificar. Los efectos adversos ocasionados pueden ser:

- Efectos secundarios virilizantes
- Efectos secundarios feminizantes mediados por metabolitos estrogénicos del esteroide administrado (p ej. Ginecomastia)
- Efectos secundarios tóxicos en diferentes órganos y tejidos.

Estos efectos podrían resumirse en:

- **En el hígado**, aumento de la bilirrubina, trastornos en la función secretora, hepatotoxicidad, tumores y variaciones en las transaminasas
- **En la circulación**, hipertensión, aterogénesis prematura y problemas cardiovasculares, palpitaciones, cambios en el metabolismo del sodio, hiperinsulinismo.
- **En el sistema reproductor**, disminución del tamaño y de función de los testículos (menos espermatozoides), próstata, impotencia.
- **En las constantes hematológicas**, disminuyen la concentración plasmática de la globulina fijadora del tiroide, se elevan las concentraciones plasmáticas de LDL-colesterol y disminuyen las de HDL-colesterol
- **En el sistema endocrino**, acción inhibitoria de la hipófisis, hipofunción de sistemas pituitario-testicular y pituitario tiroideo. Así, por ejemplo;
 - disminuye hormona luteinizante

- disminuye hormona folículoestimulante (FSH)
 - disminuye o no varía la hormona estímulotiroidea
 - disminuye o no varía la ACTH
 - disminuye la testosterona endógena y la epitestosterona
 - disminuye la tiroxina
 - disminuyen los precursores esteroideos
 - aumenta la hormona de crecimiento
 - aumenta el estradiol
- **En el estado emocional,** aumento o disminución del deseo sexual, agresividad incontrolable y violencia, alteraciones en el estado de ánimo.
- **Otros efectos,**
 - Cierre metafisario prematuro en los jóvenes
 - Dependencia física y psíquica
 - Shock anafilácticos y septicemias
 - Roturas tendinosas
 - Agravamiento irreversible en el tono de la voz.
 - Estrés y Acné
 - Retención de sodio y agua (al igual que los corticosteroides).
 - Incremento del apetito y los niveles de azúcar en sangre pueden cambiar
 - Retención de nitrógeno, fósforo, azufre y, a veces, potasio.

I.B. EJERCICIO FÍSICO Y PERFIL ESTEROIDEO.

I.B.1. Consideraciones generales

El ejercicio físico, sea cual sea su intensidad, produce una situación de estrés. Esta situación provoca una serie de respuestas a nivel fisiológico y orgánico a través de mecanismos neuro-endocrino-metabólicos, con el fin de mantener la homeostasis y el equilibrio en el organismo. Si esta situación de estrés se repite de forma periódica y controlada, el organismo se adaptará, constituyendo la base del entrenamiento (Lamb, 1978). Observamos, por tanto, como el ejercicio físico, y en especial el deporte de alto rendimiento, son reconocidos como importantes modificadores del metabolismo hormonal. La hipótesis de que se produce una disfunción en el eje hipofisario-hipotalámico, con una producción hormonal alterada, se ve confirmada en una gran cantidad de estudios (Fry AC y cols, 1998; Luger A y cols, 1987; Urhausen A y cols 1998; Adlercreutz H, 1986).

Las alteraciones diversas que pueden afectar al organismo, como puede ser el ejercicio físico, provocan la estimulación del hipotálamo y al mismo tiempo este activa la hipófisis, que a través de la secreción de hormonas como la hormona adreno-córtico-tropa (ACTH) y las gonadotropinas (FSH y LH) actúan sobre la corteza suprarrenal y los testículos respectivamente, regulando la síntesis de testosterona, DHEA y cortisol (Franchimont P y cols, 1975). Estas hormonas mantendrán una retroacción negativa sobre la hipófisis (Valloton MB, 1973).

Esta respuesta endocrina modula la función anabólica/catabólica y por tanto afecta al comportamiento que manifiestan, tanto durante la actividad física como durante la recuperación, hormonas como la testosterona, la hormona de crecimiento, la insulina y el cortisol. En este sentido, cuando el balance es prioritariamente anabólico el músculo incrementa su tamaño (hipertrofia) y puede aumentar los niveles de tensión que es capaz de desarrollar (García Manso, 2001). Así, los andrógenos, y en especial la testosterona, tienen un poderoso efecto anabólico, favoreciendo la concentración de proteínas en el músculo; mientras que los corticosteroides desempeñan una función eminentemente catabólica.

Ya se ha comentado como la actividad física va a influir sobre el eje hipofisario-gonadal, pero existe cierta controversia puesto que la revisión bibliográfica, en muchos casos, da resultados contradictorios. Los niveles de hormonas esteroideas durante el entrenamiento, la competición o la recuperación responden a las cargas de trabajo utilizadas. La intensidad, duración, volumen y tiempo de recuperación entre series determina el nivel de activación del sistema endocrino (Marx y cols, 2001, Lehmann M, 1992, Kraemer WJ, 1988, Ballarin E, 1986).

I.B.2. Efecto agudo. Variaciones a nivel sanguíneo.

Si nos centramos en los efectos agudos (lo que sucede después de una sesión de ejercicios), observados en las concentraciones sanguíneas, comenzaremos a ver las diferencias.

En una sesión de fuerza (5 X 10 RM, rec 3 ´) realizada por un grupo de sujetos de 30 años se observó que se elevaron los niveles sanguíneos de testosterona y de la hormona de crecimiento (Hakkinen et cols,1995), confirmándose estos mismos datos posteriormente con personas de mayor edad (Hakkinen et cols, 2000). También se observaron incrementos post-cargas como consecuencia de una sesión de trabajo isométrico, pero manteniéndose constante, en este caso, los niveles de cortisol (Hakkinen et cols, 1998). En un tratamiento de vibración corporal vertical (10 series de 60 seg. de vibraciones con recuperación de 1 minuto) se observó un incremento de la testosterona sanguínea mientras los niveles de cortisol decrecieron (Bosco y cols, 2000). Resultados similares se obtuvieron en otro estudio de trabajo de fuerza (4 x 10 repeticiones máximas de squats con recuperación de 90 segundos) (Kraemer WJ y cols, 1998).

Esta respuesta podría ser más intensa entre las personas con mayor experiencia en el trabajo de fuerza que en sujetos de menor nivel de entrenamiento (Fahey y cols, 1976, Kraemer y cols 1992) y, de igual manera, entre los más jóvenes respecto a los sujetos de mediana edad (Hakkinen y Pakarinen, 1994)

Los resultados que se obtuvieron de 18 atletas que acababan de finalizar una maratón muestra que aumentaron las concentraciones en plasma de testosterona libre (andrógeno gonadal) y de cortisol y DHEA (esteroides suprarrenales) (Ponjee Ga y cols, 1994); Y tras una competición de judo aumentaron de forma significativa los niveles de testosterona y cortisol (Suay y col,1999).

Sin embargo, la idea de que los andrógenos gonadales en sangre aumentan tras el ejercicio es controvertida.

Así, por ejemplo, la concentración basal sérica de andrógenos no varía necesariamente durante el entrenamiento normal o incluso está por debajo de los valores iniciales antes de iniciar el trabajo (Hakkinen y cols, 1988, Craig y cols1989). En un grupo de sprinters de élite se observó que los niveles en sangre venosa de testosterona, cortisol y LH habían descendido después de una sesión de fuerza (Bosco y cols, 2000). En otro estudio se llevaron a cabo dos sesiones de resistencia (65 minutos al 75% del VO2 max) en el mismo día, una por la mañana y otra por la tarde. Se observó que después de la segunda sesión los niveles de testosterona habían bajado y los de ACTH, cortisol y hormona de crecimiento eran mayores (Ronsen y cols, 2001). En este mismo sentido, en un trabajo de series de resistencia a alta intensidad (14 x 60 seg. al 100%, rec de 1 minuto), no se encontraron cambios significativos en las concentraciones de testosterona, LH, FSH y cortisol (Vuorimaa T y cols, 1999).

Tras una carrera larga intensa (45 min., 3,3 min/km) se observó que los niveles de cortisol y androstenodiona subieron significativamente y no así la testosterona, pero a la media hora se observó un descenso significativo de la testosterona y de la LH plasmática, que no recupero su nivel normal hasta pasadas las tres horas. Esto sugiere que la actividad pituitaria adreno-cortical parece indicar el esfuerzo desarrollado durante el ejercicio y el sistema pituitario-testicular parece estar más comprometido en la fase de recuperación (Kuoppasalmi K y cols, 1980).

Además, todo esto se ve corroborado por el hecho de que los niveles de testosterona en sujetos entrenados son menores que los de sujetos no entrenados tras

haber realizado un mismo ejercicio (Martín CL y cols, 2000, McColl y cols, 1989, Hackney y cols 1990).

Esta controversia puede entenderse y encuadrarse en la hipótesis que defienden algunos autores (Kraemer y cols, 1990, Weiss y cols. 1983, Hakkinen y cols 1993, Schwab,1993), de que la respuesta hormonal, y más concretamente los cambios significativos de la testosterona plasmática (total y libre), sólo se producen si las cargas utilizadas en la misma son lo suficientemente elevadas (+ del 70% de 1RM).

En el caso del cortisol, parece ser que la actividad deportiva eleva los niveles de ACTH y como consecuencia de ello se produce un aumento del cortisol plasmático (Nindl y cols, 2001;Bosco y cols, 1996; Petraglia y cols, 1989, Farrel y cols, 1987, Newmark y cols 1976), del urinario (Boudou y cols, 1987) e incluso en saliva (Filaire y cols, 2001). Sin embargo, en otros estudios (Bosco y cols, 2000; Hackney y Viru,1999) se observa un descenso en los niveles de cortisol, tras una sola sesión o tras dos sesiones en un día. Algunos autores han comentado que esto es consecuencia de una mayor tasa de aclaración con respecto a la tasa de secreción (Few , 1974, Cashmore y cols,1977).

I.B.3. Efecto crónico. Variaciones a nivel sanguíneo.

Los estudios en sangre referidos al análisis del efecto crónico, como consecuencia de un entrenamiento más o menos largo, siguen presentando contradicciones en cuanto a las variaciones del perfil esteroideo.

En este punto conviene distinguir dentro del entrenamiento dos estados diferentes.

- Entrenamiento intenso y prolongado, se trabaja dentro de la zona óptima y respetando las recuperaciones.

- Sobreentrenamiento (overtraining syndrome), se ha definido pobremente la zona óptima de entrenamiento y se pasa el tope de dicha zona de forma sistemática, descendiendo el rendimiento (Mesas y Gutierrez,2001),

Las principales diferencias se dan en los estudios referidos al entrenamiento prolongado e intenso, sin haber llegado al sobreentrenamiento.

El ejercicio físico exhaustivo puede conducir a reducciones significativas en los niveles de testosterona en plasma (Hakkinen 1989, Hakkinen y Pakkarinen, 1991), encontrándose disminuida la capacidad secretora del testículo durante el periodo de recuperación (Kujala y cols, 1990). También se observó que en un grupo de atletas que corrieron 1100 kilómetros en 20 días los niveles de testosterona en sangre descendieron (Schurmeyer y cols, 1984) y en otro grupo que corrió 400 km en 15 días también se observó un descenso de un 31% en los niveles plasmáticos de testosterona y el ratio cortisol/testosterona se incrementó (Dressendorfer y Wade, 1991).

Tras un descenso en el volumen de entrenamiento en un programa de mejora de la resistencia (80% de lo normal) durante un periodo de dos semanas, se incrementó el volumen (200% del entrenamiento normal) durante un periodo de 11 días y se observó que los niveles de testosterona total y libre descendían y los de cortisol y LH no mostraron cambios significativos (Flynn y cols, 1997). En otro estudio se observa como los niveles plasmáticos de testosterona descienden y los de LH se incrementan, tras un periodo de 6 semanas de entrenamiento de la fuerza (Busso y cols, 1992).

Estos niveles plasmáticos de testosterona disminuidos también se han encontrado en maratonianos, levantadores de peso y luchadores (Wheelery cols, 1991, Strauss y cols 1985, Hackney y cols 1989)

Sin embargo, en otros estudios se ha comprobado que los niveles de testosterona no varían significativamente tras un periodo de entrenamiento ya sea de fuerza o de resistencia combinada con fuerza (Izquierdo M y cols, 2001, Hakkinen K y cols 2000, Brown G y cols, 2000).

Y por otro lado existen multitud de estudios que demuestran que los niveles plasmáticos de testosterona libre y total suben tras periodos de entrenamiento.

Así se observa en hombres y mujeres que prepararon una maratón durante 18-20 meses y en muestras sanguíneas se vio un aumento de los niveles de testosterona y cortisol (Keizer y cols 1989).

Estos mismos resultados, aunque con otros rangos, se dieron en un grupo de culturistas tras dos semanas intensas de entrenamiento (Fry y cols 1998). En un grupo de levantadores de peso que fueron supervisados durante dos años se observó como aumentaron sus niveles de testosterona, LH, FSH y T/SHBG (Hakkinen y cols, 1988).

En un entrenamiento de 10 semanas se observó en un grupo de atletas, como durante las primeras cinco semanas se elevaron los niveles de testosterona y cortisol, y en las cinco siguientes los niveles de testosterona cayeron en un 19%. (Mero y cols, 1997).

En otro estudio de 10 semanas, con jóvenes y personas mayores, se observó como los niveles de testosterona libre y total, de ambos grupos, se iban incrementando con el progreso del entrenamiento. En las personas mayores descendió el cortisol de forma significativa al final del periodo (Kraemer y cols,1990). En un estudio de ocho semanas con hombres y mujeres desentrenadas, y tras un entrenamiento general de fuerza se observó un incremento en los niveles de testosterona y un descenso en los de cortisol en ambos grupos (Kraemer y cols 1998).

Este incremento debido al entrenamiento intenso, en muchas ocasiones no va acompañado de un incremento en los niveles de LH (Harkonen y cols, 1990) y esto podría ser explicado por una disminución en la utilización muscular de la testosterona (Kraemer y cols, 1990).

Como hemos comprobado tampoco hay unanimidad respecto a las variaciones en las concentraciones de cortisol. Así unos dicen que se elevan los niveles tras un

periodo de entrenamiento (Mero y cols, 1997, Dressendorfer y Wade, 1991) y otros que disminuye (Fry y cols, 1998, Hedelin y cols 2000) o que no muestran cambios significativos (Flynn y cols, 1997). Otros estudios actuales (Lucía y cols, 2001; Viru y cols, 2001) ponen de manifiesto que el ejercicio intenso y prologado puede provocar una fatiga, un descenso y una disfunción en la actividad del eje pituitario-adrenocortical, con lo que todas las hormonas de origen suprarrenal podrían aparecer disminuidas.

Es en el sobreentrenamiento donde más unanimidad existe en cuanto a la variación de los perfiles esteroideos.

En este estado se han visto modificaciones en las concentraciones séricas de testosterona, cortisol y en la relación testosterona/cortisol, dicho ratio indicaría el balance anabólico/catabólico (Hackney y cols,1990).. Se produce un descenso de esa ratio de hasta un 30% en deportistas que muestran signos de sobreentrenamiento (Marthurs y cols 1986, Johansson 1990)

Estos resultados se ven confirmados con estudios actuales en los que desciende significativamente la testosterona y sube el cortisol al entrar en una fase de sobreentrenamiento. Se ha comprobado en jugadores de balonmano, en militares especializados, en ciclistas profesionales y en remeros de élite (Gorostiaga y cols, 1999, Chicharro y cols, 1998, Hoogeveen y Zonderland, 1996, Vervoorn y cols, 1991)

La caída en la testosterona se puede explicar por el hecho de que sube el cortisol, como consecuencia del stress, y hay que saber que ambas hormonas compiten por el mismo receptor muscular (Urhausen A y cols, 1995).

Dada las variaciones que existen entre unos estudios y otros, es preciso profundizar más en la respuesta hormonal tras el ejercicio para poder llevar a cabo una buena parametrización del entrenamiento y de las cargas de trabajo. Algunos autores plantean que los reguladores de las hormonas durante un periodo de ejercicio y durante un programa de entrenamiento no son los mismos, y por tanto no son conductas extrapolables (Filaire y cols 1998; Fry y Kraemer, 1997,1998). No obstante, siempre

habrá que tener en cuenta las diferencias individuales (Martin y cols, 2000; Uusitalo y cols, 1998).

I.B.4. Otros marcadores fisiológicos. Efecto agudo y crónico.

Las concentraciones de hormonas esteroideas (andrógenos y corticosteroides) en la mayor parte de los estudios se han venido estudiando en muestras de sangre, aunque en algunos ocasiones se han analizado en orina y saliva, lo que puede dar diferentes resultados. Otros biomarcadores, diferentes a la testosterona, cortisol y su relación, se vienen estudiando para valorar la carga de trabajo.

Algunos artículos plantean que la relación testosterona/cortisol no es muy válida puesto que la activación y las funciones de los sistemas pituitario-adrenal y pituitario testicular no son iguales (Kuoppasalmi y cols, 1980; Pantaleoni M y col 1991). Por ello se vienen estudiando otro tipo de biomarcadores como son la Dehidroepiandrosterona sulfatada (DHEAS), de origen suprarrenal, (Nishikaze, 1998,2000; Filaire y Lac, 2000; Keizer y col, 1989) y/o los metabolitos 17-cetoesteroides (androsterona y etiolanolona) y los 17-hidroxicorticosteroides (Tetrahydrocortisol y Tetrahydrocortisona) (Fischer y col 1992; Kimura y col, 1989), determinando sus concentraciones en orina a través de técnicas cromatográficas (Ueki Okano,1999; Yap y cols, 1996).

En este sentido, se observó como tras dieciséis semanas de entrenamiento progresivo con jugadoras de balonmano y voleibol se incrementaron sus niveles de DHEA en la saliva, sin embargo, en un grupo control de sedentarios se observó que los niveles de DHEA habían descendido. También se utilizó la relación DHEA/cortisol para valorar la carga del entrenamiento y se observó que este índice aumentó en todas las deportistas, especialmente en aquellos sujetos con menor nivel de entreno. DHEA/cortisol podría ser utilizado como un indicador para valorar la intensidad y la carga de entrenamiento (Filaire y cols, 1998).

Se sabe que con la edad y con niveles de actividad física baja descienden los niveles de DHEAS (Bonney y cols 1998; Milani y cols 1995), y se ha comprobado que para evitar esto es preciso hacer ejercicio de forma moderada (Kostka, 2001). Sin embargo, también se ha comprobado que los deportistas tienen niveles de DHEA más bajos que los sedentarios (Filaire y Lac, 2000).

En otras investigaciones, referidas al efecto agudo, también se observa como los niveles de DHEA y DHEAS se incrementaron tras la realización de una maratón (Ponjee y cols, 1994), de una sesión intensa de gimnasia deportiva (Jahreis y cols 1991), de una actividad física prolongada (Pantaleoni y cols, 1991) o tras un partido de hockey hielo (Tegelman y cols, 1990).

No obstante, también se han revisado investigaciones en las que los niveles de estas hormonas han permanecido igual o han descendido tras la realización de un determinado programa de entrenamiento o de una actividad concreta.

Así por ejemplo, tras seis meses de entrenamiento con un grupo de hombres y mujeres, mayores y de mediana edad, se observó que los niveles de DHEA y DHEAS no cambiaron (Hakkinen y cols, 2000). En otra investigación, tras un descenso en el volumen de entrenamiento en un programa de mejora de la resistencia (80% de lo normal) durante un periodo de dos semanas, se incrementó el volumen (200% del entrenamiento normal) durante un periodo de 11 días, y esto provocó un descenso de la dehidroepiandrosterona a lo largo de los días (Flynn y cols, 1997).

Si nos centramos en los efectos agudos se encontró en un estudio en la saliva que los niveles de DHEA tras un partido de balonmano no variaron significativamente, aunque sí los niveles de cortisol (Filaire y cols, 1998).

Dejando el tema de la dehidroepiandrosterona y la dehidroepiandrosterona sulfato, nos centraremos ahora en la revisión de los estudios referidos a los 17-cetoesteroides (17KS) y 17-hidroxicorticoides (17OHCS), como otros posibles parámetros para valorar el entrenamiento.

Se observó que la concentración de andrógenos urinarios, 17 cetoesteroides, descendió progresivamente durante la ascensión a un macizo del Himalaya y los 17-OHCS alcanzaron su máximo nivel tras varios días de ascensión, en torno a los 6000 metros (Guilland y cols, 1984). Este estudio ve corroborado sus resultados con otro en el que se observó que los andrógenos urinarios de un grupo de ciclistas profesionales descendieron durante el periodo de entrenamiento (Maynar y cols, 1994) Por otra parte, en un entrenamiento en altitud de remeros de élite, durante un periodo de 23 días, se observó como la excreción de 17 cetoesteroides (17-KS) aumentó y la de 17-hidroxicorticoides (17-OHCS) permaneció sin cambios significativos. También se utilizó el índice 17KS/17OHCS, y se observó que en aquellos sujetos que entrenaron por encima de 2mmol/l descendieron esta ratio y en aquellos que entrenaron por debajo, lo aumentaron (Fischer y cols, 1992). De acuerdo con estos resultados están los de otro estudio en los que se observó como los niveles de 17-OHCS habían aumentado en instructores de patinaje sobre hielo, tras las sesiones de entrenamiento (Kimura y cols, 1989).

I.C. OTROS FACTORES QUE INFLUYEN EN EL PERFIL ESTEROIDEO.

Existen otros factores, además de la actividad física, que pueden provocar modificaciones en el perfil esteroideo. Los más destacados son los siguientes:

- *Edad.*

Se ha observado como el máximo pico androgénico en los varones se alcanza durante la adolescencia, y a partir de ahí comienza a descender de forma lenta pero progresiva (Kostka T, 2001). En el caso de las mujeres sucede lo mismo, sin embargo, a partir de la menopausia se ha observado como se produce un descenso de estrógenos y un incremento androgénico (Tchernof A y Despres JP, 2000)

- *Ritmos circadianos.*

Los ritmos de secreción de las diferentes hormonas van variando a lo largo del día. Las magnitudes secretoras de ACTH y cortisol son siempre elevadas al principio de la mañana, pero bajas al final de la tarde. La concentración plasmática del cortisol puede variar de 20 µg/dl una hora antes de levantarse a 5 µg/dl alrededor de la medianoche.

En el caso de la testosterona el proceso es a la inversa. Por la mañana, al levantarnos, a pesar de producirse un pequeño disparo (entre las 6:00 y las 8:00) los niveles permanecen bajos, a partir de aquí tienden a subir alcanzando su máximo nivel a media tarde (15:00-16:00) para luego volver a bajar y volver a incrementarse durante la noche. Los valores oscilan en los varones adultos sanos entre 4.0-10.0 ng/ml (14-28 nmol/l). También se ha comprobado como un cambio en el ritmo diario de sueño e incluso la luminosidad de las diferentes estaciones (Ronkainen y cols, 1986), provocan alteraciones en el perfil esteroideo.

Otro factor modificador será el ciclo menstrual en la mujer.

- *Peso corporal. Índice Masa Corporal (BMI).*

Existe una relación inversa entre el BMI y SHBG, DHEAS, testosterona total y testosterona libre, y una correlación positiva con el estradiol (Pascuali y cols, 1991). Esto se ve confirmado en otros estudios en los que se dice que la obesidad en los hombres y el exceso del tejido adiposo está asociado con bajas concentraciones de andrógenos gonadales y adrenales (Thernof A y Despress, 2000).

Sin embargo, en este mismo estudio se comenta que el descenso de estrógenos y el incremento androgénico en mujeres menopausicas está asociado con el incremento de la obesidad abdominal (Thernof A y Despress, 2000). Otros estudios anteriores ya apuntaban esta posibilidad y un descenso en la SHBG (Haffner y cols, 1989 y 1991)

- *Dieta.*

Algunos estudios, bastante antiguos, sugieren ya que la dieta puede alterar la producción y el metabolismo de los esteroides en el hombre (Wood y cols 1986). Así los vegetarianos presentan valores más elevados de SHBG, menor índice androgénico que los omnívoros y menores niveles plasmáticos de testosterona (Belanger y cols 1986).

En un grupo de jugadores de hockey sobre hielo se observó que tras un incremento en la ingesta de carbohidratos en un 10% y un descenso similar en las grasas, tras un periodo de 7 meses, aumentaron los niveles de testosterona, SHBG y cortisol. También ha sido documentado un incremento de testosterona y SHBG tras un largo periodo en el que se produjo un incremento dietético en la ratio proteínas :carbohidratos (Anderson y cols, 1987). En este mismo sentido, también se ha observado como una dieta rica en carbohidratos/proteínas junto con ejercicio aumenta el perfil anabólico (Kreider, 1999)

Otro autor encontró una correlación positiva entre la concentración de testosterona y una dieta de predominio graso (Adlercreutz y cols, 1989). Por otro lado, se ha observado una relación inversamente proporcional entre las concentraciones de testosterona y las de insulina (Simon y cols, 1992).

- *Estado emocional.*

Se ha observado en muchos casos que el estado emocional del individuo provoca alteraciones del perfil esteroideo. Los niveles de cortisol correlacionaron positivamente con estados de depresión (O'Connor y cols, 1989) o aumentaron ante la ansiedad de un partido de balonmano (Filaire y cols, 1998).

En este mismo sentido, la experiencia ganadora produce elevaciones en los niveles de testosterona y una pérdida de status produce una disminución en los mismos (Mazur,1985).

- *Ingesta de esteroides anabolizantes y corticoides.*

Multitud de estudios demuestran y describen los efectos negativos de la ingesta indiscriminada de este tipo de sustancias (Blue y Lombardo, 1999). Se ha observado que a nivel endocrinofisiológico se produce un descenso en los niveles de andrógenos endógenos y una supresión del eje hipofisario-adrénico-gonadal (Iñigo y cols, 2000, Uralets y Gillette, 1999).

- *Temperatura corporal y PH Sanguíneo.*

La afinidad de los esteroides por la SHBG decrece cuando aumenta la temperatura corporal (Shanbhag y Sodergard, 1986).

En los estados de acidosis aumenta la concentración sérica de testosterona libre al competir otras sustancias por la SHBG (Umstot y cols, 1986).

- *Tabaco.*

El tabaco puede afectar al metabolismo hormonal (Hartz y cols, 1987). La mayoría de estudios parecen indicar que fumar cigarrillos tiene un efecto androgénico y/o antiestrogénico en las mujeres (Friedman y cols, 1987; Khaw y cols, 1988).

También se ha observado como la nicotina del humo provoca un estímulo adrenal (Istvan y cols, 1995). Otros estudios muestran que los niveles de testosterona libre y total son mayores en hombres fumadores respecto a los no fumadores (Meikle y cols, 1989), sin embargo se han encontrado resultados contrarios a estos (Simon y cols, 1992; Kato y cols, 1992).

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS.

El ejercicio físico, sea cual sea su intensidad, produce una situación de estrés. Esta situación provoca una serie de respuestas a nivel fisiológico y orgánico a través de mecanismos neuro-endocrino-metabólicos. Observar y analizar las variaciones en los perfiles esteroideos (andrógenos y corticosteroides) son un punto importante de referencia para valorar el entrenamiento.

La investigación se plantea en un intento de obtener una forma objetiva para valorar el entrenamiento, puesto que muchas veces entrenadores y deportistas trabajan sin ningún tipo de valores fisiológicos de referencia, lo que les lleva a situaciones de sobreentrenamiento y a lesiones inesperadas.

Por ello nuestro estudio se ha llevado a cabo en muestras de orina ya que los Licenciados en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte no están autorizados para extraer sangre. De esta forma se utiliza un espécimen que se obtiene de forma no agresiva y que puede ser utilizado por cualquier entrenador o licenciado en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte de forma sencilla y eficaz.

Los Objetivos que nos planteamos con la realización de esta investigación son los siguientes:

- Analizar y valorar la variación de los perfiles esteroideos urinarios (andrógenos, estrógenos y corticosteroides) tras la realización de un ejercicio agudo, tanto aeróbico como anaeróbico.
- Observar las variaciones que se producen en el perfil esteroideo como consecuencia de un programa de 4 semanas de entrenamiento de la fuerza, tratando de determinar la validez de dichos resultados en base a la aplicación del factor de corrección para la creatinina urinaria.
- Comparar los niveles en reposo entre universitarios y ciclistas para tratar de ver las diferencias que se establecen en el perfil esteroideo, valorando de esta forma la adaptación al entrenamiento

- Tratar de establecer marcadores fisiológicos en la orina que sirvan de referencia fiable para tratar de cuantificar la carga del entrenamiento y para ver en que estado se encuentra el deportista. Entendiendo por biomarcador: *“Algún parámetro hematológico, bioquímico o fisiológico, o combinación de ellos, cuyo % de variación con respecto a la línea base sea dependiente significativamente con el % de variación de carga externa impuesta”* (Mesa y Gutiérrez, 2001)
- Aplicar un método de GC/MS y GC/MS/MS para la determinación y cuantificación de esteroides (andrógenos, estrógenos y corticosteroides) en orina.

MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS.

III.A. REACTIVOS Y DISOLUCIONES

Los patrones utilizados han sido suministrados por la casa Sigma Aldrich de Barcelona, y fueron los siguientes:

- Andrógenos:
 - 17 α -metiltestosterona (P.I)
 - Dehidroepiandrosterona (DHEA)
 - Testosterona
 - Androsterona
 - Etiocolanolona
 - Androstenodiona
 - Epiandrosterona
 - Epitestosterona
 - B- Estradiol
 - Estrona
 - Progesterona

- Corticosteroides
 - Tetrahydrocortisol
 - Tetrahydrocortisona

- Agua destilada. Milli Q.
- Nitrógeno gas. Airliquide
- Helio. Airliquide
- β -Glucoronidasa de E. Colli. Boehringer
- Metanol. Scharlau
- Eter dietílico. Panreac
- Fosfato de sodio (Ph 7). Sigma

- Carbonato potásico (Ph 9-10) Sigma
- HCl
- Bicarbonato (KHCO₃)
- MSTFA. Sigma
- Ditioneitríol. Sigma
- Yoduro Amónico. Panreac
- Metoxyamina. Sigma
- TMS imidazol.
- Piridina. Acros.
- Kit Creatinina 555-A. Sigma.

III.B. APARATOS UTILIZADOS

- Agitador. P-Selecta
- Balanza de precisión ADA 120/L
- Congelador Lynx
- Báscula de pesaje y tallímetro. SECA.
- Termómetro y medidor de humedad. HomFor. Modelo Huger.
- Centrifugadora meditronic. P-Selecta
- Estufa y Termobloque. P-Selecta
- Bañocalentador. Raypa.
- Rotavapor y/o bombonas de nitrógeno (Airliquide).
- Cromatógrafo de gases HP 5890 SERIES II con detector MSD 5972 (sistema GC/MS). Hewlett Packard.
- Columna HP-1 suministrada por Agilent Technology Spain
- Varian 3800 con detector Saturn 2000 (sistema GC/MS/MS) con inyector automático modelo 8200.

- Columna Tracer de fase TRB-1, suministrada por Teknokroma.
- Vórtex. Heidolph. Reax
- Espectrofotómetro UNICAM 5625.
- PH-metro Crison y tiras colorométricas de pH y densidad.
- Máquinas y barras de musculación. Teiju Fitness.
- Material tangible (pipetas, tubos, gradillas, viales, encapsuladora, etc.)

III.C. SUJETOS DE ESTUDIO.

El estudio se llevó a cabo con dos grupos diferentes de sujetos.

Uno de ellos era un grupo de 20 universitarios, todos varones, de la Facultad de Ciencias del Deporte de la UEX. Todos conocían los movimientos básicos de musculación.

El otro grupo estaba formado por un grupo de 10 ciclistas no profesionales que llevaban más de 5-6 años ejercitándose en la bicicleta, pertenecientes a las categorías élite y sub-23.

Las características de ambas grupos aparecen expuestas en la tabla III:

Tabla III. Características de los sujetos de estudio

| Sujetos | Edad | Estatura (cm) | Peso (kg) |
|----------------|-------|---------------|--------------|
| Universitarios | 22-26 | 178.8 ± 8.34 | 75.28 ± 9.58 |
| Ciclistas | 20-23 | 172 ± 7.35 | 64.24 ± 3.65 |

Para ser incluidos en el estudio, los sujetos no tenían que presentar ningún tipo de patología y además no podían ingerir ningún tipo de sustancias que pudieran interferir en la síntesis, metabolismo o excreción de andrógenos.

También, en el estudio crónico con universitarios, para evitar posibles variaciones del perfil hormonal se prohibió que hiciesen ningún tipo de dieta especial (por ejemplo, una dieta rica en proteínas) y que continuasen con la dieta habitual que habían llevado hasta entonces. Tampoco podían realizar durante las cuatro semanas de entrenamiento, ningún ejercicio sistemático y regular que pudiese interferir sobre los resultados.

Cada sujeto fue informado del procedimiento que se iba a seguir durante el estudio, dando su consentimiento. De la misma forma, todos fueron sometidos a un examen de salud para poder descartar alguna patología y todos dieron su consentimiento voluntario aceptando las condiciones del estudio.

III.D. DISEÑO EXPERIMENTAL

Los **universitarios** llevaron a cabo un programa de entrenamiento de fuerza submáxima que duró 4 semanas. La primera sesión del programa se utilizó para valorar el efecto agudo de un ejercicio eminentemente anaeróbico y el resto del programa para valorar los cambios crónicos.

La rutina de ejercicios, tras un calentamiento de 10-15 minutos con ejercicios generales y específicos, fue de 3 series x 10 repeticiones, con 3 minutos de recuperación entre serie y serie, a un 70%-75% de la fuerza máxima de carga, en el orden y con los ejercicios que siguen:

1. Press de banca
2. Jalón Polea Dorsal
3. Flexo-extensión rodillas en máquina.
4. Press tras nuca.

5. Isquiotibiales.
6. Bíceps.
7. Tríceps
8. Abdominales (3 series de 25 repeticiones)

Los ejercicios propuestos se presentan a continuación para una mejor comprensión (Ver fotografías)



Foto 1. Press de banca



Foto 2. Jalón Polea Dorsal



Foto 3. Flexo-extensión rodillas en máquina



Foto 4. Press tras nuca



Foto 5. Isquiotibiales



Foto 6. Bíceps.



Foto 7. Tríceps



8. Abdominales.

Las sesiones siempre se llevaban a cabo a las 12:00 horas del mediodía. El programa de entrenamiento fue de tres días por semana (lunes, miércoles y viernes) y se descansaba el fin de semana. La rutina de ejercicios se mantuvo durante las 4 semanas del periodo de entrenamiento.

Cinco días antes de iniciar el programa de entrenamiento y para determinar el grado de fuerza máxima en cada uno de los grupos musculares a trabajar, se realizaron test máximos de fuerza. Para ello se fueron levantando cargas progresivamente hasta llegar a una sola repetición máxima (1RM) al 100%, en la que se comprobaba que el universitario ya no podía con más peso.

La temperatura media y la humedad ambiental registrada en el gimnasio durante el entrenamiento fue de 23.4 ± 2.6 °C y entre 60%-70%, respectivamente.

En este grupo de estudio se analizaron un total de 8 muestras de orina por cada sujeto, en las que se determinó la concentración de esteroides (andrógenos, estrógenos y

corticosteroides) y la concentración urinaria de creatinina, como parámetro representativo del grado de concentración de la orina.

A todos se les tomó una muestra de orina en reposo antes de iniciar la primera sesión del programa de entrenamiento, inmediatamente después de la sesión, a las tres horas y a las 48 horas de haber finalizado dicha sesión. Las otras cuatro muestras se cogieron a los dos días de haber finalizado las cuatro semanas de entrenamiento y se siguió el mismo protocolo. Durante estos dos días se prohibió la realización de cualquier tipo de ejercicio que pudiese provocar fatiga. Se volvió a plantear la misma sesión de ejercicio y a la misma hora. Se tomaron muestras antes, inmediatamente después, a las tres horas y a las 48 horas de haber acabado la sesión. De esta forma se podían comparar los resultados en reposo entre antes y después de las 4 semanas de entrenamiento y se podía tratar de ver qué variaciones provocaba en el perfil esteroideo la misma carga de ejercicio, tras haber realizado un entrenamiento de 4 semanas.

En el caso de los **ciclistas** el estudio se llevó a cabo en la Vuelta a Extremadura 2001, en una etapa de media montaña de 156 Km. En la que se rodó a una media de 40Km/h y con una meteorología adversa (frío y lluvia). Esta competición se encontraba situada a inicio del periodo competitivo.

Se recogieron las muestras de orina antes de iniciar la etapa (11:30 a.m) y justo después de finalizarla..

En los ciclistas, dado la dificultad de su seguimiento a lo largo de toda la temporada, solamente se cogieron muestras para valorar el efecto agudo de un ejercicio eminentemente aeróbico. Al comparar la orina en reposo de los ciclistas, con la del reposo de los universitarios, se tratará de ver los efectos del entrenamiento continuado sobre el perfil esteroideo.

III.E. LA ORINA COMO MUESTRA PARA ANALIZAR

La orina como fluido biológico sujeto a estudio es utilizado por su facilidad de obtención mediante una técnica no invasiva y que es posible recoger en cantidades adecuadas para su manejo, además de su fácil manipulación y la rapidez en la determinación de sus componentes.

En cuanto a la apariencia de la orina de una muestra cabe destacar, entre otros aspectos, su color, olor y turbidez. Para interpretar los datos de los test realizados en análisis rutinarios de orina, es necesario conocer la densidad de la muestra, que debe estar comprendida entre 1,005- 1,025 g/cc y su pH, cuyos valores normales oscilan entre 4,7 y 7,8. Las muestras de orina de nuestro estudio estaban dentro de estos valores.

La orina debe recogerse en un recipiente limpio y seco, a ser posible esterilizado, con tapa hermética para evitar pérdidas por derramamiento, evaporación y contaminación. Estos recipientes deberán rotularse, en el momento de la recogida de la muestra, de acuerdo al código establecido en la investigación.

III.F. DETERMINACIÓN DEL PERFIL ESTEROIDEO

III.F.1. Aspectos generales.

Cada muestra de orina fue llevada al laboratorio de fisiología de la Facultad de Ciencias del Deporte, donde fueron congeladas a -20° hasta su tratamiento y análisis.

Los análisis se realizaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas según los métodos de Galán y cols (2001), y de Rivero y cols (2001), determinándose:

- Dehidroepiandrosterona (DHEA) andrógeno suprarrenal
- Androstenodiona. Andrógenos suprarrenal
- Testosterona (T)
- Epitestosterona (E)

- Androsterona + Etiocolanolona
- Epiandrosterona
- β -estradiol
- Estrona
- Progesterona
- Tetrahydrocortisol (THCOL) y Tetrahydrocortisona (THC), metabolitos urinarios del cortisol y de la cortisona. Hormonas suprarrenales catabólicas.

Así como las relaciones:

- Testosterona/Epitestosterona (T/E)
- Testosterona/Tetrahydrocortisona (T/THC)
- Testosterona/Tetrahydrocortisol (T/THCol)
- Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisona (DHEA/THC)
- Dehidroepiandrosterona/ Tetrahydrocortisol (DHEA/THCol).

Todas ellas con la intención de encontrar un biomarcador fisiológico adecuado para valorar la carga de entrenamiento.

Las muestras de orina siguieron un método de preparación, puesto que los compuestos objetos de estudio requieren unas etapas de aislamiento y acondicionamiento. Los compuestos que se pretenden analizar no se encuentran sólo en estado libre, sino también en estado conjugado, mayoritariamente con el ácido glucurónico además de cómo sulfatos.

En este proceso de preparación de las muestras distinguimos tres fases:

- Hidrólisis
- Extracción
- Derivatización

No obstante, hay que mencionar que los procesos seguidos para la determinación de andrógenos y corticosteroides varían ligeramente.

III.F. 2. Determinación de andrógenos en orina.

Hidrólisis:

- Coger 2 ml de orina y centrifugarla a 3000 rpm durante 3 minutos, cambiándola de vial posteriormente.
- Determinar su pH y llevarlo a 7 con 125 μ l de fosfato de sodio. Comprobar pH.
- Añadir 25 μ l de Patrón interno (17-metiltestosterona)
- Añadir 50 μ l de β -Glucuronidasa para realizar la reacción de hidrólisis y obtener la fracción libre y conjugada de forma unida y poder obtener la totalidad de las hormonas. Dicha reacción se realizará en estufa durante 1 hora a 50 °C.

Extracción:

- Se deja enfriar la mezcla a temperatura ambiente (10 minuto apróx).
- Se tampona la orina a pH 9-10 con cantidad suficiente (50 μ l) de carbonato potásico.
- Se añaden 2 ml de éter dietílico. Poner 2 minutos en el vórtex.
- La extracción se realiza durante 15 minutos en agitador de vaivén a 90 agitaciones por minuto
- Una vez agitado centrifugar a 3000 rpm durante 2 minutos, para eliminar la interfase.
- Congelar para separar las fases perfectamente
- Ahora es preciso desecar la parte orgánica, ya sea en rotavapor, con nitrógeno o con centrífuga con cámara de vacío, hasta no quedar restos de líquido. Hasta aquí la preparación de la muestra.

Derivatización:

- La derivatización de la muestra se realiza por la adición de una mezcla MSTFA, Yoduro amónico y Ditioeritritol en proporción de 2ml:4mg:8mg. Si quedan grumos se puede meter en el ultrasonido o calentarlo al baño maría a 30°C

(sabiendo que esta mezcla no puede tener contacto con el agua). La reacción se realiza con 50 µl del derivatizante a 60°C en placa durante 15 minutos.

- La mezcla resultante se trasvasa a un vial y se encapsula rápidamente, para evitar en lo posible la reaccionabilidad de estos compuestos con la humedad ambiente, hasta su análisis por cromatografía gaseosa, inyectándose 1µl al cromatógrafo.,

III.F.3. Determinación de corticosteroides en orina.

Hidrólisis.

A dos mililitros de orina, totalmente libre de cualquier precipitado que pudiera existir en la muestra por centrifugación a 3000 rpm durante unos 3 minutos, añadir 30 µl de disolución del estándar interno (total 300 ppb en orina), posteriormente se tampona a pH 7 con 125µl de solución 0.2M de fosfato de sodio y se añade 50µl de β-Glucoronidasa para realizar la reacción de hidrólisis y obtener la fracción libre y conjugada de forma unida y poder obtener la totalidad de las hormonas. Dicha reacción se realizará en estufa durante 1 hora a 50°C.

Extracción

Una vez terminado ese tiempo se deja enfriar la mezcla resultante hasta temperatura ambiente y se tampona ahora a pH en torno a 9-10 con cantidad suficiente de solución para que esto sea así, la solución utilizada fue de carbonato potásico al 7%. Posteriormente se extrae durante 15min en agitador de vaivén, a unas 90 agitaciones por minuto, con 2ml de Éter dietílico. Se pone a congelar para separar las fases perfectamente y vertemos en un tubo de rotavapor la fase orgánica. Dicha fase se seca en un rotavapor hasta no quedar restos de líquidos, bien sea del propio disolvente, bien sea de la orina.

Hasta aquí la fase de preparación de la muestra es similar a la de los andrógenos, a partir de este punto comienza la fase de derivatización.

Derivatización.

Se vierte la fase etérea (líquida) a un tubo de rotavapor y se lleva a sequedad se añade 100µl de una disolución, preparada y guardada en ausencia de humedad, de metoxyamina en piridina anhidra al 8%, se pone a reaccionar durante 30min a 60°C en placa calefactora. Posteriormente se saca de la placa y se deja enfriar hasta temperatura ambiente. Se seca el exceso de piridina en corriente de Nitrógeno hasta obtener un sirupo totalmente seco, y ausente de piridina. A continuación se redisuelve este con 50µl del reactivo de derivatización constituido por MSTFA/TMS-imidazol (0,2%), almacenado también en ausencia de humedad, y se calienta en estufa durante 50min. a 70°C. De aquí se trasvasa a un vial y se precinta, hasta su análisis por cromatografía gaseosa, inyectándose 1µl al cromatógrafo.

III.F.4. Detección y cuantificación. Fundamento del método.

La *cromatografía gas-líquido* es una técnica de separación en la que la mezcla de solutos a separar, una vez volatilizada y con la ayuda de un gas portador inerte, se hace pasar a través de un tubo largo y estrecho, denominado columna; la separación se consigue como consecuencia de la distinta velocidad de los solutos a su paso por la columna. A la salida de ésta, los solutos pasan al sistema de detección, obteniéndose a continuación en el registrador-integrador, hoy en día un computador, una serie de picos que constituyen el denominado cromatograma. La posición de estos picos (*tiempo de retención*) se utiliza con fines cualitativos, mientras que el tamaño de los mismos se relaciona con la concentración de los solutos.

En el gráfico VII puede verse un esquema general de un cromatógrafo de gases.

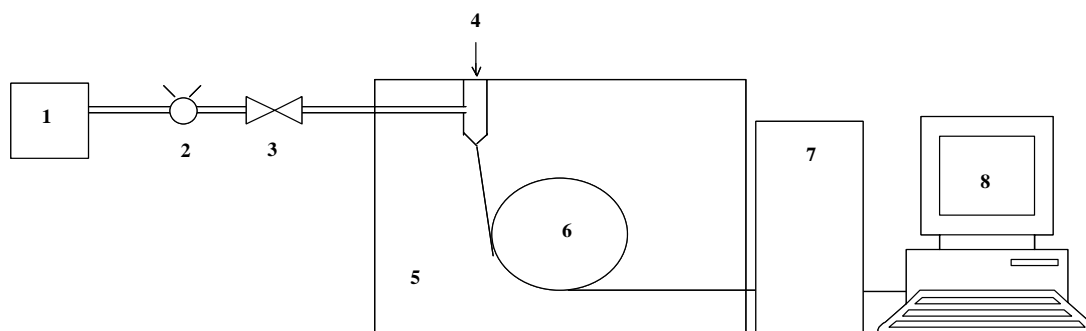


Gráfico VII. Esquema de un cromatógrafo de gases:

(1) Sistema de suministro de gas portador, (2) Manorreductor, (3) Válvula para controlar el flujo de gas portador, (4) Sistema de introducción de la muestra, (5) Sistema de termostatación (horno), (6) Columna, (7) Sistema de detección, (8) Registrador-integrador.

El gas portador suele ser N₂, H₂, He o Ar, y su caudal se controla con un manorreductor. En nuestro estudio se utilizó helio. El sistema de introducción de la muestra suele ser mediante inyección directa o por espacio de cabeza.

Las columnas pueden ser empaquetadas o capilares. Actualmente se ha generalizado el uso de las columnas capilares que consisten en largos tubos de sílice fundida en las que la fase estacionaria está retenida en forma de película muy fina en la pared interna de la columna.

La temperatura ha de controlarse muy bien en el bloque de inyección, en la columna y en el bloque de detección. Mientras que en los bloques de inyección y detección la temperatura se mantiene constante durante el análisis, en la columna la temperatura puede ser constante o programada, presentando la *cromatografía programada* una mejor resolución y separación de los picos.

En cuanto al sistema de detección su respuesta ha de ser rápida, lineal, sensible y reproducible. La técnica de detección utilizada en nuestro estudio ha sido la espectrometría de masas, sistema que cumple perfectamente los requisitos anteriores, con dos técnicas diferentes, mediante cuadrupolo y mediante trampa de iones.

El parámetro característico que permite la identificación de una sustancia mediante cromatografía gaseosa es el tiempo de retención, siempre que éste se compare con los tiempos de retención obtenidos con patrones en las mismas condiciones experimentales.

La *cuantificación* se basa en establecer relaciones adecuadas entre los parámetros obtenidos (altura o área de pico) y la cantidad de soluto o solutos que contiene la muestra problema. En el presente estudio se empleó el método del *patrón interno*, que consiste en la utilización de una sustancia que generalmente no está

presente en la muestra problema y cuyo pico cromatográfico no interfiere con ninguno de los analitos. El patrón interno utilizado fue la 17 α - metiltestosterona. Este método presenta la ventaja de minimizar la posible variación de la respuesta del detector debida a la inyección, manteniéndose constante la relación de áreas entre la analito y el patrón interno.

El procedimiento consiste en añadir una cantidad conocida de patrón interno a la muestra problema y calcular la relación entre las áreas del analito y el patrón interno. El valor de dicha relación se lleva a la curva de calibrado, en la que se ha representado previamente esa relación en función de la concentración del analito y del patrón interno para al menos tres relaciones diferentes y que incluyen a la relación de áreas de la muestra problema. La cantidad de analito se obtiene de forma directa ya que se conoce la concentración de patrón interno añadida a la muestra problema.

El sistema de detección utilizado en nuestro estudio ha sido la espectrometría de masas mediante dos métodos diferentes:

- Espectrometría de masas por sistema de cuadrupolos, y,
- Espectrometría de masas por el sistema de trampa de iones (Ion trap).

La espectrometría de masas acoplada a la cromatografía de gases constituye un método poderoso para la identificación y el análisis estructural de compuestos orgánicos desconocidos y presentes en la matriz estudiada. La espectrometría de masas puede identificar de modo casi inequívoco cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente, por ello se asocian ambas técnicas (cromatografía y espectrometría) ya que son complementarias:

- Ambas trabajan en fase gaseosa.
- Ambas requieren muy pequeña cantidad de muestra.

Únicamente existe un problema, el gas portador sale de la columna cromatográfica a presión atmosférica y el MS precisa un alto vacío, hoy en día esto está resuelto.

El detector selectivo de masas se basa en la producción y separación de iones para su identificación. Para ello, inicialmente se transforman los átomos en iones positivos en una cámara de ionización, a continuación, se les comunica energía mediante un electrodo con potencial negativo y se someten los iones a un campo magnético, perpendicular a su trayectoria, que permite separarlos en función de su masa y recogerlos sobre un colector, donde vuelven a transformarse en átomos neutros. La medida de la corriente eléctrica producida en este paso es uno de los objetivos finales del sistema. El espectro de masas es un histograma de la abundancia relativa de los diferentes iones producidos, clasificados según su relación m/z . Posteriormente, potentes sistemas informáticos comparan estos espectros con los introducidos previamente en bibliotecas de espectros y que permiten la identificación de un compuesto. El límite de detección depende de la naturaleza del compuesto, del tratamiento de la muestra y de las condiciones experimentales utilizadas en el cromatógrafo y en el detector de masas, pudiendo llegar a pg/l .

El sistema de detección consta de 4 partes principales cuyo diagrama se representa en el gráfico VIII.

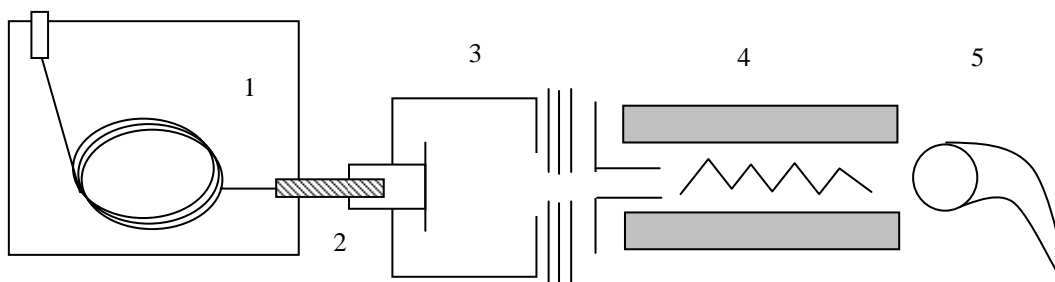


Gráfico VIII. Partes principales de un detector de masas tipo Cuadrupolo.
1.- Cromatógrafo de gases. 2.- Interfase. 3.- Fuente iónica. 4.- Analizador de masas.
5.- Detector.

Cromatógrafo: El aspecto más importante del cromatógrafo y que influye directamente en el sistema de detección es la elección del gas portador. Este debe reunir una serie de condiciones para que sea compatible con el sistema de detección de masas. Téngase en cuenta que el gas portador, total o parcialmente, entrará en la fuente iónica, por lo que se debe elegir un gas fácilmente eliminable y que no reaccione con la muestra ni interfiera con su espectro, este gas suele ser normalmente el Helio.

Interfase: Es el acoplamiento que existe entre el cromatógrafo de gases y el espectrómetro de masas. Existe un gran número de aparatos de acoplamiento para ir de la presión ambiental creada por el efluente de la columna empaquetada, a la baja presión (vacío) requerida por el espectrómetro de masas. Las interfases se diseñan para minimizar las pérdidas de analito por los gradientes de temperatura o por una separación molecular escasa. La introducción de las columnas capilares de sílice fundida proporcionó el acoplamiento entre la separación cromatográfica de alta resolución y el bajo flujo de gas requerido por el espectrómetro de masas. Las columnas capilares se acoplan con el espectrómetro de masas de dos formas: acoplamiento directo recomendado para columnas de diámetro interno menor de 0,2 mm e interfase de “split’ abierto para columnas de diámetro interno mayor de 0,35 mm. Las columnas con pequeña longitud y diámetro interno mayor de 0,35 mm presentan problemas cuando se emplean con espectrómetros de masas de baja capacidad. Se necesitan sistemas de vacío de gran capacidad para columnas de diámetro interno mayor de 0,2 mm. En el caso ya poco habitual de emplear columnas de relleno o empaquetadas, se utilizan dispositivos de enriquecimiento o separadores que son dispositivos pensados para eliminar el exceso de gas portador previamente a la entrada del MS ya que con este tipo de columnas son habituales flujos de 15-50 ml/min de gas portador que no son tolerados por el alto vacío de la fuente de iones.

La fuente iónica: Es la generadora de iones. Las dos técnicas más aceptadas para generar iones son: la ionización por impacto electrónico (EI) y la ionización química (CI). La ionización por impacto electrónico proporciona información estructural de los compuestos investigados a través de los modelos de fragmentación: la identificación fácil y rápida de los espectros es posible mediante la comparación con espectros de referencia de una librería. La técnica de ionización química produce iones moleculares

con el gas reactivo: amonio, metano o isobutano, y proporciona información sobre el peso molecular. Es posible el cambio rápido entre el impacto electrónico y la ionización química, de tal manera que en una misma inyección pueden haberse utilizado estas dos técnicas de forma alternativa.

El analizador de masas: Es el sistema por el cual los iones generados son separados por su masa. Los más ampliamente aceptados son los cuadrupolares y los de trampa de iones, que son los dos métodos empleados en la realización de esta memoria y que se explicarán más adelante.

El detector: Los más conocidos son el fotomultiplicador electrónico de diánodo discreto y el de diánodo continuo.

Como se ha comentado, los analizadores de masas más utilizados son los magnéticos, sobre todo el de cuadrupolo, y actualmente el de trampa de iones. Ambos tipos de espectrómetros de masas pueden llegar a operar en tres modos: SCAN, SIM y MS/MS.

- El modo SCAN es un modo de identificación que ajusta el cuadrupolo para seleccionar todos los iones producidos por la fragmentación de una molécula. El analizador hace un “barrido” en un intervalo determinado y todos los iones son medidos. El espectro de masas obtenido es un histograma de la abundancia relativa de los diferentes iones producidos, clasificados según su relación m/z . El modo SCAN se utiliza para recoger los datos apropiados para la búsqueda en una librería de espectros. De manera que se detectan los espectros de los componentes de una muestra y potentes sistemas informáticos comparan estos espectros con los espectros de referencia de la librería y permitiendo con ello la identificación de un compuesto.
- El modo SIM (monitorización de iones seleccionados) es un modo de adquisición en el que el analizador se ajusta para permitir que pase uno o un pequeño grupo de iones. El resultado obtenido es de una alta sensibilidad porque

se miden solamente los iones de interés y las medidas se mantienen durante períodos de tiempo mayores. El modo SIM considera las masas seleccionadas del compuesto que se investiga y lo presenta como un cromatograma de masas. Después de la integración de estos cromatogramas, el compuesto puede ser identificado y cuantificado a concentraciones muy bajas. Antes de realizar el modo SIM, la muestra debe ser previamente caracterizada mediante modo SCAN, de forma que se conozcan los iones característicos del compuesto que se analiza.

- El proceso de obtención de un espectro de MS/MS de un ión precursor es el siguiente: 1) ionización del compuesto de interés; 2) aislamiento del ión precursor elegido, y 3) fragmentación del ión precursor. En un primer paso, los iones resultantes del proceso de ionización (EI o CI) son almacenados mediante un campo suplementario aplicado desde los electrodos axiales. Esta combinación permite que sólo un pequeño rango de iones, entre los que se encuentra el ión elegido, sean almacenados durante la ionización. El ión precursor se aísla del resto a través de ajustes automáticos en el campo de los electrodos centrales y los axiales. Después de que se han producido y almacenado los iones suficientes, se realiza un barrido de campo de radiofrecuencia y los iones producidos se expulsan de la trampa en orden creciente de su relación m/z obteniéndose el espectro de MS/MS.

Hasta hace poco uno de los sistemas más populares para realizar análisis MS/MS era el basado en una configuración de triple cuadrupolo, pero actualmente el sistema más extendido y que más ventajas presenta frente al triple cuadrupolo es el de trampa de iones. Con este sistema de trampa de iones se consiguen tres ventajas:

- 1) la más evidente es que una sola trampa de iones hace el trabajo de tres cuadrupolos (con sus correspondientes sistemas de vacío), con el consiguiente ahorro de costes;
- 2) la segunda ventaja es la del espacio necesario en el laboratorio. El espectrómetro trampa de iones es mucho más reducido que el tradicional sistema de cuadrupolo,

así como mucho más sencillo de manejar, e incluso el proceso MS/MS ha sido simplificado de tal manera que, con sólo optimizar una variable, la amplitud de radiofrecuencia durante la etapa de disociación, puede optimizarse todo el método

- 3) la tercera ventaja se refiere a la sensibilidad, ya que mientras que en el triple cuadrupolo se produce pérdida de iones, por el hecho de que hay que transferirlos de un cuadrupolo a otro, con la trampa de iones se obtiene una mayor sensibilidad, ya que los iones de interés se producen, almacenan y analizan en una única trampa.

III.F.5. Las condiciones instrumentales óptimas.

Los equipos empleados para los análisis cromatográficos fueron un HP 5890 SERIES II con detector MSD 5972 (sistema GC/MS), para el análisis de los andrógenos y estrógenos, y un Varian 3800 acoplado a un espectrómetro de masas-masas (ion trap) modelo Saturn 2000 (sistema GC/MS/MS), para la detección de los corticosteroides

Andrógenos y estrógenos:

Cromatográficas:

- Gas portador: He N-50, Flujo: 1 ml/min, split 40
- Temperaturas: Detector: 280°C, Inyector 280°C
- Columna: HP-1 (Crosslinked Methyl Silicone Gum) de 25 m x 0.2 mm I.D. x 0.33 µm
- Horno: Inicial: 120°C, 2 min
1ª Rampa: 20°C/min hasta 200°C, 0 min.
2ª Rampa: 5°C/min hasta 240°C, 5 min.
3ª Rampa: 30°C/min hasta 300°C, 5min.

Detección:

- Corriente emisión: 70 ev
- Intervalo de masas: 100-70

Corticosteroides:

Cromatográficas:

- Gas portador: He N-50, Flujo: 1 ml/min, split 40
- Temperaturas: Detector: 280°C, Inyector 280°C
- Columna: Tracer de Fase. TRB-1
de 15m x 0.20 mm I.D. x 0.10 µm
- Horno: Inicial: 120°C, 2 min
1ª Rampa: 20°C/min hasta 240°C, 7 min.
2ª Rampa: 20°C/min hasta 300°C, 5 min.

Detección:

- Temperaturas: Trap 200°C
Manifold 50°C
Transferline: 280°C
- Intervalo de masas: 150-650

En el análisis de los andrógenos y estrógenos, se utilizó el sistema GC/MS, aplicando dos métodos, uno fue en la modalidad SCAN, que como ya hemos visto, permite obtener el perfil esteroideo de la muestra inyectada; y el otro en la modalidad SIM, que es más indicado para la cuantificación, siendo los iones empleados en este método, así como sus tiempos de retención los que se detallan en la tabla IV.

Tabla IV. Tiempos de retención e iones de cuantificación de los andrógenos y estrógenos naturales (Columna HP-1 25m x 0,2mm I.D. x 0,33µm)

| COMPUESTO | Tr(MIN) | Tr relativo | Iones característicos |
|-------------------------------|---------|-------------|-----------------------|
| Androsterona + Etiocolanolona | 11,47 | 0,809 | 434,419,329,239 |
| Dehidroepiandrosterona | 12,30 | 0,867 | 432,417,327 |
| Epiandrosterona | 12,40 | 0,874 | 434,419,329,239 |
| Epitestosterona | 12,62 | 0,890 | 432,417,327 |
| Estrona | 12,75 | 0,899 | 414,399,309 |
| Androstenodiona | 12,92 | 0,911 | 430,416,326,234 |
| β-Estradiol | 13,02 | 0,918 | 416,326,285 |
| Testosterona | 13,13 | 0,926 | 432,417,327 |
| Metiltestosterona (PI) | 14,18 | 1,000 | 446,301 |
| Progesterona | 15,98 | 1,127 | 458,443 |

Para el análisis de corticosteroides la detección en principio se realizó en modo SCAN (impacto electrónico). Los resultados aparecen en la tabla V.

Tabla V. Tiempos de retención e iones de cuantificación de corticosteroides (Columna TRB-1 15m x 0,20mm I.D. x 0,10µm)

| Compuesto | Tr (min) | Iones de Cuantificación |
|----------------------------|----------|-------------------------|
| 17α-Metiltestosterona (PI) | 10,55 | 313,403 |
| Tetrahidrocortisona (THC) | 12,35 | 579,489 |
| Tetrahidrocortisol (THCol) | 13,01 | 563,473 |
| Cortisona (C) | 16,33 | 532,442 |
| Cortisol (HC) | 17,68 | 606,516 |

A continuación se llevó a cabo la confirmación a través del modo masas/masas (MS/MS), para ello se estudiaron las variaciones de radiofrecuencia de almacenamiento de los iones provenientes de cada uno de los compuestos y los voltajes necesarios para realizar un segundo espectro de los compuestos a sus tiempos de retención correspondientes (voltaje de excitación). Estos resultados quedan resumidos en la tabla VI.

Tabla VI. Condiciones MS/MS de los CC naturales (Columna TRB-1 15m x 0,20mm I.D. x 0,10µm)

| Compuesto | Tr(min) | Ion parent | Rf _{almac} (Hz) | Volt _{exc} (V) |
|----------------------------|---------|------------|--------------------------|-------------------------|
| 17α-Metiltestosterona (PI) | 10,55 | 313 | 120 | 70 |
| Tetrahydrocortisona (THC) | 12,35 | 579 | 125 | 75 |
| Tetrahydrocortisol (THCol) | 13,01 | 563 | 125 | 73 |
| Cortisona (C) | 16,33 | 532 | 120 | 67 |
| Cortisol (HC) | 17,68 | 606 | 115 | 64 |

III.F.6. Curvas de calibrado.

En este apartado se recoge el proceso que se llevó a cabo para la confección de las curvas de calibrado de cada una de las sustancias, con el fin de poder cuantificarlas.

Andrógenos y estrógenos.

Se prepararon 5 orinas blanco (orinas de niño) a las que se le añadieron disoluciones patrón de cada uno de los esteroides objeto de estudio, a diferentes niveles de concentración, en el intervalo comprendido entre 10 y 5000 ng/ml dependiendo del compuesto (ya que todos los compuestos no se excretan en los mismos niveles de concentración). A estas orinas blanco con los patrones se les añadió 17-α-metiltestosterona (250 ng/ml)

La cuantificación se le realizó utilizando la técnica espectrométrica de monitorización de iones (SIM), para ello se escogieron los iones más característicos de cada sustancia al objeto de calcular la cantidad presente de la misma en la muestra. Los iones escogidos para el caso del patrón interno fueron 446 y 301.

Se representó la relación de áreas entre la señal debida a los iones elegidos de cada uno de los compuestos y la del patrón interno frente a la concentración de cada uno de los esteroides, obteniéndose rectas de calibrado de la forma $Y = A + BX$ ($X = \text{ng/ml}$). Posteriormente se evaluó la linealidad de las distintas rectas de calibrado. En la tabla VII se representan los parámetros A (ordenada en el origen), B (pendiente) y r (coeficiente de regresión).

Tabla VII. Rectas de calibrado de andrógenos y estrógenos.

| Compuesto | Iones | A | B | r |
|----------------------------------|----------|-------------------------|--------|--------|
| Androsterona + Etiocolanolona | 419, 329 | 0.0131 | 0.7233 | 0.9968 |
| Epiandrosterona | 419, 329 | 0.0021 | 0.2063 | 0.9928 |
| Epitestosterona | 432, 417 | -0.0032 | 0.2350 | 0.9962 |
| Estrona | 399, 309 | 0.0012 | 0.0325 | 0.9936 |
| B-estradiol | 416, 326 | -0.0075 | 0.2232 | 0.9962 |
| Testosterona | 432, 417 | -8.677×10^{-4} | 0.2679 | 0.9870 |
| Progesterona | 443, 353 | -0.0023 | 0.1797 | 0.9965 |

Corticosteroides.

Igual que en el caso de los andrógenos, se prepararon 5 orinas blanco a las que se añadieron disoluciones patrón de cada uno de los corticosteroides objeto de estudio, a diferentes niveles de concentración, en el intervalo comprendido entre 25 y 400 ng/ml, dependiendo del compuesto. A estas orinas se les añadió la 17α -metiltestosterona utilizada como patrón interno (300 ng/ml).

Al igual que antes, para la cuantificación se utilizó la técnica de monitorización de iones, escogiéndose los iones que se citan en la tabla VIII, mientras que para el caso del patrón interno los iones elegidos fueron 403 y 313.

Finalmente se representó, igualmente, la relación de áreas Compuesto/PI frente a la concentración de cada uno de los corticosteroides, obteniéndose rectas de calibrado de la forma $Y=A + BX$ ($X=ng/ml$) (Tabla VIII). Se estudió la linealidad de las rectas de calibrado en todo el intervalo.

Tabla VIII. Rectas de calibrado de los corticosteroides.

| Compuesto | Iones | A | B | r |
|----------------------------|----------|---------|--------|--------|
| Tetrahydrocortisona (THC) | 579, 489 | -0.0355 | 5.6709 | 0.9961 |
| Tetrahydrocortisol (THCol) | 563, 473 | -0.0541 | 2.8857 | 0.9853 |
| Cortisona (C) | 532, 442 | 0.0360 | 0.3126 | 0.9926 |
| Cortisol (HC) | 606, 516 | 0.0782 | 0.8908 | 0.9972 |

III.G. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN URINARIA DE CREATININA

El método descrito corresponde a un volumen de reacción de 3,4 ml necesitando el empleo de una cubeta de 10-12 mm. Si se utiliza una cubeta más grande, se pueden doblar los volúmenes de reactivo y de muestra. Veamos el proceso paso a paso:

- 1- Llenar con 0,3 ml de agua una cubeta, etiquetada como “Blanco”, en otra cubeta, etiquetada como “Patrón”, echamos 0,3 ml del patrón de creatinina (30 mg/l, diluidos en ácido clorhídrico, 0,02 N) y depositar 0,3 ml de muestra en otra cubeta, etiquetada como “Muestra”. En esta primera etapa una dilución de la orina del orden de 10-15 veces es generalmente satisfactoria.
- 2- Añadir 3,0 ml de Solución alcalina de Picrato (se consigue mezclando 5 volúmenes de reactivo de coloración de creatinina con 1 volumen de hidróxido de sodio, 1,0 N) en todas las cubetas. Mezclar y dejar reposar 8-12 minutos a temperatura ambiente.
- 3- Leer y anotar la absorbancia del patrón y de la muestra con respecto al blanco, a 500 nm. Esta absorbancia será la “Inicial”.
- 4- Añadir después 0,1 ml de reactivo ácido (mezcla de ácido sulfúrico y de ácido acético) en todas las cubetas. Mezclar suavemente inmediatamente después. Dejar reposar 5 minutos a temperatura ambiente. Cuando se añade el reactivo ácido se puede formar un precipitado, pero se disuelve después de agitarlo.
- 5- Leer y anotar la absorbancia del patrón y de la muestra con respecto al blanco, a la misma longitud de onda que antes. Esta absorbancia es la “Final”.

Una vez finalizado el proceso se hacen los cálculos. La cantidad de creatinina en mg/l es igual a $(\text{Muestra inicial} - \text{Muestra final}) / (\text{Patrón inicial} - \text{Patrón final})$, y el resultado se multiplica por 30 (concentración mg/l del patrón de creatinina) y por la cantidad de veces que se ha diluido la muestra (en nuestro caso por 12 veces)

Hay que tener en cuenta a la hora de analizar la concentración urinaria de creatinina a través de este método, que la bilirrubina puede originar interferencias positivas por cada miligramo/litro de este pigmento. Se puede provocar una sobreestimación en los resultados de 0,9 mg/l.

El análisis de la creatinina se llevó a cabo dentro de las 24 horas siguientes a la recogida de la orina

Los resultados de las concentraciones urinarias de hormonas esteroideas en relación a la creatinina se expresarán en *$\mu\text{g de esteroide/mg de creatinina en orina}$* .

III.H. MÉTODO ESTADÍSTICO.

El análisis y tratamiento de los datos se ha llevado a través del programa informático estadístico SPSS 10.0.

Se aplicaron técnicas no paramétricas, puesto que el número de sujetos era pequeño y tras aplicar la prueba de Kolmogorov-Smirnov se comprobó que las variables no seguían una curva de normalidad.

Se aplicó la prueba de Wilcoxon; prueba no paramétrica para muestras relacionadas y autoapareadas. Solamente, al comparar los niveles de los universitarios con los de los ciclistas se utilizó la prueba de la U de Mann-Whitney; prueba no paramétrica para dos muestras independientes. Se exigió una significación estadística en las comparaciones de $p < 0.05$ o de $p < 0.01$ y los resultados se expresaron como media \pm desviación típica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

IV.A. CONSIDERACIONES GENERALES

Los resultados obtenidos y la interpretación de los mismos se encuentran a continuación. Toda discusión ira acompañada de su tabla correspondiente para que de esta forma todo sea más gráfico e instructivo.

Distinguiremos un primer apartado en el que se presentarán los resultados obtenidos como consecuencia del **efecto agudo** de una sesión de entrenamiento. En nuestra investigación se entiende como efecto agudo la variación de concentraciones entre antes del ejercicio e inmediatamente después del mismo. Para observar el efecto agudo hemos trabajado con un grupo de universitarios que han realizado una rutina de trabajo submáxima para el desarrollo de la fuerza a través de una sesión de pesas (actividad eminentemente anaeróbica) y con un grupo de ciclistas amateurs que realizaron una etapa (actividad eminentemente aeróbica). Para una mejor comprensión del apartado “efecto agudo” hemos distinguiendo cuatro secciones: Andrógenos, corticosteroides, estrógenos y relaciones andrógenos/corticosteroides. En este estudio se expresan los resultados en nanogramos/mililitro (ng/ml).

En un segundo apartado trataremos de valorar los **efectos del entrenamiento continuado sobre el perfil esteroideo**, para ello se compararán las muestras urinarias en reposo de los universitarios con las de los ciclistas. En este caso las concentraciones urinarias también vendrán expresadas en ng/ml, sin aplicar el factor de corrección para la creatinina.

Y finalmente se presentará un último apartado referido al **efecto crónico**. En este apartado quedan reflejados los cambios provocados en el perfil esteroideo como consecuencia de 4 semanas de entrenamiento de la fuerza, comparando los resultados obtenidos tras la realización de la primera sesión del programa de entrenamiento con los de una sesión similar realizada una vez finalizado el programa de entrenamiento. Las concentraciones urinarias de las diferentes hormonas esteroideas se darán, primeramente, en valores absolutos (ng/ml) y posteriormente, en relación a los niveles urinarios de creatinina (μg de esteroide/mg de creatinina), comparando y observando las

posibles diferencias que puedan darse. Esta vez solamente se trabajó con el grupo de universitarios que hizo pesas. Por otro lado, en la parte inicial de este apartado, también se muestran las ganancias, expresadas en kilogramos, logradas como consecuencia del entrenamiento. En todos los casos, los resultados se expresan en términos de media \pm desviación típica, indicándose si las diferencias son significativas o no lo son.

IV.B. EFECTO AGUDO.

IV.B.1. Andrógenos

Los valores registrados en los andrógenos secretados en la orina tras la realización de una sesión aguda, ya sean de pesas en universitarios, ya sean de ciclistas, se encuentran en las tablas IXA y IXB.

A nivel general, los valores encontrados en la excreción urinaria de los diferentes andrógenos en universitarios y ciclistas, antes y después de realizar el ejercicio, en ng/ml, siguen una misma pauta de comportamiento, a excepción de la androstenodiona, sustancia de origen suprarrenal y precursora de la testosterona.

Tabla IX A. Universitarios. Variaciones agudas en andrógenos urinarios tras una sesión de pesas. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | Antes de la sesión. | Después de la sesión. | Significación |
|-------------------------------|---------------------|-----------------------|---------------|
| Androsterona + Etiocolanolona | 3829.22 \pm 2002 | 3800.67 \pm 2033 | NS |
| Testosterona (T) | 496.92 \pm 182 | 474 \pm 176.58 | ** |
| Epitestosterona | 173.57 \pm 88.46 | 169.89 \pm 88.63 | NS |
| Dehidroepiandrosterona (DHEA) | 178.30 \pm 97.6 | 160.00 \pm 83.6 | NS |
| Androstenodiona | 40.85 \pm 17.20 | 44.44 \pm 17.94 | * |
| Epiandrosterona | 10.11 \pm 6.58 | 8.78 \pm 5.89 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. NS. Variaciones no significativas

En el caso de los universitarios (Tabla IX A) que realizan la sesión de pesas, se observa un descenso muy significativo ($p < 0.01$) en la testosterona urinaria, que pasa de $496,92 \pm 182$ a 474 ± 176.58 ng/ml. También se produce un descenso, aunque no sea significativo, en las concentraciones de Dehidroepiandrosterona (DHEA), de epitestosterona, de epiandrosterona y de Androsterona + Etiocolanolona (o 5B-androsterona) (estas dos últimas sustancias aparecen juntas puesto que para el equipo cromatográfico era extremadamente difícil separarlas). Se produjo, sin embargo, un aumento significativo ($p < 0.05$) de la androstenodiona, precursor de la testosterona de origen suprarrenal, que pasó de 40.85 ± 17.20 a 44.44 ± 17.94 ng/ml

Tabla IX B. Ciclistas. Variaciones agudas en andrógenos urinarios tras una etapa ciclista. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | Antes de la etapa | Después de la etapa | Significación |
|-------------------------------|--------------------|---------------------|---------------|
| Androsterona + Etiocolanolona | 3530.6 ± 1508 | 1761 ± 829.8 | ** |
| Testosterona (T) | 293.5 ± 197.9 | 154.40 ± 103.8 | * |
| Epitestosterona | 135.4 ± 57.8 | 84.90 ± 49.9 | ** |
| Dehidroepiandrosterona (DHEA) | 197.3 ± 144.2 | 122.2 ± 73.2 | * |
| Androstenodiona | 98.125 ± 87.36 | 72.93 ± 55.88 | NS |
| Epiandrosterona | 33.25 ± 26.42 | 32.74 ± 29.75 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. NS. Variaciones no significativas

Si nos centramos en los ciclistas (Tabla IX B), podemos comprobar como se produce un descenso de todos los andrógenos urinarios, incluso de la androstenodiona. En la Androsterona + Etiocolanolona y en la epitestosterona se produce un descenso muy significativo ($p < 0.01$), y de manera significativa ($p < 0.05$), lo hacen la testosterona y la dehidroepiandrosterona (DHEA). Androstenodiona y epiandrosterona también descienden, aunque en este caso no presentan significación.

Este descenso en la excreción urinaria de testosterona y de sus metabolitos, los 17 cetoesteroides (17KS), en universitarios y ciclistas tras la realización de un ejercicio

intenso, está de acuerdo con los resultados obtenidos en otra serie de estudios (Yap y cols 1996; Guillard y cols, 1984, Kimura y cols, 1989; Maynar y cols, 1994). Esta disminución aguda en la concentración de testosterona urinaria tras una sesión de ejercicios no quiere decir que sea consecuencia de una menor síntesis de testosterona, sino que probablemente es como consecuencia de una disminución en el aclaramiento de esta hormona por parte del hígado al reducirse la perfusión hepática que acompaña al ejercicio intenso (Sutton, 1973 ; Cadoux-Hudson y cols, 1985). Otros autores, sin embargo, plantean que con el ejercicio intenso se produce una disfunción en el eje hipotalámico-pituitario, con lo que la concentración de testosterona libre y total disminuye (Nindl y cols, 2001 ; Kujala y cols,1990), por lo que su excreción urinaria, ya sea de forma libre o en forma de sus metabolitos, androsterona y etiolanolona, va a ser menor.

También se habla del hecho de que la SHBG puede actuar como factor regulador de la excreción de andrógenos urinarios. Durante el ejercicio se produciría una elevación de SHBG, y este aumento actuaría como mecanismo compensador para proteger del metabolismo y excreción a los andrógenos en los casos de mayor demanda de los mismos ante determinadas circunstancias (Caballero y cols, 1992), como puede ser el caso de una mayor demanda a nivel muscular como consecuencia del ejercicio físico intenso.

Lo que si parece claro es que los cambios en la testosterona son significativos sólo cuando las cargas son superiores al 70% de 1 RM y se emplean en sesiones de orientación hipertrófica (Kraemer, 1990, Hakkinen, 1988). Además, también se habla de mayores variaciones cuando existe una dependencia del sistema anaeróbico (Kraemer y cols, 1990 y 1991, Jensen y cols, 1991). Nuestro estudio confirma estos resultados en orina, puesto que tanto en el trabajo de pesas (al 75% de 1 RM) como en el de los ciclistas (etapa de media montaña) se alcanzan intensidades bastantes altas durante la realización del ejercicio y esto provoca importantes modificaciones en el eje hipofisario-hipotalámico.

En el caso de las hormonas de origen suprarrenal observamos un comportamiento diferente entre universitarios y ciclistas. Mientras que en los ciclistas

los niveles urinarios de dehidroepiandrosterona (DHEA) y de androstenodiona descienden, en el caso de los universitarios descienden los niveles de DHEA, pero no los de androstenodiona, que incluso aumentan de forma significativa ($p < 0.05$). Ante este hecho podemos dar una doble explicación. En primer lugar se puede plantear que la eliminación urinaria de DHEA es menor puesto que existe una mayor retención de testosterona por parte del organismo para hacer frente al estrés físico, y por tanto su metabolización en el hígado es menor (Maynar y cols, 1994), con lo cual los metabolitos de Dehidroepiandrosterona (DHEA) aparecerían en menores cantidades. La segunda explicación anteriormente comentada iría referida a una menor producción de DHEA, como consecuencia de una alteración o disfunción del eje hipotalámico-adrenal.

El aumento de los niveles urinarios de androstenodiona, principal precursor suprarrenal de la testosterona, tras la realización de una sesión de fuerza en el caso de los universitarios, es un resultado que coincide con otros estudios realizados en los que se observa un aumento de Androstenodiona tras la realización de un partido de hockey (Tegelman y cols, 1990) o tras la realización de un partido de fútbol (Lupo y cols, 1985). Este fenómeno se podría explicar a través del estudio desarrollado por Rivarola y cols en 1989 sobre la interconversión y metabolismo de andrógenos. Existe un exceso de producción de androstenodiona para tratar de aumentar los niveles de testosterona libre en sangre, puestos que estos se requieren a nivel muscular durante la realización del trabajo de pesas. Las concentraciones urinarias de Dehidroepiandrosterona y de Androstenodiona observadas en los universitarios tras el trabajo agudo intenso de fuerza, podrían indicar que como consecuencia de un esfuerzo intenso, en personas poco entrenadas se produciría una inhibición de la vía delta 5 de síntesis de esteroides (en la que la DHEA aparece como intermediario) y una activación de la vía delta 4 (en este caso la sustancia intermedia es la androstenodiona), tal y como las llama Toscano (1991). Esta hipótesis planteada deberá ser estudiada a través de futuras investigaciones.

En el caso de los ciclistas, no sólo no se produce una elevación de las concentraciones tras el ejercicio, sino que se produce un descenso. Esto podría explicarse por el hecho de que presentan, como consecuencia de la adaptación al entrenamiento, mayores niveles de androstenodiona en reposo que los universitarios, 98.12 ± 87.36 ng/ml por 40.85 ± 17.20 ng/ml, con lo cual no tienen por qué producir más

cantidad para afrontar el ejercicio y además, también se plantea la hipótesis de que los deportistas entrenados utilizan de una forma mejor y más adecuada la testosterona que circula por su organismo (Fillare y cols, 2000; Kraemer y cols, 1992; Cumming y cols, 1987; Fahey y cols, 1976), con lo que el exceso de androstenodiona no se utilizará para transformarse en testosterona, sino que probablemente se perderá en un proceso de transformación a estrona, tal y como veremos luego. Causa por la cual disminuirán sus niveles tras el ejercicio.

IV.B.2. Corticosteroides.

Las concentraciones urinarias de los principales metabolitos del cortisol, la tetrahydrocortisona (THC) y el tetrahydrocortisol (THCol), también conocidos como los 17-hidroxycorticosteroides (17OHCS), aparecen reflejados en la tablas XA y XB. Las concentraciones urinarias de ambos metabolitos, tanto en universitarios como en ciclistas, se elevan tras la realización de los ejercicios respectivos.

Tabla X A. Universitarios. Variaciones agudas en corticosteroides urinarios tras una

| Sustancia | Antes de la sesión. | Después de la sesión. | Significación |
|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------|
| Tetrahydrocortisona (THC) | 1090.7 ± 1021.7 | 1173.05 ± 1054 | * |
| Tetrahydrocortisol (THCol) | 1234.98 ± 869.2 | 1494.6 ± 1008.15 | * |

sesión de pesas. Valores expresados en ng/ml.

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. NS. Variaciones no significativas

Los valores observados en los universitarios (Tabla XA) muestran una elevación significativa ($p < 0.05$) del Tetrahydrocortisol (THCol) y de la Tetrahydrocortisona (THC), que pasaron respectivamente de 1234.98 ± 869.2 a 1494.6 ± 1008.15 ng/ml, el THCol, y de 1090.7 ± 1021.7 a 1173.05 ± 1054 ng/ml, el THC.

Para el caso de los ciclistas (Tabla XB) se observó una elevación significativa ($p < 0.05$) tanto del THCol como del THC. La variación fue de 1508 ± 770.8 a 2415.1 ± 1145.5 ng/ml para el THCol y de 1110 ± 382.08 a 1498.70 ± 536 ng/ml para el THC.

Tabla X B. Ciclistas. Variaciones agudas en corticosteroides urinarios tras una etapa ciclista. Valores expresados en ng/ml

| Sustancia | Antes de la etapa | Después de la etapa | Significación |
|----------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------|
| Tetrahydrocortisona (THC) | 1110 ± 382.08 | 1498.70 ± 536 | * |
| Tetrahydrocortisol (THCol) | 1508 ± 770.8 | 2415.1 ± 1145.5 | * |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. **NS.** Variaciones no significativas

También se puede observar como los niveles urinarios de Tetrahydrocortisol (THCol), en ambos casos, es superior a los de Tetrahydrocortisona (THC).

En multitud de estudios, se observa una elevación sanguínea del cortisol tras la realización de ejercicio intenso. En principio, si en sangre aparecen gran número de corticosteroides libres, su eliminación por la orina será mayor.

Parece ser que la actividad deportiva elevaría los niveles de ACTH y como consecuencia de ello se produce un aumento del cortisol plasmático (Nindl y cols, 2001; Bosco y cols, 1996; Petraglia y cols, 1989, Farrel y cols, 1987, Newmark y cols 1976), del cortisol urinario (Boudou P y cols, 1987) e incluso de los niveles de cortisol en saliva (Filaire y cols, 2001). En nuestro estudio se observa una elevación de las concentraciones urinarias de los metabolitos del cortisol, tanto en universitarios poco entrenados como en ciclistas, esto podría ser reflejo de un aumento de la producción de cortisol por parte de la corteza suprarrenal, provocando una elevación en la cantidad de cortisol que aparece libre a nivel sanguíneo.

Actualmente se están utilizando como parámetros para determinar el estrés las excreciones urinarias de 17 cetoesteroides (17-KS) y 17 hidroxicorticosteroides (17OHCS), y hay que entender que el ejercicio físico intenso es un factor estresante como lo puede ser otro cualquiera. Se ha observado como la excreción de 17-OHCS (valores que no aparecían dados en relación a la creatinina) aumenta en situaciones de estrés, de desgaste o de depresión (Nishikaze y Furuya, 1998; Furuya y cols, 1998), de

aquí que es nuestros sujetos experimentales los niveles de THC y de THCol, hayan aumentado tras la realización del ejercicio físico .

Frente a esto se ha observado como los niveles de los 17 cetoesteroides (17KS) (metabolitos urinarios androgénicos) se elevan con una mejora en el estilo de vida, una correcta recuperación o una disminución de la tensión a la que esté sometida un individuo (Nishikaze , 1998; Nishikaze y Furuya, 2000). No obstante, el cortisol, sus metabolitos y la glándula suprarrenal presentan una mayor sensibilidad para indicar situaciones de estrés que los 17-cetoesteroides androgénicos.

IV.B.3. Estrógenos y progesterona.

Las variaciones observadas en los niveles de β -estradiol, estrona y progesterona quedan reflejadas en la tabla XIA y XIB. Las diferencias observadas tanto en un grupo como en otro no son significativas.

Tabla XI A. Universitarios. Variaciones agudas en estrógenos y progesterona urinaria tras una sesión de pesas. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | Antes de la sesión | Después de la sesión | Significación |
|--------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Estrona | 25.11 \pm 12.5 | 26.56 \pm 11.54 | NS |
| β -Estradiol | 97.74 \pm 37.4 | 99.88 \pm 41.63 | NS |
| Progesterona | 39.56 \pm 29.5 | 53.78 \pm 61.7 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. **NS.** Variaciones no significativas

En el caso de los universitarios (Tabla XIA) se observa un aumento prácticamente inapreciable de estrona y de β -estradiol, que pasan respectivamente de 25.11 \pm 12.5 a 26.56 \pm 11.54 ng/ml y de 97.74 \pm 37.4 a 99.88 \pm 41.63 ng/ml. En el caso de la progesterona, como podemos observar el aumento es un poco mayor aunque tampoco es significativo, de 39.56 \pm 29.5 a 53.78 \pm 61.7 ng/ml.

Centrándonos ahora en los ciclistas (Tabla XIB) observamos como también se elevan las concentraciones de estrona y β -estradiol.

Tabla XI B . Ciclistas. Variaciones agudas en estrógenos y progesterona urinaria tras una etapa ciclista. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | Antes de la etapa | Después de la etapa | Significación |
|--------------|-------------------|---------------------|---------------|
| Estrona | 135.1 \pm 141.9 | 214.4 \pm 200.5 | NS |
| B-Estradiol | 13.20 \pm 3.08 | 17.30 \pm 6.20 | NS |
| Progesterona | 83 \pm 56.9 | 75.4 \pm 35.9 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. NS. Variaciones no significativas

La estrona pasa de 135.1 \pm 141.9 a 214.4 \pm 200.5 ng/ml y el β -estradiol va de 13.20 \pm 3.08 a 17.30 \pm 6.20 ng/ml. Sin embargo la progesterona, a diferencia de los estrógenos, disminuye aunque también de forma no significativa; de 83 \pm 56.9 a 75.4 \pm 35.9 ng/ml.

Los estudios en relación con el análisis de estrógenos y progesterona en hombres y la influencia del ejercicio no son muy abundantes, puesto que en la mayoría de los casos se han llevado a cabo en mujeres dado su mayor interés en este campo. Se ha observado como mujeres sometidas a un esfuerzo intenso experimentan un descenso en sus niveles urinarios de estrógenos y progestógenos (Morris y Wark, 2001; Morris y cols, 1999).

En el caso de los hombres el mayor interés es tratar de determinar el grado de conversión de andrógenos a estrógenos. La testosterona, por una parte, sufre una reducción enzimática a 5 alfa-dihidrotestosterona y por otra, se transforma en β -estradiol a través de un proceso de aromatización (Van Eenoo P y cols, 2001; La Morte y cols, 1994). De la misma forma, la androstenodiona se transforma a estrona, especialmente a nivel periférico (Yoshiji y cols, 1986).

Centrándonos en los estrógenos se ha observado una elevación aunque no significativa del β -estradiol y de la estrona. Estos resultados están de acuerdo con

algunos estudios que establecen una correlación entre los niveles de β -estradiol, los niveles de cortisol y el estrés físico (Lyimo y cols, 2000; Shors TJ y cols 1999). Es preciso volver a observar las concentraciones urinarias de testosterona y de androstenodiona, de universitarios y ciclistas, para comprender los niveles iniciales y la evolución de β -estradiol, de estrona y de progesterona.

En el caso de los universitarios (Tabla IXA), los niveles de testosterona en reposo son elevados (496.92 ± 182 ng/ml) en relación con los de los ciclistas (Tabla IXB) (293.5 ± 197.9 ng/ml), por ello los niveles de β -estradiol serán mayores en universitarios que en ciclistas (97.74 ± 37.4 ng/ml de los primeros, por 13.20 ± 3.08 ng/ml de los segundos) puesto que el proceso de aromatización será mayor. Y probablemente los ciclistas utilicen más y mejor sus niveles de testosterona, con lo que el “escape” de la transformación a β -estradiol será menor.

Si nos fijamos ahora en la estrona vemos que los niveles iniciales excretados de los ciclistas (135.1 ± 141.9 ng/ml) son mucho mayores que los de los universitarios (25.11 ± 12.5 ng/ml). Una posible explicación es que los niveles iniciales de androstenodiona en ciclistas (98.125 ± 87.36 ng/ml) son elevados, con lo que el proceso de aromatización periférica será mayor en los ciclistas que en los universitarios, puesto que estos últimos presentan niveles iniciales de androstenodiona mucho menores (40.85 ± 17.20 ng/ml). Además, ya hemos comentado como la androstenodiona, en los sujetos poco entrenados, tiene como objetivo fundamental servir de precursor de la testosterona, por ello la aromatización en universitarios de androstenodiona a estrona es menor, y por eso los niveles de estrona en orina son menores. Además, este proceso de transformación queda reflejado en los ciclistas por el aumento de la concentración urinaria de estrona tras el ejercicio, de 135.1 ± 141.9 pasa a 214.4 ± 200.5 ng/ml y por la disminución de la androstenodiona, que pasa, como ya vimos, de 98.125 ± 87.36 a 72.93 ± 55.88 ng/ml).

Finalmente, solamente queda hablar de la concentración urinaria de progesterona en ambos grupos, puesto que su comportamiento tras la realización de ejercicio es diferente. El aumento no significativo de progesterona en el caso de los universitarios está en consonancia con los resultados obtenidos en otros dos estudios en los que se

observó que tras la realización de un triatlón se elevaban los niveles de progesterona (Jurimae T y cols, 1989, 1989). Estos resultados se podrían explicar por la activación de la vía delta 4 de síntesis de esteroides, puesto que en esta vía la progesterona se va a transformar en androstenodiona, con el fin de servir de precursor de testosterona. El exceso de progesterona que no se transforme se excreta por la orina. En los ciclistas dado que tiene altos niveles iniciales de androstenodiona y que no requieren producir mucha más testosterona puesto que tienen suficiente con los niveles que presentan (Filare y cols, 2000; Kraemer y cols, 1992; Cumming y cols, 1987; Fahey y cols, 1976), la vía delta 4 no se encuentra activada y los niveles de progesterona existentes tienden a ser eliminados con el ejercicio.

IV.B.4. Relaciones.

Para nuestro estudio seleccionamos las siguientes::

Testosterona/Tetrahydrocortisona (T/THC), Testosterona/Tetrahydrocortisol (T/THCol), Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisona (DHEA/THC) y Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisol (DHEA/THCol), como relaciones que indican el estado anabólico o catabólico del individuo. Un incremento en los andrógenos o un descenso de corticosteroides y mantenimiento de andrógenos indicaría un estado anabólico en el individuo, por el contrario un descenso en estas relaciones sería debido a un estado catabólico. Otra relación estudiada fue la Testosterona/Epitestosterona (T/E), en relación con la utilización exógena de testosterona.

Los valores encontrados para universitarios (Tabla XIIA) poco entrenados demuestran que todas las relaciones disminuyeron. Las relaciones T/THC y DHEA/THC de forma muy significativa ($p < 0.01$) y las relaciones T/THCol y DHEA/THCol lo hicieron de forma significativa ($p < 0.05$). La relación T/E también disminuyó aunque de forma no significativa.

Tabla XII A. Universitarios. Variaciones agudas en las relaciones estudiadas tras una sesión de pesas.

| Sustancia | Antes de la sesión. | Después de la sesión. | Significación |
|--|----------------------------|------------------------------|----------------------|
| Testosterona/epitestosterona | 3.66 ± 2.03 | 3.61 ± 2.08 | NS |
| Testosterona/Tetrahydrocortisona (T/THC) | 0.93 ± 0.98 | 0.77 ± 0.71 | ** |
| Testosterona/Tetrahydrocortisol (T/THCol) | 0.52 ± 0.33 | 0.39 ± 0.23 | * |
| Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisona (DHEA/THC) | 0.293 ± 0.28 | 0.232 ± 0.208 | ** |
| Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisol (DHEA/THCol) | 0.171 ± 0.08 | 0.124 ± 0.06 | * |

*, p< 0.05. **., p<0.01. NS. Variaciones no significativas

Tabla XII B. Ciclistas. Variaciones agudas en las relaciones estudiadas tras una etapa ciclista.

| Sustancia | Antes de la etapa | Después de la etapa. | Significación |
|--|--------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Testosterona/epitestosterona | 2.27 ± 1.36 | 2.37 ± 3.6 | NS |
| Testosterona/Tetrahydrocortisona (T/THC) | 0.288 ± 0.206 | 0.159 ± 0.103 | * |
| Testosterona/Tetrahydrocortisol (T/THCol) | 0.197 ± 0.09 | 0.07 ± 0.04 | ** |
| Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisona (DHEA/THC) | 0.184 ± 0.11 | 0.102 ± 0.03 | * |
| Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisol (DHEA/THCol) | 0.161 ± 0.16 | 0.058 ± 0.03 | ** |

*, p< 0.05. **., p<0.01. NS. Variaciones no significativas

En el caso de los ciclistas (Tabla XIIB), se observa un fenómeno similar. Las relaciones T/THCol y DHEA/THCol disminuyeron de forma muy significativa (p<0.01) y las relaciones T/THC y DHEA/THC lo hicieron de forma significativa (p<0.05). T/E

experimentó una subida prácticamente inapreciable sin ningún tipo de significación, de 2.27 ± 1.36 a 2.37 ± 3.6 .

Tradicionalmente se han venido utilizando dos relaciones fundamentales para valorar la carga de entrenamiento, la ratio testosterona/cortisol y el llamado índice androgénico (FAI) que sería la relación testosterona total/SHBG, la primera se utilizaría en plasma, orina y saliva y la segunda únicamente en plasma

La relación testosterona/cortisol indicaría el balance hormonal anabólico/catabólico (Hackney y cols, 1990; Urhausen y cols, 1995) y un descenso del 30% indicaría un estado de sobreentrenamiento (Vervoon y cols, 1991; Chicharro y cols, 1998) o bien un desequilibrio entre el entrenamiento y la recuperación (Kuipers y Heizer, 1988).

El ratio Testosterona total/SHBG indica la cantidad de testosterona activa o libre que circula en el plasma. Un descenso en este índice indicaría que hay menos testosterona libre circulante y por lo tanto, disminuiría la eliminación urinaria de andrógenos. En este sentido, la realización de una actividad física de manera intensa y continuada produce en los varones un descenso en este índice androgénico (Caballero y cols, 1992; Pardrige 1986) y además el ratio T/SHBG correlaciona de forma importante con el grado de hipertrofia muscular; aquellos sujetos que tiene un ratio bajo no incrementan su masa muscular como aquellos otros que si presentan un FAI elevado (Hakkinen y cols, 1989).

Ambas relaciones se observan en muestras sanguíneas, sin embargo, en el estudio que nos ocupa se trabajó con muestras de orina. Actualmente se está trabajando en orina con la Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) y con la relación urinaria 17KS/17OHCS, es decir, 17-cetoesteroides (metabolitos de la testosterona) / 17-hidroxicorticosteroides (metabolitos del cortisol) (Nishikaze O, 1998,1998,2000). De tal forma que en nuestra investigación las relaciones estudiadas en orina van referidas a la relación entre andrógenos (Testosterona y DHEA) y corticosteroides urinarios (Tetrahidrocortisona y Tetrahidrocortisol), puesto que nos parecen bastante interesantes para determinar el grado de estrés de un deportista.

La relación T/E es una relación tradicionalmente utilizada en el mundo del dopaje para tratar de ver el uso de esteroides anabolizantes exógenos. Una relación superior a 6 indicaría la ingesta de algún tipo de sustancia exógena. Las concentraciones encontradas en nuestros sujetos (2.27 ± 1.36 en los ciclistas y 3.66 ± 2.03 en los universitarios) indican que no han consumido ningún tipo de sustancia exógena que pueda variar de forma exógena los perfiles esteroideos.

En vez del cortisol se prefieren utilizar los metabolitos del cortisol (THC y THCol), puesto que la concentración del cortisol libre en orina no representa más del 1% del cortisol total segregado. Además de los cocientes de T/THC y T/THCol, que relacionan la actividad de los ejes hipotálamo-hipofisario testicular y hipotálamo-hipofisario-adrenal, nos pareció interesante valorar las relaciones DHEA/THC y DHEA/THCol, dado que la DHEA es de origen suprarrenal, al igual que el cortisol, por lo que podría tratarse de una relación más representativa para valorar el efecto del ejercicio sobre la glándula suprarrenal. En este sentido, algunos autores (Filaire y Lac, 2000) consideran que las medidas de DHEA podrían servir como sustituto de la testosterona para estudiar el estrés que puede producir el ejercicio físico y el entrenamiento prolongado. La relación DHEA /Cortisol para valorar la carga de un ejercicio físico, ya ha sido referenciada en algunos estudios (Filaire y cols, 1998, 2000).

En nuestro estudio podemos observar como todas las relaciones estudiadas descienden al realizar un trabajo intenso, ya sea en ciclismo o con un trabajo de pesas en universitarios, como consecuencia de un descenso de los andrógenos y una subida de los corticosteroides. De acuerdo con estos resultados se encuentran varios estudios que dicen que el estrés, ya sea deportivo o no, provoca un aumento en la excreción de 17-hidrocorticosteroides y un descenso en los niveles de testosterona y sus metabolitos (Nindl y cols, 2001; Nishikaze y Furuya, 1998; Furuya y cols, 1998, Kimura y cols, 1989; Maynar y cols, 1994). A partir de aquí podemos deducir que tras la realización de un ejercicio intenso, en estas relaciones andrógenos/corticosteroides (17KS/17OHCS) probablemente se produzca un descenso significativo. De tal forma que estas relaciones se pueden utilizar como parámetros fisiológicos objetivos para tratar de cuantificar la carga de trabajo o el estrés físico que puede provocar un determinado ejercicio, como ya

se ha puesto de manifiesto en algunos estudios (Filaire y cols, 1998; Nishikaze, 2000). No obstante, esta hipótesis y estas relaciones deben ser refrendadas y corroboradas en futuras investigaciones.

En el caso de nuestros universitarios (Tabla XII A), poco entrenados, que han desarrollado un trabajo de fuerza submáxima a través de pesas, los rangos de variación en % de los diferentes cocientes estudiados son; para T/THC un descenso del 17.20%, para DHEA/THC un descenso del 20.81 %, en el caso del T/THCol se produce un descenso del orden del 25% y en DHEA/THCol hablamos del 27.4%. Y en el caso de los ciclistas (Tabla XII B) que han realizado una etapa, sus rangos de variación respectivos son; para T/THC un descenso del 44.79%, si hablamos del DHEA/THC se produce un descenso del 44.56 %, en el T/THCol se ha producido un descenso de hasta el 64.46 % y el DHEA/THCol desciende en un 63.97 %.

Estos valores o rangos de variación nos pueden aportar una información objetiva sobre el nivel de estrés inducido por una sesión de pesas o por una etapa ciclista. En este caso, a simple vista, podemos observar que el estrés sufrido por los ciclistas en la etapa es mayor que el sufrido por los universitarios en la sesión de pesas, puesto que aunque los primeros tienen presumiblemente una mejor forma física y se adaptan mejor al esfuerzo físico, han experimentado mayor variación en estos cocientes, pues la duración y la intensidad del esfuerzo ha sido mucho mayor. Ello indica que las relaciones estudiadas son sensibles al estrés físico.

IV.C. EFECTOS DEL ENTRENAMIENTO CONTINUADO SOBRE EL PERFIL ESTEROIDEO

En este apartado se pretende poner de manifiesto el hecho de que el entrenamiento prolongado y continuado a lo largo de los años provoca una serie de variaciones en el perfil esteroideo (andrógenos, corticosteroides y estrógenos); que se pueden entender como una adaptación al entrenamiento. Para ello se coge al grupo de universitarios, como grupo control, y se comparan sus orinas en reposo con las del grupo de ciclistas, deportistas que llevan 5 ò 6 años entrenando al máximo nivel.

IV.C.1. Andr6genos.

A nivel general se puede observar que la excreci6n urinaria en reposo de andr6genos de origen testicular, testosterona, epitestosterona y sus metabolitos, es menor en el caso de los ciclistas que en el de los universitarios. Por otro lado, los ciclistas presentan mayores niveles en la excreci6n urinaria de andr6genos de origen suprarrenal, dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenodiona, que los universitarios. Los ciclistas tambi6n presentan niveles de epiandrosterona mayores que los de los universitarios, aunque sin llegar a la significaci6n.

Observando la tabla XIII, podemos comprobar como los niveles de testosterona de los universitarios se sitúan en 496.92 ± 182 ng/ml y los de los ciclistas en 293.5 ± 197.9 ng/ml, diferencia que es estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

En el caso de la androstenodiona, andr6geno de origen suprarrenal, tambi6n se observa una variaci6n significativa, en este caso de $p < 0.01$. Los universitarios presentan niveles de 40.85 ± 17.20 ng/ml, mientras que los ciclistas presentan niveles de 98.125 ± 87.36 ng/ml.

Tabla XIII. Comparaci6n de andr6genos urinarios en reposo entre universitarios y ciclistas. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | Universitarios | Ciclistas | Significaci6n |
|----------------------------------|--------------------|--------------------|---------------|
| Androsterona + Etiocolanolona | 3829.22 ± 2002 | 3530.6 ± 1508 | NS |
| Testosterona (T) | 496.92 ± 182 | 293.5 ± 197.9 | * |
| Epitestosterona | 173.57 ± 88.46 | 135.4 ± 57.8 | NS |
| Dehidroepiandrosterona (DHEA) | 178.30 ± 97.6 | 197.3 ± 144.2 | NS |
| Androstenodiona | 40.85 ± 17.20 | 98.125 ± 87.36 | ** |
| Epiandrosterona | 10.11 ± 58 | 33.25 ± 26.42 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. **NS**. Variaciones no significativas

Estos resultados se ven confirmados en algunos estudios en los que se demuestra que corredores en reposo presentan menores niveles de testosterona sanguínea que un grupo control (Struder y cols, 1999) o que jugadores de balonmano presentan niveles de Testosterona menores que individuos sedentarios (Filaire y Lac, 2000). En este mismo sentido, los niveles de testosterona en sujetos entrenados son menores que los de sujetos no entrenados tras haber realizado un mismo ejercicio (Martín CL y cols, 2000, McColl y cols, 1989, Hackney y cols 1990).

Este descenso de andrógenos testiculares en los ciclistas puede ser reflejo de una menor producción de testosterona por parte de los testículos, puesto que los deportistas, como consecuencia de un fenómeno de adaptación al entrenamiento, hacen una mejor utilización de la testosterona a nivel muscular (Hakkinen y cols, 1987,1988,1989).

Sin embargo, en el caso de los andrógenos de origen suprarrenal, dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenodiona, los ciclistas presentan una excreción superior a la de los universitarios. Podemos dar una doble explicación a estos resultados.

Por un lado, la DHEA y la androstenodiona son precursores de la testosterona, y dado que los niveles de testosterona son más bajos se produciría una activación de la glándula suprarrenal para tratar de elevar los niveles de testosterona, por lo que su eliminación sería mayor.

Y por otro lado, está comprobado como en situaciones estresantes se produce una estimulación del hipotálamo, que activa la hipófisis que secreta la adrenocórtico-tropa-hormona (ACTH), actuando sobre la corteza suprarrenal (Franchimont P y cols, 1975) y elevando la producción hormonal.. En este sentido, es preciso decir, que los ciclistas del estudio se encontraban a mitad de temporada, en un periodo competitivo, y aunque estén en reposo, presentan un cierto grado de desgaste físico y de estrés, por eso presentan concentraciones urinarias de hormonas de origen suprarrenal más altas que en los universitarios.

Los niveles superiores de epiandrosterona en los ciclistas sobre los universitarios, se puede entender por el hecho de que la epiandrosterona puede proceder tanto de la testosterona como de la androstenodiona. Dado que los niveles de androstenodiona en reposo de los ciclistas son mucho más elevados que los de los universitarios, puede ser que la eliminación de epiandrosterona esté elevada en los primeros.

IV.C.2 Corticosteroides

La excreción urinaria de los metabolitos del cortisol, los 17-hidroxycorticosteroides (17-OHCS), aparece reflejada en la tabla XIV.

Se observa como los niveles de los ciclistas son superiores a los de los universitarios, llegando a ser significativos ($p < 0.01$), en el caso del Tetrahydrocortisol (THCol). En este caso los universitarios presentan niveles de 1234.98 ± 869.2 ng/ml, por niveles de 1508 ± 770.8 ng/ml en los ciclistas.

Tabla XIV. Comparación de corticosteroides urinarios en reposo entre universitarios y ciclistas. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | Universitarios | Ciclistas | Significación |
|----------------------------|---------------------|-------------------|---------------|
| Tetrahydrocortisona (THC) | 1090.7 ± 1021.7 | 1110 ± 382.08 | NS |
| Tetrahydrocortisol (THCol) | 1234.98 ± 869.2 | 1508 ± 770.8 | * |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. NS. Variaciones no significativas

Esta elevación en la excreción de metabolitos de cortisol puede ser reflejo de un aumento de la producción de cortisol por parte de la glándula suprarrenal, y apoya la hipótesis de que se produce una activación de dicha glándula. Una prueba más de este hecho la hemos visto antes con el aumento de los niveles de andrógenos suprarrenales. Vuelvo a repetir que los ciclistas se encontraban al inicio del periodo competitivo, y por tanto, estaban sometidos a cierto grado de estrés.

Estos resultados se ven apoyados por otras investigaciones en las que se observa como los niveles de cortisol sanguíneo y ACTH, en reposo, de corredores altamente entrenados son mayores que los de un grupo de sedentarios o de moderadamente entrenados (Luger y cols, 1987).

IV.C.3. Estrógenos y progesterona

En este apartado tratamos de presentar las diferencias que pueden darse entre los procesos de aromatización (paso de andrógenos a estrógenos) de los individuos no entrenados (en este caso universitarios) y de los individuos entrenados (ciclistas).

En la tabla XV podemos observar que existen importantes diferencias en los niveles de estrógenos y progesterona entre los universitarios y los ciclistas de nuestro estudio.

Tabla XV. Comparación de estrógenos y progestógenos urinarios en reposo entre universitarios y ciclistas. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | Universitarios | Ciclistas | Significación |
|--------------|----------------|---------------|---------------|
| Estrona | 25.11 ± 12.5 | 135.1 ± 141.9 | ** |
| β-Estradiol | 97.74 ± 37.4 | 13.20 ± 3.08 | ** |
| Progesterona | 39.56 ± 29.5 | 83 ± 56.9 | * |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. **NS.** Variaciones no significativas

Centrándonos en la excreción de estrógenos podemos comprobar que existen diferencias muy significativas ($p < 0.01$) entre un grupo y otro. En el caso de la estrona, los universitarios presentan niveles de 25.11 ± 12.5 ng/ml por 135.1 ± 141.9 ng/ml de los ciclistas, y en el caso del β-Estradiol, los universitarios presentan niveles de 97.74 ± 37.4 ng/ml por 13.20 ± 3.08 ng/ml de los ciclistas.

Si nos fijamos ahora en la progesterona podemos observar que los universitarios presentan niveles significativamente ($p < 0.05$) más bajos que los ciclistas, 39.56 ± 29.5 ng/ml los universitarios y 83 ± 56.9 ng/ml los ciclistas.

Si existe una mayor excreción de estrógenos podemos pensar que su producción es mayor. Por otro lado, en los hombres, una gran parte de estrógenos se producen por un proceso de aromatización a partir de los andrógenos. Teniendo esto en cuenta, podríamos concluir que la aromatización periférica en reposo de androstenodiona a estrona es mucho mayor en el caso de los ciclistas que en el de los universitarios, puesto que sus niveles de androstenodiona en reposo son mucho mayores. Además, ya hemos comentado como la androstenodiona, en los sujetos poco entrenados, tiene como objetivo fundamental servir de precursor de la testosterona. Por ello la aromatización en universitarios, de androstenodiona a estrona es menor, y por eso los niveles de estrona en orina son menores.

Sin embargo, la aromatización de testosterona a β -estradiol, es mucho mayor en el caso de los universitarios que en el de los ciclistas, puesto que presentan niveles de testosterona en reposo mucho más elevados que los de los ciclistas, y por tanto la excreción de B-Estradiol será mayor. Y probablemente los ciclistas utilicen más y mejor sus niveles de testosterona, con lo que el “escape” de la transformación a B-estradiol será menor.

Solamente queda hablar de la concentración urinaria de progesterona en ambos grupos. La excreción de progesterona en los ciclistas es mayor que la de los universitarios. En la vía delta 4 de síntesis de esteroides, ya hemos visto como la progesterona se va a transformar en androstenodiona.. En los ciclistas dado que tienen altos niveles iniciales de androstenodiona, como consecuencia de la activación de la glándula suprarrenal, y que no requieren producir mucha más testosterona a partir de la androstenodiona, puesto que tienen suficiente con los niveles que presentan (Filare y cols, 2000; Kraemer y cols, 1992), los niveles de progesterona existentes tienden a ser eliminados por la orina, puesto que hay un excedente.

IV.C.4. Relaciones

Finalmente trataremos de ver como influye el entrenamiento continuado de varios años sobre las relaciones andrógenos/corticosteroides.

Estas relaciones nos pueden indicar el estado anabólico/catabólico en el que se encuentra un deportista. Los resultados están reflejados en la tabla XVI, y a simple vista podemos comprobar que todas las relaciones estudiadas; T/E, T/THC, T/THCol, DHEA/THC y DHEA/THCol, presentan menores niveles en el caso de los ciclistas que en el de los universitarios. Estas diferencias serían muy significativas ($p < 0.01$) en el caso del T/THC y del T/THCol, y significativas ($p < 0.05$) en el caso del de DHEA/THC y de T/E.

En la tabla XVI, que figura a continuación, podemos observar como el T/THC de los universitarios se sitúa en 0.93 ± 0.98 , por 0.288 ± 0.206 de los ciclistas. Para el T/THCol los universitarios presentan valores de 0.52 ± 0.33 y los ciclistas de 0.197 ± 0.09 , y en el caso del DHEA/THC la diferencia es menor; los universitarios tienen valores del orden de 0.293 ± 0.28 y los ciclistas de 0.184 ± 0.11 . Si nos fijamos ahora en la relación testosterona/epitestosterona (T/E) comprobamos que los universitarios presentan una relación de 3.66 ± 2.03 y los ciclistas de 2.27 ± 1.36 .

Tabla XVI. Comparación de las relaciones estudiadas en reposo entre universitarios y ciclistas

| Sustancia | Universitarios | Ciclistas | Significación |
|--|------------------|-------------------|---------------|
| Testosterona/epitestosterona (T/E) | 3.66 ± 2.03 | 2.27 ± 1.36 | * |
| Testosterona/Tetrahydrocortisona (T/THC) | 0.93 ± 0.98 | 0.288 ± 0.206 | ** |
| Testosterona/Tetrahydrocortisol (T/THCol) | 0.52 ± 0.33 | 0.197 ± 0.09 | ** |
| Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisona (DHEA/THC) | 0.293 ± 0.28 | 0.184 ± 0.11 | * |
| Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisol (DHEA/THCol) | 0.171 ± 0.08 | 0.161 ± 0.16 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. NS. Variaciones no significativas

Estos valores de los ciclistas se pueden entender como una adaptación del organismo al entrenamiento. Como consecuencia del entrenamiento continuado que han realizado los ciclistas, la excreción urinaria de testosterona ha disminuido, probablemente reflejo de una disminución en su producción, y la excreción de metabolitos del cortisol ha aumentado, de ahí que se obtengan estos resultados. En el caso del DHEA/THC y del DHEA/THCol, también descienden puesto que la subida de la tetrahydrocortisona (THC) y del Tetrahydrocortisol (THCol) es mucho mayor que la de la dehidroepiandrosterona (DHEA). Estos resultados se ven confirmados en otros estudios (Filaire y cols, 2000).

IV.D. EFECTO CRÓNICO.

IV.D.1. Evolución del nivel de fuerza máxima

En la tabla XVII se encuentran los efectos producidos tras el entrenamiento en el nivel de fuerza muscular de los individuos y en su peso. Aparecen los kilogramos máximos que los sujetos son capaces de levantar en cada uno de los ejercicios en una repetición máxima (1RM) y al final de la tabla aparece el peso medio de los individuos y su evolución. Podemos ver como en todos los ejercicios se ha aumentado el nivel de kilogramos que son capaces de levantar en 1RM, de forma significativa ($p < 0.01$), y como también ha aumentado el peso de los individuos, aunque en este caso no llega a tener significación.

En general se acepta que el nivel de fuerza máxima alcanzada y la adaptación de la masa muscular al entrenamiento intensivo es específico del tipo de preparación utilizada. En multitud de estudios se ha demostrado un aumento de la fuerza tras varias semanas de entrenamiento (Hakkinen k. y cols, 2000; Ben-Sira D y cols, 1995). El peso es el factor determinante más importante de la fuerza de carga, el cual se incrementa por el entrenamiento de pesas (Peterson y cols, 1991; Ferrando y cols, 1993). Unido a este hecho podemos decir que la ganancia de fuerza se puede producir por dos caminos: logrando una mayor hipertrofia y por lo tanto un aumento de peso, o mejorando la utilización sincronizada de las unidades motrices. Y en este punto tenemos que recordar que las primeras adaptaciones que se producen al entrenamiento de fuerza son de tipo

neural (se puede generar tensión porque es capaz de reclutar un mayor número de unidades motrices), para posteriormente producirse adaptaciones a nivel muscular.

Tabla XVII. Evolución del nivel de fuerza máxima de los diferentes grupos musculares tras 4 semanas de entrenamiento, Valores expresados en Kg.

| Ejercicio | Antes del entrenamiento | Después de 4 Semanas de entrenamiento | Significación |
|--------------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------|
| Bíceps | 28.95 ± 3.85 | 35.27 ± 6.48 | ** |
| Press de banca | 57 ± 11.62 | 71.31 ± 13.47 | ** |
| Polea dorsal | 60.45 ± 9.07 | 72.36 ± 10.26 | ** |
| Tríceps | 29.09 ± 5.78 | 35.81 ± 6.84 | ** |
| Isquiotibiales | 53.18 ± 6.8 | 61.81 ± 10.06 | ** |
| Prensa de piernas | 77.27 ± 15.55 | 107.27 ± 21.01 | ** |
| Press tras nuca | 42.72 ± 7.09 | 51.59 ± 10.50 | ** |
| Peso de los sujetos (Kg) | 75.28 ± 9.58 | 76.68 ± 9.82 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. **NS.** Variaciones no significativas

En nuestro estudio, los sujetos han aumentado de forma muy significativa ($p < 0.01$) su fuerza máxima en aquellos grupos que han trabajado, sin embargo, el peso ha aumentado, pero no de forma significativa. Esto es reflejo de que el aumento de la fuerza se ha debido fundamentalmente a factores nerviosos, puesto que los sujetos de estudios eran universitarios que no realizaban trabajo de fuerza de forma continua y sistemática, y además el entrenamiento no duró más de 4 semanas.

IV.D.2. Variación de la creatinina urinaria

La creatinina es sintetizada en el riñón, el hígado y el páncreas. Una cierta cantidad de creatinina libre es transformada cotidianamente a creatinina y esta cantidad

de creatinina producida es proporcional a la masa muscular del sujeto. En ausencia de patología renal, las tasas de excreción de creatinina son relativamente constantes, no se modifican ni con el ejercicio físico ni con las variaciones del catabolismo. Por tanto, este parámetro nos puede servir para determinar el grado de concentración que tiene la orina y ver la excreción real de determinadas sustancias. De ahí, que en ocasiones se utilice como factor de corrección para observar las concentraciones urinarias de metabolitos, puesto que en caso de que la orina esté muy concentrada se pueden provocar sobreestimaciones de los valores reales.

Los valores normales de la concentración de creatinina en orina, establecidos con la ayuda de los mismos métodos que los utilizados en este estudio, son los siguientes (Tobias GJ y cols, 1962):

Hombres : 1,1 - 2,8 (g/24 horas)

Mujeres: 0,9 – 1,6 (g/24 horas)

Las concentraciones urinarias de creatinina quedan expuestas en la tabla XVIII. Se presentan los niveles de creatinina, puesto que posteriormente las concentraciones urinarias de los diferentes esteroides se darán en relación a ellos.

Tabla XVIII . Variaciones del perfil urinario de creatinina tras cuatro semanas de entrenamiento. Valores expresados en miligramos/litro

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|------------|-----------------------------------|-------------|---------|----------|---|-------------|---------|----------|------------------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Creatinina | 1216.1 | 1383.04 | 1067 | 939.3 | 1015.3 | 1580.54 | 1467.1 | 1056.6 | * A-B, A-D ** E-F, EG |
| | ± 218.47 | ± 278.49 | ± 243 | ± 320.9 | ± 354.1 | ± 360.50 | ± 378.9 | ± 369.3 | |

*. p< 0.05. **. p<0.01.

Como podemos observar, inmediatamente después de la realización de la primera sesión se observa un aumento significativo ($p < 0.05$) con respecto al reposo, se pasa de 1216.1 ± 218.47 a 1383.04 ± 278.49 mg/l. Posteriormente a las 3 horas se produce un descenso, descenso que continúa y llega a la significación ($p < 0.05$) a las 48 horas de haber finalizado; se llega hasta 939.3 ± 320.9 mg/l.

Si observamos los resultados obtenidos tras haber finalizado el programa de entrenamiento, vemos como el comportamiento de la creatinina urinaria es similar, tras el ejercicio aumenta la concentración de creatinina y después comienza a bajar. Inmediatamente después del ejercicio los niveles han aumentado de forma muy significativa ($p < 0.01$), de 1015.3 ± 354.1 se pasa a 1580.5 ± 360.50 mg/l. Luego, a las 3 horas comienzan a bajar, aunque todavía permanecen elevados significativamente ($p < 0.01$) con respecto al reposo (se encuentra en niveles de 1467.1 ± 378.9 mg/l), y a las 48 horas podemos ver como los niveles han seguido bajando hasta 1056.6 ± 369.3 mg/l..

Si comparamos los niveles en reposo de antes y después del entrenamiento podemos observar como se ha producido un descenso. Se pasa de 1216.1 ± 218.47 a 1015.3 ± 354.1 mg/l, aunque no presenta significación.

Las variaciones producidas en nuestro estudio en los niveles de creatinina indican que tras el ejercicio intenso se produce una hemoconcentración con lo que la creatinina aparece más alta. Posteriormente al ejercicio la concentración aparece en menores cantidades, puesto que es normal hidratarse y reponer líquidos una vez acabado el ejercicio intenso.

En las próximas páginas, una vez presentadas las tablas de resultados, se hará la discusión para cada una de las hormonas esteroideas. Trataremos de comparar las concentraciones obtenidas de forma absoluta (ng/ml) con las concentraciones obtenidas una vez que se ha aplicado el factor de corrección para la creatinina (valores que vendrán expresados en $\mu\text{g de esteroide/mg de creatinina en orina}$), para ver la validez de los resultados puesto que gracias a la creatinina podremos determinar los valores reales de la excreción. En primer lugar se explicará lo ocurrido a las 3 horas y a las 48 horas de finalizar la sesión realizada antes del entrenamiento y posteriormente, se

analizará lo ocurrido tras la realización de la sesión que se planteó una vez acabado el programa de entreno, valorando los posibles cambios producidos entre antes y después de las 4 semanas de trabajo.

IV.D.3. Variaciones del perfil esteroideo. Efecto crónico a lo largo de cuatro semanas de entrenamiento.

IV.D.3.1. Androsterona + Etiocolanolona

A continuación se presentan los valores referidos a los metabolitos de la testosterona (17-cetoesteroides), que siguen un comportamiento similar al de la testosterona (su sustancia de origen) tras la realización de un ejercicio.

Tabla XIX A. Concentración urinaria de Androsterona + Etiocolanolona. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------------|---------|----------|---|-------------|----------|----------|----------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Androsterona + Etiocolanolona | 3829.2 | 3800.6 | 3749 | 3868.1 | 4016.4 | 3904.2 | 3885.7 | 4086.3 | * A-C, B-C, E-F, E-G |
| | ± 2002.2 | ± 2033.7 | ± 2027 | ± 2042.4 | ± 2117.9 | ± 2124.8 | ± 2057.8 | ± 2182 | |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Fijándonos en la Tabla XIX A, a las 3 horas de acabar el ejercicio, tanto en la primera semana como tras finalizar el entrenamiento, se observa un descenso significativo ($p < 0.05$) con respecto al reposo. Para después a las 48 horas, volver a subir, incluso por encima de los niveles iniciales, aunque sin presentar significación.

Estos resultados están en consonancia con los obtenidos en la tabla XIX B, en la que se hace referencia a las concentraciones en relación a la concentración de creatinina. Comparando los resultados podemos observar que no se van a producir grandes diferencias en la interpretación de los mismos.

Tabla XIX B. Concentración urinaria de Androsterona + Etiocolanolona una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno | | | | Significación |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------------|------------|-----------|--|-------------|-----------|------------|--|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Androsterona + Etiocolanolona | 3.157 | 2.777 | 3.72 | 4.42 | 4.72 | 2.67 | 2.817 | 5.27 | * A-D, A-E ** A-B, E-F, E-G |
| | \pm 1.45 | \pm 1.4 | \pm 2.44 | \pm 2.3 | \pm 3.66 | \pm 1.75 | \pm 1.6 | \pm 5.33 | |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina y tal y como se observa en la tabla XIX B, podemos comprobar como inmediatamente después del ejercicio, tanto durante la primera semana como una vez finalizado el programa de entrenamiento, se produce un descenso. Tras estos descensos, a las 3 horas las concentraciones de metabolitos comienzan a subir y siguen subiendo hasta las 48 horas, alcanzando incluso niveles superiores a los del reposo.

Tras la realización de la primera sesión del programa se produce un descenso muy significativo ($p < 0.01$), se pasa de 3.157 ± 1.45 a $2.77 \pm 1.4 \mu\text{g}/\text{mg}$ y a las 48 horas se produce una elevación aún mayor, que es significativa ($p < 0.05$) con respecto al reposo, va de $3.157 \pm 1.45 \mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo a $4.42 \pm 2.3 \mu\text{g}/\text{mg}$ a las 48 horas.

Durante la sesión realizada tras finalizar el programa de entrenamiento se observa un descenso muy significativo ($p < 0.01$) inmediatamente después del ejercicio, va de 4.72 ± 3.66 a $2.67 \pm 1.75 \mu\text{g}/\text{mg}$, a las tres horas se produce una pequeña elevación con respecto a después del ejercicio pero aún esta significativamente descendido ($p < 0.01$) con respecto al reposo (niveles de $2.817 \pm 1.6 \mu\text{g}/\text{mg}$).

La interpretación de estos resultados podría indicar que la mayor o menor cantidad de metabolitos estará en función de la cantidad de testosterona que se elimine, puesto que la testosterona es el producto del que proceden dichos metabolitos. Una vez

finalizada la fase anabólica en la que el organismo retiene una mayor cantidad de testosterona, a las 48 horas comienza a metabolizarse por el hígado una mayor cantidad de testosterona, y por tanto aparecerán más metabolitos. Proceso que probablemente empiece antes de las 48 horas, puesto que como se observa a las tres horas después del ejercicio ya se produce una elevación de la excreción con respecto a inmediatamente después del ejercicio.

Por otro lado, en la tabla XIX B, al comparar los niveles en reposo entre antes y después del programa de entrenamiento, queda reflejado un aumento significativo ($p < 0.05$) como consecuencia del programa de entrenamiento, se pasa de 3.157 ± 1.45 a 4.72 ± 3.66 $\mu\text{g}/\text{mg}$. En la tabla XIX A se produce también un aumento aunque sin llegar a la significación.

En este caso, como consecuencia del entrenamiento, la cantidad de testosterona metabolizada será mayor, puesto que el organismo la retiene menos, y por tanto aumentará la cantidad de metabolitos. Estos resultados son similares a los obtenidos en otro estudio en el que se observó como en un grupo de remeros se producía una elevación de los niveles urinarios de los 17 cetoesteroides (metabolitos de la testosterona) tras 23 días de entrenamiento en altitud, a una intensidad menor de 2 mmol/l, (Fischer y cols, 1992).

Otra explicación factible de ese aumento en la concentración urinaria de metabolitos de testosterona en reposo tras el programa de entrenamiento, puede deberse a los niveles de androstenodiona. Hay que conocer que a partir de la androstenodiona también pueden aparecer metabolitos como la androsterona y la eticolanolona (Catlin DH y cols, 2000). De tal forma que si nos fijamos en la excreción urinaria de androstenodiona (Tablas XXIII A y XXIII B) podemos ver como se ha producido un aumento tras el programa de entrenamiento (pasa en reposo de 40.8 ± 17.20 a 46.1 ± 18.94 ng/ml o de 0.034 ± 0.016 a 0.054 ± 0.033 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en relación a la creatinina), hecho que podría ser también el causante del aumento de la androsterona y la eticolanolona.

IV.D.3.2. Testosterona

En las tablas XX A y XX B se recogen los valores de las concentraciones urinarias de testosterona en universitarios, en valores absolutos (ng/ml) y en relación a la eliminación de creatinina ($\mu\text{g}/\text{mg}$), respectivamente. Podemos comprobar como los valores expresados en relación a la creatinina, tabla XX B, vienen a confirmar los resultados absolutos expresados en la tabla XX A, solamente hay diferencias en el reposo entre antes y después del programa

Tabla XX A. Concentración urinaria de Testosterona. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|--------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|---|-------------------------|---------------------|-------------------------|--|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Testosterona | 496.9 \pm 182.8 | 474 \pm 176.58 | 329.6 \pm 171.5 | 456.1 \pm 217 | 467 \pm 200 | 449.4 \pm 195.3 | 341 \pm 161 | 408.8 \pm 163.5 | ** A-B, A-C, B-C, C-D, E-F, E-G, F-G |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Si observamos la tabla XX A y nos centramos en la sesión inicial, podemos ver como inmediatamente después del ejercicio se produce un descenso muy significativo ($p < 0.01$), se pasa de 496.9 ± 182.2 a 474 ± 176.58 ng/ml. A las 3 horas se produce el mayor descenso en los niveles de testosterona, se llega hasta una concentración de 329.6 ± 171.5 ng/ml. Este descenso es muy significativo ($p < 0.01$) con respecto a la concentración de testosterona urinaria en reposo. Y sin embargo, posteriormente, a las 48 horas de haber finalizado, los niveles de testosterona comienzan a elevarse aproximándose a los niveles en reposo aunque sin llegar a conseguirlo. Este aumento presenta una significación ($p < 0.01$) con respecto a los niveles encontrados a las 3 horas de haber finalizado.

Si nos fijamos ahora en los resultados obtenidos tras la finalización del programa, podemos ver como la dinámica que sigue la testosterona después, a las 3h y a

las 48h del ejercicio es similar a la de la 1º semana. Primero se produce un descenso muy significativo ($p < 0.01$), se pasa de 467 ± 200 a 449.4 ± 195.3 ng/ml, alcanzando los niveles más bajos a las 3h (341 ± 161 ng/ml) con significación ($p < 0.01$) con respecto al reposo. Finalmente a las 48 horas ya se encuentran mucho más elevados, aunque sin llegar a los niveles de reposo.

Tabla XX B . Concentración urinaria de Testosterona una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno | | | | Significación |
|--------------|-----------------------------------|----------------|---------------|----------------|--|----------------|---------------|---------------|---|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Testosterona | 0.426 | 0.363 | 0.32 | 0.550 | 0.583 | 0.319 | 0.274 | 0.581 | * A-C, A-D ** A-B, E-F, E-G |
| | \pm 0.193 | \pm 0.172 | \pm 0.18 | \pm 0.331 | \pm 0.501 | \pm 0.217 | \pm 0.23 | \pm 0.71 | |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

En la tabla XX B, queda reflejado que la cinética de la testosterona una vez que se la aplicado el factor de corrección para la creatinina, es similar a lo expresado anteriormente. Durante la primera semana aparecen variaciones muy significativas ($p < 0.01$) entre antes e inmediatamente después del ejercicio, y variaciones significativas ($p < 0.05$) entre antes y a las 3 horas, y entre antes y a las 48 horas. Al final del programa de entrenamiento se producen variaciones muy significativas ($p < 0.01$) entre antes y a las 3 horas y a las 48 horas.

Estos resultados se ven confirmados por otros estudios en los que se observó como los niveles de testosterona plasmática permanecían disminuidos una hora después de haber finalizado la segunda sesión de fuerza en un mismo día (Hakkinen y cols, 1988) o por otra investigación en la que tras realizar una carrera de 45 minutos a un ritmo de 3,3 minutos por kilómetros, los niveles plasmáticos de testosterona

permanecieron significativamente descendidos hasta pasadas tres horas de haber finalizado el ejercicio. (Kuoppasalmi y cols, 1980).

En este sentido, se puede pensar en el hecho de que una vez finalizada la sesión de fuerza los niveles urinarios de testosterona son bajos, puesto que la eliminación es menor, ya que la testosterona permanecería retenida en el organismo para lograr el entorno anabólico que se busca con el entrenamiento, y de esta forma se favorecería la síntesis de proteínas contráctiles. Además, la testosterona llega a un gran número de receptores de las células diana de la musculatura (García Manso y cols, 2001). A las 48 horas ha quedado reflejado como el individuo trata de volver a sus niveles iniciales. Esto indicaría que el individuo ya está recuperado en su mayor parte y los niveles urinarios de testosterona comienzan a ser normales. Sería este el momento adecuado para aplicar una nueva carga de entrenamiento. En relación con este tema se plantea que el tiempo total que dura la sesión de entrenamiento de fuerza es un factor determinante para el tiempo en el que los niveles de testosterona permanecen alterados (Hakkinen y cols, 1988; Guglielmini y cols, 1984), también se ha comentado que otro factor determinante en la variación de los niveles de testosterona va a ser la duración de las recuperaciones (Bosco, 1995).

Volviendo a los resultados obtenidos en la tabla XX B, la principal diferencia con respecto a los valores absolutos es, que cuando hablamos en relación a la creatinina, se produce un aumento no significativo, y no un descenso, en los valores en reposo entre antes y después del programa de entrenamiento. Al inicio presenta valores de $0.426 \pm 0.193 \mu\text{g}/\text{mg}$ y después del programa valores de $0.583 \pm 0.501 \mu\text{g}/\text{mg}$. Cuando los valores aparecen expresados en ng/ml (Tabla XX A) vemos que la excreción en reposo después del programa de entrenamiento es menor, aunque sin presentar significación. Al final del programa presenta $467 \pm 200 \text{ ng}/\text{ml}$ por $496.9 \pm 182.8 \text{ ng}/\text{ml}$ al inicio del mismo.

A partir de estos resultados podríamos pensar que la producción de testosterona ha aumentado tras el entrenamiento puesto que su eliminación es mayor. Sin embargo, en otros estudios se observó un descenso en la testosterona plasmática tras la realización de 3 semanas de la Vuelta Ciclista a España (Lucía y cols, 2001), tras 10 días en los que

se aumento el volumen de entrenamiento (Flynn y cols, 1997) o tras 4 semanas intensas de entrenamiento en un grupo de levantadores de peso (Busso y cols, 1992). Incluso también se ha observado como los deportistas, tras varios años de entrenamiento, tienen en reposo niveles de testosterona más bajos que los sedentarios (Filaire y Lac, 2000; Struder y cols, 1999).

Ante estos resultados solamente podemos concluir que la excreción urinaria de testosterona es mayor. Esto indicaría que la retención de testosterona por parte del organismo es menor, hecho que podría entenderse como un fenómeno de adaptación al entrenamiento. El organismo necesita, tras finalizar el programa de entrenamiento, menos testosterona que al principio para hacer frente a la misma carga de trabajo o también puede ser que se haga un mejor uso de la testosterona existente o que se produzca un aumento en el número de los receptores celulares.

IV.D.3.3. Epitestosterona.

Los datos referidos a la epitestosterona quedan recogidos en las tablas XXI A y XXI B. La evolución de la epitestosterona en ambos casos es similar. Tras el ejercicio se produce un descenso, luego a las tres horas comienza a aumentar y finalmente a las 48 horas se llega a niveles más altos que en el reposo.

Tabla XXI A. Concentración urinaria de Epitestosterona. Valores expresados en ng/ml

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------------|-----------------------------------|-------------|-----------|------------|---|-------------|-----------|-----------|------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Epitestosterona | 173.5 | 169.89 | 170.4 | 232.6 | 200.4 | 195.6 | 195.7 | 269.6 | ** A-D, A-E, E-H |
| | ± 88.46 | ± 88.63 | ± 87.5 | ± 94.27 | ± 83.82 | ± 82.97 | ± 84.4 | ± 99.7 | |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Fijándonos en la tabla XXI A, en las concentraciones obtenidas tras la realización de la primera sesión vemos como se produce un descenso no significativo,

va de 173.5 ± 88.46 a 169.89 ± 88.63 ng/ml, luego a las 3 horas aumenta un poco la concentración (170.4 ± 87.5 ng/ml), para finalmente a las 48 horas aumentar de forma muy significativa ($p < 0.01$), incluso por encima de los niveles de reposo (Va de 173.5 ± 88.46 ng/ml en reposo a 232.6 ± 94.27 ng/ml a las 48 horas).

Si nos centramos ahora en las concentraciones que se obtuvieron tras la realización de la sesión final, tras haber finalizado el programa de entrenamiento, observamos que la cinética es similar. Primero un descenso no significativo, va de 200.4 ± 83.82 a 195.6 ± 82.97 ng/ml, luego a las 3 horas se observa un pequeño aumento no significativo con respecto al reposo (195.7 ± 84.4 ng/ml) y luego, a las 48 horas, se observa un crecimiento muy significativo ($p < 0.01$) (Se llega incluso hasta 269.6 ± 99.7 ng/ml).

Tabla XXI B. Concentración urinaria de Epitestosterona una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------------|-----------------------------------|-------------|------------|-------------|---|-------------|-------------|------------|---|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Epitestosterona | 0.146 | 0.129 | 0.16 | 0.282 | 0.238 | 0.134 | 0.218 | 0.348 | * A-D, A-E ** A-B, E-F, E-H |
| | ± 0.07 | ± 0.07 | ± 0.09 | ± 0.156 | ± 0.159 | ± 0.07 | ± 0.212 | ± 0.32 | |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Centrándonos ahora en la tabla XXI B, y más concretamente en la primera sesión del programa, observamos como tras el ejercicio se produce un descenso muy significativo ($p < 0.01$), se pasa de 0.146 ± 0.07 a 0.129 ± 0.07 $\mu\text{g}/\text{mg}$, luego a las tres horas tiende a elevarse un poco, para luego a las 48 horas volver a elevarse, pero esta vez de forma significativa ($p < 0.05$) con respecto al reposo, se llega hasta 0.282 ± 0.156 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Tras la realización de la sesión que se planteó una vez finalizado el programa, se observa un descenso muy significativo ($p < 0.01$) inmediatamente después del

ejercicio, pasa de 0.238 ± 0.159 a 0.134 ± 0.07 $\mu\text{g}/\text{mg}$, a las 3 horas se eleva un poco pero todavía permanece por debajo de los niveles iniciales y finalmente a las 48 horas se produce un aumento muy significativo ($p < 0.01$) con respecto al reposo, se llega hasta 0.348 ± 0.32 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Observamos, a nivel general, que la cinética de la epitestosterona, a pesar de que su excreción sea independiente de la testosterona, sigue un patrón similar de comportamiento. La eliminación urinaria es baja durante las 3 primeras horas para favorecer el entorno anabólico, y posteriormente, cuando el individuo comienza a recuperarse aumenta la eliminación de la misma.

Por otra parte, observando la tabla XXI B (al igual que si observamos la tabla XXI A) podemos comprobar como se ha producido una elevación significativa ($p < 0.05$) entre los niveles en reposo antes del programa y los niveles en reposo de después del programa (de 0.146 ± 0.07 $\mu\text{g}/\text{mg}$ pasa a 0.238 ± 0.159 $\mu\text{g}/\text{mg}$), es decir, tras el programa de entrenamiento la eliminación urinaria de epitestosterona es mayor.

Este aumento en la eliminación podría ser un reflejo de un aumento en su producción. La epitestosterona se produce principalmente en los testículos a partir de 5-androstene-3beta,17alfa-diol, sustancia que también es intermediaria en la síntesis de testosterona. Puede suceder que como consecuencia del entrenamiento intenso el organismo se decante por la vía de síntesis de la epitestosterona y se frene un poco la de la testosterona, por lo que la eliminación urinaria de epitestosterona será mayor.

IV.D.3.4. Dehidroepiandrosterona (DHEA)

En la tabla XXII A queda reflejado que la evolución de la DHEA, en valores absolutos, es inversa a la de la androstenodiona, se observa un descenso progresivo en todos los puntos medidos.

Tabla XXII A Concentración urinaria DHEA (Dehidroepiandrosterona). Valores expresados en ng/ml

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------|-----------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|---|---------------------|---------------------|--------------------|----------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| DHEA | 178.3 ± 97.6 | 160 ± 83.61 | 151.3 ± 86.5 | 142.3 ± 76.1 | 157.3 ± 71.4 | 154.5 ± 68.64 | 150.1 ± 68.49 | 113.6 ± 51.9 | * A-C, E-G, E-H, F-H |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Si nos fijamos en la sesión inicial del programa observamos como a las 3 horas de finalizar el ejercicio se ha producido un descenso significativo ($p < 0.05$), se pasa de 178.3 ± 97.6 a 151.3 ± 86.5 ng/ml, y luego sigue bajando hasta las 48 horas.

Si ahora nos fijamos en la sesión que se realizó tras finalizar el programa se observan otros dos descensos significativo ($p < 0.05$), puesto que se pasa de 157.3 ± 71.4 ng/ml en reposo a 150.1 ± 68.49 ng/ml a las 3 horas y a 113.6 ± 51.9 ng/ml a las 48 horas.

Tabla XXII B. Concentración urinaria de Dehidroepiandrosterona (DHEA) una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------|-----------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---|---------------------|--------------------|---------------------|------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| DHEA | 0.151 ± 0.09 | 0.121 ± 0.07 | 0.14 ± 0.09 | 0.159 ± 0.07 | 0.193 ± 0.16 | 0.109 ± 0.072 | 0.115 ± 0.08 | 0.157 ± 0.176 | ** A-B, E-F, E-G |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

En la sesión inicial del programa, al aplicar el factor de corrección para la creatinina, se observa un descenso muy significativo ($p < 0.01$) inmediatamente después del ejercicio que va de $0.151 \pm 0.09 \mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo a $0.121 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{mg}$. Posteriormente a las 3 horas sube un poco aunque permanece por debajo de los niveles en reposo y a las 48 horas se ha llegado hasta unos niveles similares a los del reposo, contrariamente a lo que ocurría cuando nos referimos a valores absolutos.

Al fijarnos en la sesión que se realizó al final del programa de entrenamiento observamos otro descenso muy significativo ($p < 0.01$) inmediatamente después del ejercicio, va de $0.193 \pm 0.16 \mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo a $0.109 \pm 0.072 \mu\text{g}/\text{mg}$, posteriormente a las 3 horas sube un poco aunque permanece descendido de forma significativa ($p < 0.01$) con respecto al reposo ($0.115 \pm 0.08 \mu\text{g}/\text{mg}$). Finalmente, a las 48 horas ha subido un poco más aunque sin llegar a los niveles iniciales.

En un primer momento, viendo los valores absolutos y los valores en relación a la creatinina, parece normal que la eliminación de DHEA, después y a las tres horas del ejercicio (tanto durante la 1ª semana como una vez finalizado el programa de entreno), sea menor puesto que es preciso generar un entorno anabólico adecuado para la síntesis de proteínas. Tratando de explicar estos resultados podemos decir como en un estudio realizado por Marthur y cols en 1986 se confirmó como tras la realización de una maratón, la mayor parte de las hormonas plasmáticas comenzaron a volver a sus niveles basales, a excepción de la DHEA, que fue la última en hacerlo. En nuestra investigación, cuando nos referimos a valores absolutos, la dehidroepiandrosterona no ha vuelto a sus niveles basales a las 48 horas, sin embargo, cuando hablamos en relación a la creatinina, durante la sesión que se realizó al inicio del programa, vuelve a las 48 horas, y en la sesión que se realizó al final del programa se observa que a las 48 horas ha incrementado sus niveles, pero todavía presenta niveles bajos con respecto al reposo.

Si analizamos conjuntamente estos resultados con los de la androstenodiona, podemos concluir que el ejercicio presentado es lo suficientemente intenso como para provocar una alteración en el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal. De acuerdo con estos resultados también podemos corroborar la hipótesis de Filaire y Lac, 2000, en la

que plantea la DHEA como un marcador fisiológico de estrés más adecuado y válido que la testosterona, puesto que es más sensible a los cambios.

La principal diferencia entre los valores absolutos expresados en ng/ml (Tabla XXII A) y los valores expresados en relación a la creatinina (Tabla XXII B) se produce al comparar los niveles en reposo entre antes y después del programa. En los valores absolutos se observa un descenso importante, se pasa de 178.3 ± 97.6 a 157.3 ± 71.4 ng/ml, mientras que en los valores corregidos con el factor de corrección para la creatinina se produce una elevación en la excreción urinaria de Dehidroepiandrosterona, aunque sin llegar a la significación, se pasa de 0.151 ± 0.09 a 0.193 ± 0.16 µg/mg.

Esta elevación podría explicarse de dos formas. En primer lugar podemos decir que este aumento de la excreción urinaria de Dehidroepiandrosterona (DHEA) sería resultado de un aumento de su producción, al igual que sucedió con la androstenodiona, puesto que la DHEA es un precursor de la testosterona que también se produce, mayoritariamente, en la corteza suprarrenal. En este sentido, algunos estudios realizados en saliva demuestran que tras 16 semanas o tras 4 meses de entrenamiento se produjeron elevaciones en los niveles basales de DHEA (Filaire y cols, 1998, 1998). En segundo lugar se podría pensar que la eliminación es mayor puesto que el individuo ha hecho una adaptación al entrenamiento y requiere de menos cantidades de DHEA en el organismo para hacer frente a la sesión.

IV.D.3.5. Androstenodiona

A continuación se presentarán las concentraciones urinarias de androstenodiona. La cinética de la androstenodiona a lo largo del tiempo parece ser diferente si se observan los valores dados en la tabla XXIII A (ng/ml) o si se miran los de la tabla XXIII B (excreción en relación a la creatinina urinaria en µg/mg).

Podemos observar en la tabla XXIII A como las concentraciones urinarias de androstenodiona, expresadas en ng/ml, suben de forma progresiva. Queda reflejado como a las 3 horas presenta mayores niveles urinarios que en reposo y como a las 48

horas presenta mayores niveles que a las 3 horas, tanto durante la 1º semana como al final del periodo de entrenamiento. De tal forma que aparecen variaciones muy significativas ($p < 0.01$) entre el reposo y a las 3 horas y entre el reposo y a las 48 horas, en ambas sesiones. Estas elevaciones a las 3 horas y 48 horas se ven confirmadas al aplicar el factor de corrección para la creatinina, como ahora veremos.

Tabla XXIII A. Concentración urinaria de Androstenodion. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------------|-----------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|---|--------------------|-------------------|-----------------|--|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Androstenodiona | 40.8 ± 17.20 | 44.4 ± 17.94 | 50.5 ± 16.6 | 58.3 ± 15.7 | 46.1 ± 18.94 | 48.8 ± 17.55 | 52.5 ± 18.5 | 63.5 ± 17 | * A-B, F-G ** A-C, A-D, B-C, E-G, E-H |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Al aplicar el factor de corrección para la creatinina a estos datos, podemos comprobar variaciones, concretamente en los datos referidos a inmediatamente después del ejercicio. Estas variaciones aparecen reflejadas en la tabla XXIII B.

Tabla XXIII B. Concentración urinaria de Androstenodiona una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en µg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|--|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Androstenodiona | 0.034 ± 0.016 | 0.033 ± 0.015 | 0.049 ± 0.019 | 0.072 ± 0.042 | 0.054 ± 0.033 | 0.032 ± 0.013 | 0.037 ± 0.013 | 0.076 ± 0.057 | * E-F, E-H, C-D ** A-C, A-D |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Tras la realización de la primera sesión del programa, referidos a los valores en relación a la creatinina urinaria, se observa un pequeño descenso, aunque no significativo, para luego aumentar los niveles de forma muy significativa ($p < 0.01$) a las 3 horas ($0.049 \pm 0.019 \mu\text{g}/\text{mg}$) y a las 48 horas ($0.072 \pm 0.042 \mu\text{g}/\text{mg}$) con respecto al reposo ($0.034 \pm 0.016 \mu\text{g}/\text{mg}$). Si nos fijamos en la cinética tras la sesión que se realizó una vez finalizado el programa se observa un comportamiento similar. Inmediatamente después del ejercicio se produce una disminución significativa ($p < 0.05$), se pasa de $0.054 \pm 0.033 \mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo a $0.032 \pm 0.013 \mu\text{g}/\text{mg}$ después del ejercicio, a las 3 horas se produce una pequeña elevación, sin significación, y que aún está por debajo de los niveles en reposo, y finalmente a las 48 horas se produce una elevación significativa ($p < 0.05$) con respecto al reposo, se llega hasta $0.076 \pm 0.057 \mu\text{g}/\text{mg}$.

Haciendo la discusión en relación a los valores que se obtuvieron una vez que se aplicó el factor de corrección para la creatinina, podemos comprobar como en atletas entrenados se ha observado que tras la realización de un ejercicio intenso se ha producido una rápida normalización (3-4 horas) de la actividad adrenal (Tegelman y cols, 1990), y sin embargo, en nuestros universitarios no solo no se ha dado este proceso sino que además los niveles han seguido subiendo, por lo que se confirma que el ejercicio planteado supone un esfuerzo para nuestros sujetos de estudio y provoca una alteración en la glándula adrenal.

Inmediatamente después del ejercicio la excreción urinaria de androstenodiona es menor, puesto que la presente en el organismo se va a utilizar fundamentalmente para producir testosterona, no hay que olvidar que la androstenodiona es su principal precursor. Posteriormente, a las 3 horas y a las 48 horas aumenta la excreción de androstenodiona, podría ser reflejo de un aumento en la producción de androstenodiona por parte de la glándula suprarrenal para tratar de favorecer el entorno anabólico que se pretende conseguir durante la fase de recuperación.

Al comparar los valores en reposo entre el inicio del programa y al final del programa comprobamos como también se ha producido una elevación, no significativa, se pasa de 40.8 ± 17.20 a $46.1 \pm 18.94 \text{ ng}/\text{ml}$ o de 0.034 ± 0.016 a 0.054 ± 0.033

µg/mg, cuando los datos se dan en relación a la creatinina. Este resultado es similar al obtenido en otra investigación en la que se observó una elevación en los niveles salivares de androstenodiona en jugadoras de balonmano y voleibol tras un programa de entrenamiento de 4 meses. (Filaire y cols, 1998).

Este aumento de androstenodiona urinaria podría indicar un aumento en su producción. Según Viru y cols (2001) el ejercicio intenso y prolongado puede provocar una disfunción en el eje pituitario adrenocortical, que se puede expresar en una intensificación o supresión de las funciones endocrinas.

Otra explicación, paralela a la anterior, podría ser que como la androstenodiona es el principal precursor de la testosterona y dado que el nivel de testosterona circulante, presumiblemente disminuye con el entrenamiento prolongado (Lucía y cols, 2001; Flynn y cols, 1997), se podría haber dado un exceso de producción de androstenodiona por parte de la glándula adrenal, a través de la vía delta 4. Puede entenderse como un mecanismo de adaptación a estas situaciones.

IV.D.3.6. Epiandrosterona.

Las concentraciones urinarias referidas a los niveles de epiandrosterona quedan reflejadas en las tablas XXIV A (ng/ml) y en la XXIV B (excreción en relación a la creatinina en µg/mg).

Tabla XXIV A . Concentración urinaria de Epiandrosterona Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------------|-----------------------------------|-------------|----------|-----------|---|-------------|-----------|----------|---------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Epiandrosterona | 10.1 | 8.78 | 8.2 | 14 | 8.78 | 9.56 | 10.3 | 17.1 | * A-D ** E-H |
| | ± 6.58 | ± 5.89 | ± 3.5 | ± 8.22 | ± 4.71 | ± 4.56 | ± 3.71 | ± 5.4 | |

*. p< 0.05. **. p<0.01.

Al fijarnos en la tabla XXIV A en la que están reflejadas las concentraciones urinarias de epiandrosterona en ng/ml, observamos como se produce una elevación significativa a las 48 horas con respecto al reposo, tanto tras la realización de la primera sesión del programa como tras la realización de la sesión que se realizó una vez finalizado el programa de entrenamiento. En la primera sesión se produce un descenso después y a las tres horas, para luego aumentar a las 48 horas de forma significativa ($p < 0.05$), pasa de 10.1 ± 6.58 a 14 ± 8.22 ng/ml. Su respuesta, por tanto, es similar a la de la testosterona. En la sesión realizada tras finalizar el programa de entrenamiento se vuelve a observar a las 48 horas una elevación muy significativa ($p < 0.01$) con respecto al reposo, que va de 8.78 ± 4.71 a 17.1 ± 5.4 ng/ml.

Al observar los resultados que aparecen expuestos en la tabla XXIV B, vemos que en lo principal coinciden, al igual que ocurría con la androsterona y la etiocolanolona.

Tabla XXIV B. Concentración urinaria de Epiandrosterona una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---|-------------------|-------------------|------------------|-----------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Epiandrosterona | 0.008 ± 0.005 | 0.006 ± 0.003 | 0.007 ± 0.002 | 0.016 ± 0.009 | 0.0103 ± 0.006 | 0.006 ± 0.003 | 0.008 ± 0.006 | 0.022 ± 0.02 | * A-D, E-F, E-H |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Tras la realización de la primera sesión del programa se observa un aumento significativo ($p < 0.05$) a las 48 horas con respecto al reposo (de 0.008 ± 0.005 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo a 0.016 ± 0.009 $\mu\text{g}/\text{mg}$). Tras la realización de la sesión una vez finalizado el programa de entrenamiento se observa que inmediatamente después del ejercicio se produce un descenso significativo ($p < 0.05$) (de 0.0103 ± 0.006 a 0.006 ± 0.003 $\mu\text{g}/\text{mg}$),

para luego a las 48 horas volver a subir de forma significativa ($p < 0.05$) con respecto al reposo, llegando hasta 0.022 ± 0.02 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

No obstante, comparando los resultados entre la tabla XXIV A y XXIV B, la principal diferencia con respecto a los valores absolutos es, que cuando hablamos en relación a la creatinina, se produce un aumento no significativo, y no un descenso, en los valores en reposo entre antes y después del programa de entrenamiento. Al inicio presenta valores de 0.008 ± 0.005 $\mu\text{g}/\text{mg}$ y después del programa valores de 0.0103 ± 0.006 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Cuando los valores aparecen expresados en ng/ml vemos que la excreción en reposo después del programa de entrenamiento es menor, aunque sin presentar significación. Al final del programa presenta 8.78 ± 4.71 ng/ml por 10.1 ± 6.58 ng/ml al inicio del mismo.

La interpretación de los datos es similar a la que se hizo con la testosterona, puesto que sigue un patrón similar de comportamiento. El aumento significativo ($p < 0.05$) de los niveles urinarios de epiandrosterona a las 48 horas tras la realización de la primera sesión, y a las 48 horas de haber finalizado la sesión final, puede explicarse porque comienza a metabolizarse por el hígado una mayor cantidad de testosterona y por tanto, aumentan los niveles de epiandrosterona. Cuando se retiene mayor testosterona en el organismo, como por ejemplo, inmediatamente después del ejercicio, la eliminación de epiandrosterona es mucho menor. Como ha quedado reflejado.

Analizando ahora los valores en reposo, podríamos decir que tras el programa de ejercicio se ha producido una adaptación, de tal forma que el organismo retiene menos testosterona puesto que hace un mejor uso de la que tiene y se metaboliza mayor cantidad en el hígado, por lo que la cantidad de metabolitos, y por tanto, la eliminación de epiandrosterona, será mayor.

IV.D.3.7. Estrona

Los niveles de estrona quedan reflejados en la tabla XXV A y XXV B. Al igual que en otras sustancias los resultados y su interpretación difieren si se dan en ng/ml o si se dan en relación a la concentración de creatinina urinaria en $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Tabla XXV A. Concentración urinaria de Estrona. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------|-----------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|---|---------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Estrona | 25.1 ± 12.5 | 26.5 ± 11.54 | 27.5 ± 10.3 | 30.4 ± 12.6 | 30.3 ± 12.6 | 28.78 ± 13.89 | 28.6 ± 13.7 | 31.8 ± 18.1 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. NS. Variaciones no significativas

Cuando los resultados se dan en ng/ml (tabla XXV A) no aparecen variaciones significativas. En otra investigación que se realizó con un grupo de individuos que llevaron a cabo un entrenamiento de pesas durante 8 semanas, al 80% de 1RM, no se obtuvieron, al igual que en el nuestro, diferencias significativas en los niveles de estrona y β -estradiol (Brown y cols, 2000).

Sin embargo, cuando se le aplica el factor de corrección para la creatinina se observan algunas variaciones significativas, dichas variaciones quedan reflejadas en la Tabla XXV B.

Tabla XXV B. Concentración urinaria de Estrona una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Estrona | 0.021 ± 0.011 | 0.019 ± 0.008 | 0.026 ± 0.010 | 0.038 ± 0.023 | 0.035 ± 0.024 | 0.019 ± 0.012 | 0.030 ± 0.022 | 0.056 ± 0.053 | * A-D, B-C, E-F |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Tras la realización de la primera sesión del programa se puede ver un descenso no significativo, se pasa de 0.021 ± 0.011 a 0.019 ± 0.008 $\mu\text{g}/\text{mg}$, luego a las 3 horas se produce un pequeño aumento significativo ($p < 0.05$) con respecto a después del ejercicio, pasando de 0.019 ± 0.008 a 0.026 ± 0.010 $\mu\text{g}/\text{mg}$, para finalmente a las 48 horas aumentar de forma significativa ($p < 0.05$) con respecto al reposo, llegando hasta niveles de 0.038 ± 0.023 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Durante la sesión que se realizó al finalizar el programa se observa un descenso tras la realización del ejercicio, descenso que continúa a las 3 horas, mientras que a las 48 horas se produce una elevación significativa con respecto al reposo (De 0.035 ± 0.024 $\mu\text{g}/\text{mg}$ se pasa a 0.056 ± 0.053 $\mu\text{g}/\text{mg}$).

Para entender estos resultados es preciso tener en cuenta que la androstenodiona se convierte en estrona a nivel periférico (Yoshiji y cols, 1986). En este sentido, es normal que inmediatamente después del ejercicio y hasta las 3 horas los niveles de estrona disminuyan, puesto que la aromatización de androstenodiona a estrona será menor ya que la androstenodiona probablemente se transforme en testosterona durante estos primeros momentos. Posteriormente, a las 48 horas, una vez que el individuo ha recuperado y no necesita tanta testosterona, se activa la aromatización de androstenodiona a estrona con lo que su eliminación será mayor.

Continuando con la tabla XXV B y centrándonos en las concentraciones que se obtuvieron tras finalizar el programa, observamos como en el reposo la concentración urinaria de estrona es ligeramente superior a la de antes de iniciar el programa (0.035 ± 0.024 $\mu\text{g}/\text{mg}$ al final por 0.021 ± 0.011 $\mu\text{g}/\text{mg}$ al principio), y en el resto de momentos medidos (después, a las 3 horas y a las 48 horas), a pesar de que en ninguno de los casos presentó significación, podemos observar como los niveles se encuentran por encima de los medidos al inicio del programa.

Este hecho podría indicar que como consecuencia del entrenamiento continuado, en universitarios poco entrenados, aumenta el proceso de aromatización periférica, puesto que al hacer un mejor uso de la testosterona circulante no es preciso que toda la androstenodiona se transforme en testosterona, y por tanto la eliminación urinaria de

estrona aumenta. También hay que decir que probablemente la producción de androstenodiona haya aumentado con lo que la transformación a estrona también será mayor, y evidentemente, su eliminación urinaria se incrementará.

IV.D.3.8. β -Estradiol.

Las concentraciones urinarias de β -estradiol medidas antes del programa de entrenamiento y después del mismo quedan reflejadas en las tablas XXVI A y XXVI B, la primera expresada en ng/ml y la segunda en $\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina. En este caso sí aparecen diferencias claras entre los resultados de una y otra forma de presentación

Tabla XXVI A . Concentración urinaria de B-Estradiol. Valores expresados en ng/ml

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|--------------------|-----------------------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| β -Estradiol | 97.7 \pm 37.47 | 99.8 \pm 41.63 | 86.3 \pm 32.9 | 75.38 \pm 37.66 | 100.5 \pm 41.96 | 103.2 \pm 43.08 | 104.8 \pm 55.51 | 90.75 \pm 66.59 | * A-C, A-D |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Si nos fijamos en la tabla XXVI A, en las concentraciones obtenidas tras la sesión inicial observamos que tras una pequeña elevación que se produce inmediatamente después del ejercicio se produce un descenso significativo ($p < 0.05$) tanto a las 3 horas (Se pasa de 97.9 ± 37.47 en reposo a 86.3 ± 32.9 ng/ml) como a las 48 horas (Va desde 97.9 ± 37.47 en reposo a 75.38 ± 37.66 ng/ml). En la sesión planteada una vez finalizado el programa de entrenamiento se produce una pauta similar de comportamiento aunque sin llegar a la significación estadística.

Sin embargo, al observar la tabla XXVI B, comprobamos que lo que sucede realmente no es eso.

Tabla XXVI B. Concentración urinaria de B-estradiol una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| B-Estradiol | 0.071 \pm 0.038 | 0.065 \pm 0.038 | 0.076 \pm 0.048 | 0.084 \pm 0.064 | 0.115 \pm 0.097 | 0.067 \pm 0.045 | 0.076 \pm 0.059 | 0.108 \pm 0.114 | * E-F |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Podemos observar que tras la realización de la primera sesión se produce un descenso con respecto al reposo, se pasa de 0.071 ± 0.038 a 0.065 ± 0.038 $\mu\text{g}/\text{mg}$, para luego experimentar una pequeña subida a las 3 horas y una subida aún mayor a las 48 horas. Tras la realización de la sesión que se planteó una vez finalizado el programa de entrenamiento, se da la misma evolución, con la diferencia de que el descenso que se produce inmediatamente después de finalizar el ejercicio sí alcanza la significación estadística ($p < 0.05$), pasa de 0.115 ± 0.097 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo a 0.067 ± 0.045 $\mu\text{g}/\text{mg}$ inmediatamente después, para luego comenzar a subir llegando al máximo a las 48 horas.

La explicación podría ser que una vez finalizado el ejercicio y hasta que el individuo está totalmente recuperado se crea un entorno anabólico en el que se retiene testosterona en el organismo con lo que el proceso de aromatización a B-estradiol se frena, y la eliminación de este último es menor. Una vez que el individuo está más recuperado el organismo vuelve a sus niveles normales y aumenta la aromatización.

Continuando en la tabla XXVI B, si nos centramos en las concentraciones que se obtuvieron tras finalizar el programa y las comparamos con las del inicio del programa observamos como en el reposo la concentración urinaria de β -estradiol es ligeramente superior a la de antes de iniciar el programa (0.115 ± 0.097 $\mu\text{g}/\text{mg}$ por 0.071 ± 0.038 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y el resto de mediciones, todas ellas, también se encuentran por encima de las

medidas al inicio del programa, no obstante, en ninguno de estos casos existen variaciones significativas, como ocurrió con la estrona.

Este hecho podría hacernos pensar, al igual que con la estrona, que como consecuencia del entrenamiento continuado, en universitarios poco entrenados, aumentaría el proceso de aromatización, aunque de una forma no significativa. Ya comentamos la posibilidad de que con el entrenamiento los sujetos hayan mejorado su capacidad para utilizar mejor los niveles de testosterona circulante con lo que el resto de testosterona se elimina por orina o se aromatiza a β -estradiol, aumentando de esta forma su excreción por la orina. No obstante, cuando existe necesidad de testosterona para crear un entorno anabólico, por ejemplo, inmediatamente después de finalizar el ejercicio, vemos como la eliminación de β -estradiol disminuye, hecho que podría indicar un disminución del proceso de aromatización.

IV.D.3.9. Progesterona.

Al observar las concentraciones urinarias de progesterona volvemos a confirmar como los resultados varían si se dan de forma absoluta (Tabla XXVII A) o si se dan en relación a la creatinina urinaria (Tabla XXVII B).

Tabla XXVII A. Concentración urinaria de Progesterona. Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|--------------|-----------------------------------|--------------------|-------------------|-----------------|---|--------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Progesterona | 39.5 ± 29.59 | 53.7 ± 61.79 | 50.8 ± 64.5 | 62.4 ± 74 | 50 ± 42.71 | 48.7 ± 35.39 | 42.4 ± 29.2 | 57.5 ± 40.6 | NS |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$. NS. Variaciones no significativas

Podemos observar en la tabla XXVII A que ninguna de las variaciones observadas es significativa. Estos mismos datos ya se obtuvieron en otro estudio

realizado con corredores en los que tras la realización del ejercicio no se observaron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de progesterona (Dressendorfer RH y Wade CE, 1991).

Sin embargo, en nuestro estudio cuando aplicamos el factor de corrección para la creatinina urinaria sí se aprecian variaciones significativas, tal y como queda reflejado en la tabla XXVII B.

Tabla XXVII B. Concentración urinaria de Progesterona una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|--------------|-----------------------------------|----------------|----------------|---------------|---|----------------|----------------|----------------|-------------------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Progesterona | 0.031 | 0.040 | 0.052 | 0.081 | 0.050 | 0.030 | 0.032 | 0.066 | * A-D, A-E ** E-F, E-G |
| | \pm 0.021 | \pm 0.049 | \pm 0.073 | \pm 0.11 | \pm 0.036 | \pm 0.017 | \pm 0.027 | \pm 0.056 | |

*. $p < 0.05$. ** . $p < 0.01$.

Fijándonos en la tabla XXVII B, tras la sesión realizada al inicio del programa observamos que la eliminación urinaria de progesterona tiene una tendencia a la elevación en todos los puntos medidos. De tal forma, que a las 48 horas se ha producido una elevación significativa ($p < 0.05$) con respecto al reposo, se ha pasado de $0.031 \pm 0.021 \mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo a $0.081 \pm 0.11 \mu\text{g}/\text{mg}$ a las 48 horas. Esta tendencia sigue estando de manifiesto al comparar los niveles iniciales en reposo con los niveles en reposo tras haber finalizado el programa de entreno, se pasa de $0.031 \pm 0.021 \mu\text{g}/\text{mg}$ en el reposo inicial a $0.050 \pm 0.036 \mu\text{g}/\text{mg}$ en el reposo final, variación que presenta significación ($p < 0.05$). Sin embargo, podemos ver como en la sesión final realizada tras acabar el programa de entreno, se produce un descenso significativo ($p < 0.01$) después del ejercicio, se pasa de 0.050 ± 0.036 a $0.030 \pm 0.017 \mu\text{g}/\text{mg}$, este descenso aunque se atenúa un poco a las 3h, continúa siendo significativo ($p < 0.01$) con respecto al reposo ($0.032 \pm 0.027 \mu\text{g}/\text{mg}$), y finalmente, al igual que al inicio del programa, se produce una

elevación, en este caso sin significación, con respecto al reposo ($0.066 \pm 0.056 \mu\text{g}/\text{mg}$ a las 48 horas y $0.050 \pm 0.036 \mu\text{g}/\text{mg}$ en el reposo).

Para comprender la elevación que se produce en la excreción de progesterona, hay que saber que en la vía delta 4 uno de los caminos para la síntesis de androstenodiona es a partir de la progesterona, de tal forma que una posible explicación de esta elevación en los niveles urinarios de progesterona, tanto a las 48 horas como tras el programa de entrenamiento, es porque su producción se habría elevado de forma excesiva con el fin de producir androstenodiona, principal precursor de la testosterona, para poder hacer frente a las necesidades que exige el ejercicio. Ya se ha comentado como a nivel de la glándula adrenal se puede haber incrementado la producción de andrógenos.

Sin embargo, se observa un descenso en la excreción de progesterona inmediatamente después y a las 3 horas de haber finalizado la sesión que se planteó al concluir el programa de entrenamiento. Esta disminución podría ser el resultado de que el índice de transformación de progesterona en androstenodiona fuese mayor que el índice de producción de progesterona, con lo que la eliminación disminuiría. Esto puede entenderse desde la perspectiva de que el organismo ha hecho una adaptación al entrenamiento, con lo que una sesión de fuerza que antes provocaba un importante disparo hormonal a todos los niveles, ahora no representa un estrés tan grande y solamente se producen las hormonas necesarias. Una vez que el individuo está recuperado (a las 48 horas) vemos como la eliminación urinaria de progesterona vuelve a subir, no quiere decir que haya aumentado la producción si no que han disminuido las necesidades de testosterona, y por tanto el índice de transformación de progesterona a androstenodiona, también ha descendido.

IV.D.3.10. Tetrahydrocortisona (THC) y Tetrahydrocortisol (THCol).

Las concentraciones urinarias de los metabolitos del cortisol, también llamados 17-hidroxycorticosteroides (17-OHCS) están reflejadas en las tablas XXVIII A y B, referidas a la Tetrahydrocortisona (THC) y en las tablas XXIX A y B, referidas al Tetrahydrocortisol (THCol), en ambos casos aparecen expresados en ng/ml y en relación a la excreción de creatinina urinaria en µg/mg de creatinina, poniendo de manifiesto cambios en la interpretación de los resultados.

Tabla XXVIII A . Concentración urinaria de THC (Tetrahydrocortisona). Valores medios expresados en ng/ml.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|----------------------------|-----------------------------------|-------------|---------|----------|---|-------------|---------|----------|--|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Tetra-Hidrocortisona (THC) | 1090.7 | 1173 | 837.8 | 1068 | 746.3 | 826.7 | 586 | 746.9 | * A-E, A-B ** A-C, B-C, E-F |
| | ± 1021 | ± 1054 | ± 625 | ± 766 | ± 514. | ± 496.1 | ± 289 | ± 499 | |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Centrándonos en las concentraciones de la tabla XXVIII A (ng/ml) referidas a los niveles de Tetrahydrocortisona (THC), y concretamente tras la realización de la sesión inicial, podemos comprobar como se produce un aumento significativo ($p < 0.05$) inmediatamente después del ejercicio, para luego disminuir a las tres horas de forma muy significativa ($p < 0.01$) con respecto al reposo (pasa de 1090 ± 1021 a 837.8 ± 625 ng/ml) y volver a recuperar sus niveles tras 48 horas de haber finalizado el ejercicio (1068 ± 766 ng/ml), aunque en este caso sin significación respecto al reposo.

En el caso de las concentraciones encontradas en la sesión final observamos como, tras el aumento muy significativo ($p < 0.01$) que se da inmediatamente después de finalizar la sesión, a las tres horas se produce un descenso sin significación que va de 746.3 ± 514 en reposo a 586 ± 289 ng/ml, para luego a las 48 horas volver a subir, sin significación, hasta 746.9 ± 499 ng/ml.

Tabla XXVIII B. Concentración urinaria de Tetrahidrocortisona (THC) una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1° Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------------------------|-----------------------------------|----------------|--------------|---------------|---|----------------|----------------|---------------|---|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Tetra-Hidro cortisona (THC) | 1.031 | 0.938 | 0.82 | 1.31 | 1.035 | 0.630 | 0.477 | 1.40 | * A-D, C-D, E-F, E-G, F-G ** G-H |
| | \pm 1.201 | \pm 0.986 | \pm 0.7 | \pm 1.43 | \pm 1.407 | \pm 0.635 | \pm 0.449 | \pm 2.62 | |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Al comparar los datos anteriores con los valores obtenidos en la tabla XXVIII B (en relación a la creatinina) se observan importantes diferencias. Tras finalizar la sesión inicial del programa de entrenamiento se observa un descenso con respecto al reposo, aunque sin significación, que va de 1.031 ± 1.201 a $0.938 \pm 0.986 \mu\text{g}/\text{mg}$, posteriormente sigue descendiendo a las 3 horas ($0.82 \pm 0.7 \mu\text{g}/\text{mg}$) y finalmente se eleva a las 48 horas de forma significativa ($p < 0.05$) con respecto al reposo y con respecto a las tres horas, llegando hasta $1.31 \pm 1.43 \mu\text{g}/\text{mg}$.

Si nos fijamos ahora en los valores obtenidos tras la realización de la sesión final, comprobamos que siguen un comportamiento similar. Inicialmente se produce un descenso significativo ($p < 0.05$) tras el ejercicio, se va de 1.035 ± 1.407 a $0.630 \pm 0.635 \mu\text{g}/\text{mg}$, luego a las tres horas sigue descendiendo de forma significativa ($p < 0.05$) hasta $0.477 \pm 0.449 \mu\text{g}/\text{mg}$, y finalmente a las 48 horas se eleva hasta $1.40 \pm 2.62 \mu\text{g}/\text{mg}$, presentado significación ($p < 0.01$) respecto al descenso producido a las 3 horas.

A continuación se presentarán las tablas y los datos referidos al Tetrahidrocortisol (THC_{ol}).

Tabla XXIX A. Concentración urinaria de THCol (Tetrahydrocortisol). Valores expresados en ng/ml.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|------------------------------|-----------------------------------|---------------------|------------------|------------------|---|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Tetra-Hidroocortisol (THCOL) | 1234.9 ± 869 | 1494.6 ± 1008 | 1079 ± 690 | 1288 ± 769 | 717.7 ± 281 | 966 ± 488 | 725.8 ± 409 | 704 ± 280 | * A-B, A-E, E-F |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Si ahora analizamos el Tetrahydrocortisol (THCol) en la tabla XXIX A (ng/ml), vemos que tras la realización de la sesión inicial se produce un aumento significativo ($p < 0.05$), para luego descender hasta 1079 ± 690 ng/ml a las tres horas y volver a subir a 1288 ± 769 ng/ml a las 48 horas, en ambos caso sin significación con respecto al reposo. En el caso de la sesión que se realizó tras finalizar el programa de entrenamiento se observa un nuevo aumento significativo ($p < 0.05$) inmediatamente después del ejercicio, y de la misma forma que anteriormente, se produce a las 3 horas un descenso hasta 725.8 ± 409 ng/ml, descenso que aún no se recuperó a las 48 horas, puesto que se encontraba en 704 ± 280 ng/ml.

Tabla XXIX B. Concentración urinaria de Tetrahydrocortisol (THCol) una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina urinaria. Valores expresados en μg de esteroide/mg de creatinina.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|------------------------------|-----------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|---|---------------------|---------------------|-------------------|--|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Tetra-Hidroocortisol (THCol) | 1.132 ± 1.03 | 1.189 ± 0.99 | 1.04 ± 0.71 | 1.55 ± 1.49 | 0.857 ± 0.64 | 0.705 ± 0.508 | 0.541 ± 0.382 | 0.98 ± 1.18 | * E-F, C-D, G-H ** E-G |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Finalmente, al situarnos en la tabla XXIX B (una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina), volvemos a observar una serie de diferencias, con respecto a lo expresado anteriormente. Tras la realización de la sesión que se planteó al inicio del programa de entrenamiento se observó, a diferencia del THC, un pequeño aumento, aunque sin significación con respecto al reposo, se va de 1.132 ± 1.03 a 1.189 ± 0.99 $\mu\text{g}/\text{mg}$, posteriormente y al igual que para el THC, se produjo un descenso sin significación hasta 1.04 ± 0.71 $\mu\text{g}/\text{mg}$, para volver a aumentar a las 48 horas hasta 1.55 ± 1.49 $\mu\text{g}/\text{mg}$, valor que alcanza la significación ($p < 0.05$) con respecto al descenso producido a las tres horas.

Al analizar los resultados tras la realización de la sesión que se planteó al final del programa, se observó un descenso significativo ($p < 0.05$) con respecto al reposo, 0.857 ± 0.64 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo y 0.705 ± 0.508 $\mu\text{g}/\text{mg}$ después del ejercicio, descenso que continuó a las tres horas hasta 0.541 ± 0.382 $\mu\text{g}/\text{mg}$, que es una variación muy significativa ($p < 0.01$) con respecto al reposo, y finalmente a las 48 horas volvió a subir hasta 0.98 ± 1.18 $\mu\text{g}/\text{mg}$, que es un aumento significativo ($p < 0.05$) con respecto al descenso producido a las 3 horas.

Centrándonos ya en los valores que se han obtenido una vez aplicado el factor de corrección para la creatinina, observamos como la respuesta de la tetrahidrocortisona (THC) y del Tetrahidrocortisol (THCoI) al ejercicio es similar, a excepción del valor medio que se obtuvo en el THCoI inmediatamente después de la realización de la primera sesión del programa, en el que se produjo una pequeña elevación. Dado que esta aumento no presenta significación alguna no se le va a dar más importancia. Lo realmente importante y significativo es el descenso que se produce en la excreción urinaria de 17-hidroxicorticosteroides inmediatamente después del ejercicio y a las tres horas, y la elevación que se provoca a las 48 horas de haber finalizado el mismo, tanto durante la primera sesión como tras la realización de la sesión que se planteó una vez finalizado el programa.

El descenso en la excreción urinaria de Tetrahidrocortisol y Tetrahidrocortisona no quiere decir que la producción de cortisol por parte del organismo sea menor. Gran cantidad de estudios demuestran que la actividad deportiva eleva los niveles de ACTH y

como consecuencia de ello se produce un aumento del cortisol plasmático (Nindl y cols, 2001; Bosco y cols, 1996; Petraglia y cols, 1989). Hackney y Viru llevaron a cabo un estudio en 1999 en el que concluían que la variación de los niveles de cortisol, y por tanto de sus metabolitos, dependerá fundamentalmente de la intensidad de los ejercicios.

Este descenso significativo en los niveles urinarios de THC y THCol, inmediatamente después del ejercicio y hasta las 3 horas tras la finalización de la sesión que se planteó una vez concluido el programa de entrenamiento, podría ser el resultado de una gran captación de los niveles circulantes de cortisol por parte de la globulina transportadora de corticoides (CBG o transcortina), con el fin de no perjudicar el entorno anabólico que se pretende crear para favorecer la recuperación. Es preciso recordar que el cortisol desempeña un papel catabólico importante. A las 48 horas, una vez que el individuo ha recuperado, el cortisol queda libre y entonces puede ser metabolizado por el hígado, con lo que aumentaría la excreción urinaria de metabolitos a las 48 horas.

Por otro lado, si observamos las tablas XXVIII A y XXIX A y comparamos los niveles en reposo de antes y después del programa de entrenamiento, tanto del THC como del THCOL, observamos que en ambos casos se ha producido un descenso significativo ($p < 0.05$) con respecto a los niveles iniciales. En el caso del THC se pasó de 1090.7 ± 1021 a 746.3 ± 514 ng/ml, y el THCol pasó de 1234.9 ± 869 a 717.7 ± 281 ng/ml. Sin embargo, al observar las tablas XXVIII B y XXIX B, comprobamos que no se producen cambios significativos en sus valores. El THC apenas experimenta cambios, puesto que pasa de 1.031 ± 1.201 a 1.035 ± 1.407 $\mu\text{g}/\text{mg}$, sin embargo, en el THCol sí que se produce un descenso en los niveles en reposo entre antes y después del programa de entrenamiento, se pasa de 1.132 ± 1.03 a 0.857 ± 0.64 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

En esta línea hay multitud de estudios en los cuales se ha demostrado que tras la realización de un programa de entrenamiento han disminuido los niveles de cortisol plasmático (Marx y cols, 2001, Hedelin y cols, 2000; Uusitalo y cols; 1998, Fry y cols, 1998) y por lo tanto, supuestamente tendrían que disminuir las concentraciones de sus metabolitos en orina.

Una posible explicación la podemos encontrar en investigaciones actuales (Lucía y cols, 2001; Viru y cols, 2001) en las que se plantea que el ejercicio intenso y prologado puede provocar una fatiga y un descenso y/o disfunción en la actividad del eje pituitario-adreno-cortical.

Una segunda explicación para este descenso podría encontrarse en el hecho de que se ha producido una adaptación al entrenamiento. Esta hipótesis podría verse confirmada al comparar, en las tablas XXVIII B y XXIX B, la excreción urinaria de THC y THCol inmediatamente después del ejercicio tras la realización de la sesión que se planteó al finalizar el programa, con la de inmediatamente después del ejercicio de la primera sesión del programa. En el caso del THC, durante la sesión final, se pasa de $1,035 \pm 1,407$ a $0,630 \pm 0.635$ $\mu\text{g}/\text{mg}$, mientras que al inicio estaba en $1,031 \pm 1.201$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ en reposo, y 0.938 ± 0.986 $\mu\text{g}/\text{mg}$ inmediatamente después. El THCol en la sesión final pasa de 0.857 ± 0.64 a 0.705 ± 0.508 $\mu\text{g}/\text{mg}$, y al principio, va de 1.132 ± 1.03 a 1.189 ± 0.99 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Independientemente de los niveles iniciales, podemos observar como tras la realización de la sesión planteada una vez finalizado el programa de entreno, la excreción de metabolitos es baja comparada con los de la primera sesión. Esto podría indicar que como consecuencia de una adaptación al entrenamiento la producción suprarrenal de corticosteroides, al finalizar el programa para hacer frente a la sesión de pesas, es mucho menor que durante la primera sesión del programa, que le supone un mayor esfuerzo. Esto provocaría que la excreción al principio fuese mucho mayor, puesto que durante la primera sesión toda la CBG existente no es capaz de recoger todo el cortisol producido y por tanto la excreción es mayor, sin embargo, al finalizar el programa, como la producción es menor, la CBG sí es capaz de captar una gran parte del cortisol existente y por tanto la excreción es menor.

IV.D.3.11. Relación Testosterona/Epitestosterona.

Los valores encontrados para dicha relación, como se puede observar en la tabla XXX, tienden a disminuir como consecuencia del entrenamiento. Es indiferente coger

los valores en ng/ml o en relación a la creatinina puesto que al ser una relación los resultados serán similares

Tabla XXX. Relación Testosterona/epitestosterona urinaria.

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|---|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|-------------|-----------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| Relación Testosterona / Epitestosterona (T/E) | 3.66 ± 2.03 | 3.61 ± 2.08 | 2.41 ± 1.44 | 2.21 ± 1.06 | 2.62 ± 1.13 | 2.61 ± 1.16 | 1.96 ± 0.86 | 1.64 ± 0.69 | ** A-C, A-D, E-G, E-H |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Tras la realización de la primera sesión se observan a las tres horas y a las 48 horas de finalizar el ejercicio sendos descensos muy significativos ($p < 0.01$) con respecto al reposo. A las 3 horas se pasa de 3.66 ± 2.03 a 2.41 ± 1.44 , y a las 48 horas se llega hasta 2.21 ± 1.06 . En la sesión que se realizó una vez finalizado el programa se observaron también diferencias muy significativas ($p < 0.01$) a las tres horas y a las 48 horas con respecto al ejercicio. Se paso de 2.62 ± 1.13 en reposo a 1.96 ± 0.86 a las 3 horas y a 1.64 ± 0.69 a las 48 horas.

Comparando las relaciones al inicio y al final del programa de entrenamiento se puede comprobar que se ha producido un descenso, aunque no presenta significación. En el reposo inicial aparece una relación media de 3.66 ± 2.03 y en el reposo tras finalizar el programa presenta 2.62 ± 1.13 .

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Maynar y cols en 1994, en ciclistas profesionales en los que observaron una disminución progresiva en esta relación como consecuencia del entrenamiento. Esto podría reflejar un aumento de la síntesis de SHBG, con lo que se produciría un descenso de andrógenos libres en plasma y como consecuencia de ello un descenso en la concentración urinaria de los mismos.

Este descenso en la relación entre T/E es preciso considerarlo a la hora de llevar a cabo los análisis de dopaje, puesto que se observa como con el ejercicio intenso se produce un alejamiento del límite máximo permitido, por lo que se podría encubrir el uso de algún tipo de sustancia.

IV.D.3.12. Relaciones andrógenos/corticosteroides.

Finalmente analizaremos el comportamiento de las relaciones entre andrógenos anabólicos y corticosteroides catabólicos, con el fin de encontrar algún marcador fisiológico que nos pueda servir para valorar la carga de trabajo y de entrenamiento al que es sometido un deportista. Las relaciones analizadas han sido las siguientes:

Testosterona/Tetrahydrocortisona (T/THC), Testosterona/Tetrahydrocortisol (T/THCol), que son similares a la de testosterona/cortisol en plasma, y Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisona (DHEA/THC) y Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisol (DHEA/THCol), que relacionan un anabólico suprarrenal con una hormona catabólica, también suprarrenal.

Al tratarse de relaciones, dará igual coger las concentraciones de las diferentes sustancias en ng/ml o en relación a la creatinina urinaria, puesto que los valores serán similares

Tabla XXXI. Relación urinaria T/THC (Testosterona/Tetrahydrocortisona)

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------|-----------------------------------|-------------|----------|-----------|---|-------------|----------|----------|------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| T/THC | 0.93 | 0.77 | 0.70 | 0.65 | 1.02 | 0.74 | 0.73 | 0.71 | ** A-B, A-C, E-F |
| | ± 0.98 | ± 0.71 | ± 0.6 | ± 0.48 | ± 0.9 | ± 0.48 | ± 0.4 | ± 0.3 | |

*. p< 0.05. **. p<0.01.

Al observar en la tabla XXXI los valores encontrados en la relación T/THC, vemos como se produce una evolución similar tanto tras la realización de la primera sesión como tras la sesión que se desarrolló tras finalizar el programa de entrenamiento. Se observa un descenso progresivo en todos los puntos medidos, presentando significación ($p<0.01$) con respecto al reposo, inmediatamente después de finalizar el ejercicio (de 0.93 ± 0.98 a 0.77 ± 0.71) y a las tres horas (de 0.93 ± 0.98 a 0.70 ± 0.6) de haber finalizado la primera sesión del programa de entrenamiento. Tras la realización de la sesión que se planteó una vez finalizado el programa de entrenamiento se produce una variación muy significativa ($p<0.01$) inmediatamente después del ejercicio, se pasa de 1.02 ± 0.9 a 0.74 ± 0.48 .

Tabla XXXII. Relación urinaria T/THCol (Testosterona/Tetrahydrocortisol).

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------|-----------------------------------|-----------------|----------------|-----------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| T/THCol | 0.52 ± 0.33 | 0.39 ± 0.23 | 0.4 ± 0.27 | 0.43 ± 0.23 | 0.71 ± 0.3 | 0.57 ± 0.34 | 0.56 ± 0.29 | 0.62 ± 0.25 | * A-B, A-C E-F, E-G |

*. $p<0.05$. **. $p<0.01$.

Al observar en la tabla XXXII los valores encontrados en la relación T/THCol, vemos como se produce una evolución similar tanto tras la realización de la primera sesión como tras la sesión que se desarrolló una vez finalizado el programa de entrenamiento. Se produce un descenso significativo ($p<0.05$) tras la realización del ejercicio y que permanece hasta las 3 horas (a las tres horas, en la primera sesión, se pasa de 0.52 ± 0.33 a 0.4 ± 0.27 , y en la sesión final se pasa de 0.71 ± 0.3 a 0.56 ± 0.29). En ambos casos el descenso es estadísticamente significativo ($p<0.05$). Posteriormente, a las 48 horas se produce una elevación no significativa, aunque permaneciendo disminuidos respecto a los valores iniciales. A las 48 horas ha subido un poco puesto que el individuo ha experimentado una pequeña recuperación y los niveles de testosterona tratan de volver a sus valores iniciales

**Tabla XXXIII. Relación urinaria DHEA/THC .
(Dehidroepiandrosterona/Tetrahidrocortisona).**

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|-----------|-----------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| DHEA/THC | 0.29 ± 0.2 | 0.23 ± 0.21 | 0.26 ± 0.2 | 0.20 ± 0.16 | 0.36 ± 0.32 | 0.29 ± 0.29 | 0.34 ± 0.24 | 0.21 ± 0.14 | ** A-B, E-F |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Si ahora nos fijamos en la tabla XXXIII, veremos los valores encontrados para la relación DHEA/THC. Observamos como se produce una evolución similar tanto tras la realización de la primera sesión como tras la realización de la sesión que se desarrolló tras finalizar el programa de entrenamiento. En este caso solo se producen variaciones significativas inmediatamente después del ejercicio, variaciones que ya se han comentado en el efecto agudo. Tras el descenso muy significativo ($p < 0.01$) producido inmediatamente después del ejercicio, las relaciones permanecen descendidas respecto al reposo, elevándose un poco a las 3 horas y llegando a su nivel más bajo a las 48 horas después de haber finalizado.

**Tabla XXXIV. Relación urinaria DHEA/THCol
(Dehidroepiandrosterona/tetrahidrocortisol)**

| Sustancia | 1º Sesión del programa de entreno | | | | Sesión realizada después del programa de entreno. | | | | Significación |
|------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| | Antes (A) | Después (B) | 3h. (C) | 48h. (D) | Antes (E) | Después (F) | 3h. (G) | 48h. (H) | |
| DHEA/THCol | 0.17 ± 0.08 | 0.12 ± 0.06 | 0.16 ± 0.07 | 0.13 ± 0.07 | 0.24 ± 0.12 | 0.21 ± 0.19 | 0.25 ± 0.16 | 0.18 ± 0.02 | * A-B |

*. $p < 0.05$. **. $p < 0.01$.

Centrándonos finalmente en la tabla XXXIV, veremos los valores encontrados para la relación DHEA/THCol. Su comportamiento es similar al del DHEA/THC, aunque presentando relaciones más bajas. Al igual que antes solamente se producen variaciones significativas inmediatamente después del ejercicio, variaciones que ya se han comentado en el efecto agudo. Tras el descenso significativo ($p < 0.05$) producido inmediatamente después del ejercicio, las relaciones permanecen descendidas respecto al reposo, elevándose un poco a las 3 horas y bajando a las 48 horas después de haber finalizado.

Tanto en el caso del DHEA/THC y del DHEA/THCol la pequeña elevación que se da en el cociente a las tres horas de haber finalizado el ejercicio es resultado del gran descenso producido en la excreción de THC y de THCol, que son mayores de la que se da en el DHEA.

De acuerdo con estos resultados en los que se observa un descenso en los cocientes, se encuentran varios estudios que dicen que el estrés, ya sea deportivo o no, provoca un aumento en la excreción de 17-hidroxicorticosteroides (tetrahydrocortisona y tetrahydrocortisol) y un descenso en los niveles de testosterona y sus metabolitos (Nindl y cols, 2001; Nishikaze y Furuya, 1998; Furuya y cols, 1998, Kimura y cols, 1989; Maynar y cols, 1994), ya sea de forma aguda o de forma crónica. En nuestro estudio, al aplicar el factor de corrección para la creatinina, se ha producido un descenso en ambos casos, pero los niveles de THC y THCol han sido superiores a los de la testosterona, causa por la cual han disminuido los cocientes. Por otra parte hemos visto como a las 48 horas de la sesión el individuo no está totalmente recuperado, por lo que los cocientes todavía permanecen bajos. Es el momento en el que es preciso aplicar otra carga de trabajo, cuando el individuo ha comenzado a recuperar pero sin llegar a hacerlo completamente. Los universitarios no llegan a la extenuación y al sobreentrenamiento puesto que tras realizar la última sesión de la semana tenían el fin de semana para recuperar y producir una supercompensación.

Otro hecho que podemos extraer de los resultados es que en todas estas relaciones, comparando los niveles en reposo iniciales con los niveles en reposo que se encontraron tras finalizar el programa de entrenamiento, se observa un incremento no

significativo de sus valores. T/THC pasa de 0.93 ± 0.98 a 1.02 ± 0.9 , T/THCol va de 0.52 ± 0.33 a 0.71 ± 0.3 , DHEA/THC pasa de 0.29 ± 0.2 a 0.36 ± 0.32 , y finalmente DHEA/THCol va desde 0.17 ± 0.08 a 0.24 ± 0.12 . En relación con estos resultados podemos mencionar una investigación en la que se observó que tras 23 días de ejercicio específico en remeros, por encima de 2 mmol/l de lactato, el ratio 17KS/17OHCS descendió, sin embargo, en otro grupo que trabajó los mismos días por debajo de 2 mmol/l de lactato se produjo un incremento del ratio 17KS/17OHCS (Fischer y cols, 1992), resultados similares a los obtenidos en nuestro estudio. Esto parece indicar la importancia que tiene la intensidad del ejercicio en la variación de los perfiles esteroideos.

Esta elevación de los cocientes estudiados refleja una adaptación de nuestros universitarios al ejercicio planteado y que la intensidad de trabajo no era excesiva. Se ha producido una mejora de la fuerza y no se ha producido en ellos una situación de sobreentrenamiento, que quedaría puesta de manifiesto con un importante descenso en los diferentes cocientes estudiados, tal y como queda reflejado en otros estudios (Vervoon y cols, 1991; Chicharro y cols, 1998). Tras 4 semanas de entrenamiento, entrenando tres días por semana y con el fin de semana para descansar, la sesión tipo parece que ya no es suficiente para mejorar los niveles de fuerza por lo que sería preciso aumentar la carga y la intensidad de la sesión.

Si nos fijamos ahora en el descenso producido en el cociente DHEA/THCOL inmediatamente después de la primera sesión y lo comparamos con el descenso que se produjo inmediatamente después de la sesión que se planteó al finalizar el programa de entrenamiento podemos comprobar que la variación del descenso producido tras la sesión final es menor que la variación producida por la primera sesión. Este hecho podría indicar que la sesión no le ha provocado tanto estrés como la que se realizó el primer día, y que por tanto, se ha producido una adaptación al entrenamiento.

Estos resultados reflejan que la relación Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisol (DHEA/THCol) parece ser el marcador fisiológico más adecuado, respecto a las otras relaciones estudiadas, para valorar la carga del entrenamiento, puesto que aparece como el más sensible a los cambios y además establece la relación

entre dos sustancias que tienen su origen en la glándula suprarrenal. No obstante, esta hipótesis estaría sujeta a futuros estudios e investigaciones. En relación con esto podemos concluir que hay estudios que hablan de las diferentes funciones que pueden desarrollar la vía hipofisaria testicular, más centrada en los procesos de recuperación, y la vía hipofisaria suprarrenal, más centrada en el esfuerzo y en el estrés. (Kuoppasalmi, 1980; Pantaleoni y cols, 1991). Entonces, en función de lo que queramos valorar será más interesante utilizar unos marcadores u otros. Así, por ejemplo, el T/THCol es el que mejor representa esa pequeña recuperación que se da a las 48 horas de haber finalizado el ejercicio.

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES.

Una vez finalizado el estudio podemos sacar las siguientes conclusiones:

- El ejercicio físico de alta intensidad, ya sea aeróbico o anaeróbico y de forma aguda o crónica, provoca una serie de variaciones en el perfil esteroideo (andrógenos, estrógenos y corticosteroides) urinario.
- El método GC/MS y GC/MS/MS utilizado para determinar y cuantificar los esteroides (andrógenos, estrógenos y corticosteroides) en orina se ha manifestado como válido y efectivo para ayudar a los entrenadores y profesionales del deporte en el control del entrenamiento.
- En el estudio realizado con ciclistas y universitarios referidos al efecto agudo y sin aplicar el factor de corrección para la creatinina, se produce, a nivel general, un descenso en la excreción urinaria de andrógenos (a excepción de la excreción de androstenodiona en universitarios que se eleva) y un aumento en la excreción urinaria de metabolitos del cortisol. Las relaciones andrógenos/corticosteroides también disminuyen después del ejercicio.
- Los ciclistas que llevan varios años entrenando presentan en reposo una excreción significativamente menor de testosterona y de B-estradiol que los universitarios, mientras que en el caso de la androstenodiona, Tetrahydrocortisol (THCol), estrona y progesterona presentan niveles significativamente mayores. Los ciclistas también presentan valores significativamente menores en las relaciones T/E, T/THC, T/THCol y DHEA/THC
- Tras cuatro semanas de entrenamiento de la fuerza en los universitarios, y una vez que se ha aplicado el factor de corrección para la creatinina, se produce una disminución en la excreción urinaria de los metabolitos del cortisol y una elevación en la excreción de andrógenos y estrógenos, siendo significativas las variaciones de epitestosterona, progesterona y Androsterona + Etiocolanolona.

También se elevan, aunque no significativamente, las relaciones andrógenos/corticosteroides estudiadas.

- Las relaciones estudiadas de andrógenos/corticosteroides son los mejores marcadores fisiológicos para valorar la carga de trabajo y la recuperación, ya que no se ven afectados por la concentración urinaria de creatinina.
- La relación Dehidroepiandrosterona/Tetrahydrocortisol (DHEA/THCol) aparece como la más válida para valorar el estrés que provoca una carga de trabajo sobre un deportista y por otro lado, la relación Testosterona/Tetrahydrocortisol (T/THCol) parece más útil para valorar la recuperación de las cargas.
- En los estudios de cuantificación de esteroides en orina es preciso aplicar el factor de corrección para la creatinina, para ver la concentración real de esteroides y no caer en errores de interpretación.

BIBLIOGRAFÍA

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Adlercreutz H, Hamalainen E, Gorbach SL, Goldin BR, Woods Mn, Dwyer J. "Diet and plasma androgens in postmenopausal vegetarian and omnivorous women and postmenopausal women with breast cancer" *Am J clin Nutric* 1989. 49:433-442.
- Adlercreutz H, Härkönen M. "Effect of training on plasma anabolic and catabolic steroid hormones and their response during physical exercise". *Int J Sports Med*. 1986. 46: 27-28
- Alden JC "Osteoporosis. A review" *Clin Ther* 1989 11(1). 3-14
- Andersson KE, Rosner W, Kahn MS, New MI, Pang S, Wissel PS, Kappas A. "Diet hormone interactions: protein/carbohydrate ratio alters reciprocally the plasma levels of testosterone and cortisol and their respective binding globuling in man" *Life Sci*. 1987. 40:1761-1768.
- Ballarin E, Guglielmini C, Martinelli S, Casoni Y, Borsetto C, Conconi F "Unmodified performance in runners following anabolic steroid administration" *Int J Sports Med*. 1986. 7, 302-306.
- Bartke A, Hafier A, Bex FJ, Dalterio S. "Hormonal interactions in regulation of androgen secretion" *Biol Reprod*, 1978. 18; 44-45
- Baulieu EE, Maurvais-Jarvais P. "Studies on testosterone metabolism" *J Biol. Chem* . 1964. 239. 1569-1577.
- Baulieu EE, Milgrom E, Robel P "Les hormones steroids I. Metabolisme general et analitique" *J Glandes Endocrines*. 1975. p. 57-88 .Paris
- Belanger A, Brochu M, Cliché J "Plasma levels of steroids glucoronides in prepuberal, adult and elderly men" . *J Steroid Biochem*. 1986. 24:1069-1072.
- Ben-Sira D, Ayalon A, Tavi M. "The effect of different types of strength training on concentric strength in women". *Journal Strength Conditioning Research*. 1995. 9 (3): 143-148.
- Bijlsma JW, Duursma Sa, Thijssen JH, Huber O. " Influence of nandorlondecanoate on the pituitary-gonadal axis in males" *Acta Endocrinol (Copen)* 1982 Sept 101(1). 108-12.
- Blue JG, Lombardo JA. "Steroids and steroid-like compounds". *Clin Sports Med* 1999. 18(3):667-689
- Bonnefoy M, Kostka T, Patricot MC, Berthouze SE, Mathian B, Lacour JR "Physical activity and dehydroepiandrosterone sulphate, insulin-like growth

- factor I and testosterone in healthy active elderly people". *Age Ageing* 1998 Nov 27 (6) 745-51.
- Bosco C. "L'influenza del testosterone sulla forza". *Arleticastudi*. 1995. 4;13-25.
 - Bosco C, Tihanyi J, Rivalta L, parlato G, Tranquilli C, pulvirenti G, Foti C, Viru M, Viru A. "hormonal responses in strenuous jumping effort", *Jpn J Physiol*. 1996. 46:93-98.
 - Bosco C, Colli R, Bonomi R, Von Duvillard SP, Viru A. "Monitoring Strength training: neuromuscular and hormonal profile". *Med Sci Sports Exerc* 2000 Jan 32 (1)202-8.
 - Bosco C, Iacovello M, Tsarpela O, Cardinale M, Bonifazzi M, Tihanyi J, Viru M, De Lorenzo A Viru A. "Hormonal responses to whole-body vibration in men". *Eur J Appl Physiol* 2000 Apr 81 (6) 449-54
 - Boudou P, Fiet J, laureaux C, patricot MC, Guezennec CY, foglietti MJ, Villete Jm, Friemet F, Haag JC. "Changes in several plasma and urinary components in marathon runners". *Ann Biol Clin*. 1987. 45. 37-45.
 - Brown G, Vukovich M, Reifenrath T, Uhl N, Parsons K, Sharp R, King D. "Effects of anabolic precursors on serum testosterone concentrations and adaptations to resistance training in young men". *Int J Sport Nutr and Exerc Metabol* 2000. 10:340-359.
 - Brown TR, Migeon CJ. "Mechanism of action of androgen: Androgen receptors. in Forest Mg (edit). *Androgens in Childhood.*" *Pediatric Adoles Endocr*. Basel Karger.1989 19, 24-36.
 - Busso T, Hakkinen K, Pakarinen A, Kauhanen H, Komi PV, Lacour JR. "Hormonal adaptations and modelled responses in elite weightlifters during 6 weeks of training". *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1992. 64(4):381-386.
 - Caballero MJ, Mena P, Maynar M. "Changes in sex hormone binding globulin, high density lipoprotein cholesterol and plasma lipid levels in male cyclist during training and competition." *Eur J Appl Physiol*. 1992. 64:9-13.
 - Cadoux-Hudson. TA, Few. JD, Imms FJ "The effect of exercise on the production and clearance of testosterone in well trained young men" *Eur J. Appl. Physiol*. 1985 54:321-325.
 - Cashmore GC, Davies CTM, Few JD "Relationship between increases in plasma cortisol concentration and rate of cortisol secretion during exercise in man. *J Endocrinol Metab*. 1977. 72:109-110.
 - Catlin DH, Leder BZ, Ahrens B, Starcevic B, Hatton CK, Green GA, Finkelstein JS. "Trace contamination of over-the-counter Androstenedione and Positive urine Test results for a Nandrolone Metabolite". *JAMA*. 2000. 284: 2618-2621

- Chesney RW, Mazess RB, Rose P “ Single-photon absorptiometry and dual-photon absorptiometry in children” In: Genant H (eds) Osteoporosis update 1987 University of California Printing Services, San Francisco. pp; 241-246.
- Chicharro JL, López_Mojares Lm, Lucia A, Perez M, Alvarez J, Labanda P, Calvo F, Vaquero AF. “Overtraining parameters in special military units” *Aviat Space Environ Med* 1998. 69:562-8
- Craig BW, Brown R, Everhart J. “Effects of progressive resistance training on growth hormone and testosterone levels in young and elderly subjects” *Mechan. Ageing and Devel* 1989. 49:159-169.
- Crist DM, Peake GT, Stackpole PJ. “Lipemic and lipoproteinemic effects of natural and synthetic androgens in humans”. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1986 Jul; 13(7). 513-8.
- Cumming DC, Wall SR, Quinney HA, Belcastro AN. “Decrease in serum testosterone levels with maximal intensity swimming exercise in trained male and female swimmers” *Endocrine Research*. 1987. 13: 31-41.
- Daughaday WH. “Evidence for two corticosteroid binding systems in human plasma” *Medicine*. 1956. 48: 799-805.
- Dehenin L. “Secretion by the human testis of epitestosterone, with its sulfoconjugate and precursor androgen 5-androstene-3 beta, 17 alfa-diol” *J Steroid Biochem Molec Biol*. 1993 44:171-177.
- Donike M, Geyer H, Kraft M, Rauth S “Influencia a largo plazo del uso indebido de esteroides anabolizantes sobre el perfil esteroideo”. *Archivos de Medicina del Deporte*. Vol II. 1990. Pp 162-172.
- Dressendorfer RH, Wade CE. “Effects of 15-d race on plasma steroid levels and leg muscle in runners” *Med Sci Sports Exerc* 1991. 23(8):954-958.
- Ewing LL, Robaire B. “Endogenous antispermatogenic agents : prospects for male contracepcion”. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1978. 18: 167-187.
- Fahey TD, Rolph R, Moungmee P, Nagel J, Mortara S “Serum testosterone, body composition and strength in young adults”. *Med Science Sport Exerc*. 1976. 9, 31-34.
- Farrel PA, Kjaer M, Bach FW, Galbo H. “Betaendorphin and adrenocorticotropin response to supramaximal treadmill exercise in trained and untrained males. “*Acta Physiol Scand*. 1987. 130:619-625.
- Ferrando AA y Green NR. “The effects of borom supplementation on lean body mass, plasma testoterone levels, and strength in male body builders”. *Int J Sport Nutr*. 1993. 3 :140-149.

- Few JD. "Effect of exercise on the secretion and metabolism of cortisol in man." *J Endocrinol.* 1972 62:341-353.
- Filaire E, Duche P, Lac G. "Effects of amount of training on the saliva concentrations of cortisol, dehydroepiandrosterone and on the dehydroepiandrosterone/cortisol concentration ratio in women over 16 weeks of training" *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.*1998. 78(5):466-71.
- Filaire E, Duche P, Lac G. "Effects of training for two ball games on the saliva response of adrenocortical hormones to exercise in elite sportswomen". *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1998. 77:452-6.
- Filaire E, Lac G "Dehydroepiandrosterone (DHEA) rather testosterone shows saliva androgen responses to exercise in elite female handball players" *Int Sports Med* 2000. 21(1):17-20
- Filaire E, Sagnol M, Ferrand C, Maso F, Lac G. "Psychophysiological stress in judo athletes during competitions" *J Sports med Phys Fitness.* 2001. 41 (2):263-268.
- Fischer HG, Hartmann U, Becker R, Kommans B, Mader A, Hollmann W. "The excretion of 17-ketosteroids and 17-hydroxycorticosteroids in night urine of elite rowers during altitude training." *Int J Sports Med* 1992 Jan;13(1):15-20.
- Fischer HG, Hartmann U, Becker R, Kommans B, Mader A, Hollmann. "The excretion of 17-ketosteroids, and 17-hydroxycorticosteroids in night urine of elite rowers during altitude training" *Int J Sports Med* 1992.13(1):15-20
- Flynn Mg, Pizza FX, Brolinson PG. "Hormonal responses to excessive training: influence of cross training" *Int J Sports Med* 1997. 18(3):191-196.
- Forest MG. *Androgens in childhood. Biological, physiological, clinical and therapeutic aspects. Pediatric and Adolescent Endocrinology.* 1989. Vol 19. Edit: Laron Z, Tikva P. Tel Aviv.
- Franchimont P, Burger H, "Human Growth Hormone and Gonadotrophins in Health and Disease". 1975. North Holland Publishing Co. Amsterdam.
- Friedman AJ, Ravnkar VA, Barbieri RI. "Serum steroid profiles in postmenopausal smokers and nonsmokers". *Fertil Steril* 1987. 47:398-401
- Fry Ac, Kraemer WJ "Resistance exercise overtraining and overreaching. Neuroendocrine responses. *Sport Med.* 1997. 23(2):106-29.
- Fry AC, Kraemer WJ, Ransey LT. "Pituitary-adrenal-gonadal response to high-intensity resistance exercise overtraining". *J Appl Physiol* 1998 Dec,85 (6):2352-9

- Furuya E, Maezawa M, Nishikaze O. "17-KS sulfate as a biomarker in psychosocial stress" *Rinsho Byori* 1998. 46(6):529-537.
- Galán AM, Maynar JJ, García de Tiedra MP, Rivero JJ, Caballero MJ, Maynar M. "Determination of nandrolone and metabolites in urine samples from sedentary persons and sportsmen" *Journal of Chromatography*. 2001. 761:229-236.
- García Manso JM, Sarmiento Ramos L, Ortega Santana F, Gallup Marrero I, Hernández Rodríguez. "Cinética de la testosterona en el entrenamiento de la fuerza en estudiantes de Educación Física" *RED*. 2001. Tomo XV, Núm 2.
- Gorostiaga EM, Izquierdo M, Iturralde P, ruesta M, Ibañez J. "Effects of heavy resistance training on maximal and explosive force production, endurance and serum hormones in adolescent handball players" *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1999. 80(5):485-93
- Gorski J. "The nature and development of steroid hormone receptors" *Experientia* .1986. 42, 744
- Gotshalk LA, Loebel CC, Nindl, BC, Putukian M, Sebastianelli WJ, Newton RU, Hakkinen K, Kraemer WJ. "Hormonal responses of multi-set versus single-set heavy resistance exercise protocols" *Can. J. Appl. Physiol*. 1997. 22:244-255.
- Guglielmini C, Paolini AR, Cosconi F. "Variations of serum testosterone concentrations after physical exercise of different duration". *Int J Sports Med*. 1984. 5:246-249.
- Guillard JC, Moreau D, Malval M, Morville R, Klepping J "Evaluation of sympathoadrenal activity , adrenocortical function and androgenic status in five men during a Himalayan mountain expedition (ascent of Mt Pabil, 7.102m, 23,294ft)" *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1984. 52(2):156-162.
- Hackney AC, Ness RJ, Schrieber A. "Effects of endurance exercise on nocturnal hormone concentrations in males" *Chronobiol Int*. 1989. 6:341-346.
- Hackney Ac, Sinning We, Brout BC "Hypothalamic-pituitary-testicular axis function in endurance-trained males" *Int J Sports Med* 1990. 11:298-303.
- Hackney AC y Viru A. "Twenty four hour cortisol response to multiple daily exercise sessions of moderate and high intensity". *Clin Physiol* . 1999. 19(2):178-182.
- Haffner SM , Katz Ms, Stern MP, Dunn JF. "Increased upper body and overall adiposity is associated with decreased sex hormone binding globulin in postmenopausal women". *Int J Obes*. 1991. 15:471-478.

- Haffner SM, Katz Ms, Stern MP, Dunn JF. "Relationship of sex hormone binding globulin to overall adiposity and body fat distribution in a biethnic population". *Int J Obes*, 1989. 13:1-9
- Hakkinen K y Pakkarinen A. "Serum hormones in male strength athletes during intensive short term strength training" *Eur J Appl Physiol* 1991. 63:194-199.
- Hakkinen K, Pakkarinen A, "Serum hormones and strength development during strength in middle-aged elderly males and females" *Acta Physiol.Scand* . 1994. 150:211-219.
- Hakkinen K, Pakkarinen A, Alen M, Kauhanen H, Komi PV. "Neuromuscular and hormonal adaptations in athletes to strength training in two years". *J Appl Physiol* 1988. 65(6):2406-12.
- Hakkinen K, Pakkarinen A, Alen M, Kauhanen H, Komi PV. "Neuromuscular and hormonal responses in elite athletes to two successive strength training sessions in one day" *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1988 57 (2). 133-9
- Hakkinen K, Pakkarinen A, Kraemer WJ, Newton RU, Alen M. "Basal concentrations and acute responses of serum hormones and strength development during heavy resistance training in middle-aged and elderly men and women". *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000. Feb 55 (2) B95-105.
- Hakkinen K, Pakkarinen A, Newton RU, Kraemer WJ. "Acute hormone responses to heavy resistance lower and upper extremity exercise in young versus old men". *Eur J. Appl. Physiol.* 1998 77 (4), 312-319.
- Hakkinen K, Pakkarinen A. "Acute hormonal response to 2 different fatiguing heavy resistance protocols in male athletes" *J Appl Physiol.* 1993. 74(2):882-887.
- Hakkinen K, Pakkarinen A. "Acute hormonal responses to heavy resistance exercise in men and women at different ages" *Int J. Sport. Med* 1995 16(8): 507-513.
- Hakkinen K, Pakkarinen A, Alen M, Kauhanen h, Komi PV. "Daily hormonal and neuromuscular responses to intensive strength training in one week" *Int J. Sports Med.* 1988. 6:422-428
- Hakkinen K, Pakkarinen A, Alen M, Kauhanen h, Komi PV. "Relationship between training volumen, physical performance capacity and serum hormone concentrations during prolonged training in elite weightlifters" *Int J Sports Med.* 1987. 8:61-65.
- Hakkinen K. "Neuromuscular and hormonal adaptations during strength and power training. A review " *Int J Sports Med.* 1989 29:9-26.

- Harkonen M, Naveri H, Kuoppasalmi K, Huhtaniemi I “ Pituitary and gonadal function during physical exercise in the male rat” J Steroid Biochem 1990. 35:127-132.
- Hartz AJ, Kelber S, Borhowf H, Wild R, Billis BL, Rim AA. “ The association of smoking with clinical indicators of altered sex steroids”. A study of 50 women.” Public Health Rep 1987. 102:254-259.
- Hedelin R, Kentta G, Wiklund U, Bjerle P, Henriksson-Larsen K. “Short-term overtraining: effects on performance, circulatory responses and heart rate variability” Med Sci Sports Exerc 2000. 32(8),1480-4
- Homo-Delarche F. “Glucocorticoid receptors and steroid sensitivity in normal and neoplastic human lymphoid tissues. A review” Cancer Res. 1984 44:431
- Hoogeveen Ar, Zonderland ML “Relationships between testosterone, cortisol and performance in professional cyclists” Int J, Sports Med 1998 Aug 17(6) 423-8.
- Hoogeveen AR, Zonderland MI “Relationships between testosterone, cortisol and performance in professional cyclists” Int J Sports Med 1996. 17(6):423-428.
- Hu ZY, Bourreau E, Jung-Testas I, Robel P, Baulieu EE. “Neurosteroids: oligodendrocyte mitochondria convert cholesterol to pregnenolone” Proc Natl Acad Sci USA 1987. 84: 8215-8219.
- Iñigo MA, Arrimadas E, Arroyo D. “43 cycles of anabolic steroid treatment studied in athletes: the uses and secondary effects”. Rev Clin Esp 2000. 200(3):133-138.
- Istvan JA, Buist AS, Hess DL, Voelker H. “Relationship of smoking cessation and nicotine gum use to salivary androstenedione and testosterone in middle aged men”. Metabolism 1995. 44:90-95.
- Izquierdo M, Hakkinen K, Ibañez J, Garrues M, Anton A, Zuñiga A, Larrion JI, Gorostiaga EM. “Effects of strength training on muscle power and serum hormones in middle-aged and older men” J. Appl Physiol 2001. 90:1497-507.
- Jahreis G, Kauf E, Frohner G, Schmidt HE “Influence of intensive exercise on insulin-like growth factor I, Thyroid and steroid hormones in female gymnasts” Growth Regul 1991. 1:95-99
- Jensen J, Oftebro H, Breigan B, Johnson A, Ohlin K, Meen HD, Stromme SB, Dahl HA. “ Comparison of changes in testosterone concentrations after strength and endurance exercise in trained men” Eur J. Appl Physiol. 1991. 63:467-471.
- Johansen KL, Mulligan K, Schambelan M. “ Anabolic effects of nandrolone decanoate in patients receiving dialysis: a randomised controlled trial”. JAMA 1999, Apr 14 281 (14). 1275-81.

- Johansson C, Tsai L, Hultman E, Tegelman R, Poussete A. "Restoration of anabolic deficit and muscle glycogen consumption in competitive orienteering" Int J Sports Med. 1990. 11:204-207.
- Jurimae T, Viru A, Karelson K, Smirnova T. "Biochemical changes in blood during the long and short triathlon competition". J Sports Med Phys Fitness. 1989. 29(4):305-309.
- Jurimae T, Viru A, Karelson K, Lintsi ME Smirnova T. "Effect of triathlon competition on the content of various hormones and the energy substrate of the blood". Fisiol Zh. 1989. 35(1). 78-82.
- Kato Y, Nomura A, Stemmerman GN. "Determinants of sex hormone levels in men as useful indices in hormone-related disorders" J Clin Epidemiol 1992. 45:1417-1421
- Keizer H, Janssen GM, Menheere P, Kranenburg G. "Changes in basal plasma testosterone, cortisol, and DHEAS in previously untrained males and females preparing for a marathon" Int J Sport Med 1989. 10 Supl 3:S139-145.
- Khaw KT, Chir MB, Tazuke S, Barret-Connor E. "Cigarette smoking and levels of adrenal androgens in postmenopausal women" N Engl J Med 1988. 318:1705-1709.
- Kimura N, Ito T, NishiKawa S ." A study on the effects of the physical load of instructors during ice skating camp" Nippon Eiseigaku Zasshi .1989 44:839-846.
- Kostka T. "Aging and so called *youth hormones*. Potential influence exercise training". Przegl Lek 2001. 58:25-27.
- Kraemer WJ "Endocrine responses to resistance exercise". Med Sci Sports Exerc. 1988. 20(5): S152-7.
- Kraemer Wj, Fry Ac, Warren BJ, Stone Mh, Fleck SJ, Kearnev JT, Conroy BP, Maresh CM, Weswman CA, Triplett Nt, Gordon SE. "Acute hormonal responses in elite junior weightlifters" Int J. Sports Med.1992. 13 (20): 103-109.
- Kraemer WJ, Hakkinen K, Newton RU, McCormick M, Nindl BC, Volek JS Gotshalk LA, , Fleck SJ, Campbell WW, Gordon SE, Farell PA, Evans WJ. "Acute hormonal responses to heavy resistance exercise in younger and older men" 1998. J Appl Physiol 7 (3) 206-211.
- Kraemer WJ, Hakkinen K, Newton RU, Nindl BC, Volek JS, McCormick M, Gotshalk LA, Gordon SE, Fleck SJ, Campbell WW, Putukian M, Evans WJ. "Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. older men" J Appl Physiol 1999 Sep 87 (3) 982-92.

- Kraemer WJ, Marchitelli L, McCurry D, Mello R, Dziados JE, Harman E, Frykman P, Gordon SE, Fleck SJ. "Hormonal and growth factor response to heavy resistance exercise" *J Appl Physiol*. 1990. 69:1442-1450.
- Kraemer WJ, Staron RS, Hagerman FC, Hikida RS, Fry Ac, Cordon Se, Nindl BC, Gothshalk LA, Volek JS, Marx Jo, Newton RU, Hakkinen K. "The effects of shorts-term resistance training on endocrine function in men and women". *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1998 Jun 78 (1) 69-76.
- Kramer RE, Gallant S, Brownie AC " Actions of angiotensin II on aldosterone biosynthesis in the rat adrenal cortex. Effects on cytochrome P450 enzymes of the early and late pathways" *J Biol Chem*. 1980. 255; 3442-3447.
- Kraus-Friedman N. "Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis" *Physiol Rev*. 1984. 64:170
- Kreider RB. "Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise". *Sports Med* 1999. 27(2):97-110.
- Kuipers H, Heizer HA. "Overtraining in elite athletes. Review and directions for the future". *Sports Med*. 1988. 6:79-92.
- Kujala UM, Alen M, Huntaniemi IT. "Gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotrophin tests reveal that both hypothalamic and testicular endocrine functions are suppressed during acute prolonged physical exercise" *Clin Endocrinol* 1990. 33:219-225.
- Kuoppasalmi K, Nasveri H, Harkonen M, Adlercreutz H. "Plasma cortisol, androstenedione, testosterone and luteinizing hormone in running exercise of different intensities". *Scand J Clin Lab Invest*. 1980. 40(5):403-409.
- Lamb DR. "Fisiología del ejercicio. Ed Pila AE. 1978, pg 17-23.
- LaMorte A. Kumar N, Bardin CW, Sundaram K. "Aromatization of 7 alpha-methyl-19-nortestosterone by human placental microsomes in vitro". *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1994. 48 (2-3): 297-304.
- Lan NC. "Mechanisms of glucocorticoid hormone action" *J Steroid Biochem*. 1984. 20:77
- Lehmann M, Gastmann U, Petersen KG, Bachl N, Seldel A Khalar AN, Fischer S, Keul J. "Training-overtraining: performance, and hormone levels, after a defined increase in training volume versus intensity in experienced middle- and long-distance runners". *Br J Sports Med*. 1992. 26 (4):233-42.
- Lucía A, Díaz B, Hoyos J, Fernández C, Villa G, Bandres F, Chicharro JL. "Hormone levels of world class cyclists during the Tour of Spain stage race". *Br J Sports Med*. 2001. 35(6): 424-430.

- Luger A, Deuster PA, Kyle SB, Gallucci WT, Montgomery LC, Gold PW, Loriaux DL, Chrousos GP. "Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. Physiologic adaptations to physical training". *N Engl J Med* 1987 316 (21):1309-15.
- Lupo C, Baldi L, Bonifazi M, Lodi L, Martelli G, Viti A, Carli G. "Androgens levels following a football match". *Eur j Appl Physiol Occup Physiol*. 1985. 54(5): 494-496.
- Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TA, Van Eerdenburg FJ. "Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle". *Theriogenology*. 2000. 53(9): 1783.1795.
- Marinelli m, Roi Gs, Giacometti M, Bonini P, Banfi G. "Cortisol, testosterone and free testosterone in athletes performing a marathon at 4000 m. altitude". *Horm Res*. 1994. 41:225-229
- Marthur RS, Toriolo AL, Dada DA. "Serum cortisol and testosterone levels in conditioned male distance runners and nonathletes after maximal exercise" *J Sports Med Phys Fitness*. 1986. 26:245-250.
- Marthur RS, Neff MR, Landgrebe SC, Moody LO, Kirk RF, Gadsden RH, Rust PF. "Time-related changes in the plasma concentrations of prolactin, gonadotropins, sex-hormone-binding globulin, and certain steroid hormones in female runners after a long distance race". *Fertil Steril*. 1986. 46: 1067-1070.
- Martin CL, Duclos M, Aguerre S, Mormede P, Manier G, Chaouloff F. "Corticotropic and serotonergic responses to acute stress with/without prior exercise training in different rat strains" *Acta Physiol Scand* 2000. 168(3):421-430.
- Marx JO, Ratamess NA, Nindl BC, Gotshalk LA, Volek JS, Dohi K, Bus JA, Gomez AL, Mazzetti SA, Fleck SJ, Hakkinen K, Newton RU, Kraemer WJ. "Low volume circuit versus high-volume periodized resistance training in women". *Med Sci Sports Exerc*. 2001. 33 (4): 635-43.
- Maynar M, Caballero MJ, Mena P, Rodríguez C, Cortes R, Maynar JI. "Urine excretion of androgen hormones in professional racing cyclists". *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1994. 68(3):200-204.
- McColl EM, Wheeler GD, Gomes P, Bhambhani Y, Cumming DC. "The effects of acute exercise on pulsatile LH release in high-mileage male runners" *Clin Endocrinol* 1989, 31:617-621.
- Meikle AW, Bishop DT, Stringham JD. "Relationship between body mass index, cigarette smoking and plasma sex steroids in normal male twins" *Genet Epidemiol* 1989. 6:399-412.

- Mero A, Pitkamen H, Oja SS, Komi PV; Pontinen P, Takala T. "Leucine supplementation and serum amino acids, testosterone, cortisol and growth hormone in male power athletes during training." *J Sports Med Phys Fitness*. 1997. 37:137-45.
- Mesa JL, Gutierrez A. "Biomarcadores agudos del trabajo de fuerza explosiva e intermitente de alta intensidad" *RED*. 2001. Tomo15, num.1
- Milani RV, Lavie CJ, Barbee RW, Littman AB. "Lack of effect of exercise training on dehydroepiandrosterone-sulfate" *Am J Med Sci*. 1995. 310(6):242-246.
- Miller M. "Assessment of hormonal disorders of water metabolism". *Clin Lab Med* .1984, 4:729.
- Mooradian AD, Morley JE, Korenman SG. "Biological actions of androgen" *Endocr Rev* 1987. 8, 1-28.
- Morris FL, Payne WR, Wark JD. "Prospective decrease in progesterone concentrations in female lightweight rowers during the competition season compared with the off season: a controlled study examining weight loss and intensive exercise" *Br J Sports Med*. 1999. 33 (6):417-422.
- Morris FL, Wark JD. "An effective, economic way of monitoring menstrual cycle hormones in at risk female athletes" *Med Sci Sports Exerce*. 2001. 33(1): 9-14.
- Newmark Sr, Himathongkam T, Martin RP, Cooper KH." Adrenocortical response to marathon running" *J Clin Endocrinol Metab*. 1976. 42:393-394.
- Nindl BC, Kraemer WJ, Deaver DR, Peters J, Marx JO, Heckman JT, Iommis GA. "LH Secretion and testosterone concentrations are blunted after resistance exercise in men". *J Appl Physiol*. 2001. 91 (3):1251-8.
- Nishikaze O "17KS sulfate as a biomarker in health and disease" *Rinsho Byori*. 1998. 46(6).520-528
- Nishikaze O, Furuya E. "Stress and anticortisols-17-ketosteroid sulfate conjugate as a biomarker in tissue repair and recovery" *J UOEH* 1998. 20 (4):273-295
- Nishikaze O, Furuya E. "Coping with stress in the elderly". *Nippon Ronen. Igakkai Zasshi*. 2000. 37: 68-73.
- Nishikaze O, Furuya E. "Stress and anticortisols 17 ketosteroids sulfate conjugate as a biomarker in tissue repair and recovery" *Sangyo. Ika. Daigaku Zasshi*. 1998.20:273-295.
- O'Connor PJ, Morgan WP, Raglin JS, Barksdale CM, Kalin NH. "Mood State and salivary cortisol levels following overtraining in female swimmers" *Psychoneuroendocrinology* 1989. 14:303-310

- Palacios A, Campfield LA, Mclure RD, Steiner B, Swerdloff RS “ Effect of testosterone enanthate on hematopoiesis in normal men” *Fertil Steril* 1983 40. 100-104.
- Pantaleoni M, Barini A, Valerio L, Zizzo G, Coletta F, Velardo A. “Changes in the blood levels of adrenal hormones after prolonged physical activity”. *Minerva Endocrinol* 1991. 16:17-20.
- Pardridge WM. “Serum bioavailability of sex steroids hormones” *Clin Endocrinol Metab.* 1986 15:259-278.
- Pascuali R, Casimirri F, Cantobelli S, Melchionda N, Labate AM, Fabbri R, Capelli M, Bortuluzzi L. “Effect of obesity and fat distribution on sex hormones and insulin in men” *Metabolism.* 1991. 40:101-104.
- Peterson SE, Peterson MD, Raymond G, Gilligan C, Checovich MM, Smith EL. “Muscular Strength and bone density with weight training in middleage women”. *Med Sci Sports Exerc.* 1991. 23 : 499-504.
- Petraglia F, Barletta C. “Response of circulating adrenocorticotropin, betaendorphin, betalipoprotein and cortisol to athletic competition” *Acta Endocrinol* 1988. 118:332-336.
- Ponjee GA, De Rooy HA, Vader HL. “Androgen turnover during marathon running”. *Med Sci Sports Exerc.* 1994 26(10):1274-7
- Rivero-Marabé JJ; Maynar Mariño JI; Garcia de Tiedra, MP; Galán Martín AM; Caballero Loscos MJ; Maynar Mariño M.” Determination of natural corticosteroids in urine samples from sportmen”. *Journal of Chromatography.* 2001. 761: 77-84.
- Rivarola MA, Belgorosky A. “Metabolism, interconversion and protein transport of androgen” In: Forest MG. *Androgens in childhood Pediatric and Adolescent Endocrinology.* 1989 Vol 19 pp: 24-36
- Rommerts FG “ Testosterone: an overview of biosynthesis, transport, metabolism and action” 1990. Ed Nieschalg. Pp 1-19.
- Ronkainen HR, Pakarinen AJ, Kauppila AJ. “Adrenocortical function of female endurance runners and joggers”. *Med Sci Sports Exerc* 1986. 18(4):385-389
- Ronsen O, Haug E, Pedersen BK, Bahr R. “Increased neuroendocrine response to a repeated bout of endurance exercise” . *Med Sci Sports Exerc* 2001. 33(4):568-575.
- Rosenfield RF, Moll GW. “ The role of proteins in the distribution of plasma androgens and estradiol. Androgenisation of women” Raven Press 1983, 5 25-38.

- Rousseau GG. "Control of gene expression by glucocorticoids hormones" *Biochem J* 1984. 224:1
- Salvador A, Moya-Albiol L, Martínez-Sanchis S, Simon VM. "Lack of effects of anabolic-androgenic steroids on locomotor activity in intact male mice" . *Percept Mot Skills* 1999 Feb 88 (1). 319-28.
- Schurmeyer T, Jung K, Nieschlag E. "The effect of an 1100 Km run on testicular, adrenal and thyroid hormones" *Int J Androl* 1984 7(4):272-82
- Schwab R, Johnson GO, Housh TJ, Kinder JE, Weir JP. "Acute effects of different intensities of weightlifting on serum testosterone". *Med Scien. Sports Exer.* 1993. 25:1381-1385.
- Shanbhag VP, Sodergard R. "The temperature dependence of the binding of 5 alpha dihydrotestosterone, testosterone and estradiol to the sex hormone binding globulin of human plasma" *J Steroid Biochem* 1986. 24:549-555.
- Shors TJ, Pickett J, Wood G, Paczynski M. "Acute stress persistently enhances estrogen levels in the female rat". *Stress* . 1999. 3(2):163-71.
- Simon D, Preziosi P, Barret-Connor E, Roger M, Saint Paul M, Nahoul K, Papoz L. "Interrelationship between plasma testosterone and plasma insulin in healthy adult men" *The Telecom Study. Diabetologia*, 1992, 35: 173-177.
- Simon D, Preziosi P, Barret-Connor E. "The influence of aging on plasma sex hormones in men" *The Telecom Study. Am J Epidemiol* 1992. 135:783-791.
- Solish SB, Picado-Leonard J, Morel I, Kuhn RW, Mohandas TK, Hanukoglu I, Miller WL. "Human adrenoxin reductasa . who mRNAs encoded by a single gene on chromosome 17 cen—q25 are expressed in steroidogenic tissues". *Proc natl Acad Sci USA* 1988. 85; 7104-7108.
- Starka L. "Epitestosterone: a hormone or not" *Endocr Rev* 1993. 27: 43-48.
- Strauss RH, Lanese RR, Malerkey WB. "Weight loss in amateur wrestler and its effects on serum testosterone levels" *JAMA* 1985. 254:3337-8.
- Struder HK, Hollman W, Platen p, Rost R, Weicker H, Kirchhof O, Weber K. "Neuroendocrine system and mental function in sedentary and endurance-trained elderly males". *Int J Sports Med.* 1999. 20(3):. 159-166.
- Suay F, Salvador A, González-Borno E, Sanchis C, Martínez M, Martínez-Sanchis S, Simón VM, Montoro JB. "Effects of competition and its outcome on serum testosterone, cortisol and prolactin" *Psychoneuroendocrinology.* 1999. 24(5): 551-566.

- Sutton. JR, Coleman MJ, Casey J, Lazaros L. "Androgen responses during physical exercise" *British Med J* 1973. 1:520:522.
- Tchernof A, Despres JP. "Sex steroid hormones, sex hormone-binding globulin, and obesity in men and women". *Horm Metab Res* 2000. 32(11-12):526-536.
- Tegelman R, Aberg T, Pousette A, Carlstrom K "Effects of a diet regimen on pituitary and steroid hormones in male ice hockey players" *Int J Sports Med* 1992. 13:424-430
- Tegelman R, Carlstrom K, Pousette A. "Hormone levels in male ice hockey players during the night after a 26-hour cup tournament" *Andrologia* 1990. 22(3): 261-8.
- Tobias GJ, Mclaughlin RF, Hooper j. "Endogenous creatinine clearance". *N Engl J Med.* 1962. 266:317.
- Toscano V. "Hirsutims: pilosebaceous unit sysregulation. Role of peripheral and glandular factors" *J Endocrinol Invest.* 1991. 14:153-170.
- Ueki M, Okano M. "Analysis of exogenous dehydroepiandrosterone excretion in urine by gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry" *Rapid Commun Mass Spectrom.* 1999. 13(22):2237-43.
- Umstot ES, Andersen RN. "Nonsteroidal substances that affect serum free testosterone". *J Steroid Biochem.* 1986. 25:225-229.
- Uralets VP, Gillette PA. "Over the counter anabolic steroids 4-androsten-3,17-dione; 4-androsten-3beta, 17 betadiol, and 19-nor-4 androsten-3, 17-dione, excretion studies in men" *J Anal Toxicol* 1999. 23 (5):357-366.
- Urhausen A, Gabriel HH, Kindermann W. " Impaired pituitary hormonal response to exhaustive exercise in overtrained endurance athletes". *Med Sci Sports Exer* 1998. Mar 30 (3) 407-14.
- Urhausen A, Gabriel HH, Kindermann W. "Blood hormones as markers of training stress and overtraining". *Sports Med* 1995 Oct 20 (4) 251-76.
- Uusitalo AI, Huttunen P, Hanin Y, Uusitalo AJ, Rusko Hk "Hormonal response to endurance training and overtraining in female athletes". *Clin J Sport Med* 1998. 8(3):178-86.
- Valloton MB. "Récents concepts de la régulation hormonale de l'équilibre hidromineral". *Etude des hormones et regulations métaboliques* 1973. , pg 1-21. Masson, Paris
- Van Eenoo P, Delbeke FT, de Jong FH, De Backer P. " Endogenous origin of norandrosterone in female urine. Indirect evidence for the production of 19-norsteroids as by-products in the conversion from androgen to estrogen". *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2001. 78(4): 351-357.

- Verde T, Thomas S, Shephard RJ. "Potencial markers of heavy training in highly trained distance runners" *Br J Sports Med* 1992. 26 (3) 167-75.
- Vermeulen A, Ando S , Verdonck L "Prolactinoms, SHBG and androgen metabolism" *J Clin Endocrinol Metab*, 1982. 54;409-412.
- Vervoorn C, Quist AM, Vermulst LJM, Erich WB, De Vries WR, Thijssen JH. "The behavior of the plasma free testosterone/cortisol ratio during a season of elite rowing training" *Int J Sports Med*. 1991. 12:257-263.
- Viru AM, Hackney AC, Valja E, Karelson K, Janson T, Viru M. "Influence of prolonged continuous exercise on hormone responses to subsequent exercise in humans". *Eur J Appl Physiol*. 2001. 85(6):578-585.
- Vuorimaa T, Vasankari T, Mattila K, Heinonen O, Hakkinen K, Rusko H. "Serum hormone and myocellular protein recovery after intermittent runs at the velocity associated with VO₂ max" *Eur J Appl. Physiol*. 1999 80 (6):575-581.
- Weis IW, Cureton KJ, Thompson FN . "Comparison of serum testosterone and androstenedione responses to weight lifting in men and women" *Eur J .Appl. Physiol*. 1983. 50:413-419.
- Weusten J, Legemaat G, Van Der Wouvw M, Small A, Kloppenborg P, Benraada TH. " The mechanism of the syntesis of 16-androstenes in human testicular homogenates" *J Steroid Biochem*. 1989. 32:684-694.
- Wheeler GD, Singh M, Pierce WD, Epling WF, Cumming DC. "Endurance training decreases serum testosterone levels in men without change in luteinizing hormone pulsatile release" *J Clin endocrinol Metab* 1991. 72:422-425.
- Wilson JD. "Androgen abuse by athletes" *Endocrine Rev*, 1988, 9, 2-5.
- Wood AW, Smith DS, Chang RL, Huang MT, Conney AH "Effects of flavonoids on the metabolism of xenobiotics" *Prog Clin Biol Res*. 1986. 213:195-210.
- Xu X, Pergola G, Björntorp P "The effects of androgens on the regulation of lipólisis in adipose precursor cells" *Endocrinology* 1990. 126: 1229-1234.
- Yap BK, Kazlauskas R, Elghazi K, Johnston GA, Weatherby RP. Profiling of urinary testosterone and luteinizing hormone in exercise-stressed male athletes, using gas chromatography-mass spectrometry and enzyme immunoassay tecniques." *J Chromatogr B Biomedid Appl* 1996. 687(1) :117-125.
- Yen SC y Jaffe RB. *Reproductive Endocrinology*. 1978. Saunders Co Philadelphia. U.S.A.

- Yoshiji S, Yamamoto T, Okada H. "Aromatization of androstenodione and 19-nortestosterone in human placenta, liver and adipose tissues". Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi. 1986. 62: 18-25.