



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

CONTROL DEL DOPAJE EN EL DEPORTE MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS

TRABAJO FIN DE GRADO BIBLIOGRÁFICO

presentado por

Carlos Mora Cubero

para optar al

GRADO EN FARMACIA

Curso Académico 2020-2021

Tutor: José Luis Espartero Sánchez
Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica

Sevilla, julio 2021



**Control del dopaje en el deporte mediante
espectrometría de masas**

Carlos Mora Cubero
Trabajo Fin de Grado bibliográfico

Facultad de Farmacia
Universidad de Sevilla

Tutor: José Luis Espartero Sánchez
Dpto. de Química Orgánica y Farmacéutica

Sevilla, julio de 2021

RESUMEN

Durante toda la historia de la humanidad, el dopaje ha formado parte de nuestra cultura. Antiguamente se utilizaba como un método de supervivencia, sin conocer los fundamentos científicos en que se basaba. En la actualidad se muestra como una herramienta que usan los deportistas frecuentemente para obtener beneficios en el rendimiento físico y, así, conseguir ganar. Ante la ascendente aparición de escándalos referentes a la práctica de dopaje (varios con desenlace fatal) a mediados del siglo XX, se comienza a realizar controles a los deportistas para evitar el consumo de sustancias potencialmente perjudiciales para la salud que hacen la competición injusta. Entre los primeros métodos de control utilizados surge la espectrometría de masas, una técnica analítica con la que se obtiene información acerca de la estructura de las moléculas, así como su masa molecular. Esta técnica, basada en la formación de iones, permite analizar muestras humanas e identificar compuestos xenobióticos prohibidos en el deporte. Su desarrollo y acoplamiento a técnicas de separación la hacen ideal para la identificación y/o determinación estructural de gran cantidad de moléculas en matrices complejas. Gracias a la espectrometría de masas y su poder de detección se consiguió desvelar gran cantidad de casos de fraude en el deporte, como el de Ben Johnson, a quien le fue retirada una medalla de oro olímpica cuando se detectó un esteroide sintético en su orina. Parecida fue la historia de Marion Jones, que se dopaba con un compuesto similar hasta entonces desconocido. Otros deportistas, mundialmente reconocidos, como el ciclista Alberto Contador y la tenista Maria Sharapova también dieron positivo en controles antidopaje realizados con esta técnica y fueron retirados de la competición durante un tiempo.

Palabras clave: deporte, dopaje, espectrometría de masas.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1. Raíces del dopaje	5
2.2. Origen del dopaje en el deporte	6
2.3. Historia de la espectrometría de masas	10
2.4. Fundamentos teóricos de la espectrometría de masas	11
3. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA	17
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
5. CONCLUSIONES	31
6. BIBLIOGRAFÍA	32

1. INTRODUCCIÓN

El consumo de plantas y sustancias obtenidas de la naturaleza por parte del hombre para alterar las sensaciones y funciones biológicas tiene milenios de historia. Tanto es así que, al igual que en otros ámbitos, ya se realizaba esta práctica mediante la ingesta de raíz de ginseng en China, la hoja de coca en Perú o derivados de hongos en países escandinavos (Gracia et al., 2009). Su consumo se considera una costumbre adoptada por muchas culturas a lo largo de la historia siempre con el fin de aumentar el rendimiento físico consiguiendo omitir la fatiga, ya fuese el objetivo puramente recreativo o mera supervivencia.

Conforme la sociedad ha ido avanzando de la mano de los avances tecnológicos, igual lo ha hecho la sofisticación y profesionalización del deporte. Todo ello ha derivado de la misma forma en el continuo desarrollo de nuevas sustancias utilizadas por el ser humano para mejorar las marcas en competición.

Tras varios escándalos mediáticos relacionados con el uso y abuso de sustancias dopantes y, sobre todo, a partir de la trágica muerte del ciclista Tommy Simpson retransmitida en directo en 1967, provocada por el consumo de anfetamina, se creó la Comisión Médica del Comité Olímpico Internacional (COI). Desde su nacimiento, esta se encargó de los primeros controles antidopaje en los Juegos Olímpicos de México en 1968 y de la armonización internacional de las listas de sustancias y protocolos para luchar contra esta práctica (Gracia et al., 2009).

Desde entonces la Ciencia se ha visto fuertemente implicada en una doble vertiente. Por un lado, en el desarrollo de nuevas sustancias para su uso ilícito en el deporte, y por otro, en la creación de métodos aptos para su identificación en muestras humanas.

Es en este último aspecto donde cobra especial importancia la espectrometría de masas (EM), una técnica analítica basada en el estudio detallado de los iones que se forman al suministrar energía a una molécula, mediante la cual se puede obtener información acerca de la estructura de las moléculas analizadas y su masa (Carey, 2014).

Gracias a las sucesivas innovaciones de esta técnica, así como a su acoplamiento a otros métodos de separación y a la optimización de todos los protocolos llevados a cabo desde la recogida de muestras, en apenas medio siglo los controles realizados sobre deportistas para evitar el uso fraudulento de sustancias o métodos para obtener ventajas han conseguido dismantelar la administración de muchos compuestos nocivos para la salud humana y a la vez hacer más justa la competición.

2. ANTECEDENTES

2.1. RAÍCES DEL DOPAJE

“El dopaje es una práctica antideportiva contra la que se actúa ejerciendo diferentes tipos de acciones cuyo objetivo es disuadir al deportista de utilizar sustancias y métodos prohibidos. Entre estas acciones se encuentran las que se conocen como control del dopaje. Y entre estos procedimientos de dicho control, se encuentran los analíticos, desarrollados por laboratorios específicos, acreditados internacionalmente, ...” (Rodríguez Cano, 2008).

Así entiende el Consejo Superior de Deportes (CSD) de España en su obra *Historia del dopaje, sustancias y procedimientos de control* (Rodríguez Cano, 2008) la lucha contra el dopaje, una actividad relacionada específicamente con el deporte.

Sin embargo, el concepto de dopaje como tal se remonta a miles de años atrás, cuando las tribus consumían plantas y brebajes administrados por el chamán para luchar, ya fuese durante la caza, en enfrentamientos entre pueblos o dentro de uno mismo; incluso con fin afrodisíaco para mejorar sus cualidades sexuales (Rodríguez Bueno, 2008).

Dentro de la cultura china se encuentran referencias al uso de algunas especies del género *Ephedra* que se remontan a más de 5000 años atrás. Estas contienen efedrinas, conocidas por sus efectos estimulantes adrenérgicos y posteriormente clasificadas como dopantes. Además, el mismo emperador chino Shen Nung en 2737 a.C. proporcionó información sobre el efecto estimulante de *Panax ginseng* que, aunque su consumo no está prohibido actualmente, produce un incremento evidente en el rendimiento físico (Rodríguez Bueno, 2008).

Por otra parte, en gran parte del territorio americano se reportaron usos de la hoja de coca (*Erythroxylon coca*, entre otras especies) por sus efectos estimulantes, anorexígenos y desfatigantes. Sobre todo, en las civilizaciones de América Central y América del Sur era común que los trabajadores indígenas masticasen hojas de coca para afrontar fuertes trabajos como largas caminatas en las que cargaban grandes pesos. Gracias al efecto producido podían evitar el hambre, la sed y la fatiga para realizar

sus tareas más exigentes, un uso muy similar al concepto actual en el deporte (Rodríguez Bueno, 2008).

En cuanto al continente africano, en numerosas fuentes se habla del extenso uso de “kat”, “khat” o “quat”, un arbusto (*Catha edulis*) del que se extrae la catina. Esta es un alcaloide simpaticomimético conocido por sus efectos estimulantes del sistema nervioso central anulando o reduciendo sensaciones como el sueño, el hambre o la fatiga (Rodríguez Bueno, 2008).

En el continente europeo, sin embargo, este uso de sustancias para aumentar el rendimiento físico no parece ser tan extenso al no haber tantas referencias a lo largo de la historia, tal vez condicionado por la influencia de la Iglesia. Aun así, fue documentada la ingesta de *Amanita muscaria* por los vikingos del norte por sus efectos estimulantes, supuestamente responsable de la violencia característica de los mismos en batalla (Rodríguez Bueno, 2008).

Avanzando muchos siglos hasta épocas recientes, pero aún fuera del deporte, es digno de mención el enorme consumo de anfetaminas durante la Segunda Guerra Mundial (así como en anteriores confrontaciones bélicas en menor proporción) en vuelos extensos o nocturnos para mantener la vigilia (Rodríguez Bueno, 2009).

2.2. ORIGEN DEL DOPAJE EN EL DEPORTE

En 1986, R. D. Mandel en su obra *Historia cultural del deporte* escribe: “La forma y la profundidad con que el deporte se ha introducido en la vida simbólica interior del hombre moderno continúa siendo un enigma insoluble”.

Si bien en las antiguas culturas de la Grecia clásica y el Imperio Romano, en sus respectivos juegos, ya se conocía el uso de sustancias estimulantes para ganar (incluso el llamado “dopaje negativo” sobre el adversario) así como distintas penalizaciones cuando el fraude era descubierto (Rodríguez Bueno, 2008), no es hasta épocas posteriores cuando, con la universalización del deporte y el avance científico, comienza a hablarse de dopaje como lo conocemos hoy en día y se empieza a generalizar su práctica.

Concretamente, es en Atenas, con los Juegos Olímpicos de 1896, cuando surge el modelo de lo que hoy día consideramos el deporte moderno (Moldes, 2004) y consiste en “una actividad de élite, disciplinada, democrática y espectacular que responde a las necesidades espirituales y míticas de una sociedad en rápidas vías de industrialización” (Mandell, 1896).

Desde entonces se comenzó a concebir la idea del deporte como una actividad que, además de la variable competitiva, añadía la variable festiva que posteriormente evolucionaría al “deporte espectáculo” que vivimos en la actualidad. A ello contribuyeron en gran medida los Juegos Olímpicos de 1932 en Los Ángeles (Moldes, 2004), que convirtieron la competición, entonces retransmitida en televisión, en un fenómeno mundialmente seguido que ya empezaba a originar la enorme industria que conforma hoy.

Por desgracia, esto es en parte causa de la deriva que desarrolló la competición deportiva. Con la profesionalización del deporte, su industrialización y consecuente mayor financiación y promoción global, llegó el aumento de consumo de sustancias dopantes por parte de los competidores, debido tanto al aumento de las presiones por parte de los promotores y dirigentes de equipos y competiciones, al depender sus ingresos de la actuación deportiva, como del ansia de victoria, superioridad y poder característica del ser humano.

Antes de 1960, el consumo de sustancias dopantes se realizaba en secreto pero era comúnmente aceptado (Gracia et al., 2009). Ya desde el siglo XIX, con la introducción de las anfetaminas, se fue extendiendo su uso en el deporte, sobre todo en el ciclismo. En 1886 se conoce el primer escándalo tras la muerte del ciclista galés Artur Linton por una sobredosis de opio y otros estupefacientes en la carrera de Burdeos a París (Rodríguez Bueno, 2008).

A partir de la década de los sesenta es cuando todo cambia. Primero, se conoce la muerte de un ciclista en los Juegos Olímpicos de Roma (1960) tras dosis masivas de anfetaminas y estimulantes de la circulación sanguínea. Luego fue el boxeador Billy Belto quien en 1963 falleció por sobredosis de heroína (Rodríguez Bueno, 2008).

El punto de inflexión lo conforma la muerte del ciclista Tom Simpson, televisada en directo en el Tour de Francia de 1967 tras un paro cardíaco ocasionado por el consumo de anfetamina y alcohol, junto a la enorme fatiga y deshidratación causada durante la etapa. El entonces ya existente Comité Olímpico Internacional (COI) procedió a la creación de la Comisión Médica del COI, con el que se pretendió comenzar la lucha contra el dopaje realizando así controles por primera vez en los Juegos Olímpicos de México de 1968 (Gracia et al., 2009).

Tras décadas de lucha contra el dopaje en las que las técnicas analíticas de control se fueron perfeccionando y aumentando (así como la lista de sustancias dopantes), se creó en 1999 la Agencia Mundial Antidopaje (AMA)¹ con el objetivo de armonizar las listas de sustancias prohibidas en el deporte y protocolizar debidamente los procedimientos para los controles de dopaje.

Anterior a la creación de la AMA, fueron varios los intentos de crear listas de sustancias prohibidas. Así, en 1966 tanto el Consejo de Europa por una parte como el COI crearon sus propias listas, caracterizadas por ser listas “cerradas” en las que se enumeraban los compuestos prohibidos individualmente, sin posible error de interpretación. La lista de agentes dopantes del Consejo de Europa además se distingue en que dio prioridad a la prohibición de sustancias peligrosas para la salud humana. Más tarde se produce la aprobación de la nueva lista del COI para los Juegos Olímpicos de Múnich de 1972, que fue la primera lista “abierta” en la que se incluyeron sustancias derivadas de las detalladas en el listado, además de estar clasificadas por grupos farmacológicos según la acción de los compuestos (Rodríguez Bueno y Rodríguez Cano, 2008).

Varias décadas más tarde, en 2004, entró en vigor por primera vez la lista de sustancias y métodos prohibidos en el deporte al aprobarse en 2003 el Código Mundial Antidopaje (Gracia et al., 2009). Esta fue la primera que unificó los criterios de cumplimiento obligatorio para los países que firmaron el Código, así como para las federaciones deportivas internacionales, y desde su creación es actualizada cada año y publicada, en España, en el Boletín Oficial del Estado del 1 de enero.

¹ WADA de sus siglas en inglés, World Anti-Doping Agency

Tabla 1. Sustancias y Métodos prohibidos en cualquier circunstancia (tanto dentro como fuera de la competición) por la WADA (elaboración propia, basada en la lista de prohibiciones 2021 de la WADA)

SUSTANCIAS
S1. Agentes anabólicos
1. Esteroides anabólicos androgénicos (EAA) administrados exógenamente (p. ej., bolasterona, epitestosterona, mesterolona)
2. Otros agentes anabolizantes (p. ej., clenbuterol, moduladores selectivos del receptor de andrógeno, zeranol)
S2. Hormonas peptídicas, factores de crecimiento, sustancias afines y miméticos
1. Eritropoyetinas (EPO) y agentes que afectan la eritropoyesis (p. ej., darbepoyetina, cobalto, K-11706)
2. Hormonas peptídicas y sus factores de liberación (p. ej., busirelina, corticorelina, sermorelina, hexarelina)
3. Factores de crecimiento y moduladores de factores de crecimiento (p. ej., PDGF, FGFs, MGF)
S3. Agonistas Beta-2
Todos los agonistas beta-2 selectivos y no selectivos, incluidos todos los isómeros ópticos (p. ej., fenoterol, procaterol, terbutalina)
S4. Moduladores hormonales y metabólicos
1. Inhibidores de la aromatasa (p. ej., anastrozol, formestano, testolactona)
2. Sustancias anti-estrogénicas y moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (p. ej., clomifeno, tamoxifeno)
3. Agentes que previenen la activación del receptor IIB de la activina (p. ej., bimagrumab, ACE-031, folistatina)
4. Moduladores metabólicos (p. ej., insulinas, meldonium, trimetazidina)
S5. Diuréticos y agentes enmascarantes
Albúmina intravenosa, dextrano, acetazolamida, clortalidona.
MÉTODOS
M1. Manipulación de sangre y componentes sanguíneos
1. Administración o reintroducción de cualquier cantidad de sangre (autóloga, homóloga, heteróloga o células rojas de cualquier origen)
2. Mejora artificial de la captación, el transporte o la transferencia de oxígeno (p. ej., RSR13, perfluorocarbonos)
3. Cualquier forma de manipulación intravascular de la sangre o componentes sanguíneos por métodos químicos o físicos
M2. Manipulación química o física
1. Manipulación o intento, con el fin de alterar la integridad y validez de las muestras (p. ej., adición de proteasas)
2. Infusiones intravenosas y/o inyecciones de más de un total de 100mL cada 12h. Exceptuando aquellas legítimamente recibidas en tratamientos hospitalarios, procedimientos quirúrgicos o exámenes diagnósticos clínicos
M3. Dopaje genético y de células
1. Uso de ácidos nucleicos o análogos de estos que puedan alterar las secuencias genómicas y/o la expresión de genes por cualquier mecanismo (p. ej., edición de genes, silenciamiento de genes, transferencia de genes)
2. Uso de células normales o genéticamente modificadas.

2.3. HISTORIA DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS

En la actualidad, la espectrometría de masas se ha ganado el título de ser la técnica de detección para la identificación de analitos más potente gracias a su alta sensibilidad y selectividad (Badoud et al., 2011), teniendo una amplia aplicación en gran cantidad de campos diversos. Sus orígenes, sin embargo, no fueron tan ambiciosos dentro del campo de la Física. Se buscaba dar respuesta a las incógnitas presentes sobre la naturaleza de la materia y sus características eléctricas (Griffiths, 2008).

En 1897, durante sus estudios sobre la naturaleza eléctrica de los rayos catódicos, el profesor J. J. Thomson llegó a la conclusión de que estos consistían en partículas cargadas negativamente y consiguió medir su relación masa/carga (m/z) (Maher et al., 2015). Por el descubrimiento y caracterización de esta partícula, el electrón, utilizando métodos de deflexión eléctrica y magnética en un tubo de rayos catódicos, Thomson recibió el Premio Nobel de Física en 1906 (Martínez, 2002).

En 1910 F. W. Aston se unió al profesor Thomson como ayudante en su investigación y juntos construyeron en 1912 lo que Thomson llamó "*parabola apparatus*" a partir del aparato con el que descubrió el electrón, añadiendo una hendidura parabólica en una lámina de metal tras la cual puso un colector de Faraday (Maher et al., 2015). Con esta maquinaria pudo obtener un espectro de la abundancia iónica respecto a la masa, naciendo así la espectrometría de masas.

Este mismo aparato les sirvió para identificar los isótopos ^{20}Ne y ^{22}Ne , confirmando la existencia de isótopos por primera vez, ya que su técnica de detección eléctrica le permitía medir cuantitativamente la intensidad de diferentes iones (Sharma, 2013).

Posteriormente, Aston continuó los estudios de los isótopos y la determinación de sus masas atómicas (Martínez, 2002) y le llevó a la construcción pocos años más tarde de su primer aparato (seguido de un segundo y un tercero, cada vez más precisos), más parecido al actual espectrómetro de masas. Prácticamente a la vez, el canadiense A. J. Dempster inventó su propio espectrómetro de masas en 1918, con precisión superior a la conseguida por Thomson y permitiendo el análisis de muestras sólidas (Sharma, 2013).

En las décadas posteriores se fue innovando la técnica y mejorando los equipos, desembocando en los años cuarenta en el uso por primera vez de la espectrometría de masas para determinar la estructura de compuestos orgánicos. Esto fue impulsado en EEUU por los químicos McLafferty, Biemann y Djerassi (Griffiths, 2008), abriendo con ello la puerta al uso de las técnicas de fragmentación en otros campos científicos como la investigación biológica.

En las posteriores décadas, se fueron introduciendo sucesivos avances mejorando la precisión analítica y la sensibilidad, pero de una forma no muy llamativa pues seguía teniendo importantes limitaciones. La experimentación en espectrometría de masas se basó durante un tiempo en la búsqueda de nuevas fuentes de ionización, así como el acoplamiento de esta técnica a técnicas de separación que hiciesen más eficiente y reproducible la determinación.

El paso importante a partir del cual la EM se asienta como técnica analítica de referencia se produjo en la década de 1980, cuando aún no se podían analizar gran cantidad de compuestos debido a su elevada masa molecular o marcada polaridad. Estas características dejaban fuera de la lista de posibles analitos a la mayoría de proteínas y ácidos nucleicos presentes en el ser humano. Por ello, de forma casi simultánea, surgen los nuevos métodos de ionización por electrospray (ESI) en 1988 y de ionización por desorción de una matriz con láser (MALDI) en 1987 (Martínez, 2002). Estos son modos de ionización suaves que permitieron el paso a fase vapor de moléculas de gran masa molecular sin fragmentarse demasiado ni descomponerse.

2.4. FUNDAMENTOS TEÓRICOS DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Como ya se ha comentado, la EM es una técnica analítica originada en el campo de la Física y hoy día muy utilizada en la Química Orgánica debido a la información que puede suministrar de los compuestos analizados en una gran variedad de muestras. Esta se basa en la transmisión de energía a moléculas en fase gas o especies desorbidas en fases condensadas, provocando la ionización de sus componentes (Harris, 2006). Estos iones se hacen pasar a través de un espacio vacío y son influenciados por campos eléctricos, magnéticos o una combinación de ambos provocando su desviación y al llegar al

detector, este procesa la información recibida. Los datos recogidos se plasman en un espectro de masas, que no es más que un diagrama de barras en el que cada ion detectado aparece reflejado según dos variables: abundancia relativa y relación masa/carga (m/z) (Carey, 2014). De los espectros de masas que ofrecen estos equipos se puede deducir valiosa información acerca de la estructura de las moléculas, así como su masa molecular, por lo que además conforma una herramienta útil en la identificación de compuestos desconocidos. En la figura 1 se muestra como ejemplo, el espectro de masas de la anfetamina.

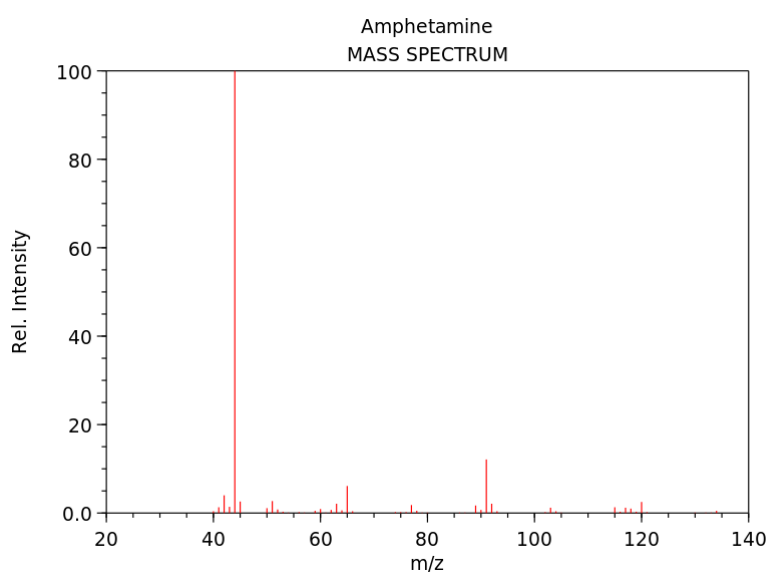


Figura 1. Espectro de masas de la anfetamina (NIST Chemistry WebBook)

La EM se diferencia de otras técnicas como las técnicas espectroscópicas en que estas últimas se basan en la absorción de energía por la muestra al hacer incidir un haz de radiación electromagnética (REM) sobre la misma. En la EM, la fuente de energía suele ser más potente al tener que ionizar la muestra, y lo que se detectan son los iones producidos (Carey, 2014). Por lo tanto, la EM es una técnica destructiva, a diferencia de las anteriores.

Un espectrómetro de masas siempre debe constar de tres componentes principales: la fuente de ionización, el analizador y el detector. Comenzaremos hablando de diferentes técnicas para la producción de iones.

Uno de las primeras **fuentes de ionización** desarrolladas fue el impacto electrónico (Electron Ionization, EI), en el que la muestra se bombardea con un haz de electrones acelerados bajo un potencial de 70 V (energía de 70 eV). Este impacto consigue, al menos, arrancar un electrón de las moléculas de la muestra, formándose un catión, denominado ion molecular, $[M]^+$, que posee un electrón desapareado. Frecuentemente este ion molecular acumula suficiente energía residual para escindirse en más fragmentos (Harris, 2006), como se ilustra en la figura 2.

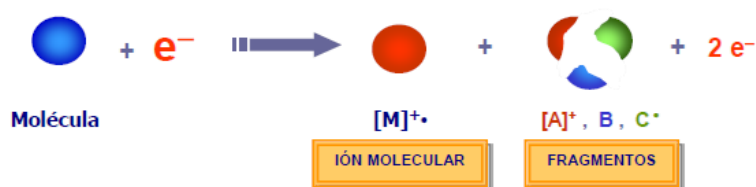


Figura 2. Esquema del fundamento de la ionización por EI (Espartero, 2021)

Existen también otras técnicas como la ionización química (Chemical Ionization, CI) que es un modo de ionización más suave y, por lo tanto, provoca menos fragmentación del analito que por EI, que muchas veces no proporciona el ion molecular. La CI consiste en el bombardeo electrónico de gases reactivos con el que se generan reactivos cargados positivamente (Figura 3), que son los que donan posteriormente protones al analito de la muestra formándose los iones cuasimoleculares (Harris, 2006).

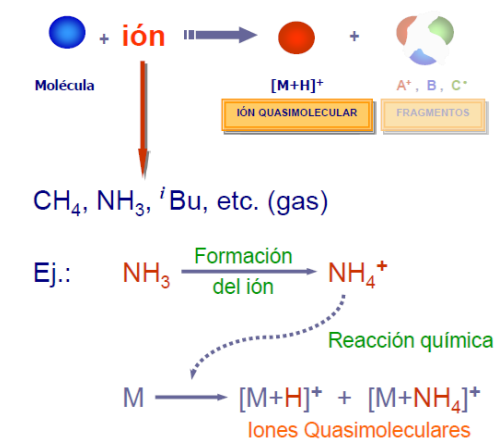


Figura 3. Esquema del fundamento de la ionización por CI (Espartero, 2021)

La introducción a finales de la década de 1980 de técnicas de ionización más suaves supuso una revolución dentro de la EM que permitió el análisis de gran cantidad y variedad de moléculas (Griffiths, 2008). Una de estas técnicas destacadas es la ionización por electrospray (Electrospray Ionization, ESI). En la ESI (Figura 4), el analito se encuentra disuelto en un solvente que se hace pasar por un capilar de acero sometido a un alto voltaje. En la punta del capilar por la que salen, se producen gotas cargadas, que se separan (nebulización) y van reduciendo su tamaño, dividiéndose de nuevo debido a la rápida evaporación del disolvente. Se generan así gotículas cada vez más pequeñas y altamente cargadas que acaban estallando literalmente con producción de iones multicargados en fase gaseosa (Maher et al., 2015). Estos iones cuasimoleculares se mantienen prácticamente intactos sin romperse, de ahí que se considere como suave a la técnica. La deconvolución de estos picos multicargados permite la determinación de iones de muy alta masa molecular, pero detectados a baja m/z (Martínez, 2002).

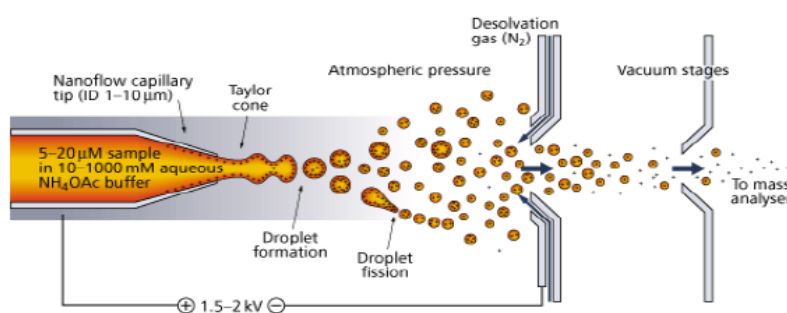


Figura 4. Esquema de ionización por ESI (Espartero, 2021)

Esta técnica de ionización es ideal para su acoplamiento con un método previo de separación como es la cromatografía de líquidos (CL), lo que permite el análisis de muestras complejas de sustancias termolábiles, como pueden ser por ejemplo los fluidos biológicos. Además, la ESI se puede acoplar a equipos con analizadores como son cuadrupolo (Q), Orbitrap, tiempo de vuelo (TOF), trampa de iones (IT) así como combinaciones de los mismos (Muñoz, 2018).

Por último, la técnica MALDI se fundamenta principalmente en la naturaleza de la matriz en la que se deposita la muestra previamente disuelta. Esta matriz debe ser de bajo peso molecular y absorber fácilmente la luz a la longitud de onda con la que trabaje el láser. Al hacer vacío conseguimos la evaporación del disolvente fijándose el analito a la matriz,

que ahora es irradiada con luz láser UV. La matriz transmite la energía a las moléculas de analito provocando su desorción e ionización, consiguiéndose así grandes cantidades del ion molecular monocargado con pocos fragmentos iónicos (Maher et al., 2015; Muñoz, 2018). Esta técnica se asocia usualmente a un analizador de tiempo de vuelo (Time Of Flight, TOF), y además de la frecuencia del láser lo que varía en su implementación es la naturaleza de la matriz empleada, que depende asimismo de la naturaleza de la sustancia a analizar (Muñoz, 2018).

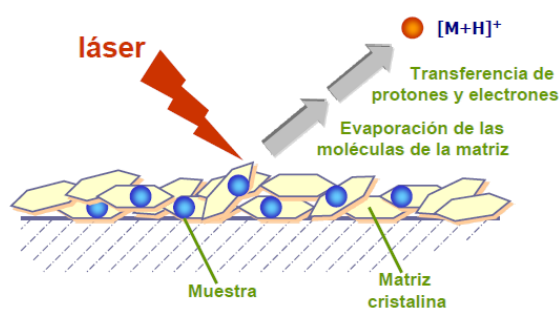


Figura 5. Esquema de ionización por MALDI (Espartero, 2021)

El **analizador** de masas es el componente encargado de la separación de los iones en función de su relación m/z . Existe gran variedad de analizadores, clasificados según los métodos de desviación de los iones y cada uno con sus propias ventajas y aplicaciones.

Entre ellos se encuentra el cuadrupolo (Q), consistente en cuatro barras paralelas que crean entre ellas un campo llamado cuadrupolar que hace oscilar a los iones desviándolos según su relación m/z . Por otra parte, está el analizador Orbitrap, que consta de un electrodo interior en forma de huso y otro exterior en forma de tubo que provoca el movimiento de los iones tanto alrededor del huso como hacia delante y hacia atrás induciendo una señal imagen de la que se puede deducir su relación m/z . En el analizador TOF por último, se aplica un campo eléctrico para acelerar los iones y se mide el tiempo que tarda cada uno en llegar desde la cámara de ionización al detector, que es función de su masa, suponiendo que todos son monocargados, pudiendo así distinguir su relación m/z (Muñoz, 2018).

Por último, el **detector** se encarga de procesar la información recibida con el impacto de cada ión.

Cabe destacar la amplia diversidad de analizadores y fuentes de ionización, siendo de vital importancia la selección de los más adecuados en su asociación para cada aplicación concreta (Espartero, 2021).

De la misma forma, cobra especial trascendencia el acoplamiento de diferentes técnicas de separación a los equipos de EM, desembocando en un aumento de la sensibilidad que ha permitido la determinación de moléculas provenientes de matrices complejas como la orina, donde es esencial diferenciar la señal del analito con el ruido químico o biológico de fondo (López et al., 2020).

El primer acoplamiento descrito fue en 1975 cuando se asoció un cromatógrafo de gases con columnas capilares a un espectrómetro de masas. Posteriormente McLafferty describe el primer acoplamiento de un cromatógrafo de líquidos HPLC a un equipo de EM, y en 1982 aparece la espectrometría en tándem a raíz del primer triple cuadrupolo, que permitió realizar la técnica sobre iones previamente seleccionados (Martínez, 2002).

Pronta fue la implementación de técnicas que acoplaban la espectrometría de gases al equipo de EM para la determinación de compuestos xenobióticos en el control del dopaje, donde se estudia la presencia de agentes anabolizantes sintéticos en muestras de orina (López et al., 2020).

El acoplamiento de cromatografía líquida también dio buenos resultados. En un primer momento esta combinación no superaba en rendimiento a las ya asentadas CG-EM (Shackleton et al., 1997), y comenzaron a través de cromatografía líquida en fase reversa acoplado a detector UV y luego pasaron por termospray con EM. Sin embargo, a raíz del desarrollo de la ionización suave por ESI se consiguió un óptimo acoplamiento que, además de proveer de mayor cantidad de información espectral, facilitó enormemente los análisis de muestras de deportistas como la orina. Esto se debe a que la preparación se simplificó, se hizo más rápida y versátil para compuestos polares y no volátiles sin necesidad de derivatización previa (Badoud et al., 2011).

3. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

El **objetivo** general de esta revisión bibliográfica es la actualización acerca del tema relacionado con la EM y el papel que representa en los protocolos de control antidopaje en la actualidad.

La **metodología** llevada a cabo para la revisión comenzó con una búsqueda bibliográfica en la que las principales palabras clave relacionadas con el tema tratado han sido: *espectrometría de masas, dopaje, determinación, control antidopaje, análisis*.

El proceso de documentación de este TFG se ha realizado a través de la búsqueda de una bibliografía que permitiese una primera aproximación adecuada al tema propuesto, centrándonos en los trabajos de revisión publicados con anterioridad. A raíz de la puesta al día realizado con estos, se llevó a cabo una segunda búsqueda en la que nos centramos en la profundización de cada caso expuesto en los resultados, para poder realizar un análisis completo y en el adecuado contexto.

Las búsquedas bibliográficas se realizaron en las bases de datos PubMed, SciFinder, American Association for the Advancement of Science (AAAS o Science), Google Académico, así como las páginas web del Depósito de Investigación de la Universidad de Sevilla (idUS) o de la biblioteca de la Universidad de Sevilla (FAMA) y Dialnet.

Una vez finalizada la búsqueda bibliográfica e identificados los artículos considerados más relevantes para el tema de la revisión, se procedió a la selección de los mismos para incluirlos en la bibliografía de este TFG. Se han seleccionado aquellos artículos cuyo resumen se adecuaba más a los objetivos de la revisión.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dentro del dopaje en los Juegos Olímpicos, los anabolizantes predominan con clara diferencia sobre el resto de sustancias, seguidos por los estimulantes (Gracia et al., 2009). Los esteroides anabólicos son derivados sintéticos de la testosterona que simulan su actividad en el organismo. Son administrados en deportistas para aumentar la masa muscular al incrementar la síntesis proteica, consiguiendo así una ventaja que, con el entrenamiento y la dieta, ayuda a mejorar el rendimiento físico.

Su uso se comenzó a generalizar a mediados del siglo XX, con gran éxito debido a que, además de dar grandes resultados, resultaban a menudo difíciles de detectar por las técnicas colorimétricas empleadas en esa época para el control del dopaje.

Un ejemplo muy conocido fue el caso de **Ben Johnson**, el atleta canadiense que consiguió el récord mundial en la categoría de 100 metros lisos en los Juegos Olímpicos de Seúl 1988 al cruzar la meta en tan sólo 9,79 segundos (Figura 6). Sin embargo, tres días después se dio a conocer el resultado positivo en su control antidopaje, en el que se detectó la presencia de estanozolol. Este compuesto había sido incluido en la lista de sustancias prohibidas por el COI en 1974 (Poelmans et al., 2002), y tras la noticia se le retiró la medalla de oro al deportista canadiense (Marshall, 1988).



Figura 6. Ben Johnson (derecha) en los Juegos Olímpicos de Seúl 1988 (Marshall, 1988)

El estanozolol es un derivado muy parecido a la metiltestosterona, con un anillo de pirazol unido al sistema de anillos esteroideo, cuyo espectro de masas se muestra en la

figura 7. Esta diferencia estructural hace su extracción y separación más complicada. Además, los niveles excretados en orina de esta sustancia son bajos, debido a su reducida excreción renal y rápida metabolización, por lo que las concentraciones disponibles en orina son realmente reducidas. Todo esto, añadido a su bajo rendimiento en separación cromatográfica, hacía que su uso antes de 1986 pasase relativamente desapercibido, ya que era difícil de detectar en orina (Poelmans et al., 2002).

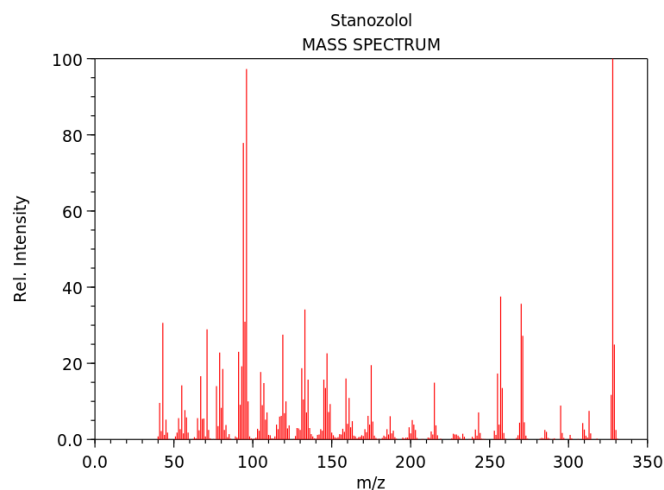


Figura 7. Espectro de masas del estanozolol (NIST Chemistry WebBook)

Por ello, la investigación relativa a mejorar la detección de estanozolol se centró en los metabolitos mono- y dihidroxilados (Figura 8) de su degradación en el organismo, que resultaron ser más fácilmente detectables y durante más tiempo que el compuesto original. En 1985, los estudios de Donike y Schänzer les llevaron a un nuevo método de derivatización del estanozolol con el que consiguieron aumentar suficientemente la sensibilidad de la técnica usando CG-EM para detectar el metabolito 3'-hidroxiestanozolol, al hacerlo compatible con esta técnica (Schänzer y Thevis, 2015). Es por ello que el avance científico llegó justo a tiempo para desenmascarar este caso.

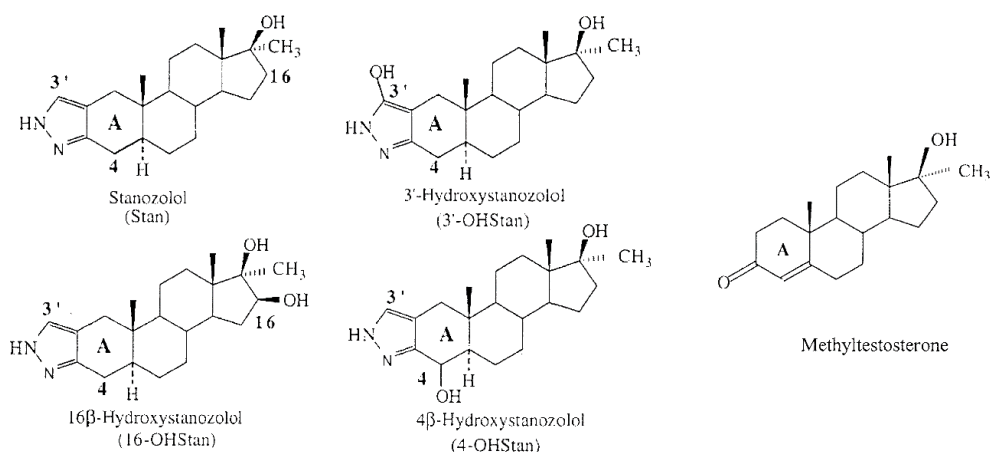


Figura 8. Estructuras químicas del estanozolol y sus derivados, en comparación con la estructura de la metiltestosterona (Poelmans et al., 2002)

Años más tarde se implementó otra técnica en la que acoplado el espectrómetro de masas a un cromatógrafo de líquidos (CL-EM), se consiguió la determinación del derivado glucurónico 3'-hidroxiestanozolol sin necesidad de derivatización previa, como ocurría al usar CG-EM, aumentando la sensibilidad del análisis y el poder de detección (Poelmans et al., 2002). En un estudio realizado durante seis meses en 659 deportistas se comprobó la eficacia de esta técnica, CL-EM, en la que 85 resultados fueron positivos en estanozolol. Con la anterior técnica de CG-EM, sólo 13 de estos casos habrían sido detectados (Schänzer et al., 2013). Así, esta nueva técnica se asentó como la de elección para la determinación de estanozolol.

Otro caso notorio en la historia del deporte es el de **Marion Jones**, una atleta estadounidense que tras ganar los 100 metros (récord incluido) en el Mundial de Sevilla 1999, arrasó en los Juegos Olímpicos de Sydney del año 2000 con cinco medallas: tres de oro y dos de bronce (Figura 9).



Figura 9. Marion Jones en Sidney 2000 (CBSnews, 2007)

En cambio, pasó a la historia por ser partícipe de una trama de fraude en el deporte, ayudada por los laboratorios Balco (Martínez de Osaba y Goenega, 2008). Todo por el descubrimiento de un nuevo compuesto: la tetrahidrogestrinona (THG). Se trata de un compuesto sintético cuya existencia permanecía oculta al mundo hasta que una persona, de forma anónima, entregó en junio de 2003 a la Agencia Antidopaje de los Estados Unidos una jeringa, procedente del vestuario de Marion Jones, que supuestamente contenía un esteroide anabólico imposible de detectar con los controles de dopaje de la época (Catlin et al., 2004).

A raíz de esta evidencia, se comenzó a estudiar el misterioso caso. En primer lugar, se procedió a analizar la muestra con CG-EM, tanto la forma nativa como los compuestos derivados al tratarse con reactivos estándares de derivatización utilizados en EM. Donde se esperaba observar un solo componente, se obtuvieron varios picos, uno de ellos claramente mayoritario, de sustancias desconocidas a excepción de uno correspondiente a la norboletona. Este conocido esteroide estaba presente en pequeña proporción, lo que sugería que se trataba de una impureza contaminante o de un subproducto sintético, por lo que se pensó que el compuesto mayoritario desconocido debería tener un esqueleto de carbono idéntico. La muestra nativa analizada por CG-EM reveló la presencia de un ión molecular $[M]^+$ a m/z 312. Tras analizarla con CL-EM se obtuvo un espectro de masas que mostró el ión más abundante $[M+H]^+$ a m/z 313. Por último, mediante CG-HRMS2 se dedujo la fórmula molecular de este compuesto desconocido, $C_{21}H_{28}O_2$, con masa molecular teórica de 312.2089 (Catlin et al., 2004). A continuación, se llevó a cabo un segundo análisis en el que se compararon los espectros de masas de los compuestos sin derivatizar de gestrinona y la sustancia desconocida, que se muestran en la figura 10. En esta figura se puede observar cómo todos los iones por debajo de m/z 240 coinciden en las dos sustancias, lo que sugiere un esqueleto carbonado común. En el artículo se indica, además:

“En el espectro del compuesto desconocido, comparado con el de gestrinona, los fragmentos por encima de m/z 240 aumentan en 4 unidades porque el

² HRMS son las siglas en inglés de espectrometría de masas de alta resolución (High Resolution Mass Spectrometry)

compuesto desconocido tiene el mismo anillo D que la gestrinona, excepto con cuatro átomos más de hidrógeno” (Catlin et al., 2004).

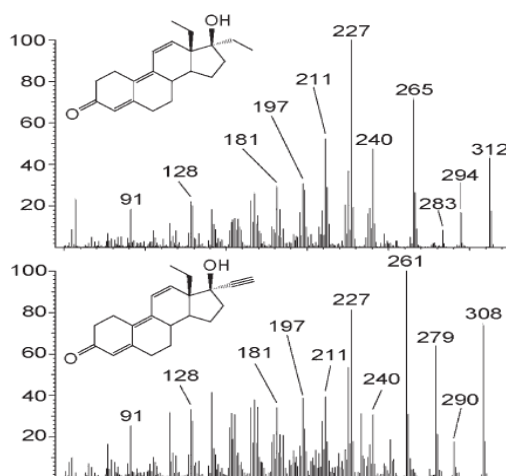


Figura 10. Espectro de masas de la gestrinona (arriba) y el compuesto desconocido (THG, abajo) (Catlin et al., 2004)

Con esta información se procedió a la síntesis de THG mediante hidrogenación catalítica de la gestrinona como se ilustra en la figura 11 (Catlin et al., 2004). Se analizó mediante CL-EM/EM y CG-EM y tanto el tiempo de retención como el espectro resultante coincidían con aquellos del compuesto misterioso, por lo que se llegó a la conclusión de que el compuesto sintetizado no era otro que el presente en la muestra entregada anónimamente (Catlin et al., 2004).

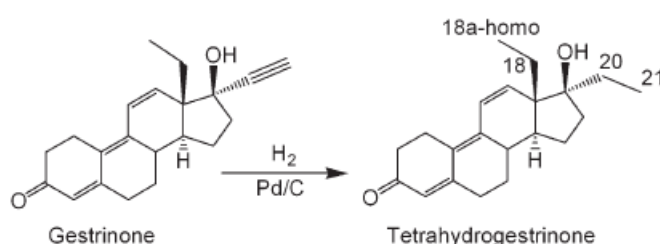


Figura 11. Esquema de la síntesis de THG a partir de gestrinona (Catlin et al., 2004)

De esta forma se identificó por primera vez este esteroide sintético que fue clasificado como prohibido por su uso dopante (Catlin et al., 2004). Además, Marion Jones fue despojada de todas sus medallas por el COI y condenada a seis meses de cárcel por mentir a las autoridades estadounidenses cuando se declaró inocente del consumo de

esteroides y por participar en una estafa con cheques (Martínez de Osaba y Goenega, 2008).

Por aquel entonces fue detectado por el UCLA Olympic Laboratory el uso del también esteroide anabolizante norboletona (que sirvió para esclarecer la estructura de la THG), al identificarlo en varias muestras de orina de atletas. La analogía de este caso con el anterior consiste en que, aunque esta sustancia ya era conocida y sintetizada en 1966 para tratar el enanismo y raquitismo, no existía ningún medicamento en el mundo que en el momento contuviese este fármaco, por lo que su elaboración tuvo que ser de forma clandestina (Martínez, 2002).

Fuera de los esteroides sintéticos, pero también conocido y usado por sus efectos anabolizantes se encuentra el clenbuterol. Este compuesto es un β -agonista con acción broncodilatadora, anabólica y lipolítica destacada por su capacidad para aumentar la masa muscular y reducir la grasa, y es eliminado sin alterar por vía renal (Bazo et al., 2013). Hasta la década de los noventa, se conocía poco sobre esta sustancia, que no estaba incluida en la lista de sustancias prohibidas de ningún organismo oficial. A raíz de las sospechas de manipulación en la entrega de muestras de orina durante un control antidopaje, se procedió a dirigir un segundo control a un grupo de atletas durante su entrenamiento fuera de competición. En estos test realizados se encontraron más similitudes de las que cabría esperar en tres muestras de distintos atletas, coincidiendo hasta 16 parámetros de la orina como el color, velocidad de sedimentación o pH. Por ello se realizó un screening en cromatografía líquida con detector ultravioleta (CL-UV) y una cromatografía de gases con detector de nitrógeno/fósforo (CG-NPD), que mostraron la presencia de una sustancia idéntica en las tres muestras, así como concentraciones equivalentes de cafeína y cloroquina (Schänzer y Thevis, 2015).

Pocos meses después de este incidente por el que no se presentaron cargos, los mismos tres atletas dieron positivo en clenbuterol tras la confirmación por CG-EM (Figura 12). A pesar de que la sustancia no estaba prohibida en el momento, la Asociación Internacional de Federaciones del Atletismo (IAAF) consideró que la sustancia era dopante y procedió a suspender temporalmente a los deportistas (Schänzer y Thevis, 2015).

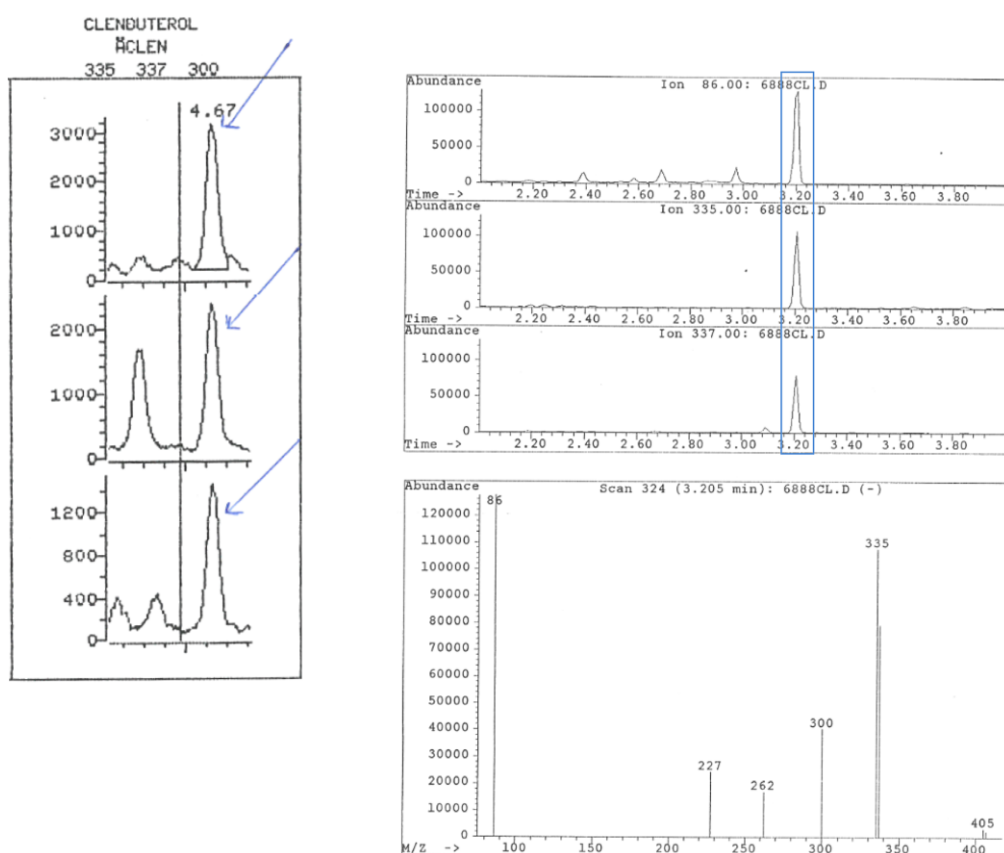


Figura 12. Cromatogramas de clenbuterol obtenidos en el screening inicial (izquierda) y espectros de masas confirmatorios del mismo (derecha) (Schänzer y Thevis, 2015)

La incorporación de equipos de cromatografía líquida al espectrómetro de masas permitió posteriormente la detección de clenbuterol en concentraciones tan pequeñas como 1 pg/mL, esclareciendo desde entonces el amplísimo uso en dopaje de esta sustancia (Schänzer y Thevis, 2015), así como su abuso en el ganado, siendo administrada para el engorde del mismo (Bazo et al., 2013).

Este último uso, sobre el que cada país tiene sus propias limitaciones y prohibiciones, es el que llevó al ciclista español **Alberto Contador** a excusarse sobre su resultado positivo por clenbuterol en el Tour de Francia de 2010 (Figura 13). Tras ganar la competición se dio a conocer el resultado positivo por esta sustancia en un control realizado durante el desarrollo de la carrera y se le retiró el título. El español alegó ser víctima de contaminación cárnica, entre otras razones (Bazo et al., 2013). Según el estudio realizado por Bazo et al., las concentraciones halladas en la muestra de Contador no

eran viables con el consumo de carne con niveles de clenbuterol permitidos en alimentación. Sin embargo, sí que eran viables con el consumo de una carne administrada con más clenbuterol del permitido, siendo posible esta opción. A pesar de esto, por la imposibilidad del ciclista de demostrar esta última opción, se le retiró el título de campeón del Tour y se le dejó fuera de competición durante dos años por dopaje (Bazo et al., 2013).



Figura 13. Alberto Contador en el Tour de Francia 2010 (RTVE, 2010)

Otro caso del que se hicieron eco los medios de comunicación en el año 2016 fue el del mildronato o meldonium, por la implicación de la tenista **María Sharapova** como principal protagonista. El meldonium es un fármaco anti-isquémico desarrollado originalmente en la década de 1970 como un promotor del crecimiento para animales. Principalmente debido a su acción inhibitoria de la β -oxidación de los ácidos grasos y de activación de la glucólisis, se presentó como beneficioso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, neurológicas y metabólicas. Sin embargo, en los últimos años se fue extendiendo su uso entre deportistas con el objetivo de aumentar el rendimiento y reducir el tiempo de recuperación tras realizar ejercicio físico. Pronto la AMA se percató en los screenings realizados en sus controles antidopaje de la recurrente aparición de este compuesto en gran cantidad de deportistas, por lo que decidió incorporar esta sustancia al programa de monitorización desde el 1 de enero de 2015 (Schobersberger et al., 2017). Por ello, fue necesario el desarrollo e

implementación de una nueva técnica de análisis confirmatorio de esta sustancia para añadirlo a los controles rutinarios de dopaje.

En primer lugar, se procedió a esclarecer la estructura del compuesto en cuestión. Con ayuda del espectro de masas obtenido en los screenings realizados a los deportistas mediante EM de alta resolución y alta precisión, se calculó que para la señal interferente en m/z 147.1128, repetida en gran cantidad de muestras de orina, la fórmula molecular deducida coincidía con la del meldonium. Se determinó que bastaba con utilizar CL-EM para el screening inicial en la búsqueda de sustancias prohibidas (Figura 14). Debido a su baja masa molecular su rendimiento en cromatografía líquida en fase reversa resultó pobre, pero por su elevada polaridad se consiguió una separación suficiente (Görgens et al., 2015).

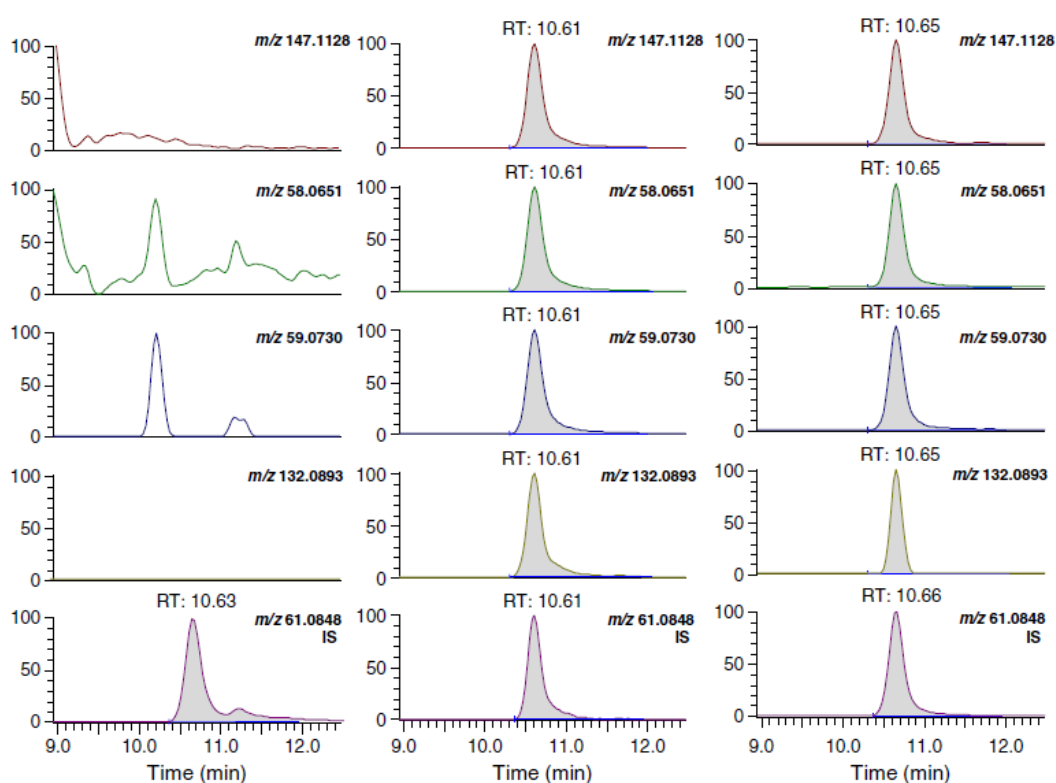


Figura 14. Cromatogramas del ión extraído mildronato en muestras blanco de orina (izquierda), en una muestra de orina con un pico correspondiente a mildronato (centro) y en una muestra original de un control antidopaje en la que se detectó mildronato (Görgens et al., 2015).

Posteriormente se desarrolló un método de cromatografía de interacción hidrófila con espectrometría de masas (HILIC-EM), utilizando ESI como fuente de ionización, como

técnica confirmativa para el mildronato en concreto ante resultado positivo en un screening inicial (Görgens et al., 2015).

Así, tras la síntesis de meldonium- d_3 se comparó su espectro de masas con aquel del compuesto hallado frecuentemente en las muestras de los deportistas, diferenciándose este último únicamente en la presencia de tres átomos de hidrógeno-1 o protio, que en el compuesto sintetizado son sustituidos por el isótopo de hidrógeno-2 o deuterio. Siguiendo los procesos de fragmentación asumidos en el meldonium, se confirmó la estructura de esta sustancia al coincidir los picos de m/z 147 ($C_6H_{15}N_2O_2$, $[M]^+$) para meldonium y de m/z 150 ($C_6H_{12}N_2O_2D_3$, $[M]^+$) para meldonium- d_3 ; así como los picos correspondientes a los iones tras la pérdida de un residuo de trimetilamina (m/z 58 y 59 para meldonium, m/z 61 y 62 para meldonium- d_3) y aquellos relativos a la pérdida de un grupo metilo por parte del ion molecular (m/z 132 para meldonium y m/z 135 para meldonium- d_3) (Görgens et al., 2015), como se muestra en la figura 15.

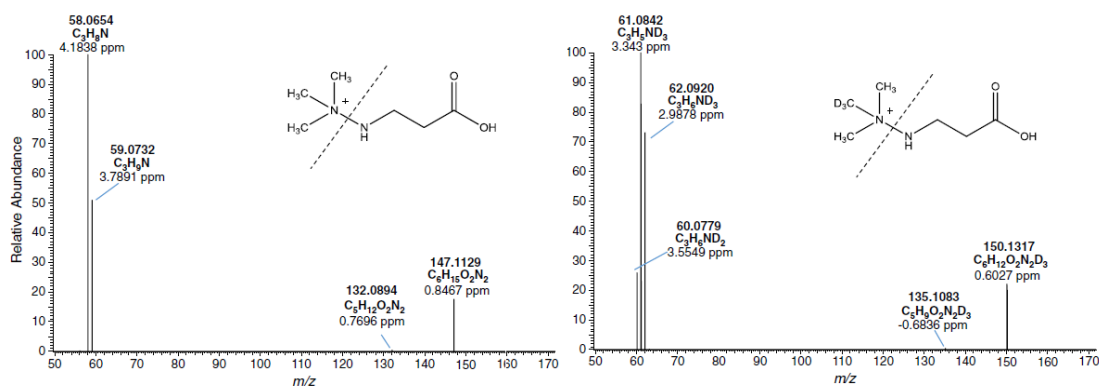


Figura 15. Espectros de masas de meldonium (izquierda) y meldonium- d_3 (derecha) (Görgens et al., 2015)

Una vez afianzado este método desarrollado por Görgens y cols., se aplicó el mismo en los controles rutinarios de dopaje durante el programa de monitorización de la AMA de 2015 en el que se estudiaba la prevalencia de administración de la sustancia en cuestión. De las 8320 muestras de orina analizadas, 182 dieron positivo por uso de meldonium, siendo confirmado por HILIC-EM (Görgens et al., 2015). Estos datos esclarecieron el hecho de que, a pesar de que los estudios a favor de los beneficios en el rendimiento físico del mildronato no son suficientemente fiables, la AMA consideró que el uso que se le daba era fraudulento al buscar una ventaja física sobre el resto de deportistas y

procedió a añadirlo a su lista de sustancias prohibidas de 2016 (Schobersberger et al., 2017).

Este último acontecimiento fue el que pasó por alto la tenista rusa **Maria Sharapova** (Figura 16), que fue acusada en 2016 por dopaje al dar positivo en meldonium. Admitió estar tomando este fármaco desde 2006, durante diez años, cuando aún no estaba prohibido. Sin embargo, desde el 1 de enero de 2016 entró en vigor la nueva lista de prohibiciones de la AMA donde se incluyó por primera vez esta sustancia. Sharapova alegó no haber leído la carta en la que se le informaba de las nuevas sustancias incluidas en el nuevo reglamento, pero a pesar de ello fue apartada de la competición durante más de un año (Marca, 2016).



Figura 16. Maria Sharapova admitiendo en rueda de prensa el uso de meldonium (BBC, 2016)

A pesar del actual predominio del empleo de CL-EM en la confirmación analítica de la mayoría de sustancias dopantes, la CG-EM conserva su utilidad al seguir siendo preferente en la detección de ciertos anabolizantes, al igual que sirve para la detección de nuevos métodos de dopaje. En este contexto tenemos el ejemplo del gas noble xenón, el cual, tras los Juegos Olímpicos de Invierno de 2014 se detectó en muchos **deportistas rusos**, sospechándose incluso que la práctica de la inhalación de xenón llevaba años siendo utilizada por el equipo deportivo ruso en pasadas Olimpiadas. De hecho, ya en un documento interno del Instituto Nacional de Investigación Ruso (dependiente del Ministerio de Defensa) publicado en 2010, se recomendaban pautas de administración de este gas a los atletas, según recoge la Agencia Española de

Protección de la Salud en el Deporte en su blog (AEPSAD, 2014). Por esta razón, el 1 de septiembre de ese mismo año de 2014 la AMA lo incluyó en la lista de sustancias prohibidas, dentro del grupo 2 (Hormonas peptídicas, factores de crecimiento y sustancias relacionadas) como agente estabilizante y activador de la eritropoyesis (AEPSAD, 2014). En palabras del doctor Santos:

“El gas xenón estimula el llamado HIF-1-alfa (del inglés Hypoxia Inducible Factor o factor inducible de la hipoxia), que es un factor de transcripción que, entre otros efectos, estimula la producción de eritropoyetina o EPO endógena. Y bueno, todos conocemos los efectos de la EPO: estímulo de la síntesis de glóbulos rojos e incremento de los parámetros hematológicos en general, que tienen como consecuencia última una mejora del transporte de oxígeno a los tejidos y, por consiguiente, un incremento en el rendimiento” (Santos, 2014).

Poco después se desarrolló una primera técnica de CG-EM, tanto con analizador TOF como de triple cuadrupolo, para su identificación en muestras de sangre y plasma humanos (Thevis et al., 2014). El xenón se pudo rastrear hasta niveles de 0,5 nmol/mL mediante la monitorización de los tres principales isótopos de xenón a m/z 129, 131 y 132.

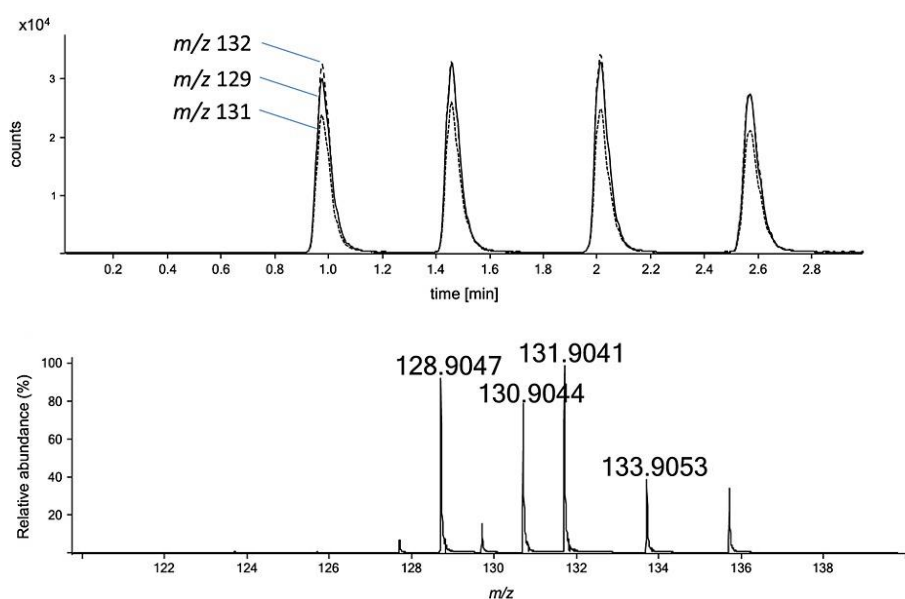


Figura 17. Cromatograma de iones totales (arriba) de una muestra de plasma conteniendo xenón y el correspondiente espectro de masas (abajo) mostrando la distribución isotópica característica del xenón (Thevis et al., 2014)

En la figura 17 se presenta un cromatograma de iones totales y el espectro de masas medido a partir de una muestra de sangre extraída a un paciente que ha recibido anestesia asistida por xenón 24 horas después de su administración, lo que proporciona una prueba de concepto para futuras aplicaciones en el control antidopaje.

5. CONCLUSIONES

Los enormes avances producidos desde el origen de la espectrometría de masas y su implementación en el control antidopaje en el deporte, así como su acoplamiento a técnicas de separación, no han hecho más que demostrar su enorme utilidad a la hora de prevenir (y detener) que los deportistas consuman sustancias prohibidas para aumentar su rendimiento físico y así conseguir ganar.

Los protocolos analíticos más recientes que utilizan CL-EM han supuesto un paso de gigante en el análisis de muestras complejas como la orina humana, donde es imprescindible poder discernir la señal de un compuesto en concreto de las correspondientes a sustancias endógenas o aquellas exógenas que no suponen ningún riesgo. Aún así, las técnicas basadas en CG-EM no han quedado obsoletas y sigue siendo de elección en la detección de algunos compuestos.

Sin embargo, los intentos de aquellos que siempre harán cualquier cosa por ganar hacen que los métodos de control expuestos siempre vayan un paso por detrás. A medida que se mejora y amplía la detección de sustancias, otro sector del deporte estará buscando un nuevo compuesto no descubierto o no prohibido aún, o un método para enmascarar el uso de alguna sustancia ya prohibida.

6. BIBLIOGRAFÍA

AEPSAD. "La AMA incluye el xenón en la Lista de Sustancias Prohibidas ¿Qué es este gas?" [en línea]. 2014. [Consultado en junio de 2021]. Disponible en: <http://blog.aepsad.es/la-ama-incluye-el-xenon-en-la-lista-de-sustancias-prohibidas-que-es-este-gas/>

Badoud F, Guillarme D, Boccard J, Grata E, Saugy M, Rudaz S, et al. Analytical aspects in doping control: Challenges and perspectives. *Forensic. Sci. Int.* 2011; 213: 49–61.

Bazo E, Cantalejo M, Chicaiza I, Grau I, Gutiérrez Á, Padín JF. Dopaje con clenbuterol: ¿es posible la contaminación con carne en el "Caso del ciclista Alberto Contador"? *Actual. En Farmacol. y Ter.* 2013; 11: 73–9.

BBC. "¿Qué es el meldonium, el medicamento soviético que tiene en problemas a Maria Sharapova?" [en línea]. 2016. [Consultado en julio de 2021]. Disponible en: https://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/03/160308_deportes_salud_meldonium_maria_sharapova_dopaje_tenis_jmp

Carey, F. *Química Orgánica*, 6ª edición. McGraw-Hill; 2014.

Catlin DH, Sekera MH, Ahrens BD, Starcevic B, Chang YC, Hatton CK. Tetrahydrogestrinone: Discovery, synthesis, and detection in urine. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2004; 18: 1245–1049.

CBSnews. "Marion Jones Returns Five Olympic Medals" [en línea]. 2007. [Consultado en junio de 2021]. Disponible en: <https://www.cbsnews.com/news/marion-jones-returns-five-olympic-medals/>

Espartero J.L. *Apuntes de la asignatura "Análisis Estructural de Fármacos"*. 2021. Universidad de Sevilla.

Görgens C, Guddat S, Dib J, Geyer H, Schänzer W, Thevis M. Mildronate (Meldonium) in professional sports - monitoring doping control urine samples using hydrophilic interaction liquid chromatography - high resolution/high accuracy mass spectrometry. *Drug. Test. Anal.* 2015; 7: 973–9.

Gracia L, Rey JP, Casajús JA. El dopaje en los Juegos Olímpicos de verano (1968-2008). *Apunt. Medicina de l'Esport.* 2009; 44: 66–73.

Griffiths J. A brief history of mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2008; 80: 5678–83.

Harris D. C. *Análisis químico cuantitativo*. 3ª ed. Madrid: Reverté; 2006.

López D, Martínez D, Correa T, Montes de Oca R. Implementación de una técnica de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas Triple Cuadruplo para detectar compuestos

xenobióticos en muestras de orina para el control del dopaje. Rev. CENIC Cienc. Quím. 2020; 51(1): 35–48.

Maher S, Jjunju FPM, Taylor S. Colloquium: 100 years of mass spectrometry: Perspectives and future trends. Rev. Mod. Phys. 2015; 87: 113–35.

Mandell R. D. Historia cultural del deporte. Barcelona: Bellaterra, 1986.

Marca. "Meldonium: la sustancia prohibida que consumía Sharapova" [en línea]. 2016. [Consultado en mayo de 2021]. Disponible en: <https://cuidateplus.marca.com/ejercicio-fisico/2016/03/08/meldonium-sustancia-prohibida-consumia-sharapova-110042.html>

Marshall E. The Drug of Champions. Science. 1988; 242: 183–184.

Martínez de Osaba y Goenega JA. El caso Marion Jones o el llanto de una reina. Podium. 2008; 3: 51–6.

Martínez R. La espectrometría de masas: Nacimiento, desarrollo, evolución y aplicaciones modernas. An. Quím. 2002; 3(1): 51-56.

Moldes Farelo R. Cuando batir el récord es secundario: "Deporte Espectáculo", construcción de mitos y consumo de sustancias prohibidas. 2004: 425–439.

Muñoz Muñoz, E. (2018). El vuelo de los elefantes. El nacimiento de una nueva era. (Trabajo Fin de Grado). Universidad de Sevilla, Sevilla.

NIST Chemistry WebBook. <https://webbook.nist.gov/chemistry> (consultado en junio de 2021).

Poelmans S, De Wasch K, De Brabander HF, Van De Wiele M, Courtheyn D, Van Ginkel LA, et al. Analytical possibilities for the detection of stanozolol and its metabolites. Anal. Chim. Acta. 2002; 473: 39–47.

Rodríguez Bueno A. F. Introducción al Volumen I. En: Consejo Superior de Deportes, editor. Historia de dopaje, sustancias y procedimientos de control, Vol. I. Madrid: Ministerio de Educación, Política Social y Deporte; 2008. 19-22.

Rodríguez A. F., Rodríguez C. Las sustancias y métodos prohibidos en el deporte. En: Consejo Superior de Deportes, editor. Historia de dopaje, sustancias y procedimientos de control, Vol. I. Madrid: Ministerio de Educación, Política Social y Deporte; 2008. 95-126.

Rodríguez Cano C. La historia del dopaje. En: Consejo Superior de Deportes, editor. Historia de dopaje, sustancias y procedimientos de control, Vol. I. Madrid: Ministerio de Educación, Política Social y Deporte; 2008. 24-54.

RTVE. "Contador sentencia el Tour en el Tourmalet" [en línea]. 2010. [Consultado en Junio 2021]. Disponible en: <https://www.rtve.es/deportes/20100722/contador-sentencia-tour-tourmalet/340760.shtml>

- Santos J. "Gas xenón: ¿dopaje del futuro o campaña de desprestigio?" [en línea]. 2014. [Consultado en junio de 2021]. Disponible en: <https://www.martiperarnau.com/gas-xenon-dopaje-del-futuro-o-campana-de-desprestigio/>
- Schänzer W, Guddat S, Thomas A, Opfermann G, Geyer H, Thevis M. Expanding analytical possibilities concerning the detection of stanozolol misuse by means of high resolution/high accuracy mass spectrometric detection of stanozolol glucuronides in human sports drug testing. *Drug Test Anal.* 2013; 5: 810–8.
- Schänzer W, Thevis M. Human sports drug testing by mass spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* 2015; 9999: 221–35.
- Schobersberger W, Dünnwald T, Gmeiner G, Blank C. Story behind meldonium-from pharmacology to performance enhancement: A narrative review. *Br. J. Sports Med.* 2017; 51: 22–5.
- Shackleton CHL, Chuang H, Kim J, De La Torre X, Segura J. Electrospray mass spectrometry of testosterone esters: Potential for use in doping control. *Steroids.* 1997; 62: 523–9.
- Sharma KS. Mass spectrometry-The early years. *Int. J. Mass Spectrom.* 2013; 349–350: 3–8.
- Thevis M, Piper T, Geyer H, Thomas A, Schaefer MS, Kienbaum P, Schänzer W. Measuring xenon in human plasma and blood by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2014; 28 (13): 1501-1506. <https://doi.org/10.1002/rcm.6926>
- World Anti-Doping Agency. The 2021 prohibited list: international standard. Montreal, Canada, 2021. [Consultado en mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.wada-ama.org/en/resources/science-medicine/prohibited-list-documents>