

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**EVALUACION DE PRODUCTOS ANABOLICOS PROMOCIONADOS EN
GIMNASIOS DE FISICO CULTURISMO DEL AREA METROPOLITANA
CON RELACION A LA PRESENCIA
DE ESTEROIDES**



INFORME DE TESIS

Presentado por:

AXEL ARMANDO DE LEON VELASQUEZ

QUIMICO FARMACEUTICO

GUATEMALA, ABRIL DE 1998

JUNTA DIRECTIVA
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO:	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO:	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I:	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II:	LIC. GERARDO ARROYO CATALAN
VOCAL III:	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV:	BR. HERBERTH AREVALO ALVARADO
VOCAL V:	BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES: ARMANDO DE LEON ESTRADA Y EL VELASQUEZ
DE DE LEON

A MI ABUELITA: SARA BETZABE (Q. E. P. D.)

A MIS HERMANOS: GIOVANNI Y CAROLINA, BORIS Y NORMA.

A MIS PRIMOS: ANIBAL, ZULLY, HERSON, DANILO, KENIA, JAIME,
ERICK Y STEVE.

A MIS SOBRINOS: ANDREA, DANIELA, ESTUARDO, KEVIN, MARIANO,
JUNIOR Y ALLAN.

A MIS TIOS: DINA, DELHI, SONÍA Y JAIME.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS: SERGIO, CLARITA, JULIO, SUSY, JOSE, JUAN
MANUEL R., JUAN CARLOS, MARISOL, OLY, Y
HECTOR.

Y A TODOS LOS QUE ME APOYARON POR SU VALIOSA AYUDA.

AGRADECIMIENTO

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

LIC. ESTUARDO SERRANO VIVES.

Por su asesoría

LICDA. SMIRNA VELASQUEZ AMEZQUITA.

Por su aporte en la revisión de la tesis

LIC. LUIS FERNANDO GIRON.

Por su aporte en la revisión de la tesis

LICDA. VIRGINIA GONZALES DE SCHERING.

Por su valiosa ayuda

INDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	2
3. ANTECEDENTES.....	3
4. JUSTIFICACION.....	5
5. OBJETIVOS.....	6
5.1 General.....	6
5.2 Específicos.....	6
6. HIPOTESIS.....	7
7. MATERIALES Y METODOS.....	8
7.1 UNIVERSO DEL TRABAJO.....	8
7.2 MEDIOS.....	8
7.2.1. Recursos Humanos.....	8
7.2.2. Recursos Institucionales.....	8
7.3 MATERIAL.....	8
7.4 EQUIPO.....	8
7.5 PROCEDIMIENTO.....	9
7.6 DISEÑO DE LA INVESTIGACION.....	11
8. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.....	11
9. CONCLUSIONES.....	12
10. RECOMENDACIONES.....	13
11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	14
12. ANEXOS.....	16

1. RESUMEN

Este estudio se realizó para evaluar la presencia de esteroides Anabólicos (testosterona y enantato de testosterona) en los suplementos alimenticios promocionados en los gimnasios de fisiculturismo, del área metropolitana. Para iniciar el trabajo se revisaron los antecedentes referentes a esteroides anabólicos (1), y a su vez se seleccionó el método para analizar esteroides, que consiste en una cromatografía en capa fina que permite identificar su presencia al separar los excipientes y posteriormente por espectrofotometría UV a 241 nm, cuantificar el contenido (2). Se efectuó un conteo físico del total de marcas de los productos en la principal distribuidora de los mismos, obteniendo la unidad muestral estadísticamente significativa de 16 muestras seleccionadas totalmente al azar.

Al finalizar la parte experimental se procedió a analizar los resultados obtenidos por medio de estadística descriptiva, lo que indicó que un producto analizado dio positivo para la testosterona, representando este, el 6.25% del total de las muestras, a una concentración de 12.5 mg/mL.

2. INTRODUCCION

Actualmente con el deseo de lucir una atractiva figura en corto tiempo, en los gimnasios de físico culturismo se ha promocionado conjuntamente con rutinas de ejercicios, el uso de productos complementarios que logran aumentar sustancialmente la masa muscular y la capacidad física. Estos productos aparentemente son inocuos a la salud, pero por algunos efectos observados, se cree que algunos de ellos poseen algo más que aminoácidos, vitaminas y minerales, ya que las personas que los consumen alcanzan un crecimiento muscular acelerado y son capaces de levantar pesos considerables en un tiempo relativamente corto, si se compara con las personas que no los consumen. Esto hace pensar que dichos suplementos poseen en su formulación esteroides anabólicos, los cuales no aparecen reportados en sus etiquetas, y que al ser utilizados por largos períodos de tiempo, pueden producir efectos graves en las personas que los consumen.

Los andrógenos son hormonas secretadas principalmente por los testículos, pero también por las glándulas suprarrenales y ovarios. Los testículos son los principales productores de testosterona y otros andrógenos, poseen acción virilizante que sirve para regular la diferenciación y la función secretora de los órganos masculinos accesorios. Los andrógenos también muestran actividad proteino-anabólica en órganos accesorios no sexuales, como músculo esquelético, huesos y riñones; este efecto logra un balance nitrogenado positivo y un aumento en la síntesis de proteína (1).

El propósito del presente trabajo, fue evaluar la presencia de esteroides anabólicos en suplementos nutricionales que se distribuyen en gimnasios. Al encontrarse presente en uno de estos productos testosterona, se cuantificó por medio de espectrofotometría U.V. a 241nm (2,3).

3. ANTECEDENTES

Los esteroides anabólicos son productos de uso delicado, pues son hormonas, que pueden provocar una serie de alteraciones en las personas que los consumen, desde trastornos nerviosos hasta cáncer en órganos como por ejemplo, el hígado y los riñones.

Por diversos medios de comunicación deportivos, se ha dado a conocer noticias acerca de deportistas de talla mundial, que han sufrido problemas serios de salud e incluso, han llegado a la muerte debido al abuso en la utilización de esteroides anabólicos; todo esto por la ambición de desarrollar más fuerza, más velocidad o mayor volumen muscular. La población Guatemalteca podría caer en este error por querer lograr una mejor condición física.

Hasta la fecha en el país no se ha realizado ningún trabajo de tesis que tenga relación con este tema, por lo se cree que éste podría ser el inicio de una investigación muy interesante para la población deportiva que consume estos productos y que estén concientes de los riesgos que corren al consumir dichos suplementos.

La testosterona, estimula el crecimiento de los huesos y de los músculos esqueléticos, aumenta la retención del nitrógeno proteínico de la dieta (anabolismo) y disminuye la degradación de los tejidos corporales (catabolismo). Los andrógenos favorecen la retención de sodio, potasio, nitrógeno, fósforo y la excreción de calcio. Hacia el final de la pubertad, la testosterona acelera la conversión de cartilago a hueso, suspendiendo en esta forma el crecimiento longitudinal (4).

El tratamiento con testosterona y sus congéneres es delicado por el hecho de que el aporte externo de la hormona puede deprimir la secreción de la hormona natural, lo que quiere decir que al administrar testosterona o sus congéneres puede provocar que los testículos ya no produzcan testosterona, por efectos inhibitorios sobre la hipófisis.

Además de la testosterona y sus diversos ésteres, se encuentran en el mercado varios compuestos de estructura química similar (4).

Un estudio realizado en ratas, sobre los efectos de los esteroides anabólicos en el tendón de Aquiles, demuestra que el uso de estos causa un incremento en la rigidez del tendón y del músculo, como también el incremento de la energía en éste. Pero al utilizarlos por largo tiempo el resultado no tiene significancia estadística, ya que el esteroide anabólico únicamente acelera el proceso de crecimiento muscular, el cual puede ser alcanzado de manera natural, únicamente que en un período

de tiempo más largo (5).

Otro estudio efectuado en ratas, sobre los efectos de esteroides anabólicos en la síntesis de colágeno en el músculo esquelético y tendón, demuestra que el tratamiento con esteroides disminuye la biosíntesis de colágeno. Además, la combinación de ejercicio con el uso de anabólicos, puede producir cambios más profundos en la biosíntesis de colágeno, lo que traería como consecuencia serios problemas en las articulaciones (6).

Las actividades anabólicas de la testosterona, como el aumento de la incorporación de aminoácidos en proteínas y la actividad de polimerasa de RNA, han sido comprobados en el músculo esquelético. La administración de esteroides anabólicos en individuos normales, para aumentar la masa muscular, no resulta prudente. El beneficio a largo plazo de provocar un balance proteínico positivo y un aumento de masa muscular es mínimo. Además, la administración exógena de andrógenos puede originar supresión gonadotrópica e interrumpir la espermatogénesis, con la consiguiente infertilidad (7).

4. JUSTIFICACION

En algunos gimnasios de fisico-culturismo se promocionan productos para aumentar el volumen muscular y el rendimiento fisico, los cuales en sus etiquetas dicen contener unicamente vitaminas, minerales, proteínas y carbohidratos.

Por algunos efectos observados es posible suponer que estos productos incluyan en su formulación esteroides anabólicos, los cuales si bien es cierto aumentan el volumen muscular en poco tiempo, son de uso delicado debido a las reacciones adversas que presentan.

Por este motivo fue importante realizar esta investigación, para determinando la presencia de esteroides anabólicos en un producto.

5. OBJETIVOS

5.1 Generales

- 5.1.1 Evaluar suplementos alimenticios que comercializan los gimnasios de fisiculturismo, respecto al contenido de esteroides anabólicos en su formulación.

5.2 Específicos

- 5.2.1 Identificar la presencia de esteroides anabólicos (testosterona y enantato de testosterona), en los suplementos promocionados por los gimnasios de físico-culturismo del área metropolitana.
- 5.2.2 Cuantificar la concentración de testosterona y enantato de testosterona, de los suplementos alimenticios promocionados por los gimnasios de físico-culturismo.

6. HIPOTESIS

Los suplementos alimenticios promocionados en gimnasios de fisico-culturismo, poseen en su formulación esteroides anabólicos (testosterona y enantato de testosterona).

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

Está constituido por 26 suplementos alimenticios, de los cuales se tomó una muestra de 16 unidades basado en la formula para efectuar el diseño del muestreo totalmente al azar.

7.2 RECURSOS:

7.2.1 HUMANOS:

Autor del trabajo de tesis: Br. Axel Armando De León Velásquez.

Catedrático asesor: Lic. Estuardo Serrano V.

7.2.2 INSTITUCIONALES:

7.2.2.1. Instalaciones:

Para la realización de este trabajo, se utilizaron las instalaciones de los departamentos de Farmacia Industrial, Analisis Aplicado y DIGI de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.3 MATERIAL

Metanol, etanol, cloroformo, benceno y acetato de etilo.

Testosterona TS y enantato de testosterona TS.

Material y equipo de laboratorio.

7.4 EQUIPO

Espectrofotómetro UV.

Placas de sílica gel GF254 para cromatografía en capa fina.

Cristalería común de laboratorio.

Balanza analítica

Horno

Lámpara de Luz Ultravioleta.

7.5 PROCEDIMIENTO:

Parte experimental:

- 7.5.1 Preparación del estándar: Disolver en alcohol una cantidad adecuada del estándar de referencia USP(20mg), previamente desecado y pesado, luego diluir en alcohol hasta obtener una solución aproximadamente de 20microgramos/mL. Pipetear 20 mL de esta solución y trasladar a un matríz cónico de 50mL. Cerrarlo con un tapón adecuado.
- 7.5.2 Preparación de la muestra: Pesar exactamente 20mg de la muestra previamente desecada, disolver en una cantidad suficiente de una mezcla de volúmenes iguales de alcohol y cloroformo para hacer un volumen de 10mL y mezclar. Guardar esta solución en un matríz cónico de 50mL y tapanlo.
- 7.5.3 el área de la cromatoplaca en tres secciones iguales, las secciones izquierda y derecha serán utilizadas por la muestra problema y el estandar, respectivamente, y la sección central para el blanco. Aplicar 200 micro litros de cada una de las preparaciones, muestra problema y el estandar a 2.5cm del borde de la cromatoplaca. Secar la solución luego de cada aplicación. Desarrollar el cromatograma usando como solvente una mezcla de benceno y acetato de etilo (1:1), hasta que el frente del solvente se halla movido 15cm arriba de la línea inicial. Remover la cromatoplaca, evaporar el solvente, y localizar la banda principal ocupada por el estandar viéndolo bajo la luz UV. Marcar esta banda como también las correspondientes a la muestra problema y al blanco en las secciones de la cromatoplaca. Remover la sílica gel de cada banda separadamente, raspando sobre un cristal o un papel previamente tarado, o usando un colector vacío, transferirlo a un tubo de ensayo con tapón de rosca de 50mL, centrifugar el tubo. A cada tubo adicionarle 25mL de alcohol, y agitarlo por no ménos de 2 minutos, centrifugar los tubos por 5 minutos, pipetear 20mL del sobrenadante de cada tubo en un matríz cónico de 50mL. Sin demora determinar las absorbancias consecutivamente de las soluciones de la muestra problema y la preparación estandar respectivamente a 241 nm, en un espectrofotómetro, contra el blanco. Calcular el

resultado por la formula siguiente:

$10C (Au/As)$ Para Testosterona

$C (Au/As)$ Para el Enantato de Testosterona

en donde C es la concentración en mg/ml de la muestra, y Au y As son las absorbancias de las soluciones de la muestra y la preparación estandar (5).

7.6 DISEÑO DE LA INVESTIGACION

En este trabajo se utilizó estadística descriptiva, ya que se evaluó la presencia de esteroides anabólicos en las muestras utilizadas, cuantificando unicamente la muestra con la que se obtuvo resultado positivo.

FORMULA Y CALCULOS PARA EFECTUAR EL DISEÑO DEL MUESTREO TOTALMENTE AL AZAR.

$$n = \frac{N \sigma}{(N - 1)\Delta^2 + \sigma^2} \cdot NC^2$$

En donde:

n = número de muestras

N = Población total, 26 productos

NC = Nivel de confianza, intervalo de 95%, $NC = Z_{1 - \alpha/2} = 1.96$

σ^2 = Variabilidad de la respuesta (variable binomial p q) para asegurar la máxima muestra posible, como no se conoce se asume que es 50% = $(0.5)(0.5) = 0.25$

Δ^2 = Limite de error en la estimación = 15%

$$n = \frac{(26) (0.25)}{(26 - 1) (0.15)^2 + 0.25} \cdot (1.96)^2 = 16 \text{ muestras}$$

8. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En la parte experimental, la muestra 11 fue la que dió positivo para el ensayo de testosterona obteniendo el mismo Rf que el estándar, $Rf=8.5cm/13cm=0.65$, (ver anexo 4). Se determinó que dicha muestra posee una concentración de 12.5mg, el estándar obtuvo un valor de 0.085 de absorbancia y la muestra 0.0053 de absorbancia(ver anexo 2). La concentración del estándar es 20mg/ml, sustituyendo en la ecuación $10(20mg/ml)(0.0053/0.085)=12.5mg/ml$ de una solución preparada con 20mg de muestra en 10ml de etanol-cloroformo 1:1 para la muestra 11(ver anexo 3), lo que corresponde al 6.25% del total de la muestra(ver anexo 1).

Es importante mencionar que otras dos muestras(2y4) corrieron en el cromatograma dando manchas similares a las de los estándares, con la salvedad que recorrieron distancias diferentes a la de los estándares de referencia, lo que hace sospechar que estas muestras poseen esteroides en su formulación, diferentes a los evaluados ya que la técnica utilizada es específica para la separación, identificación y cuantificación de esteroides pero por la falta de estándares de referencia de otros anabólicos no se pudo determinar que clase de los mismos están presentes en dichas muestras, que representan al 12.5% del total de la muestra(ver anexos 5 y 6). Además, 13 muestras de las evaluadas (81.25%), no corrieron en el cromatograma dando un resultado negativo.

Estos resultados son importantes ya que la mayoría de personas que consumen estos productos no tienen idea de lo peligroso que puede resultar la ingesta de los mismos por tiempo prolongado; además, la mayor parte de estos suplementos no informan en sus etiquetas si contienen o no esteroides y por otro lado los pocos productos que lo mencionan, lo hacen en inglés o con abreviaturas, sin dar ninguna advertencia de las posibles reacciones adversas de estos productos, a mediano y largo plazo.

9. CONCLUSIONES

- 9.1 En uno de los productos analizados (6.25%) se evidenció la presencia de testosterona esteroide anabólico) en su formulación, a una concentración de 12.5 mg/ml, de una solución preparada con 20mg de muestra del suplemento alimenticio en 10ml de etanol-clorofofmo 1:1.
- 9.2 En el 81.25% del total de las muestras evaluadas que corresponde a 13 muestras, no se evidenció la presencia de esteroides.
- 9.3 El 12.5% del total de las muestras evaluadas, que corresponde a 2 muestras, dio algunos indicios de contener esteroides, pero debido a la falta de otros estándares de referencia no se pudo identificar su contenido.

10. RECOMENDACIONES

- 10.1 Publicar los resultados obtenidos en el presente estudio, con el fin de informar el contenido de estos suplementos alimenticios, para que se tomen las precauciones pertinentes en el uso de los mismos.
- 10.2 Continuar la evaluación de estos productos utilizando otros estándares para identificar la presencia de otro tipo de esteroides.
- 10.3 Etiquetar adecuadamente estos productos, con toda la información clara y detallada de sus contenidos, que permita prevenir a los deportistas acerca del consumo a largo y mediano plazo de esteroides y los efectos adversos que éstos pueden producir.

11. REFERENCIAS

- 11.1 Craig Ch. FARMACOLOGIA MEDICA. 1a. Ed. Interamericana, México D.F. 1984. 1082 p.(p. 879-97.)
- 11.2 The United States Pharmacopeia Convention. (USP). XXI Ed. Mack Publishing., USA 1985. (p. 784, 1024-27, 1196-97.)
- 11.3 The USP Convention Inc. The United States Pharmacopeia USP XXII, The National Formulary XVII: Mack 1990. (p. 1326, 1545, 1586, 1588-89, 1595.)
- 11.4 Lobel, Suzzane., MANUAL DE FARMACOLOGIA. Vol. 3 1a. Ed. Ediciones Orientación. México 1988. 892p. (p. 653-60.)
- 11.5 Perry D. Inhofe, MD, William A. Grana, THE EFFECTS OF ANABOLIC STEROIDS ON RAT TENDON. The American Journal of Sports Medicine. Vol.23 #2 March-April 1995.(p 227-32.)
- 11.6 Jarmo A. Karpakka, MD, Maija K., THE EFFECTS OF ANABOLIC STEROIDS ON COLLAGEN SYNTHESIS IN RAT SKELETAL MUSCLE AND TENDON. The American Journal of Sport Medicine. Vol.20 # 3 May-June 1992.(p. 262-66.)
- 11.7 Lawrence T. Stephen M. DIAGNOSTICO CLINICO Y TRATAMIENTO. 29a.Ed. El Manual Moderno, México D.F. 1994. 1483p. (p. 945-47.)
- 11.8 Goodman y Gilman LAS BASES FARMACOLOGICAS DE LA TERAPEUTICA., 8a. Ed. Médica Panamericana. México D.F. 1991. 1751p. (p. 1367-68, 1376-80.)
- 11.9 Edwar D.I. CROMATOGRAFIA PRINCIPIOS Y TECNICAS., El Manual Moderno. México 1975. 93p. (p.40-48.)
- 11.10 Block Richard J. A MANUAL OF PAPER CHROMATOGRAPHY AND PAPER ELECTROPHORESIS., 2a. Ed. Academic Press New York 1958. 710p. (p.250-83.)
- 11.11 Lederer Edgar. CROMATOGRAFIA 2a. Ed. El Ateneo, Argentina 1960. 752p. (p. 296-309.)
- 11.12 USP DI 14Th Edition. 1994. (p. 180-93.)
- 11.13 MS&D International. EL MANUAL MERCK 7a. Ed. Interamericana, México D.F. 1986. 2310p. (p.952-56.)

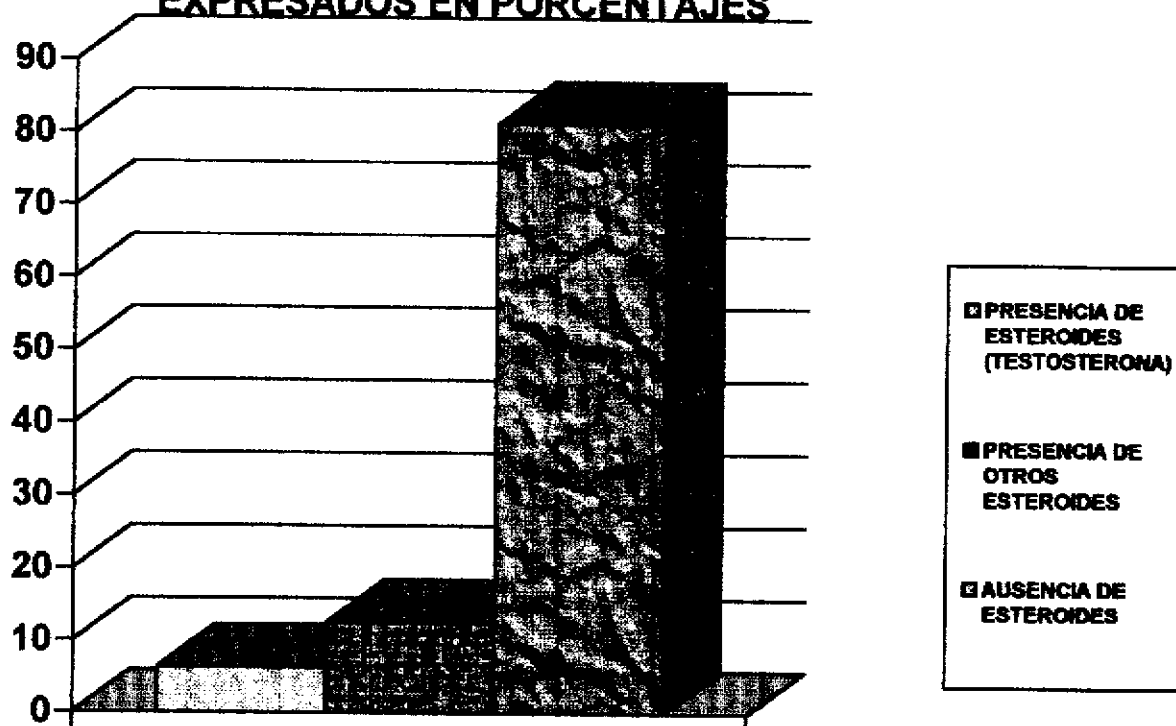
- 11.14 Parker Sybil. DICCIONARIO McGRAW HILL DE QUIMICA Vol. 1 Interamericana, México 1991. 184p. (p.78.)
- 11.15 Merck Reactivos. Información sobre cromatografía en capa fina VII. Identificación de Algunos Corticosteroides en orina. Folleto informativo. 8p.
- 11.16 Merck Reactivos. Reactivos de coloración para cromatografía en capa fina y en papel. Merck. 1980. 122 p.
- 11.17 Merck Reactivos. Cromatografía en la Química Farmacéutica. Manual práctico. Merck. 11p.

12. ANEXOS

12.1	Diagrama de los resultados expresados en porcentajes.....	17
12.2	Gráfica de absorbancias.....	18
12.3	Gráfica de concentración.....	19
12.4	Cromatoplaça # 1.....	20
12.5	Cromatoplaça # 2.....	21
12.6	Cromatoplaça # 3.....	22

12.1 Diagrama de los resultados expresados en porcentajes

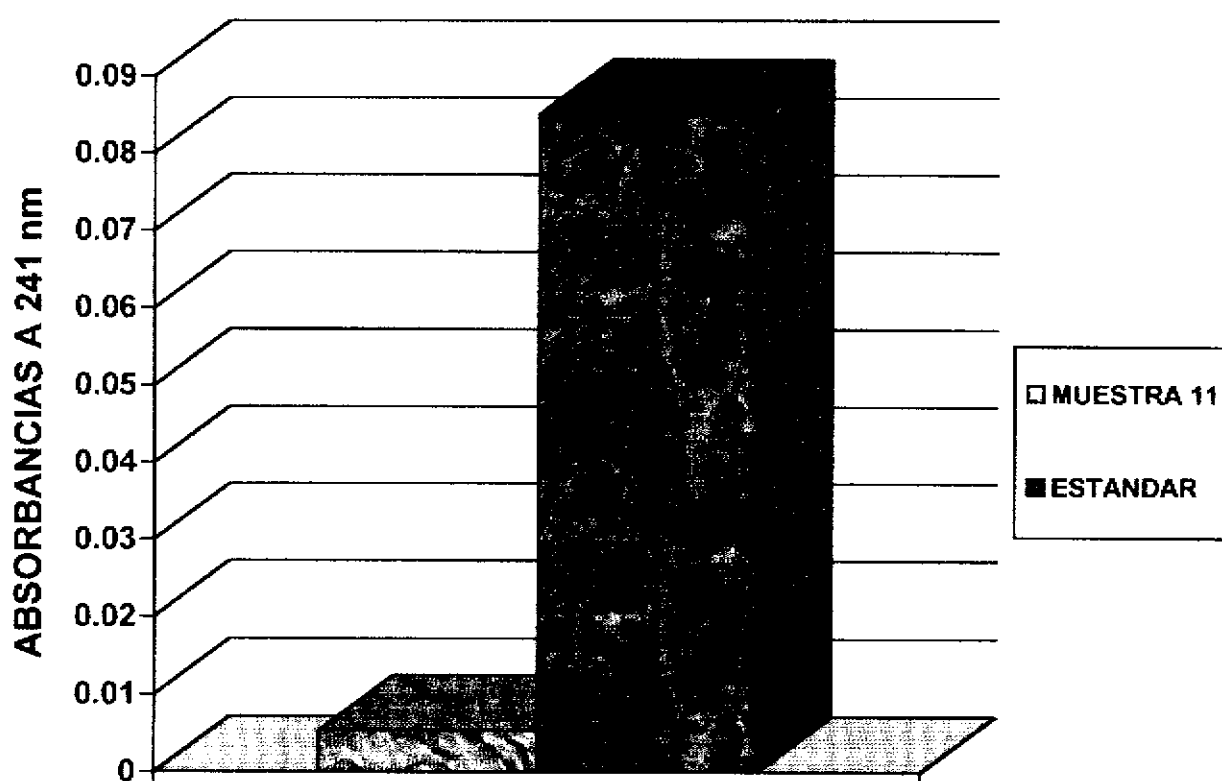
PRESENCIA DE TESTOSTERONA EN SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS, DIAGRAMA DE LOS RESULTADOS EXPRESADOS EN PORCENTAJES



PRESENCIA DE ESTEROIDES (TESTOSTERONA)	6.25
PRESENCIA DE OTROS ESTEROIDES	12.5
AUSENCIA DE ESTEROIDES	81.25

12.2 Gráfica de absorbancias

ABSORBANCIA DE MUESTRA 11 Y ESTANDAR

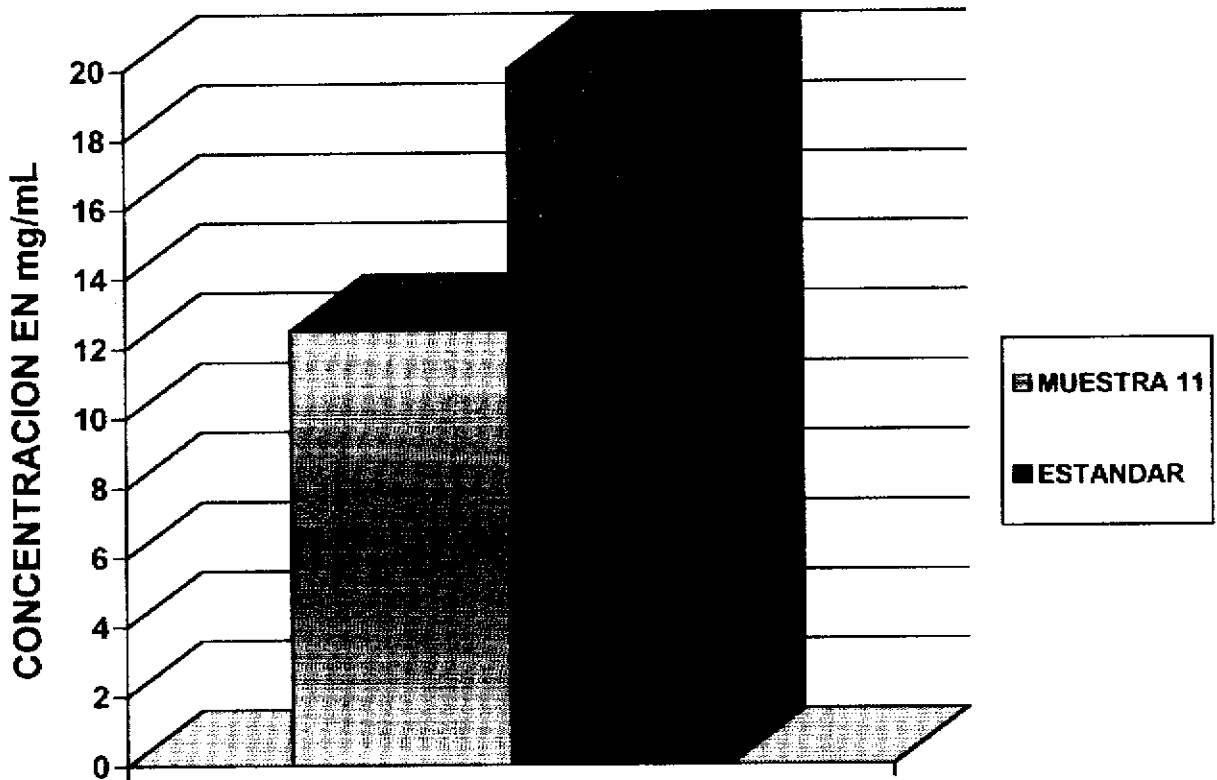


□ MUESTRA 11	0.0053
■ ESTANDAR	0.085

6. HIPOTESIS

12.31. Gráfica de concentración promovidos en gimnasios de fisico-culturismo, poseen en su formulación esteroides anabólicos (testosterona y enantato de testosterona).

CONCENTRACION DE MUESTRA 11 Y ESTANDAR



■ MUESTRA 11	12.5
■ ESTANDAR	20

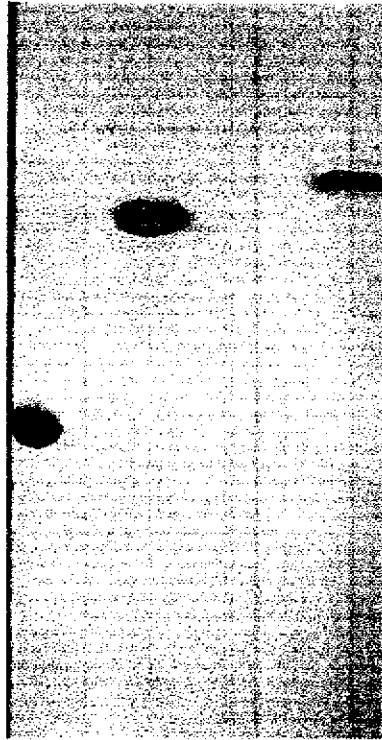
12.4 Cromatoplaca # 1



MUESTRA11

ESTANDAR DE TESTOSTERONA

12.5 Cromatoplaca # 2

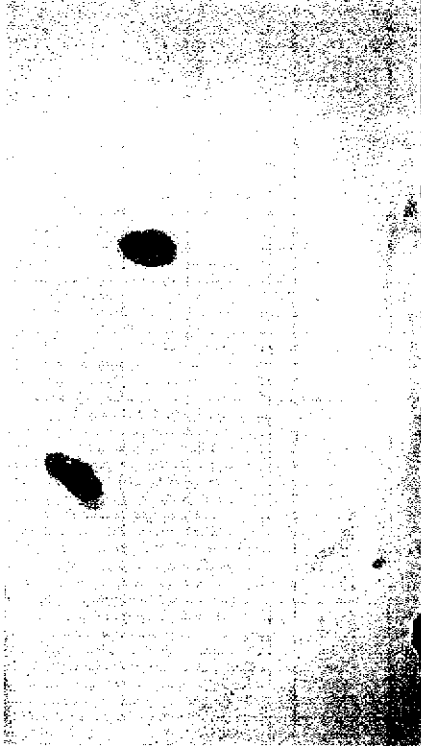


ESTANDAR DE
ENANTATO DE TESTOSTERONA

MUESTRA2

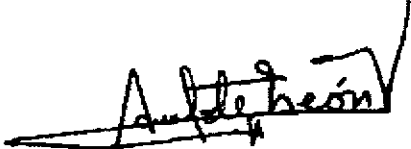
ESTANDAR DE
TESTOSTERONA

12.6 Cromatoplaaca # 3



MUESTRA 4

ESTANDAR DE TESTOSTERONA


AXEL ARMANDO DE LEON VELASQUEZ
AUTOR


LIC. ESTUARDO SERRANO VIVES
ASESOR


LICDA. BEATRIZ BATRES DE JIMENEZ
DIRECTORA


LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
DECANO