

TRABAJO FIN DE GRADO



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

MICRODOSIS DE rhEPO ¿TIENEN EFECTO SOBRE EL RENDIMIENTO FÍSICO?

Alumno: JUAN DIEGO SÁNCHEZ ALCÁNTARA

Tutor académico: THOMAS ZANDONAI

Curso académico: 2020-2021

Grado en Ciencias de la Actividad Física y el deporte

ÍNDICE

1.RESUMEN.....	1
2.CONTEXTUALIZACIÓN.....	1
2.1.ERITROPOYETINA (EPO).....	1
2.2.ERITROPOYETINA HUMANA RECOMBINANTE (rhEPO) Y MICRODOSIS DE ERYTROPOYETINA HUMANA RECOMBINANTE (rhEPO) Y SUS EFECTOS SOBRE EL EJERCICIO.....	2
2.3.MICRODODIS DE ERITROPOYETINA HUMANA RECOMBINANTE (rhEPO) Y EL CONTROL ANTIDOPAJE.....	3
2.4.BIOMARCADORES PARA DETECTAR LAS MICRODOSIS DE rhEPO.....	4
2.5.VENTANA DE DETECCIÓN DE MICRODOSIS DE rhEPO.....	4
3.PROCEDIMIENTO DE REVISIÓN (METODOLOGÍA).....	5
3.1.BÚSQUEDA EN LA LITERATURA	5
3.2.CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	5
3.3.SELECCIÓN DE ESTUDIOS	6
3.4.CARACTERÍSTICAS DE LA EXTRACCIÓN DE DATOS Y CÓDIGOS DEL ESTUDIO.....	6
3.5.EVALUACIÓN DE LA CALIDAD METODOLÓGICA	6
4.REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA (DESARROLLO).....	7
4.1.RESULTADOS	7
5.DISCUSIÓN	9
6.CONCLUSIÓN.....	11
7.PROUESTA DE INTERVENCIÓN	11
8.BIBLIOGRAFÍA	12
9.ANEXOS.....	14
9.1.TABLA RESULTADOS.....	14

1.RESUMEN

Introducción: La eritropoyetina (EPO) es una glicoproteína que actúa como regulador principal de los glóbulos rojos en los seres humanos y se produce en los riñones. Se ha demostrado que en altas dosis mejora el rendimiento físico en sujetos sanos, pero son detectables controles antidopaje. Por ello, surgen nuevos métodos de dopaje como la administración de microdosis de rHuEpo que tienen una ventana más corta de detección, que resultan indetectables y parece que tienen el mismo efecto sobre el rendimiento que altas dosis de eritropoyetina. El objetivo de esta revisión es demostrar si las microdosis de rHuEpo tienen un efecto sobre el rendimiento de los atletas.

Métodos: Se realizaron búsquedas en las bases de datos de Pubmed y Web of Science siguiendo las pautas PRISMA, hasta marzo de 2021. Los términos de búsqueda cubrieron todos los nombres que incluían microdosis de rHuEpo. Para calificar su inclusión en la revisión sistemática, los estudios deben haber incluido: 1) Ensayos de control aleatorizados (ECA) y ensayos de control no aleatorizados (no ECA), incluidos estudios experimentales y estudios observacionales (estudios transversales, de casos y controles y de cohortes) que exploran una intervención para mejorar el rendimiento en el ejercicio; 2) Publicado como investigación original y texto completo; 3) Atletas sanos; 4) Participantes ≥ 18 años de edad; 5) Sin restricciones de género, etnia y duración del seguimiento; 6) Solo estudios con participantes humanos.

Resultados: Se evaluó la elegibilidad de un total de veinte un artículo y once de ellos se incluyeron en el análisis cualitativo. Encontramos artículos que investigaron los efectos de las microdosis de rHuEpo sobre el rendimiento físico y cognitivo de los atletas. Según nuestros hallazgos, parece que las microdosis de rHuEpo aumenta la concentración de hemoglobina, hematocrito, y disminuyen el porcentaje de reticulocitos. Además, de aumentar el VO₂máx, y tener un efecto positivo sobre la cognición, proporcionando más energía, y capacidad de mantener el enfoque en la tarea. El pequeño número de artículos incluidos (n=11) invita a tomar los resultados con cautela.

Conclusiones: Esta revisión evidencia información interesante sobre el efecto de las microdosis de rHuEpo. Nuestros hallazgos destacan los efectos que tienen sobre el rendimiento físico y cognitivo. Pero surge la necesidad de realizar nuevos estudios que proporcionen más información acerca de este nuevo método indetectable de dopaje.

Palabras claves: “Erythropoietin microdose”, “EPO”, “rHuEpo”, “endurance”, “performance”, “athlete”, “exercise”

2.CONTEXTUALIZACIÓN

2.1.ERITROPOYETINA (EPO)

La eritropoyetina (EPO) es una glicoproteína de 34 kDa que contiene 165 aminoácidos que actúa como regulador principal de los glóbulos rojos en los seres humanos y se produce principalmente en los riñones (Lamers et al. 2013). La EPO circulante se une a los receptores de la superficie de las células progenitoras eritroides que maduran para convertirse en glóbulos rojos. Inhibe la apoptosis y estimula las células madre de la médula ósea para que se diferencien en glóbulos rojos y controla la síntesis de hemoglobina y la concentración de glóbulos rojos (Sgrò et al. 2018). Su principal función es estimular la eritropoyesis, es decir, se encarga de inducir la producción de células sanguíneas (eritrocitos) y, por lo tanto, de aumentar el transporte de oxígeno a través del torrente sanguíneo de todo el organismo (Marchand et al. 2019). La producción de EPO está bajo el control del oxígeno; su promotor es suprimido por GATA-2 y por factor nuclear kB en normoxia, pero en hipoxia los niveles de GATA-2 disminuyen y su potenciador es activado por factores de transcripción inducibles por hipoxia (HIF) que se unen a

un elemento de respuesta a la hipoxia. HIF-2, que comprende HIF-1beta y HIF-2 alfa, es el principal activador de EPO y es activado por la sirtuina desacetilasa (Sgrò et al. 2018).

2.2.ERITROPOYETINA HUMANA RECOMBIANTE (rhEPO) Y MICRODOSIS DE rhEPO Y SUS EFECTOS SOBRE EL EJERCICIO

La EPO se utiliza hoy en día como tratamiento para la anemia grave resultante de una serie de afecciones, principalmente insuficiencia renal (Cacic, Hervig, and Seghatchian 2013). Además, para quimioterapia contra el cáncer por lo que se puede recetar para cualquier condición en la que los niveles de oxígeno en sangre estén deprimidos para ayudar la posible necesidad de transfusiones de sangre, así aumenta el nivel de hemoglobina (Lamers et al. 2013).

Tiene efectos sobre la neuro protección, el desarrollo cerebral y el rendimiento cognitivo. También, tiene un efecto positivo sobre la disfunción cognitiva, la velocidad de procesamiento de la información compleja y la precisión de la memoria de trabajo en pacientes con depresión, trastorno bipolar y esquizofrenia (Viuff et al. 2017).

Dejando a un lado el nivel clínico y centrándonos en el deporte, la EPO es un fármaco que los atletas utilizan por diferentes razones (Summary et al. 2019). Su uso produce un aumento de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hct) con lo que aumenta el transporte de oxígeno y a su vez el VO₂máx (Sutehall et al. 2018). También aumenta la potencia cardíaca un 18% y disminuye la frecuencia cardíaca. Los efectos adicionales son el transporte de gas más eficiente en los pulmones y en el tejido periférico debido a la superficie agrandada de glóbulos rojos que previene la hipoxemia arterial durante el ejercicio, una actividad enzimática más eficiente de los glóbulos rojos jóvenes, un aumento de la capacidad de tampón de la sangre, vasoconstricción esplácnica provocando un desplazamiento de sangre al músculo activo y efecto de crecimiento en los vasos (Sgrò et al. 2018).

La eritropoyetina tiene efectos sobre la neuro protección, el desarrollo cerebral y el rendimiento cognitivo por lo que su administración mejora las funciones cognitivas debido al aumento de la hemoglobina, lo que produce una mejor oxigenación de los órganos, incluido el cerebro. Esto provoca un efecto eufórico en la autopercepción que podría llevar a los atletas a manejar un entrenamiento más pesado, aumentando la autoestima, el bienestar psicológico y mejora de la energía resultando beneficio para su rendimiento (Viuff et al. 2017).

Algunos atletas usan la EPO para mejorar su rendimiento y su uso está prohibido en el deporte (Wold-Anti Doping Agency 2021). Para controlar estas sustancias y métodos vetados está la Agencia Mundial Antidopaje (en inglés World Antidoping Agency, WADA), la cual para que considere una sustancia o método prohibido tiene que cumplir dos de los tres siguientes criterios: que produzca mejora en el rendimiento, riesgo para la salud y violación del espíritu de deporte (Cacic et al. 2013). La misión de la WADA es liderar un movimiento de colaboración mundial para el deporte libre de dopaje y sus actividades se centran en las responsabilidades que otorga el código mundial antidopaje. Una de estas responsabilidades es publicar una lista prohibida anual que identifica las sustancias y métodos prohibidos dentro y fuera de la competencia, y en particular los deportes. Dentro de esta lista encontramos las sustancias no aprobadas que se dividen en cinco: (1) agentes anabolizantes, (2) hormonas peptídicas, factores de crecimiento, sustancias afines y mimético, (3) agonistas beta-2, (4) moduladores hormonales y metabólicos y (5) diuréticos y agentes enmascarantes (Wold-Anti Doping Agency 2021). La eritropoyetina está prohibida dentro y fuera de las competiciones y la encontramos en grupo de hormonas peptídicas, factores de crecimiento, sustancias afines y miméticos, que como se describe anteriormente estos agentes tienen como objetivo aumentar el volumen de glóbulos rojos mediante la inducción de eritropoyesis y, por tanto, mejorar potencialmente el rendimiento (Heuberger and Cohen 2019).

El uso de altas dosis de eritropoyetina está muy controlado por la WADA cuya tasa de detección mediante las diferentes pruebas en los controles es casi del 100% (Bejder et al. 2020),

por lo que los atletas para evadir los controles se inyectan pequeñas dosis de EPO (microdosis). Las microdosis de eritropoyetina son dosis eritropoyetina de menos de 10 UI/Kg o 500 UI en días alternos (Sgrò et al. 2018).

Según los resultados de la literatura, las microdosis de rhEPO son suficientes para producir una fuerte respuesta hematológica al igual que las dosis altas rhEPO, como es el aumento de VO₂máx, masa de hemoglobina (tHB mass), reticulocitos y mayor entrega de O₂ a los músculos, pero con la diferencia que tienen una ventana de detección más corta (Cacic et al. 2013)

Las microdosis tras una fase de carga de rhEPO fueron capaces de mantener los parámetros hematológicos alcanzados, lo que supuso el aumento de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hct), disminución de la frecuencia cardíaca, aumento del VO₂máx y de la potencia máxima. También mejora el rendimiento cognitivo (Viuff et al. 2017). Todo esto supone una serie de beneficios en el deporte como puede ser una reducción del tiempo de la prueba. En cuanto a los riesgos que presenta su uso son el aumento de la presión arterial sistólica, con ello la hipertensión; aumento de los eventos trombóticos debido al aumento de la viscosidad de la sangre y un aumento de las plaquetas al subendotelio, accidente cardiovascular e infarto de miocardio son los riesgos/efectos que puede llevar asociado el uso de rhEPO (Sgrò et al. 2018).

2.3.MICRODOSIS DE ERITROPOYETINA HUMANA RECOMBIANTE (rhEPO) Y EL CONTROL ANTIDOPAJE.

El dopaje es una práctica antideportiva que consiste en la utilización de sustancias o métodos cuyo uso está prohibido en el deporte. Es un grave problema que afecta a la actividad deportiva y física en general, y sobre todo al deporte de competición. Para detectar las sustancias prohibidas existen numerosos métodos los cuáles utilizan diferentes técnicas (Heuberger and Cohen 2019). El más común es el control antidopaje que se hace al final de una competición o por sorpresa. Cada año la WADA analiza, gracias a sus laboratorios en el mundo, más de 300.000 muestras (Summary et al. 2019). Otro instrumento es el pasaporte biológico (PB). El PB es un enfoque de monitoreo longitudinal individualizado que evalúa principalmente los biomarcadores hematológicos del dopaje para identificar la variabilidad atípica en las respuestas en los atletas, destacando una posible violación de dopaje (Wang, Karanikolou, et al. 2017). Está basado en el seguimiento a largo plazo de los parámetros hematológicos, lo que permite detectar el dopaje sanguíneo autólogo y el uso de eritropoyetina después de la excreción de la sustancia. También se basa en la teoría de la probabilidad bayesiana para detectar los posibles cambios fisiológicos, se recomienda ver los siguientes parámetros: hemoglobina (Hb), porcentaje de reticulocitos (Ret%), hematocrito (Hct), recuento de reticulocitos, volumen celular medio/tamaño de glóbulos rojos (MCV), cantidad de hemoglobina en un glóbulo rojo promedio (MCH) y concentración de hemoglobina en un glóbulo rojo promedio (MCHC) (Cacic et al. 2013).

El sistema actual antidopaje no puede encontrar la microdosis de EPO debido a una ventana de detección corta para las microdosis (12-18h) (Gertz 2005). Es posible inyectar rhEPO sin activar los umbrales del pasaporte. Por lo que demuestra la necesidad de mantener los procedimientos analíticos existentes (detección directa) en apoyo al pasaporte del deportista. Ya que depende de la vía de administración (intravenosa o subcutánea), frecuencia de las inyecciones y dosis utilizada para ser detectada (Ashenden et al. 2011). Además, los parámetros hematológicos del PB pueden confundirse con factores como la exposición a la altitud, ya que la hipoxia puede afectar las variables sanguíneas y los volúmenes vasculares (Wang, Durussel, et al. 2017).

La tasa de detección con dosis altas de EPO es de hasta del 100%. Pero esto se reduce cuando hablamos de microdosis de rhEPO ya que presentan una ventana de detección tan corta

que es difícil de detectarlo y por ello los datos de positivos se reducen hasta un 20% de hallazgos atípicos (Bejder et al. 2020).

2.4. BIOMARCADORES PARA DETECTAR MICRODOSIS DE rhEPO.

Existen métodos directos e indirectos para detección de microdosis de rhEPO. Los métodos directos para detectar rHuEpo son el enfoque isoeléctrico (IEF) que utiliza perfiles de isoformas de EPO para diferenciar la EPO endógena y exógena (Martin et al. 2021). Esta técnica es especialmente eficaz en la orina donde la presencia de rhEPO puede identificarse varios días después de la última inyección; la electroforesis en gel de sarcosil poliacrilamida (SAR-PAGE) y dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE), que completan el ensayo de IEF (Sgrò et al. 2018). Son técnicas de separación que identifican diferencias en el patrón de glicosilación entre rHuEpo y la EPO endógena, las principales limitaciones de este enfoque son una ventana de detección variable, corta y baja sensibilidad, ambos tienen la misma sensibilidad para EPO (Sgrò et al. 2018). Y la prueba MAIIA (prueba sueca de tira reactiva) es una prueba que determina las desviaciones estándar dentro y entre sujetos en el porcentaje de isoformas migratorias (Mørkeberg et al. 2014). Se calcula un límite arbitrario de desviaciones estándar y se utiliza como umbral para considerar una prueba positiva (umbral absoluto), este umbral utiliza estadísticas de población para establecer un umbral fijo (Mørkeberg et al. 2014). Usando este umbral es menos sensible a la detección de dopaje 72-96h, por lo que aparece un enfoque alternativo, el enfoque del pasaporte donde las estadísticas de población se mezclan con los resultados de muestras anteriores del atleta. A medida que se obtiene más muestras del individuo, el umbral se adapta a los propios resultados del atleta. Una de las ventajas de MAIIA es que tanto las pruebas de orina como de sangre pueden analizarse. Y la recolección de sangre tiene la ventaja que no se puede manipular y, además, se puede analizar para otros parámetros utilizados en el pasaporte biológico y el ensayo es muy rápido (Mørkeberg et al. 2014).

En cuanto al método indirecto, encontramos el pasaporte biológico del deportista (PB) descrito previamente. El pasaporte ofrece oportunidades de eliminar las variaciones interindividuales ya que cada atleta establece su propia línea de base. Se establecen los modelos ON que son más sensibles durante el uso de EPO, mientras que los modelos OFF son más sensibles después de una transfusión de sangre o el cese de uso de EPO (Cacic et al. 2013). Por otro lado, el pasaporte del atleta permite comparar el resultado de sangre más reciente no con los intervalos de referencia basado en la población, sino con el valor esperado derivado del historial de pruebas del atleta individual (Ashenden et al. 2012).

También han surgido nuevos métodos indirectos como el enfoque ómico para la detección del dopaje que se basa en analizar los patrones de expresión genética global (transcriptoma sanguíneo, parámetros hematológicos) en la sangre de varios genes para ver cómo cambian en función de las sustancias dopantes administradas y así poder detectarlas (Wang, Karanikolou, et al. 2017).

Y la ERFE (eritroferrona) que es un regulador eritroide fisiológico, es decir, responde a estimulación eritropoyética moderada como microdosis de rhEPO o exposición a gran altitud y marca la EPO en microdosis por lo que es prometedor como nuevo biomarcador antidopaje (Paul Robach et al. 2020).

2.5. VENTANA DE DETECCIÓN DE MICRODOSIS DE rhEPO

El periodo de detección depende de la vía de administración, la dosis y el tipo de rhEPO inyectada. Según la literatura para microdosis encontramos en la literatura un periodo de 12-18h (Gertz 2005), llegando incluso a las 24h (Cacic et al. 2013). El periodo de detección es más prolongado en la orina en comparación con el plasma ya que es la fina final de evacuación de la EPO del cuerpo (Marchand et al. 2019).

Los atletas para evitar la detección del dopaje utilizaron algunas técnicas como beber gran cantidad de agua. Y en la literatura encontramos que beber 1L de agua disminuyó la gravedad específica media, la concentración de proteína total y los niveles de EPO en la muestra de orina recolectada 80 minutos después. Sin embargo, la ingesta de agua no tuvo un efecto de dilución apreciable sobre las concentraciones plasmáticas de EPO (Martin et al. 2016). Todas las muestras tenían niveles identificables de rhEPO después de beber agua. Por tanto, beber 1L de agua no afectó a la identificación mediante IEF o SDS-PAGE. Ambos métodos fueron lo suficientemente sensibles para la detección de rhEPO en orina y sangre (Martin et al. 2016).

En conclusión, la EPO es una glicoproteína que se utiliza tanto a nivel clínico como deportivo. A nivel deportivo tiene numerosos efectos como el aumento de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hct), transporte de oxígeno y VO₂max que mejoran el rendimiento físico en los atletas. Por lo que estos lo utilizan en su beneficio, violando así el espíritu del deporte y suponiendo un riesgo importante para la salud, considerándose así una sustancia dopante. El uso de altas dosis de EPO está muy controlado por la Agencia Mundial Antidopaje y es detectable en los controles al 100%, por lo que los atletas recurren a microdosis de rHuEpo, que son dosis de menos de 10 UI/Kg en días alternos. Y según los resultados de la literatura, las microdosis de rHuEpo producen el mismo efecto que dosis altas de EPO y tienen una corta ventana de detección (12-18h), lo que resulta indetectable en los controles anti-doping, convirtiéndose en un nuevo método utilizado por los atletas de dopaje. El objetivo que se planteó en este estudio fue valorar si las microdosis de eritropoyetina tenían un efecto positivo sobre el rendimiento de los atletas, aún teniendo riesgos para la salud.

3. PROCEDIMIENTO DE REVISIÓN (MERTODOLOGÍA).

3.1. BÚSQUEDA EN LA LITERATURA

Se realizó una revisión sistemática siguiendo las pautas de Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Metaanálisis (PRISMA) (Moher et al. 2009). Realizamos la búsqueda bibliográfica en las bases de datos PubMed y Web of Science hasta marzo de 2021 utilizando los siguientes términos y operadores booleanos "AND", "OR": ("rHuEpo" OR "erythropoietin" OR "Epo" OR "Erythropoietin Microdoses") AND ("performance" OR "exercise" OR "resistance" OR "cardiorespiratory" OR "oxygen uptake" OR "VO₂max" OR "submaximal effort" OR "maximal effort") AND ("doping" OR "anti-doping" OR "prohibited substances" OR "hormone") AND ("Athletes" OR "cycling" OR "Healthy Volunteers" OR "active" OR "endurance" OR "Triathlete" OR "Healthy" OR "Sedentary") AND ("Detection" OR "Samples" OR "Test" OR "Blood Doping" OR "Transfusion" OR "Blood Passport" OR "Injections" OR "Hematology" OR "Effects" OR "Cognitive" OR "doses"). Las búsquedas se limitaron a artículos publicados en inglés. Además, se realizó una búsqueda en Google Scholar para identificar estudios no publicados que cumplieran los criterios de inclusión.

3.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Los criterios de inclusión para considerar cualquier estudio fueron los que informaron sobre: 1) Ensayos de control aleatorizados (ECA) y ensayos de control no aleatorizados (no ECA), incluidos estudios experimentales y estudios observacionales (estudios transversales, de casos y controles y de cohortes) que exploran una intervención para mejorar el rendimiento en el ejercicio; 2) Publicado como investigación original y texto completo; 3) Atletas sanos; 4) Participantes \geq 18 años de edad; 5) Sin restricciones de género, etnia y duración del seguimiento; 6) Solo participantes humanos.

Los criterios de exclusión para los estudios seleccionados fueron: 1) Participantes con problemas de movilidad, poblaciones enfermas; 2) Estudios en animales; 3) Literatura en lengua no inglesa; 4) Estudios duplicados en bases de datos. En esta revisión, los criterios de inclusión y exclusión se aplicaron a todos los estudios relevantes para seleccionar los informes para el análisis.

3.3. SELECCIÓN DE ESTUDIOS

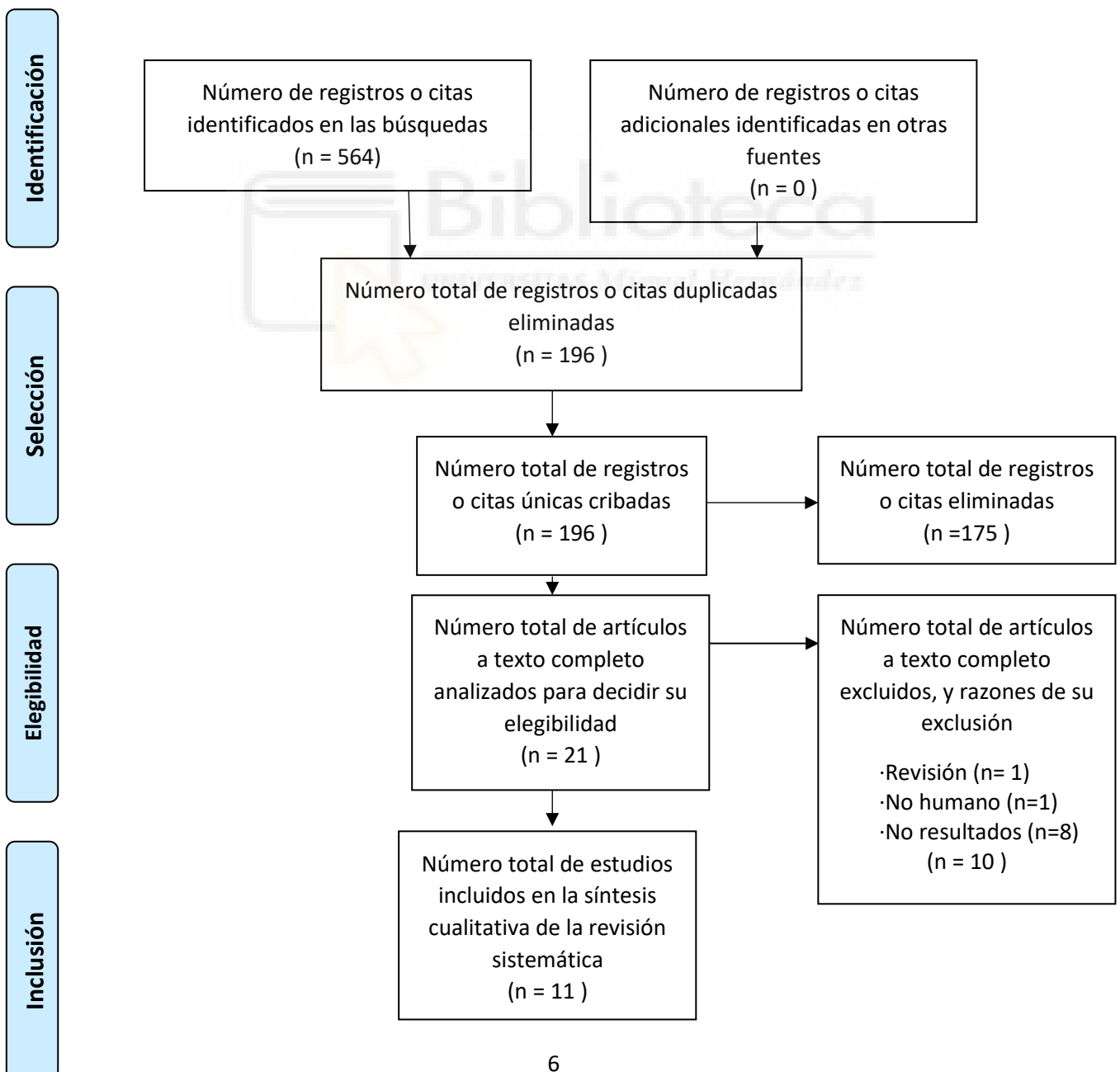
La figura 1 resume el proceso de selección de estudios. En la búsqueda inicial se obtuvo 199 publicaciones de Pubmed y 365 publicaciones de Web of Science, un total de 564 publicaciones. Después de identificar las publicaciones duplicadas, nos quedamos con 196 publicaciones. De estas se eligieron 21 publicaciones las cuales tratan del tema identificado. Al final, eliminamos 5 ya que no cumplían con los criterios de inclusión, por lo que nos quedamos con 16 publicaciones finalmente.

3.4. CARACTERÍSTICAS DE LA EXTRACCIÓN DE DATOS Y CÓDIGOS DEL ESTUDIO

La información que se extrajo de los estudios incluidos fue: 1) Año de publicación y autores, 2) Administración de dosis, 3) Duración, 4) Sujetos, 5) Diseño del estudio, 6) Variables, 7) Resultados

3.5. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD METODOLÓGICA

Figura 1. Diagrama de flujo que muestra el proceso de identificación, selección, evaluación de elegibilidad e inclusión de artículos finales para revisión.



4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA (DESARROLLO)

4.1. RESULTADOS

Se realizó una descripción de los efectos de las microdosis de eritropoyetina sobre el rendimiento en el ejercicio (1), el rendimiento cognitivo (2) y el efecto de las microdosis después de una hidratación elevada (3). En la presente sección, se resumen estos hallazgos.

4.1.1. Efectos sobre el rendimiento en el ejercicio de microdosis de rHbEPO

En un ensayo aleatorio cruzado, Sutell et al., 2018, evaluaron los efectos sobre el consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}) y capacidad de repetir sprint (RSA) en 14 hombres entrenados en resistencia, mediante una prueba incremental de oxígeno y una prueba de RSA antes del inicio y al final del estudio. Cada participante recibió una inyección subcutánea con microdosis de rHuEpo (20 y 40 UI/kg) o placebo dos veces por semana durante 7 semanas. El régimen de inyección implicó 20 UI/Kg dosis en las semanas 3 y 9, 30 UI/Kg dosis en las semanas 4 y 8; y 40 UI/Kg en las semanas 5, 6 y 7. Además cada participante recibió comprimidos diarios de hierro (105 g) o de lactosa (placebo). Paralelamente, 11 hombres entrenados se sometieron a reinhalación de CO o de placebo. Los resultados revelaron que hubo un aumento significativo en un 3,9% en el VO_{2max} en el ensayo de rHuEpo y una reducción significativa en un 4,8% después de reinhalación de CO en comparación con el placebo, sin diferencias significativas en la frecuencia cardíaca (FC). El VO_{2max} en el que se alcanzó el umbral ventilatorio (VT) no cambió con la administración de rHuEpo, por el contrario, con la reinhalación de CO resultó una reducción del 4,7%. La masa de hemoglobina aumentó significativamente desde el valor inicial hasta 24 días después de la administración de rHuEpo, lo que resultó un aumento del 14,2% en comparación con la línea base. Tras el cese de la suplementación con rHuEpo, la tHB mass permaneció elevada. Después de completar la prueba RSA hubo un pH más alto después de la administración. También una tendencia a menor lactato en sangre después de la administración de rHuEpo a lo largo de la prueba de RSA.

Así mismo, en un ensayo clínico no aleatorizado, Ashenden et al., 2006, evaluó el efecto de las microdosis de rHuEpo en 2 varones bien entrenados a los cuales se les administró 260 UI/Kg junto con hierro intravenoso (100 mg) durante 3 semanas. Durante las dos primeras semanas fueron altas dosis y la siguiente semana microdosis que fue un 10% menos de la dosis inicial. Los resultados mostraron que la concentración de Hemoglobina aumento de 140 a 166g/L; 148 a 174 g/L; sujetos 1 y 2 respectivamente. Y los porcentajes de reticulocitos variaron de 0,8% al 1,2% y del 0,4% al 1,1% para ambos sujetos. Lo que supuso un aumento en la capacidad de transporte de oxígeno y el rendimiento en resistencia.

Clark et al., 2017, es un diseño aleatorizado controlado con doble placebo ciego, investigaron los cambios temporales en la fisiología y hematología en respuesta a dosis altas y microdosis de EPO mediante una prueba de ejercicio graduada hasta el agotamiento en un cicloergómetro calibrado dinámicamente personalizado o una cinta de correr monitorizada, la prueba de ciclismo comenzó con un minuto a 100W para hombres y 50 W para mujeres, con una producción de potencia aumentada en 25W cada minuto hasta el agotamiento; y la prueba en cinta comenzó a 7km/h para mujeres y a 9km/h para hombres. Para ello, cogieron a 24 sujetos (19 hombres y 5 mujeres) y los dividieron en tres grupos. Al grupo uno le administró 250 UI/KG de EPO (dosis altas), al grupo dos 10 UI/Kg y al grupo tres, 15 UI/Kg combinada, tres veces a la semana más 100 mg de hierro intravenoso a todos los grupos. Los resultados mostraron un aumento de la hemoglobina y hematocrito; y un descenso en el porcentaje de reticulocitos, lo que aumento el consumo máximo de oxígeno y se redujo la concentración de lactato, sin cambios en la frecuencia cardíaca. Esto indicó que las microdosis de mantenimiento de rHuEpo son suficientes para mantener las adaptaciones y las mejoras del rendimiento después de la administración de altas dosis de rHuEpo.

También, en un estudio aleatorizado cruzado, doble ciego y controlado con placebo, Robach et al., 2021, investigaron el papel de la eritroferona como regulador fisiológico de eritroides en humanos y con ello el efecto de las microdosis de rHuEpo. Para ello, 24 hombres recibieron seis inyecciones de solución salina, rHuEpo de 20 UI/Kg o 50 UI/Kg. Y en segundo lugar 22 sujetos fueron expuestos a gran altitud durante 15 horas. Los resultados mostraron que con la administración de microdosis de rHuEpo aumento la masa de hemoglobina en comparación con el placebo y los niveles de ERFE mejoraron con rHuEpo, y con ello el consumo máximo de oxígeno. Por lo que los resultados muestran que en humanos sanos ERFE responde a niveles de EPO, por lo que es un prometedor biomarcador antidopaje.

Marchand et al., 2019, en un estudio aleatorizado en bloques, quisieron evaluar si la hormona del crecimiento tenía efectos adicionales en comparación con el tratamiento de EPO sola. Para ello, 8 varones recibieron seis inyecciones subcutáneas de microdosis, 10 UI/Kg durante dos semanas, tres veces por semana; y otros 8 varones recibieron las mismas microdosis, pero con hormona del crecimiento (GH) pero una vez cada 2-3 días. Ambos grupos tomaron suplementos orales de hierro y vitaminas (105 mg/ 500 mg). Realizaron una prueba de ejercicio antes del tratamiento y después de las dos semanas de la administración. Los resultados mostraron un aumento similar en ambos grupos, con aumento de la hemoglobina para EPO de 14.7 a 15 y para EPO +GH de 14.4 a 14.8, mientras que el % de reticulocitos pasó de 0.93 a 0.60 en EPO y de 0.96 a 0.7 en EPO+GH.

Bejder et al., 2020, utilizando un diseño aleatorizado doble ciego controlado con placebo, investigaron si en dos semanas con inyecciones subcutáneas tres veces por semana de 50 UI/KG (dosis bajas) o 20 UI/Kg (microdosis) aumentaban los niveles de cFGF23 en 24 hombres sanos. Los resultados mostraron que el Cfgf23 no es sensible a dosis bajas de rhEPO. El grupo de microdosis tuvo una media de cFGF23 de 23-24 RU/ml y el grupo de dosis bajas tuvo una media de 23 RU/ml.

También varios autores como Ashenen et al., 2011, en un estudio aleatorizado controlado buscaron con un tratamiento prolongado con microdosis de rHuEpo aumentar la masa de hemoglobina evitando grandes fluctuaciones en la producción de reticulocitos para ver si se activaban los umbrales del pasaporte biológico y lo marcaban como dopaje, realizando un entrenamiento de resistencia regular. Para cogieron a 10 varones sanos y les administraron en una primera fase 10 UI/Kg, 20 UI/Kg en la segunda fase y, por último, 40 UI/Kg a tres sujetos durante cuatro semanas. Los resultados mostraron un aumento constante en la masa de hemoglobina, lo cual produjo un aumento en el consumo máximo de oxígeno, pero sin alcanzar significación estadística, y el % de reticulocitos tendió a aumentar durante la fase I, pero al final del tratamiento se mantuvo sin cambios. Estos hallazgos demuestran que es posible inyectar rHuEpo sin activar los umbrales del pasaporte biológico.

-Así mismo, Wang et al., 2017, en un estudio aleatorizado ciego controlado con doble placebo, también buscaron aumentar la masa de hemoglobina evitando grandes fluctuaciones en el porcentaje de reticulocitos, mediante un régimen de microdosis. Este estudio requirió 14 varones sanos entrenados en resistencia, a los que se les inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante siete semanas una dosis de 20 a 40 UI/Kg. Los resultados mostraron un aumento de la hemoglobina evitando grandes fluctuaciones del porcentaje de reticulocitos, y con ello aumento del consumo máximo de oxígeno.

Por otra parte, algunos autores mostraron los efectos de las microdosis de eritropoyetina, investigando paralelamente si los marcadores de dopaje de la eritropoyetina podían confundirse con el entrenamiento a nivel del mar y en altitud. En un estudio aleatorizado cruzado, doble ciego y controlado con placebo, Wang et al., 2017, evaluaron si se podían detectar microdosis de rHuEpo y si estos marcadores podían confundirse con el entrenamiento a nivel del mar y entrenamiento en altitud, mostrando con ello el efecto de las microdosis de rHuEpo.

Para ello realizaron una prueba de Wingate modificada que comprendió de 10 sprint de 10 segundos al inicio del estudio y la semana siguiente de la finalización; 14 varones entrenados en resistencia recibieron 20-40 UI/Kg en inyecciones subcutáneas de rHuEpo o solución salina equivalente dos veces por semanas durante 7 semanas. Además, todos los sujetos recibieron 105 mg de hierro elemental de 350mg de sulfato ferroso seco, mientras que la lactosa sustituyó al hierro durante el ensayo con placebo. Todos los sujetos fueron sometidos a una prueba de wingate modificada con 10 sprint de 10 s. Paralelamente, 21 corredores de resistencia élite (12 hombres y 9 mujeres), divididos en dos grupos de 12 y 9 fueron entrenados un grupo a nivel del mar y otro en altitud, a los que se unieron 4 remeros élite. Antes y después de la exposición a la altitud los atletas permanecieron en una cámara hipóxica. Los resultados mostraron que tanto la concentración de hemoglobina como el % de hematocrito aumentaron gradualmente durante la administración de rHuEpo en relación con los valores iniciales y alcanzaron su máximo tras una semana después de la inyección, y ello llevó a un aumento en el transporte de oxígeno y rendimiento en resistencia. Durante la altitud hubo una disminución significativa en la hemoglobina y un aumento en el % de reticulocitos. Asimismo, se demostró que los marcadores genéticos se expresaron diferencialmente con la administración de rHuEpo y el entrenamiento en altitud, lo cual proporcionan una ventana de detección mejorada para las microdosis de rHuEpo.

4.1.2.Efecto sobre el rendimiento cognitivo de microdosis de rhEPO

En un estudio aleatorizado de doble ciego controlado con placebo, Lundgaard et al., 2017, examinaron si las microdosis de rHuEpo mejoran el rendimiento cognitivo en voluntarios sanos, por lo que realizaron una evaluación cognitiva antes y después del estudio que constaba de una prueba de Raven y de buscador de números. Para ello, seleccionaron a 25 hombres sanos. A 8 sujetos le administraron 60 UI/Kg/ semana, a 9 sujetos 20 UI/Kg/ semana y a 8 sujetos solución salina, durante cuatro semanas. Los resultados mostraron que los sujetos que recibieron microdosis mejoraron significativamente la puntuación de Raven (Raven, 1976), y los sujetos que recibieron dosis bajas mejoraron la puntuación en buscador de números, mientras que no se encontró ninguna mejora en el rendimiento cognitivo en cualquiera de los grupos, pero si en algunos un mejor nivel de energía, atención al concentrarse y capacidad para mantener el enfoque en la tarea.

4.1.3.Efecto de microdosis de rhEPO tras una hidratación elevada

Martin et al.,2016, en un estudio experimental buscaron investigar si la detección de una inyección de microdosis de rhEPO se veía afectada al beber gran cantidad de agua, por lo que bebieron 1L de agua después de la inyección de las dosis. Para ello reclutaron 20 varones para un primer protocolo y 12 para el segundo. En el primero protocolo se administró un tratamiento inicial de tres semanas con 30 UI/Kg tres veces por semana, más 100mg de hierro al día. Los sujetos recibieron una inyección intravenosa de microdosis de 11 UI/Kg en el primer protocolo y de 6,5 UI/Kg y 11 UI/Kg en el segundo. Los resultados mostraron un aumento de la hemoglobina que pasó de 14.4 a 15.5 y con ello el consumo máximo de oxígeno; y una disminución del porcentaje de reticulocitos. Aunque el agua disminuyó la gravedad específica media, la ingesta de agua no tuvo un efecto de dilución apreciable en las concentraciones plasmáticas de EPO plasmática, lo cual no afectaba al rendimiento.

Un resumen de todos estos resultados se puede ver en la tabla en anexo al punto 9.1. de este trabajo de fin de grado.

5.DISCUSIÓN

El propósito de esta revisión sistemática fue resumir la evidencia sobre los efectos de las microdosis de eritropoyetina en el rendimiento del ejercicio. De los estudios revisados anteriormente, parece que las microdosis de rhEPO

Los estudios anteriores que evaluaron los efectos de las microdosis de rhEPO mostraron que con la administración de microdosis se consiguen efectos similares que con dosis altas. Sutehall et al., 2018, mostraron en su estudio que después de la administración de microdosis aumentó la masa de hemoglobina significativamente, el VO_2 máx tras una prueba incremental de oxígeno y hubo una menor tendencia de lactato en una prueba de RSA. Lo que parece que no cambió fue el umbral ventilatorio donde se alcanzaba el VO_2 máx. Ashenden et al., 2006, también quisieron probar los efectos de las microdosis de rhEPO, cuyos resultados también mostraron un aumento de la hemoglobina y una reducción del porcentaje de reticulocitos, en este estudio no especificaron la cantidad de las microdosis para que los atletas no la tomaran de referencia, pero sí que fue un 10% menos de la dosis inicial.

También se investigaron los cambios temporales en la fisiología y hematología en respuesta a las microdosis de rhEPO. Clark et al., 2017, tras un periodo de administración de dosis altas de eritropoyetina, mediante una prueba de ejercicio graduada, mostraron que con la administración de microdosis de mantenimiento después de dosis altas, es suficiente para mantener las adaptaciones y mejoras producidas en la primera administración de dosis altas, como fueron un aumento de la hemoglobina y hematocrito; y el descenso en el porcentaje de reticulocitos.

Otros estudios que investigaron el papel de la eritroferrona (ERFE) como regulador fisiológico, Robach et al., 2021, mediante la administración de microdosis de rHuEpo, mostraron un aumento en la hemoglobina. Y respondiendo a ello los niveles de ERFE mejoraron. Esto sirvió también como un prometedor biomarcador antidopaje ya que los humanos sanos con ERFE responden a los niveles de EPO.

Marchand et al., 2019, y Bejder et al., 2020, quisieron probar si las microdosis de rhEPO tenían efectos adicionales con la combinación de la hormona del crecimiento, y si aumentaban los niveles del cFGF23 respectivamente. Los resultados concluyeron que bajas dosis de EPO no son sensibles al cFGF23 y que no tienen un efecto adicional con la combinación de la hormona del crecimiento ya que los resultados de la hemoglobina y reticulocitos era similar en ambos, además de que el factor de crecimiento de fibroblastos no cambió con las microdosis de rhEPO.

Las microdosis de rhEPO pueden aumentar la masa de hemoglobina evitando grandes fluctuaciones en el porcentaje de reticulocitos. Así lo demostraron Ashenden et al., 2011, y Wang et al., 2017. Por otra parte, Wang et al., 2017, investigó si los marcadores de las microdosis de rhEPO podían confundirse con el entrenamiento en el mar y en altitud. Una vez más, se produjo un aumento de la hemoglobina y hematocrito, demostrando que los marcadores genéticos se expresan diferentes a los del entrenamiento en altitud y a nivel del mar.

Otros efectos que parecen tener las microdosis de eritropoyetina es sobre el rendimiento cognitivo. Lundgaard et al., 2017, mostraron que los sujetos que recibieron microdosis de rhEPO mejoraron significativamente en la prueba de Raven y en la prueba de puntuación de números, que son pruebas que evalúan el rendimiento cognitivo. También se mejoró el nivel de energía, atención al concentrarse y capacidad para mantener el enfoque en la tarea, lo que resulta beneficio en los atletas de resistencia ya que la mayoría de los entrenamientos y pruebas de resistencia son muy duras y se necesita mantener el nivel de atención alto para mejorar.

Por último, se investigó, Martin et al., 2016, si una ingesta elevada de agua tenía algún efecto tras la administración de las microdosis en el rendimiento, y ayudaba a no detectarla en controles antidopajes. Los resultados indicaron que, aunque el agua disminuyó la gravedad específica de las dosis, no tuvo ningún efecto de dilución apreciable, lo cual no afectaba al rendimiento del sujeto.

Actualmente, hay una falta de estudios que investiguen los efectos de las microdosis de rHuEpo en el rendimiento del ejercicio, ya que en la presente revisión sistemática solo se

incluyeron once artículos y algunos no trataban específicamente de los efectos de las microdosis de rhEPO, sino que investigaban otras cosas aparte, pero utilizando la administración de las microdosis, lo cual nos servía ya que se mostraban también los efectos de estas. Esto es así, ya que el dopaje con microdosis de rHuEpo ha surgido como un nuevo método que parece indetectable en los atletas y que como queremos demostrar en la presente revisión mejora el rendimiento.

Hay poca evidencia científica que demuestre que este nuevo método mejora el rendimiento, y que además con la corta ventana de detección resulte indetectable. Esto es así ya que los atletas de nivel no se prestan a realizar ensayo los cuales implique doparse aun siendo consentido solo para el estudio. Y que en el caso de que se demuestre totalmente que mejora el rendimiento y es indetectable, no se muestran las dosis específicas en los estudios para que no sirva a atletas.

Por lo que para estudios futuros sería interesante investigar más acerca de este nuevo método indetectable de dopaje, para que así se puedan obtener más datos y recursos para detectarlo, y los atletas no lo utilicen en su beneficio incumpliendo el espíritu olímpico.

Se subraya que la mayoría de los participantes eran hombres sanos entrenados en resistencia, exceptuando a un grupo reducido de mujeres sanas también entrenadas en resistencia que participaron en el estudio.

6. CONCLUSIÓN

A pesar de la muestra relativamente limitada de artículos, este trabajo destaca la necesidad de investigar el efecto de las microdosis de rHuEpo en el rendimiento físico. Parece que la administración de microdosis de rHuEpo aumenta la concentración de hemoglobina, hematocrito y disminuye el porcentaje de reticulocitos. Además, aumenta el VO₂máx, aunque esto no está tan claro. También parece tener un efecto sobre el rendimiento cognitivo que favorece a los atletas.

Más estudios deberían evaluar los efectos de microdosis de rHuEpo en deportistas de primer nivel; sin embargo, no sería ético ya que estas favorecen el rendimiento y partirían con ventajas respecto a los demás competidores. Otro campo de interés podría ser las interacciones entre microdosis de rHuEpo y otras sustancias utilizadas por los deportistas, prohibidas o no. Finalmente, sería interesante evaluar como la genética impacta en diferentes respuestas entre sujetos a la administración de microdosis de rHuEpo. Por último, se justifica un enfoque más riguroso en los aspectos metodológicos, incluso si en el campo del dopaje se deben considerar las dificultades para realizar estos estudios.

7. IMPLICACIONES PRÁCTICAS

En cuanto a la propuesta de intervención que se plantea, sería importante influenciar a los estudiantes sobre el riesgo que conlleva el dopaje para la salud con cualquier sustancia que se considere prohibida. Es importante concienciar a atletas, estudiantes y población en general sobre estos riesgos, para ello, una buena acción de prevención sería realizar seminarios y charlas sobre los riesgos que suponen para la salud las sustancias dopantes, ya que desde la parte de graduados de ciencias de la actividad física y el deporte no se pueden hacer otras cosas respecto a ello.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Ashenden, Michael, Clare E. Gough, Andrew Garnham, Christopher J. Gore, and Ken Sharpe. 2011. "Current Markers of the Athlete Blood Passport Do Not Flag Microdose EPO Doping." *European Journal of Applied Physiology* 111(9):2307–14. doi: 10.1007/s00421-011-1867-6.
- Ashenden, Michael, Ken Sharpe, Andrew Garnham, and Christopher J. Gore. 2012. "Evaluation of the MAIIA Dipstick Test to Detect Recombinant Human Erythropoietin in Plasma." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 67–68:123–28. doi: 10.1016/j.jpba.2012.04.025.
- Bejder, Jacob, Paul Robach, Anne Kristine Lundby, Catherine Cornu, Pierre Sallet, Gaetano Cairo, and Carsten Lundby. 2020. "Low Doses of Recombinant Human Erythropoietin Does Not Affect C-Terminal FGF23 in Healthy Men." *Drug Testing and Analysis* 12(7):975–79. doi: 10.1002/dta.2795.
- Cacic, Daniel Limi, Tor Hervig, and Jerard Seghatchian. 2013. "Blood Doping: The Flip Side of Transfusion and Transfusion Alternatives." *Transfusion and Apheresis Science* 49(1):90–94. doi: 10.1016/j.transci.2013.05.014.
- Gertz, Morie A. 2005. "Cold Agglutinin Disease Fe Rra Ta St or Ti Fo u Fe Rra Ta St or Ti Fo U." 91(4):439–41.
- Heuberger, Jules A. A. C., and Adam F. Cohen. 2019. "Review of WADA Prohibited Substances: Limited Evidence for Performance-Enhancing Effects." *Sports Medicine* 49(4):525–39. doi: 10.1007/s40279-018-1014-1.
- Lamers, Robert Jan A. N., Arie F. M. De Jong, José M. López-Gutiérrez, and J. M. Gómez-Guzmán. 2013. "Iodine-129 Microdosing for Protein and Peptide Drug Development: Erythropoietin as a Case Study." *Bioanalysis* 5(1):53–63. doi: 10.4155/bio.12.297.
- Marchand, Alexandre, Jean Antoine Martin, David Collot, Olivier Hoang, Ingrid Roulland, Florian Semence, Pierre Edouard Sottas, Michel Audran, and Emmanuelle Varlet-Marie. 2019. "Combined Administration of Microdoses of Growth Hormone and Erythropoietin: Effects on Performance and Evaluation of GH Detection Capability Using Anti-Doping Methods." *Drug Testing and Analysis* 11(11–12):1698–1713. doi: 10.1002/dta.2674.
- Martin, L., M. Ashenden, J. Bejder, M. Hoffmann, N. Nordsborg, K. Karstoft, J. Morkeberg, K. Sharpe, F. Lasne, and A. Marchand. 2016. "New Insights for Identification of Doping with Recombinant Human Erythropoietin Micro-Doses after High Hydration." *Drug Testing and Analysis* 8(11–12):1119–30. doi: 10.1002/dta.2004.
- Martin, Laurent, Jean Antoine Martin, David Collot, Olivier Hoang, Michel Audran, Magnus Ericsson, and Alexandre Marchand. 2021. "Improved Detection Methods Significantly Increase the Detection Window for EPO Microdoses." *Drug Testing and Analysis* 13(1):101–12. doi: 10.1002/dta.2904.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G., The PRISMA Group (2009). "Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement." *PLoS Medicine* 6(7): e1000097. doi: 10.1371/journal.pmed.1000097.
- Mørkeberg, J., K. Sharpe, K. Karstoft, and M. J. Ashenden. 2014. "Detection of Microdoses of RhEPO with the MAIIA Test." *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* 24(4):634–41. doi: 10.1111/sms.12049.
- Paul Robach, Elena Gammella, Stefania Recalcati, Domenico Girelli, Annalisa Castagna, Matthieu Roustit, Carsten Lundby, Anne-Kristine Lundby, Pierre Bouzat, Samuel Vergès, Guillaume Séchaud, Pierluigi Banco, Mario Uhr, Catherine Cornu, Pierre Sallet, and

- Gaetano Cairo. 2020. "Induction of Erythroferrone in Healthy Humans by Micro-Dose Recombinant Erythropoietin or High-Altitude Exposure." *Haematologica* 106(2):384–90. doi: 10.3324/haematol.2019.233874.
- Raven, J.C. (1976). Test de matrices progresivas. Paidós.
- Sgrò, Paolo, Massimiliano Sansone, Andrea Sansone, Francesco Romanelli, and Luigi Di Luigi. 2018. "Effects of Erythropoietin Abuse on Exercise Performance." *Physician and Sportsmedicine* 46(1):105–15. doi: 10.1080/00913847.2018.1402663.
- Summary, Executive, Sport Report, Testing Authority Report, and A. B. P. Report-blood Analysis. 2019. "2019 Anti-Doping Testing." 8:2–8.
- Sutehall, Shaun, Marcos Martin-Rincon, Guan Wang, Jonathan Shurlock, Jérôme Durussel, Martin Mooses, Jun Wang, and Yannis P. Pitsiladis. 2018. "The Performance Effects of Microdose Recombinant Human Erythropoietin Administration and Carbon Monoxide Rebreathing." *Current Sports Medicine Reports* 17(12):457–66. doi: 10.1249/JSR.0000000000000551.
- Viuff, Søren Lundgaard, Ulla Plenge, Bo Belhage, Robert Boushel, and Thomas Koester. 2017. "Effects of Low-Dose Recombinant Human Erythropoietin Treatment on Cognitive Performance." *Danish Medical Journal* 64(9):1–5.
- Wang, Guan, Jérôme Durussel, Jonathan Shurlock, Martin Mooses, Noriyuki Fuku, Georgie Bruinvels, Charles Pedlar, Richard Burden, Andrew Murray, Brendan Yee, Anne Keenan, John D. McClure, Pierre Edouard Sottas, and Yannis P. Pitsiladis. 2017. "Validation of Whole-Blood Transcriptome Signature during Microdose Recombinant Human Erythropoietin (RHuEpo) Administration." *BMC Genomics* 18(Suppl 8). doi: 10.1186/s12864-017-4191-7.
- Wang, Guan, Antonia Karanikolou, Ioanna Verdouka, Theodore Friedmann, and Yannis Pitsiladis. 2017. "Next Generation 'Omics' Approaches in the 'Fight' against Blood Doping." *Medicine and Sport Science* 62:119–28. doi: 10.1159/000470919.
- World Anti Doping Agency. 2021. "The 2021 WADA Prohibited List." *World Anti-Doping (JA)*:1–24. Recuperado de: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2021list_en.pdf

9. ANEXOS

9.1. TABLA RESULTADOS

Autores y año publicación	Administración de las dosis	Duración	Sujetos	Diseño del estudio	Variabes	Resultados
Sutehall et al. (2018)	(1)20 UI/Kg dos veces semana (semanas 3 y 9) 30 UI/Kg dos veces semana (4 y 8) 40 UI/Kg dos veces semana (semana 5-6 y 7) 105g de hierro o lactosa diario (2)Re-inhalación de CO o placebo	7 semanas	14 hombres (EPO) 11 hombres (CO)	Ensayo aleatorio cruzado	Masa tHB VO2máx RSA	VO2máx: aumento 3.9% con EPO; reducción de 4.8% con CO Masa tHB: de 13 a 14.4 g/kg RSA: ph de 7.1 a 7.2; reducción del lactato de 10.7 a 9.1 y aumento de potasio 3.7 a 4.1
Wang et al. (2017)	20-40 UI/Kg o solución salina equivalente dos veces a la semana durante 7 semanas + 150 mg de hierro diario	4 semanas	39 (14 hombres entrenado + 21 corredores (19 hombres y 5 mujeres + 4 remeros hombres)	Estudio aleatorio controlado con doble placebo ciego	Hemoglobina (Hg) % reticulocitos	Aumento significativo del hemoglobina y reticulocitos
Robach et al. (2021)	(1)20-50 UI/Kg los días 0,2,4,7,9 y 11	2 semanas	24 hombres (EPO) 22 hombres (altitud)	Estudio aleatorizado doble ciego y controlado con placebo	Hemoglobina (HB) Hematocrito (Hct)	Hb: de 151 a 157 g/l en EPO20 154 a 164 g/l en EPO 50 Hct: de 44.3 a 45.8% EPO20
Ashenden et al. (2006)	260 IU/Kg en los días 0,2,4,7,9 y 11 + 100mg de hierro IV	3 semanas	2 hombres	Ensayo clínico no aleatorizado	Hemoglobina (Hb) Reticulocitos	Hb: de 140 a 166g/l sujeto 1 y 148 a 174 g/l sujeto 2 Reticulocitos: de 0.8 al 1.2% y del 0.4 al 1.1%

Marchand et al. (2019)	Grupo A (EPO): 10 UI/Kg 3 veces por semana Grupo B (EPO+GH): 10 UI/Kg una vez cada 2-3 días + 2UI/Kg de GH una vez cada 2-3 días + 105 mg de hierro, 500 vitamina C y 250ug B12	2 semanas	EPO: 8 hombres EPO+GH: 8 hombres	Método aleatorizado en bloques	Hemoglobina (Hg) Reticulocitos Hematocrito (Hct)	Hg: de 14.7 a 15 (EPO) De 14.4 a 14.8 (EPO+GH) Reticulocitos: de 0.93 a 0.60 (EPO) De 0.96 a 0.70 (EPO+GH)
Bejder et al. (2020)	20-50 UI/Kg los días 0,2,4,7,9 y 11	2 semanas	24 hombres	Diseño aleatorio doble ciego controlado con placebo	FGF23	Dosis bajas: 23-24 RU/ml Microdosis: 23 RU/ml
Lundgaard et al. (2017)	20-60 UI/Kg 3 días seguidos, posteriormente 2 veces por semana	4 semanas	25 hombres	Estudio aleatorizado doble ciego controlado con placebo	Puntuación Raven Buscador de números	Raven p= 0,04 Buscador número p= 0,047
Martin et al. (2016)	Protocolo 1: 11 UI/Kg Protocolo 2: 6,5 UI/Kg y 11 UI/Kg	3 semanas + 10 días lavado	1: 20 hombres 2: 12 hombres	Experimental	Hemoglobina (Hg) Reticulocitos	Hg: de 14.4 a 15.7 g/dl en grupo 1; y 3.67-12,10 UI/Kg grupo 2 Reticulocitos: de 0.81 a 0.57% en grupo 1
Clark et al. (2017)	Grupo 1: 250 UI/Kg tres veces a la semana Grupo 2: 10 UI/Kg tres veces semana, Grupo 3: 15UI/Kg tres veces por semana + 100 mg de hierro IV	2 semanas + 4 semanas de lavado	24 (19 hombres y 5 mujeres)	Diseño aleatorizado controlado con doble placebo ciego	Hemoglobina (Hg) Hematocrito (Hct) Reticulocitos (Ret)	Hg: de 2,28 a 2,82 g/dl Hct: de 0,84 a 0,71% Ret: de 0,84 a 0,97

Ashenen et al. (2011)	Fase I: 10 UI/Kg durante cuatro semanas Fase II y III: 20 UI/Kg durante cuatro semanas Fase IV y V: 40 UI/Kg tres sujetos	3 semanas	10 hombres	Diseño aleatorizado controlado	Hemoglobina % Reticulocitos	Hg: 976 140g Ret: 0,88% +- 0,26%
Wang et al. (2017)	20-40 UI/Kg dos veces por semana	7 semanas	14 hombres	Diseño aleatorizado controlado con doble placebo ciego	Hemoglobina % Reticulocitos	Aumento hemoglobina Mantenimiento reticulocitos

