

Incremento del Transporte de Oxígeno y Dopaje. Parte 1

Increment in the transport of Oxygen and Dopping. Part I

Dr. Roberto Socarrás Ojeda¹ ;Lic. Katia Soto Pérez² ;Dr. Mario Granda Fraga³

¹ Especialista de 1er Grado en Medicina del Deporte. MSc en Control Médico del Entrenamiento Deportivo. Investigador agregado.

² Licenciada en farmacia, MSc.

³ Especialista en 2do Grado en Medicina del Deporte. MSc en Control Médico del Entrenamiento Deportivo. Investigador auxiliar y Profesor Titular Adjunto. avlopez43@inder.cu

RESUMEN

El Máximo Consumo de Oxígeno (MVO_2) constituye un elemento de importancia singular en el deporte, vinculándose estrechamente con la concentración de hemoglobina (Hb) y el volumen sanguíneo, especialmente en los deportes de resistencia en los que estos factores se constituyen en determinantes para el rendimiento. El oxígeno es transportado fundamentalmente por la Hb contenida en los hematíes, las modificaciones en la cantidad de estos y en la concentración de Hb influyen de manera determinante en la cantidad de oxígeno que llega al músculo durante la actividad física. A partir de lo anterior se desarrollan alternativas para lograr el incremento en el transporte de oxígeno, buscando adaptaciones fisiológicas que aumenten la captación, transporte y ulterior liberación del oxígeno en los tejidos; ejemplifican lo antes expresado métodos de entrenamiento como los de altura e hipoxia simulada.

Palabras clave: Transportadores de oxígeno, HBOC, PFC, doping.

ABSTRACT

The Maximal Oxygen Uptake (MVO_2) constitutes an element of singular importance in sports, because its narrowly related with the concentration of hemoglobin (Hb) and the sanguine volume, specially in the sports of resistance in which ones these factors are determinants for the performance. The oxygen is transported fundamentally by the Hb contained in red cells, the modifications in its quantity and the concentration of Hb have a determinant influence in the quantity of oxygen cosumed by the muscle during physical activity. From this, many alternatives are in developing to achieve the increment in the transportation of oxygen, looking for physiological adaptations for increase the comprehension, transportation and ulterior liberation of oxygen in the differents tissues; the altitude training and simulated hyposia.

Keywords: Oxygen uptake, HBOC, PFC, doping.

INTRODUCCIÓN

El Máximo Consumo de Oxígeno (MVO_2) constituye un elemento de importancia singular en el deporte, vinculándose estrechamente con la concentración de hemoglobina (Hb) y el volumen sanguíneo, especialmente en los deportes de resistencia en los que estos factores se constituyen en determinantes para el rendimiento (1,2). El oxígeno es transportado fundamentalmente por la Hb contenida en los hematíes, las modificaciones en la cantidad de estos y en la concentración de Hb influyen de manera determinante en la cantidad de oxígeno que llega al músculo durante la actividad física (2). A partir de lo anterior se desarrollan alternativas para lograr el incremento en el transporte de oxígeno, buscando adaptaciones fisiológicas que aumenten la captación, transporte y ulterior liberación del oxígeno en los tejidos; ejemplifican lo antes expresado métodos de entrenamiento como los de altura e hipoxia simulada. Unidos a estos métodos surgen y se desarrollan otros con igual finalidad, algunos con aristas negativas para la salud del deportista y la pureza del deporte, métodos que asimilan los adelantos científicos en la solución de requerimientos terapéuticos de la práctica médica, incorporándolos en el deporte de un modo deshonesto e inescrupuloso en la mayoría de los casos, dejando un ligero margen a la "ingenuidad". Hablamos entonces del empleo de sustancias y métodos prohibidos en el deporte, orientados a mejorar el transporte de oxígeno a los tejidos y con ellos lograr un incremento en el rendimiento deportivo. Inicialmente fue usado el doping sanguíneo, conocido desde los años 70 del pasado siglo (3,4), evolucionando paralelamente a la investigación científica por encontrar sustitutos apropiados de la sangre o sus componentes, hasta llegar en nuestros días al potencial uso de sustitutos sanguíneos obtenidos mediante tecnología recombinante o el uso de animales transgénicos (5,6,7,8,9,10), se pone de manifiesto como en el ámbito deportivo son utilizados, de manera precoz, los avances que se logran en respuesta a necesidades terapéuticas de la práctica médica, ilustra esta aseveración la referencia de Breidbach y Catlin (11) sobre la confiscación de RSR13 en una carrera ciclística antes de que concluyeran los ensayos clínicos de este producto. Ante esta problemática se hace necesario el desarrollo de métodos de detección para los diversos productos que se van desarrollando y su inclusión en las listas de prohibiciones (11,12,13,14). Un acercamiento al tema, enfatizando en los riesgos que para la salud acarrearán y en las violaciones éticas que su empleo suscita, propicia el conocimiento necesario para desestimular el uso de métodos y productos prohibidos como estos y en algunos casos identificar los infractores, considerando en particular el potencial uso de los transportadores de oxígeno para el incremento del rendimiento deportivo.

Desarrollo

El empleo de sustancias y métodos prohibidos en el deporte tiene una larga historia, la sangre y sus derivados han sido incluidos en las listas de prohibiciones por su uso con fines de dopaje desde hace algunos años. De un modo resumido y cumplimentando un interés didáctico, relacionamos a continuación los factores asociados al incremento del transporte de oxígeno en que se puede expresar el empleo de sustancias o métodos prohibidos en el deporte.

Incremento en el Número de Hematíes

Transfusión de sangre o hematíes

Incremento en la producción de hematíes

Eritropoyetina (EPO)

II. Mejoradores artificiales de la captación, transporte o liberación de oxígeno.

Derivados de la hemoglobina (HBOC)

Infusión de hemoglobina libre

Hemoglobina "cross-linked"

Hemoglobina "cross-linked" y polimerizada.
Hemoglobinas conjugadas con macromoléculas.
Hemoglobina liposomal.
Hemoglobina recombinante
Hemoglobina humana transgénica
Modificadores alostéricos de la hemoglobina
Perfluorocarbonos (PFC)

I.1: Transfusión de sangre y hematíes

La primera transfusión de hematíes de que se tiene referencia se realizó en 1868, cuando se inyectó un hemolizado de hematíes, ello fue seguido de un cuadro de coagulación intavascular diseminada y de distrés respiratorio agudo (15). La transfusión de sangre total o de glóbulos, como se emplea en la actualidad es una medida terapéutica relativamente segura practicada universalmente (16).

Ante la aparición y proliferación de enfermedades de transmisión sanguínea, se ha desarrollado un especial interés en sustituir este proceder que posee numerosos inconvenientes para su empleo eficaz en la clínica y el deporte (16,17).

A partir de las observaciones de la disminución del rendimiento físico después de una pérdida o extracción de sangre, se experimentó para conocer si el aumento del volumen sanguíneo favorecería la distribución de una mayor cantidad de O₂ a los músculos durante el ejercicio y así mejorar la resistencia (1,2). Las investigaciones pusieron de manifiesto la relación existente entre el volumen sanguíneo, número de hematíes, concentración de Hb y MVO₂, conduciendo ello al uso de las transfusiones de sangre o hematíes en el deporte, inicialmente mediante la extracción, conservación y posterior administración al deportista, conocida la mejoría que este método produce sobre el rendimiento deportivo, especialmente en los deportes de resistencia (1,2,3,4).

La transfusión de sangre se define como la administración endovenosa de sangre u otros productos sanguíneos que contengan hematíes. Los productos pueden ser extraídos del propio atleta o extraída de otro individuo (17). La variante más utilizada para evitar las reacciones de incompatibilidad, conocida como autohemotransfusión, consiste en extraer al propio deportista de 1 a 4 unidades de sangre, equivalente cada una a 450 mililitros. Se conserva en forma de sangre entera o como concentrado de hematíes cuando se le extrae el plasma y es administrada después de superado el déficit inicial, el principal inconveniente está dado porque el deportista se mantiene entrenando en un estado de deficiencia o carencial (2,4,17,18). Para superar este inconveniente se utilizó la transfusión heteróloga, con la desventaja de la incompatibilidad y la transmisión de enfermedades fundamentalmente (17).

El doping sanguíneo fue definido clásicamente hace algunos años como *la administración a un atleta de sangre o productos sanguíneos que contengan hematíes, por razones distintas a las legítimamente médicas* (17,18) y prohibido por la Comisión Médica del Comité Olímpico Internacional (COI) a partir de su reunión efectuada en Seúl en el año 1986, introducido en la lista de prohibiciones dentro de la Clase de Métodos Prohibidos (3,18). Esta modificación fue también introducida en las correspondientes listas de Federaciones Internacionales como la de Ciclismo (UCI) y Atletismo (IAAF) (18). Se describen efectos perjudiciales de este método que pueden llegar a ser mortales ante grandes reinfusiones de sangre o hematíes, causados por modificaciones hemodinámicas tales como aumento del Hematocrito (Hto) y la viscosidad de la sangre, disminución de la velocidad del flujo sanguíneo, disminución del Gasto Cardíaco y disminución de la capacidad aerobia por descenso en el contenido periférico de O₂ (2,16)

I.2: Incremento en la Producción de Hematíes. Eritropoyetina

Como generalmente sucede, después de incluirse una sustancia o método en la lista de prohibiciones, nuevas alternativas son desarrolladas para obtener similar propósito, surgiendo y desarrollándose dentro del deporte el uso de la Eritropoyetina (EPO), una hormona peptídica que al incrementar la producción de glóbulos rojos propicia un incremento sustancial del transporte de oxígeno. La EPOrh ha demostrado ser eficaz para incrementar la concentración de Hb, el MVO₂ y la capacidad de trabajo físico (19,20), de ahí el abuso de EPO por parte de algunos atletas, especialmente en deportes de resistencia.

El descubrimiento de la eritropoyetina humana recombinante en 1984 revolucionó el tratamiento de la anemia en los pacientes portadores de Insuficiencia Renal Crónica, al estimular la producción de glóbulos rojos en los tejidos hematopoyéticos. Ha sido ampliamente usada en el tratamiento de la anemia en pacientes con SIDA, la anemia en el curso de quimioterapia para enfermedades malignas no mieloides, anemia del prematuro y otras (21,22). En el año 1990 la EPO fue prohibida por el COI e incluida en la lista de prohibiciones dentro de la clase de hormonas peptídicas hasta la actualidad (23), aun cuando no existían en ese momento métodos capaces de identificar de manera inequívoca el empleo de esta sustancia, a finales de esa década se describen variantes analíticas para detectar su uso en el deporte (3).

La EPO es probablemente más popular por los frecuentes y ampliamente difundidos escándalos sobre su uso en el deporte, particularmente en las grandes carreras ciclistas, que por sus maravillosos efectos en el tratamiento de las anemias. Demostró su eficacia para el incremento del rendimiento en deportes de resistencia pero también puso de relieve la asociación de su uso con numerosas muertes en deportistas activos (4,24)

Desde mediados de los 90, varias propuestas de parámetros hematológicos y biológicos para determinar el abuso de EPO fueron publicados (25,26,27); en el año 2000 se presentó por autores franceses una prueba que permitió identificar el empleo de EPOrh basado en el diferente patrón Inmunolectroforético (IEF) de las diversas glicofomas de EPOrh (28). A partir de esto, un protocolo de análisis de muestras de sangre y orina fue aprobado para llevar a cabo durante los Juegos Olímpicos de Sydney (28,29). Algunas modificaciones pueden ser observadas en sangre después de la administración de la EPO, propiciando algunas de estas la posibilidad indirecta de detección de su uso. Las mismas están dadas por el incremento en el número de hematíes, de las cifras de Hb y Hto y modificaciones en los niveles séricos de hierro y ferritina. Estos cambios constituyen desventajas para su empleo en el deporte al permitir identificar su uso (14,20,25,27). Cabe destacar entre los efectos adversos de la EPO y análogos se encuentran las complicaciones graves generadas por la hemoconcentración, destacables los fenómenos trombóticos, en clínica está indicada la suspensión del mismo cuando la Hb presenta incrementos mayores de 1 g/dl en dos semanas, de ahí la preocupación por su uso en el deporte en que además de carecer su empleo del necesario control médico, se utiliza en individuos con valores de Hb normalmente elevados. Otros efectos adversos observados son fatiga, edema, náusea, vómitos, diarrea, fiebre y disnea (22).

II: Mejoradores artificiales de la captación, transporte o liberación de oxígeno

El desarrollo de sustitutos de la sangre constituye una necesidad terapéutica en la práctica médica actual, provocado por las grandes limitaciones para obtener sangre

o sus derivados de donantes seguros a partir de la aparición y proliferación del SIDA y los grandes volúmenes requeridos por los servicios de urgencias y quirúrgicos fundamentalmente (30); de ahí la prioridad que posee en la actualidad el desarrollo de estos productos para su uso como transportadores de oxígeno. En estos momentos existen en distintas fases de experimentación o uso dos tipos de sustitutos de los hematíes (15,16):

Derivados de la Hemoglobina. Son los Transportadores de Oxígeno Basados

Emulsiones Perfluoroquímicas. Conocidos como Perfluorocarbonos (PFC).

Los HBOC junto a los PFC se convierten en variantes de transportadores de oxígeno con potencialidades para su uso dentro del deporte (14,31), de ahí su inclusión en la lista de prohibiciones del COI en 1999 (32), manteniendo su presencia en la lista actualmente vigente en la Categoría M1 clase b (23):

II.1 Derivados de la Hemoglobina

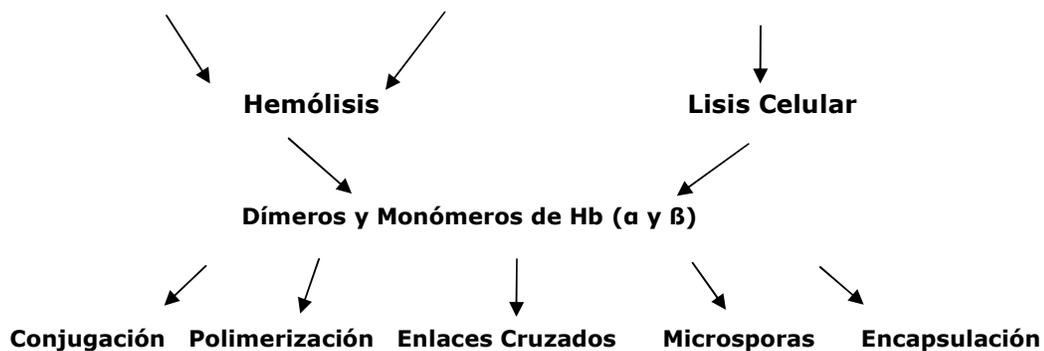
Como su denominación indica emplean la Hb como elemento principal, son compuestos basados en alguna forma de esta que es modificada químicamente para prevenir los efectos tóxicos resultantes de los niveles elevados de Hb libre en plasma, garantizando el transporte seguro y eficiente de oxígeno a los tejidos por parte de la Hb fuera del eritrocito (13,14). Los HBOCs van desde las modificaciones químicas de la Hb humana y animal hasta la obtención de Hb humana mediante tecnología recombinante o el uso de animales transgénicos (13,16). Los HBOC pudieran ser usados en deportes de resistencia para mejorar la capacidad de transporte de oxígeno por ser este uno de los factores limitantes del rendimiento en muchos de ellos. Se conocen estudios donde se compara la mayor captación de oxígeno y bajos niveles de lactato cuando se usa Hemopure comparado con una transfusión autóloga (31).

Reportes de prensa insisten desde hace algún tiempo en el empleo de productos de este tipo en el deporte, en alusión a confiscaciones de algunos de ellos en competiciones ciclísticas, particularmente Hemopure, Hemassist y RSR13 (11,33).

Inicialmente se utilizó la Hb libre, extraída de las células rojas sanguíneas (CRSs) debiendo sólo ser purificada y usada como sustituto de estas células. Los resultados preliminares de las investigaciones desarrolladas en la Fase I de ensayos clínicos, llevados a cabo en los años 1980, pusieron de manifiesto la toxicidad de la Hb altamente purificada y libre de estroma, provocando graves efectos adversos en el sistema cardiovascular y los riñones (34).

Las complicaciones se presentaban porque la Hb al ser infundida en el organismo es rota en dos mitades o dímeros; estos son rápidamente removidos de la circulación causando vasoconstricción y otras manifestaciones indeseadas. Los resultados de estos ensayos clínicos llevaron a la errónea conclusión de que la Hb en alguna forma podía ser tóxica y por tanto no podía ser usada como sustituto de las células rojas sanguíneas. A partir de aquí los esfuerzos se centraron en los Perfluorocarbonos y no en el desarrollo de modificaciones de la Hb para superar estas dificultades, retrasando así su evolución (31).

La Hb libre sin modificar está limitada para su uso por (13,35):



Las polihemoglobina y las hemoglobinas conjugadas fueron desarrolladas a partir de los años 1970 buscando alternativas para superar las limitaciones de la Hb libre de estroma (5,6,36), algunas de estas se encuentran en distintas fases de experimentación en pacientes de cirugía ortopédica, hemodiálisis, bypass coronario y angioplastias (37,38,39,40,41).

La Corporación Biopure produjo el Hemopure que se encuentra aprobado para su uso humano en Sudafrica desde el año 2001 y para uso veterinario en los Estados Unidos, fue desarrollado a base de Hb bovina. La P50 es mayor que la de la Hb humana y es estable a temperatura ambiente por más de un año (42,43,44). El Hemassist, logrado por Baxter, fue el primero de los HBOC en recibir autorización de la FDA de Estados Unidos para realizar ensayos clínicos en Fase III en 1996 para pacientes de cirugía electiva y afectados por traumas severos. Los ensayos fueron abandonados en 1998 por la elevada mortalidad en comparación con la incidencia esperada en el tratamiento de los pacientes críticos (42,44). Otra variante de modificaciones de la Hb son las hemoglobinas conjugadas desarrolladas a partir de la unión de la molécula a un polímero.

La hemoglobina encapsulada se produce rodeando la molécula de Hb con liposomas constituidos tanto por fosfolípidos no inmunogénicos como por fosfolípidos y grasas neutrales, con esto se logra la encapsulación de la Hb en una membrana lipídica, liposoma o nanocapsula biodegradable (5,6,7,8,9,10,30). A las pocas horas de su administración endovenosa, el 50 % de los liposomas se aclaran de la circulación por el sistema retículo endotelial del hígado y el bazo (45).

La Hemoglobina humana recombinante ha sido obtenida empleando bacterias, levaduras o plantas modificadas genéticamente. La capacidad de unión al oxígeno de este tipo de Hb es similar al de la Hb humana normal y tiene las ventajas de no necesitar sangre humana o animal como fuente para su obtención, la no transmisión de agentes infecciosos y el suministro ilimitado (37,46).

Recientemente se está empleando la ingeniería genética para la producción de Hemoglobina obtenida de animales transgénicos (ratas, cerdos) que puedan sintetizar Hb humana, lo que se logra a través de la introducción de genes de Hb humana en los huevos inmediatamente después de la fertilización. En estudios en cerdos transgénicos se ha observado que la Hb producida es estable y su producción se transmite a la próxima generación. A partir de la sangre del cerdo puede separarse la Hb humana de la animal por técnicas de cromatografía. (37,47). Las ventajas de los HBOC se fundamentan en las características siguientes:

Unido a las ventajas de los HBOC se han puesto de manifiesto algunos efectos adversos. Resulta inquietante que pueda proliferar su uso dentro del deporte sin

haberse establecido de un modo firme criterios de seguridad, inocuidad y dosis entre otros. Particular significación tiene lo anterior si a ello le añadimos que el deportista o las personas que lo inducen, recurren a la auto medicación por tratarse de un proceder ilegal, desestimando la condición de salud del deportista y criterios médicos para su empleo y control. La obtención de los productos es generalmente en un mercado ilícito; incrementando los riesgos implícitos en ello.

Se añade a lo planteado en el caso del deportista los efectos tóxicos del empleo de los HBOC siguientes (30,37,40,41):

Nefrotoxicidad: Provocada por el efecto de los detritos celulares, hierro y grupo hem libre en el proceso de aclaración de estos.

Efectos cardiovasculares. Por la unión de la molécula de Hb libre en plasma con el óxido nítrico del entotelio capilar, impidiendo su acción vasodilatador a ese nivel, esto provoca vasoconstricción, disminución del gasto cardíaco y el consecuente aumento de la tensión arterial.

Aumento en la generación de radicales tóxico. Debido a la liberación de radicales libres de oxígeno y superóxidos.

Aumento del riesgo de infección, Debido al hierro libre que al ser eliminado por el sistema retículo endotelial puede producir una saturación de este con disminución de la capacidad defensiva del organismo

II.2: Modificadores Alostéricos de la Hb

Incluimos en este grupo el RSR13 por constituir un modificador alostérico sintético de la Hb. La molécula de RSR es capaz de provocar una disminución de la afinidad de la Hb por el oxígeno, facilitando la liberación de este en los tejidos. Ha demostrado su eficacia en el tratamiento con radiaciones de las células tumorales en el cáncer metastático de cerebro al mejorar la oxigenación de estas (48). Ante su potencial uso en el deporte, métodos de detección han sido desarrollados y están disponibles (11).

II.3: Perfluorocarbonos

Los perfluorocarbonos (PFC) son productos sintéticos en los que los átomos de Hidrógeno son sustituidos por Fluor. Poseen una mayor solubilidad para el oxígeno que la sangre y son capaces de disolver volúmenes importantes de oxígeno y de restituirlo fácilmente a los tejidos (15,37,49). El oxígeno está disuelto en los PFC y no como sucede con la Hb en que el oxígeno esta unido a esta (15). La aplicación de estos productos fue documentada por Clark y Gollan (50) y a partir de entonces se comenzaron a producir emulsiones a escala de laboratorio (16). Después de la infusión intravascular, la emulsión se remueve de la circulación, inicialmente es retenida por las células fagocíticas del sistema retículo endotelial y posteriormente es eliminada en la espiración.

De modo general se pueden señalar las siguientes particularidades de estos productos (15,37,39)

Puede liberar grandes cantidades de oxígeno en los tejidos cuando el sujeto respira oxígeno al 100%.

Son excelentes solventes de los gases.

Poseen una corta vida media y esta es dosis dependiente

Poseen baja viscosidad, alta densidad y son químicamente inertes.

Son líquidos claros e inodoros

No son metabolizados in vivo y no se mezclan con el agua.

Son excretadas en la exhalación.

Tiene como efectos colaterales: rash cutáneo, cefalea, mialgias, fiebre ligera, disminución del recuento plaquetario de hasta un 15% que se normaliza en una semana. Pueden emplearse para el transporte de oxígeno a regiones vasculares distales con oclusiones parciales (IMA, trombosis o las crisis de la anemia drepanocítica) y para el transporte de oxígeno al interior de un tumor para aumentar el tratamiento subsecuente con radiaciones ionizantes y para profundir órganos para trasplante. Debido a que son inmiscibles en sangre y agua, deben emulsificarse para su uso intravascular. Algunos de estos poseen aplicaciones en estudios radiológicos por ser radiopacos.

Las desventajas de algunos fluorocarbonos están dadas por la necesidad de someter al paciente a un medio con alta concentración de oxígeno, lo que puede provocar toxicidad, el bloqueo potencial del sistema retículo endotelial con disminución temporal del aclaramiento de agentes patógenos, inestables a temperatura ambiente y su ineficacia para tratamiento de la anemia por su corta vida media (37,39). Las generaciones más recientes de PFC han logrado productos estables por un año a temperatura ambiente, esterilizables por vapor, rápidamente eliminados por el organismo y con una vida media de 4 días. Estos pueden ser útiles en la práctica médica como sustitutos temporales de los eritrocitos (37).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ekblom, B., Goldman, AN., Gullbring, B. Response to exercise after blood loss and reinfusion. *J Appl Physiol.* 1972; 40:175-180.
2. Respuestas y adaptaciones hematológicas al ejercicio físico. En *Manual de Medicina Deportiva 2000 / Comité Olímpico Internacional, Comisión Médica*; red. y ed. Roger Jackson. Lausanne: COI, 2000.
3. *A Brief History of Anti-Doping*: on line <http://www.wada-ama.org/en/t1.asp?p=30635>
4. ACSM Position Stand: The Use of Blood Doping as an Ergogenic Aid. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 28(10):127-134, October 1996.
5. Chang TM: Semipermeable microcapsules. *Science* (1964) 146(3643):524.
6. Chang TM: Artificial cells. Monograph. Charles C Thomas, Springfield, IL, USA. 1972.
7. Djordjevic L, Miller IF: Synthetic erythrocytes from lipid encapsulated hemoglobin. *Exp Hematol* (1980) 8(5):584
8. Rabimovici R, Phillips WT, Feuerstein GZ, Rudolph AS: Encapsulation of hemoglobin in liposomes. In: *Red Blood Cell Substitutes: Basic Principles and Clinical Applications.* Rudolph AS, Rabimovici R, Feuerstein GZ (Eds), Marcel Dekker Inc, New York, NY, USA (1998) 19:421-436.

11. Phillips WT, Klipper RW, Awasthi VD, Rudolph AS, Cliff R, Kwasiborski VV, Goins, BA: Polyethylene glycol-modified liposomeencapsulated hemoglobin: a long circulating red cell substitute. *J Pharmacol Exp Therap* (1999) 288(2):665-670.
12. Tsuchida R (Ed): *Present and Future Perspectives of Blood Substitutes*. Elsevier, Lausanne, Switzerland. 1998.
13. Breidbach A and Catlin DH. RSR13, a potential athletic performance enhancement agent: detection in urine by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2001; 15: 2379-2382
14. Gotzmann A, Voss S, Machnik M, Schanzer W. detection of Hemopure® and Hemoglobin in Human Plasma by HPLC/UV and Different types of Columns-an Approach to Screen for this Substance in Doping Analysis. In: Schanzer W, Geyer H, Gotzman A, Mareck U, eds. *Recent advances in doping analysis (10)*, Koln. Sport und Buch Strauß, 2002:179-187.
15. Alma C, Trout G, Woodland N, Karlauskas R. Detection of Haemoglobin Based Oxygent Carrier In: Schanzer W, Geyer H, Gotzman A, Mareck U, eds. *Recent advances in doping analysis (10)*, Koln. Sport und Buch Strauß, 2002:169-177.
16. Trout, GJ, Rogerson JH, Cawley AT, Alma CW. *Developments in Sports Drug Testing*. Aust. J. Chem. 2003, 56, 175-180.
17. *Principios de Urgencias, Emergencia y Cuidados Críticos*.
<http://tratado.uninet.edu/>
18. Alfonso, ME. Sustitutos de la sangre. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2001;17(2):90-7. http://www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol17_2_01/hih02201.htm
19. *Control Antidopaje. Manual de Medicina Deportiva*. COI. pp 323-343. 2000.
20. Rodríguez C. *Dopaje*. Interamericana. McGraw-Hill. 1992. España
21. Ekblom B, Berglund B. Effect of erythropoietin administration on maximal aerobic power. *Scand J Med Sci Sports* 1991: 1;88-93
22. Pudran M, Gareau R, Matecki S et al. Effects of erythropoietin administration in training athletes and possible indirect detection in doping control. *Med Sci Sports Exerc* 1999: 31; 639-45
23. Cazola M, Mercuriali F, Brugnara C. Use of recombinant human erythropoietin outside the setting of uremia. *Blood* 1997: 89; 4248-67
http://www.amgen.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/amgen/PAK_CORPORATIVO2002.amgennoticias
24. Adamson JW, Vapnek D. Recombinant human erythropoietin to improve athletic performance. *N Engl J Med* 1991: 324; 968-69
25. Parisotto R, Gore CJ, Emslie KR, Ashenden MJ, Brugnara C, Howe C, Martin DT, Trouth GJ, Hahn AG. A novel method utilizing markers of altered erythropoietin for the detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes. *Haematologica* 2000;85(6):564-572
26. Robinson N, Marti B, Mangin P, Saugy M. Secondary marker of erythroid activity: any use for doping diagnosis in professional cyclists? In: Schanzer W, Geyer H, Gotzman A, Mareck U, eds. *Recent advances in doping analysis (8)*, Koln. Sport und Buch Strauß, 2000:79-82.
27. Saugy M, Robinson N, Pfister Y, Manguin P. One year's experiment with the blood screening test to fight against rhEPO doping. In: Schanzer W, Geyer H,

- Gotzman A, Mareck U, eds. Recent advances in doping analysis (10), Koln. Sport und Buch Strauß, 2002:159-168.
28. Lazne F, de Ceaurriz J. recombinant erythropoietin in urine. *Nature* 2000; 405:635. http://multimedia.olympic.org/pdf/en_report_24.pdf
29. Chang, TMS. Oxygen carriers. *Current Opinion in Investigational Drugs* 2002 3(8):1187-1190. PharmaPress ISSN 1472-4472
30. Hughes GS, Yancey EP, Albrecht R, Locker PK, Francom SF, Orringer EP, Antal EJ, Jacobs EE. Hemoglobin-based oxygen carrier preserves submaximal exercise capacity in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 58(4): 434-443
31. Olympic Movement Antidoping Code. Comité Olímpico Internacional. Lausana.1999
32. Los sustitutos de la EPO dificultan el control antidopaje. *El Mundo. Suplemento de Salud* 439 -. <http://www.elmundo.es/>
33. Savitsky JP, Doczi J, Black J, et al: A clinical safety trial of stroma-free hemoglobin. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 23: 73-80.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=618711&dopt=Abstract
34. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M, Editores. *Blood transfusion in clinical Medicine*. 10th ed. London: Blackwell Science LTD. 1997.
35. Chang TM: Stabilization of enzymes by microencapsulation with a concentrated protein solution or by microencapsulation followed by crosslinking with glutaraldehyde. *Biochem Biophys Res Commun* (1971) 44(6):1531-1536.
36. Artificial Cells & Organs Research Centre: McGill University, Quebec, Canada. www.artcell.mcgill.ca
37. Adamson JG, Moore C: Hemolink, an O-raffinose crosslinked hemoglobin-based oxygen carrier. In: *Blood Substitutes: Principles, Methods, Products and Clinical Trials*. Chang TM (Ed), Karger, Basel, Switzerland (1998) 2:62-79.
38. Carmichael FJ: Recent developments in hemoglobin-based oxygen carriers: An update on clinical trials. *Transfus Apheresis Sci* (2001) 24(1):17-21.
39. The search for a blood substitute. *Blood Bulletin*. Vol 7, No 1. June 2004
40. Sloan EP *et al*. Post hoc mortality analysis of the efficacy trial of diaspirin cross-linked hemoglobin in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock. *J Trauma* 2002;52:887-95.
41. Bartz, R R *et al*. Blood Substitutes. <http://www.emedicine.com/specialties.htm>
42. Lok C: Blood product from cattle wins approval for use in humans. *Nature* (2001) 410(6831):855.
43. Baxter history. <http://www.baxter.com/>
44. Allen RW, Kahn RA, Baldassare JJ. Advances in the production of blood cell substitutes with alternate technologies. En: Wallas CH, Mc Carthy LJ, eds. *New frontiers in Blood Banking*. Arlington, Virginia, AABB, 1986:21-46.

45. Prowse CV. Alternatives to standard blood transfusion: availability and promise. *Transfus Med* 1999;9:287-99.

46. Doherty DH, Doyle MP, Curry SR, Vali RJ, Fattor TJ, Olson JS, Lemon DD: Rate of reaction with nitric oxide determines the hypertensive effect of cell-free hemoglobin. *Nat Biotechnol* (1998) 16(7):672-676

47. Oncologic drugs advisory committee briefing document.
[http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing4037B1_03-RSR13,htm](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing4037B1_03-RSR13.htm)

48. Martínez C. Alternativas farmacológicas al uso de transfusiones.
<http://www2.udec.cl/~ofem/remedica/VOL7N203/conten.htm>

49. Clark LC, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 1996; 152: 1755-1756.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=5938414&dopt=Abstract