



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

MARIA JOÃO LOBATO CORTESÃO NOBRE

***A ERITROPOIETINA RECOMBINANTE HUMANA -
APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS E USO ILEGAL NO
DESPORTO***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
DOUTOR FLÁVIO REIS**

MARÇO/2011

Índice

RESUMO	2
ABSTRACT	4
LISTA DE ABREVIATURAS.....	6
LISTA DE FIGURAS/TABELAS	8
I – Introdução.....	9
II – Objectivos e Metodologia da Revisão	10
III- Papel da eritropoietina na eritropoiese	11
1. A eritropoiese	11
2. A eritropoietina e seu receptor.....	14
IV- Terapêutica com rhEPO	20
1. A Eritropoietina recombinante humana (rhEpo).....	20
2. A utilização terapêutica da rhEPO	22
3. Efeitos adversos da rhEPO	24
V- A utilização da rhEPO no desporto	26
1. O doping: perspectiva geral.....	26
2. O uso da rhEPO no desporto	29
3. Efeitos Adversos	30
4. A detecção da rhEPO no desporto.....	31
5. Novas moléculas da rhEpo e outros Agentes Estimulantes da Eritropoiese (ESA's).....	36
VI – Conclusões	38
VIII - Anexos.....	49
Anexo 1.....	49
Anexo 2.....	51
Anexo 3.....	52

RESUMO

INTRODUÇÃO:

A eritropoietina é uma glicoproteína secretada pelos rins e, em menor percentagem, pelo fígado, que possui acção hormonal estimulante da eritropoiese. O maior número de eritrócitos, células transportadoras de oxigénio, resulta na melhoria da competência aeróbia, elevando assim a resistência ao exercício físico. É, por este motivo, utilizada para o aumento do desempenho desportivo, em especial por atletas de *endurance*. A eritropoietina foi considerada uma substância proibida no âmbito desportivo, pelo que é vulgarmente associada ao doping.

OBJECTIVOS:

Pretende-se com este trabalho fazer uma revisão bibliográfica abrangente sobre a eritropoietina, não se limitando apenas à problemática do seu uso no desporto como doping, mas também contextualizando os aspectos fisiológicos, expor as suas potencialidades terapêuticas e, por fim, sistematizar os riscos associados ao uso ilícito no desporto.

DESENVOLVIMENTO:

Desde o momento que foi possível produzir eritropoietina recombinante humana que o seu uso terapêutico foi sempre muito promissor. Esta molécula possibilita os mesmos efeitos biológicos que a hormona endógena, permitindo uma melhoria

significativa da qualidade de vida dos doentes a quem é administrada, como os doentes com anemia secundária à insuficiência renal crónica.

Infelizmente, os seus efeitos benéficos incentivaram o seu abuso no desporto, ignorando os perigosos efeitos secundários inerentes à sua administração em atletas. No combate a este flagelo, foram desenvolvidos métodos de detecção directos e indirectos do uso desta substância, não só com o objectivo de identifica-la como também de desencorajar o seu abuso. Contudo, outros similares estão já em utilização, merecendo aqui uma atenção particular.

CONCLUSÕES:

O aparecimento de novas moléculas análogas e miméticas à eritropoietina recombinante humana e a rápida evolução científico-tecnológica desafia constantemente as autoridades desportivas e o controlo anti-doping. Uma vez que o aproveitamento desta substância proibida se alastrou ao desporto não competitivo, este problema torna-se assim uma questão de saúde pública, em particular devido aos sérios efeitos secundários, muitas vezes negligenciados.

PALAVRAS-CHAVE:

Eritropoietina (Epo); Eritropoietina recombinante humana (rhEpo); eritropoiese; utilização terapêutica; efeitos secundários; doping; desporto.

ABSTRACT

INTRODUCTION:

Erythropoietin is a glycoprotein secreted by the kidneys and, in a lesser extent, by the liver, which has a hormonal stimulant action on erythropoiesis. The largest number of red blood cells, oxygen carriers, results in improved aerobic power, thereby increasing exercise tolerance. It is for this reason used to increase the performance, particularly by endurance athletes. Erythropoietin was considered a banned substance in sport, so it is commonly associated with doping.

OBJECTIVES:

The aim of this work is to make a comprehensive review on erythropoietin, not limited only to the problems of its use as doping in sport, but also to contextualize the physiological aspects, to present their therapeutic potential and, finally, to systematize the risks associated to their misuse in sport.

DEVELOPMENT:

From the moment it was possible to produce recombinant human erythropoietin that its therapeutic use has always been very promising. This molecule allows the same biological effects as the endogenous hormone, allowing a significant improvement in quality of life of patients who are administered, like those with anemia secondary to chronic renal failure.

Unfortunately, its benefits have encouraged the abuse in sport, ignoring the dangerous side effects associated with its administration in athletes. To combat this scourge, methods were developed to detect direct and indirect use of this substance, not only in order to identify it but also to discourage abuse. However, others like it are already in use, and deserve particular attention here.

CONCLUSIONS:

The emergence of new molecules similar and mimetic to human recombinant erythropoietin and the rapid scientific and technological evolution challenge constantly the sports authorities and anti-doping. Since the use of prohibited substance has spilled over into non-competitive sport, this problem thus becomes a public health issue, particularly due to serious side effects, often neglected.

KEYWORDS:

Erythropoietin (Epo); recombinant human erythropoietin (rhEpo); erythropoiesis; therapeutic use; side effects; doping; sport.

LISTA DE ABREVIATURAS

AZT – Zidovudina

BFU-E – unidade de formação explosiva eritróide

BHK – rim de filhote de hamster

CERA – activador contínuo do receptor da eritropoiese

CFU-E – unidade formadora de colónias eritróide

CFU-EMM – unidade formadora de colónias eritróide, monocítica e megacariocítica

CHO – ovário de hamster chinês

Epo – eritropoietina

[Epo] – concentração de eritropoietina

EpoR – receptor da eritropoietina

ESA's – agentes estimulantes da eritropoiese

GM-CSF – factor estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos

Hb – hemoglobina

[Hb] – concentração de hemoglobina

Hct – hematócrito

HIV – vírus da imunodeficiência humana

IFT – teste de focalização isoeléctrica

IGF-1 – factor de crescimento semelhante à insulina 1

IL-3 – interleucina 3

NESP – nova proteína estimulante da eritropoiese

O₂ – oxigénio

rhEpo – eritropoietina recombinante humana

SCF – factor das células da medula óssea

[sTFR] – concentração do receptor solúvel da transferrina

WADA – Agência Mundial Anti-doping

LISTA DE FIGURAS/TABELAS

Figura 1 - Linhagem eritropoiética e respectivos factores de crescimento. Retirado de Cruz (2006).

Figura 2 – Estrutura tridimensional da eritropoietina. Retirado de <http://glycam.ccruc.uga.edu/ccrc>.

Figura 3 – **A.** Estrutura terciária da Eritropoietina. **B.** Receptor da Eritropoietina. **C.** Concentração de Epo, estimulação dos receptores e efeitos tecidulares. Retirado de Buemi (2009)

Figura 4 – Métodos de aumento do transporte de oxigénio. Adaptado de Elliot (2008).

Figura 5 – Análise urinária anti-doping demonstrando a presença de rhEpo (coluna 4). Coluna 1: rhEpo *standard*; coluna 2: urina positiva (controlo); coluna 3: urina negativa (controlo); coluna 4: amostra considerada positiva; coluna 5: darbepoetina alfa. Retirado de Robinson (2006).

Tabela I – Efeitos pleiotrópicos atribuídos à Eritropoietina. Adaptado de Buemi (2009).

I – Introdução

O aparecimento da eritropoietina recombinante humana (rhEpo) trouxe muitos benefícios para a prática clínica, existindo muitos doentes a beneficiar do seu uso como forma terapêutica, incluindo os doentes com anemia secundária a insuficiência renal crónica. Contudo, e de forma abusiva, algumas das suas propriedades fomentaram a utilização em situações não fisiopatológicas.

A rhEpo está amplamente associada ao doping como forma de aumentar o desempenho dos atletas, sobretudo em modalidades de fundo. É considerada uma substância proibida e o seu uso é condenável não só pelo facto de desrespeitar o espírito competitivo pondo em causa a imagem do desporto, mas também pelos seus efeitos secundários que tornam o seu uso um risco para a saúde dos atletas.

Actualmente, a utilização de substâncias dopantes não se cinge ao desporto de competição, atingindo também desportos de lazer. A dimensão deste uso representa um problema de saúde pública em muitos Países do Mundo, tendo em conta que estes atletas não são acompanhados, aconselhados ou mesmos controlados.

II – Objectivos e Metodologia da Revisão

Este trabalho pretende fazer uma revisão abrangente sobre a Epo, descrevendo o seu principal papel fisiológico no organismo humano, o seu uso terapêutico principal, e a sua utilização como doping no desporto, focando os riscos que daí advêm.

A revisão baseou-se numa pesquisa na base de dados científica PubMed, usando os seguintes termos e condições:

(Erythropoietin) AND (doping OR sports)

Dos 46 artigos encontrados, foram usados aqueles considerados mais relevantes para a temática em questão, e desses escolhidos outros neles citados.

III- Papel da eritropoietina na eritropoiese

1. A eritropoiese

O oxigénio é essencial à vida, e o corpo humano desenvolveu requintados métodos de transferência do mesmo nos pulmões, transporte e difusão para os tecidos.^[1] Este processo comporta: absorção pulmonar, transporte sanguíneo, reabsorção celular, redistribuição e eliminação dos catabolitos.^[2]

Existem duas moléculas de transporte e transferência de oxigénio com diferentes curvas de afinidade para o mesmo e, conseqüentemente, diferentes funções.

A hemoglobina é uma proteína globular, que tem um papel preponderante na fase de transporte. Esta liga-se ao oxigénio sob condições de alta pressão de O₂ (nos pulmões), libertando-o nos tecidos dependentes de oxigénio, onde o O₂ está a ser consumido.^[1]

A mioglobina tem a função diferenciada de armazenar localmente oxigénio, e está presente em quantidades apreciáveis no citoplasma de células musculares e que, por conseguinte, possuem uma grande competência em trabalhos aeróbios de longa duração.^[2]

À medida que o consumo de O₂ aumenta com o exercício, ajustes na capacidade transportadora de O₂ são feitos para atender ao aumento da procura.^[1] Assim, a realização de uma tarefa motora de longa duração depende da capacidade do executante de processar energia a partir do metabolismo aeróbio, o que irá depender em última instância do nível de fornecimento de oxigénio.^[2]

O aumento dos níveis de hemoglobina (que reside no interior dos eritrócitos) irá contribuir para o maior fornecimento de oxigénio durante o trabalho desportivo

aeróbio.^[2] Como tal, o aumento do número de eritrócitos pode reflectir para o aumento da transferência de oxigénio para os músculos, aumentando a *performance* do indivíduo no desporto.^[1]

A eritropoiese, processo pelo qual as células precursoras proliferam e se diferenciam em eritrócitos, é parte do grande processo da hematopoiese, que envolve a produção de células maduras existentes no sangue e nos órgãos linfóides. A hematopoiese é constantemente necessária devido à normal renovação das populações celulares no sangue e tecidos linfóides.^[3] A eritropoiese contrabalança a permanente destruição pelos macrófagos dos eritrócitos envelhecidos, na medula óssea, baço e fígado.^[4] No adulto normal, a renovação diária de eritrócitos excede as 10^{11} células. Durante períodos de aumento de perdas eritrocitárias, devido a hemólise e hemorragias, a produção de eritrócitos aumenta rápida e marcadamente.^[3]

A hematopoiese inicia-se com células da medula óssea pluripotentes (células nucleadas existentes na medula óssea), que originam distintas linhagens celulares. As células precursoras são capazes de responder a factores de crescimento hematopoiético (como a eritropoietina) com aumento selectivo de uma ou outra linhagem celular de acordo com as necessidades. Esta diferenciação celular passa por uma etapa de células progenitoras comprometidas, isto é, com potencial de desenvolvimento restrito.

A eritropoiese (Figura 1) inicia-se nas células da medula óssea passando pelas células progenitoras CFU-EMM (unidade formadora de colónias eritróide, monocítica e megacariocítica), BFU-E (unidade de formação explosiva eritróide) e CFU-E (unidade formadora de colónias eritróide) até ao primeiro precursor eritróide que é morfologicamente identificável na medula óssea, o proeritroblasto. As CFU-E são as primeiras a possuir capacidade de resposta à eritropoietina^[1] e dependem unicamente

desta para sobreviver e proliferar.^[5] O proeritroblasto origina uma série de eritroblastos progressivamente menores, cujo núcleo é posteriormente expelido na medula óssea, resultando num estágio de reticulócito. Esta célula, pouco maior que o eritrócito maduro, fica um ou dois dias na medula óssea e também circula no sangue periférico durante tempo idêntico antes de amadurecer, sobretudo no baço. Surge, então, o eritrócito maduro, um disco bicôncavo sem núcleo com coloração rosa. Em condições normais, os glóbulos vermelhos têm um tempo de semi-vida de 3-4 meses.

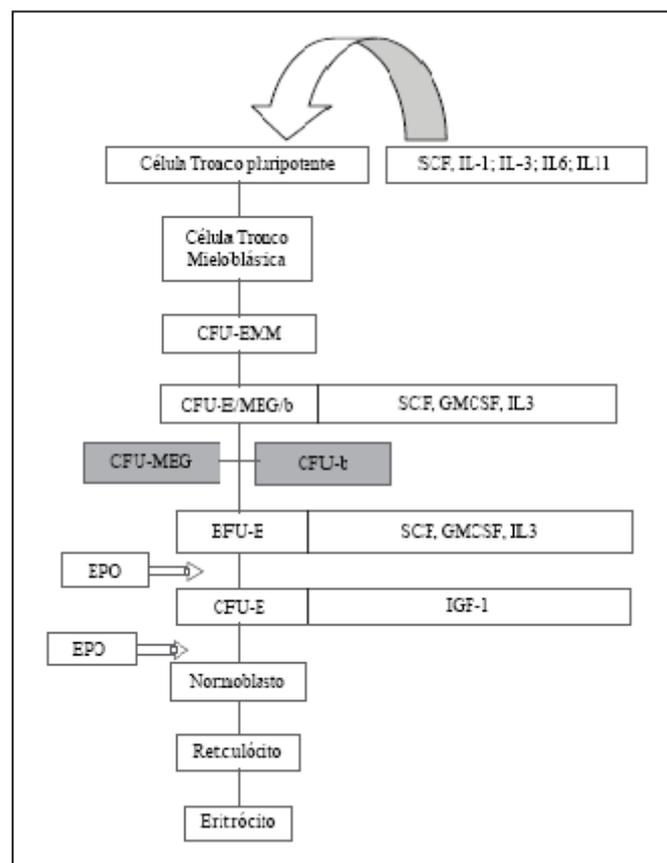


Figura 1 - Linhagem eritropoética e respectivos factores de crescimento. Retirado de Cruz. (2006).

Os eritrócitos produzidos durante a eritropoiese não possuem material genético nem maquinaria celular para a sua replicação, o que lhes permite maior armazenamento de hemoglobina. Assim, o único modo de produção eritrocitária é através do estímulo

hormonal nas células CFU-Es provenientes das células da medula óssea pluripotentes hematopoéticas.^[6]

2. A eritropoietina e seu receptor

A Eritropoietina (Epo) é o principal factor de crescimento hematopoiético, regulando a proliferação e diferenciação celular ao longo da linhagem eritróide, com o objectivo de manter a capacidade transportadora de oxigénio no sangue periférico.^[7]

A Epo é uma hormona endógena de natureza glicoproteica que pertence à família das citocinas receptoras.^[2] É sintetizada principalmente em células epiteliais específicas que revestem os capilares peritubulares renais (cerca de 90%),^[8] no fígado (<10%) e, em muito pequenas quantidades, no cérebro.^[9] A Epo é considerada um complexo biológico cujas propriedades são afectadas pelo tipo de célula que a produz,^[1] como adiante será mais detalhadamente descrito.

A Epo humana (Figura 2) possui um peso molecular de 51 kDa;^[2] é sintetizada inicialmente como uma pró-hormona constituída por 193 aminoácidos, sendo os 27 primeiros expressos apenas para proporcionar a secreção da hormona, não possuindo relevância na actividade biológica. Pouco antes de ser secretada, a Epo é clivada e estes 27 aminoácidos são removidos. Ao entrar na circulação sanguínea, há também a perda da arginina no C-terminal, passando a hormona madura a ter 165 aminoácidos numa única cadeia polipeptídica contendo duas ligações dissulfeto intramoleculares e quatro cadeias polissacarídeas independentes. A glicoproteína secretada contém aproximadamente 40% da massa composta por polissacarídeos.^[10] A Epo é, na realidade, um conjunto de muitas isoformas diferentes, devido à heterogeneidade na distribuição de açúcares, todas biologicamente activas.^[11]

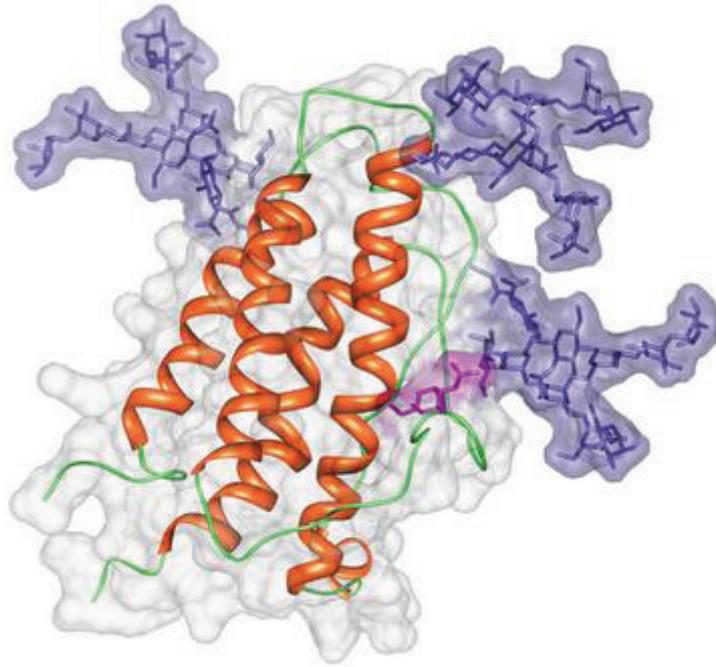


Figura 2 – Estrutura tridimensional da eritropoietina. Retirado de <http://glycam.ccruc.uga.edu/ccrc>.

De modo a evitar a rápida depuração hepática da Epo, antes que esta alcance o seu alvo fisiológico, a macromolécula possui um sinalizador biológico, constituído de resíduos terminais de ácido siálico, situado em posições estratégicas na cadeia polissacarídica. Estima-se que a semi-vida da Epo, após lançamento na circulação sanguínea, seja da ordem de seis a oito horas^[8] e o seu valor médio no organismo humano adulto é de 6,2m.u/ml (+4,3).^[2]

O principal estímulo fisiológico para a produção de Epo é a hipoxia tecidual que, na grande maioria dos casos, está directamente relacionada com o número de eritrócitos circulantes.^[12] Em resposta ao aumento de produção de Epo observa-se um aumento no número total de eritrócitos de um a dois dias.^[2]

A resposta do rim face à hipoxia tecidual foi demonstrada como sendo exponencial^[13] e esta é sentida por uma molécula intra-celular que interage com um elemento potenciador do gene da Epo e assim induz a transcrição.^[14] O aumento da

produção de Epo no rim em hipoxia é atingido por recrutamento de mais células para produzir Epo. Pelo contrário, em condições normais, só algumas células renais produzem Epo. Quando o limiar de hipoxia é atingido, a capacidade celular de produção de Epo faz-se a uma taxa máxima e quanto maior a área do córtex renal em que o limiar de hipóxia é atingido, maior o número de células produtoras de Epo.^[15]

Os níveis de Epo reagem às condições de hipoxia, sendo muito sensíveis à altitude, assim como a diferentes condições patológicas e fisiológicas (apneia de sono, doenças renais).^[11]

A concentração sanguínea de Epo é alterada como consequência das mudanças na disponibilidade de oxigénio no ambiente renal. A hemodiluição, os vários tipos de hipoxia e as diferentes formas de anemia são causas conhecidas de aumento da produção de Epo; contrariamente, a concentração de Epo é reduzida na policitémia.^[16] Há um aumento exponencial no seu nível plasmático quando a concentração de hemoglobina no sangue cai para valores abaixo de 125g/L.^[4]

Além da hipóxia, existem diversos factores que regulam a produção de Epo, como a hipoglicémia, o aumento intracelular de cálcio, a libertação de insulina, estrogénios, e várias citocinas.^[17] Outros factores de expressão do gene da Epo são as hormonas tiroideias que estimulam a expressão do gene da Epo, resultando num aumento dos níveis circulantes de Epo no hipertiroidismo. Também os androgénios ampliam o efeito da Epo nos progenitores eritrocíticos, proporcionando assim uma explicação para os valores normalmente elevados de hemoglobina e hematócrito nos homens comparado com as mulheres.^[4]

O receptor maduro da Epo (EpoR), com peso molecular de aproximadamente 72kDa, é uma glicoproteína transmembranar, pertencente a uma família muito maior de

receptores de citocinas e de factores de crescimento hematopoiético (Figura 3).^[18] Estes receptores localizam-se na membrana celular, em quantidades inferiores a 1000 unidades por célula.^[2]

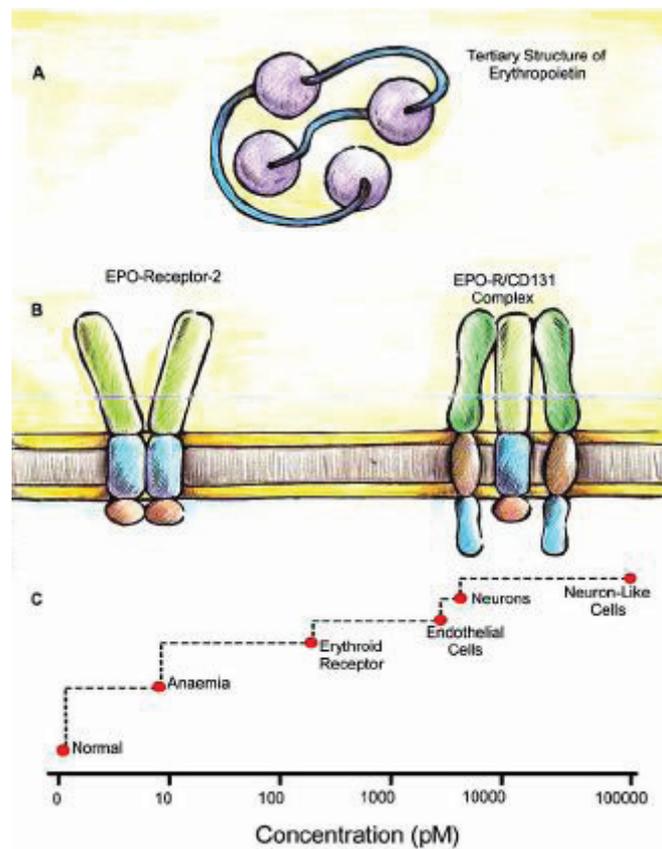


Figura 3 – A. Estrutura terciária da Eritropoietina. B. Receptor da Eritropoietina. C. Concentração de Epo, estimulação dos receptores e efeitos tecidulares. Retirado de Buemi. (2009).

Os receptores são expressos prioritariamente na linhagem CFU-E (conseguindo estas células responder a baixíssimas concentrações Epo, da ordem de 10^{-12} mol/L^[6]) e uma pequena quantidade na linhagem BFU-E. No entanto, estudos demonstram que reticulócitos e eritrócitos maduros não apresentam receptores de Epo.^[2] A expressão de EpoR funcionais tem sido também documentada em vários tipos de células não-hematopoiéticas, incluindo células do endotélio vascular, células de músculo liso,

mioblastos esqueléticos, miócitos cardíacos, neurónios, fotoreceptores da retina, células do estroma hepático, placenta, rim e macrófagos.^[7] A função destes receptores nestas células ainda não é bem compreendida.^[5]

As moléculas de Epo produzidas são conduzidas até à medula óssea, onde encontram células progenitoras eritrocitárias.^[5] A Epo não medeia a adopção de um destino eritróide para as células pluripotentes da medula óssea em estágios iniciais, actuando posteriormente nas CFU-E, BFU-E e proeritroblastos (linhagem próxima da madura formadora de eritróide) para prevenir a sua apoptose e induzir a expressão das proteínas eritróides específicas.^[19] Esta acção ocorre sinergicamente com os factores SCF, GM-CSF, IL-3 e IGF-1.^[2]

Foi demonstrado o efeito da Epo na prevenção da apoptose, como factor de sobrevivência para as células eritróides nos estágios tardios de diferenciação.^[18] A Epo inibe a apoptose destas células e estimula a sua proliferação e diferenciação. Consequentemente, os reticulócitos tornam-se aparentes 3-4 dias após o aumento do seu nível plasmático.^[4] Assim, a Epo é principalmente um factor de sobrevivência para as células progenitoras eritróides humanas, apesar de variarem bastante na sua sensibilidade à Epo.^[20]

Foi demonstrado que modificações químicas que aumentem a semi-vida da Epo são capazes de superar as diminuições associadas à afinidade do receptor, levando a uma actividade biológica superior. Assim, a actividade biológica da Epo depende muito mais da sua semi-vida do que da sua afinidade ao receptor.^[21]

A Epo possui também efeitos pleiotrópicos (Tabela 1), nomeadamente no sistema nervoso central, onde é produzida pelos astrócitos e tem uma função importante na resposta cerebral à lesão neuronal.^[22] Esta demonstra ainda uma acção sobre as

células endoteliais, o músculo cardíaco e o músculo estriado esquelético, no trato gastrointestinal e no cérebro, estimulando a produção de testosterona em homens^[23] e aumenta a reactividade plaquetar humana.^[20]

Tabela I – Efeitos pleiotrópicos atribuídos à Eritropoietina. Adaptado de Buemi (2009).

Órgão/Tecido	Célula Alvo	Efeitos
Coração	Cardiomiócitos	Remodelação ventricular, protecção contra isquémia, inibição da apoptose
Medula óssea	Células progenitoras endoteliais	Proliferação, diferenciação e mobilização
Vasos sanguíneos	Células endoteliais	Proliferação, aumento da neo-vascularização
	Músculo liso	Contração, vasoconstricção
Rim	Células tubulares proximais	Protecção contra hipoxia, regeneração tubular
Sistema Nervoso	Células progenitoras neurogénicas	Inibição da apoptose, estimulação da proliferação e diferenciação
	Células neurais maduras	Protecção contra isquémia, redução do volume de enfarte
Testículos	Células de Leydig	Produção de testosterona
Intestino	Enterócitos	Migração celular, acção anti-apoptótica

IV- Terapêutica com rhEpo

1. A Eritropoietina recombinante humana (rhEpo)

A rhEpo foi o primeiro factor de crescimento hematopoiético recombinante a ser produzido por engenharia genética,^[24] em 1987, a partir do isolamento e caracterização da região do DNA humano que codifica a Epo endógena.^[5] Esta glicoproteína sintética de 30400 Da, tem uma semi-vida curta, apesar dos seus efeitos sanguíneos apenas se tornarem evidentes 3 a 5 dias após a administração.^[25]

A primeira geração de rhEpo inclui a epoetina- α e - β , produzidas em células ováricas de hamster chinês (CHO), e a epoetina- ω , sintetizada a partir de células de rim de filhote de hamster (BHK).^[26] Uma nova molécula de rhEpo (epoetina- δ) é originada numa linha celular de fibrossarcoma humano.^[27] A rhEpo é estruturalmente semelhante à Epo natural relativamente à composição proteica, mas, ainda assim, possui um arranjo heterogéneo na posição dos polissacarídeos.^[11] Actualmente, a rhEpo é produzida por diversos laboratórios, apesar da sua actividade biológica ser idêntica à sua forma nativa, as estruturas secundária e terciária nem sempre apresentam analogias completas, quer quando comparadas as várias isoformas entre si, quer quando confrontadas com a Epo de ocorrência natural.^[5] A síntese em diversas fontes e em diferentes regiões do mundo origina variações na composição e na disposição da estrutura polissacarídica. Estudos realizados demonstraram que, como ocorre com várias hormonas glicoproteicas a pH fisiológico, a sua estrutura apresenta heterogeneidade de carga devido a pequenas variações no conteúdo polissacarídico. O desenvolvimento de um mercado negro para a rhEpo durante os últimos anos acentuou essa discrepância, devido à qualidade flutuante e variabilidade de composição de cada produto comercializado.^[28]

A dosagem usual de rhEpo no tratamento da anemia varia entre 20 e 240 UI/kg, 3 vezes por semana, dependendo da resposta do doente e da taxa óptima de concentração plasmática de hemoglobina e hematócrito .^[29]

Na prática clínica, as formas mais comuns de administração da rhEpo são as vias intravenosa, subcutânea e intraperitoneal. A escolha da via depende de considerações farmacocinéticas, aliadas a aspectos de ordem prática. Em doentes submetidos a hemodiálise, a rhEpo pode ser administrada intravenosamente durante ou no final do procedimento, reduzindo o sofrimento do doente. Aos doentes em terapia conservadora para a insuficiência renal, transplantados renais ou em diálise peritoneal, é recomendada a utilização de rhEpo por via subcutânea, geralmente em rotação na região da coxa, de modo a poupar as veias periféricas para futuro acesso vascular. A administração intraperitoneal deve ser reservada para situações clínicas especiais em doentes em diálise peritoneal, particularmente em crianças com trauma a injecções. Verifica-se que a eritropoiese é mais eficaz em resposta a injecções frequentes com doses fraccionadas de rhEpo do que a aplicações intermitentes com grandes dosagens. No entanto, nenhuma das opções acima descritas consegue reproduzir o padrão fisiológico ou o ritmo circadiano da hormona natural.^[30]

Após administração intravenosa, picos máximos de concentração plasmática de rhEpo são obtidos em questão de minutos, enquanto os valores máximos para a administração subcutânea podem demorar 5 a 24 horas a ser obtidos.^[31] A semi-vida da rhEpo administrada por via subcutânea é mais longa do que a utilizada por via intravenosa.^[32] Estudos clínicos realizados em meados da década de 90, com o objectivo de comparar as vias de administração intravenosa e subcutânea, não mostraram diferenças de eficácia no tratamento ou na pressão sanguínea. A administração

subcutânea tem uma baixa e variável biodisponibilidade, entre 20 a 40%, ainda assim, gera altos níveis séricos de rhEpo.^[33]

Apesar de no passado se acreditar que a concentração urinária de Epo endógena fosse aproximadamente proporcional ao seu nível sérico e resultasse numa taxa de eliminação diária inferior a 10% do total administrado, sabe-se hoje que a excreção urinária de rhEpo após administração em voluntários saudáveis é negligenciável, sendo inferior a 1% da dose administrada. É conhecido, através da presença de produtos de degradação hepática, que o fígado efectivamente está envolvido no processo de degradação da rhEpo, após remoção gradual de resíduos de ácido siálico terminais da molécula (desialização *in vivo*), tornando-se então, o passo limitante na taxa de depuração da Epo circulante.^[34]

2. A utilização terapêutica da rhEpo

A utilização clínica da rhEpo em humanos iniciou-se em 1988 na Europa e em 1989 nos Estados Unidos da América.^[1] Actualmente, é usada no tratamento de vários tipos de anemia, como as associadas a baixa resposta eritropoiética, a doença renal crónica, a perdas sanguíneas após cirurgia ou trauma, a tratamento com AZT nos indivíduos HIV positivos, a quimioterapia e a algumas doenças inflamatórias crónicas^[35] ou relacionadas com síndromes mielodisplásicas, transplante de medula óssea e hepatite C.^[36]

Tratar a anemia com rhEpo diminui a probabilidade de transfusões sanguíneas, restaura os níveis de energia e aumenta a tolerância ao exercício físico devido à maior distribuição de oxigénio aos músculos e cérebro. A função cognitiva e a sensação de

bem-estar também melhoram, aumentando assim a qualidade de vida dos doentes tratados com rhEpo.^[1]

Os efeitos benéficos do tratamento com a rhEpo são numerosos, com um aumento significativo dos níveis de hematócrito e de hemoglobina na grande maioria dos doentes, o que resulta na melhoria da *performance* física e psíquica, mesmo em situações em que a correção da anemia seja apenas parcial. A resposta hematológica tem sido relacionada com a dose administrada, e tem-se notado uma heterogeneidade entre os doentes, sendo que alguns necessitam de doses mais elevadas que outros.^[37]

Evidências experimentais mostraram que a rhEpo apresenta uma acção eficiente não só sobre a população de glóbulos vermelhos no sangue, mas também sobre o músculo estriado esquelético e músculo cardíaco, além de estimular a angiogénese. Esta também exhibe uma acção particular sobre as células da musculatura estriada, denotando um elevado potencial clínico no tratamento de distúrbios de distrofia. Em especial, o atleta de alto rendimento usufrui de um duplo benefício: melhoria das condições hemodinâmicas locais da musculatura, assim como melhoria da recuperação histológica do tecido após esforços repetidos.^[2] Constatou-se que a rhEpo exerce também influência sobre os efeitos funcionais de várias proteínas de membrana, especulando-se ainda sobre a sua provável influência no fluxo de iões H^+ . Sugeriu-se que o influxo de lactato nos eritrócitos de atletas sob o efeito de rhEpo esteja aumentado, resultando numa diminuição na acumulação de lactato em ciclistas. Este efeito potencia a capacidade de trabalho, uma vez que o ácido láctico produzido durante o exercício será mais rapidamente metabolizado, contribuindo desta forma para um acréscimo do limiar de trabalho.^[38]

Além destes benefícios, no tratamento com a rhEpo, também têm sido observadas melhorias a nível sexual e nas funções imunológicas e endócrinas.^[39]

3. Efeitos adversos da rhEpo

Muitos doentes sob terapêutica com rhEpo desenvolvem deficiência funcional de ferro, uma situação em que o fornecimento de ferro para a medula óssea é insuficiente face à procura pelos precursores eritrocitários. Para tratar esta condição deve ser dado um suplemento de ferro a todos os doentes que façam terapêutica com rhEpo, exceptuando aqueles que possuem elevados níveis de ferro sérico ou de saturação de transferrina.^[20]

Embora a utilização de rhEpo na terapêutica seja relativamente segura quando medicamente assistida, casos de efeitos adversos foram relatados. Os mais comuns estão relacionados com o aumento da massa de glóbulos vermelhos e incluem tromboflebite migratória, trombose microvascular, embolia pulmonar, encefalopatia hipertensiva e hipertensão arterial.^[7] Esta última é devida ao aumento da viscosidade sanguínea e à perda da vasodilatação induzida pela hipóxia.^[4]

A eritrocitose (hematócrito > 0,55) resulta num aumento da pós-carga cardíaca com um elevado risco de insuficiência cardíaca e enfarte do miocárdio, assim como um aumento da viscosidade sanguínea, levando a um distúrbio na microcirculação e trombose. Estudos realizados com o objectivo de reconhecer os efeitos da eritrocitose crónica na função cardiovascular em ratos, mostraram o desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda e direita e edema cardíaco naqueles com hematócrito de 0,80; a sua esperança de vida foi drasticamente reduzida.^[4]

Uma vez que a rhEpo amplifica tanto a activação endotelial quanto a reactividade plaquetar em humanos, o risco de complicações tromboembólicas está

aumentado, em particular em pessoas com predisposição genética para trombofilia.^[40] Embora com baixa incidência, foram também observados casos de aplasia eritrocitária pura em doentes tratados com rhEpo. A patogênese desta anemia está maioritariamente relacionada com certas formulações e armazenamento impróprio, o que pode conduzir a um aumento da reactividade imunológica do produto recombinante.^[41,42]

A melhoria significativa da qualidade de vida e/ou prolongamento da sobrevivência, associados a uma baixa prevalências destas situações indesejadas, compensam o risco desta prescrição para fins terapêuticos,^[5] desde que bem monitorizados e controlados.

Em Portugal são comercializadas várias formas de rhEpo. Nos anexos 1 e 2 constam as características destes fármacos, disponibilizadas pelo INFARMED.

V- A utilização da rhEpo no desporto

1. O doping: perspectiva geral

Doping é um termo usado para definir a utilização de substâncias que promovem a *performance* no desporto, principalmente para melhorar o desempenho atlético. Há muito que se suspeita do uso de substâncias ilícitas no mundo do desporto e de competição, mas foram precisas algumas décadas para que as organizações desportivas tivessem noção da magnitude deste flagelo que despromove a imagem do desporto e seus princípios, assim como a saúde e bem-estar dos atletas.

Em 1967, o Comité Olímpico Internacional criou uma Comissão Médica para iniciar a introdução de regulamentação antidoping, incluindo a primeira lista oficial de substâncias proibidas (apenas incluindo estimulantes). Os primeiros testes de controlo de doping foram realizados durante os Jogos Olímpicos de Munique em 1972, o rastreio sistemático de amostras de urina foram introduzidos em 1983 nos Jogos Pan-Americanos de Caracas, e exames sanguíneos implementados em 1994 nas Olimpíadas de Inverno em Lillhammer.^[43]

A Agência Mundial Anti-doping (WADA) é um organismo independente fundado em 1999, responsável a nível internacional pela promoção e coordenação da luta contra o doping no desporto em todas as suas formas. Esta organização foi responsável pela criação e implementação do Código Mundial Anti-doping (promulgado em 2003) e as Normas Internacionais relacionadas. Estes documentos permitiram a conciliação da regulamentação anti-doping em todos os desportos em todo o mundo. A Lista de Substâncias e Métodos Proibidos (anexo 3) é um componente essencial do Código Mundial Anti-doping e é desde 2004 redigida e publicada pela

WADA. A Lista é revista anualmente, entrando em vigor uma nova versão no dia 1 de Janeiro de cada ano.

O Código define como doping a violação de qualquer lei anti-doping, dando importante relevância à presença de uma substância proibida, ou dos seus metabolitos, ou dos seus marcadores num espécimen corporal do atleta. De acordo com o mesmo documento, para que uma substância seja considerada, para inclusão na Lista Proibida, terá de cumprir dois dos seguintes três critérios: ter potencial para aumentar o desempenho desportivo, representar um risco para a saúde do atleta, ou ser contrária ao espírito do desporto.^[43]

Os efeitos de melhoria de desempenho conferidos por qualquer substância administrada estão em grande parte dos casos directamente relacionados com os seus efeitos ergogénicos (aumento de força, maior produção de energia e melhor recuperação), o seu potencial anabólico (síntese proteica aumentada, especialmente nos músculos), e/ou as suas propriedades estimulantes (atenção aumentada e perda de medo), o que confere uma vantagem competitiva aos atletas.^[43]

A realização de uma tarefa motora de longa duração, como uma prova de triatlo, maratona, ciclismo ou ski de fundo, depende entre outros factores, da capacidade do atleta de processar energia a partir do metabolismo aeróbio, o que irá depender em última instância do nível de fornecimento de oxigénio.^[2] Por este motivo, atletas de *endurance* procuram frequentemente novos métodos de aumentar a oxigenação tecidular como meio de melhorar o seu desempenho.

Numerosos agentes que promovem a distribuição de oxigénio para os tecidos têm sido usados e abusados, e o seu ponto de intervenção permite dividi-los em várias categorias (Figura 4). Estas incluem agentes que directamente aumentam o transporte de

oxigénio (transfusões com eritrócitos ou administração de transportadores de oxigénio não-naturais), administração de agentes estimulantes da eritropoiese (ESA's) que aumentam os níveis de eritrócitos (por exemplo rhEpo, derivados da rhEpo ou terapia genica com o gene da Epo), hipoxia ou agentes miméticos de hipoxia que estimulam a produção de Epo endógena, e agentes que alterem a afinidade da Hb ao oxigénio, promovendo assim uma maior distribuição de oxigénio aos músculos e tecidos.^[1]

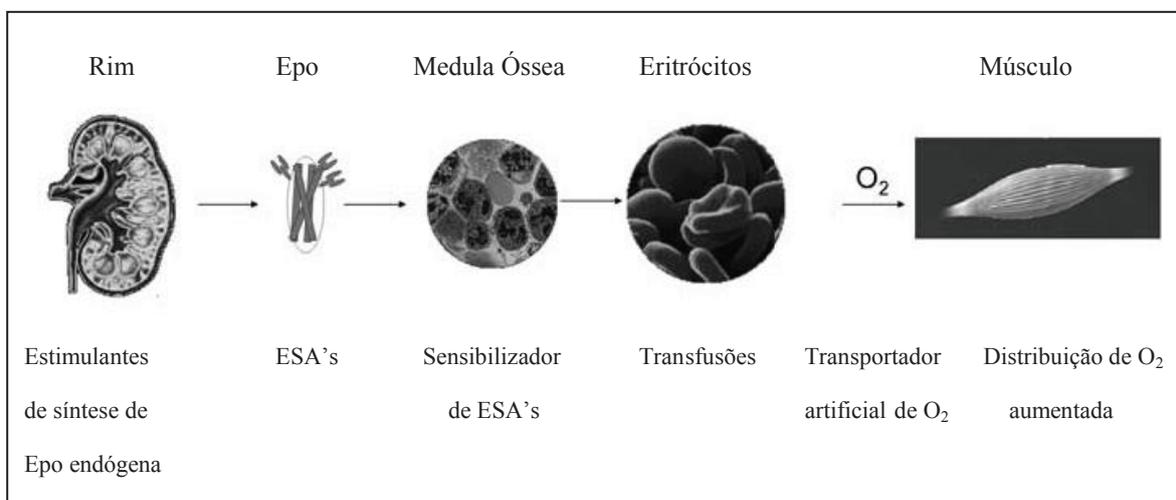


Figura 4 – Métodos de aumento do transporte de oxigénio. Adaptado de Elliot (2008).

A história do desporto demonstra que a comunidade desportiva reage muito mais rapidamente adaptando novas tecnologias às suas necessidades do que as autoridades antidoping.^[44] Numa era em que a tecnologia evolui a um ritmo impressionante, também o potencial uso de substâncias e métodos como doping aumenta, tornando a sua detecção um desafio. É do conhecimento geral que existem atletas cuja mentalidade é “vencer a todo o custo”, ignorando as advertências quanto aos riscos e a ética inerente ao desporto e à competição.

2. O uso da rhEpo no desporto

Os benefícios ergogénicos da rhEpo foram notados assim que esta entrou no mercado (1988 na Europa e 1989 nos EUA) e começou o seu uso inapropriado por alguns atletas. As autoridades desportivas proibiram o uso de rhEpo em 1988. A intenção foi, primeiramente limitar o risco para a saúde, e secundariamente impedir a melhoria do desempenho desportivo.^[45] Actualmente, tanto a rhEpo como seus análogos ou miméticos estão incluídos na Lista Proibida da WADA.

Os primeiros casos suspeitos de doping sanguíneo com rhEpo datam de 1989, quando ciclistas profissionais holandeses, em competição na Europa, morreram por falha cardíaca inexplicável, e associaram-se estes acontecimentos com a aparição desta substância no mercado.^[46]

A razão para o doping sanguíneo com rhEpo era clara: existe uma relação directa entre o aumento da concentração de eritrócitos e a melhoria no desempenho em eventos de *endurance*, podendo este ser aumentado até 10%.^[47,48] Esta substância apresenta a vantagem de aumentar os níveis de Hb sem as complicações e dificuldades associadas a outros tipos de doping sanguíneo (como as transfusões), e pode ser obtida e administrada sem supervisão médica, o que aumenta o risco do seu abuso.^[5]

Foram também descritos casos de doping com rhEpo em cães e cavalos com o objectivo de melhorar o seu desempenho em corridas,^[49] e embora o seu efeito nestes animais não tenha sido provado, causaram problemas graves de saúde e comprometeram a integridade do desporto.^[50] Assim, a rhEpo está proibida não só em humanos como também em animais e métodos para a detecção deste abuso estão a ser pesquisados.

3. Efeitos Adversos

A rhEpo possui diversos efeitos indesejados, já descritos neste trabalho. É, no entanto, relevante explicar que os atletas de resistência possuem um risco aumentado de acidentes tromboembólicos durante as competições, caso a viscosidade do sangue aumente ainda mais devido à grande perda de líquidos associada à transpiração.^[45] No entanto, algumas das mortes alegadamente causadas pela rhEpo não ocorreram durante o exercício mas durante períodos de inactividade, quando a circulação sanguínea é mais lenta.^[44]

Foi demonstrado que o uso de rhEpo, como doping, em situações de exercício físico crónico ou regular, promove não só o aumento esperado de eritrócitos, sugerindo hiperviscosidade, mas também sérios efeitos cardiovasculares deletérios e modificações tromboembólicas, como hipertensão, hipertrofia cardíaca, congestão vascular nos pulmões, cérebro e fígado, e hiperactividade simpática e serotonérgica.^[45] Além disso, o abandono da utilização de rhEpo pode estar implicado no processo de neocitólise, isto é, hemólise de eritrócitos jovens devido a um hematócrito elevado.^[51]

Os atletas que usam rhEpo, frequentemente também utilizam suplementos de ferro, para garantir a síntese de Hb e a continua produção de eritrócitos. Apesar do uso de ferro ser considerado seguro, em excesso pode levar a sérias complicações, como lesão tecidual oxidativa e maior risco cardiovascular.^[52] Este tipo de sobrecarga de ferro irá eventualmente produzir lesões orgânicas comparáveis às que ocorrem na hemocromatose genética, incluindo o risco de desenvolvimento de hepatocarcinoma.^[20]

O risco de cancro associado ao doping com rhEpo pode também estar aumentado, tendo em conta que as doses administradas aos atletas são maiores e mais prolongadas do que as doses clínicas. Tendo em conta os efeitos pleiotrópicos da rhEpo

na angiogénese e inibição da apoptose de alguns tipos celulares, o seu uso impróprio não pode ser excluído de auxiliar o processo de carcinogénese.^[7]

Alguns atletas, após complicações de saúde provavelmente decorrentes do uso ilícito de rhEpo, admitiram a utilização desta substância. Apresentavam sintomas de fortes cefaleias, náuseas, vômitos e fotofobia com início dois meses antes da uma competição, o que levou ao diagnóstico de hipertensão intracraniana idiopática, cujos exames laboratoriais sugeriam que fosse causada pelo uso de rhEpo.^[53]

4. A detecção da rhEpo no desporto

A detecção de utilização da rhEpo é tem sido um desafio difícil. Um teste de identificação directo não existia à data do início da sua comercialização, e o facto de os seus efeitos no doping serem indirectos, permite que a molécula não esteja necessariamente presente no organismo aquando da competição.

A forma mais eficaz de distinguir a Epo endógena da rhEpo é provavelmente baseada nas diferenças de glicosilação existentes entre ambos os tipos de moléculas. A glicosilação da epoetina- α e - β ocorre nas células de CHO em vez das células humanas.^[54] Como resultado, as moléculas recombinantes exibem menos resíduos de ácido siálico na superfície, tornando-as assim mais negativas que as endógenas. A consequente diferença de carga transportada pelos diferentes polissacarídeos permite a discriminação entre as isoformas endógena e exógena da Epo.^[55]

Em Junho de 2000, Lasne e col. propuseram um teste inovador baseado na separação isoeléctrica de isoformas de Epo presentes na urina, num gel de poliácridamida seguido de um processo de duplo-blotting.^[56] O princípio deste método baseia-se nas diferenças de carga existentes entre a Epo endógena e a recombinante. A

focalização isoelétrica permite a separação de proteínas em relação aos seus pontos isoelétricos individuais. As isoformas de epoetina- α e $-\beta$ foram demonstradas como menos ácidas do que a Epo endógena, tornando possível a definição de uma padrão isoelétrico particular para cada forma de Epo^[57] (Figura 5).

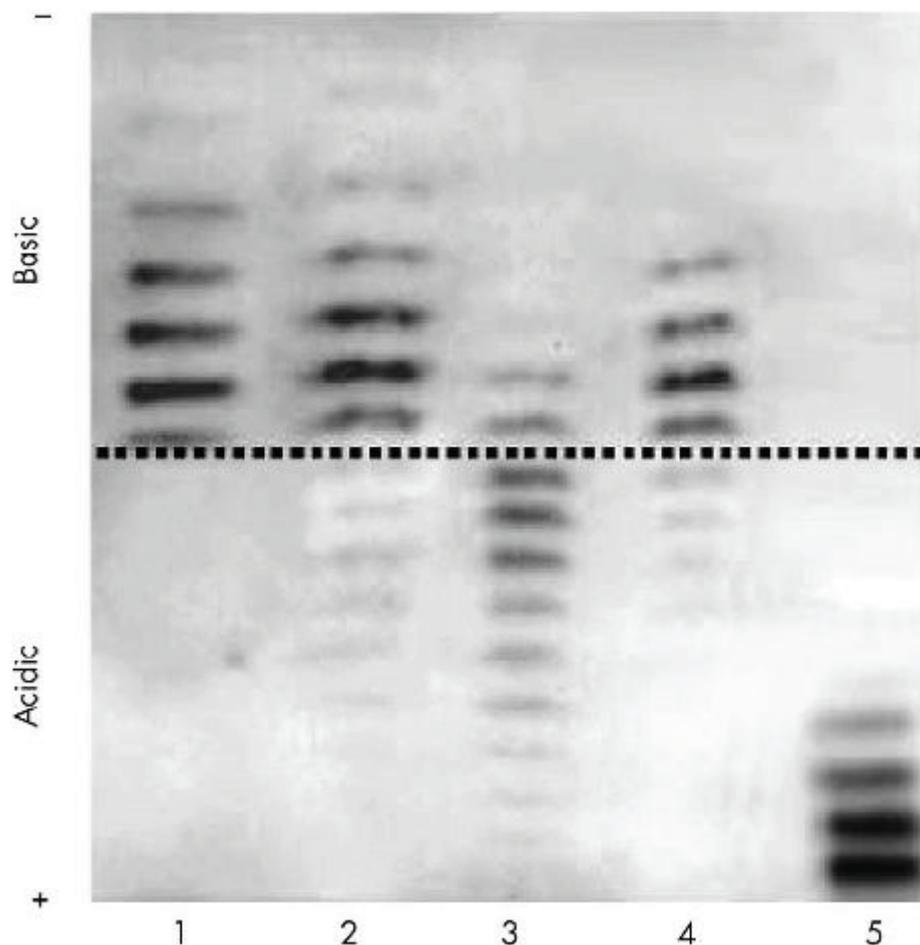


Figura 5 – Análise urinária anti-doping demonstrando a presença de rhEpo (coluna 4). Coluna 1: rhEpo *standard*; coluna 2: urina positiva (controle); coluna 3: urina negativa (controle); coluna 4: amostra considerada positiva; coluna 5: darbepoetina alfa. Retirado de Robinson. (2006).

Após os Jogos Olímpicos de Sydney em 2000, o teste de focalização isoelétrica (IFT) foi oficialmente recomendado pela WADA para a triagem de atletas a abusar da rhEpo, e é na actualidade o único método acreditado para este rastreio. Inicialmente o teste foi concebido para separar as isoformas clássicas de rhEpo (epoetinas- α , $-\beta$ e $-\omega$)

da forma endógena de Epo na urina. Entretanto tem sido adaptado para outras formas de rhEpo mais recentes.^[58]

O IFT é um método dispendioso, bastante trabalhoso e demora 3 dias para se obter um resultado final. No entanto, a WADA considera que este teste providencia as evidências necessárias e que, mesmo sem marcadores indirectos sanguíneos, um resultado positivo obtido através de uma amostra de urina é uma prova definitiva de uso de rhEpo.^[11]

Com o intuito de contornar a pesquisa de rhEpo nos testes urinários, agentes mascarantes (proteases) terão sido usados. Isto tornou-se evidente com a observação de perfis com Epo indetectável em aproximadamente 15% dos testes de Epo, podendo algumas amostras ter sido manipuladas. Pequenas quantidades de proteases disponíveis degradam a Epo existente na urina num curto espaço de tempo, e a sua adição numa amostra durante o processo de recolha pode destruir tanto a Epo endógena quanto a rhEpo, dando um resultado negativo nos testes urinários. Exames directos para a actividade das proteases permitem a sua identificação e a confirmação de manipulação das amostras. Uma estratégia alternativa é a adição de uma mistura química estabilizadora (com inibidores de proteases) aos recipientes de colheita das amostras urinárias, que previne a degradação da Epo por enzimas proteolíticas, juntamente com o armazenamento das amostras a -20°C.^[59]

Desde a sua publicação, o IFT foi constantemente desafiado e posto em causa, o que acabou por contribuir para a sua evolução e aperfeiçoamento, com melhorias na sua sensibilidade e especificidade. Outros métodos foram publicados mas, embora haja abordagens aparentemente muito promissoras, nenhuma se mostrou até agora superior ao IFT.^[58]

Uma estratégia alternativa para a detecção do uso de rhEpo é a pesquisa de marcadores indirectos sanguíneos. Mesmo sem provas de doping com rhEpo, algumas organizações desportivas implementaram um “teste de saúde”, em que pesquisavam os níveis de Hb e hematócrito. Os atletas que apresentassem níveis elevados eram considerados como estando em risco de sofrer efeitos adversos e impedidos de competir. Os valores limite, estabelecidos de forma empírica, foram sendo alterados com o passar do tempo e variavam consoante a organização desportiva.^[1]

Em 2000, foi proposto um modelo que tem em consideração cinco parâmetros que demonstram alterações na eritropoiese. São eles o hematócrito (Hct), a percentagem de reticulócitos (%ret), a percentagem de macrócitos (%macro), a concentração sérica de Epo ([Epo]) e a concentração sérica do receptor solúvel da transferrina ([sTFR]).^[60] Baseado no diferentes comportamento de cada parâmetro durante e após o uso de rhEpo, dois modelos matemáticos foram criados: o modelo –ON, detecção durante o uso de rhEpo; e o modelo –OFF, detecção após suspensão da administração de rhEpo.^[61]

$$\text{ON} = 3,721 \text{ Hct} + 30,45 \% \text{ret} + 0,1871 \ln[\text{Epo}] \\ + 0,1267 \ln[\text{sTFR}] + 0,115 \ln(\% \text{macro} + 0,1)$$

e

$$\text{OFF} = 6,149 \text{ Hct} - 92,87 \% \text{ret} - 0,1463 \ln[\text{Epo}]$$

Alguns inconvenientes destes modelos estavam associados com a dependência de alguns parâmetros sobre o volume celular, potencialmente afectados pelo armazenamento do sangue e no transporte. Consequentemente, foi proposta uma segunda geração de modelos com maior robustez e de aplicação mais simples.^[62] As

novas equações usavam a concentração de Hb ([Hb]), a concentração de Epo ([Epo]), a concentração de sTFR ([sTFR]) e a percentagem de reticulócitos (%ret). Estas equações foram classificadas com as letras h, e, r e s de acordo com os parâmetros usados ([Hb], [Epo], %ret, [sTFR], respectivamente) que incluíam:

$$\text{ON he} = [\text{Hb}] + 9,74 \ln[\text{Epo}]$$

$$\text{ON hes} = [\text{Hb}] + 6,62 \ln[\text{Epo}] + 19,4 [\text{sTFR}]$$

e

$$\text{OFF hr} = [\text{Hb}] - 60(\%ret)^{1/2}$$

$$\text{OFF hre} = [\text{Hb}] - 50(\%ret)^{1/2} - 7 \ln[\text{Epo}].$$

O valor normal ON encontra-se entre 85 e 95 e valores acima de 133 são considerados evidências de doping.^[61] Este modelo foi depois revisto e melhorado de modo a aumentar a sua eficiência.^[63]

Estas equações parecem ser mais sensíveis quando são utilizadas doses baixas de rhEpo, proporcionando boa retroactividade no período após o fim da administração. Este método é rápido e relativamente barato pelo que pode efectivamente ser utilizado para efeitos de triagem, particularmente em grandes eventos desportivos, onde muitos dos atletas de *endurance* deverão ser controlados.^[11]

Uma abordagem indirecta alternativa é o “Passaporte Biológico”, ou seja, a criação de um perfil hematológico individual. Este perfil torna possível a comparação de valores médios de diversos parâmetros sanguíneos e urinários com os valores normais de cada atleta. Deste modo fica eliminada a dificuldade de considerar a variabilidade inter-individual dos atletas, permitindo um controlo anti-doping eficaz. Desvios do perfil longitudinal normal resultariam numa proibição de participação em

determinada competição, e em investigações adicionais para estabelecer a incidência de doping ou possível sanção por uma violação de regras antidoping.^[64]

Este método tem sido questionado e alvo de diversas críticas. Em primeiro lugar, a aceitação jurídica dos parâmetros indirectos incluídos no passaporte é questionável. Em segundo lugar, a necessidade do uso de amostras de sangue, em vez de urina, é uma desvantagem prática para triagens amplas. Em terceiro, este passaporte fornece pouca ajuda quer nos desportos de lazer quer nas modalidades de elite cujos atletas têm uma curta história até atingirem sucesso.^[65] Apesar destas controvérsias o “Passaporte Biológico” foi aceite pela WADA e está actualmente a ser implementado em muitos países.

5. Novas moléculas da rhEpo e outros Agentes Estimulantes da Eritropoiese (ESA's)

Com os avanços científicos e tecnológicos ocorridos nos últimos anos, o aparecimento de novas moléculas de rhEpo e outros agentes estimulantes da eritropoiese veio dificultar ainda mais a detecção deste tipo de doping.

A darbepoetina- α , ou nova proteína estimulante da eritropoiese (NESP), foi definida como rhEpo de segunda geração. É uma hormona de natureza glicoproteica que difere da rhEpo original em 5 aminoácidos, permitindo a ligação a cadeias oligossacarídeas adicionais.^[58] Isto permite à darbepoetina- α possuir até 22 resíduos de ácido siálico (em vez dos 14 da rhEpo), e assim ter uma semi-vida alargada (48,8 + 5,2 horas quando administrada por via subcutânea). Embora a sua afinidade para o receptor da Epo seja reduzida, esta molécula tem uma elevada actividade biológica,

presumivelmente porque o aumento da sua semi-vida plasmática ultrapassa a desvantagem na ligação ao receptor. Uma vez que a darbepoetina- α tem um perfil de glicosilação e, conseqüentemente, uma carga eléctrica diferente da Epo endógena, o IFT permite detectá-la inequivocamente.^[66]

A epoetina- δ é uma molécula de rhEpo recentemente desenvolvida que é produzida por activação genica em células de fibrossarcoma humano, nas quais foi transferido um fragmento de DNA que activa o promotor da Epo.^[67]

A Peg-epoetina β , ou activador contínuo do receptor da eritropoiese (CERA), representa a terceira geração de ESA's. Tem o mesmo mecanismo de acção que a rhEpo e a darbepoetina; no entanto, tem maior dimensão que ambas pois possui uma ligação química com o polímero Peg de 30kDa, e tem uma grande semi-vida plasmática devido ao tamanho hidrodinâmico aumentado da molécula.^[68]

A patente da primeira geração de rhEpo expirou em 2004, o que motivou o início da produção de versões genéricas de epoetinas (pretensos biossimilares) e a sua comercialização.^[69] Recentemente, Macdougall e Ashenden estimaram que cerca de 80 destes produtos podem ser vendidos em países emergentes. Este facto influencia bastante o futuro da luta contra o abuso de rhEpo no desporto.^[70]

VI – Conclusões

A Epo tem reconhecidos efeitos ergogénicos no aumento da capacidade transportadora de O₂, e a síntese de rhEpo permitiu o seu uso com fins terapêuticos. O recurso à rhEpo está indicado em diversas situações, nomeadamente no tratamento de vários tipos de anemias. Este fármaco não está isento de efeitos adversos mas os seus benefícios compensam os riscos, estando muitos doentes a usufruir de uma grande melhoria na sua qualidade de vida e bem-estar.

Infelizmente, este produto criado com claro propósito terapêutico invadiu os bastidores do desporto, onde atletas saudáveis usam a rhEpo de forma imprudente, ignorando os riscos acrescidos desta substância no exercício físico, nomeadamente face à desidratação. Esta prática perigosa e anti-ética tem sido combatida pelas autoridades desportivas com a implementação de testes directos e indirectos na pesquisa da rhEpo.

Actualmente, a rhEpo, seus análogos e miméticos constituem um grande desafio para o controlo anti-doping. As autoridades desportivas, organizações anti-doping e comunidade científica têm unido esforços com o intuito de acompanhar a evolução destas novas moléculas, procurando desenvolver testes capazes de as identificar.

De forma a complementar o programa de testes anti-doping, um componente educacional é indispensável, para informar e esclarecer médicos, dirigentes desportivos, treinadores e atletas a respeito não só das questões éticas mas também dos problemas de saúde inerentes ao abuso da rhEpo.

VI – Referências Bibliográficas

- [1] Elliott, S. Erythropoiesis-stimulating agents and other methods to enhance oxygen transport. *Br. J. Pharmacol.*, **2008**, *154*, 529-41.
- [2] Cruz, A.M. Resistência Aeróbia e Eritropoetina. Estudos, Goiânia, **2006**, *33*, 553-72.
- [3] Robinson N, Giraud S, Saudan C, Baume N, Avois L, Mangin P, Saugy M. Erythropoietin and blood doping. *Br J Sports Med.* **2006**; 40 Suppl 1:i30-4.
- [4] Jelkmann, W. Beneficial and adverse Effects of Erythropoietin Therapy. *Doping: Biomedical Side Effects*, Cologne, **2001**, 35-41.
- [5] Bento, R et al. Eritropoetina humana recombinante no esporte: uma revisão. *Rev Bras Med Esporte* **2003**, *9*, 169-180.
- [6] Alberts B, et al. *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Publishing, **1994**.
- [7] Tentori L, Graziani G. Doping with growth hormone/IGF-1, anabolic steroids or erythropoietin: is there a cancer risk? *Pharmacol Res.* **2007**;55(5):359-69.
- [8] Adamson JW. Regulation of red blood cell production. *Am J Med* **1996**; 101:S4-6.
- [9] Fisher JW. Erythropoietin: Physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med* (Maywood) **2003**; 228:1-14.

- [10] Browne JK, et al. Erythropoietin: gene cloning, protein structure, and biological properties. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, **1986**; 51:693-702.
- [11] Pascual JA, et al. Recombinant Erythropoietin and Analogues: a challenge for doping control. *Ther Drug Monit*, **2004**;26(2):175-9.
- [12] Fried W. Regulation of extrarenal erythropoietin production. *Adv Exp Med Biol* **1989**; 271:39-51.
- [13] Bauer C. The oxygen sensor that controls EPO production: facts and fancies. *J Perinat Med* **1995**;23:7–12.
- [14] Ebert BL, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene. *Blood* **1999**; 94:1864–77.
- [15] Thorling EB, Erslev AJ. The “tissue” tension of oxygen and its relation to hematocrit and erythropoiesis. *Blood* **1968**;31:332–43.
- [16] Ekblom BT. Erythropoietin. In: Bahrke MS, Yesalis CE, editors. *Performance-enhancing substances in sport and exercise*. USA: Human Kinetics, **2002**, 101-7.
- [17] Jelkmann W, et al. Monokines inhibiting erythropoietin production in human hepatoma cultures and in isolated perfused rat kidneys. *Life Sci* **1992**;50:301–8.

- [18] Geminard C, et al. Reticulocyte maturation: mitoptosis and exosome release. *Biocell* **2002**;26:205–15.
- [19] Diamanti-Kandarakis E, et al. Erythropoietin abuse and erythropoietin gene doping: detection strategies in the genomic era. *Sports Med.* **2005**;35(10):831-40.
- [20] Cazzola M. Erythropoietin Pathology, Clinical Uses of Recombinant Human Erythropoietin, and Medical Risks of Its Abuse in Endurance Sports. ISLH XIVth International Symposium, **2001**, 20-27.
- [21] Ergle JC, Browne JK. Development and characterization of novel erythropoietin stimulating protein (NESP). *Nephrol Dial Transplant* **2001**; 16 Suppl. 3: 3-13.
- [22] Sakanaka M, et al. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci USA* **1998**;95:4635–40.
- [23] Se, J. Nonerythropoietic roles of erythropoietin in the fetus and neonate. *Clin Perinatol.*, **2000**, v. 27, n. 3, 527-541.
- [24] Caldini A, et al. Epoetin alpha, epoetin beta and darbepoetin alfa: two-dimensional gel electrophoresis isoforms characterization and mass spectrometry analysis. *Proteomics* **2003**;3:937–41.
- [25] Audran M, Gareau R. Evaluation of Methods to Assess Erythropoietic Stimulation. ISLH XIVth International Symposium, **2001**, 20-27.

[26] Lin FK, *et al.* Cloning and expression of the human erythropoietin gene. Proc Natl Acad Sci USA **1985**; 82: 7580–4.

[27] Spinowitz BS, Pratt RD; Epoetin Delta 2002 Study Group. Epoetin delta is effective for the management of anaemia associated with chronic kidney disease. Curr Med Res Opin **2006**; 22: 2507–13.

[28] River L, Saugy M. Peptides hormones abuse in sport: state of the art in the detection of growth hormone and erythropoietin. J Toxicol-Toxin Reviews. **2003**.

[29] Birkeland K, Hemmersbach. The future of doping control in athletes – Issues related to blood sampling. Sports Med **1999**, 28: 25-33.

[30] Suassuna J. Via de administração da eritropoietina. J Bras Nefrol **2000**, 22: 29-31.

[31] Goldberg MA. Erythropoiesis, erythropoietin, and iron metabolism in selective surgery: preoperative strategies for avoiding allogeneic blood exposure. Am J Surg **1995**; 179:S37-43.

[32] Variet-Marie E, *et al.* Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of recombinant human erythropoietin in athletes. Int J Sport Med **2003**, 24(4): 252-257.

[33] Jansen J, et al. Comparison of dose requirement, serum erythropoietin, and blood pressure following intravenous and subcutaneous erythropoietin treatment in dialysis patients. *Eur J Clin Pharmacol* **1996**; 50: 171-7.

[34] Dunn J, Markham A. Epoetin beta, a review of its pharmacological properties and clinical use in the management of anemia with chronic renal failure. *Drugs* **1996**; 5:299-318.

[35] Kaushansky K, Kipps TJ. Hematopoietic agents. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. *The pharmacological basis of therapeutics*. 11th ed. New York: Goodman & Gilman's; **2005**. p. 1433–65 [Chapter 53].

[36] Delanghe JR, Bollen M, Beullens M. Testing for recombinant erythropoietin. *Am J Hematol* **2008**; 83: 237–41.

[37] Collins A, et al. Trends in anemia treatment with erythropoietin usage and patients outcomes. *Am J Kidney Dis* **1998**.

[38] Coness, P. et al. Injections of recombinant human erythropoietin increases lactate influx into erythrocytes. *J. Appl Physiol* **2004**; 97(1): 326-332.

[39] Macdougall I. Anaemia of Chronic Renal Failure. *Medicine*. **2007**.

[40] Robinson N, et al. Erythropoietin Abuse in Sports. *Symex Journal International*. **2003**. 13(2): 75-77.

[41] Bennett CL, et al. Long-term outcome of individuals with pure red cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant epoetin: a follow-up report from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) Project. *Blood* **2005**;106:3343–7.

[42] Armstrong DJ, Reilly T. Blood boosting and sport. In: Mottram DR, editor. *Drugs in sport*. 4th ed. London: Mottram DR; **2006**. p. 207–25 [Chapter 7].

[43] Barroso O, et al. Hormone abuse in sports: the antidoping perspective. *Asian J Androl*. **2008**;10(3):391-402.

[44] Corrigan B. Beyond EPO. *Clin J Sport Med* **2002**;12(4):242-4.

[45] Piloto N, et al. Erythropoietin promotes deleterious cardiovascular effects and mortality risk in a rat model of chronic sports doping. *Cardiovasc Toxicol*. **2009**;9(4):201-10.

[46] Eichner ER. Blood doping: infusions, erythropoietin and artificial blood. *Sports Med* **2007**; 37: 389–91.

[47] Adamson JW, Vapnek D. Recombinant erythropoietin to improve athletic performance. *N Engl J Med* **1991**;324:698–699.

[48] Ekblom B, Berglund B. Effects of erythropoietin administration on maximal aerobic power. *Scand J Med Sci Sports* **1991**;1:88–93.

[49] Cowgill LD, et al. Use of recombinant human erythropoietin for management of anemia in dogs and cats with renal failure. *J Am Vet Med Assoc*, **1998**. 212: 521–528.

[50] Yu NH, et al. Doping control analysis of recombinant human erythropoietin, darbepoetin alfa and methoxy polyethylene glycol-epoetin beta in equine plasma by nano-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **2010**;396(7):2513-21.

[51] Trial J, Rice L, Alfrey CP. Erythropoietin withdrawal alters interactions between young red blood cells, splenic endothelial cells, and macrophages: an *in vitro* model of neocytolysis. *Investig Med* **2001**; 49: 335–45.

[52] Kalantar-Zadeh K, et al. Time-dependent associations between iron and mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* **2005**, 16: 3070–3080.

[53] Lage J, et al. Cyclist's doping associated with cerebral sinus thrombosis. *Neurology* **2002**; 58: 665.

[54] Wang, M, et al. Erythropoietin production from CHO cells grown by continuous culture in a fluidized-bed bioreactor. *Biotechnol Bioeng* **2002**; 77(2): 194-203.

[55] Choi D, et al. Erythropoietin: physico- and biochemical analyses. *J Chrometogr B Biomed Appl* **1996**; 687(1): 189-99.

[56] Lasne F, de Ceaurriz J. Recombinant erythropoietin in urine. *Nature* **2000**; 405(6787): 635.

[57] Catlin D, et al. Comparison of the isoelectric focusing patters of darbepoetin alfa, recombinant human erythropoietin, and endogenous erythropoietin from human urin. *Clin Chem* **2002**; 48(11): 2057-9.

[58] Lamon S, et al. Procedures for Monitoring Recombinant Erythropoietin and Analogs in Doping. *Endocrinol Metab Clin N Am* **2010**; 39: 141-154.

[59] Tsivou M, et al. Stabilization of human urine doping control samples. *Anal Biochem* **2009**;388(2):179-91.

[60] Segura J,et al. Procedures for monitoring recombinant erythropoietin and analogues in doping control. *Anal Bioanal Chem* **2007**;388(7):1521-9.

[61] Parisotto R, et al. The effect of common hematologic abnormalities on the ability of blood models to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* **2003**; 88(8):931-40.

[62] Gore CJ, et al. Second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* **2003**;88(3):333-44.

- [63] Sharpe K, et al. A third generation approach to detect erythropoietin abuse in athletes. *Haematologica* **2006**; 91(3):356-63.
- [64] Lamon S, et al. Possible origins of undetectable EPO in urine samples. *Clin Chim Acta* **2007**; 385: 61–6.
- [65] Jelkmann W. Erythropoiesis stimulating agents and techniques: a challenge for doping analysts. *Curr Med Chem* **2009**;16(10):1236-47.
- [66] Lasne F, et al. Detection of isoelectric profiles of erythropoietin in urine: differentiation of natural and administered recombinant hormones. *Anal Biochem* **2002**; 311(2): 119-26.
- [67] Barbone F, et al. New epoetin molecules and novel therapeutic approaches. *Nephrol Dial Transpl* **1999**; 14(Suppl 2): 80-4.
- [68] Yamaoka T, et al. Distribution and tissue uptake of poly(ethylene glycol) with different molecular weights after intravenous administration to mice. *J Pharm Sci* **1994**; 83: 601–606.
- [69] Schellekens H. The first biosimilar epoetin: but how similar is it? *Clin J Am Soc Nephrol* **2008**; 3(1): 174-8.

[70] Macdougall I, Ashenden M. Current and upcoming erythropoiesis-stimulating agents, iron products, and other novel anemia medications. *Adv Chronic Kidney Dis* **2009**; 16(2): 117-30.

VIII - Anexos

Anexo 1

[4. Sangue / 4.2. Factores de crescimento estimulantes da hematopoiese / Eritropoetinas / Epoetina alfa](#)

Indicações: Anemia da IR crónica, com défice em eritropoetina; em hemodialisados ou em diálise peritoneal; anemia dos doentes com tumores sólidos submetidos a quimioterapia com compostos de platina; anemia da síndrome de imunodeficiência adquirida tratada com **zidovudina**; anemia das doenças da medula óssea; para aumentar o rendimento do sangue autólogo em programa de pré-doação, nas anemias moderadas, antes da cirurgia ortopédica electiva; prevenção de anemia em prematuros de baixo peso.

Reacções adversas: Aumento rápido do hematócrito: hipertensão, complicações trombóticas e convulsões tónico-clónicas; cefaleias, estados confusionais, hipertensão, trombocitose transitória, subida do hematócrito, reacções de hipersensibilidade, anafilaxia, convulsões, hipercaleiemia, subida de ureia e dos fosfatos sanguíneos e possível enfarte do miocárdio.

Contra-indicações e precauções: Recomenda-se controlar a pressão sanguínea durante a administração e interromper, se surge cefaleia de tipo enxaqueca, um aviso de crise hipertensiva; evitar na doença cardiovascular, incluindo enfarte do miocárdio recente ou acidente cerebrovascular. O ritmo de administração IV não deverá ocasionar subida da hemoglobina superior a 2 g/100 ml/mês até um valor estável de 10-12 g/100 ml no adulto e 9,5 g/100 ml na criança; recomenda-se o aumento da dose de heparina, durante a hemodiálise com administração de epoetina, pelo aumento do hematócrito e a profilaxia da trombose pela administração de um antiagregante plaquetário. O uso de ferro por via oral é necessário sempre que a ferritina sérica é inferior a 100 g/l; controlar os níveis séricos de potássio, fósforo e o número de plaquetas. Durante a gravidez e a lactação usar só se for absolutamente necessário. A toxicidade pelo alumínio reduz a resposta à epoetina. Por via SC injectar no máximo 1 ml em cada local. Não usar a via SC na IR crónica.

Posologia: [Adultos] - Fase de correcção: 50-500 UI/Kg de peso, 3 vezes/semana (até um máximo de 720 UI/Kg/semana) de 1 só vez ou dividida em fracções, com ajustes da dosagem de 25 UI/Kg, 3 vezes por semana; dose de manutenção (com hemoglobina de 10-12 g/100 ml): 75-300 UI/Kg; *tumores sólidos*: 450 UI/Kg/semana.

Anemia da IR crónica ainda sem diálise: IV durante 4-5 minutos: 50 UI/Kg, 2 vezes/semana; dose de manutenção (com hemoglobina de 10-12 g/100ml): 25-50 UI/Kg, 2 vezes/semana.

Anemia da IR crónica em doente sob diálise peritoneal: por IV 1-5 minutos: 50 UI/kg, 2 vezes/semana; dose de manutenção (com hemoglobina de 10-12 g /100ml): 25-50 UI/Kg, 2 vezes/semana;

Anemia em adultos que recebem quimioterapia por cancro: SC (max. 1mL/local de injeção) 150 UI/Kg 3 vezes/semana, aumentar para 300 UI/Kg se a resposta for inadequada após 4 semanas; reduzir para 25-50% a dose se a subida da hemoglobina exceder 2 g/100 mL de hemoglobina por mês.

Anemia moderada antes de cirurgia ortopédica selectiva em adultos: SC (max. 1 mL por local de injeção): 600 UI/Kg 2 vezes/semana, durante 3 semanas antes da cirurgia, ou no dia da cirurgia ou 300 UI/Kg/dia durante 10 dias a iniciar 10 dias antes da cirurgia.

Manutenção: em regra metade do valor inicial.

[Crianças] - Inicialmente como para os adultos; dose de manutenção (com hemoglobina de 9,5-11g/100ml): < 10 Kg de peso corporal: 75-150 UI/Kg 3 vezes/semana; 10-30 Kg: 60-150 UI/ Kg 3 vezes/semana; > 30 Kg: 30-100 UI/Kg 3 vezes/semana.

Epoetina alfa

Agrupamento	Dosagem / Composição	Nome do medicamento	Dispensa - E/P (se aplicável)	Forma farmacêutica	Embalagem	PVP(€)	PMU(€)	Com part. - PR (se aplicável)	Titular AIM
Mistas	4000 U.I./0.4 ml	Eprex 10000 UI/ml Solução Injectável em Seringas Pré-cheias	<u>MSRM restrita - Alínea b) do Artigo 118º do D.L. 176/2006</u>	Sol. inj.	Seringa pré-cheia - 6 unidades - 0.4 ml	291.83 €	48.6383 €	0%	Janssen-Cilag
Mistas	3000 U.I./0.3 ml	Eprex 10000 UI/ml Solução Injectável em Seringas Pré-cheias	<u>MSRM restrita - Alínea b) do Artigo 118º do D.L. 176/2006</u>	Sol. inj.	Seringa pré-cheia - 6 unidades - 0.3 ml	215.77 €	35.9617 €	0%	Janssen-Cilag

Não existem medicamentos genéricos desta substância activa no Prontuário Terapêutico.

Retirado de <http://www.infarmed.pt/>

Anexo 2

4. Sangue / 4.2. Factores de crescimento estimulantes da hematopoiese / Eritropoetinas / Epoetina beta

Indicações: Anemia da insuficiência renal crónica, anemia dos doentes com tumores sólidos submetidos a quimioterapia, anemia da síndrome de imunodeficiência adquirida tratada com **zidovudina**, anemia das doenças da medula óssea.

Reacções adversas: Subida da pressão sanguínea dependente da dose, crises hipertensivas, cefaleias, estados confusionais, trombocitose transitória, subida do hematócrito, reacções de hipersensibilidade.

Contra-indicações e precauções: Hipertensão não controlada e ainda doença isquémica periférica, trombocitose, epilepsia, doença hepática crónica. Vigiar a pressão sanguínea, a hemoglobina e os electrólitos. Recomenda-se o aumento da dose de heparina, durante a hemodiálise com administração de epoetina, pelo aumento do hematócrito e a profilaxia da trombose pela administração de um antiagregante plaquetar. A terapêutica com ferro oral é necessária sempre que a ferritina sérica é inferior a 100 µg/l. Devem controlar-se os níveis séricos de potássio e fosfato e ainda, regularmente, o número de plaquetas. Interromper o tratamento se surgir enxaqueca súbita, indicativa de crise hipertensiva. Evitar na doença cardiovascular, incluindo enfarte do miocárdio recente ou acidente cerebrovascular. Usar na gravidez e durante o aleitamento só se for absolutamente necessária. A toxicidade pelo alumínio reduz a resposta à epoetina. A via de administração recomendada é a subcutânea com um máximo de 1 ml em cada local.

Interacções: Não foram referidas, até ao presente, interacções para a **epoetina beta**.

Posologia: [Adultos] - Anemia da insuficiência renal crónica: SC inicialmente 50 UI/Kg/semana em 1 a 7 fracções, 4 semanas; se necessário, aumentar 60 UI/Kg a intervalos de 4 semanas; reduzir a dose a metade quando a Hb=10-12 g/100 ml (max.: 720 UI/Kg/semana); IV 40 UI/Kg 3 vezes/semana, 4 semanas; aumentar até 80 UI/Kg 3 vezes/semana de acordo com a resposta; reduzir a dose a metade quando a Hb=10-12 g/100 ml.

Tumores sólidos: SC 450 UI/Kg/semana, em 3-7 fracções; aumentar, se necessário, após 4 semanas para 900 UI/Kg/semana em 3-7 fracções; suspender se Hb ≥ 14 g/100 ml.

[Crianças] : Via IV: Dose igual à do adulto; *Prevenção de anemias no prematuro:* 0,75-1,5 Kg ou < 34 semanas de gestação: subcutânea - 250 UI/Kg 3 vezes/semana, com início no 3º dia e continuar durante 6 semanas.

Nota: Medicamentos contendo este fármaco não se encontram disponíveis em farmácia comunitária.

Lista de Substâncias e Métodos Proibidos

1 de Janeiro de 2011 (Data de Entrada em Vigor)

SUBSTÂNCIAS E MÉTODOS PROIBIDOS EM COMPETIÇÃO E FORA DE COMPETIÇÃO

S0. SUBSTÂNCIAS NÃO APROVADAS OFICIALMENTE

(por ex. substâncias sob desenvolvimento pré-clínico ou clínico, ou que foram descontinuadas) é proibida em competição e fora de competição.

SUBSTÂNCIAS PROIBIDAS

S1. AGENTES ANABOLISANTES

1. Esteróides androgénicos anabolisantes

S2. HORMONAS PEPTÍDICAS, FACTORES DE CRESCIMENTO E SUBSTÂNCIAS RELACIONADAS

1. Agentes Estimulantes da Eritropoiese. [por ex. Eritropoietina (EPO), darbopoietina (dEPO), estabilizadores dos factores indutores de hipóxia (HIF), metoxi polietileno glicol-epoiteina beta (CERA), peginesatida (Hematida)];

2. Gonadotrofina Coriónica (CG) e Hormona Luteinizante (LH), proibidas apenas nos praticantes desportivos do sexo masculino;

3. Insulinas;

4. Corticotrofinas;

5. Hormona de crescimento (hGH), Factores de crescimento fibroblásticos (FGFs), Factores de crescimento hepatocitários (HGF), Factores de crescimento insulina-like (IGF-1), Factores de crescimento mecânicos (MGFs), Factores de crescimento plaquetários (PDGF) e Factores de crescimento vasculo-endoteliais (VEGF)

S3. BETA-2 AGONISTAS

S4. ANTAGONISTAS HORMONAIIS E MODULADORES

1. Inibidores da aromatase

2. Modeladores selectivos dos receptores dos estrogénios (SERMs)

3. Outras substâncias anti-estrogénicas

4. Agentes modificadores da(s) função(ões) da miostatina

S5. DIURÉTICOS E OUTROS AGENTES MASCARANTES

MÉTODOS PROIBIDOS

M1. INCREMENTO DO TRANSPORTE DE OXIGÉNIO

M2. MANIPULAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA

M3. DOPAGEM GENÉTICA

SUBSTÂNCIAS E MÉTODOS PROIBIDOS EM COMPETIÇÃO

As seguintes categorias são proibidas *Em Competição*, para além das incluídas nas categorias S0 a S5 e M1 a M3, descritas anteriormente:

SUBSTÂNCIAS PROIBIDAS

S6. ESTIMULANTES

S7. NARCÓTICOS

S8. CANABINÓIDES

S9. GLUCOCORTICOSTERÓIDES

SUBSTÂNCIAS PROIBIDAS EM ALGUNS DESPORTOS EM PARTICULAR

P.1 ÁLCOOL

P.2 BETA-BLOQUEANTES

Adaptado de <http://www.idesporto.pt/>