



Universidade de Coimbra

Faculdade de Medicina

Revisão das características farmacológicas de Meldonium. Uso no desporto como doping.



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA



Discente: Oksana Yatsynych

Orientador: Carlos Alberto Fontes Ribeiro

Coimbra 2018

ÍNDICE

Resumo.....	I
Abstract.....	II
Abreviaturas.....	III
Introdução.....	1
Materiais e Métodos.....	2
Capítulo I: Meldonium. Informação geral.....	3
1.1) História.....	4
1.2) Nomes de marca de Meldonium.....	4
1.3) O papel de Meldonium no metabolismo energético.....	4
Capítulo II: Os processos relacionados com a ação de Meldonium	7
2.1) Beta-oxidação.....	8
2.2) L-carnitina.....	10
2.2.1) Introdução da molécula.....	10
2.2.2) Biossíntese de L-carnitina.....	11
2.2.3) Função de L-carnitina.....	13
Capítulo III: Revisão estrutural, bioquímica e funcional de Meldonium.....	14
3.1) Introdução da molécula.....	15
3.2) Grupo fármaco e usos comuns.....	16
3.3) O mecanismo de ação.....	16
3.4) Efeitos finais de Meldonium.....	17
3.5) Comprovativo laboratorial.....	17
3.6) Metabolismo e eliminação de Meldonium.....	18
Capítulo IV: Utilização do Meldonium em Medicina Clínica.....	19
4.1) Em Cardiologia.....	20
4.2) Em Neurologia.....	21

4.3) Em Imunologia.....	23
4.4) Em pneumologia.....	23
4.5) Em doenças metabólicas.....	23
Capítulo V: Meldonium e exercícios físicos.....	24
Capítulo VI: Meldonium como dopagem.....	26
6.1) Informação geral.....	27
6.2) Critérios para a inclusão de substâncias proibidas na Lista Proibida.....	27
6.3) Por que Meldonium está incluído na Lista Proibida.....	28
6.4) Métodos de deteção de Meldonium.....	29
Capítulo VII: Discução.....	30
Capítulo VIII: Conclusão.....	33
Capítulo IX: Bibliografia.....	35

Resumo

O Meldonium é um análogo estrutural do precursor de Carnitina, cujo mecanismo principal é inibir a síntese de Carnitina que é um transportador de FA do citoplasma para o interior da mitocôndria, local onde estes são oxidados. O principal objetivo da ação do Meldonium é alteração o processo da produção de ATP da oxidação dos ácidos gordos (FA), que requer alto consumo de oxigênio, até à glicólise, que aumenta da eficiência da produção de ATP.

Nos certos países, o Meldonium é utilizado na prática médica para a normalização de funcionamento das estruturas celulares expostas a falta de oxigenação e é indicado para fins terapêuticos nas doenças cardiovasculares, metabólicas, neurológicas, nos períodos pós-operatórios e no caso de síndrome de abstinência no alcoolismo crónico.

Devido ao crescente número de evidências sobre o uso indevido no desporto, em 2015 o Meldonium entrou no Programa de Monitorização de WADA. Durante a realização de Jogos Europeus em Baku em 2015, foi realizada uma análise, que revelou o Meldonium em grande parte dos atletas. Em geral o Meldonium foi detectado em 15 modalidades de desporto das 21. Em 2016 o Meldonium foi incluído na Lista de substâncias e métodos proibidos em todos os períodos (dentro e fora de competições). O objetivo do trabalho foi analisar os dados científicos disponíveis sobre o Meldonium e tentar chegar a uma conclusão se a substância de fato tem um efeito estimulante no organismo humano.

Os estudos que foram realizados sobre o Meldonium, não têm um alto nível de evidência e até esta altura não existem resultados que claramente confirmem ou neguem as propriedades do Meldonium como doping.

Palavras-chaves: Meldonium, desporto, dopagem, carnitina, beta-oxidação, metabolismo energético.

Abstract

Meldonium is a structural analogue of the Carnitine precursor, whose main mechanism is to inhibit the synthesis of Carnitine, which is a carrier of FA from the cytoplasm into the mitochondria, where they are oxidized. The main objective of the action of Meldonium is to alter the ATP production process of fatty acid oxidation (FA), which requires high oxygen uptake to glycolysis, which increases the efficiency of ATP production.

In certain countries, Meldonium is used in medical practice to normalize the functioning of cellular structures exposed to lack of oxygenation and is indicated for therapeutic purposes in cardiovascular, metabolic, neurological diseases in the postoperative periods and in the case of withdrawal syndrome not chronic alcoholism.

Due to increasing evidence of misuse in sport, in 2015 Meldonium entered the WADA Monitoring Program. During the European Games in Baku in 2015, an analysis was performed, which revealed the Meldonium in 66 athletes of the 762 (8.7%) during and before the competitions and in 22 athletes (of which 13 winners) of the 662 (3, 5%), who personally announced the use of Meldonium. In general, Meldonium was detected in 15 sports modalities of 21. In 2016, Meldonium was included in the List of prohibited substances and methods in all periods (inside and outside competitions). The objective of the study was to analyze the available scientific data on Meldonium and to try to reach a conclusion as to whether the substance actually has a stimulating effect on the human body.

Studies that have been conducted on Meldonium do not have a high level of evidence and to date there are no results that clearly confirm or deny the properties of Meldonium as doping.

Keywords: Meldonium, sport, doping, carnitine, beta-oxidation, energy metabolism.



Abreviaturas

WADA – World Antidoping Agency

FDA – Food and Drug Administration

CNS – Central nervous system

FA – Fatt acid

ATP – Adenosina trifosfato

P/O ratio – Phosphate/Oxygen Ratio

Acetil-CoA – Acetilcoenzima A

TCA – Tricarboxylic acid cycle

NADH – Nicotinamide adenine dinucleotide + H⁺

FADH₂ – Flavin adenine dinucleotide + H₂

ACS – Acyl-CoA synthase

CPT1 – Carnitine palmitoyltransferase 1

CACT – Carnitine/acylcarnitine translocase

CPT2 – Carnitine palmitoyltransferase 2

CrAT – Carnitine acetyltransferase

TML – 6-N-Trimethyllysine

HTML – 3-Hydroxy-6-N-trimethyl lysine

TMLD – N-Trimethyllysine dioxygenase

HTMLA – 3-Hydroxy-N-trimethyllysine

TMABA – 4-N-Trimethylamino butyrobetaine aldehyde



TMABA-DH – 4-N-Trimethylamino butyrobetaine aldehyde dioxygenase

GBB – Gamma butyrobetaine

GBBD – Gamma butyrobetaine dioxygenase

Fe²⁺ – Ião ferro(II)

CO₂ – Dióxido de carbono

H₂O – Dihydrogen monoxide

mRNA – Messenger RNA (Ribonucleic acid)

OCTN1 – Organiccation/carnitine transporter 1

OCTN2 – Organiccation/carnitine transporter 2

NO – Nitric oxide

EEG – Eletroencefalografia

MRPL – Minimum Required Performance Levels

HILIC-HRMS – Hydrophilic interaction liquid chromatography-high resolution mass spectrometry

LOD – Limit of Detection

Introdução

Meldonium é um análogo estrutural do precursor de Carnitina GBB (gamma-butirotetaine), que inibe a síntese de Carnitina e, portanto, altera os processos do metabolismo das gorduras. A droga, que por muito tempo foi utilizada nos Países Pós-União Soviética para tratamento de doenças isquémicas e outros distúrbios de metabolismo há uns anos chamou a atenção da Agência Mundial Antidopagem (WADA). Depois de um período de monitorização esta droga ficou incluída na Lista de substâncias e métodos proibidos a partir de 1 de janeiro de 2016, onde foi classificada como uma substância não especificada na classe dos Moduladores Metabólicos. Como foi revelado, centenas dos atletas usavam o Meldonium para acelerar a recuperação do corpo após treinamentos exaustivos.

Os inventores da droga do Instituto Letão de síntese orgânica e companhia Grindeks, que é o principal produtor e distribuidor da droga, negam categoricamente a ação do Meldonium como doping e têm repetidamente submetido declarações para a WADA sobre a exclusão da droga da lista das substâncias proibidas.

Até esta altura não existem estudos diretos cujos resultados claramente confirmem ou neguem as propriedades do Meldonium como doping.

Para que a WADA adicione alguma substância ou método à lista proibida, não há necessidade de realizar as pesquisas especiais. Por sua vez, a outra parte considera esta decisão como uma ação política e afirma que a proibição do Meldonium por WADA leve os atletas a perderem a possibilidade de recuperação adequada após o exercício.

O objetivo deste trabalho é descrever os mecanismos da ação do Meldonium no corpo humano, bem como tentar responder à questão – se a droga tem as propriedades de uma substância dopante.

Materiais e Métodos

Ao iniciar a minha pesquisa do tema tinha enviado as cartas a WADA, ao Instituto Letão de síntese orgânica e à companhia Grindeks. O diretor do Instituto Letão não me ofereceu os resultados dos estudos que podiam confirmar a possível ação de doping do Meldonium, mas aconselhou focar a minha atenção nas publicações da Maija Dambrova, outra cientista letã. Fui consultar a PubMed, onde consegui encontrar os artigos da autora mencionada. Também no trabalho foram incluídas publicações referenciadas nos artigos que resultaram desta pesquisa. Esta restringiu-se nos artigos em língua inglesa e, em geral, envolveu as publicações num período do tempo desde 2002 até 2018. A maioria dos artigos consultados foram publicados nos últimos 4 anos.

CAPÍTULO I: MELDONIUM.

INFORMAÇÃO GERAL.

1.1) Historia.

O Meldónium foi desenvolvido nos meados dos anos 70 do século passado pelo grupo de cientistas do Instituto Letão de síntese orgânica sob liderança do Professor Ivars Kalvins [1]. Na altura Ivar Kalvins estava a trabalhar com dois tarefas ao mesmo tempo – tentava desenvolver uma droga que iria ajudar a aguentar a carga física no corpo humano e procurou uma solução para resolver o problema de utilização de combustível de mísseis. Como resultado, ele sintetizou esta substância a partir de combustível de míssil. Em 1976, a droga foi patenteada na União Soviética como um remédio para o controlo do crescimento das plantas e estimular o crescimento dos animais domésticos [2]. Em 1884 a molécula foi registada nos Estados Unidos. Durante as observações e pesquisas seguintes verificou-se que a substância tem propriedades de um cárdio-protector nos animais e após anos de estudos clínicos adicionais, em 1988, a droga obteve a permissão para ser usado em medicina clínica. A partir do ano 1992 Meldonium é registado na Letónia e é produzido pela Grindeks.

Neste momento a droga é registrada para uso em medicina apenas em 10 países - Azerbaijão, Bielorrússia, Geórgia, Cazaquistão, Quirguistão, Moldávia, Ucrânia, Uzbequistão e Rússia [3], mas, além disso, há dados que indicam uma vasta prevalência do produto em países onde o medicamento não está registrado [4].

1.2) Nomes de marca (distribuidor, país):

- Meldonium (UP Minskintercaps, Geórgia)
- Meldonium Olainfarm (Olainfarm, Letónia)
- Meldonium-MIK (UP Minskintercaps, Geórgia)
- Mildronat (Grindeks, Geórgia; Sanitas, Geórgia)
- Mildronat Grindeks (Grindeks, Letónia)
- Mildronats (Grindeks, Geórgia)
- Mildroxyn (Aversi, Geórgia)
- Vazomag (Olainfarm, Federação Russa)
- Midromax (BioPolus, Geórgia)
- Mildronate (Grindeks, Lituânia)
- Cardionato (STADA, Federação Russa)
- Milkor (GMP, Geórgia) [5].

Meldonium é utilizado na prática médica para a normalização de funcionamento das estruturas celulares expostas a falta de oxigenação e é indicado para fins terapêuticos nas doenças cardiovasculares, metabólicas, neurológicas, nos períodos pós-operatórios e no caso de síndrome de abstinência no alcoolismo crónico [3]. Além disso, a droga é amplamente utilizada pelos atletas como uma droga anti isquémica que fornece o aumento do desempenho e da resistência dos atletas, melhora a reabilitação após o exercício físico e contribui para a proteção contra stress, ativando o sistema nervoso central (SNC) [2]. Também demonstra benefícios cognitivos [5].

Desde o ano 2012 o Meldonium está incluído na lista de medicamentos terapêuticos vitais na Rússia [6].

Em 2015 a droga foi adicionada ao Programa de Monitorização de WADA e em 2016 incluído na Lista de substâncias e métodos proibidos em todos os períodos (dentro e fora de competições).

1.3) O papel do Meldonium no metabolismo energético.

O principal objetivo da ação do Meldonium é alteração o processo da produção de ATP (adenosina trifosfato) da oxidação dos ácidos gordos (FA) até à glicólise.

Como é conhecido, em condições normais quando não há défice de oxigênio, como principal substrato de energia são utilizados ácidos gordos (80%) e glucose (20%) [7].

Comparando os ácidos gordos (por exemplo, palmitato) e glucose, a oxidação do palmitato de uma molécula completa fornece 105 moléculas de ATP e consome 46 átomos de oxigênio, enquanto que a oxidação de 1 molécula de glucose dá 31 moléculas de ATP e consome 12 átomos de oxigênio. Portanto, embora a utilização dos ácidos gordos como um substrato, obviamente, gere mais quantidades de ATP, isto exige maior consumo de oxigênio do que a oxidação da glucose. Assim, para a síntese de ATP, o palmitato é um substrato energético menos “oxigênio-eficiente” do que a glucose [8].

Além disso, o metabolismo do miocárdio altera-se em condições isquémicas. FAs de cadeia curta e longa entram em mitocôndrias, mas o sangue não tem oxigênio suficiente para as oxidar. Por causa disso, nas mitocôndrias do tecido isquémico, os metabólitos não oxidados de FA (acil-carnitina e acil-CoA) se acumulam, bloqueando o transporte de ATP previamente sintetizado da mitocôndria para o citosol. Isso causa um efeito devastador na membrana celular, o que pode levar à morte isquémica das células.

A partir disso, conclui-se que é necessário limitar o fluxo de FA de cadeia longa através de membrana mitocondrial para corrigir a perturbação do metabolismo nas células isquémicas, simultaneamente ativar um mecanismo alternativo de oxidação da glucose para a produção de energia nas células. Em condições de déficit de oxigênio, é mais lucrativo usar a oxidação da glucose do que a FA, porque esse processo requer menos oxigênio. A formação de ATP através da glicólise aeróbica requer 12% menos do oxigênio do que a produção de ATP pela oxidação de FA [9].

Meldonium, como inibidor da oxidação de ácidos gordos, lança uma cascata de processos que impedem o acúmulo de grande número de FAs não oxidados nas células e ativam a captura e a oxidação da glucose por células.

Para uma melhor compreensão do mecanismo de ação de Meldonium é preciso descrever as estruturas e os processos básicos que ele afeta.

CAPÍTULO II: OS PROCESSOS **RELACIONADOS COM A AÇÃO DE** **MELDONIUM.**

2.1) Beta oxidação.

A beta oxidação dos ácidos gordos é uma fonte importante de energia para a produção de ATP na mitocôndria através de entrada da acetil-CoA no ciclo de Krebs e na cadeia transportadora de eletrões. Na beta oxidação forma-se o poder redutor, FADH₂ e NADH, que leva á formação da ATP [10, 11].

As gorduras digeridas ou as gorduras armazenadas devem ser primeiramente ativadas e transportadas para a matriz mitocondrial (Fig. 1), uma vez que todas as enzimas necessárias para o metabolismo estão presentes ali [12].

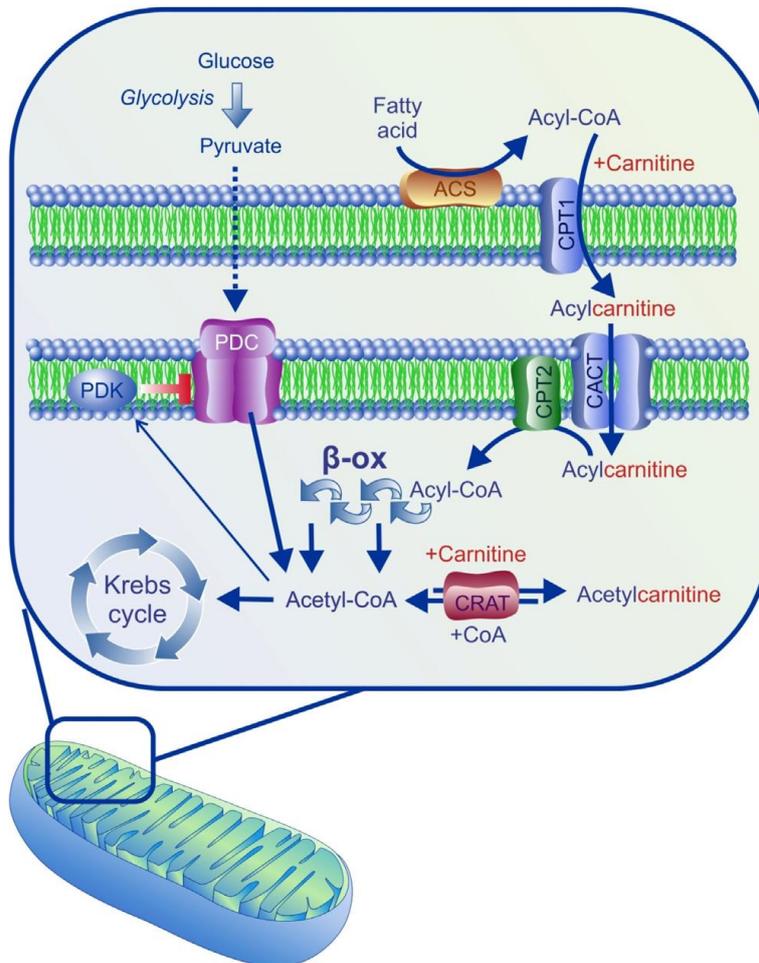


Figure 1. O papel de L-carnitina no transporte de FA e nas vias de metabolismo energético mitocondrial. Dambrova M, Makrecka-Kuka M, Vilskersts R, Makarova E, Kuka J, Liepinsh E. Pharmacological effects of meldonium: Biochemical mechanisms and biomarkers of cardiometabolic activity. *Pharmacol Res.* 2016; 113(Pt B):771-780.

No corpo humano a maior parte das gorduras são apresentadas como triglicerídeos. Sob a ação da lipoproteínipase os triglicerídeos são hidrolisados em ácidos gordos livres [13] e transferidos para os tecidos através de fluxo sanguíneo [14]. Os ácidos gordos entram na célula através de um transporter das proteínas e de FA na superfície da célula [15]. Entrando para dentro da célula, FA são ativados sob a ação de ACS (acil-CoA sintase), adicionando o grupo CoA. Assim se forma a cadeia longa de acil-CoA [14,15]. A CPT-1 (carnitina palmitoiltransferase 1) transporta grupos acilos de FA de cadeia longa de CoA para um grupo hidroxilo da carnitina. Tudo ocorre na membrana externa da mitocôndria [16, 11]. Uma acil-carnitina é transportada para a matriz da mitocôndria pelo sistema transportador CACT (carnitine/acylcarnitine translocase) [10, 17]. Na parte interior da membrana mitocondrial, sob a ação da carnitina palmitoiltransferase-2 (CPT-2), inicia-se a reação inversa e acil-carnitina transforma-se de volta a acil-CoA[11]. Devido a esse mecanismo da acilação reversível, a carnitina é capaz de modular as concentrações intracelulares de CoA livre e acil-CoA [16,17].

Depois de terem entrado para as mitocôndrias, as acil-CoAs de cadeia longa são submetidas à beta-oxidação, um processo que liberta 2-carbono unidades (como acetil-CoA) a partir de FA de cada vez e produz equivalentes redutores (FADH₂ e NADH) que contribuem com os seus eletrões para a produção de ATP via de transferência de eletrões de flavoproteína e cadeia respiratória[14].

Em cada sequência da β -oxidação são produzidos: grupo acil-CoA, acetil-CoA, FADH₂ e NADH com destinos: cetogénese (corpos cetónicos), ciclo de Krebs com produção de energia; biossíntese dos lípidos [10].

2.2) L-carnitina (Fig.2).

2.2.1) Introdução da molécula.

Levocarnitina (L-carnitina ou Carnitina) - é um derivado de aminoácidos, uma amina quaternária, que é solúvel em água, o que tem importância especialmente no metabolismo dos mamíferos na oxidação mitocondrial de FA. A L-carnitina atua como um transportador para a transferência de FA ativados de cadeia longa do citosol à mitocôndria onde ocorre a β -oxidação, resultando do qual é a síntese de adenosina trifosfato (ATP) [4].

Nome químico:

3-hydroxy-4-N,N,N-trimethylaminobutyrate, L-3-hydroxy-4-N-trimethylaminobutyric acid ou γ -trimethylamino- β -hydroxybutyric acid [18, 19],

Fórmula molecular:

$C_7H_{15}NO_3$ [20].

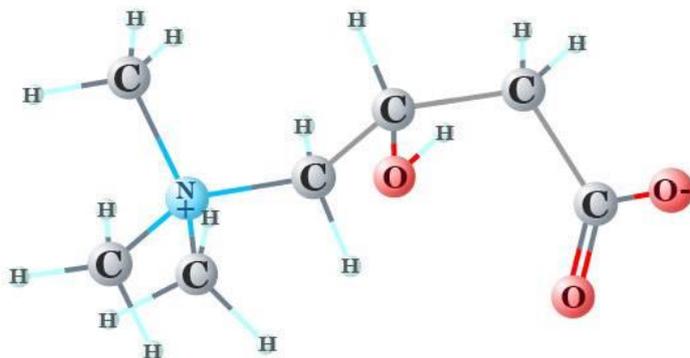


Figure 2. Formula estrutural de L-carnitina adaptada de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10917#section=Top> .

É obtido a partir dos produtos dietéticos, mas também pode ser sintetizado nos fígado, rins e cérebro a partir de dois aminoácidos essenciais: lisina e metionina [16,21].

2.2.2) Biossíntese de L-carnitina (Fig. 3)

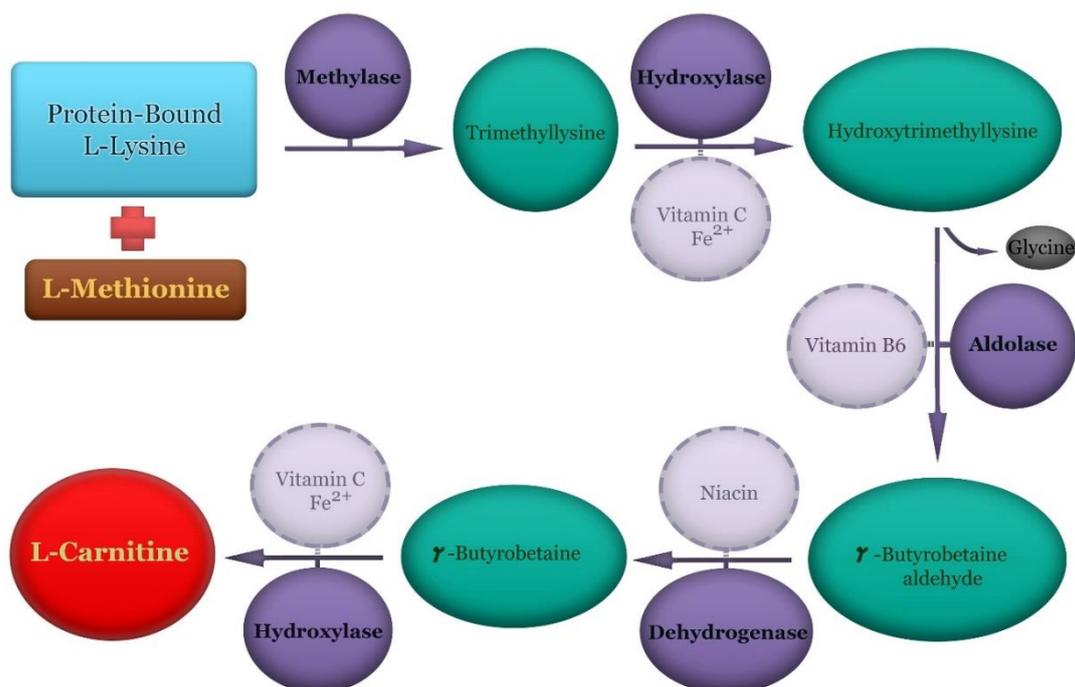


Figure 3. Biossíntese de L-carnitina.

1. O primeiro produto da reação é 6-N-Trimethyllysina (TML). É formado pela N-metilação da lisina [22]. Neste processo, a S-adenosylmethionine age como um doador do grupo metilo, e a lisina fornece a base carbônica da carnitina.
2. N-metilação destes resíduos de lisina ocorre depois de degradação das proteínas dos músculos esqueléticos – miosina e actina - e outros tais como calmodulina, citocromo e histonas [16].
3. A hidrólise lisossômica dessas proteínas leva à liberação de TML [16].
4. O segundo produto de reação, a 3-hydroxy-6-N-trimethyllysine((HTML), é formado no citosol pela ação da N-trimethyllysine dioxygenase(TMLD). Esta reação requer a participação de vitamina C e ferro bivalente (Fe^{2+}) [22].
5. Pela acção da 3-hydroxy-N-trimethyllysine aldolase(HTMLA) e vitamina B6, a glicina separa-se e forma-se um terceiro produto de reação, 4-N-trimethylamino butyurobetaine aldehyde (TMABA) [22].

6. A oxidação de TMABA por TMABA-dehydrogenase (TMABA-DH) com a participação da niacina resulta na produção do quarto produto da reação, gamma-butyrobetaine (GBB). Este é um precursor direto de L-carnitina no nível intermediário [22].

7. A seguir, com a ação da gamma-butyrobetaine hydroxylase (GBBD), forma-se L-carnitina. Esta reação também requer a presença de vitamina C e Fe^{2+} [22].

A última etapa da biossíntese de Carnitina no organismo humano ocorre no fígado, nos rins e no cérebro (Fig. 4). A degradação de proteína produz uma TML que pode ser convertida em GBB em cada tecido, mas a expressão da GBBD e do seu mRNA é detetada exclusivamente nesses órgãos. A carnitina é transmitida através das membranas celulares por específicos Na^+ dependentes transportadores catiónicos - OCTN-2 (organic cation / carnitine transporter 2) e OCTN-1 (organic cation / carnitine transporter 1). OCTN2 é responsável pela reabsorção tubular da carnitina (o seu substrato endógeno) em rins [23].

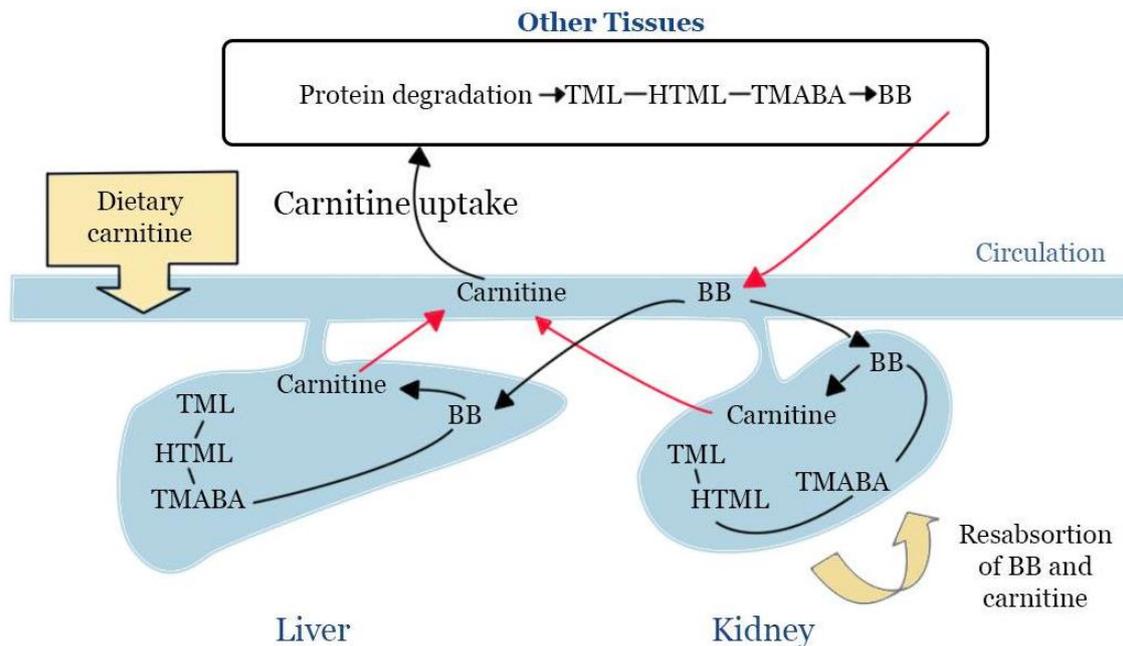


Figure 4. Representação esquemática da homeostase de Carnitina no ser humano. Vaz FM, Wanders RJ. Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem J.* 2002; 361(Pt 3):417-29.

2.2.3) Função da L-carnitina

Das muitas funções que Carnitina desempenha no corpo, dois têm o maior significado prático, portanto são discutidos abaixo:

1. O principal papel fisiológico da L-carnitina é garantir o transporte de FA de cadeia longa do citoplasma para o interior da mitocôndria, local onde estes são oxidados [22, 16].
2. A carnitina está envolvida na transferência de produtos de β -oxidação peroxissomal, incluindo acetil-CoA, para mitocôndrias para oxidação até CO_2 e H_2O no ciclo de Krebs [16,21].
3. Participa na utilização de CoA e promove o transporte de grupos acílicos de cadeia curta das mitocôndrias para o citosol (peroxissoma), o que leva a um aumento do CoA mitocondrial livre e, conseqüentemente, a uma melhor disponibilidade para produção de energia [4].

Outras funções estabelecidas de L-carnitina são a preservação da integridade da membrana, a estabilização da relação fisiológica da coenzima A (CoA) / acetil-CoA (CoASH) nas mitocôndrias e a redução da produção de lactato [19,24].

O principal reservatório de L-carnitina no organismo humano é o músculo esquelético que tem uma concentração de l-carnitina pelo menos 50 a 200 vezes maior que no plasma, onde a concentração média varia de 41 (mulheres) a 50 (homens) $\mu\text{M} / \text{L}$ [25].

Carnitina é excretada do corpo somente pela urina e bÍlis, onde se acumulam os derivados de acilos de cadeia longa [25].

As perdas diárias são mínimas (<60 mg/dia) e são reduzidas para menos de 20 mg/dia com uma dieta livre de carne e carnitina [19].

CAPÍTULO III: REVISÃO
ESTRUTURAL, BIOQUÍMICA E
FUNCIONAL DE MELDONIUM.

3.1) Meldonium: introdução da molécula (Fig. 5).

Este é um análogo estrutural do precursor de Carnitina da gamma-butirotetina (GBB) (Fig. 6).

Em comparação com a γ -butirotetina, em Meldonium, um grupo amino é substituído por CH_2 na posição C-4 [24].

Nome químico:

3-(2,2,2-Trimethylhydrazine)propionate [26].

Fórmula molecular:

$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ [26]

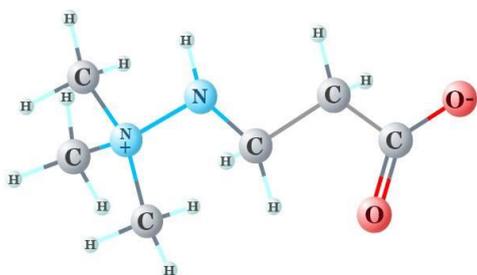


Figure 5. Formula estrutural de Meldonium adaptada de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/123868>.

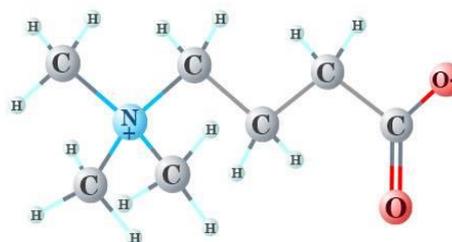


Figure 6. Formula estrutural de gamma-butyrobetaine adaptada de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/725#section=Top>.

Classificação Farmacológica de MeSH:

“Agentes que afetam a taxa ou a intensidade da contração cardíaca, diâmetro dos vasos sanguíneos ou volume de sangue” [26].

3.2) Grupo farmacológico e usos comuns:

Meldonium pertence ao grupo dos chamados citoprotectores-anti-hipoxantes, que fornecem proteção e força às células do corpo nas condições de isquemia e aumento do stress [27].

Meldonium é utilizado num certo número de países em cardiologia (tratamento da doença isquémica crónica do coração, da angina estável, da insuficiência cardíaca congestiva, dos distúrbios funcionais do coração e dos vasos sanguíneos, da cardiomiopatia, do enfarte agudo do miocárdio), em neurologia (distúrbios cerebrais agudas e crónicas, diminuição do desempenho cognitivo, sobrecarga física e emocional, períodos de recuperação após várias doenças), em pulmonologia (asma brônquica e bronquite crónica obstrutiva), em narcologia (síndrome de abstinência do alcoolismo crónico), oftalmologia (derrame ocular, trombose da veia central e dos seus ramos na retina, retinopatia diabética e hipertensiva) [7].

3.3) O mecanismo de ação de Meldonium [Fig.7]

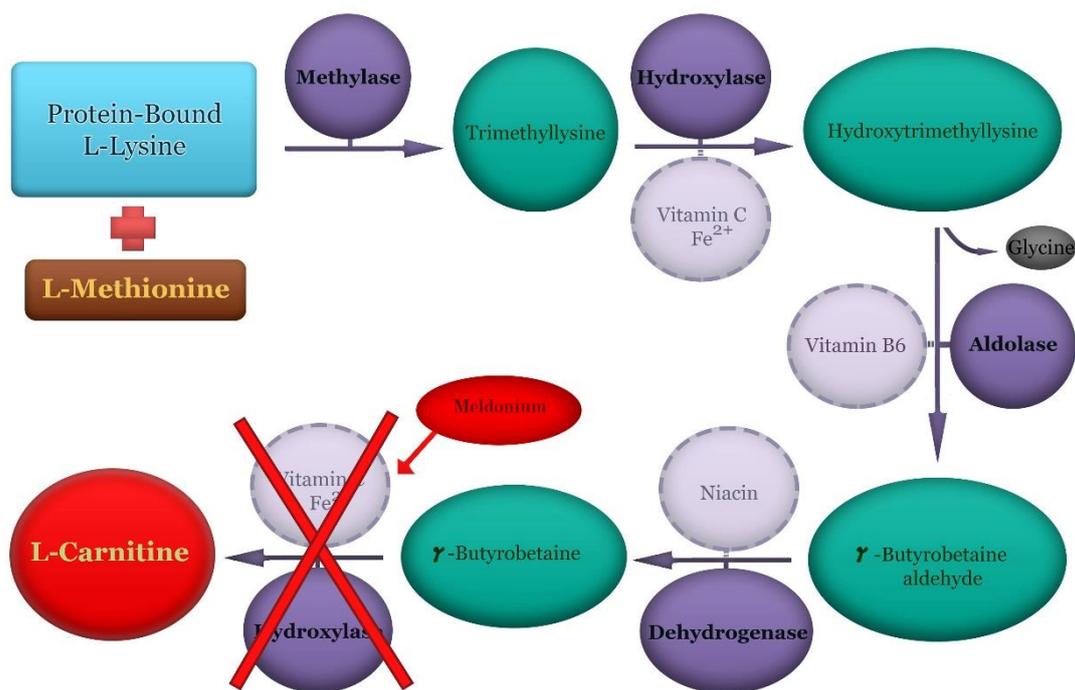


Figure 7. O mecanismo de ação de Meldonium no processo da biossíntese de L-carnitina.

- Inibição da biossíntese de L-carnitina - o principal alvo do fármaco é a enzima GBB, que catalisa a última etapa da biossíntese de carnitina. A droga inibe a enzima como um inibidor não competitivo [7,28,17].

- Inibição do transporte de carnitina:

- bloqueia o transporte de carnitina no interior da mitocôndria pela inibição da CrAT [29, 7].

- inibe OCTN2, uma enzima que age como um sódio-dependente transportador de carnitina [24], que inibe a reabsorção de L-carnitina nos rins, o que subsequentemente leva a diminuição gradual da sua concentração nos tecidos e promove a sua excreção direta do corpo [17].

Como resultado Carnitina não é reabsorvida nos rins, não é metabolizada novamente e é imediatamente excretada do organismo [9]. Como consequência, ocorre a diminuição do nível de acil-carnitina de cadeia longa no citoplasma, acil-coenzima A de cadeia longa na mitocôndria e inibição da beta-oxidação de FA [28, 17,30].

3.4) Os efeitos finais do Meldonium.

1. Mudança do metabolismo celular da oxidação de FA, que requer alto consumo de oxigênio, para aumento do consumo de glucose e aumento da eficiência da produção de ATP [4].

2. Proteção das mitocôndrias contra sobrecarga por FA livres, reduzindo o número de acil-carnitina de cadeia longa, ativando a utilização mitocondrial de FA e redirecionando o metabolismo dos FA das mitocôndrias para as peroxissomas [4].

3.5) Comprovativo laboratorial.

De acordo com uma investigação letão [31], a administração prolongada do Meldonium reduziu a concentração plasmática de L-carnitina nos voluntários saudáveis não vegetarianos que tomaram Meldonium durante 4 semanas: os níveis de carnitina no plasma diminuiu em 18%. Concentrações de GBB no plasma aumentaram aproximadamente por duas vezes, tanto nos homens como nas mulheres. As amostras de urina mostraram um aumento significativo no nível de L-carnitina e GBB, indicando um aumento na excreção de ambas as substâncias durante o tratamento com o Meldonium. O consumo de carne reduz parcialmente o efeito da redução de L-carnitina causada por Meldonium.

3.6) Metabolismo e eliminação de Meldonium.

Em estudos em ratos verificou-se que o fármaco é metabolizado principalmente no fígado, e os principais metabólitos no plasma após administração oral de Meldonium são metabolitos não tóxicos - glucose, ácido succínico e ácido 3-hidroxi-propiónico [30]. Meldonium é convertido em ácido 3-hidroxi-propiónico por GBBD. O ácido 3-hidroxi-propiónico é convertido em glucose e metabolizado em CO₂ por meio de via glicolítica e do ciclo de Krebs.

Os fabricantes de Meldonium reconhecem que as características farmacocinéticas do Meldonium são altamente imprevisíveis. Meldonium é uma molécula hidrofílica que não se liga às proteínas. Devido a isso, a meia-vida do medicamento devia ser muito curta. No entanto, na prática, há um quadro completamente diferente. Um dos mecanismos de ação de Meldonium é a inibição de OCTN2, que resulta a diminuição da reabsorção de Carnitina pelos rins e a excreção dela na urina. Foi descoberto que o Meldonium também é transportado pelo mesmo transportador que Carnitina, ou seja, OCTN2 é envolvido na reabsorção de Meldonium pelos rins, no seu transporte e na acumulação em tecidos, aumentando o período de eliminação da mesma [32].

Também foi relatado que a duração do período de eliminação de Meldonium varia dependendo da dose e da duração do uso [32,33]. No estudo em 2011[31] foi revelado que após 4 semanas de administração de Meldonium a concentração de substância no plasma estava entre 0,2 ± 0,1 µg / ml, que excede significativamente o limite de Meldonium no plasma definido pela WADA, mas esses dados foram publicados somente em 2016 [32].

Durante ensaios no Instituto Letão de síntese orgânica foi estabelecido que o nível máximo de Meldonium no sangue nos seres humanos detetava-se passado 2 horas após administração oral da droga [4].

Dados recebidos após administração única ou múltipla das doses recomendadas de Meldonium demonstraram que a eliminação da droga do corpo tem fase rápida (com período de semi-eliminação cerca de 5-18 horas) [4], e fase tardia, com período de semi-eliminação mais do que 100 horas [33].

Num estudo mais recente, do ano 2017, foi confirmada a hipótese de excreção de Meldonium em duas fases após a administração oral e foi demonstrado que indícios da droga na urina podem estar presentes até 65 dias após de uma toma única e até 117 dias após várias tomas (concentração > LOQ 10 µg/ml) [34].

CAPÍTULO IV: UTILIZAÇÃO DO **MELDONIUM EM MEDICINA** **CLÍNICA.**

4.1) Meldonium em Cardiologia.

No caso de isquemia de miocárdio, devido à deficiência de oxigênio, os produtos oxidados de FA (acil-carnitina e acil-CoA) acumulam-se nos tecidos, o transporte de ATP das mitocôndrias para o citosol é bloqueado, as membranas celulares destroem-se e a composição iônica altera-se. Também durante a hipoxia, a oxidação da glicose leva à formação do lactato, desenvolve-se acidose e instabilidade elétrica do miocárdio, o que provoca as arritmias [27].

Também foi estabelecido que, no caso de isquemia cardíaca, os números de acil-carnitina de cadeia longa aumentam por cerca de 7 vezes [35]. Uma das consequências da inibição da biossíntese de Carnitina é a prevenção de acumulação de acil-carnitinas de cadeia longa. De acordo com os estudos em ratos que foram submetidos a hipoxia [35,17], Meldonium diminuiu o acumulação de acil-carnitinas de cadeia longa em corações hipóxicos em 50% e que esse mecanismo pode ser responsável pelos efeitos cardíaco-protetores de Meldonium.

Por outro lado, a inibição do transporte e oxidação da FA em mitocôndrias leva ao fato de que eles se acumulam no citosol. Em resposta, o corpo reage ativando métodos alternativos de produção de energia - glicólise aeróbica [27]. Ocorre a estimulação da biossíntese de enzimas de glicólise aeróbica - hexoquinase e piruvato desidrogenase, que incluem piruvato, que forma-se a partir de açúcares no ciclo de Krebs e previne a formação de lactato.

De acordo com um estudo realizado pelos cientistas letões em ratos [36], Meldonium tem a capacidade de aumentar a sensibilidade dos recetores de insulina a insulina e interferir no processo de regulação da captação de glucose que ocorre com ajuda da insulina, que contribui a incorporação da glucose no processo da produção de energia [27].

Em resposta à redução de Carnitina aumenta-se a síntese de seu precursor GBB, que ativa NO sintetase induzida e endotelial, o que promove a dilatação dos vasos sanguíneos, controla a pressão arterial e tem vários outros efeitos vaso-protetores e anti-ateroscleróticos [37]. NO sintetase também está envolvida na biossíntese de NO (óxido nítrico) - o principal fator que regula o tônus vascular e condiciona a agregação de plaquetas e a flexibilidade das células vermelhas do sangue [27]. É importante que GBB tem a capacidade dilatar seletivamente os vasos sanguíneos espasmados, de tal modo que isto fornece suprimento sanguíneo nas áreas isquémicas não provocando o efeito de roubo nas zonas saudáveis do miocárdio [17].

A investigação nos ratos em 2006 mostrou que o tratamento com Meldonium durante 10 dias reduziu o tamanho do infarto do miocárdio em um modelo experimental de isquemia do miocárdio aguda, sem ter afetado a pressão arterial ou a frequência cardíaca. Ausência de efeitos hemodinâmicos sugere que, do ponto de vista farmacológico, o Meldonium é uma droga segura. Em estudos anteriores em ratos foi demonstrado que Meldonium não altera o peso cardíaco e não causa quaisquer sinais de hipertrofia cardíaca ou descompensação da função cardíaca [28].

Num outro estudo em ratos [32], que comparou os efeitos cárdio-protetores de Meldonium, do ácido orótico e do orotato de Meldonium, os resultados mostraram uma redução estatisticamente significativa da área de necrose em 25% nos corações de ratos com enfarte do miocárdio após 14 dias de tratamento com Meldonium e ácido orótico, enquanto o orotato de Meldonium reduziu o tamanho do enfarte do miocárdio em 50%. Além disso, verificou-se que o uso de Meldonium com orotato reduziu a duração e a frequência das arritmias em modelos de arritmia experimental.

Portanto em Cardiologia o mecanismo terapêutico e o efeito protetor de Meldonium é o seu impacto no nível de carnitina e nas vias metabólicas, o que garante um funcionamento celular mais económico e eficaz nas condições de défice de oxigênio.

4.2) Meldonium em Neurologia.

Em geral, o nível científico de evidências de que Meldonium tem significado clínico nas doenças neurológicas atualmente é baixo. No entanto, de acordo com estudos de alguns dos autores mencionados abaixo, é assumido que no futuro Meldonium pode ser usado em certos distúrbios neurológicos (por exemplo, na doença de Parkinson) [38], em neuropatias e infartos diabéticos, bem como em patologias neurológicas com comprometimento cognitivo (por exemplo, nas doenças neurodegenerativas e na esquizofrenia) [4].

O medicamento é utilizado em clínicas neurológicas para o tratamento de distúrbios cerebrovasculares e é oficialmente recomendado para o tratamento de doenças cerebrais isquémicas agudas e crónicas em Letónia, Rússia, Ucrânia, Geórgia, Cazaquistão, Azerbaijão, Bielorrússia, Uzbequistão, Moldávia e Quirguizistão [7].

Em um estudo clínico com 38 pacientes [3] com acidente vascular cerebral isquémico, verificou-se que a droga melhora a hemodinâmica cerebral. Os pacientes tornavam-se mais ativos, tinham o humor melhor, diminuía as manifestações de disfunção cerebral e da astenia. As dores de cabeça, a insônia, as tonturas e as náuseas tornavam-se menos pronunciadas. Os autores também observaram melhoria na memória, na

atenção e no reconhecimento. Outro estudo [34] mostra que o tratamento com Meldonium melhora as capacidades funcionais em ratos na oclusão da artéria cerebral média sem alterar o tamanho do enfarte.

Os estudos focados no efeito de Meldonium na circulação cerebral no cérebro isquémico de coelhos [3] indicam que Meldonium promove a restauração do fluxo sanguíneo cerebral e da reatividade vascular. Este efeito previa a melhoria dos processos de recuperação graças a normalização mais rápida da reatividade dos vasos cerebrais. Foi observada a melhoria da hemodinâmica, o equilíbrio de oxigênio foi otimizado e o edema cerebral diminuiu significativamente.

Os dados de um estudo na Letónia [40] indicam que Meldonium pode ser útil como um provável intensificador cognitivo para o tratamento de pacientes com doenças neurodegenerativas com demência. Os dados de outros estudos [41] mostram a melhoria do fluxo sanguíneo em carótidas intracranianas e vasos vertebro-basilares como aumento da intensidade dos ritmos rápidos nos EEG [42].

Também foi relatado que Meldonium se usava no tratamento da abstinência em pacientes com alcoolismo crônico. Estudos de oximetria cerebral indicam que Meldonium não altera os parâmetros de saturação de oxigênio dos tecidos cerebrais, mas impede deterioração desses parâmetros, que podem ser causados pelo álcool [7,3].

Os efeitos farmacológicos de Meldonium no cérebro não podem estar relacionados com a inibição da beta-oxidação, uma vez que as células do cérebro geralmente usam a glucose como única fonte de energia. No entanto, a carnitina é sintetizada nas células cerebrais e a GBBB é secretada no cérebro. Isso provavelmente indica uma ação diferente do que o transporte de FA pela carnitina nos tecidos cerebrais [7].

Também há evidências [43] de que a ação neuro-protetora de Meldonium parcialmente pode ser devida aos mecanismos anti-neurodegenerativos e anti-inflamatórios, à estimulação do sistema simpatoadrenal, à acumulação de catecolaminas no cérebro e glândulas supra-renais. Meldonium normaliza o tónus e a resistência dos capilares e arteríolas do cérebro, restabelece a reatividade deles.

Sugere-se que a estrutura molecular de Meldonium possa facilitar sua ligação às mitocôndrias e regularizar a expressão de vários sinais moleculares, preservando assim a sobrevivência celular [41].

4.3) Meldonium em Imunologia.

Num estudo em ratos [7], verificou-se que o Meldonium é um indutor do interferão, quando este é administrado simultaneamente com o antigénio. Meldonium demonstrou o efeito protetor contra vírus de influenza quando foi administrado de acordo com os protocolos terapêuticos e profiláticos. Também foi relatado que Meldonium melhora a resposta imune em pacientes após a cirurgia.

4.4) Meldonium em Pneumologia.

A atividade imunomoduladora de Meldonium permite a sua utilização em Pneumologia para tratamento das doenças bronco-pulmonares. Foram estudados 35 pacientes com bronquite crônica, asma brônquica infecciosa e asma alérgica [7] e detetados neles os defeitos da imunidade humoral. Para corrigir o estado de imunidade, todos os pacientes foram tratados com Meldonium. Efeito imunomodulador da droga foi encontrado em todos os grupos dos pacientes. O estudo demonstrou o aumento da atividade da resposta imune secundária e da atividade brônquica em pessoas com asma infecciosa e alérgica e a redução da concentração de imunoglobulinas em pacientes com asma brônquica.

4.5) Meldonium em doenças metabólicas.

Em estudos que estudavam o efeito de Meldonium nos parâmetros metabólicos e na resistência à insulina em pacientes com diabetes tipo 2 [44], verificou-se que o tratamento com Meldonium nos ratos a longo prazo leva ao aumento da absorção de glucose e da expressão genética relacionada com o metabolismo da glucose.

Outro estudo em ratos [37] demonstrou que Meldonium reduz significativamente a concentração de glucose no sangue e impede a perda de sensibilidade à dor. E nos corações dos ratos, tratados com Meldonium, as áreas de necrose após oclusão coronária foram reduzidas em 30%.

Estes dados indicam que o tratamento com Meldonium pode ser útil em pacientes diabéticos com os problemas cardiovasculares. Embora alguns efeitos benéficos da medicação com Meldonium na diabetes tipo 2 tenham sido mostrados em modelos animais, até agora não existem ensaios clínicos de alta qualidade em pacientes com essa patologia. Além disso, existem dados sobre o uso de Meldonium em Gastroenterologia, Oftalmologia, e Obstetrícia [7], e há estudos que mostram o efeito positivo de Meldonium nas doenças associadas à disfunção endotelial, como aterosclerose [45] e disfunção sexual [46, 47].

CAPÍTULO V: MELDONIUM E **EXERCÍCIOS FÍSICOS.**

Os resultados de uma pesquisa sistemática indicam que não há um estudo confiável que revele o efeito do Meldonium na eficácia da atividade física, tanto em voluntários saudáveis como em atletas altamente qualificados.

Sabendo que Meldonium tem efeito na inibição da biossíntese de Carnitina nas células musculares e, como resultado, na oxidação de FA nos músculos ativos que trabalham com a utilização de FA de cadeia longa como um substrato da energia, então durante o exercício físico intenso que consome mais do que 65% de consumo máximo de oxigénio, o uso de FA como substrato para a produção de ATP decresce gradualmente e uso de glucose aumenta. Essa diferença manifesta-se mais quando aumenta a intensidade da atividade física. Esta mudança pode ter um efeito positivo durante os treinos de intensidade leve e moderada, mas durante os exercícios mais prolongados os lípidos podem ser uma fonte de energia mais importante, o que retarda o esgotamento da reserva dos hidratos de carbono e aumenta a resistência [4].

Como resultado do estudo do ano 2010 [44], nos pacientes com a doença cardíaca crônica que tomaram Meldonium cerca de 12 meses, foi concluído que o tratamento com Meldonium (1 g/dia) em combinação com terapia habitual melhora a tolerância ao exercício para pacientes com angina estável em comparação com os pacientes que receberam placebo.

Um ensaio por RCT (randomized controlled trial) [48] de baixa qualidade mostrou um leve prolongamento da tolerância ao exercício durante um teste cíclico. Os testes eram muito pequenos e podem ter sido propensos ao viés. Mas não tiveram dados sobre possível dano.

Em um estudo em 2005 em ratos e ratinhos [3] mostraram o aumento da tolerância à hipóxia e à navegação forçada prolongada. Diminuição significativa do nível de óxido nítrico no córtex cerebral e cerebelo foi observada dentro de uma hora após a introdução de Meldonium [3].

Devido ao efeito anti-isquémico de Meldonium, alguns autores [24] sugerem outros mecanismos que podem ocorrer durante o exercício físico, ou seja, uma melhor utilização de FA peroxissomais, redução da produção do lactato após o exercício, melhoria do armazenamento e uso de glicogénio bem como a prevenção do stress oxidativo depois de carga muscular intensa. Estes efeitos preveem uma resistência aeróbia e capacidade física elevada, melhoria da atividade funcional do coração, suavização da recuperação após carga submáxima e máxima de atividade física tal como o reforço da ativação do sistema nervoso central.

CAPÍTULO VI: MELDONIUM COMO **DOPAGEM.**

6.1) Informação geral.

É a utilização de drogas ou de métodos específicos que têm por fim melhorar o desempenho físico e/ou mental de um atleta durante uma competição.

O doping é proibido nos desportos profissionais porque além de se tratar de uma conduta antiética do atleta ao proporcionar uma vantagem competitiva desleal em relação aos outros nos muitos casos o doping prejudica a saúde. A dopagem é contrária à essência do espírito desportivo [49].

Em 1999 pelos movimentos desportivos e governos mundiais foi fundada a Agência Mundial Antidopagem (WADA) para estabelecer uma estrutura independente que promova a luta contra o doping no desporto [33]. A agência consiste dos membros com igualdade dos direitos do Movimento Olímpico e das agências governamentais.

O Código Mundial Antidopagem (a seguir mencionado como Código) é um documento essencial e universal que foi adotado em 2003 e serviu como base para o Programa Mundial Antidopagem. A última vez as alterações foram feitas em 2015. O Código tem como objetivo a promoção da luta contra a dopagem através da harmonização universal dos principais elementos relacionados com a luta antidopagem.

Pelo menos uma vez por ano a WADA publica a Lista de Substâncias e Métodos Proibidos (conhecida como Lista Proibida) como Padrão Internacional. A Lista Proibida contém tais substâncias e métodos que são proibidos no uso como doping durante e fora de competições, pois são capazes de melhorar o rendimento físico nas competições ou mascarar o uso de substâncias e métodos proibidos somente durante o período de competição.

6.2) Critérios para a inclusão de substâncias na Lista Proibida.

De acordo com o Código de 2015, existem seguintes critérios para a inclusão de substâncias proibidas e métodos proibidos na Lista de Substâncias e Métodos Proibidos [49]:

I. A substância ou método preenche pelo menos dois dos três critérios seguintes:

- 1) Prova médica ou outra prova científica, efeito farmacológico ou experiência de acordo com os quais a substância ou método, isoladamente ou conjugados com outra substância ou método tem potencial para melhorar, ou melhora efetivamente, o rendimento desportivo;

- 2) Prova médica ou outra prova científica, efeito farmacológico ou experiência de acordo com os quais a utilização da substância ou método constitui um risco efetivo ou potencial para a saúde do Praticante Desportivo;
- 3) A determinação por parte da AMA, que a utilização da substância ou método violam o espírito desportivo, tal como este é descrito na introdução do presente Código.

II. Uma substância ou método deverão também ser incluídos na Lista de Substâncias ou Métodos Proibidos se a AMA determinar que existem provas médicas ou outras provas científicas, efeito farmacológico ou experiência, de que a substância ou método tem potencial para mascarar a utilização de outras Substâncias Proibidas ou Métodos Proibidos.

6.3) Porque Meldonium está incluído na Lista Proibida.

Devido ao crescente número de evidências (produtos do mercado negro e alegações de atletas) sobre o uso indevido no desporto [2], dentro do período de 2011 a 2015, a WADA estudava os dados científicos disponíveis sobre o Meldonium [33] e em 2015 a droga entrou no Programa de Monitorização de WADA [50] devido a um provável efeito cardioestimulante.

O objetivo do Programa é monitorar os atletas no sentido de revelar o uso de substâncias, que no momento não estão incluídas na Lista Proibida, mas por algum motivo atraíram a atenção da WADA.

Durante a realização de Jogos Europeus em Baku em 2015, foi realizada uma análise que tinha por seu objetivo detetar Meldonium na urina dos atletas [51]. Como resultado, o fármaco foi detetado em amostras de urina dos 66 atletas dos 762 (8,7%) durante e antes das competições. Apesar disso 22 atletas (dos quais 13 vencedores) dos 662 (3,5%) anunciaram pessoalmente o uso do Meldonium durante algum período. Em geral Meldonium foi detectado em 15 modalidades de desporto das 21.

Em 2016, num estudo randomizado realizado pelos cientistas alemães [2], que durou vários meses, foram examinadas 8320 amostras de urina dos atletas de várias modalidades desportivas com o objetivo de detetar Meldonium. Como resultado, foram detetadas 182 reações positivas (2,2%) na faixa de concentração de 0,1 a 1428 µg / ml e confirmadas usando o HILIC-HRMS (hydrophilic interaction liquid chromatography-high resolution mass spectrometry). Os maiores níveis de Meldonium que foram revelados na urina indicam que os atletas usaram 3 vezes mais doses do que é

recomendado para fins terapêuticos [32]. Ao comparar as modalidades de desporto, a percentagem de atletas de desporto de força foi 67% e de resistência foi 25%. No entanto, o uso indevido de Meldonium não se limita só nos certos tipos do desporto, é muito provável que se use numa ampla gama de eventos desportivos [2].

Todos esses dados indicam numa prática geral de uso de Meldonium como doping no mundo de desporto. Como os desportistas analisados eram pessoas saudáveis e não tinham comprovativos diretos de uso da droga com fins terapêuticos a WADA concluiu que Meldonium é usado para aumento do rendimento físico e diminuição do período de recuperação após atividade física intensa e incluiu-o como substância proibida na Lista das Substâncias proibidas em 2016 [51].

Também se considera que isso foi feito por causa de possíveis efeitos colaterais indesejáveis de Meldonium no corpo humano, associados à diminuição do nível de carnitina em desportistas saudáveis, e essas alterações induzidas ainda não estão bem estudadas.

6.4) Métodos de deteção de Meldonium.

Para assegurar que todos os laboratórios acreditados por WADA podiam informar de maneira uniforme a presença de substâncias proibidas, seus metabolitos ou marcadores, foram estabelecidas as possibilidades mínimas de reconhecimento e identificação para os métodos de verificação. Foram estabelecidos pela WADA a concentração mínima de substâncias proibidas ou metabolitos das mesmas ou marcadores das substâncias proibidas e os métodos que os laboratórios devem ser capazes de detetar e identificar com fiabilidade durante as suas operações diárias habituais. Para Meldonium, o MRPL (Minimum Required Performance Level) é 200 µg/mL [52].

As propriedades físicas e químicas específicas de molécula de Meldonium e o fato de que a droga é principalmente eliminada inalterada através da excreção renal, torna Meldonium um analito ideal para HILIC-HRMS (hydrophilic interaction liquid chromatography-high resolution mass spectrometry). A redução do tempo para preparar as amostras, a flexibilidade desta abordagem e a compatibilidade com os protocolos analíticos existentes, permite execução simples de Meldonium-teste nos laboratórios anti-dopagem para a monitorização mais abrangente do abuso dessa substância proibida [2].

A análise é realizada durante um teste antidoping normal e o limite de deteção é de 50 µg/ml [53].

CAPÍTULO VII: DISCUSSÃO.

Tendo em conta que os estudos que foram realizados sobre o Meldonium não têm um alto nível de evidência, é difícil tirar conclusões definitivas sobre seu uso no desporto.

Escrevi uma carta para a WADA, pedindo informações sobre possíveis estudos realizados que possam confirmar as propriedades do Meldonium como doping. Até agora não recebi resposta nenhuma dessa instituição. Do Instituto Letão de síntese orgânica e da companhia Grindeks chegaram as cartas como informação que estes nunca tinham realizado nenhum estudo que negasse tais propriedades do Meldonium, ou seja, nunca estavam focados nesse problema.

Enquanto a WADA não é obrigada conduzir pesquisas sobre qualquer substância que ela adicione à Lista Proibida, as estruturas que se opõem a isso e exigem a abolição da decisão da WADA devem ter interesse em conduzir mais estudos informativos sobre drogas para poder se referir a eles no processo.

Mas, como resultado, os desenvolvedores da droga negam a ação de doping do Meldonium e, ao mesmo tempo, fornecem os resultados de seus próprios estudos, que confirmam o efeito positivo da substância no processo de recuperação do corpo.

Além disso, durante abordagem do tema revelam-se dados contraditórios, o que requer um estudo mais detalhado do tópico. Como se sabe, a principal ação do Meldonium é diminuição no nível de Carnitina no sangue, enquanto outros estudos mostram que a carnitina, usada pelos atletas como suplemento nutricional, também tem efeitos positivos no processo de treinamento e recuperação do corpo após intenso trabalho físico.

Portanto não há dúvidas sobre necessidade de realização de estudos adicionais sobre Meldonium. Mais por uma razão para isso: depois de a droga ter entrado na Lista de substâncias proibidas, ela começou a ser largamente usada por atletas amadores. Meldonium está disponível livremente nas farmácias nos países onde está registado, pode ser comprado sem receita médica e até encomendado através da Internet. A introdução da droga na lista provocou o surgimento de uma opinião geral de que a droga realmente melhora o desempenho físico. Centenas de atletas começaram ou continuam a usar o medicamento sem recomendações e supervisão de um médico. E uma vez que o efeito de Meldonium num corpo saudável e o seu mecanismo de ação durante o exercício ainda não são estudados, o uso prolongado da droga pode causar efeitos indesejáveis.

Pessoalmente estou convencida que o fármaco deve permanecer na Lista proibida, uma vez porque o uso de quaisquer substância química por um organismo saudável não é um processo natural e sempre há um risco para desenvolver um efeito negativo no corpo. Além disso, acredito que as competições desportivas são um processo onde deve acontecer uma comparação honesta do desempenho físico alcançado pelo desenvolvimento das capacidades físicas naturais, portanto a intervenção de produtos químicos e outros métodos de melhoramento do performance físico é inaceitável.

No final, o uso da droga, que foi desenvolvida há mais de 40 anos e que ainda não tem um efeito bem definido no corpo humano, não é recomendável.

CAPÍTULO VIII: CONCLUSÃO.

Meldonium continua a ser um tema pouco estudado. Por um lado, há muitos estudos que comprovam os efeitos positivos do medicamento em várias doenças, especialmente isquêmicas, mas por outro lado, a maioria desses estudos foram realizados nos animais ou num pequeno número de pacientes, portanto, não podem ter um alto nível de evidência.

Em relação ao uso de Meldonium no desporto de competição, ainda não foi realizada uma pesquisa qualitativa sobre o tema do estudo, do efeito da droga no corpo humano durante o treinamento desportivo. Apenas tendo em conta o efeito de Meldonium nas condições de isquemia, pode-se supor que este pode ter um efeito positivo durante um período de carga cardíaca elevada, como, por exemplo, durante o exercício, e acelerar o processo de recuperação do corpo.

Assim, a questão da existência das propriedades de dopagem de Meldonium ainda está em aberto, uma vez que não existem estudos que confirmem ou neguem tal fato.

CAPÍTULO IX: BIBLIOGRAFIA.

1. American Chemical Society. [<https://www.acs.org>]. Available from: <https://www.acs.org/content/acs/en.html>
2. Görgens C, Guddat S, Dib J, Geyer H, Schänzera W, Thevis M. Mildronate (Meldonium) in professional sports – monitoring doping control urine samples using hydrophilic interaction liquid chromatography – high resolution/high accuracy mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 2015; 7(11-12): 973–979.
3. Sjakste N, Gutcaits A, Kalvinsh. Mildronate: An Antiischemic Drug for Neurological Indications. *CNS Drugs Reviews* bunner. 2005; 11(2):151-168.
4. Schobersberger W, Dünwald T, Gmeiner G, Blank C. Story behind meldonium—from pharmacology to performance enhancement: a narrative review. Schoenchenbersberger W, et al. *Br J Sports Med* 2016; 0:1–6.
5. U.S. Anti-Doping Agency, Substance Profile – Meldonium. Available from: <https://www.usada.org/meldonium/>
6. The Russian Government. Available from: <http://government.ru/en/>
7. Sjakste N, Kalvinsh I. Mildronate: an antiischemic drug with multiple indications. *Pharmacologyonline.* 2006; 1: 1-18.
8. Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD, Jaswal JS, Stanley WC. Myocardial Fatty Acid Metabolism in Health and Disease. *Physiol Rev.* 2010; 90(1):207-58.
9. Danilenko LM, Klochkova GN, Kizilova IV, Korokin MV. Metabolic cardioprotection: new concepts in implementation of cardioprotective effects of meldonium. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology.* 2016; 2(3): 95-100.
10. Ronnett GV, Kleman AM, Kim EK, Landree LE, Tu Y. Fatty Acid Metabolism, the Central Nervous System, and Feeding. *Obesity Society.* 2006; 14(S8): 201S-207S.

11. Adeva-Andany MM, Carneiro-Freire N, Seco-Filgueira M, Fernández-Fernández C, Mouriño-Bayolo D. Mitochondrial β -oxidation of saturated fatty acids in humans. *Mitochondrion*. 2018.
12. PharmaxChange.info, Oxidation of Fatty Acids, Available from: <https://pharmaxchange.info/2013/10/oxidation-of-fatty-acids/>
13. Feher J. 2.11 - ATP Production III: Fatty Acid Oxidation and Amino Acid Oxidation. 2012. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123821638000220>
14. Kompare M, Rizzo WB. Mitochondrial Fatty-Acid Oxidation Disorders. *Seminars in Pediatric Neurology*. 2008; 15(3): 140-149.
15. AOCS Lipid Library. Fatty Acid beta-Oxidation. Available from: <http://lipidlibrary.aocs.org/Biochemistry/content.cfm?ItemNumber=39187>
16. Vaz FM, Wanders RJ. Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem J*. 2002; 361(Pt 3):417-29.
17. Dambrova M, Makrecka-Kuka M, Vilskersts R, Makarova E, Kuka J, Liepinsh E. Pharmacological effects of meldonium: Biochemical mechanisms and biomarkers of cardiometabolic activity. *Pharmacol Res*. 2016; 113(Pt B):771-780.
18. United States Environmental Protection Agency. Chemistry Dashboard. Carnitine. Structural Identifiers. Available from: <https://comptox.epa.gov/dashboard/dsstoxdb/results?utf8=%E2%9C%93&search=Carnitine>
19. Karlic H, Lohninger A. Supplementation of L-carnitine in athletes: does it make sense? *Nutrition*. 2004; 20(7–8):709-71.

20. Pubchem (Open Chemistry DATABASE), Levocarnitine. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10917>

21. Strijbis K, Vaz FM, Distel B. Enzymology of the Carnitine Biosynthesis Pathway. *IUBMB Life*. 2010; 62(5):357-62.

22. Harmeyer J. The physiological role of l-carnitine. *Lohmahh information*. 2002.

23. Ramsay RR, Gandou RD, Van der Leij R. Review Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*. 2001; 1546 (1, 9):21-43.

24. Lippi G, Mattiuzzi C. Misuse of the metabolic modulator meldonium in sports. *Journal of Sport and Health Science*. 2017; 6: 49–51.

25. Huertas R, Campos Y, Díaz E, Esteban J, Vechietti L, Montanari G , et al. Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1992; 188(1, 15):102-107.

26. Pubchem (Open Chemistry DATABASE), Meldonium. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mildronate>

27. Danilenko LM, Klochkova GN, Kizilova IV, Korokin MV. Metabolic cardioprotection: new concepts in implementation of cardioprotective effects of meldonium. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2016; 2(3): 95-100.

28. Sesti C, Simkhovich BZ, Kalvinsh I, Kloner RA. Mildronate, a Novel Fatty Acid Oxidation Inhibitor and Antianginal Agent, Reduces Myocardial Infarct Size Without Affecting Hemodynamics. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2006; 47(3):493-499.

29. Jaudzems K, Kuka J, Gutsaits A, Zinovjevs K, Kalvinsh I, Liepinsh E, et al. Inhibition of carnitine acetyltransferase by mildronate, a regulator of energy metabolism. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2009; 24(6):1269-75.
30. Dambrova M, Liepinsh E, Kalvinsh I. Mildronate: Cardioprotective Action through Carnitine-Lowering Effect. *Trends Cardiovasc Med*. 2002; 12(6):275-9
31. Liepinsha E, Konradeb I, Skaparea E, Pugovicsa O, Grinbergaa O, Kukaa J, Kalvinsh I, Dambrova M. Mildronate treatment alters g-butyrobetaine and L- carnitine concentrations in healthy volunteers. *J Pharm Pharmacol*. 2011; 63(9):1195-201.
32. Edgars Liepinsh E, Dambrova M. The unusual pharmacokinetics of meldonium: Implications for doping. *Pharmacol Res*. 2016; 111:100.
33. The World Anti-Doping Agency. Available from: [<https://www.wada-ama.org/>].
34. Görgens C, Guddat S, Bosse C, Geyer H, Pop V, Schänzer W, et al. The atypical excretion profile of meldonium: Comparison of urinary detection windows after single- and multiple-dose application in healthy volunteers. *J Pharm Biomed Anal*. 2017; 138:175-179.
35. Asaka N, Muranaka Y, Kirimoto T, Miyake H. Cardioprotective profile of MET-88, an inhibitor of carnitine synthesis, and insulin during hypoxia in isolated perfused rat hearts. *Fundam Clin Pharmacol*. 1998;12(2):158-63.
36. Liepinsh E, Skapare E, Svalbe B, Makrecka M, Cirule H, Dambrova M. Anti-diabetic effects of mildronate alone or in combination with metformin in obese Zucker rats. *Eur J Pharmacol*. 2011; 658(2-3):277-83.
37. Vilskersts R, Liepinsh E, Kuka J, Cirule H, Veveris H, Kalvinsh I. Dambrova M. Myocardial Infarct Size-Limiting and Anti-Arrhythmic Effects of Mildronate Orotate in the Rat Heart . *Cardiovasc Drugs Ther*. 2009; 23(4):281-8.

38. Beitnere U, van Groen T, Kumar A, Jansone B, Klusa V, Kadish I. Mildronate Improves Cognition and Reduces Amyloid- β Pathology in Transgenic Alzheimer's disease Mice. *J Neurosci Res*. 2014; 92(3):338-46.
39. Svalbe B, Zvejniece B, Vavers E, Pugovics Oa, Muceniece R, Liepinsh E, et al. Mildronate treatment improves functional recovery following middle cerebral artery occlusion in rats. *Behavioural Brain Research*. 2011; 222(1, 12): 26-32.
40. Klusa V, Muceniece R, Isajevs S, Isajeva D, Beitnere U, Mandrika I, et al. Mildronate enhances learning/memory and changes hippocampal protein expression in trained rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013; 106:68-76.
41. Makrecka M, Svalbe B, Volska K, Sevostjanovs E, Liepins J, Grinberga S, et al. Mildronate, the inhibitor of L-carnitine transport, induces brain mitochondrial uncoupling and protects against anoxia-reoxygenation. *Eur J Pharmacol*. 2014; 723:55-61.
42. Kuznetsova SM, Kuznetsov VV, Iegorova MS, Yurchenko FV. Multimodal meldonium's influence on functional brain state. *Abstracts / Atherosclerosis*. 2014; 235:267–268.
43. Pupure J, Isajevs S, Skapare E, Rumaks J, Svirskis S, Svirina D, et al. Neuroprotective properties of mildronate, a mitochondria-targeted small molecule. *Neurosci Lett*. 2010; 470(2):100-5.
44. Dzerve V, Matisone D, Pozdnyakov Y, Oganov R. Mildronate improves the exercise tolerance in patients with stable angina: results of a long term clinical trial. *Seminars in Cardiovascular Medicine*. 2010; 16:3
45. Vilskersts R, Kuka J, Svalbe B, Cirule H, Liepinsh E, Grinberga S, et al. Administration of L-carnitine and mildronate improves endothelial function and decreases mortality in hypertensive Dahl rats. *Pharmacol Rep*. 2011; 63(3):752-62.

46. Dambrova M, Cirule H, Svalbe B, Zvejniece L, Pugovichs O, Zorenko T, et al. Effect of inhibiting carnitine biosynthesis on male rat sexual performance. *Physiology & Behavior*. 2008; 95(3): 341-347.
47. Bruverisa Z, Antanea V, Misaneb I, Rimeicansa J, Lusisa I, Auzansa A, et al. Effects of meldonium on sexual performance, sperm motility, testes morphology and blood biochemical markers in boars. *Anim Reprod Sci*. 2013; 136(4):303-9.
48. Edited by Castell LM, Stear SJ, and Burke LM. *Nutritional Supplements in Sport, Exercise and Health: An A–Z Guide*. 2015:426. Available from: www.nutritionjrn.com
49. The World Anti-Doping Agency [<https://www.wada-ama.org>]. World Anti-Doping Code. Available from: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/wada_anti-doping_code_2018_english_final.pdf.
50. The 2015 monitoring program. World Anti-Doping Agency. Available from: <https://www.wada-ama.org/en/resources/science-medicine/monitoring-program>
51. Stuart M, Schneider C, Steinbach K. Meldonium use by athletes at the Baku 2015 European Games. *Br J Sports Med*. 2016.
52. World anti-doping agency, Technical Document – TD2018MRPL. Available from: <https://www.wada-ama.org/en/resources/science-medicine/td2018mrpl-0>
53. Kim Y, Jeong D, Min H, Kim K.H. Method for screening and confirming meldonium in human urine by high-resolution mass spectrometry and identification of endogenous interferences for anti-doping testing. *Mass Spectrometry Letters*. 2017; 8(2):39-43.