



UNIVERSIDADE D
COIMBRA



Diogo Jorge Ruivo Soares

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A dopagem no desporto - formas, biomarcadores e limitações no controlo analítico” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Cláudia Silvestre, do Dr. João Braga e do Professor Doutor José Barata Custódio apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2018

Diogo Jorge Ruivo Soares

**Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A
dopagem no desporto – formas, biomarcadores e
limitações no controlo analítico” referentes à Unidade
Curricular “Estágio”**

Sob a orientação do Professor Doutor José Barata Antunes Custódio, Dr.^a Cláudia Silvestre
e Dr. João Braga apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para
apreciação na prestação de provas públicas do Mestrado Integrado em Ciências
Farmacêuticas

Setembro 2018

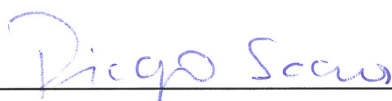


DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Diogo Jorge Ruivo Soares, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013172106, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A dopagem no desporto – formas, biomarcadores e limitações no controlo analítico” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 6 de setembro de 2018.



(Diogo Jorge Ruivo Soares)

AGRADECIMENTOS

Um muito obrigado a todos os que fizeram parte deste percurso, em especial à minha família e aos meus amigos.

Agradecer ao Professor Doutor José Custódio pela ajuda e disponibilidade demonstrados.

A toda a equipa da Farmácia de Celas pelos ensinamentos transmitidos e pelo apoio prestado.

Por fim agradecer também à equipa da Farmalabor pela experiência diferente que proporcionaram.

Índice

Agradecimentos	3
Capítulo I - A dopagem no desporto – formas, biomarcadores e limitações no controlo analítico	7
Lista de Abreviaturas	8
Resumo	9
Abstract	9
Introdução	10
Contextualização da Dopagem.....	11
Autorização de Utilização Terapêutica	11
Seleção para o Controlo Antidopagem.....	12
Formas de Dopagem.....	13
Substâncias	13
Esteróides Androgénico-Anabolizantes	14
Estimulantes.....	15
Agonistas β -2	15
Estimulantes da Eritropoiese	15
Hormona de Crescimento.....	17
Substâncias Emergentes	17
Moduladores metabólicos – Indutores da biogénese mitocondrial.....	18
Estimulantes da indução da hipóxia.....	19
Transfusões Sanguíneas.....	19
Transfusões homólogas	20
Transfusões autólogas.....	20
Manipulação química e física	21
Dopagem genética.....	21
Limitações Analíticas.....	22
Incapacidade de distinção entre uso intencional/uso inadvertido	22
Recurso a substâncias não aprovadas ou em desenvolvimento.....	23
Recurso a substância semelhantes às endógenas	23
Uso de microdoses	24
Agentes mascarantes	24
Transfusões sanguíneas	25
Matrizes utilizadas	25
Treino em altitude	26

Tempo de deteção	27
Biomarcadores	27
Passaporte Biológico.....	28
Módulo Hematológico	29
Módulo de Esteróides	31
Inclusão de novos biomarcadores no passaporte biológico.....	33
Conclusão.....	35
Referências	36
Capítulo II - Relatório de Estágio Farmácia de Celas	41
Lista de Abreviaturas	42
Nota Introdutória.....	43
Farmácia de Celas.....	43
Análise SWOT.....	44
Pontos Fortes.....	44
A Equipa	44
Localização.....	44
Serviços existentes.....	44
Variedade de produtos	45
Integração na equipa - processo de adaptação gradual	45
Preparação de manipulados	45
Existência de fichas de utente.....	45
Pontos Fracos.....	46
Aconselhamento de produtos de dermocosmética/uso veterinário/health care	46
Dificuldades a nível de colírios/gotas/pomadas oftálmicas	46
Produtos para tratamento de infertilidade.....	46
Oportunidades	47
Formações	47
Medicamentos de dispensa exclusiva em farmácia	47
Cartão saúde	47
Dinamização da farmácia	47
Ameaças.....	48
Competição desigual por parte das parafarmácias	48
Quantidade de informação existente.....	48
Gestão de stocks	48
Casos Clínicos	49
Caso clínico I.....	49

Caso clínico II.....	49
Considerações Finais.....	51
Referências	52
Capítulo III - Relatório de Estágio Farmalabor	53
Lista de Abreviaturas	54
Nota Introdutória.....	55
Farmalabor	55
Estágio	56
Análise SWOT.....	57
Pontos Fortes.....	57
História rica da Farmalabor	57
Estágio na garantia de qualidade.....	57
Organização do estágio.....	57
Ida à produção	58
Equipa.....	58
Visão geral do papel do farmacêutico.....	58
Pontos Fracos.....	58
Complexidade documental	58
Desconhecimento da realidade da Indústria Farmacêutica.....	59
Oportunidades	59
Globalização	59
Modelo de negócio da Farmalabor.....	59
Ameaças.....	59
Dificuldades para os farmacêuticos	59
Caraterísticas do mercado.....	60
Considerações Finais.....	61
Referências Bibliográficas	62
Anexos	63
Anexo I	63

CAPÍTULO I

A DOPAGEM NO DESPORTO – FORMAS, BIOMARCADORES E LIMITAÇÕES NO CONTROLO ANALÍTICO

LISTA DE ABREVIATURAS

DBS – do inglês *Dried Blood Spots*

EPO – Eritropoietina

GH – Hormona de Crescimento

[Hb] – Concentração de Hemoglobina

Hb – Hemoglobina

Hct – Hematócrito

HIF – Fator Indutor da Hipóxia

IRMS – Espectrometria de massa de radioisótopos

PGC-1 α – do inglês *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ coactivator 1- α*

rhEPO – do inglês *recombinant human Erythropoietin*

rhGH – do inglês *recombinant human Growth Hormone*

UGT – Uridina Glucuronosil Transferase

WADA – do inglês *World Anti-Doping Agency*

RESUMO

A dopagem no desporto é algo que as autoridades procuram combater há vários anos, no entanto os atletas têm sempre conseguido encontrar novas substâncias, estratégias e métodos para conseguir evadir o sistema.

O esforço das autoridades tem sido constante, procurando que a deteção analítica seja mais eficaz. Em paralelo, novas estratégias têm sido utilizadas como o passaporte biológico, para conseguir reunir um conjunto de dados mais amplo e assim obter um combate mais efetivo.

O objetivo para o futuro é que se possa assistir a uma prática desportiva limpa, apesar do caminho parecer demonstrar que os atletas se encontram sempre um passo a frente.

Palavras-chave: Dopagem, Passaporte Biológico, Controlo Analítico, Biomarcadores, Eritropoietina, Transfusões sanguíneas, Esteróides androgénico-anabolizantes.

ABSTRACT

Doping in sports is a practice that authorities throughout the years have fought against, however the athletes have always achieved new substances, strategies and methods to evade the system implemented.

The efforts of the authorities have been continuous, searching for a more capable analytical detection. Besides the analytical improvements, new strategies like the athlete biological passport have been implemented seeking a wider set of information and thus obtain a more effective combat.

The target for the future is to have a clean sports practice, although it seems that athletes are always one step forward.

Keywords: Doping, Athlete Biological Passport, Analytical Control, Biomarkers, Erythropoietin, Blood transfusions, Anabolic steroids.

INTRODUÇÃO

A dopagem no desporto é um tema complexo que não se cinge apenas à presença de uma substância proibida nas análises de um atleta. Atualmente a definição de dopagem é mais ampla do que o simples aumento ilícito do rendimento do atleta, humano ou animal e incorre num procedimento que viola um conjunto de condições desde o uso ou tentativa de uso de uma substância ou método proibido, a recusa da colheita de uma amostra após ser notificado para a mesma, a não comparência num conjunto de testes, a interferência em alguma etapa do processo de controlo antidopagem ou o envolvimento no tráfico de uma substância ou método proibido (WADA, 2018).

É importante perceber que muitas das substâncias utilizadas com o objetivo de aumento de eficiência desportiva, estão ao acesso do farmacêutico no seu trabalho diário na farmácia comunitária. Exemplos disso são os diuréticos, os agonistas dos recetores β -2 adrenérgicos ou os β -bloqueantes, e torna-se interessante perceber como substâncias com que o farmacêutico contacta todos os dias, como foi o caso no estágio em farmácia comunitária, podem ter um uso alternativo.

A questão da dopagem é complexa, e por vezes há deteção de substâncias proibidas a que os atletas estiverem sujeitos de forma inadvertida. Um desses exemplos é o caso dos suplementos. Muitas vezes, os atletas de alta competição recorrem à suplementação com diversos objetivos, entre os quais facilitar a recuperação pós-exercício ou complementar a dieta de forma a ter um suporte nutricional adequado às necessidades (Garthe e Maughan, 2018). No entanto, no decorrer do processo de fabrico podem ocorrer contaminações de forma accidental, e para tal é importante que os fabricantes assegurem a implementação de um sistema adequado de garantia de qualidade, que possibilite a avaliação dos fornecedores das matérias-primas, que desenvolva procedimentos adequados de limpeza dos equipamentos e que no produto final, garanta a ausência de substâncias proibidas (Judkins *et al.*, 2010).

Uma das tarefas do farmacêutico na indústria passa pela gestão e garantia de qualidade, em que entre outras tarefas procura evitar que casos como o acima descrito aconteçam, tendo um papel na implementação de medidas de fabrico rigorosas e que cumpram as regulações que existem. No estágio em indústria farmacêutica tive a oportunidade de contactar com o sistema de garantia de qualidade e perceber a importância que tem para garantir a segurança dos produtos fabricados.

Neste trabalho, procurarei falar das formas que os atletas utilizam para aumentar o seu rendimento, das limitações analíticas existentes para a deteção das práticas ilícitas e da utilidade dos biomarcadores no auxílio à deteção.

CONTEXTUALIZAÇÃO DA DOPAGEM

A luta contra a dopagem no desporto, começou após os Jogos Olímpicos 1960, tendo sido paulatinamente implementadas algumas medidas, como a introdução de procedimentos para os controlos antidopagem, a criação de uma lista de substâncias e métodos proibidos ou a acreditação de laboratórios, que serviram de base para o aparecimento da *World Anti-Doping Agency* (WADA), nos anos 90, que revolucionou a estratégia antidopagem, levando à harmonização das regras e fazendo com que fossem adotadas universalmente (Ljungqvist, 2017).

O Código Mundial Antidopagem é então o documento pelo qual o programa antidopagem se baseia e que define o que é proibido na prática desportiva. Uma substância ou método é considerada proibida quando existe evidência que o seu uso possa levar a um aumento do rendimento desportivo para além do treino, que possa colocar em risco a saúde do atleta ou que ponha em causa o espírito do desporto (WADA, 2018).

A WADA publica anualmente uma lista (ver Anexo I), onde se encontram as substâncias e métodos proibidos, sendo essa lista, uma lista aberta, e que tem sofrido alterações por forma a incorporar as novas tendências, alertar para vias de administração proibidas e ajustar-se aos avanços farmacológicos e analíticos. Esta lista divide-se em três secções de acordo com as circunstâncias em que existe a proibição, ou seja, substâncias/métodos que são proibidos em qualquer circunstância, somente durante uma competição, ou apenas proibidas em determinados desportos. Esta distinção advém do facto de existirem substâncias/métodos que vão ter um efeito a longo prazo, como por exemplo os esteróides anabolizantes ou a hormona de crescimento, e como tal mesmo tomados durante um período de treino vão ter efeito na competição, sendo por isso sempre proibidas (Kinahan *et al.*, 2017) (WADA, 2018).

Autorização de utilização terapêutica

Uma questão importante reside no facto de muitos atletas terem problemas de saúde e necessitarem de tomar fármacos que são considerados proibidos. Por forma a combater esta situação surgem as Autorizações de Utilização Terapêutica, que permitem que um atleta com um real problema de saúde tenha autorização para a utilização de uma substância ou método proibido para o tratamento desse mesmo problema, não lhe sendo vedada a participação numa prova.

As condições para o acesso a estas autorizações estão bem definidas sendo necessário provar que se trata de uma situação patológica aguda ou crónica, que a substância/método em

causa terá baixa probabilidade de desencadear um rendimento superior ao seu normal e que não existe qualquer alternativa terapêutica razoável (WADA, 2016).

As implicações que este tipo de autorizações podem ter são variadas, e vão desde a permissão do uso de testosterona no tratamento de baixos níveis da mesma em indivíduos do sexo masculino, à utilização de agonistas dos recetores β -2 em asmáticos, ou ao uso de diuréticos para o tratamento de problemas de ordem renal e cardiovascular (Gerrard e Pipe, 2017).

Seleção para o controlo antidopagem

O controlo antidopagem é levado a cabo por um oficial do controlo de dopagem e o processo de controlo envolve várias fases. Em primeiro lugar ocorre a seleção do praticante desportivo, que pode ocorrer em qualquer lugar a qualquer hora, apesar da WADA definir que no período compreendido entre as 23h e as 6h, só deve ser realizado um controlo no caso de existirem sérias suspeitas sobre o atleta (WADA, 2018). Em segundo lugar, o atleta deve ser notificado da realização do controlo. Seguidamente, procede-se à colheita da amostra, a qual é analisada num laboratório com acreditação por parte da WADA.

Na tabela 1, são apresentadas as condições para a colheita de urina:

Tabela 1 – Condições a respeitar para a colheita de urina (Adaptado de WADA, 2014).

Volume	Densidade
90 mL 60 mL (Amostra A) + 30 mL (Amostra B)	Superior a 1,005 (Refratómetro) 1,010 (<i>Lab Sticks</i>)

Na Tabela 2, são apresentadas as condições para a colheita de sangue:

Tabela 2 – Condições a respeitar para a colheita de sangue (Adaptado de WADA, 2016).

	Tipo Amostra	Volume	Tipo de recipiente
Transfusões	Sangue Total	6 mL 3 mL (Amostra A) + 3 mL (Amostra B)	Com anticoagulante (EDTA)
Estimulantes da Eritropoiese	Soro	10 mL 5 mL (Amostra A) + 5 mL (Amostra B) 6 mL	Com fator ativador da coagulação
	Plasma sanguíneo	3 mL (Amostra A) + 3 mL (Amostra B)	Com anticoagulante EDTA)
Hormonas do Crescimento	Soro	10 mL 5 mL (Amostra A) + 5 mL (Amostra B)	Com fator ativador da coagulação
Passaporte Biológico	Sangue Total	3 mL	Com anticoagulante (EDTA)

Tanto no caso da colheita de amostras de urina como de sangue, com exceção do passaporte biológico, referiu-se à necessidade da recolha de duas amostras. Tal facto é devido à possibilidade da existência de um controlo positivo. Na rotina analítica, em primeiro lugar é analisada a amostra A. Caso suceda um resultado suspeito nessa primeira análise, procede-se a uma reanálise recorrendo novamente à amostra A. Após confirmação do resultado positivo, o atleta é notificado e pode solicitar nova análise confirmatória. Nesse caso, a amostra B que tinha sido previamente armazenada é utilizada para proceder a essa análise (WADA, 2018).

FORMAS DE DOPAGEM

Existem várias razões que levam um atleta a procurar uma substância/método para aumentar a sua eficiência desportiva. As razões mais comuns passam por procurar aumentar a massa muscular, aumentar o transporte de oxigénio para os tecidos, obter uma recuperação mais rápida após o esforço físico, ganho de concentração, reduzir peso ou esconder o uso de outras substâncias (Hatton *et al.*, 2014).

Estes objetivos podem ser alcançados a partir de diversas formas desde o recurso a substâncias, transfusões sanguíneas, através de manipulação física e química das amostras ou com recurso a dopagem genética.

Substâncias

Diversas substâncias de uso terapêutico, são usadas pelos atletas para obterem ganhos no seu rendimento desportivo. Serão abordadas substâncias que pela sua especificidade e pela história de abuso no desporto constituem exemplos importantes.

Na figura 1, são apresentadas as classes de substâncias mais detetadas em 2017 pela WADA.

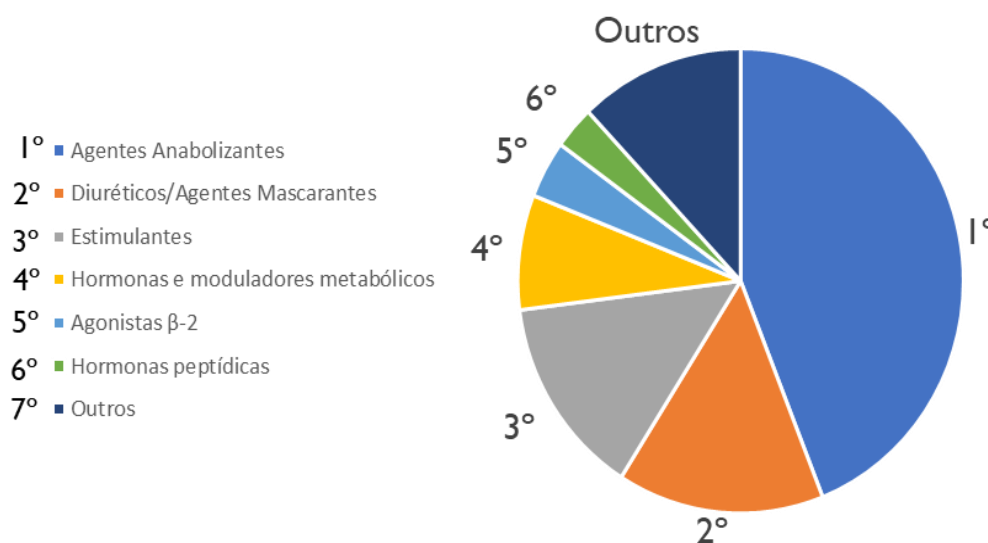


Figura 1 – Substâncias mais detetadas nos controlos antidopagem efetuados em 2017 (Adaptado de WADA, 2017).

Esteróides Androgénico-Anabolizantes

Um dos grupos de substâncias mais utilizado para melhoria do rendimento desportivo é o grupo dos esteróides anabolizantes. Este grupo foi o responsável pelo maior número de casos detetados no ano de 2017 (Fig.1) (WADA, 2017). Estes compostos são análogos da testosterona, que procuram potenciar os efeitos anabolizantes e diminuir os efeitos androgénicos, que não têm interesse para os atletas, uma vez que estes procuram as propriedades anabólicas destas moléculas para aumento de massa muscular (Rocha *et al.*, 2014).

Para o efeito pretendido de aumento de massa muscular, é necessário o recurso à utilização de doses supra-fisiológicas. O esquema muitas vezes utilizado consiste no uso combinado de vários, com recurso a doses progressivamente maiores até se atingir uma dose máxima, a partir da qual se começa a assistir a uma diminuição progressiva da dose. Os atletas recorrem a este tipo de prática de forma cíclica, ou seja, administram estas substâncias durante um determinado período de tempo, tendo em seguida um período de intervalo para que o seu sistema hormonal volte ao funcionamento normal. A utilização provoca efeitos secundários tais como, ginecomastia, atrofia testicular e acne, que leva a que os atletas utilizem outras moléculas para contrariar esses efeitos, tais como o tamoxifeno, a gonadotrofina coriónica e a isotretinoína, respetivamente (Hatton *et al.*, 2014).

A maioria são identificados com recurso a cromatografia gasosa associada a espetrometria de massa (GC-MS) e cromatografia líquida associada a espetrometria de massa (LC-MS), no entanto os atletas cada vez mais recorrem a substâncias semelhantes às endógenas como a testosterona sintética ou a precursores da testosterona como a androstenediona e a dihidroepiandrosterona (DHEA), situações para as quais a espetrometria de massa não consegue fazer a distinção para as substâncias endógenas naturais.

Durante um período a única forma de sancionar baseava-se na análise do quociente testosterona/epitesterona, que discutiremos posteriormente. Não existia por isso forma de fazer a distinção diretamente, até ao momento em que surge a espetrometria de massa de radioisótopos (IRMS). O IRMS está associado a cromatografia gasosa e a uma câmara de combustão (GC/C/IRMS). O princípio que permite a distinção é que a quantidade do isótopo ^{13}C na testosterona exógena é diferente da quantidade presente na testosterona produzida a partir do metabolismo do colesterol (endógena), sendo possível a partir daí estabelecer a diferença entre as duas formas de testosterona. Na GC há a separação dos componentes, sendo em seguida oxidados a CO_2 na câmara de combustão, e a partir daí é avaliado o

quociente $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ através do IRMS, sendo que a quantidade de ^{13}C na testosterona exógena é mais elevada.

Para além do recurso a precursores para aumento dos níveis de testosterona, os atletas recorrem também a outras formas indiretas como o recurso a inibidores da aromatase, que evitam a aromatização da testosterona para estradiol, e a utilização de formas recombinantes da hormona LH ou da gonadotrofina humana coriónica, que estimulam a espermatogénese, com consequente produção de testosterona (Basaria, 2010).

Estimulantes

Os estimulantes são moléculas que estão proibidas unicamente durante a competição, no entanto tal facto não impede que estas substâncias sejam também das mais usadas por parte dos atletas (Fig.1) que procuram que as mesmas lhes forneçam um aumento de energia e concentração, por forma a diminuir a fadiga e obter um melhor rendimento desportivo. Tendo em conta que estas moléculas têm como uma das suas propriedades a redução do apetite, leva a que também sejam usadas pelos atletas para a perda de peso, embora as mais usadas para este fim sejam os diuréticos (Fig.1) (Hatton *et al.*, 2014). Moléculas como o metilfenidato ou as anfetaminas, caracterizadas pelo efeito de estimulação do sistema nervoso central, foram das mais usadas em 2017 dentro do grupo dos estimulantes (WADA, 2017).

Agonistas β -2

Os agonistas β -2 são procurados pelos atletas, devido ao facto do efeito broncodilatador poder representar uma vantagem na capacidade respiratória. Algumas moléculas deste grupo, como é o caso do salbutamol, apresentam uma propriedade diferenciadora da maioria das substâncias proibidas, que é o facto da presença de salbutamol numa amostra só ser considerada como dopagem a partir de determinada concentração, nomeadamente a partir de 1000 ng/mL (WADA, 2018). O salbutamol é uma das moléculas em que a sua situação a nível de controlo antidopagem já sofreu mais alterações, tendo estado inclusivamente proibida a presença desta substância em qualquer concentração. Muitas vezes devido à variabilidade interindividual, as respostas farmacocinéticas são diferentes, levando a que o limite detetado ultrapasse os 1000 ng/mL, apesar do atleta ter recorrido a uma dose terapêutica da substância (Fitch, 2017).

Estimulantes da Eritropoiese

Os estimulantes da eritropoiese são um conjunto de moléculas, que como o próprio nome indica, tem como objetivo estimular a eritropoiese e melhorar a oxigenação tecidual. É neste

grupo que se encontra a eritropoietina (EPO), molécula fisiológica libertada pelos rins e que tem o papel de estimular a eritropoiese, sendo interessante para os atletas devido ao facto de aumentar a oxigenação nos tecidos (Heuberger *et al.*, 2017). Os doentes com insuficiência renal crónica, não produzem quantidade suficiente de EPO, correndo o risco de entrarem em estados anémicos. Com o objetivo de resolver esta situação, surge a eritropoietina recombinante (rhEPO), que rapidamente passou a ser utilizada de forma inadequada por parte dos atletas. A deteção da rhEPO foi algo que levantou problemas, tendo em conta a homologia na cadeia de aminoácidos em relação à EPO endógena. No entanto, devido ao facto da rhEPO ser originada a partir de linhas celulares de hamster, sofre modificações pós-tradução que levam a que haja ligeiras diferenças no perfil de glicosilações, sendo que também existe menor quantidade de ácido siálico na superfície da rhEPO alterando o padrão de carga da substância e a partir daí, a migração da rhEPO e da EPO endógena através de técnicas eletroforéticas vai ser diferente. As técnicas eletroforéticas são acompanhadas por *immunoblotting*, em que após a separação eletroforética, há a passagem para uma membrana em que ocorre a ligação do anticorpo para a EPO, seguido da ligação do segundo anticorpo que reconhece o primeiro. O segundo anticorpo está ligado a um cromóforo, sendo depois medida a luminescência.

Mais tarde foram surgindo outras formas análogas, nomeadamente a Darbepoietina- α , que tem maior duração de ação do que a rhEPO devido a ter mais N-glicosilações. Surge também um ativador do recetor da EPO que tem maior afinidade para o recetor, com uma semi-vida sanguínea bastante prolongada (6 dias) e que devido a isto, tem a vantagem de poder ser administrada apenas uma vez por mês. Estas moléculas apesar de tudo não conferem grande vantagem para os atletas em relação a rhEPO, devido ao facto de o seu tempo de deteção ser maior (Jelkmann e Lundby, 2011).

Os esquemas terapêuticos utilizados podem ter diversas nuances, sendo que se pensa que pode passar por um esquema em que existe uma dose elevada inicialmente de rhEPO feita algumas semanas antes da competição para existir um incremento rápido na Hemoglobina. Mais perto da competição, pode existir um período de administração de uma dose baixa (microdose), que permite a manutenção dos valores de VO_{2max} e Hemoglobina. Tendo em conta a eliminação mais rápida conferida pelas microdoses, os atletas podem planear a administração para aproveitar o período entre as 23h e as 6h, período em que como já foi dito acima, a probabilidade de se ser submetido a um controlo é menor (Mørkeberg, 2013).

A administração das microdoses em competição é importante porque caso não acontecesse, haveria uma diminuição dos parâmetros fisiológicos como o VO_{2max} e uma menor capacidade de oxigenação tecidual (Clark *et al.*, 2017).

Hormona de crescimento

A hormona de crescimento (GH) é produzida na hipófise anterior promovendo a lipólise e a síntese proteica, estimulando o aumento muscular, com consequente aumento na atividade física e oxigenação tecidual. A sua utilização é muitas vezes feita em conjunto com os esteróides anabolizantes.

O aparecimento da hormona de crescimento recombinante (rhGH) veio originar o uso abusivo da mesma. Tal como no caso da rhEPO, as semelhanças com a substância produzida pelo organismo são bastantes. Assim sendo, torna-se difícil a sua deteção analítica pelo facto da dificuldade de distinção entre substâncias.

A GH endógena é uma mistura de várias isoformas, sendo as isoformas de 22 KDa e 20KDa as mais abundantes. Por outro lado, a rhGH apenas é constituída pela isoforma de 22 KDa. Após administração de rhGH, a libertação endógena vai estar inibida, logo existirá um aumento da isoforma de 22 KDa, que será quantificado através de imunoensaios (Holt, 2011).

Apesar de permitir a distinção, esta técnica tem algumas limitações relacionadas com as características da rhGH, nomeadamente o tempo de deteção curto da substância (cerca de 36h após a última administração). Para além deste facto, as próprias características da GH endógena dificultam a deteção, uma vez que é uma substância secretada de forma pulsátil, o que origina concentrações sanguíneas muito variáveis, dificultando a interpretação de resultados obtidos.

Uma das formas encontradas para ultrapassar as dificuldades analíticas acima referidas foi a pesquisa de biomarcadores. Em resposta ao aumento da concentração de GH, algumas proteínas que são libertadas por intervenção direta da GH vão aparecer aumentadas, nomeadamente o *Insulin-like growth factor-I* (IGF-I) e o *N-terminal Pro-Peptide of type III collagen* (P-III-NP). A grande vantagem obtida é o aumento do tempo de deteção, uma vez que a IGF-I atinge o seu máximo 2 semanas após a administração de GH e a P-III-NP entre 4 a 6 semanas (Tan *et al.*, 2017).

Substâncias Emergentes

As substâncias apresentadas acima, nomeadamente a eritropoietina ou os agonistas β -2, são substâncias que estão acessíveis a nível hospitalar ou a nível das farmácias. Pelo contrário, os exemplos que referimos a seguir são substâncias que ainda não completaram ou não passaram o processo de ensaios clínicos, mas para as quais já existem métodos de deteção determinados, estando mesmo já incluídas na lista de substâncias proibidas da WADA

No caso da GW156, a utilização da técnica LC-MS consegue proceder à deteção da molécula. No caso do *5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D ribofuranoside* (AICAR), a situação já é diferente uma vez que esta molécula aparece de forma natural na urina sendo necessário a utilização de IRMS para fazer a distinção entre a de origem exógena e de origem endógena (Thevis e Schänzer, 2016).

Estimulantes da indução da hipóxia

Os estimulantes da indução da hipóxia são fármacos que procuram que o fator indutor da hipóxia (HIF) esteja ativado, desencadeando a produção de EPO. O HIF é uma proteína que em situações de normóxia se encontra hidroxilada, não desencadeando nenhuma resposta. Contrariamente, em situações de hipóxia esta proteína não se encontra hidroxilada, estando na sua forma normal, capaz de se ligar ao fator responsável pela hipóxia no gene da EPO e levar à expressão da mesma. Logicamente há aumento da eritropoiese, daí o interesse para os atletas. Este conjunto de moléculas tem sido estudado para o tratamento de pacientes com anemia derivada de insuficiência renal crónica, e como tal com deficiências a nível da síntese de EPO. Para os atletas apresenta uma vantagem em relação à rhEPO, que é a possibilidade de administração oral, contrariamente à administração subcutânea ou intravenosa da rhEPO.

A estratégia encontrada para que o HIF esteja estabilizado foi a inibição dos co-fatores *2-oxoglutarate* (2-OG), ascorbato e Fe(II), responsáveis pela ativação das enzimas que iriam hidroxilar o HIF. Estando a atividade destas enzimas comprometida, torna-se inviável a hidroxilação do HIF e a sua inativação (Beuck e Thevis, 2012).

O uso desta molécula não se encontra aprovado, existindo já algumas moléculas na fase III de ensaios clínicos, como é o caso do molidustat[®], que inclusivamente já teve casos positivos detetados, reforçando a importância do desenvolvimento de estratégias analíticas antes da aprovação das substâncias (Thevis *et al.*, 2018) (WADA, 2017).

Transfusões sanguíneas

As transfusões sanguíneas têm como objetivo aumentar o número de eritrócitos, permitindo aumentar a capacidade de transporte de oxigénio dos pulmões para os músculos, com o conseqüente incremento do desempenho desportivo. Existem dois tipos de transfusões: as homólogas, quando a transfusão é feita a partir de uma dador sanguíneo compatível e as autólogas quando ocorre reinfusão do sangue do próprio atleta (Lippi *et al.*, 2006).

Transfusões homólogas

Esta forma de dopagem foi especialmente utilizada após a descoberta do método analítico para a detecção dos estimulantes da eritropoiese, uma vez que nesse período ainda era impossível a detecção de transfusões homólogas, e ambas as metodologias tinham o mesmo efeito no aumento do transporte de oxigênio. Este exemplo, permite falar acerca do fator que pode ser considerado o “motor” da dinâmica antidopagem, que é o facto de uma determinada prática ser amplamente utilizada até à descoberta do método que leva à sua detecção. Após essa descoberta, ou a utilização cai em desuso ou são encontradas novas estratégias de mascarar o uso de tal método. É por isso que muitas das vezes, a analogia usada para referência à luta antidopagem é a do gato e o rato (Pottgiesser e Schumacher, 2013).

O mesmo se passou com as transfusões homólogas, uma vez que a partir do momento em que se começou a utilizar a citometria de fluxo na detecção deste método e que houve prova da sua eficácia, os atletas deixaram de usar tal estratégia. Consistindo as transfusões homólogas na transfusão de sangue proveniente de um dador para um recetor, ou seja, entre indivíduos diferentes, serão encontradas populações de glóbulos vermelhos diferentes, que vão possuir antígenos específicos diferentes. Esses antígenos serão reconhecidos pelos anticorpos respetivos, a esses anticorpos ligar-se-ão segundos anticorpos marcados com um composto fluorescente. A posterior emissão de fluorescência medida através da citometria de fluxo, permitirá a distinção antigénica entre os diferentes grupos de glóbulos vermelhos, e permitirá concluir, em caso de existirem diferenças que se estão perante glóbulos vermelhos provenientes de diferentes indivíduos, resultado de uma transfusão homóloga (Nelson *et al.*, 2003). Esta técnica tem grande sensibilidade, conseguindo mesmo fazer a distinção entre os diferentes glóbulos vermelhos, desde que haja pelo menos um antígeno diferente entre eles (Nelson *et al.*, 2002).

Transfusões autólogas

As transfusões autólogas consistem na colheita do próprio sangue e na reinfusão em período posterior. O esquema convencional passa pela retirada do sangue e reinfusão passado pelo menos 3 semanas, com o objetivo de nesse período, os parâmetros hematológicos como os níveis de hemoglobina (Hb) regressarem a valores normais. A reinfusão é normalmente feita antes da competição, com o objetivo de aumentar os valores de Hb, sendo que em competições como as grandes voltas de ciclismo, em que há muitos dias de competição, o objetivo é apenas compensar a quebra nos valores de concentração de hemoglobina [Hb], que surgiram do aumento do volume plasmático provocado pelo exercício continuado (Mørkeberg, 2013). Este tipo de método é bastante engenhoso e trabalhoso, porque como é

perceptível, para além dos cuidados na colheita e reinfusão do sangue, são necessárias condições de armazenamento adequadas, sendo esse um fator crítico. O sangue antes de ser armazenado é centrifugado, permitindo a separação dos eritrócitos, que podem ser armazenados a 4°C, congelados a -80°C com a adição de glicerol como crioprotetor, ou ainda armazenados em anaerobiose. A criopreservação e o armazenamento em anaerobiose têm a vantagem de diminuir os danos nos glóbulos vermelhos (Burns *et al.*, 2016).

As transfusões autólogas parecem ainda ser bastante utilizadas pelos atletas, uma vez que a deteção direta das mesmas é impossível. Ao contrário das transfusões homólogas, não há nada que as diferencie em relação às características endógenas, sendo por isso a sua deteção baseada exclusivamente na avaliação de alterações de parâmetros fisiológicos que discutiremos posteriormente (Lippi *et al.*, 2006).

Manipulação química e física

Outro método que a WADA refere como proibido é a manipulação química e física das amostras colhidas durante um controlo antidopagem. Exemplos de tais situações podem considerar-se por exemplo a substituição de urina ou adulteração da mesma através de proteases (WADA, 2018). O caso mais mediático de substituição de amostras de urina é provavelmente o recente escândalo russo, mas também existem exemplos de manipulação não tão elaborados, como substituição de urina por cerveja (Thevis *et al.*, 2012).

As proteases, devido às suas propriedades de degradação de proteínas são utilizadas por exemplo para mascarar o uso de rhEPO. No entanto, facilmente se percebe a sua utilização, uma vez que promovem a eliminação de EPO da amostra, tanto da forma endógena como da exógena. Atualmente, existem também métodos diretos que detetam os detritos das proteases (Kohler *et al.*, 2009). O uso de diuréticos ou a diluição da urina é outro processo frequente (Ventura e Segura, 2010).

Dopagem genética

O terceiro método que é classificado como proibido é o da dopagem genética. Este método inclui estratégias tais como o uso de ácidos nucleicos, sendo um exemplo o *small-interfering RNA* (siRNA) que promove o silenciamento de genes, impedindo a sua expressão.

Como dopagem genética, são também considerados o uso de agentes que vão promover alterações na expressão genética, influenciando por exemplo a regulação epigenética e o uso de células normais ou geneticamente modificadas. Até ao momento nenhum atleta foi controlado positivamente por dopagem genética, sendo um dos motivos apontados, o facto das estratégias mais comuns de dopagem ainda trazerem mais benefícios relativamente à

dopagem genética, uma vez que os atletas já têm indicações dos resultados a esperar (Neuberger e Simon, 2017).

LIMITAÇÕES ANALÍTICAS

A luta contra a dopagem no desporto tem sofrido melhorias para que seja possível a deteção de um maior número de casos, sendo exemplos o aumento no número de substâncias/métodos proibidos bem como o avanço tecnológico das técnicas de deteção.

Aguilar *et al.* (2017) procederam à análise dos relatórios anuais da WADA desde 2003 a 2015, e verificaram que existiu um aumento de 101% nesse período no número de amostras analisadas. Curiosamente, a percentagem de casos manteve-se constante durante todo este período, algo que talvez não fosse esperado tendo em conta o aumento de sensibilidade das técnicas de deteção. Estes resultados indicam que ainda existem limitações analíticas e que novos passos terão que ser dados para aumentar a capacidade analítica (Aguilar *et al.*, 2017).

Incapacidade de distinção entre uso intencional/uso inadvertido

Um dos casos mais enfatizados como sendo um caso de dopagem não intencional, é o caso da ingestão de carne contaminada com clenbuterol. O clenbuterol é uma substância com propriedades simpaticomiméticas, que atua ao nível dos recetores β -2, tendo por isso utilidade terapêutica a nível de problemas do foro respiratório. Além das propriedades de utilização terapêutica, o clenbuterol apresenta também propriedades anabolizantes, sendo usado indevidamente em animais para potenciar o seu crescimento bem como, de forma intencional, por atletas para aumentar o rendimento desportivo (Thevis *et al.*, 2013).

Um caso que corrobora a hipótese de contaminação acidental por clenbuterol, aconteceu no Campeonato do Mundo de Futebol Sub-17 de 2011, realizado no México. Nesta competição, a incidência de casos de contaminação foi elevada, tendo-se detetado 109 controlos positivos num total de 208 amostras analisadas (52% de casos positivos), sendo que apenas em 5 seleções não se verificou nenhum caso positivo. Para averiguar a causalidade com a carne contaminada, foram analisadas 47 amostras de carne, das quais 14 amostras (30%) apresentavam vestígios de clenbuterol. Tendo em conta estes resultados, a Federação Internacional de Futebol (FIFA) não puniu nenhum dos atletas, uma vez que o cenário mais plausível para estes factos teria sido a ingestão de carne contaminada (Thevis *et al.*, 2013).

Esta substância permite abordar uma questão interessante que é a dificuldade entre distinguir o uso premeditado de o uso inadvertido de uma substância. Sabe-se que o clenbuterol utilizado na terapêutica é uma mistura racémica e que o isómero S (+) é retido durante mais tempo nos tecidos comestíveis dos animais, ao passo que o isómero R (-) é

eliminado mais rapidamente após terminar a administração da substância. Uma forma de utilizar estas características próprias do clenbuterol, foi o desenvolvimento dum quociente entre o isómero R (-) e o isómero S (+). Portanto, se o quociente for inferior a 1, conclui-se que a presença da forma R (-) é menor, logo é inconsistente com uma administração recente e de forma propositada por parte do atleta, sendo a causa mais provável a contaminação da carne. Contudo, se o quociente for superior a 1, não se pode concluir sem reservas que tenha sido o atleta a utilizar a substância de forma premeditada, porque o que acontece muitas das vezes, é que a administração da substância aos animais acontece até ao período de abate, não dando tempo para o desaparecimento da forma R (-), e como tal pode ter-se um quociente superior a 1 e a contaminação ser de origem animal. Por isso, este método apesar de ser uma ajuda torna-se inconclusivo em determinadas situações, sendo este exemplo um reflexo da dificuldade em distinguir o porquê de um controlo positivo de um atleta (Thevis *et al.*, 2013).

Recurso a substâncias não aprovadas ou em desenvolvimento

Um dos problemas que dificulta a deteção analítica é a utilização de substâncias sem aprovação para uso clínico ou que ainda estão em processo de desenvolvimento, em que há maior probabilidade do processo analítico não contemplar a deteção destas moléculas. Como tal, é de capital importância que a mecânica antidopagem esteja preparada para o aparecimento destas substâncias, sendo necessário um trabalho a montante no que toca à escolha dos métodos analíticos para deteção adequada destas moléculas, conhecimento farmacocinético da molécula para definição dos períodos possíveis de deteção e conhecimento da estrutura química dos metabolitos originados (Thevis e Schänzer, 2014). Como estas substâncias muitas das vezes ainda se encontram em ensaios clínicos, é importante uma estreita colaboração entre a indústria farmacêutica responsável pelo desenvolvimento e investigação da substância, e os laboratórios responsáveis pelos controlos antidopagem com o objetivo de um acesso mais fácil e rápido aos dados da substância (Beuck e Thevis, 2012). Ao ter-se conhecimento do perfil da molécula, será possível fazer-se a deteção direcionada para a mesma, uma vez que já existem dados para lhe serem associados, sendo menor a probabilidade do uso da substância não ser detetado (Thevis e Schänzer, 2014).

Recurso a substância semelhantes às endógenas

Uma das principais limitações na deteção analítica de casos de dopagem, é o facto de os atletas recorrerem a substâncias sintéticas semelhantes às endógenas, como acontece com a testosterona, com a hormona de crescimento ou com a eritropoietina. Nas amostras colhidas, como é expectável, serão detetadas substâncias endógenas, e o ponto chave está na capacidade

dos métodos analíticos existentes em conseguirem fazer a distinção entre a presença da substância decorrente dos processos fisiológicos ou a presença devido a administração externa, o que muitas vezes aliado a baixos períodos de detecção torna-se numa tarefa difícil (Ayotte, *et al.*, 2017).

Uso de microdoses

Uma das estratégias a que os atletas têm recorrido é a utilização de doses mais pequenas das substâncias, administradas em intervalos mais curtos, com o objetivo de não provocar variações bruscas nos níveis basais de determinados parâmetros nem aumentos acentuados nas concentrações sanguíneas, dificultando assim a detecção (Ashenden *et al.*, 2011).

Pensa-se que esta é uma das estratégias usadas no abuso de rhEPO. Após uma dose inicial mais alta, em vez de se proceder a um abandono completo da substância, utilizam-se microdoses que evitam uma redução brusca no valor da percentagem de reticulócitos, que seria expectável após a cessação do uso de rhEPO. Assim esta estratégia é uma tentativa de mascarar um dos parâmetros que podia indiciar o abuso de rhEPO. Com o mesmo intuito de mascarar um valor baixo de reticulócitos, são utilizadas microdoses de rhEPO após a re-infusão sanguínea no esquema de autotransfusões (Clark *et al.*, 2017).

Outra dificuldade está relacionada com o tempo de detecção. Mantendo como exemplo a rhEPO, mesmo através de administração intravenosa em que naturalmente o tempo de detecção é inferior à administração subcutânea, a capacidade de detecção urinária é de 2/3 dias em esquemas normais de terapêutica, enquanto que com a utilização de microdoses a sua detetabilidade urinária passa para 12-18 horas pós-administração (Martin *et al.*, 2016).

Agentes mascarantes

Algumas substâncias proibidas são utilizadas com um objetivo diferente do aumento do desempenho do atleta. É o caso dos chamados agentes mascarantes que se destinam a camuflar o uso de outras substâncias, essas sim com o objetivo de aumento de rendimento desportivo, dificultando a detecção direta das mesmas.

Várias substâncias são usadas com este propósito, entre as quais se destacam os diuréticos, a epitestosterona, a probenecida, a desmopressina ou os expansores plasmáticos. Atuam por diferentes mecanismos e têm aplicabilidade em casos diferentes. Os atletas recorrem aos diuréticos porque o aumento do fluxo urinário leva à diminuição da concentração das substâncias proibidas na urina ou ao efeito de diluição da mesma. A epitestosterona é usada para baixar o quociente testosterona/epitestosterona e como tal dificultar a detecção das

moléculas ilícitas. A probenecida é um fármaco utilizado no tratamento da gota e é um inibidor competitivo do transporte ativo nos túbulos renais, impedindo a reabsorção do ácido úrico.

Para os atletas torna-se interessante pelo facto de impedir a excreção de ácidos orgânicos, como os metabolitos dos esteróides anabolizantes, que são eliminados conjugados com o ácido glucorónico. Os expansores plasmáticos são importantes em situações como a hipovolémia porque permitem o restabelecimento do volume sanguíneo, uma vez que são utilizadas soluções colóides, que têm a capacidade de captar os fluidos. Este tipo de soluções é vantajoso para os atletas principalmente em situações de dopagem sanguínea, uma vez que tem um efeito de hemodiluição (Ventura e Segura, 2010).

A desmopressina é um análogo sintético da hormona anti-diurética (ADH), sendo por isso um antidiurético, tornando-se útil na tentativa de camuflar o aumento da [Hb] ou do Hematócrito (Hct), devido ao seu efeito de hemodiluição (Esposito *et al.*, 2013).

Transfusões sanguíneas

A deteção das transfusões sanguíneas também não é isenta de limitações. A nível das transfusões autólogas atualmente não existe nenhuma forma de proceder à deteção direta. A deteção das transfusões homólogas, como referido anteriormente, é baseada na deteção das variações antigénicas existentes entre os glóbulos vermelhos do dador e do recetor.

Aquando da realização duma transfusão homóloga, o dador escolhido é analisado quanto à compatibilidade com o recetor a nível do grupo sanguíneo AB0 e do antigénio Rh(D). Em relação aos antigénios menores, que são o objeto de estudo para deteção de transfusões homólogas, não é habitualmente avaliada a compatibilidade com o recetor, contudo tendo em conta que os casos de deteção de transfusões homólogas deixaram de existir, pode indicar que os atletas escolhem dadores que possuem compatibilidade antigénica, inviabilizando assim a deteção por citometria de fluxo uma vez que não existe heterogeneidade antigénica. A probabilidade de existirem semelhanças antigénicas é baixa, no entanto Krotov *et al.* (2014) demonstraram que essa probabilidade existe, mesmo dentro de elementos da mesma equipa.

A solução pode passar por alargar o número de antigénios analisados, diminuindo assim a probabilidade de existência de compatibilidade (Krotov *et al.*, 2014).

Matrizes utilizadas

Nos controlos antidopagem as amostras mais utilizadas são o sangue e a urina. Apesar disso, novas matrizes biológicas alternativas têm sido testadas, como a utilização de saliva, cabelo e gotas de sangue seco (DBS). O objetivo da procura de novas matrizes é dar resposta a algumas das limitações existentes nos materiais biológicos convencionais, como o facto de

serem invasivos e terem baixa estabilidade, características mais proeminentes no sangue. Na urina, a principal limitação está relacionada com o tempo de colheita poder ser demorado. As técnicas alternativas supracitadas, permitem responder a algumas destas limitações, sendo vantajosas em relação à colheita sanguínea por serem minimamente invasivas, e em relação à urina por poderem ser obtidas instantaneamente (Thevis *et al.*, 2016).

As matrizes alternativas também acarretam desvantagens em relação ao sangue e à urina, nomeadamente o facto de o volume de amostra colhido ser inferior, sendo essa desvantagem ainda mais acentuada a nível do cabelo e do DBS (Thomas *et al.*, 2011)(Thieme, 2012).

As outras desvantagens estão relacionadas com a janela de deteção e com o espectro de substâncias capaz de ser detetado por estas matrizes analíticas alternativas. A janela de deteção é inferior na maioria das matrizes, com exceção do cabelo (Thevis *et al.*, 2016).

O espectro de substâncias para já avaliado é menor, com exceção do DBS, em que já existem dados que demonstram que esta matriz tem capacidade para detetar a maioria dos compostos e métodos com relevância no campo da dopagem (Cox *et al.*, 2017). O DBS é uma amostra sanguínea, no entanto pode ser obtida apenas com uma picada no dedo, o que a torna muito pouco invasiva e possível de ser colhida sem a presença de um oficial com qualificações na colheita de sangue. A gota de sangue é posteriormente seca em papel de filtro, podendo ser armazenada durante um longo período de tempo, tendo por isso maior estabilidade que uma amostra sanguínea convencional, em que por exemplo uma amostra com o intuito de pesquisa de estimulantes da eritropoiese deve ser analisada 72h após a colheita (Thomas *et al.*, 2011)(WADA, 2016).

Treino em altitude

O treino em altitude pode ser uma forma de mascarar o uso de rhEPO, uma vez que o atleta está submetido a condições de hipóxia, e como tal, o organismo procurará adaptar-se a essa situação estimulando a eritropoiese. Acelerando a eritropoiese aumentar-se-á o número de eritrócitos, tornando mais eficiente o transporte de O₂, fator importante em ambientes pobres em O₂. Em virtude do aumento da eritropoiese, valores elevados de reticulócitos e Hb irão aparecer e dificultar a análise do uso de rhEPO. Para além disso, há um aumento da quantidade de EPO endógena, equilibrando o quociente com a EPO exógena e diminuindo a sensibilidade de deteção (Mørkeberg, 2013) (Schumacher *et al.*, 2015).

Tempo de deteção

Muitas das vezes o tempo em que as substâncias permanecem detetáveis é muito curto e como tal para se conseguir fazer a deteção direta é preciso um controlo muito preciso, o que nem sempre é conseguido. A solução pode passar pelo recurso à informação fornecida por matrizes alternativas como o cabelo que proporciona inclusive um período de deteção ainda maior que as matrizes convencionais, especialmente para moléculas de pH básico e lipofílicas.

Esta retrospectividade é muita alargada, sendo possível a deteção durante o período de crescimento dum segmento de cabelo. Porém sofre de alguns entraves, nomeadamente não poder ser útil na deteção de substâncias exclusivamente proibidas em competição, uma vez que a presença no cabelo não oferece precisão temporal, precisão essa que é fundamental para a suspensão de um atleta que tenha recorrido a este tipo de substâncias. A presença de uma substância no cabelo apenas é indicadora que houve consumo, sendo por isso importante na deteção de substâncias proibidas em todas as circunstâncias. A decomposição de substâncias pelos raios UV ou o tratamento cosmético dos cabelos são mais alguns dos exemplos de modos de mascarar esta matriz (Thieme, 2012).

BIOMARCADORES

A forma de deteção habitual consiste na pesquisa e identificação direta das substâncias proibidas ou seus metabolitos. Como já foi enunciado acima, existem limitações que dificultam a deteção direta como por exemplo o recurso a substâncias semelhantes às endógenas, existindo mesmo situações em que é impossível a deteção direta, como nas transfusões autólogas. É como resposta a estas limitações que surge uma nova estratégia de deteção que se baseia na pesquisa de biomarcadores específicos, e que tal como utilizado na prática clínica normal, procuram-se alterações nestas moléculas que vão ser indicativas de recurso a uma prática dopante. Ao contrário do que era habitual está-se perante uma forma de deteção indireta (Sottas *et al.*, 2011).

A análise dos biomarcadores é independente do aparecimento de novas substâncias no mercado e para explicar melhor esta ideia toma-se como exemplo o caso dos estimulantes da eritropoiese, em que provavelmente novas moléculas vão ser desenvolvidas pela indústria farmacêutica, no entanto a resposta do organismo a estas substâncias vai manter-se a mesma em relação às moléculas antigas, uma vez que estamos perante uma substância com o mesmo mecanismo de ação. Tal facto, representa uma vantagem em relação aos métodos diretos, uma vez que novas substâncias significariam alterações estruturais, o que acarretaria a adaptação dos métodos diretos para cada nova substância existente (Sottas *et al.*, 2011).

Como já foi referido, muitas das vezes é difícil a deteção direta de uma substância, uma vez que pode ser excretada rapidamente e ficar indetetável. Neste ponto, tem-se mais uma das vantagens dos biomarcadores, uma vez que os efeitos fisiológicos resultantes da administração de um fármaco permanecem detetáveis durante mais tempo (Sottas *et al.*, 2011).

Passaporte biológico

A perceção da importância dos biomarcadores levou à introdução do chamado passaporte biológico. Este não é mais que um documento eletrónico, onde se reúne a monitorização de um conjunto de biomarcadores, sendo que neste procedimento procura-se fazer uma análise individualizada, já que fatores como a idade, sexo ou informação genética, são tidos em conta.

Esta abordagem é muito relevante, uma vez que quando falamos num valor limite para uma população, esse valor pode não ser o mais aplicável para cada indivíduo, tendo em conta as variações interindividuais (Sottas *et al.*, 2011). Assim é criado um histórico do atleta, e o acompanhamento permanente torna-se fundamental, até porque muitas vezes basta um valor fora do padrão normal do atleta, para chamar a atenção das autoridades e encetar um conjunto de controlos mais rigoroso, levando posteriormente à punição do atleta (Zorzoli e Rossi, 2012).

O passaporte biológico é dividido em dois módulos principais: o hematológico e o de esteróides. O módulo hematológico inclui biomarcadores como a concentração de hemoglobina e a percentagem de reticulócitos, biomarcadores estes que vão sofrer alterações como consequência do recurso às diferentes formas de dopagem sanguínea. A partir destes dois biomarcadores é calculado o OFF-score, que é baseado na seguinte fórmula ($[Hb] - 60 \times \sqrt{\%ret}$). Este indicador tem bastante sensibilidade, e permite aumentar o tempo de deteção, como se percebe pela figura 3, porque entra em linha de conta, tanto com a percentagem de reticulócitos como com a [Hb].

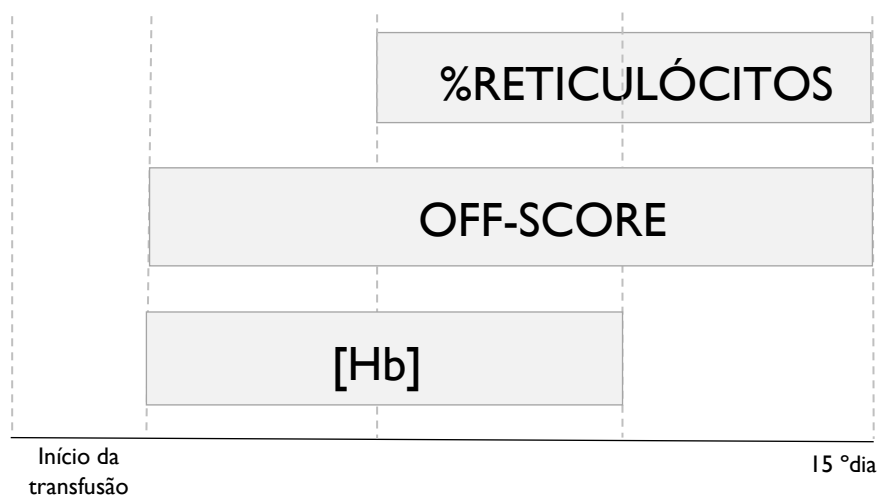


Figura 3 – Aumento do período de deteção provocado pelo OFF-score. (Adaptado de SALAMIN *et al.*, 2016)

O módulo dos esteróides, procura investigar o abuso de substâncias esteróides, como a administração exógena de testosterona. Apesar de ser uma medição indireta, caso existam alterações inequívocas nos parâmetros do passaporte biológico, pode ser motivo para sancionar um atleta. Mesmo não permitindo sancionar, alterações suspeitas podem direcionar para a análise por métodos diretos quando existe essa possibilidade, sendo portanto, uma importante ferramenta na utilização eficiente de recursos (Verneq, 2014).

A conceção de um módulo ligado à hormona de crescimento também poderia ser algo interessante, dada a importância que os biomarcadores têm na deteção do abuso da mesma e porque a monitorização contínua típica do passaporte biológico, mais facilmente permitiria associar ao uso exógeno (Tan *et al.*, 2017).

Módulo hematológico

A utilização de parâmetros bioquímicos para deteção de anomalias hematológicas, é algo que já tinha sido posto em prática antes da criação do passaporte biológico. Dado que a deteção direta da rhEPO foi durante muito tempo um problema, a União de Ciclismo Internacional definiu que ciclistas em que o hematócrito estivesse acima de 50% estavam impedidos de alinhar numa prova, tendo em conta o risco que corriam. Isto foi uma medida preliminar, que se baseava na suspeita de valores tão altos serem devido a rhEPO. Esta medida, não tinha em linha de conta o facto de poderem existir atletas em que o valor de hematócrito é naturalmente elevado, algo que a implementação do passaporte biológico veio solucionar. O módulo hematológico é importante na identificação de casos suspeitos de atletas que tenham recorrido a estimulantes da eritropoiese, transfusões homólogas e transfusões autólogas. Nas duas primeiras situações, tendo em conta que existem métodos diretos para deteção, o principal objetivo da monitorização é a seleção de perfis anormais para posterior confirmação pelos métodos diretos (Zorzoli e Rossi, 2012). No entanto, nas transfusões autólogas não existe forma de deteção direta, realçando a importância da medição dos parâmetros bioquímicos que são mesmo a única forma de deteção existente. Para analisar este tipo de transfusões é muito importante ter em consideração tanto o momento da retirada do sangue, como o momento da infusão. Os biomarcadores utilizados apresentam boa sensibilidade na deteção, sofrendo variações de acordo com a etapa da transfusão. O momento pós-retirada do sangue é caracterizado por existir um abaixamento acentuado na [Hb], sendo este indício normalmente verificado 4-6 semanas antes de uma competição, momento escolhido pelos atletas para a colheita de sangue. Como resposta existe um aumento nos reticulócitos, procurando o restabelecimento do número de eritrócitos. O OFF-score vai apresentar também um valor baixo em virtude do baixo valor de [Hb] e do alto valor de reticulócitos.

Por outro lado, antes do início da competição, altura em que normalmente ocorre a reinfusão para otimizar o rendimento, os valores de [Hb] irão aumentar repentinamente, tal como o OFF-score, ao passo que os reticulócitos vão diminuir, uma vez que não existe necessidade de estimular a eritropoiese, dado o aumento no número de eritrócitos (Pottgiesser *et al.*, 2011)(Schumacher *et al.*, 2012).

Os atletas também podem recorrer a transfusões autólogas durante a competição, sendo que aí o padrão de alterações terá algumas diferenças. Numa competição longa como as provas por etapas no ciclismo, verifica-se durante a competição uma diminuição progressiva da [Hb], devido à hemodiluição provocada pelo aumento do volume vascular característico do esforço contínuo. Se porventura se observar uma viragem na [Hb], ou seja, existir um aumento da mesma, acompanhado por uma diminuição dos reticulócitos, indica que o atleta durante a competição recorreu a uma transfusão (Schumacher *et al.*, 2012).

Um aspeto interessante prende-se com o momento em que devem ser feitos os controlos antidopagem. É importante conseguir uma amostra num período próximo à retirada do sangue, uma vez que após infusão, o aumento da [Hb] pode ser mascarado pela infusão de soluções salinas ou expansores do volume plasmático, e a baixa percentagem dos reticulócitos pode ser compensada com a administração de pequenas doses de rhEPO, que não induzem valores anormais. O baixo valor de [Hb] e a alta percentagem de reticulócitos característicos do momento pós-retirada de sangue, seriam mais dificilmente manipuláveis, já que por exemplo a infusão de expansores do volume plasmático não teria efeito na diminuição da percentagem de reticulócitos, uma vez que sendo esta calculada através do número de reticulócitos sobre o número de eritrócitos, não é afetada pela diminuição de concentração causada pelo agente mascarante, sendo por isso este parâmetro independente da ação de tal agente (Pottgiesser *et al.*, 2011)(Schumacher *et al.*, 2010).

O passaporte biológico típico para o abuso de estimulantes da eritropoiese como a rhEPO, é caracterizado por um aumento anormal de reticulócitos numa fase inicial, que se justifica pela estimulação da eritropoiese. Os reticulócitos vão iniciar o seu processo de maturação, dando origem a um aumento no número de eritrócitos e consequentemente na [Hb]. Após o término da utilização da rhEPO, irá ser detetado um abaixamento abrupto na percentagem de reticulócitos que se irá manter durante algum tempo, tendo em conta que dado o aumento de eritrócitos, a resposta do organismo é a de não desencadear a eritropoiese recorrendo os atletas nesta fase à utilização de microdoses para mascarar este fator. Muitas das vezes a utilização da rhEPO é descontinuada perto do início de uma competição com o propósito de evitar a deteção direta da substância, e daí se percebe a importância da análise dos parâmetros fisiológicos (Schumacher *et al.*, 2012).

Apesar das vantagens já demonstradas, o uso dos parâmetros biológicos também tem inconvenientes, como por exemplo a variabilidade que vai existir consoante as diferentes condições. Como já foi dito, o nº de reticulócitos tem a vantagem de um valor alto ser difícil de mascarar, ao contrário do que acontece com o Hct e com a [Hb], em que as variações do volume plasmático, muitas vezes induzidas pelo exercício, vão alterar os valores destes parâmetros. No entanto, mesmo na análise da percentagem de reticulócitos é necessária alguma prudência na avaliação de valores. Por exemplo, em atletas sujeitos a desportos de endurance, é normal que a percentagem de reticulócitos se apresente diminuída durante um longo período, sendo suposto tal facto repercutir-se num valor de Hb mais baixo. No entanto, não é o que acontece, uma vez que os atletas têm os valores de Hb elevados, sendo uma possível explicação para o valor baixo de nº de reticulócitos, a mobilização de fatores de crescimento estimulados pelo exercício, e que vão acelerar a maturação dos eritrócitos, impedindo que se atinjam valores normais de nº reticulócitos. Por outro lado, após a realização de um período curto de exercício físico intenso é normal que o nº reticulócitos esteja elevado. Pressupondo um caso de um atleta com histórico de percentagem de reticulócitos com valores baixos, se for sujeito a um controlo imediatamente após a realização de exercício vai apresentar valores de reticulócitos elevados, o que pode levar a suspeitas de recurso a algo proibido. Para evitar situações como esta, a WADA recomenda que as amostras utilizadas para análise de parâmetros do passaporte biológico devam ser recolhidas 2h após a realização de exercício, para haver reequilíbrio de volumes e não dar azo a situações que possam levar a uma punição incorreta (Schumacher *et al.*, 2010) (WADA, 2016).

O passaporte biológico consegue detetar as doses habituais de abuso de rhEPO, uma vez que apesar de num segundo período os atletas recorrerem a uma dose mais baixa, o OFF-score é sensível à dose alta inicial conseguindo ajudar na deteção (Clark *et al.*, 2017). Se porventura existir um esquema de tomas baseado exclusivamente em microdoses, os parâmetros não têm sensibilidade para detetar as anomalias, tendo-se de recorrer ao uso de métodos diretos (Martin *et al.*, 2016) (Ashenden *et al.*, 2011). É importante referir que a utilização exclusiva de microdoses, não induz aumentos estatisticamente significantes na Hb, podendo não levar a um aumento exacerbado dos parâmetros aliados ao rendimento, no entanto tendo em conta a menor probabilidade de deteção, é provável a utilização por parte dos atletas (Ashenden *et al.*, 2011).

Módulo de Esteróides

No passaporte biológico para além do módulo hematológico, existe também o módulo de esteróides. O principal objetivo é a monitorização das concentrações urinárias de

testosterona, epitestosterona, metabolitos de fase I da testosterona como a androsterona, a etiocholanolona, o 5α -androstane- $3\alpha,17\beta$ -diol e o 5β -androstane- $3\alpha,17\beta$ -diol. Por fim, é também tida em conta a concentração urinária da dehidroepiandrosterona, precursor da testosterona. A partir das concentrações destas moléculas avaliam-se também os quocientes testosterona/epitestosterona, que apresentam maior sensibilidade para a deteção de dopagem do que a análise das concentrações individuais das moléculas (Sottas *et al.*, 2010).

Anteriormente à utilização da técnica de IRMS, era impossível através de métodos diretos a distinção entre testosterona natural produzida pelo organismo humano e a testosterona sintética administrada. A forma encontrada para conseguir identificar os atletas que recorriam ao abuso de testosterona e seus precursores, era a análise do quociente testosterona/epitestosterona, que de entre os parâmetros biológicos analisados na deteção antidopagem, foi o primeiro a ser largamente utilizado e que ainda hoje o é, mesmo apesar da já existência do método direto acoplado a IRMS. A epitestosterona é o epímero 17α da testosterona, é inativo e a sua concentração não é influenciada após a administração de testosterona exógena, uma vez que não há interconversão entre testosterona e epitestosterona. A produção de epitestosterona, só acontece a partir da testosterona endógena, que deixou de ser sintetizada pelo organismo devido ao aumento externo. Assim sendo, o quociente testosterona/epitestosterona constitui uma forma eficaz de detetar o uso indevido de testosterona, uma vez que a sua concentração urinária vai aumentar, ao contrário da concentração de epitestosterona. Como consequência o valor do quociente testosterona/epitestosterona vai obviamente aumentar (Sottas *et al.*, 2010).

O quociente testosterona/epitestosterona normalmente obtido é de 1:1, sendo o limite definido de 4:1. No entanto dadas as variações interindividuais existentes, este limite não é aplicável a todos os indivíduos, podendo existir casos de indivíduos que mesmo após abuso de testosterona não atinjam nunca um valor superior a 4, e outros que têm valores de quociente, em condições normais, bastante elevados. É importante referir que tanto a testosterona como a epitestosterona são eliminadas pela urina, após terem sido conjugadas maioritariamente com ácido glucurónico, pela ação da enzima Uridina Glucuronosil Transferase (UGT). A explicação para os constantes valores baixos do quociente testosterona/epitestosterona está numa deleção no gene que codifica para a enzima UGT2B17, isoforma da UGT responsável pela conjugação da testosterona, fazendo com que a enzima não seja funcional, não havendo por isso conjugação da testosterona e como tal não há excreção da forma conjugada. Nos indivíduos portadores desta mutação, mesmo após administração exógena de testosterona, não há elevação significativa do valor do quociente testosterona/epitestosterona, porque não ocorre excreção da forma glucuronada da testosterona.

A epitestosterona também pode sofrer alterações na sua metabolização. Esta é conjugada a partir da isoforma UGT2B7, sendo que indivíduos com deficiências no gene que codifica para essa enzima, apresentam valores baixos de epitestosterona, tendo quociente testosterona/epitestosterona naturalmente elevados. O passaporte biológico entra em linha de conta com as variações interindividuais, tais como as manifestações genéticas acima apresentadas, personalizando os valores de acordo com as características de cada indivíduo. Apesar de ser possível a análise direta, o recurso à técnica associada ao IRMS é bastante dispendiosa, não sendo exequível em todas as amostras, sendo o quociente testosterona/epitestosterona uma forma de direcionar para a análise apenas os casos suspeitos (Schulze *et al.*, 2008).

Inclusão de novos biomarcadores no passaporte biológico

O passaporte biológico tem um papel muito importante na deteção antidopagem, quanto mais não seja pela monitorização constante dos valores dos atletas, no entanto os biomarcadores utilizados têm algumas limitações, principalmente a nível de sensibilidade. Sendo o passaporte biológico, o único mecanismo capaz de sancionar um atleta que recorra a uma transfusão autóloga, uma vez que não existem métodos diretos, novos biomarcadores têm sido pesquisados para fazer parte do passaporte biológico, e ajudar a aumentar a sensibilidade de deteção de transfusões autólogas (Salamin *et al.*, 2016).

A pesquisa de novos biomarcadores procurou incidir em áreas onde existe maior suscetibilidade de alterações. Uma dessas áreas foi o metabolismo do ferro, uma vez que o ferro está intrinsecamente ligado à produção de eritrócitos e Hb, componentes esses afetados pelas transfusões. Como tal, a quantificação de proteínas envolvidas no equilíbrio do ferro pode ser uma alternativa a explorar. Outras alterações podem estar relacionadas com o armazenamento do sangue. A pesquisa de alterações na membrana e na forma dos eritrócitos, pode indicar que existiu transfusão de sangue que estaria armazenado e sofreu alterações com o tempo de armazenamento. Relacionado com o armazenamento, está também a pesquisa urinária de plastificantes, que passaram do saco de recolha para o sangue, e que após análise sanguínea do atleta são detetados. Por fim, alterações na expressão genética, com recurso a proteómica, podem também constituir alternativas interessantes (Salamin *et al.*, 2016).

Um biomarcador alternativo pode ser a hepcidina, esta é uma proteína produzida no fígado e que regula a disponibilidade do ferro para a eritropoiese. Em situações em que há estimulação da eritropoiese, como após a administração de rhEPO ou retirada de sangue, a hepcidina encontra-se com níveis baixos, fazendo com que não haja degradação da ferroportina, e não havendo degradação desta última, ocorre a passagem de ferro para a

corrente sanguínea, estando disponível para a síntese de hemoglobina. Contrariamente, em situações de infusão sanguínea, em que a eritropoiese é diminuída, a hepcidina encontra-se aumentada. A hepcidina é quantificável no plasma e no soro, através de LC-MS, uma técnica implementada na maioria dos laboratórios acreditados. A hepcidina apresenta melhor sensibilidade que os parâmetros hematológicos convencionais, no entanto apresenta o inconveniente de ter um baixo período de detecção (Leuenberger *et al.*, 2017).

A pesquisa de plastificantes é uma outra forma encontrada para a detecção das autotransfusões. Após a retirada de sangue, este é guardado em sacos de PVC, a que são adicionados ftalatos para tornar o plástico mais maleável. O sangue fica armazenado durante um período, o que leva a que haja difusão dos ftalatos para o sangue. Após a infusão do sangue, os ftalatos são conjugados com ácido glucorónico, originando vários metabolitos, que depois da recolha de urina são analisados por LC-MS. A grande desvantagem destas moléculas é a sua presença em diversos recipientes, podendo ser encontrados na urina devido à dieta normal.

A forma mais adequada de utilizar estas moléculas na detecção antidopagem, será fazer uma monitorização semelhante à feita no passaporte biológico, em que as concentrações dos metabolitos dos ftalatos são acompanhadas, e o aparecimento repentino de um valor elevado poderá ser indício de autotransfusão (Salamin *et al.*, 2016).

As alterações a nível genético podem também constituir um novo alvo. Salamin *et al.* (2018) avaliaram a possibilidade de alterações na expressão génica após a reinfusão sanguínea, e observaram repressão nos genes *delta-aminolevulinate synthase 2 (ALAS2)*, *carbonic anhydrase (CAI)* e *solute carrier family 4 member (SLC4A1)*, genes esses que codificam para proteínas envolvidas no metabolismo dos eritrócitos. A repressão genética é proporcionalmente mais acentuada que a diminuição na percentagem de reticulócitos, tendo por isso boa sensibilidade. No entanto, as alterações começam a notar-se ao 6º dia pós-infusão, atingindo o seu máximo ao 9º dia, sendo por isso importante a utilização conjunta com biomarcadores em que se notem diferenças mais cedo (Salamin *et al.*, 2018).

Outra forma de pesquisa está relacionada com as alterações nos eritrócitos devido ao armazenamento. Após armazenamento os eritrócitos sofrem algumas lesões irreversíveis. Nikolovski *et al.* (2012) avaliaram as possíveis alterações, após armazenamento durante 42 dias a 4°C, e verificaram alterações a nível das proteínas do citoesqueleto, como a espectrina- β ou a Tropomodulina-I e também em proteínas transmembranares como a glicoforina C ou a aquaporina-I. Tais conclusões, são indicadores que a análise proteómica pode também ter potencial na detecção, apesar de as condições de armazenamento anaeróbio poderem minimizar as alterações nos eritrócitos e dificultar esta análise (Nikolovski *et al.*, 2012).

CONCLUSÃO

A dopagem no desporto como se foi percebendo ao longo do trabalho, é uma temática para a qual é muito difícil arranjar soluções no sentido de desencorajar a sua prática.

Os atletas recorrem a técnicas sofisticadas, aproveitando-se das limitações analíticas que ainda existem, conseguindo estar sempre um passo a frente. Os avanços no campo da instrumentação analítica, têm contribuído de forma importante para a deteção de substâncias que anteriormente não se era possível detetar e as autoridades antidopagem também têm feito um esforço meritório, desenvolvendo formas de deteção para fármacos potencialmente sujeitos a abuso, antecipando a utilização dos mesmos.

Para além da deteção direta, a pesquisa de parâmetros alterados em resposta aos efeitos dos fármacos e dos métodos utilizados, tem também contribuído para ajudar na deteção. Novos biomarcadores têm surgido, sendo os biomarcadores relacionados com a resposta genética bastante prometedores, mas claro que ainda existe um caminho a percorrer para que esses métodos possam ser aplicados no dia-a-dia da prática dos laboratórios antidopagem.

À semelhança do que acontece com o passaporte biológico, poderia ser interessante instituir uma metodologia semelhante aplicada ao resultados desportivos dos atletas, monitorizando os resultados obtidos, avaliando a progressão e caso existisse algum resultado desfasado do previsto, isso poderia constituir motivo de alarme, e ser um fator desencadeador para a realização de análises ao atleta (Iljukov *et al.*, 2018).

Dada a facilidade com que os atletas conseguem ter as substâncias ao seu alcance e as estratégias inovadoras que conseguem utilizar, o mais provável será os atletas continuarem a sair vencedores desta luta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, M., Muñoz-Guerra, J., Plata, M. Del M., Del Coso, J., (2017). Thirteen years of the fight against doping in figures. *Drug Test and Analysis*. 9, 866-869.
- Ashenden, M., Gough, C. E., Garnham, A., Gore, C. J., Sharpe, K., (2011). Current markers of the Athlete Blood Passport do not flag microdose EPO doping. *European Journal of Applied Physiology*. 111, 2307-2314.
- Ayotte, C., Miller, J., Thevis, M., (2017). Challenges in Modern Anti-Doping Analytical Science. *Medicine and Sport Science*. 62, 68-76.
- Basaria, S., (2010). Androgen abuse in athletes: Detection and consequences. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 95, 1533-1543.
- Beuck, S., Thevis, M., (2012). Hypoxia-inducible factor stabilizers and other agents in current and preventive doping analysis. *Drug Testing and Analysis*. 4, 830-45.
- Burns, J.M., Yoshida, T., Dumont, L.J., Yang, X., Piety, N.Z., Shevkopyas, S.S., (2016). Deterioration of red blood cell mechanical properties is reduced in anaerobic storage. *Blood Transfusion*. 14, 80-88.
- Clark, B., Woolford, S. M., Eastwood, A., Sharpe, K., Barnes, P. G., Gore, C. J., (2017). Temporal changes in physiology and haematology in response to high- and micro-doses of recombinant human erythropoietin. *Drug Testing and Analysis*. 9, 1561-1571.
- Cox, H.D., Miller, G.D., Lai, A., Eichner, D., (2017). Detection of autologous blood transfusions using a novel dried blood spot method. *Drug Testing and Analysis* 9, 1713-1720.
- Esposito, S., Deventer, K., T'sjoen, G., Vantilborgh, A., Van eenoo, P., (2013). Doping control analysis of desmopressin in human urine by LC-ESI-MS/MS after urine delipidation. *Biomedical Chromatography*. 27, 240-245.
- Fitch, K.D., (2017). The enigma of inhaled salbutamol and sport : unresolved after 45 years. *Drug Testing and Analysis*. 9, 977-982.
- Garthe, I., Maughan, R.J., (2018). Athletes and supplements: Prevalence and perspectives. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. . 28, 126-138
- Gerrard, D., Pipe, A., (2017). Therapeutic Use Exemptions. *Medicine and Sport Science*. 62, (2017) 55-67.
- Hatton, C.K., Green, G.A., Ambrose, P.J., (2014). Performance-enhancing drugs. understanding the risks. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*. 25, 897-913.
- Heuberger, J.A.A.C., Rotmans, J.I., Gal P., Stuurman, F.E., Westende J., Post T.E., Daniels, J. M. A., Moerland, M., Veldhoven, P.L.J., Kam, M.L., Ram, H., Hon, O., Posthuma, J.J., Burggraaf, J., Cohen, A.F., (2017). Effects of erythropoietin on cycling performance of well trained cyclists:

a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Haematology*. 4, 374-386.

HOLT, R.I.G., (2011). Detecting growth hormone abuse in athletes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 401, 449-462.

Iljukov, S., Bermon, S., Schumacher, Y.O., (2018). Application of the athlete's performance passport for doping control: A case report. *Frontiers in Physiology*. 9, 280.

Jelkmann, W., Lundby, C., (2011). Blood doping and its detection. *Blood*. 118, 2395-2404.

Judkins, C.M.G., Teale, P., Hall, D.J., (2010). The role of banned substance residue analysis in the control of dietary supplement contamination. *Drug Testing and Analysis*. 2, 417-420.

Kinahan, A., Budgett, R., Mazzoni, I., (2017) Structure and Development of the List of Prohibited Substances and Methods. *Medicine and Sport Science*. 62, 39-54.

Kohler, M., Thomas, A., Walpurgis, K., Horta, L., Schänzer, W., Thevis, M., (2009). Detection of proteases and their proteolysis and autolysis products in urine by LC-MS. *Drug Testing and Analysis*. 1, 81-86.

Krotov, G., Nikitina, M., Rodchenkov, G., (2014). Possible cause of lack of positive samples on homologous blood transfusion. *Drug Testing and Analysis*. 6, 1160-1162.

Leuenberger, N., Bulla, E., Salamin, O., Nicoli, R., Robinson, N., Baume N., Saugy, M., (2017). Hcpidin as a potential biomarker for blood doping. *Drug Testing and Analysis*. 9, 1093-1097.

Lippi, G., Massimo F., Salvagno G.L., Guidi, G.C., (2006). Biochemistry, physiology, and complications of blood Doping: facts and speculation. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 43, 349-391.

Ljungqvist, A., (2017). Brief History of Anti-Doping. *Medicine and Sport Science*. 62, 1-10.

Martin, L., Ashenden M., Bejder J., Hoffmann M., Nordsborg N., Karstoft K., Morkeberg, J., Sharpe, K., Lasnea F., Marchanda, A., (2016). New insights for identification of doping with recombinant human erythropoietin micro-doses after high hydration. *Drug Testing and Analysis*. 8, 1119-1130.

Mørkeberg, J., (2013). Blood manipulation: current challenges from an anti-doping perspective. *Hematology American Society Hematology Education Program*. 2013, 627-631.

Nelson, M., Ashenden, M., Langshaw, M., Popp, H., (2002). Detection of homologous blood transfusion by flow cytometry: A deterrent against blood doping. *Haematologica*. 87, 881-882.

Nelson, M., Popp, H., Sharpe, K., Ashenden, M., (2003). Proof of homologous blood transfusion through quantification of blood group antigens. *Haematologica*. 88 1284-1295.

Neuberger, E.W.I., Simon, P., (2017). Gene and Cell Doping: The New Frontier - Beyond Myth or Reality. *Medicine and Sport Science*. 62, 91-106.

Nikolovski, Z., De La Torre, C., Chiva, C., Borràs, E., Andreu, D., Ventura, R., Segura J., (2012). Alterations of the erythrocyte membrane proteome and cytoskeleton network during

storage - a possible tool to identify autologous blood transfusion. *Drug Testing and Analysis*. 4, 882-890.

Pottgiesser, T., Sottas, P.E., Ehteler, T., Robinson, N., Umhau, M., Schumacher, Y.O., (2011). Detection of autologous blood doping with adaptively evaluated biomarkers of doping: a longitudinal blinded study. *Transfusion practice*. 51, 1707-1715.

Pottgiesser, T., Schumacher, Y. O., (2013). Current strategies of blood doping detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 405, 9625-9639.

Rocha, M., Aguiar, F., Ramos, H., (2014). O uso de esteroides androgénicos anabolizantes e outros suplementos ergogénicos – uma epidemia silenciosa. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*. 9, 98-105.

Salamin, O., De Angelis, S., Tissot, J.D., Saugy, M.I., Leuenberger, N., (2016). Autologous Blood Transfusion in Sports: Emerging Biomarkers. *Transfusion Medicine Reviews*. 30, 109-115.

Schulze, J.J., Lundmark, J., Garle, M., Skilving, I., Ekström, L., Rane, A., (2008). Doping test results dependent on genotype of uridine diphospho-glucuronosyl transferase 2B17, the major enzyme for testosterone glucuronidation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 93, 2500-2506.

Schumacher, Y.O., Garvican, L.A., Christian, R., Lobigs, L.M., Qi, J., Fan, R., He, Y., Wang, H., Gore, C.J., Ma, F., (2015). High altitude, prolonged exercise, and the athlete biological passport. *Drug Testing and Analysis*. 7, 48-55.

Schumacher Y.O., Sahm, D., Baumstark, M.W., Pottgiesser, T., (2010). Reticulocytes in athletes : Longitudinal aspects and the influence of long- and short-term exercise. *Drug Testing and Analysis*. 2, 469-474.

Schumacher, Y.O., Saugy, M., Pottgiesser, T., Robinson, N., (2012). Detection of EPO doping and blood doping: The haematological module of the Athlete Biological Passport. *Drug Testing and Analysis*. 4, 846-853.

Schumacher, Y.O., Saugy, M., Pottgiesser, T., Robinson, N., (2011). The athlete biological passport. *Clinical Chemistry*. 57, 969-976.

Sottas, P. E., Saugy, M., Saudan, C., (2010) Endogenous Steroid Profiling in the Athlete Biological Passport. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 39, 59-73.

Tan, S.H., Lee, A., Pascovici, D.I., Care, N.I., Birzniece, V., Ho, K., Molloy, M.P., Khan, A., (2016). Plasma biomarker proteins for detection of human growth hormone administration in athletes. *Scientific Reports*. 7, 10039.

Thevis, M., Geyer, H., Sigmund, G., Schänzer, W., (2012). Sports drug testing: Analytical aspects of selected cases of suspected, purported, and proven urine manipulation. *Journal of*

Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 57, 26-32.

Thevis, M., Thomas, A., Beuck, S., Butch, A., Dvorak, J., Schänzer, W., (2013). Does the analysis of the enantiomeric composition of clenbuterol in human urine enable the differentiation of illicit clenbuterol administration from food contamination in sports drug testing? *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 27, 507-512.

Thevis, M., Geyer, L., Geyer, H., Guddat, S., Dvorak, J., Butch, A., Sterk, S.S., Schänzer, W., (2013). Adverse analytical findings with clenbuterol among U-17 soccer players attributed to food contamination issues. *Drug Testing and Analysis*. 5, 372-6.

Thevis, M., Geyer, H., Tretzel, L., Schänzer, W., (2016). Sports drug testing using complementary matrices: Advantages and limitations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 130, 220-230.

Thevis, M., Kuuranne, T., Geyer, H., (2018). Annual banned-substance review: Analytical approaches in human sports drug testing. *Drug Testing and Analysis*. 10, 9-27.

Thevis, M., Schänzer, W., (2014). Analytical approaches for the detection of emerging therapeutics and non-approved drugs in human doping controls. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 101, 66-83.

Thevis, M., Schänzer, W., (2016). Emerging drugs affecting skeletal muscle function and mitochondrial biogenesis - Potential implications for sports drug testing programs. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 30, 635-651.

Thieme, D., (2012). Potential and limitations of alternative specimens in doping control. *Bioanalysis*. 4, 1613-1622.

Thomas, A., Geyer, H., Guddat, S., Schänzer, W., Thevis, M., (2011). Dried blood spots (DBS) for doping control analysis. *Drug Testing and Analysis*. 3, 806-81.

Ventura, R., Segura, Jordi., (2010). Masking and Manipulation. *Handbook of Experimental Pharmacology* 195, 327-354.

Verne, A. R., (2014). The athlete biological passport: An integral element of innovative strategies in antidoping. *British Journal of Sports Medicine*. 48, 817-819.

World Anti-Doping Agency (WADA) - Anti-Doping Testing Figures Report [em linha]. (2017). [Consult.19.jul.2018] Disponível em: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2017_anti-doping_testing_figures_en_0.pdf

World Anti-Doping Agency (WADA) - Blood Sample Collection [em linha]. (2016). [Consult.28.jun.2018] Disponível em: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/guidelines_blood_sample_collection_v5_sept_2016.pdf

World Anti-Doping Agency (WADA) - Prohibited list. [em linha]. (2018). [Consult.17

jun.2018] Disponível em: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/prohibited_list_2018_en.pdf

World Anti-Doping Agency (WADA) - Therapeutic Use Exemptions. [em linha]. (2016).
[Consult.15.jun.2018] Disponível em: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/wada-2016-istue-final-en_0.pdf

World Anti-Doping Agency (WADA) - Urine Sample Collection. [em linha]. (2014).
[Consult.28.jun.2018] Disponível em: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/wada_guidelines_urine_sample_collection_2014_v1.0_en.pdf

World Anti-Doping Agency (WADA) - World Anti-Doping Code. [Consult.17.jun.2018].
(2015). Disponível em: <https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/wada-2015-world-anti-doping-code.pdf>

Zorzoli, M., Rossi, F., (2012). Case studies on ESA-doping as revealed by the Biological Passport. Drug Testing and Analysis. 4, 854-858.

CAPÍTULO II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO FARMÁCIA DE CELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM – Medicamento sujeito a receita médica

NOTA INTRODUTÓRIA

No âmbito da disciplina Estágio Curricular, integrada no 5º ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), realizei em contexto profissional um estágio na Farmácia de Celas, durante um período de aproximadamente 4 meses.

A Farmácia Comunitária tem um papel de responsabilidade social por ser na maioria das vezes quem fornece o medicamento ao doente. Para além disso, as farmácias hoje em dia são estruturas que oferecem um conjunto de serviços diversificado, constituindo muitas das vezes a primeira estrutura de saúde a quem os doentes recorrem, sendo este carácter de proximidade um fator indissociável da atividade farmacêutica (Ordem dos Farmacêuticos, 2018).

Enquanto futuro farmacêutico é imprescindível ter este contacto com o doente, até pela responsabilidade inerente de facultar o melhor aconselhamento possível e dar resposta às necessidades do mesmo.

Neste relatório, pretendo descrever a minha experiência no estágio através duma análise SWOT, analisando os pontos fortes (*strenghts*) e pontos fracos (*weaknesses*) do meu estágio bem como as oportunidades (*opportunities*) e ameaças (*threats*) que considero existirem para os farmacêuticos e para a farmácia comunitária em geral.

FARMÁCIA DE CELAS

Fundada em 1957, então sob a designação de Farmácia Montes Claros, a Farmácia de Celas localiza-se atualmente no início da estrada de Coselhas. O horário de funcionamento de segunda a sexta-feira é entre 09.00 h e as 20.00 h, enquanto que ao sábado é entre 09.00 e as 13.30h. A equipa é constituída por cinco elementos, três farmacêuticas, uma técnica de farmácia e uma funcionária auxiliar (Farmácia de Celas, 2018).

O espaço físico é constituído pela área de atendimento ao público, laboratório, escritório, sala de reuniões, área de receção de encomendas, sala de refeições e por gabinetes destinados à medição de parâmetros bioquímicos, consultas de podologia e nutrição e de tratamentos de dermocosmética (Farmácia de Celas, 2018).

ANÁLISE SWOT

Pontos Fortes

A Equipa

A equipa da Farmácia de Celas é sem dúvida uma equipa bastante unida e completa, e que oferece a quem chega de novo um ambiente muito agradável para trabalhar. É de salientar o facto de toda a equipa ter estado sempre disponível para ajudar e ter procurado transmitir os ensinamentos necessários para que desempenhasse a minha tarefa da melhor forma. Não podia deixar de referir o facto de todos elementos da equipa prestarem um aconselhamento de excelência, tendo sempre em mente o esclarecimento total do utente, prática essa que me foi inculcada e que tentarei seguir no futuro.

Localização

A localização da farmácia é numa zona de convergência de vários serviços hospitalares tais como a Idealmed, Hospital CUF, Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra ou Instituto Português de Oncologia. Consequentemente, a maioria dos utentes que se desloca a estes hospitais depara-se com a farmácia durante o seu percurso. Outra vantagem que esta localização possui, é situar-se no encaminhamento de algumas das principais saídas da cidade de Coimbra, sendo por isso uma farmácia de paragem para muitos dos doentes que se deslocam de fora de Coimbra. Assim sendo, a Farmácia de Celas é caracterizada por ter um conjunto de utentes que a procuram por situações bastante diversas, o que a nível pessoal foi muito interessante, uma vez que tendo o estágio um período de duração limitado, o ideal é o contacto com o maior número possível de situações diferentes para aquisição de novas competências.

Serviços existentes

A Farmácia de Celas possui um gabinete destinado à realização de serviços farmacêuticos como a medição da tensão arterial, medição de parâmetros bioquímicos, administração de vacinas ou até tratamento de pequenas feridas. Para além disso tem à disposição dos seus utentes, sessões de aconselhamento nutricional, podologia e tratamentos de dermocosmética, o que torna a farmácia uma estrutura capaz de oferecer um atendimento diferente e completo.

Enquanto estagiário, a oferta destes serviços foi bastante importante, porque permitiu o contacto com diferentes produtos, como por exemplo os produtos relacionados com a nutrição.

Variedade de produtos

Durante o estágio foi importante o contacto com a gama variada de produtos existentes na Farmácia de Celas como cosméticos, suplementos, produtos de uso veterinários, ortopedia, higiene e bem-estar e produtos de bebé. Este leque diversificado de produtos permite dar resposta às necessidades do utente, e tornar a farmácia mais independente dos Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), fator cada vez mais importante para a sobrevivência do espaço.

Integração na equipa - processo de adaptação gradual

Um dos fatores que contribuiu para uma melhor adaptação à realidade da farmácia foi a forma como foi planeado o estágio. O primeiro passo foi a receção de encomendas que permitiu contactar com os diferentes medicamentos e dispositivos médicos, debelar algumas lacunas em relação ao desconhecimento dos nomes comerciais, perceber a realidade das farmácias a nível de margens de lucro e conhecer melhor a mecânica distribuição farmacêutica-farmácia. Em paralelo, nesta primeira fase fui consultando informação disponível na farmácia relacionada com vendas cruzadas e aconselhamento farmacêutico, o que me permitiu consolidar conhecimentos que já trazia e adquirir uma melhor preparação para o atendimento.

Numa segunda fase passei para o atendimento acompanhado, processo esse que me permitiu ganhar confiança com a ajuda de um membro mais experiente. Todos estes procedimentos fizeram com que quando fosse atender de forma autónoma, estivesse mais confiante e à vontade.

Preparação de manipulados

Na Farmácia de Celas ainda são preparados muitos manipulados, especialmente para uso pediátrico, o que não se pode dissociar da proximidade do Hospital Pediátrico. De forma mais esporádica existem também solicitações para efetuar preparações de uso veterinário. As instalações estão bastante bem preparadas para execução dos manipulados, e tendo em conta quantidade de manipulados preparados é de realçar a importância que estes continuam a ter.

Existência de fichas de utente

A criação de fichas de utente permite elaborar um histórico de compras de determinado cliente, dando a possibilidade dum acompanhamento personalizado da situação do utente, permitindo por vezes detetar algumas falhas.

De um ponto de vista mais prático tornou-se importante por exemplo em situações em que os utentes se dirigiam à farmácia pedindo o medicamento habitual, algo que tendo em conta o meu desconhecimento se tornava difícil de resolver. Nessas situações revelou-se importante a consulta da ficha, em que rapidamente pude verificar o que o utente costumava levar e ceder-lhe o medicamento.

Pontos Fracos

Aconselhamento de produtos de dermocosmética/uso veterinário/health care

Ao longo do estágio, um dos principais obstáculos foi quando me foi solicitado o aconselhamento de determinados produtos, tais como produtos de uso veterinário, produtos de health care como pastas e escovas de dentes e produtos cosméticos. É importante realçar que o plano de estudos do MICF inclui disciplinas que procuram reforçar os conhecimentos especialmente nas áreas de veterinária e dermocosmética, no entanto senti-me pouco à vontade no aconselhamento destes produtos, derivado ao escasso conhecimento que possuía nestas áreas. Possivelmente seria adequado um reforço curricular com incidência nestas áreas específicas, contudo compreendo a organização do curso porque por exemplo no caso dos cosméticos, o aconselhamento tem também uma vertente direcionada para a marca do produto, o que inviabiliza de certa forma o ensino na faculdade.

Dificuldades a nível de colírios/gotas/pomadas oftálmicas

Foram muitos os casos durante o estágio, de situações em que existiam prescrições de colírios ou pomadas oftálmicas, e em que tive dificuldade em aconselhar a melhor forma de aplicar estas formas farmacêuticas. Além dos MSRMs deste tipo de formas farmacêuticas, existem também bastantes Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM), essencialmente com o propósito de hidratação ocular, medicamentos esses que quando solicitados tinha dificuldade em escolher de entre todas as opções, qual a mais adequada.

Produtos para tratamento de infertilidade

Dada a sua localização, a Farmácia de Celas recebe muitos utentes do serviço de fertilidade do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Os produtos de fertilidade eram uma realidade completamente desconhecida e apesar de ser um tipo de produtos que não se encontram em todas as farmácias, penso que seria importante existir um reforço nesta área de medicamentos.

Oportunidades

Formações

A possibilidade de ida a formações é algo que considero muito importante porque permite a toda equipa da farmácia conhecer os novos produtos e tendências, o que beneficia o aconselhamento prestado ao utente. A nível pessoal, a presença nas formações revelou-se bastante útil por ter incidido em temáticas como a cosmética e veterinária, temáticas essas que como já referi, sentia ter algumas lacunas. A componente formativa incidia também na melhoria de técnicas de venda como o cross-selling.

Medicamentos de dispensa exclusiva em farmácia

Esta nova categoria de medicamentos é composta por medicamentos não sujeitos a receita médica que apenas podem ser vendidos em farmácia. Este grupo de medicamentos a nível de Preço de Venda ao Público tem as mesmas condições que os MNSRM, ou seja, não têm preço fixo, sendo responsabilidade da farmácia a sua marcação. O número de medicamentos pertencentes a esta categoria tem aumentando sucessivamente, representando este facto uma vantagem em relação à ameaça real das parafarmácias, podendo constituir produtos em que a farmácia legitimamente deve apostar e reforçar o aconselhamento (Infarmed,2014).

Cartão saúde

A aposta no cartão saúde é algo que na minha opinião é muito proveitoso tanto para utentes como para a farmácia. O cartão funciona numa base de obtenção de pontos a partir da compra de produtos. Na compra de MNSRM, produtos de bem-estar e saúde e serviços farmacêuticos, é atribuído 1 ponto por cada 1€ em compras. O catálogo com os produtos inseridos no programa era bastante completo, tendo a vantagem de ser adaptado à época do ano, permitindo ao utente trocar os seus pontos por produtos que lhe seriam úteis no momento.

Dinamização da farmácia

A equipa da Farmácia de Celas prima por ser uma equipa bastante proativa, sempre na procura de novas iniciativas. No período de estágio tive a oportunidade de acompanhar algumas iniciativas, como a promoção de um dia dedicado a mães e bebés em conjunto com a realização de ecografias 4D para futuras mães, sessões de aconselhamento de cosmética e rastreios nutricionais gratuitos. Na Farmácia de Celas segue-se a metodologia Kaizen baseada na procura da melhoria contínua, sendo que a farmácia inclui os seus utentes neste processo de melhoria, convidando-os ao preenchimento de inquéritos de satisfação para que sejam

também os utentes a mostrarem o que gostariam de ver alterado no funcionamento. Estas atividades ajudam a farmácia a tornar-se num espaço cada vez melhor e mais próximo do utente.

Ameaças

Competição desigual por parte das parafarmácias

As parafarmácias estando na maioria das vezes associadas a grandes grupos, comprando provavelmente em grandes quantidades e com condições bastante favoráveis, conseguem ter preços que não são praticáveis nas farmácias. Isto acaba por esvaziar a competitividade das farmácias, porque os MNSRM, os cosméticos e os produtos de health care, são complementos fundamentais para a sobrevivência da farmácia comunitária. A perspetiva económica não pode ser posta de lado e tendo em conta as margens de lucro cada vez mais baixas dos MSRM, têm que ser os restantes produtos a garantir a rentabilidade. Tendo em conta que esta realidade dificilmente mudará nos próximos tempos, resta as farmácias continuar a prestar um aconselhamento diferenciado e mostrar que as mesmas não são só locais de venda de MSRM.

Quantidade de informação existente

Ao pôr este ponto como sendo uma ameaça, tenho a consciência que pode parecer um contrassenso, até porque o acesso a mais informação por parte do utente deveria ser sempre um ponto positivo. No entanto, algumas vezes a realidade não é esta. O utente ao ter ao seu dispor muita informação acaba por ter ideias pré-concebidas, que podem acarretar riscos e dificultar o aconselhamento por parte do farmacêutico. Um exemplo disso é a procura de MSRM sem receita. Várias foram as vezes em que os utentes chegaram à farmácia solicitando um MSRM após terem lido que esse medicamento era o ideal para o que sentiam. Nestas situações cabe ao farmacêutico consciencializar o doente do perigo e da impossibilidade da toma sem indicação médica, apesar de por vezes ser difícil desmistificar algumas ideias.

Gestão de stocks

A gestão dos produtos a ter na farmácia é um ponto crítico, principalmente em relação aos medicamentos genéricos. Para melhor se perceber esta situação vou dar dois exemplos práticos, sendo o primeiro deles quando os utentes procuram especificamente um genérico de determinado laboratório. A outra situação está relacionada com a presença do preço nas receitas, uma vez que quando está disponível mais do que uma alternativa para o medicamento prescrito, há indicação de um preço possível que esse medicamento pode custar. Tendo em

conta a quantidade alargada de medicamentos genéricos é impossível oferecer todas as alternativas. Como tal, por vezes torna-se impossível garantir no momento o medicamento solicitado no primeiro caso ou a alternativa mais barata que aparece na receita. Ambas as situações acabam por criar desconforto no utente que nem sempre percebe o porquê de tal situação ocorrer.

CASOS CLÍNICOS

Caso clínico I

Utente jovem, do sexo feminino, dirige-se à farmácia e pede algo para parar a diarreia que começou naquele dia na parte da manhã. A utente pensa que tenha sido algo que comeu ao jantar do dia anterior. Apesar de tudo indicar para a possibilidade de ser um episódio pontual, questionei a doente se tinha febre e/ou presença de sangue nas dejeções, ao que a utente respondeu a ambas as questões de forma negativa. Sabendo posteriormente que a doente não tomava nenhuma medicação e não tinha nenhuma doença associada, resolvi aconselhar Imodium rapid[®], cloridrato de loperamida 2mg, um fármaco antidiarreico que aumenta o tempo de trânsito intestinal. Sendo um comprimido orodispersível, expliquei à doente que bastava colocar o comprimido na boca e que ele se dissolvia. Recomendei a toma inicial de 2 comprimidos, e caso voltasse a ter episódios de dejeção, devia tomar 1 comprimido por cada dejeção, até um máximo de 8 comprimidos por dia.

Recomendei ainda a toma de Biofast[®], um suplemento alimentar constituído por probióticos, na quantidade de 1 saqueta por dia, para reequilíbrio da flora intestinal. Para terminar, aconselhei a utente a ter uma alimentação cuidada nos dias seguintes em conjunto com ingestão de líquidos.

Caso clínico II

Utente do sexo masculino, com cerca de 45 anos, dirige-se à farmácia queixando-se de ter o nariz entupido. Refere que já aplicou água do mar e que não aliviou a situação. Pede algo que ajude a resolver a situação, porque apesar de não ser uma situação impeditiva, causa-lhe algum desconforto no trabalho. Pergunto ao utente se costuma ter problemas alérgicos, ao que utente indica que não e reforça que a situação começou há pouco tempo e que não é habitual ter este tipo de problemas. Atendendo a que o utente não toma nenhuma medicação crónica, aconselho a toma de um descongestionante nasal tópico, no caso Vibrocil Actilong[®], 1mg/mL de xilometazolina, sob a forma de solução para inalação por nebulização. Esta formulação tem a vantagem de ter uma ação prolongada, diminuindo o número de aplicações,

podendo no máximo ser feito 3 vezes por dia, com 1 a 2 pulverizações em cada narina, facto que foi explicado ao utente.

Referi também que deveria aplicar com a cabeça ligeiramente inclinada para a frente, e que ao aplicar a solução deveria inspirar ao mesmo tempo, tendo ainda o cuidado de no fim da utilização proceder à limpeza do aplicador. Por fim e bastante importante referi para não prolongar o uso por mais de 3-4 dias, para evitar o efeito rebound.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A oportunidade de ter efetuado este estágio em farmácia comunitária revelou-se uma excelente experiência, sendo a tarefa de atendimento ao público algo gratificante pela percepção real do papel do farmacêutico na ajuda ao doente. Cada vez mais, o papel do farmacêutico passa por facultar um aconselhamento mais próximo e individualizado, tendo em consideração as características específicas de cada doente.

No entanto, o estágio contribuiu também para a consciencialização que as farmácias não são só locais onde se dispensa medicamentos, e que vão estando cada vez mais apetrechadas com outros serviços que permitem torná-las locais mais versáteis e de referência.

Como já fui deixando perceber, considero o trabalho que as farmácias desempenham ao serviço dos seus utentes como sendo algo basilar na sociedade, e como tal, penso que é apropriado defender cada vez mais o setor e arranjar soluções para que no futuro a sua continuidade esteja assegurada.

Por fim, não poderia deixar de agradecer à faculdade pela oportunidade que proporciona aos alunos de terem experiências em contexto profissional e a toda a equipa da Farmácia de Celas por me terem recebido da melhor forma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Farmácia de Celas – Início [em linha]. 2018. [Consult. 9. ago. 2018]. Disponível em: <http://www.farmaciadecelas.pt>

Farmácia de Celas – Serviços [em linha]. 2018. [Consult. 9. ago. 2018]. Disponível em: <http://www.farmaciadecelas.pt/index/index/page/serviacos>

Infarmed – Questões Frequentes sobre Medicamentos de dispensa exclusiva em farmácia [em linha]. 2014. [Consult. 12. ago. 2018]. Disponível em <http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Quest%C3%B5es+Frequentes+sobre+Medicamentos+de+dispensa+exclusiva+em+farm%C3%A1cia.pdf/18997b7e-b015-47e3-bc3a-4ad0f6d1e241>

Ordem dos Farmacêuticos - Áreas Profissionais – Farmácia Comunitária [em linha]. 2018. [Consult. 9. ago. 2018]. Disponível em <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>

CAPÍTULO III

RELATÓRIO DE ESTÁGIO FARMALABOR

LISTA DE ABREVIATURAS

GQ – Garantia de qualidade

IA – Instruções de Acondicionamento

IF – Instruções de Fabrico

NOTA INTRODUTÓRIA

O farmacêutico enquanto profissional dinâmico, tem a capacidade de exercer atividade em diferentes áreas. Pessoalmente, após ter estado em contacto com a dispensa e aconselhamento de medicamentos ao balcão da farmácia, tinha curiosidade em conhecer os processos que levavam os medicamentos ao mercado. Como tal, escolhi ocupar parte do meu estágio em Indústria Farmacêutica.

A Indústria Farmacêutica intervém diretamente na investigação/desenvolvimento, fabrico, controlo e registo de medicamentos. Esta amplitude de processos, aliada ao forte papel tecnológico inerente à indústria bem como ao rigor e qualidade exigidos, foram fatores que me suscitaram interesse e motivação para querer conhecer melhor a indústria (Ordem dos Farmacêuticos, 2018).

Assim sendo, no âmbito da cadeira Estágio Curricular realizei um estágio na Farmalabor, o qual pretendo descrever através deste relatório.

FARMALABOR

A Farmalabor localiza-se na zona industrial de Condeixa, tendo um longo historial que se iniciou em 1962 sob o nome de Euro-Labor, nesse período com localização em Coimbra.

Desde sempre ligada ao fabrico de medicamentos, em 1995 já sob a denominação de Farmalabor passa a estar associada ao grupo Grünenthal. Em 2001 é adquirida pela Medinfar, situação que permanece até hoje.

Como já foi referido anteriormente, a Farmalabor dedica-se ao fabrico de produtos farmacêuticos, cosméticos, suplementos e produtos de uso veterinário. As suas instalações e equipamentos permitem o fabrico de produtos não estéreis de diferentes formas farmacêuticas como: formas farmacêuticas líquidas (soluções, suspensões e xaropes), formas pastosas (cremes, geles e supositórios) e formas sólidas (comprimidos, comprimidos revestidos, cápsulas, saquetas e pellets).

Para além do fabrico propriamente dito, nas instalações da Farmalabor existem outros serviços complementares do fabrico como o controlo de qualidade e a garantia de qualidade.

Sendo a Farmalabor parte integrante da Medinfar, é natural que uma parte significativa do que é produzido seja dedicado à Medinfar, no entanto a Farmalabor tem a capacidade de produzir para terceiros, reproduzindo todo o processo de fabrico desejado pelo cliente, bem como os controlos em processo e no produto final (Medinfar, 2018).

ESTÁGIO

O estágio na Farmalabor decorreu entre o dia 3 de maio e o dia 27 de julho, no âmbito da disciplina Estágio Curricular, tendo estado inserido no departamento de garantia de qualidade sob a orientação do Dr. João Braga.

A garantia de qualidade (GQ) é um setor fundamental numa indústria farmacêutica, para garantir o fabrico de produtos com qualidade, segurança e eficácia. Para isso no departamento de GQ são tomadas medidas que vão ter impacto em todos os setores da fábrica, desde a produção ao armazenamento, tendo sempre em atenção diferentes variáveis como a segurança e o ambiente. Procedimentos como a validação da higienização, revisão da qualidade do produto, gestão de risco e tratamento de não-conformidades são algumas das medidas ao encargo do sistema de gestão de qualidade.

O sistema documental é um dos pilares do departamento de Garantia de qualidade, sendo este departamento o responsável pela elaboração de alguns dos procedimentos a respeitar na indústria, bem como o local onde se encontram grande parte dos documentos de suporte. Foi exatamente pela parte documental que passou o meu estágio, tendo estado envolvido essencialmente na revisão de instruções de fabrico (IF) e instruções de acondicionamento (IA).

As IF são documentos que contêm todo o processo de fabrico explanado, desde as quantidades a pesar, ao fluxograma de fabrico, aos equipamentos a utilizar, e incorporam também diferentes especificações a cumprir durante o processo.

As IF são elaboradas no departamento de garantia de qualidade e são depois enviadas à produção como documento com todos os passos pelos quais a produção se deve guiar. Enquanto as IF se dedicavam à parte do fabrico propriamente dito, as IA estão direcionadas para o acondicionamento. É um documento nos mesmo moldes da IF, mas claro que enquadrado na parte do acondicionamento.

No processo de revisão em que estive envolvido, a principal tarefa consistia na atualização destes documentos. Com o aparecimento de novos equipamentos, alterações no modo operativo são necessárias, e como tal é de capital importância as IF e IA estarem sempre o mais atualizadas possível para que quem esteja na produção e na secção da embalagem, trabalhe de forma mais eficiente.

Pontualmente, também colaborei no processo relacionado com as validações do processo de fabrico. As validações são necessárias em processos novos, ou em processos já existentes quando ocorrem alterações por exemplo de fabricante de matérias-primas ou de equipamentos de fabrico. As validações exigem um procedimento ainda mais rigoroso, com o controlo de um maior número de especificações. Todas essas alterações são incorporadas

num documento, designado de protocolo de validação, elaborado pela GQ e enviado para a produção.

Através de uma análise SWOT, analisarei os pontos fortes (*strenghts*) e pontos fracos (*weaknesses*) do meu estágio bem como as oportunidades (*opportunities*) e ameaças (*threats*) que considero existirem para os farmacêuticos e para a indústria em geral.

ANÁLISE SWOT

Pontos Fortes

História rica da Farmalabor

Para mim foi muito importante ter passado por uma indústria com tanta história, por onde já foram fabricados produtos muito diferentes e que desde os seus primórdios tem ligações a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Com esta experiência e com a convivência com alguns membros da equipa, foi possível perceber a evolução que o setor da Indústria foi sofrendo e ter a noção dessa perspectiva evolutiva, claramente contribuiu para o enriquecimento pessoal e profissional.

Estágio na garantia de qualidade

Como já referi anteriormente, a garantia de qualidade funciona como o núcleo da fábrica, onde existe a planificação do conjunto de atividades que permitem à indústria cumprir com os requisitos necessários. Outro fator importante é o facto de o trabalho desenvolvido neste departamento estar ligado a todos os outros departamentos da fábrica. Tendo em conta o meu desconhecimento e inexperiência, bem como o período limitado do estágio, acabou por ser importante a possibilidade de ter estado num departamento onde existe uma grande amplitude de funções, uma vez que isso permitiu conhecer de forma mais alargada possível a realidade da indústria.

Organização do estágio

Durante o período de estágio, o que me foi pedido maioritariamente para executar, foi a revisão de Instruções de Fabrico (IF) e Instruções de Acondicionamento (IA). Esta tarefa foi bastante útil porque como já expliquei as IF/IA são documentos pelos quais todos os processos de fabrico e acondicionamento se regem. Como tal, este tipo de tarefa permitiu-me conhecer os produtos produzidos na fábrica, as matérias-primas, os equipamentos, as fases de fabrico e também as fases de acondicionamento. Para além disso, nesta tarefa tive também que analisar as Autorizações de Introdução no Mercado dos diferentes produtos para verificar se as

alterações introduzidas nos procedimentos de fabrico e acondicionamento estavam de acordo com a mesma. Assim se percebe que permitiu pôr em prática conhecimentos de diversas disciplinas lecionadas na faculdade como Tecnologia Farmacêutica, Assuntos Regulamentares do medicamento e Gestão e Garantia de Qualidade. Para a realização das minhas tarefas foi definido um tempo limite, que na minha opinião foi fulcral para me sentir integrado no contexto de trabalho.

Ida à produção

Tendo sido o trabalho elaborado durante o estágio intrinsecamente ligado à produção, foi bastante útil assistir na prática ao que tinha ajudado a elaborar, até para melhor compreensão do que tinha feito. A Farmalabor tem a vantagem de produzir diferentes formas farmacêuticas como sólidos, líquidos e pastosos, o que permite conhecer uma maior diversidade de procedimentos e equipamentos.

Equipa

A equipa da garantia de qualidade teve um papel fundamental na minha integração. A indústria era uma realidade que desconhecia por completo, e que no início tive algumas dificuldades de adaptação. No entanto, a equipa procurou sempre ajudar-me e transmitir os conhecimentos para que a realização das tarefas fosse feita de forma mais natural possível.

Visão geral do papel do farmacêutico

Até à realização deste estágio, a única realidade de envolvimento do farmacêutico que conhecia era a da farmácia comunitária. Este estágio em indústria permitiu-me conhecer outra fase do ciclo do medicamento onde o farmacêutico tem intervenção direta, fator importante para desempenhar com outro critério o meu trabalho futuro.

Pontos Fracos

Complexidade documental

Sendo a indústria farmacêutica a responsável pela produção de medicamentos, é natural que existam determinadas normas, tanto internas como externas para garantir a melhor qualidade dos medicamentos que chegam à população. Tendo em conta a minha inexperiência e desconhecimento da maioria das normas existentes, foi difícil reconhecer a aplicabilidade de algumas delas, mesmo apesar da Farmalabor ter um sistema documental bastante bem organizado.

Desconhecimento da realidade da Indústria Farmacêutica

Apesar de nas tarefas que desempenhei ter conseguido pôr em prática alguns dos conhecimentos que aprendi ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, não tinha a noção do que era efetuado na indústria, nem uma ideia clara dos diferentes departamentos que podiam existir, tendo tido por isso, algumas dificuldades iniciais no processo de ambientação.

Oportunidades

Globalização

Hoje em dia há cada vez menos barreiras no que toca a expansão, e a Farmalabor não é exceção produzindo para diversos pontos do mundo como o Médio Oriente e África. O facto de fazer parte da Medinfar é também um fator positivo, tendo em conta a sua presença internacional. Esta convivência com a realidade global é importante para os farmacêuticos e para os restantes trabalhadores da Farmalabor, uma vez que reforça a capacidade de todos e abre novas perspetivas de negócio.

Modelo de negócio da Farmalabor

A Farmalabor é uma indústria que apesar de pertencer à Medinfar, tem também parte da sua produção direcionada para outros clientes. Isto permite o contacto com um portfolio muito extenso de produtos e também com diferentes especificações, uma vez que clientes diferentes têm requisitos diferentes. Estes fatores em conjunto permitem que os trabalhadores estejam mais preparados para as diversas situações.

Ameaças

Dificuldades para os farmacêuticos

A indústria é um meio bastante competitivo, onde uma grande fatia dos trabalhadores não são farmacêuticos. Tendo em conta a constante inovação associada ao setor, é importante que os farmacêuticos e as faculdades continuem a apostar numa formação diversificada para conseguir dar resposta às necessidades da indústria.

Caraterísticas do mercado

A forte redução de custos que as entidades governamentais impuseram no preço dos medicamentos trouxe dificuldades para a rentabilidade da indústria. Com menor rentabilidade, mais difícil se torna para as indústrias poder evoluir a nível de investigação e desenvolvimento e seguir os passos da modernização. Tal facto, para além de representar uma ameaça para a indústria, representa consequentemente para o farmacêutico.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A experiência na indústria farmacêutica revelou-se bastante positiva, tendo sido muito interessante conhecer o dia-a-dia da indústria, onde pude perceber que o trabalho e a exigência são constantes. Foi também importante ter tomado consciência das diferentes áreas que estão envolvidas na indústria, como a tecnologia farmacêutica, os assuntos regulamentares ou a farmacoeconomia.

É fundamental realçar a abertura da faculdade para a possibilidade da realização de estágios nas diversas áreas onde o farmacêutico pode atuar. Ter experiências em diferentes contextos profissionais só fortalece a nossa formação e currículo, tornando-nos mais aptos à entrada no mercado de trabalho. A experiência numa indústria como a Farmalabor, onde se produzem milhões de unidades por ano e onde qualquer falha pode acarretar grandes prejuízos, é uma experiência que permite ganhar responsabilidade e confiança nas nossas capacidades.

Por fim, agradecer a toda a equipa da Farmalabor, em especial a equipa da garantia de qualidade porque todos sem exceção foram extremamente atenciosos e sempre prontos a tirar qualquer dúvida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Medinfar – Farmalabor [em linha]. 2018. [Consult. 17. ago. 2018]. Disponível em: <http://www.medinfar.pt/farmalabor/#>

Ordem dos Farmacêuticos – Áreas Profissionais – Indústria Farmacêutica [em linha]. 2018. [Consult. 17. ago. 2018]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/industria-farmaceutica/>

ANEXOS

Anexo I - Pequeno esboço da Lista de Substâncias Proibidas 2018. (Adaptado de WADA. 2018)

	Grupo de substâncias	Exemplos
Proibidas em qualquer circunstância	Agentes anabolizantes endógenos e exógenos	Esteróides Androgénico-Anabolizantes Testosterona
	Hormonas peptídicas e Fatores de Crescimento	Eritropoietina Hormona de Crescimento
	Agonistas β -2	Salbutamol Formoterol Salmeterol (proibidos apenas a partir de determinado limite)
	Hormonas e moduladores metabólicos	Inibidores Aromatase Moduladores do recetor estrogénio
	Diuréticos e agentes mascarantes	Furosemida Desmopressina Probenecida
Proibidas apenas em competição	Estimulantes, Narcóticos e Canibinóides	Metilfenidato Morfina Marijuana
Proibidas apenas em alguns desportos	B-bloqueantes (podem ser proibidos sempre ou só exclusivamente em competição – dependente da modalidade)	Atenolol Bisoprolol Carvedilol