FACULDADE CATÓLICA SALESIANA DO ESPÍRITO SANTO

DIEGO DETTIMANN COSTA

EDSON NORBERTO MOREIRA DA SILVA JUNIOR

RISCOS DA UTILIZAÇÃO DE ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA: UM ALERTA AO ESPORTE

VITÓRIA

2011

DIEGO DETTIMANN COSTA

EDSON NORBERTO MOREIRA DA SILVA JUNIOR

RISCOS DA UTILIZAÇÃO DA ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA: UM ALERTA AO ESPORTE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo, como requisito obrigatório para conclusão do curso de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Esp. Alessandro Venturim Bento

VITÓRIA

2011

DIEGO DETTIMANN COSTA

EDSON NORBERTO MOREIRA DA SILVA JUNIOR

RISCOS DA UTILIZAÇÃO DA ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA: UM ALERTA AO ESPORTE

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO AO CURSO DE FARMÁCIA DA FACULDADE CATÓLICA SALESIANA DO ESPÍRITO SANTO, COMO REQUISITO OBRIGATÓRIO PARA CONCLUSÃO DO CURSO DE BACHAREL EM FARMÁCIA.

Aprovado em 13 de Junho de 2011.

BANCA EXAMINADORA:

_____

Prof. Esp. Alessandro Venturim Bento, Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo – Orientador

_____

Prof. Esp. Maria do Perpétuo Socorro Vendramini Orletti

_____

Prof. Ms. Rodrigo Alves do Carmo, Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo

Dedicamos este trabalho aos Farmacêuticos, profissionais da área esportiva, e a todos os atletas brasileiros que prezam pela saúde em primeiro lugar.

AGRADECIMENTOS

A **DEUS,** por tudo que fez em minha vida. Ao meu orientador, Alessandro, que foi nosso incentivador e nos apoiou para que este trabalho fosse realizado.

Aos meus pais que me deram suporte e sempre estão comigo em todos os momentos de minha vida e me ensinaram muito do que sei hoje.

Agradeço aos meus amigos e familiares pelos momentos divertidos e de descontração.

Aos meus professores de graduação pelos ensinamentos e pelas amizades que consegui.

A Aretha Molina que nos ajudou nos momentos que foram possíveis, e nos disponibilizou materiais.

Ao meu amigo e dupla de TCC Diego, que contribui para o desenvolvimento deste trabalho, e também pelas partidas de futebol.

Ao meu S2 (DAYANE) que sempre me apoiou e me ensinou muito do que sou hoje, e pelo companheirismo.

A mim, pela sabedoria e perseverança nos momentos difíceis

Edson Norberto

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **DEUS** por me dar a força necessária para seguir em frente perante tantas adversidades.

Agradeço ao meu orientador e grande amigo Prof. Alessandro, sem o qual a realização desse trabalho não seria possível. E por todas as caronas para o laboratório...

A minha mãe que me deu o dom da vida e obteve sucesso ao me ensinar o que era certo e o que era errado.

Aos amigos de Vera Cruz, até por muitas vezes não entenderem nada do que eu estava falando, mas pelo menos estavam ouvindo.

Aos grandes amigos que fiz durante o curso, meus mestres de graduação, por lições valiosas não somente dentro da sala de aula, mas sim para a vida.

A Aretha Molina que, mesmo estando longe, esteve pronta a ajudar e deixa saudades até hoje.

A Rodrigo Alves do Carmo por defender com unhas e dentes a profissão farmacêutica e nos mostrar o seu valor.

Ao meu grande amigo e dupla de TCC Edson, que me saiu um ótimo pesquisador e pelos momentos de descontração e amizade durante esses 4 anos e meio.

A minha princesa, Eudimilla, por todo o apoio e o amor que sempre me dá sem pedir nada em troca.

A mim, por sempre acreditar...

Diego Dettimann

“Todos querem ganhar medalhas de ouro, mas poucos querem treinar na intensidade necessária para conquistá-las”.

Mark Spitz

RESUMO

Objetivo: Descrever as características químicas da eritropoetina (EPO), aspectos farmacológicos e os riscos causados pela utilização da eritropoetina recombinante humana (rHuEPO), apresentar a atletas e profissionais do meio esportivo os riscos causados pelo uso de eritropoetina recombinante humana utilizada para prática esportiva e dessa forma contribuir com a luta contra a prática de *doping* nos grandes eventos esportivos que serão realizados no Brasil. **Metodologia:** Este trabalho baseou-se em revisão bibliográfica de livros, artigos científicos, de jornais, e sites científicos relacionados com eritropoetina endógena humana ou recombinante humana. Foram utilizadas diversas literaturas nacionais e internacionais que proporcionaram uma fundamentação teórico-científica sólida, um panorama atual da situação do *doping* no mundo, estatísticas e seus métodos de detecção. **Discussão:** EPO é um hormônio endógeno de natureza glicoprotéica secretado pelos rins e principal regulador da eritropoese. A rHuEPO, sua forma recombinante, foi criada para diversos fins terapêuticos, entre eles anemias decorrentes de insuficiência renal crônica (IRC), síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e neoplasias. Porém, ela vem sendo usada indiscriminadamente por atletas para aumentarem a concentração de hemácias, gerando maior aporte de oxigênio ao tecido muscular. A utilização de rHuEPO é proibida pelo Comitê Olímpico Internacional e seu uso considerado *doping*. **Conclusão:** A rHuEPO é um medicamento que invadiu os bastidores do mundo do esporte apresentando vários benefícios às mais diversas modalidades, entretanto, apresenta um significativo índice de efeitos colaterais, além de ser proibido em comitês esportivos de todo o mundo por ferir a ética esportiva e apresentar risco à vida. Um controle mais rígido deveria ser exercido sobre substâncias dessa classe, além de programas de conscientização constantes e pesquisa aplicada à detecção cada vez mais precisa e específica em exames *antidoping*, principalmente no Brasil que vai sediar a Copa do Mundo de 2014 e as Olimpíadas de 2016.

Palavras Chave: Eritropoetina. Eritropoetina Recombinante Humana. *Doping*. Esportes de Rendimento.

ABSTRACT

Objective: Describe the chemical characteristics of erythropoietin (EPO), pharmacological aspects and risks caused by the use of recombinant human erythropoietin (rHuEPO), present to athletes and sports professionals of the risks caused by the use of recombinant human erythropoietin used for sports and thereby contribute to the fight against the practice of doping in sports events which will be held in Brazil. Methodology: This study was based on literature review of books, papers, newspapers, and websites related scientific or endogenous human erythropoietin recombinant human. We used several national and international literature that provided a solid theoretical and scientific, an overview of the current situation in the world of doping, statistics and methods for their detection. **Discussion:** EPO is a glycoprotein nature of endogenous hormone secreted by the kidneys and primary regulator of erythropoiesis. The rHuEPO, recombinant form has been created for various therapeutic purposes, including anemias due to chronic renal failure (CRF), acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and cancer. However, it has been indiscriminately used by athletes to increase the concentration of red blood cells and an increased oxygen supply to muscle tissue. The use of rHuEPO is prohibited by the IOC and its use as doping. Conclusion: rHuEPO is a drug that has invaded the world of sports scenes featuring multiple benefits to diverse forms, however, presents a significant rate of side effects, and is banned in sports committees around the world for being unethical and sports present a risk to life. A tighter control should be exercised over substances of this class, and constant awareness programs and applied research to detect ever more precise and specific anti-doping tests, especially in Brazil which will host the 2014 World Cup and the Olympics in 2016 .

Keywords: Erythropoietin. Recombinant Human Erythropoietin. Doping. Sports Performance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cromossomo sete e localização do gene EPO.....22

Figura 2: Representação do sensor renal de hipóxia e mecanismo de retroalimentação.....23

Figura 3: Ação da eritropoetina como fator estimulante de eritropoiese.....25

Figura 4: Ilustração simplificada do sinal de transdução induzido por eritropoietina.....27

Figura 5: Variação dos Percentuais de Implicação das Fontes Energéticas Aeróbias e Anaeróbias em Provas de Atletismo.....39

Figura 6 Autoradigrafia de padrões isoelétricos de eritropoetina endógena e exógena.....43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – “O lado negro da química empregada no *doping*” evidenciando a evolução do *doping* em diversas modalidades e localidades do mundo.....19

Tabela 2 - Contribuição das fontes de energia aeróbia e anaeróbia em diferentes provas do atletismo olímpico.....39

Tabela 3 - Percentual de 1.152 atletas (739 homens, 413 fêmeas) de 12 países no estudo de perfis com parâmetros de sangue igual ou superior ao valor especificado.....45

Tabela 4 - Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2003.....49

Tabela 5 - Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2004.....50

Tabela 6 - Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2005.....51

Tabela 7 - Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2006.....52

Tabela 8 - Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2007.....53

Tabela 9 - Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2008.....54

Tabela 10 - Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2009.....55

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

a.C. – Antes de Cristo

aa – Aminoácidos

AAS – Ácido Acetilsalicílico

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Atk – Inibidor de Apoptose

BFU-E – Burst Forming Unit – Erythroid

CBJD – Código Brasileiro de Justiça Desportiva

cDNA - Ácido Desoxirribonucleico Complementar

CERA – Continuous Erythropoietin Receptor Activator

CFU-E – Colony Forming Unit – Erythroid

COI – Comitê Olímpico Internacional

CONI – Comitê Olímpico Nacional Italiano

DNA – Ácido Desoxirribonucleio

EPO – Eritropoetina

EpoR – Receptor de Eritropoetina

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

hCG – Gonadotrofina Coriônica Humana

IP3 - Inositol 1,4,5-Triphosphate

IRC – Insulficiência Renal Crônica

JAK2 – Janus Kinase

kDa – Kilo Daltons

O_2 – Oxigênio

PI3-K – Phosphatidylinositol 3-kinases

PIP2 - Phospatidylinositol 4,5-bisphosphate

PLC-γ1 – Phospholipase C-γ1

RAS – Reticular Activation System

rHuEPO – Eritropoetina Recombinante Humana

STAT5 – Transdutor e ativador de sinal de transcrição que media as respostas celulares de várias citocinas.

TXA_2 – Tromboxano A_2

WADA – Organização Mundial Antidoping

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....14

2 OBJETIVOS.....15

2.1 OBJETIVO GERAL.....15

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....15

3 METODOLOGIA.....16

4 DISCUSSÃO.....17

4.1 HISTÓRICO

4.1.1 DOPING.....17

4.1.2 ERITROPOETINA (EPO).....20

4.2 EPO ENDÓGENA.....22

4.2.1 RECEPTORES.....25

4.3 ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA (rHuEPO).....28

4.3.1 *BUSINESS* – A rHuEPO NO MERCADO.....29

4.4 UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA.....31

4.5 RISCOS DA UTILIZAÇÃO INDISCRIMINADA DE rHuEPO.....34

4.6 rHuEPO NO ESPORTE.....38

4.7 rHuEPO NO BRASIL E NO MUNDO – CASOS.....40

4.8 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE DOPING POR rHuEPO.....42

4.8.1 MÉTODO PADRÃO.....42

4.8.2 MÉTODOS COMPLEMENTARES.....44

4.8.3 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS – PASSAPORTE SANGUÍNEO.....46

4.9 DADOS ESTATÍSTICOS.....47

5 CONCLUSÃO.....56

REFERÊNCIAS........58

1 INTRODUÇÃO

O Comitê Olímpico Internacional (COI) a partir de 1990 proibiu a utilização da eritropoetina recombinante humana (rHuEPO) no esporte, visando preservar a ética desportiva e a saúde dos atletas (WADA). A EPO influencia a maturação eritrocitária, resultando em melhora da competência aeróbia e da *performance* desportiva (CRUZ, 2006). O uso da EPO para melhora do desempenho esportivo iniciou-se na década de 70, onde eram utilizadas câmaras hipobáricas que induziam "naturalmente" a síntese de eritrócitos. Tal prática foi deixada de lado quando, em 1988, alguns laboratórios desenvolveram uma forma recombinante da EPO, a Eritropoietina Humana Recombinante (rHuEPO) (CAZZOLA, 2002).

Em 2009 os casos de doping no Brasil aumentaram significativamente, segundo relatório da Comissão Nacional de Combate ao Doping do Ministério do Esporte o ano de 2004 havia sido o com maior número de casos. Os casos de doping em 2009 foram principalmente por Eritropoietina Recombinante Humana, que induz aumento da Eritropoiese, melhorando assim a oxigenação dos tecidos, mas também causa sérios riscos a saúde do atleta. Essa utilização é aumentada pela dificuldade de identificação em exames *antidoping*.

Em 2014 e 2016 o Brasil será palco dos dois maiores eventos esportivos do mundo, a copa do mundo de futebol e os jogos olímpicos, respectivamente. Para que o Brasil não fique marcado como o país que mais apresentou casos de *doping* nessas competições, será necessário um trabalho de conscientização para os atletas e profissionais do esporte brasileiro. Pois hoje, a pressão exercida por patrocinadores associada à necessidade de obter resultados cada vez melhores, faz com que atletas usem substâncias ilícitas, para obtê-los, e isso vai de encontro com a ética esportiva e o principio de preservação do indivíduo.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Descrever as características químicas da eritropoetina, aspectos farmacológicos e os riscos causados pela utilização da eritropoetina recombinante humana.

2.2 ESPECÍFICOS

Apresentar a atletas e profissionais do meio esportivo os riscos causados pelo uso de eritropoetina recombinante humana utilizada para prática esportiva.

Identificar os benefícios da utilização terapêutica de rHuEPO.

Apresentar os aspectos mercadológicos e financeiros acerca da rHuEPO.

Evidenciar a utilização de indiscriminada de rHuEPO no esporte, apresentando casos relatados mundialmente.

Listar os métodos disponíveis para detecção de *doping* por rHuEPO.

Apresentar dados estatísticos referentes à situação do *doping* no mundo e a representatividade da rHuEPO os mesmos.

Relacionar tais informações na tentativa de evitar que nos eventos esportivos que se realizarão no país ocorra tal tipo de *doping*.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão da literatura nacional e internacional de livros, artigos científicos e de jornais, bem como sites científicos nacionais e internacionais relacionados com eritropoetina endógena humana ou recombinante humana. O levantamento de dados foi realizado entre agosto de 2010 e maio de 2011, os dados foram analisados e verificou-se a compatibilidade dos mesmos com o tema proposto. Após este processo, foi realizada revisão do material científico no presente estudo. A análise do material científico proporcionou fundamentação e compreensão, dos estudos feitos anteriormente, contribuindo assim com embasamento técnico-cientifico ao estudo.

4 DISCUSSÃO

4.1 HISTÓRICO

4.1.1 Doping

A atividade motora humana é um comportamento altamente dependente de diversos e complexos fatores, tais como: elementos fisiológicos, bioquímicos e fatores de tão elevado teor subjetivo que ainda necessitam de explicações mais fundamentadas para sua fiel determinação, o que faz do esporte uma arte, antes de ser uma ciência exata (CRUZ, 2006).

Numa perspectiva histórica, fica claro que os interesses socioeconômicos levam os atletas a exceder seus próprios limites. Em busca da superação, não medem esforços, empregando todos os meios disponíveis. Muitos desses artifícios podem ser prejudiciais ao atleta, sua equipe ou seus adversários (AQUINO NETO, 2001).

A competição desportiva moderna abdicou, há muito, dos preceitos valiosos de Pierre Courbertin, idealizador do esporte que encorajava o *glamour* da participação pelo simples fato do desafio e por ideais de desportividade. O volume de investimentos financeiros e estruturais no mundo dos esportes e as diretrizes e interesses políticos que pairam sobre os bastidores da maioria das competições elevam o nível da mesma, objetivando somente um resultado: a vitória (CRUZ, 2006).

O esporte faz parte do tecido social, se faz presente em todas as classes sociais e faixas etárias e, muitas vezes, pode até representar uma chance de ascensão social para as classes mais baixas. É função, portanto, do Estado democrático velar pelo controle de dopagem e de práticas que não condizem com a ética esportiva (AQUINO NETO, 2001).

Em 800 a.C. os gregos incorporaram o esporte ao seu modo de vida, agregando-o à sua rotina, ao lado de suas atividades culturais e religiosas. Os eventos esportivos envolviam, sob a égide dos deuses, a participação artística, além do cunho atlético, voltado para a preparação de guerreiros, porém, já se delineava a importância dos jogos como forma de estabelecer importância geográfica, política e econômica das regiões participantes. Em 400 a.c. acontece a "profissionalização" do esporte, onde o vencedor era beneficiado com altas quantias em dinheiro e prestígio. Quando foi constatado que o esporte era um negócio altamente rentável inicia-se a sua comercialização e, conseqüentemente, a corrupção do sistema. Os primeiros casos de dopagem são relatados pelo uso da estricnina (um alcalóide cristalino muito tóxico, o qual foi utilizado posteriormente como pesticida para matar roedores) em doses "adequadas", usado como estimulante e cogumelos alucinógenos para reforçar a psique antes dos jogos (AQUINO NETO, 2001).

A era cristã rejeitou o esporte, definiu-os como "pagãos" e proibiu os mais violentos, (que também eram os mais populares na época) como a corrida de bigas e lutas de gladiadores. A tentativa de substituir tais esportes por boxe e luta não obteve sucesso e a queda de popularidade levou à queda do esporte. Somente no século XIX o esporte ressurgiu, na área rural da Inglaterra, com atividades decorrentes desse estilo de vida. As celebrações eram alegradas com bebida, dança, corridas de sacos e para agarrar porcos, briga de galos e boxe, além de jogos de futebol com mais de 1.000 jogadores (Australian Sports Drug Agency, 2000 *apud* Aquino Neto, 2006).

A revolução industrial iniciada também na Inglaterra em meados do século XVIII, e que depois se expandiu pelo mundo a partir do século XIX reacendeu a chama do esporte, pois através do desenvolvimento tecnológico vieram os esportes com "instrumentos" (tênis, golfe), e a realização de competições no turno da noite com o advento da luz elétrica. Com isso todas as conotações políticas e socioeconômicas vieram à tona e o profissionalismo e a comercialização tomaram conta do esporte novamente. Ressurge assim toda a pressão sobre os atletas e seu rendimento, o que leva novamente à dopagem (tabela 1).

Tabela 1: "O lado negro da química empregada no *doping*", evidenciando a evolução do *doping* em diversas modalidades e localidades do mundo.

ANO OU PERÍODO	ATIVIDADE
1886	"Tour de France" de ciclismo, Linton morre sob efeito de estresse e *speed Ball* (cocaína + heroína).
1904	Primeiro "susto" nas olimpíadas modernas. Thomas Hicks, maratonista, quase morre devido à mistura de *brandy* e estricnina. O mais incrível é que ele ficou com a "medalha de ouro", que foi tirada do vencedor quando se descobriu que este havia feito o percurso de carona num caminhão.
Anos 30	Síntese das anfetaminas substitui a estricnina.
1952	Nos jogos de inverno de Helsinki competidores de corrida sobre patins passaram mal devido ao uso de anfetaminas.
1953	Anabolizantes sintéticos entram no mercado.
1956	Abuso de drogas flagrante nas olimpíadas de Melbourne.
1960	Kurt Jensen, ciclista dinamarquês, morre por *overdose* de anfetamina nas olimpíadas de Roma.
1964	Olimpíadas de Tóquio apresentaram atletas com musculatura surpreendente, lançando a suspeita de abuso de anabolizantes.
1967	Morre Tommy Simpson no "Tour de France" de ciclismo, devido a estresse e anfetaminas.
1976	Nadadoras alemãs nitidamente "fabricadas" por *doping*, nas olimpíadas de Montreal.
1980	Novamente as nadadoras alemãs se destacaram.
1988	Bem Johnson é flagrado pelo uso de estanozolol, um anabolizante sintético de última geração. Florence Griffith-Joyner, nitidamente moldada por anabolizantes, não é flagrada.
Anos 90	Internet banaliza o acesso, aumentando o uso de anabolizantes e "complementos nutricionais".

Fonte: Australian Sports Drug Agency, 2000 *apud* Aquino Neto, 2001; LUKAS, 1996.

4.1.2 Eritropoetina (EPO)

A inter-relação que existe entre a saturação de oxigênio no organismo e a produção de glóbulos vermelhos em seres humanos já é reconhecida desde o século XIX (KEOWN, 1989). Nesta mesma linha de raciocínio os trabalhos de Bert (1878, 1882) referem-se à influência da altitude e das câmaras hipobáricas, ou de descompressão, em tal fenômeno, demonstrando que os efeitos fisiológicos causados pelos gases dependem de sua pressão parcial e que a anemia causada na altitude se deve à hipoxemia, além de evidenciarem a elevada capacidade do sangue dos residentes das montanhas de captar oxigênio (FISHER, 1988).

O histologista francês Viault em 1890 relatou os primeiros efeitos observados da hipoxemia na produção de células sanguíneas, quando constatou que o número de glóbulos vermelhos no seu sangue aumentou de 5 para $8x10^6$/µL, após três semanas de excursão às montanhas de Morococha no Peru, montanhas essas que ficam a uma altitude de 4.400 metros. Visto isso, Miescher em 1893 preconizou os benefícios da altitude em pacientes portadores de tuberculose ou anemia, e também Kuhn em 1907 tentou estimular a eritropoiese em pacientes com anemia diminuindo a sua ventilação pulmonar. Estendem-se até os dias de hoje as diferentes formas de estímulo, como por exemplo, o treinamento físico de atletas em locais montanhosos na tentativa de aumentar a concentração de hemoglobina e, consequentemente, o desempenho atlético. (FISHER, 1988).

Em 1906, Carnot e Deflandre sugeriram que a hipóxia arterial gerasse um fator humoral capaz de estimular a produção de células vermelhas. Esta afirmação não foi aceita, apesar de correta, devido a sua não-comprovação experimental (DESSYPRIS, 1993). Porém ao verificarem um aumento de 20 a 40% no número de glóbulos vermelhos em coelhos dois dias após receberem uma única injeção de alguns mililitros de soro proveniente de coelhos tornados anêmicos por flebotomia constataram a hipótese referente ao controle da eritropoese por um fator humoral, dando a esse provável fator o nome de hemopoietina. (FISHER, 1988).

Os resultados de Hjort (1936), Krundiek (1943) e Erslev (1953) demonstraram que a injeção de grandes volumes de plasma ou soro de coelhos submetidos a sangramento induzido determinava um rápido aumento de reticulócitos no sangue periférico de coelhos normais, portanto representou definitivamente a existência de um fator humoral no controle da eritropoese. Fator esse que Bonsdorff e Jalavisto (1948) apropriadamente propuseram uma nova denominação de Fator Estimulante da Eritropoese, *"Erythropoiesis Stimulating Factor"* ou eritropoetina (FISHER, 1988).

Em 1950, Reissmann estudou em ratos o estímulo da produção de células vermelhas por um fator humoral. Apenas em 1953 com Erslev provou-se uma evidência direta da existência da eritropoetina com um mecanismo de ação semelhante ao dos hormônios (SPIVAK, 1993), ao demonstrar reticulocitose em coelhos injetados com o plasma proveniente de coelhos tratados pela fenilidrazina que causa acentuada anemia hemolítica (FISHER, 1988).

4.2 EPO ENDOGENA

A Eritropoetina endógena humana que há muito era conhecida como um hormônio glicoprotéico (AQUINO NETO, 2003), passou a ser considerada como uma citocina (RAMIREZ & RIBEIRO, 2005). A EPO endógena possui 165 aminoácidos que formam cadeia polipeptídica com duas pontes dissulfeto intramoleculares nas posições (Cis^{7-161} e Cis^{29-33}) (SCHMIDT *et al.,* 2003), massa molecular de 34kDa (RAMIREZ & RIBEIRO, 2005) sendo 30% de carboidrato, dos quais 11% consistem em ácido siálico, 11% de hexose total e 8% de *N*-acetilglicosamina (WINTROBE, 1998). No fim dos anos 80, a localização cromossômica do gene humano para eritropoietina foi atribuída ao cromossomo sete (figura 1) (WATKINS, 1986).

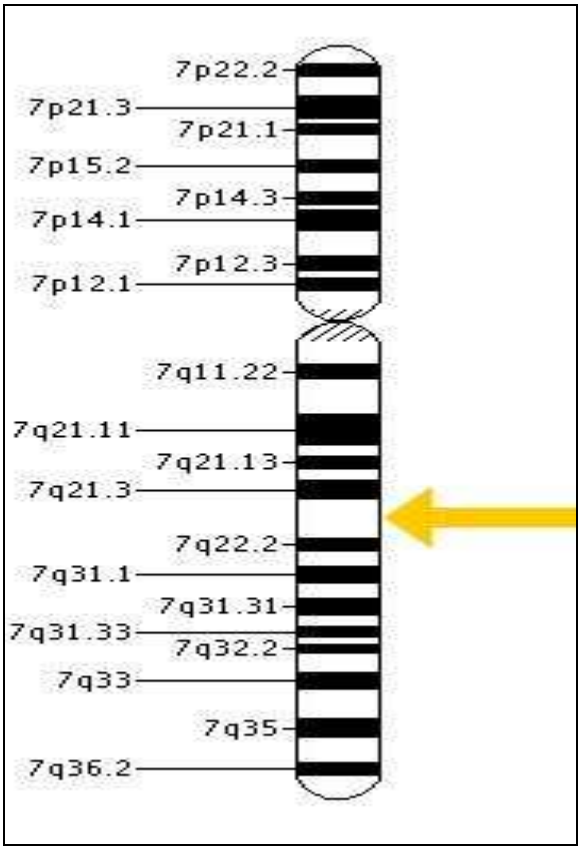

Figura 1. Cromossomo sete e localização do gene EPO.

Fonte: Genetics Home Reference. <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/EPO>.

De acordo com o *Genetics Home Reference* o gene da EPO está localizado no braço (q) longo do cromossomo sete na posição 22, mais precisamente, a partir dos pares de base 100.318.422 até 100.321.322.

A citocina EPO possui a capacidade de estimular a eritropoiese quando o organismo apresenta hipóxia. Em resposta a hipóxia, o rim secreta o hormônio EPO (WINTROBE, 1998), pois sua liberação está diretamente ligada à demanda e oferta de oxigênio pelos tecidos. Há um sensor de oxigênio nas células renais que inibe ou estimula a produção e liberação de EPO (figura 2), sendo assim, propõe-se um mecanismo de retro alimentação (LOPES, 2004). Em 1993 Semenza *et al*. afirmaram que um mecanismo fisiológico importante pela qual os mamíferos respondem à hipóxia é através da estimulação de eritropoiese, resultando em uma maior capacidade de transporte de O_2. Segundo Hoffbrand *et al*. (2008) o aumento do fornecimento de O_2 aos tecidos diminui o estímulo para a produção de EPO.

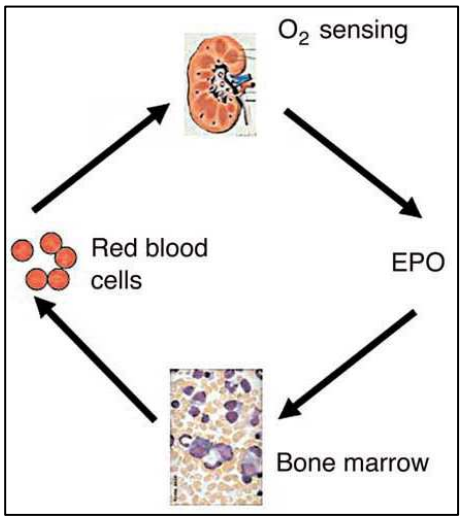

Figura 2. Representação do sensor renal de hipóxia e mecanismo de retroalimentação.

Fonte: LAPPIN; MAXUEL; JOHNSTON, 2002.

Em 1985 Jacobs *et al*. expressaram que a EPO é produzida no rim ou fígado de adulto, e no fígado de mamíferos fetal ou neonatal. Rang & Dale (2007) especificam as células de produção da EPO, nas células justatubulares do rim também chamadas de peritubulares (SMITH *et al*., 2003), bem como nos macrófagos, e sua ação consiste em estimular as células progenitoras eritróides comprometidas que passam a proliferar e produzir eritrócitos. A citocina induz as células progenitoras eritróides a se diferenciarem em pronormoblastos, ocasionando desta forma a expansão da massa eritróide e um aumento na produção de hemácias.

Pode-se ver (figura 3) a ação da EPO como fator estimulante de eritropoiese no progenitor eritróide. As cadeias de EPO ligam-se aos receptores em células BFU-E, e à medida que os eritroblastos diferenciam-se diminui a expressão de receptores. Células eritróides num estágio entre CFU-E e proeritroblasto parecem apresentar maior densidade de receptores de EPO, e seu número diminui à medida que o proeritroblasto amadurece (WINTROBE, 1998). Os reticulócitos e eritrócitos maduros não possuem receptores de EPO em sua membrana (LOPES, 2004).

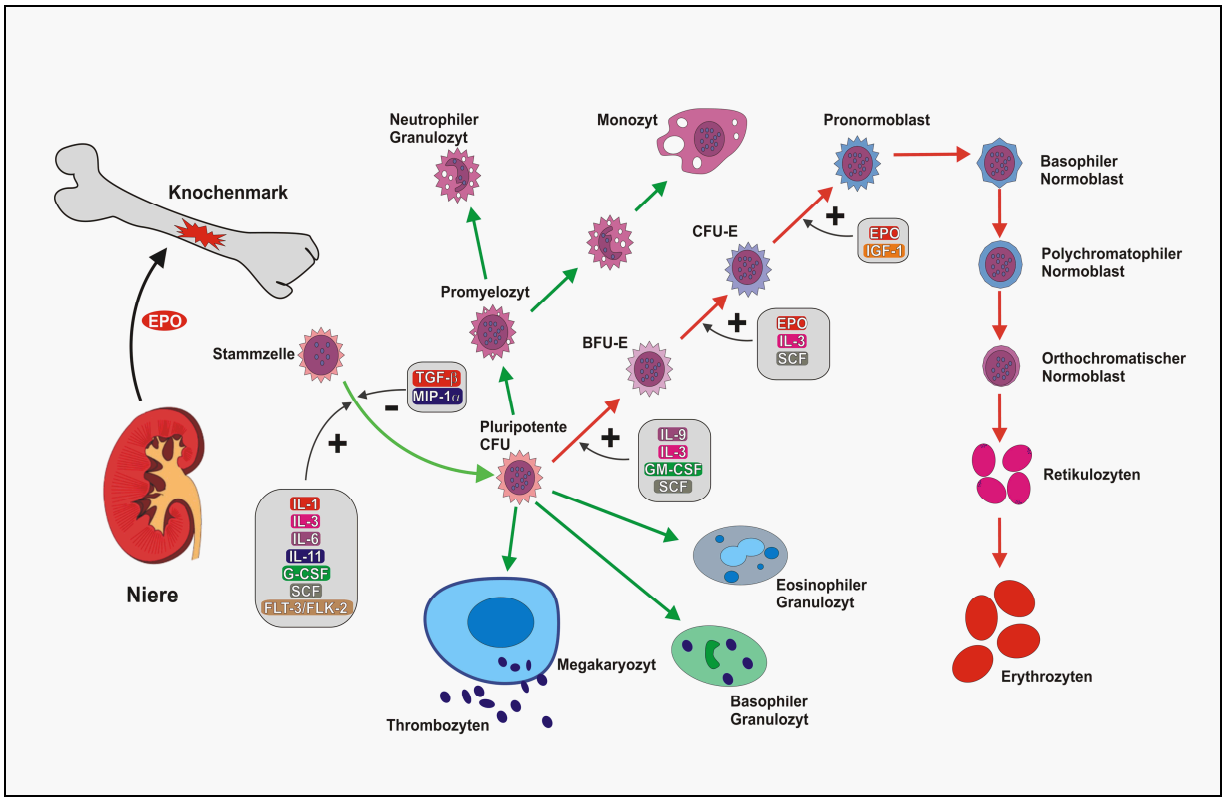

Figura 3. Ação da eritropoetina como fator estimulante de eritropoiese.

Fonte: АКАДЕМИК. Disponível em: <http://www.de.academic.ru/dic.nsf/dewiki/93793/>

4.2.1 Receptores

A EPO liga-se a moléculas específicas sobre a superfície celular, os receptores de EPO, estes receptores específicos foram identificados apenas em células eritróides humanas e murinas, linhagens celulares eritroleucêmicas, tecido hepático fetal rico em elementos eritróides, em placenta de camundogo e rato, e em megacariócitos (WINTROBE, 1998).

Os fatores de transcrição gata-1 e fog-1 são ativados pelo estímulo ao receptor de eritropoetina e são importantes por intensificarem a expressão de genes eritróides específicos, e também por intensificarem a expressão de genes anti-apoptóticos e do receptor de transferrina. A BFU-E e CFU-E, que possuem os receptores de EPO, são estimuladas a diferenciar-se e produzir hemoglobina (HOFFBRAND *et al*, 2008).

Os EPO receptores pertencem à superfamília de receptores de citocina e consistem em oito éxons. A EPO induz a homodimerização do EpoR, com subsequente ativação do receptor Janus quinase (JAK2) associado, levando a fosforilação da tirosina do EpoR, transdutor de sinal e ativador do fator de transcrição (STAT 5) (figura 4) (SMITH *et al*., 2003).

A interação entre EPO-EpoR estimula também a produção de inibidores apoptóticos, além de proporcionar a abertura de canais de cálcio que promove aumento dos níveis citoplasmáticos de cálcio (SMITH *et al*. 2003).

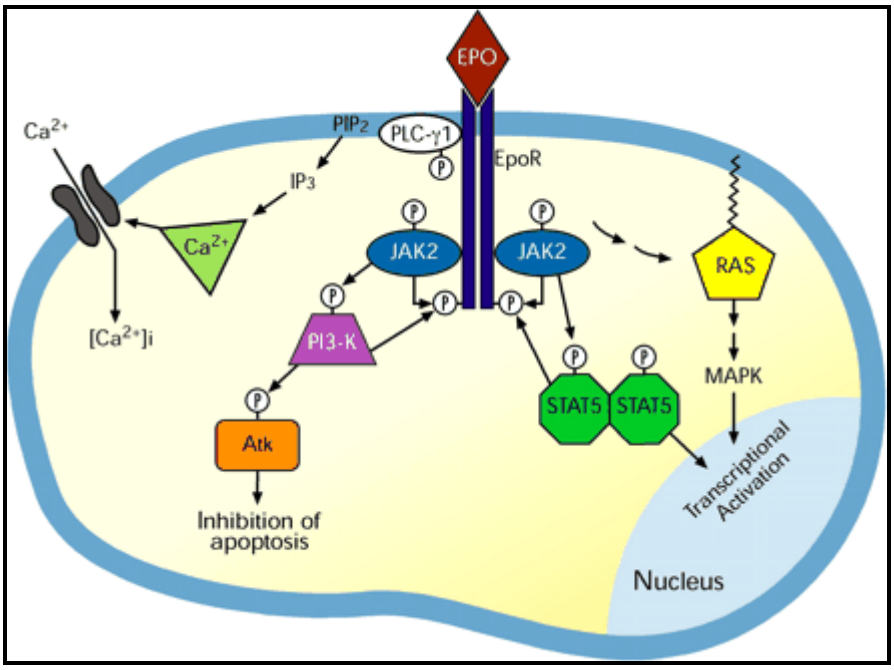

Figura 4. Ilustração simplificada do sinal de transdução induzido por eritropoietina. A eritropoetina induz homodimerização do receptor de EPO, com subseqüente ativação e fosforilação de JAK2. A JAK2 fosforila EpoR proporcionando locais de ancoragem para uma variedade de moléculas sinalizadoras. STAT5 e PI3-K ligam-se a resíduos de tirosina fosforilada no EpoR e eles mesmos são ativadas por fosforilação. A STAT5 Fosforilada, forma um dímero que entra no núcleo e induz a transcrição de genes-alvo. PI3-K ativa Atk, que inibe a apoptose. A Ligação de EPO no EpoR também induz a ativação de RAS e PLC-γ1. Quando PLC-γ1 é fosforilada, ela se move a partir do citosol para a membrana plasmática, onde hidrolisa PIP_2 para formar IP_3. IP_3 induz a liberação de Ca^{2+} dos estoques intracelulares, que por sua vez aumenta a entrada de Ca^{2+} extracelular através de canais.

Fonte: SMITH *et al*., 2003.

4.3 ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA (rHuEPO)

A EPO foi originalmente purificada da urina de pacientes com anemia aplástica. Essa purificação permitiu o isolamento e clonagem do DNA genômico humano que codifica a EPO humana. (WINTROBE, 1998). Mac Dougall (2007) relatou que com o intuito de solucionar a situação desesperadora que passavam muitos nefrologistas, no fim dos anos 80, foi desenvolvida uma forma recombinante de eritropoietina, pois havia necessidade de diminuir o número de transfusões sanguíneas até então usadas para o tratamento de anemia de doença renal crônica.

Nos EUA em 1989 a primeira empresa de biotecnologia, AMGEN, trouxe ao mercado a primeira preparação recombinante de EPO (EPOGEN) (АКАДЕМИК).

Essa produção de rHuEPO só foi possível graças as técnicas de DNA recombinante também conhecidas como engenharia genética, que consiste na inserção de DNA em cromossomos bacterianos circulares muito pequenos chamados de plamídeos, ou vetores. A inserção do DNA só é possível devido à existência de enzimas de restrição que reconhecem sequências especificas de nucleotídeos nas moléculas de DNA (DE ROBERTIS, 2003).

No experimento de Fukuda (1987) o vetor expressão contendo cDNA, também continha um minigene dihidrofolato redutase que permitia o crescimento na presença de metotrexato. Os vetores foram inseridos em células ovarianas de hamster chinês visto que a purificação da eritropoetina foi feita com o restante das células que foram “gastas”, e após a adaptação de procedimentos de purificação, a EPO foi denominada de eritropoetina recombinante.

Desde então, a produção de eritropoetina evoluiu muito. No início eram produzidas apenas a epoetina-α e β, que tem meia-vida curta (aproximadamente de seis a oito horas) sendo necessária duas a três injeções por semana (MACDOUGALL, 2007). Em 2001, foi desenvolvida uma segunda geração de EPO, a Darbepoetina-α, que é 10 vezes mais potente e tem meia – vida maior que a primeira geração, devido à adição de uma molécula de carboidrato (OGA, 2008; MACDOUGALL, 2007).

Hoje, existem diversas formas de agentes eritropoiéiticos: as epoetinas (alfa, beta, delta, omega) diferem-se nas cadeias glicosiladas, quanto maior o grau de glicosilação maior é o tempo de meia-vida; os Biosimilares EPO'S; a Darbepoetina alfa; CERA (*Continuous Erythropoietin Receptor Activator)*; Proteína Eritropoiética Sintética (MACDOUGALL, 2007).

Um estudo realizado no Irã por Maleki *et al*. (2010), utilizou células de leveduras metilotrófica (*Pichia pastoris)* com a finalidade de verificar a possibilidade de diminuir os custos da produção de rHuEPO com células de mamíferos, até então indispensáveis. Ao fim do estudo, constatou-se que a Levedura metilotrófica tem potencial para produzir rHuEPO de baixo-custo em grande escala.

4.3.1 *Business* – A rHuEPO no mercado

O laboratório AMGEN detinha a patente do EPOGEN® (Epoetina-α) até 2004. Porém antes de terminar a patente a AMGEM produziu a ARANESP® (Darbepoetina-α) (rHuEPO hiperglicosilada) para não perder espaço no mercado (MELLADO, 2005; АКАДЕМИК).

A EPO como agente terapêutico é classificada como um dos dez medicamentos (biofármacos) mais bem sucedidos da história, 30% das vendas de proteínas recombinantes é relativa à rHuEPO. Em 2004 o EPREX® / PROCRIT® (Epoetina- α)

produzidos pela Johnson & Johnson atingiram a marca de 3,6 bilhões de dólares vendidos no EUA, O EPOGEN® e o NeoRecormon® (Epoetina-β) produzido pela Roche proporcionaram 2,6 bilhões e 170 milhões de dólares em vendas, respectivamente. EM 2005 a arrecadação de EPOGEN® foi de 2,5 bilhões de dólares.

Em 2006 o ARANESP® atingiu a incrível marca de 4,1 bilhões de dólares vendidos, ultrapassando pela primeira vez os números de vendas da preparação anterior (EPOGEN®). Em 1999, em todo o mundo haviam 350.000 pacientes tratados com EPO recombinante, em comparativo, os números de vendas que já eram superiores triplicaram no período de 1999 e 2005 (АКАДЕМИК).

4.4 UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA

De acordo com a FIOCRUZ a rHuEPO é recomendada ao tratamento de anemias associadas à insuficiência renal crônica, pois a EPO substitui a necessidade de tratamento com transfusão sanguínea, mas não a transfusão de emergência em qualquer que seja o caso. Também se recomenda EPO a pacientes que utilizam Zidovudina, para o tratamento da AIDS, com a finalidade de aumentar ou manter o nível de hematócrito e de hemoglobina.

Failace (2009) relata que pacientes com anemia de insuficiência renal crônica respondem bem ao tratamento com rHuEPO, mas a indicação não deve basear-se apenas na dosagem de hemoglobina, mas na presença de queixas tais como: astenia física e mental (desânimo) fatigabilidade física e dores nos membros inferiores.

A rHuEPO tem grande valor no tratamento de anemia causada por nefropatia e de várias outras causas, a principal indicação é a nefropatia em estágio final (com ou sem diálise), outras indicações são para pré-transfusões de sangue autólogo, anemia de artrite reumatóide ou câncer, e alguns casos de mielodisplasia e mieloma (HOFFBRAND *et al*, 2008).

Nos últimos anos muitos estudos já foram feitos, e constataram que a rHuEPO tem muitas utilidades que vão além de apenas um estimulador eritropoiético. No trato genital feminino a EPO está envolvida na regulação fisiológica cíclica da angiogênese uterina, além de eventos de cicatrização de feridas através da promoção de angiogênese e formação de tecidos (BAHLMANN & FLISER, 2009).

No cérebro, a EPO parece estar relacionada a um sistema de proteção que desenvolve um papel importante na embriogênese e no desenvolvimento do cérebro desde o estado embrionário até o pós-natal. Em adultos esse sistema sofre retroalimentação negativa para um estado silencioso até que uma perturbação metabólica promova sua retroalimentação positiva. Pode ser considerado como um sistema endógeno que protege os neurônios de degeneração, portanto, a EPO age na neuroproteção além de como fator anti-apoptótico, antioxidativo, antinflamatório, inibidor do glutamato, neurotrófico e angiogênico (EHRENREICH *et al.*, 2004).

A rHuEPO é capaz de mimetizar pré-condicionamentos de isquemia, quando administrada de forma preventiva, e também proteção neuronal e cardíaca contra variados tipos de estresse. Após o estimulo de estresse, a rHuEPO também e capaz de proteger as células do desenvolvimento de consequências deletérias, isso demonstra que a rHuEPO não só pode ser utilizada na prevenção como também no tratamento de episódios isquêmicos (JOYEUXFAURE, 2007). Também está envolvida na prevenção da falência renal crônica além de exercer efeitos de proteção renal através da prevenção da progressão de doenças renais primária e secundária, assim como a nefropatia diabética (BAHLMANN & FLISER, 2009).

O tratamento com eritropoietina melhora a função e morfologia renal por reduzir a necrose tubular e a apoptose de podócitos e células endoteliais através da redução nos níveis de citocinas inflamatórias e do aumento na proliferação de células tubulares (BERNHARDT & ECKARDT, 2008).

Estudo realizado com ratos, induzidos a falência cardíaca, demonstrou que a EPO estimula a neovascularização por promover a proliferação e a sobrevivência de células endoteliais e por estimular a angiogênese. Mesmo não tendo havido diminuição da região infartada a função cardíaca, melhora considerável associada ao aumento da densidade capilar e da quantidade de capilares (WESTENBRINK *et al.*, 2007).

A rHuEPO está inserida nas diretrizes para o tratamento da anemia nos pacientes com Mieloma Crônico. Estas diretrizes foram propostas por um conjunto de instituições: *American Society of Hematology* e *American Society of Clinical* Oncology em 2002, no consenso proposto pela *European Organization for Research and Treatment of Cancer* em 2003, e nas recomendações propostas pelo *Internacional Myeloma Foundation* em 2003 e pelo *National Comprehensive Cancer Network* em 2006 (CANÇADO, 2007*).*

Pacientes com câncer e anêmicos tem qualidade de vida debilitada, porém há uma melhora significativa quando a anemia é tratada com EPO recombinante (epoetina-α) (LITTLEWOOD, 2005).

Em tratamento quimioterápico o uso de EPO é efetivo uma vez que a quimioterapia induz a apoptose das células tanto das células neoplásicas quanto dos precursores eritrocitários normais, a EPO age diminuindo ou bloqueando a apoptose desses últimos (CANÇADO, 2007).

4.5 RISCOS DA UTILIZAÇÃO INDISCRIMINADA DE rHuEPO

Como a eritropoetina é uma proteína produzida nos rins cujo principal efeito é o estímulo da eritropoiese (DIAMANTI-KANDARASKIS *et al*, 2005), uma cópia adicional do gene que a codifica resulta no aumento da produção de hemácias, portanto a capacidade de transporte de O_2 é aumentada (ARTIOLI, 2007). Estudos com ratos e macacos conseguiram com sucesso transferir uma cópia adicional do gene da eritropoetina (DIAMANTI-KANDARASKIS *et al*, 2005. ZHOU *et al*, 1998 e LASNE *et al.,* 2004), porém essa super-expressão causa efeitos prejudiciais importantes em pessoas saudáveis. Inicialmente, os efeitos adversos resultantes da administração de EPO exógena são brandos, sendo representados por exantema, cefaléia, artralgias, náuseas e vômitos (SILVA, 2008).

Questionando sua utilização terapêutica, foi relatada anemia grave em alguns animais por causa de uma resposta auto-imune à transferência do gene extra (CHENUAUD P, *et al,* 2004).

Também foi observada uma elevação muito acentuada no hematócrito de macacos (de 40% a aproximadamente 80%) (ZHOU S *et al*, 1998), representando um sério risco de comprometimento da função cardiovascular, incluindo dificuldade de manutenção do débito cardíaco e da perfusão tecidual, devido ao substancial aumento da viscosidade sanguínea (ARTIOLI, 2007).

Desde 1989 a rHuEPO está disponível para uso clínico em situações de anemia com baixa proliferação eritróide, como é o caso da anemia decorrente da insuficiência renal crônica (IRC) (ESCHBACH *et al.*, 1987 e 1989), anemia de pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) em regime terapêutico com zidovudina e tratamento de pacientes oncológicos em quimioterapia (FIOCRUZ). Entretanto, cerca de 30% dos pacientes portadores de IRC em tratamento com rHuEPO sofrem elevações de pressão arterial (RAINE; DPHIL; ROGER*,* 1991).

Os efeitos que essas substâncias provocam, em pacientes sob tratamento de anemia, exigem que o hematócrito e a pressão sanguínea sejam frequentemente controlados para o ajuste da dose e da frequência de uso, de modo a evitar o aparecimento de reações adversas (OGA, 2008).

Além da elevação da pressão arterial, tem sido demonstrado aumento da liberação de tromboxano A_2 (TXA_2) com o uso de rHuEPO (BODE-BOGER *et al*, 1992), que é um prostanóide que induz à agregação plaquetária, vasoconstrição e proliferação da musculatura lisa (ARDOIN; SUNDY, 2006).

Valles *et al*., em artigo publicado em 1991, já demonstram aumento da agregabilidade plaquetária e liberação de TXA_2 por plaquetas em ambientes compartilhados com hemácias e, ainda, sugerem que esses efeitos são abolidos quando as plaquetas são previamente tratadas com ácido acetilsalicílico (AAS).

Existem controvérsias em relação à influência da função renal neste para-efeito da rHuEPO, pois alguns autores alegam que um rim normal poderia compensar o aumento da resistência periférica produzido pelo hormônio (POUX, 1995) porém Bohlke prova indubitavelmente em seu estudo publicado em 2006 que o uso de rHuEPO na dose de 200 UI/Kg três vezes por semana é capaz de elevar a PA de ratos Wistar machos, sadios, com peso médio de 295g, de acordo com a intervenção terapêutica instituída.

Acerca dos potenciais efeitos colaterais e visando evitar o uso de rHuEPO com a finalidade aumentar o desempenho esportivo foram lançados programas educativos (BENTO; DAMASCENO; AQUINO NETO, 2003) evidenciando que as doses do medicamento utilizadas para tratamento aumentando o hematócrito de pacientes anêmicos, por exemplo, não pode ser extrapolada para pessoas sadias (CATLIN, 1991). Além do que, mesmo após a interrupção da administração, o efeito do hormônio sobre a medula óssea permanece por mais alguns dias, o que poderia levar o hematócrito a atingir níveis perigosos (ADAMSON, 1991).

Outro fato que se deve atenção é a desidratação frequente que ocorre durante e após esforço físico intenso, como o de uma competição esportiva, pois aliada a hemoconcentração artificial induzida pela droga aumentam os fatores de risco envolvidos no processo e fatalmente levariam ao aumento da viscosidade sanguínea e redução do débito cardíaco, gerando quadros de hipertensão e possíveis efeitos trombóticos (BENTO; DAMASCENO; AQUINO NETO, 2003).

Além dos riscos relacionados com aumento do hematócrito e viscosidade sanguínea, a utilização de rHuEPO pode trazer sérias complicações a alguns pacientes oncológicos (АКАДЕМИК).

Células tumorais diversas expressam receptores de EPO, o que ultimamente tem levado a vários experimentos com a administração de diversas formas de EPO no combate ao câncer (АКАДЕМИК). Inclusive ela já é indicada como tratamento coadjuvante à quimioterapia em malignidades de origem não-mielóide, cuja anemia se deva diretamente ao efeito concomitante da quimioterapia e com o objetivo de elevar o nível de hemoglobina e hematócrito (FIOCRUZ).

Mesmo sem comprovação científica, dois ensaios clínicos controlados nos quais os pacientes foram tratados com vários tipos de câncer, incluindo câncer de cabeça e pescoço e câncer de mama, com EPO recombinante mostrou um aumento inexplicado da mortalidade (PISTEL, 1999; ZALE, 1999).

Demonstrações por imunohistoquímica geraram evidências diretas de receptores de EPO em células ou tecidos tumorais. Contudo, a maioria dos estudos *in vitro* não apresentou crescimento do tumor, redução de apoptose e/ou resistência ao tratamento. Em contrapartida, algumas culturas de células tiveram aumento na proliferação de células tumorais, mas esses estudos são limitados devido à ausência de veículos de controle apropriados e devido ao uso de doses supra-farmacológicas que, *in vivo*, não são normalmente encontradas em tumores pouco perfundidos (FANDREY, 2008).

Segundo Fandrey (2008), em células tumorais, o efeito proliferativo da EPO é moderado, mas não se compara com a resposta de uma célula progenitora eritrocítica, onde doses farmacologicamente relevantes causam um aumento considerável na sua proliferação. Portanto, não existem razões para supor que os receptores de EPO desempenhem algum papel na proliferação tumoral.

4.6 rHuEPO NO ESPORTE

O termo *dopagem sanguínea* surgiu na década de 70, sendo utilizada para descrever o uso de transfusões de sangue com a finalidade de aumentar artificialmente a massa de células vermelhas, proporcionando maior disposição na entrega de oxigênio, principalmente em esportes de resistência em que prevalece o exercício muscular aeróbico como ciclismo, esqui de fundo (CAZZOLA, 2002), maratonas (GAREAU *et al*, 1995), triátlon, entre outros.

A manutenção de um exercício intenso por um longo período de tempo que utiliza oxigênio no processo de geração de energia dos músculos é denominado exercício aeróbico (BENTO; DAMASCENO; AQUINO NETO, 2003), e depende, dentre outros fatores, da capacidade do atleta de processar energia a partir do metabolismo aeróbio, um volume maior e uma intensidade proporcionalmente menor. A energia utilizada demanda da oxidação de substratos energéticos, aminoácidos, ácidos graxos ou carboidratos (CRUZ, 2006). E a capacidade de realizar um exercício aeróbico está intimamente relacionada à quantidade de oxigênio que pode ser transportada para os músculos (*Australian Sports Agency apud* AQUINO NETO, 2001). A tabela 2 e a figura 5 mostram a contribuição de energia aeróbia e anaeróbia em diferentes distâncias de maratonas, evidenciando a importância de energia aeróbia em distâncias mais longas.

Tabela 2: Contribuição das fontes de energia aeróbia e anaeróbia em diferentes provas do atletismo olímpico. Nota: Tempo do atleta goiano Osmiro de Souza Silva obtido em 1991 em Marrakesh.

Distância (m)	Olímpico (h:min, seg)	Brasileiro (h:min, seg)	% aeróbio	% anaeróbio
100	9,84	10	10	90
400	43,49	44,29	30	70
800	01:42,6	01:41,6	60	40
1.500	03:32,1	03:33,2	80	20
5.000	13:05,6	13:29,0	95	5
10.000	27:07,3	28:07,7	97	3
42.200	129:21,00	129:55,00	99	1

Fonte: MAUGHAN *et al*, 2000, p. 31.

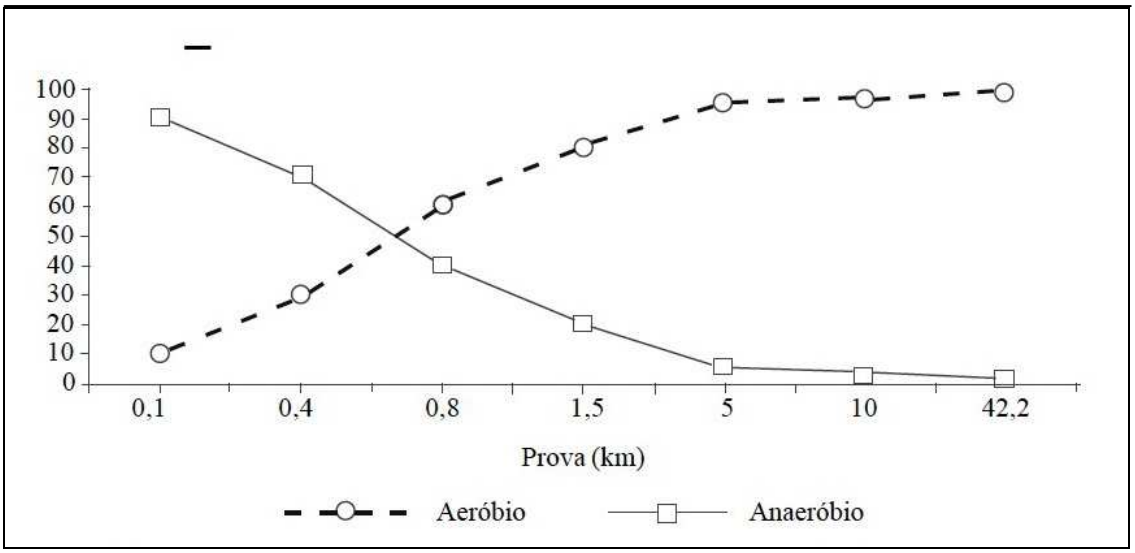

Figura 5. Variação dos Percentuais de Implicação das Fontes Energéticas Aeróbias e Anaeróbias em Provas de Atletismo.

Fonte: MAUGHAN *et al*, 2000, p. 31.

Após diversos ciclistas admitirem que se doparam com sangue nas olimpíadas de Los Angeles em 1984 a dopagem sanguínea foi formalmente adicionada à lista de métodos proibidos em 1985 (CATLIN, 1996). Testes regulares foram realizados em torneios de atletismo em 1993 e 1994, onde os maiores objetivos eram rastreamento de dopagem por transfusão, detecção de esteróides e de alguns hormônios peptídicos proibidos (BIRKELAND, 1997).

Gradualmente a transfusão sanguínea foi preterida devido à necessidade de profissionais da saúde para a retirada, preparação, estocagem e transfusão da mesma. Atualmente a dopagem sanguínea está mais associada a rHuEPO que pode ser obtida e administrada sem supervisão médica, o que aumenta o uso abusivo. (SCOTT, 1990).

Crê-se que houve ao menos dois casos de óbito de ciclistas no *Tour de France* causados por hiperviscosidade do sangue decorrente da poliglobulia complicada por desidratação. A vantagem flagrante da rHuEPO sobre as demais drogas estimulantes proibidas decorria da dificuldade de evidencia-la nos testes antidoping, já que é quase idêntica ao hormônio natural (FAILACE *et al.*, 2009).

4.7 rHuEPO NO BRASIL E NO MUNDO - CASOS

A rHuEPO atualmente ocupa uma posição de destaque no cenário mundial como produto biológico para melhoria ilegal do desempenho, onde vários atletas e ex-atletas de elite já confessaram seu uso em quase todos esportes de resistência (АКАДЕМИК).

Tal tipo de *doping* é ilustrado em diversos acontecimentos mundiais, como por exemplo o “caso Festina”, que abalou a volta a França de 1998, tornando-se um dos maiores escândalos da história do ciclismo mundial, onde a equipe francesa foi expulsa da competição após 40 frascos de rHuEPO terem sido encontrados em um

de seus carros de apoio (RECORD, 2000). Ou ainda quando em 2004 o médico italiano Michele Ferrari foi acusado de auxiliar vários atletas na prática de dopagem , dentre outros delitos, inclusive na equipe de Lance Armstrong, sete vezes campeão da Volta a França (DESPORTO, 2011).

Dentre os casos mais recentemente notificados encontra-se um caso de pós doping, onde as amostras foram coletadas durante os jogos olímpicos de Pequim em 2008 e somente em abril de 2009 foram diagnosticados seis novos casos de doping com agentes conhecidos de EPO sintética (АКАДЕМИК), destes, dois eram ciclistas, incluindo o campeão olímpico Rashid Ramzi e um levantador de peso. O Comitê Olímpico Nacional Italiano (CONI) confirmou que um dos ciclistas é o italiano Davide Rebellin e a Federação Alemã de Ciclismo anunciou que o segundo ciclista é o alemão Stefan Schumacher (АКАДЕМИК).

O ano em que o atleta brasileiro de alto rendimento mais se dopou, foi 2009, visto que foram 46 exames positivos para o uso de susbstâncias proibidas. O pior ano, até então, havia sido 2004 com 31 testes positivos onde o futebol encabeçava a lista dos esportes com mais casos envolvidos, 11 no total. Anabolizantes e anfetaminas eram as substâncias mais populares no meio esportivo. Já em 2009, o atletismo tomou a frente dessa lista com 17 casos deflagrados, deixando o futebol em segundo lugar com 10 casos. E dentre esses 17, a rHuEPO teve 12 aparições: 7 no atletismo e 5 no ciclismo (GAZETA DO POVO, 2009).

De acordo com Puga (2010) o recorde negativo do doping nacional, combinado ao fato de o Brasil tornar-se sede da Olimpíada de 2016 impulsionou a estruturação de uma política de combate à utilização de meios ilícitos para vencer. O Conselho Nacional do Esporte do Ministério do Esporte aprovou a reforma do Código Brasileiro de Justiça Desportiva (CBJD). Com essa revisão, o CBJD adota por completo o Código Mundial Antidoping, um avanço brasileiro em direção ao esporte “limpo”.

4.8 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE DOPING POR rHuEPO

4.8.1 Método Padrão

Desde o inicio da utilização de rHuEPO como *doping*, a *World Agency Antidoping* (WADA) e o Comitê Olímpico Internacional (COI) buscaram encontrar a melhor forma de detectar o doping em atletas. Devido à verossimilhança entre a forma endógena e exógena de EPO, e também a meia-vida curta, havia a possibilidade dos atletas saírem ilesos do exame. (SHARPE *et al.*, 2002). A EPO substituiu o "*doping* de sangue" convencional, como droga de escolha para melhorar o desempenho em competições que exigem o potencial aeróbio. As semelhanças na estrutura e no metabolismo de EPO permite, que aqueles que optam por abuso rHuEPO, evitar a detecção. Devido ao perigo de se abusar rHuEPO e seus análogos, diversos órgãos diretores do esporte internacional continuar a melhorar os métodos de ensaio para esta substância ilegal. (SCOTT & PHILLIPS, 2005)

Em 2000 Lasne e Ceaurriz propuseram um modelo de detecção de múltiplos estágios, na urina, esse método detecta baixas concentrações de EPO recombinante. A rHuEPO apresenta grau de acetilação e glicosilação diferentes da EPO endógena, que proporcionam diferentes pontos isoelétricos as formas de EPO. Estes diferentes pontos isoelelétricos foram explorados na análise para detecção de EPO.

O método proposto por Lasne e Ceaurriz em 2000 foi o primeiro controle *antidoping* oficial, este foi utilizado nas Olimpíadas de *Sydney* no mesmo ano, e está descrito da seguinte forma:

> Devido à micro heterogeneidade em suas estruturas, EPO natural e a recombinante que compreende várias isoformas, algumas das quais têm diferenças de carga, pôde ser separada por focalização isoelétrica (figura 6). Então se verificou que os padrões isoelétricos das duas formas

recombinantes de EPO a Alfa e a Beta são muito parecidos ambas tem ponto isoelétrico (pI) entre 4,42 e 5,11. Ambas as formas diferem da EPO endógena que possui mais bandas ácidas entre 3,92 e 4,42. Tais diferenças permitiram atribuir a EPO excretada uma origem natural ou recombinante. Para confirmar o resultado dos padrões de urina também desenvolvido um processo de *immunoblotting.* Este procedimento analítico foi aplicado as amostras de urina congeladas de ciclistas que participaram do *Tour de France* em 1998, que foi manchada por escândalos de doping por rHuEPO.

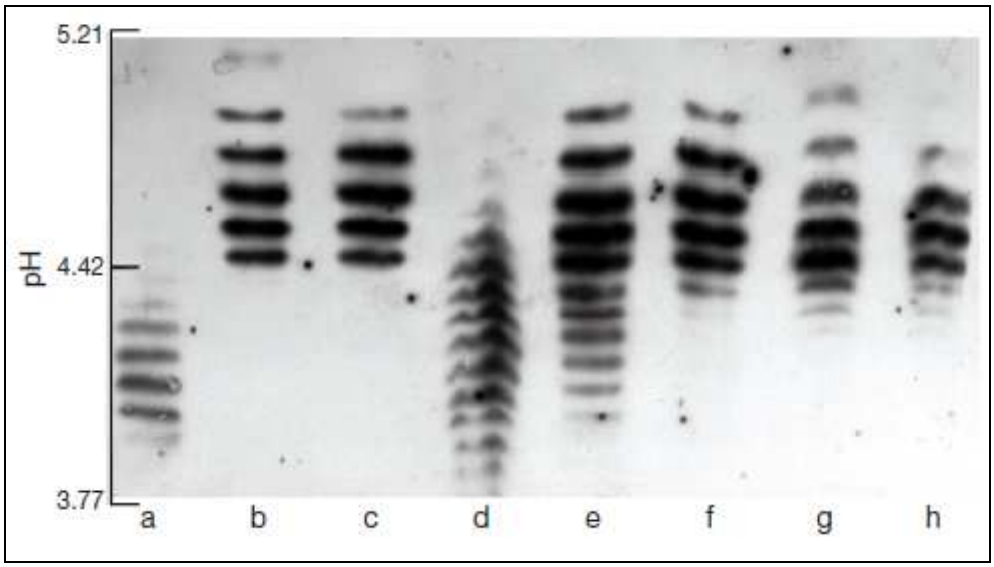

Figura 6. Autoradiografia de padrões isoelétricos de eritropoetina endogena e exogena. Images obtidas por imunodetecção quimioluminescente de EPO "bloqueada após focalização isoelétrica. A. Eritropoetina urinária humana purificada; B. EPO-β (NeoRecormon); C. EPO-α (Eprex); D. Urina de um controle; E,F. Urina de dois pacientes tratados com NeoRecormon devido a anemia pós-hemorrágica; G,H. Urina de dois ciclistas do *Tour de France 1998* (amostras concentradas por ultrafiltração). O cátodo está no topo.

Fonte:Lasne e Ceaurriz, 2000.

4.8.2 Métodos Complementares

Depois de Lasne e Ceaurriz criarem um padrão-ouro para métodos de detecção, outros estudiosos desenvolveram métodos de detecção utilizando análises de amostras sanguíneas, pois devido a rHuEPO ter uma meia-vida curta, alguns atletas conseguiam evadir ao exame *antidoping.*

Para confirmar esta problemática foi realizado um estudo com 8 universitários não atletas, em 2008, que avaliou a capacidade de detecção de dois laboratórios acreditados pela WADA. No estudo foi administrada rHuEPO nos universitários por um período de 4 semanas, sendo que ocorreu avaliação de amostras de urina por 7 semanas. Ao final do período de administração foi encontrado um aumento na massa total de hemoglobina, e percebido aumento no desempenho do exercício. Entretanto, o estudo demonstrou que há uma pobre concordância entre os resultados liberados pelos dois laboratórios acreditados (LUNDBY *et al*., 2008).

Na Austrália, Sharpe *et al.* (2002), produziram um estudo com a finalidade de identificar o *doping* por rHuEPO, através de parametros hematológicos. No modelo-ON as variáveis consideradas foram hematócrito, hematócrito reticulócito, eritropoetina sérica, porcentagens de macrócitos, e receptor de transferrina solúvel. No modelo-OFF utilizaram as três primeiras variáveis do modelo-ON. Este estudo foi realizado com 1152 atletas de diferentes esportes, etnias e países. Ao final deste estudo foi possível estabelecer valores-referência (tabela 3) para parâmetros hematológicos em atletas.

Tabela 3: Percentual de 1.152 atletas (739 homens, 413 fêmeas) de 12 países no estudo de perfis com parâmetros de sangue igual ou superior ao valor especificado.

	Females %	*Males* %
Hematocrit (%)		
44.0	15	73
47.0	1.2	32
50.0	0.0	5.4
53.0	0.0	0.3
Hemoglobin (g/L^{-1})		
155	5.1	48
165	0.7	16
175	0.0	2.9
185	0.0	0.4
Reticulocyte percentage (%)		
2.0	10	9.4
2.4	1.7	3.4
2.8	0.7	1.4

Fonte: SHARPE, 2002 p. 1255.

Gore *et al*., Parisotto *et al*. e Varlet-Marie *et al*. também fizeram estudos utilizando parâmetros hematológicos como referência para detectar a utilização de rHuEPO como agente dopante. Estes estudos confirmaram que a rHuEPO causa uma resposta hematológica previsível e reprodutível.

4.8.3 Parâmetros Hematológicos – Passaporte Sanguíneo

Cirillo *et al.* (apud SMITH, 2003), associaram uma significante relação entre hematócrito e a prevalência de hipertensão, enquanto outros estudos não tem demonstrado essa relação. Porém, hoje já se sabe que valores de hematócrito alterados podem comprovar a utilização de um fator estimulante eritropoiético exógeno.

Deve-se ressaltar que é comprovado que a associação entre exercícios de resistência e rHuEPO é prejudicial ao atleta. Segundo Oga (2008):

> Atletas de provas de resistência perdem fluidos corpóreos durante a competição, o que acarreta no aumento da viscosidade sanguínea e em um risco maior de trombose e ataque cardíaco. Nessas condições, o hematócrito pode aumentar 0,1% ou mais durante uma corrida de maratona. Após o uso da eritropoietina, a produção de hemácias continua por 5 a 10 dias, podendo atingir níveis perigosos.

Estudo realizado com dois atletas utilizando altas doses, e posteriormente baixas doses de rHuEPO, demonstrou um aumento significativo, cerca de 20%, na concentração de hemoglobina. Durante a fase de baixas doses observou-se que a porcentagem de reticulócitos aumentou de 0.8% para 1.2% e 0.4 para 1.1% nos atletas (ASHENDEN, 2006). Este estudo corrobora a tese de que embora os níveis de hormônio administrado diminuam bastante após uma semana, os efeitos biológicos persistem por muito tempo, pois os eritrócitos produzidos permanecem de 3 a 4 meses no sangue (OGA, 2008).

Com o desenvolvimento de valores para parâmetros hematimétricos, com a finalidade de identificar possível doping, foi proposto a criação de um PASSAPORTE SANGUÍNEO. Este passaporte consiste na análise sanguínea do atleta em períodos

fora de competição, criando um padrão para os atletas, e próximo ao período de competição é feito no exame e verifica-se se há aumento no valor padrão. Caso seja encontrados valores acima do padrão o atleta é impedido de competir, esse procedimento já é adotado nos competições de ciclismo (WADA).

4.9 DADOS ESTATÍSTICOS

A agência mundial *antidoping* (*World Anti-Doping Agency – WADA*), órgão responsável por credenciar e acreditar laboratórios para realização de exames capazes de detectar a utilização de eritropoetina sintética no esporte, e também por normatizar tal metodologia de detecção em atletas de diversas modalidades esportivas disponibiliza, anualmente, documentos que fornecem dados acerca da estatística referente ao uso desta substância.

Este trabalho, mostra dados retrospectivos da utilização de rHuEPO no período de 2003 a 2009 conforme relacionado abaixo. É pertinente uma análise da diminuição ou não do *doping* por rHuEPO já que estão sendo realizadas campanhas de conscientização em diversos órgãos internacionais (CAZZOLA, 2000).

- 2003: amostras de 151.210 atletas, dentre esportes olímpicos e não olímpicos, onde 2.716 continham alguma substância ilegal. Destas amostras, um total de 79 apresentou positividade para presença de hormônios peptídicos (grupo em que se encontra a rHuEPO – S5), o que corresponde a 2,9% do total de testes positivos realizados (Tabela 4). A representatividade de rHuEPO dentre o grupo dos hormônios peptídicos chega a 73,5%, ou seja, 58 casos (WADA) .

- 2004: amostras de 169.187 atletas, dentre esportes olímpicos e não olímpicos, onde 3.305 continham alguma substância ilegal. Destas amostras, um total de 78 apresentou positividade para presença de hormônios peptídicos, correspondendo a

2,4% do total de testes positivos realizados (Tabela 5). Dentre as amostras do grupo S5 a eritropoetina contribuiu com 38 amostras, ou seja, 48.7% (WADA).

• 2005: amostras de 183.337 atletas, dentre modalidades olímpicas e não olímpicas, onde 4.298 continham alguma substância ilegal. Destas, 162 apresentaram positividade para hormônios peptídicos, correspondendo a 3,8% do total de testes positivos realizados (Tabela 6). No grupo S2 (nova classificação) 16 amostras foram deflagradas com rHuEPO indicando representatividade de 9,9%. O alto índice de utilização de hormônios nesse ano deve-se a utilização de hCG, 143 dos 162 casos (WADA).

• 2006: amostra de 198.143 atletas, de diversas modalidades esportivas, dentre modalidades olímpicas e não olímpicas, onde 4.332 continham alguma substância ilegal. Destas amostras, 1.0% (42 amostras) foram relacionadas ao grupo S2 (Tabela 7). A rHuEPO, com 18 amostras, representa 42.9% deste grupo (WADA).

• 2007: amostras de 223.898 atletas de modalidades olímpicas e não olímpicas foram testadas em relação à presença de substâncias ilícitas com resultados positivos em 4.850. Entre estas, 41 (0.8%) pertenciam ao grupo S2 (Tabela 8), onde a rHuEPO obteve representatividade de 58.6%, com 24 amostras positivadas (WADA).

• 2008: amostras de 274.615 atletas dentre esportes olímpicos e não olímpicos, onde 5.523 continham alguma substância ilegal. Destas amostras, 106 (1.9%) pertenciam ao grupo S2 (Tabela 9). A rHuEPO, com 53 amostras obteve representatividade de 50% (WADA).

• 2009: amostras 277.928 atletas dentre esportes olímpicos e não olímpicos, onde 5.084 continham alguma substância ilegal. Destas amostras, um total de 100 (aproximadamente 2%) estava relacionado ao grupo S2 (Tabela 10), sendo a rHuEPO responsável por 60% desse contingente com 60 amostras (WADA).

Tabela 4: Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2003.

Laboratory	S1. Stimulants	S2. Narcotics	S3. Cannabinoids	S4. Anabolic Agents	S5. Peptide Hormones	S6. beta-2-Agonists	S7. Agents with Anti-oestrogenic activity	S8. Masking Agents	S9. Glucocortico-steroids	P2. Beta-Blockers	Others	Total per Lab	% of total adverse analytical findings
Sydney, Australia	18	-	5	24	1	2	-	7	-	-	3	60	2.2%
Seibersdorf, Austria	3	-	8	13	2	-	-	-	-	2	-	28	1.0%
Ghent, Belgium	52	5	62	80	4	5	-	14	43	6	-	271	10.0%
Rio de Janeiro, Brazil	6	1	1	12	-	1	-	4	-	-	-	25	0.9%
Montreal, Canada	23	1	5	80	2	32	2	10	-	-	3	158	5.8%
Beijing, China	4	-	-	12	2	1	-	5	-	-	-	24	0.9%
Bogota, Colombia	3	-	3	18	-	4	-	5	-	-	-	33	1.2%
Havana, Cuba	1	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	5	0.2%
Prague, Czech Republic	5	-	2	29	1	4	-	4	-	3	-	48	1.8%
Helsinki, Finland	-	-	4	6	-	26	-	2	-	2	-	40	1.5%
Paris, France	51	11	92	38	12	101	-	23	238	8	10	584	21.5%
Cologne, Germany	25	2	22	79	3	4	1	14	-	2	2	154	5.7%
Kreischa, Germany	5	1	19	15	-	1	1	1	-	-	1	44	1.6%
London, UK	32	-	6	27	-	3	-	5	-	-	1	74	2.7%
Athens, Greece	7	-	17	13	-	1	-	1	-	-	-	39	1.4%
Rome, Italy	28	2	16	20	-	4	-	7	-	2	36	115	4.2%
Tokyo, Japan	3	-	2	5	-	-	-	1	-	-	-	11	0.4%
Seoul, Korea	8	-	-	13	-	2	-	4	-	-	-	27	1.0%
Penang, Malaysia	3	-	1	32	-	10	-	1	-	-	-	47	1.7%
Oslo, Norway	8	-	1	40	1	3	-	5	-	-	-	58	2.1%
Lisbon, Portugal	4	-	13	9	-	4	1	5	-	3	5	44	1.6%
Bloemfontein, S Africa	4	-	6	14	-	1	-	4	-	-	-	29	1.1%
Moscow, Russia	5	1	6	19	-	1	-	1	-	-	-	33	1.2%
Barcelona, Spain	7	-	14	16	1	13	-	1	-	1	3	56	2.1%
Madrid, Spain	18	-	18	38	4	63	-	4	4	-	11	160	5.9%
Stockholm, Sweden	5	-	-	35	-	2	-	-	-	-	-	42	1.5%
Lausanne, Switzerland	14	-	14	53	45	-	1	2	1	-	4	134	4.9%
Bangkok, Thailand	4	-	-	15	-	1	-	2	-	-	-	22	0.8%
Tunis, Tunisia	4	-	9	14	-	2	-	2	-	-	5	36	1.3%
Ankara, Turkey	5	-	3	2	-	-	-	-	-	-	-	10	0.4%
Los Angeles, USA	161	1	28	99	1	6	-	8	-	1	-	305	11.2%
TOTAL PER DRUG CLASS	516	26	378	872	79	297	6	142	286	30	84	**2,716**	
% of Drug Class	19.0%	1.0%	13.9%	32.1%	2.9%	10.9%	0.2%	5.2%	10.5%	1.1%	3.1%		

* Some adverse analytical findings may correspond to multiple findings from the same athlete, including cases of longitudinal studies on testosterone.

Fonte: WADA. <http://www.wada-ama.org/en/>

Tabela 5: Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2004.

Laboratory	S1. Stimulants	S2. Narcotics	S3. Cannabinoids	S4. Anabolic Agents	S5. Peptide Hormones	S6. beta-2-Agonists	S7. Agents with Anti-oestrogenic activity	S8. Masking Agents	S9. Glucocortico-steroids	P2. Beta-Blockers	Others	Total per Lab	% of total adverse analytical findings
Sydney, Australia	16	-	11	36	1	2	-	8	3	2	-	79	2.4%
Seibersdorf, Austria	2	-	7	18	2	10	-	3	2	-	-	44	1.3%
Ghent, Belgium	43	2	95	77	10	5	-	8	42	3	-	285	8.6%
Rio de Janeiro, Brazil	8	-	5	9	-	-	-	2	-	-	-	24	0.7%
Montreal, Canada	20	1	32	78	12	33	-	10	16	-	-	202	6.1%
Beijing, China	6	-	-	13	1	5	2	2	-	-	-	29	0.9%
Bogota, Colombia	3	2	3	24	-	-	-	4	1	-	-	37	1.1%
Havana, Cuba	-	-	-	14	-	3	-	2	-	-	-	19	0.6%
Prague, Czech Republic	7	-	9	21	-	5	2	2	-	-	-	46	1.4%
Helsinki, Finland	2	-	1	9	1	12	-	2	-	-	-	27	0.8%
Paris, France	30	4	112	80	4	97	-	13	178	5	-	523	15.8%
Cologne, Germany	22	1	22	105	3	10	2	20	44	5	-	234	7.1%
Kreischa, Germany	6	2	4	32	-	13	-	3	7	1	-	68	2.1%
Cambridge, UK	4	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	7	0.2%
London, UK	22	-	13	19	1	3	-	6	-	-	-	64	1.9%
Athens, Greece	7	-	12	39	1	5	-	5	6	-	-	75	2.3%
Rome, Italy	17	2	23	24	-	7	-	9	17	1	-	100	3.0%
Tokyo, Japan	3	-	-	3	3	1	-	-	-	-	-	10	0.3%
Seoul, Korea	1	-	-	4	-	2	1	2	-	-	-	10	0.3%
Penang, Malaysia	-	-	-	26	-	4	-	4	-	2	-	36	1.1%
Oslo, Norway	5	-	7	43	-	2	-	5	9	1	-	72	2.2%
Lisbon, Portugal	10	-	22	17	-	12	-	5	69	2	-	137	4.1%
Bloemfontein, S Africa	6	-	11	26	1	5	-	4	-	-	-	53	1.6%
Moscow, Russia	5	1	1	20	-	1	-	1	-	1	-	30	0.9%
Barcelona, Spain	2	-	17	36	-	16	-	7	1	-	-	79	2.4%
Madrid, Spain	7	-	26	48	9	75	1	4	140	-	-	310	9.4%
Stockholm, Sweden	6	-	1	79	-	16	-	2	-	-	-	104	3.1%
Lausanne, Switzerland	5	-	13	27	3	15	-	1	3	-	2	69	2.1%
Bangkok, Thailand	-	-	5	18	15	4	-	4	10	2	-	58	1.8%
Tunis, Tunisia	-	-	3	33	2	1	-	1	-	-	-	40	1.2%
Ankara, Turkey	8	-	4	22	1	7	-	5	-	-	-	47	1.4%
Los Angeles, USA	109	-	59	188	8	10	-	13	-	-	-	387	11.7%
TOTAL PER DRUG CLASS	382	15	518	1,191	78	381	8	157	548	25	2	3,305	
% of Drug Class	11.6%	0.5%	15.7%	36.0%	2.4%	11.5%	0.2%	4.8%	16.6%	0.8%	0.1%		

* Some adverse analytical findings may correspond to multiple findings from the same athlete, including cases of longitudinal studies on testosterone.

Fonte: WADA. <http://www.wada-ama.org/en/>

Tabela 6: Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2005.

Laboratory	S1. Anabolic Agents	S2. Hormones and related substances	S3. Beta-2 Agonists	S4. Agents with Anti-estrogenic activity	S5. Diuretics and other masking agents	S6. Stimulants	S7. Narcotics	S8. Cannabinoids	S9. Glucocortico-steroids	P2. Beta-Blockers	Total per Lab	% of total adverse analytical findings
Sydney, Australia	86	10	8	0	5	51	0	27	0	0	187	4.4%
Seibersdorf, Austria	53	0	14	1	17	2	0	10	4	0	101	2.3%
Ghent, Belgium	72	10	22	0	4	37	7	51	47	3	253	5.9%
Rio de Janeiro, Brazil	2	0	1	0	8	6	0	1	0	0	18	0.4%
Montreal, Canada	28	13	56	1	11	10	0	17	15	0	151	3.5%
Beijing, China	16	12	0	0	4	3	1	1	0	0	37	0.9%
Bogota, Colombia	28	3	4	0	5	3	0	0	1	0	44	1.0%
Havana, Cuba	20	0	2	0	5	3	0	0	1	0	31	0.7%
Prague, Czech Republic	47	3	11	0	6	8	0	7	0	0	82	1.9%
Helsinki, Finland	7	5	11	1	1	1	0	3	0	0	29	0.7%
Paris, France	169	12	100	0	24	37	0	117	58	8	525	12.2%
Cologne, Germany	118	7	37	2	25	30	0	26	46	7	298	6.9%
Kreischa, Germany	78	3	64	2	11	4	1	2	16	4	185	4.3%
Cambridge, UK	12	1	4	0	1	6	0	2	0	0	26	0.6%
London, UK	22	7	0	0	4	14	2	16	0	1	66	1.5%
Athens, Greece	38	3	16	1	6	11	0	17	5	0	97	2.3%
Rome, Italy	207	6	34	0	18	12	2	29	15	3	326	7.6%
Tokyo, Japan	2	3	2	0	1	1	1	1	0	0	11	0.3%
Seoul, Korea	36	0	10	5	7	4	0	0	1	1	64	1.5%
Penang, Malaysia	16	0	6	0	2	7	0	3	5	0	39	0.9%
Oslo, Norway	31	5	44	3	12	5	0	4	22	0	126	2.9%
Warsaw, Poland	86	3	1	0	2	9	1	13	5	1	121	2.8%
Lisbon, Portugal	97	5	8	1	11	7	0	15	15	6	165	3.8%
Bloemfontein, S Africa	23	0	3	0	5	7	0	5	3	0	46	1.1%
Moscow, Russia	34	4	2	0	5	7	0	5	0	2	59	1.4%
Barcelona, Spain	29	19	14	4	2	0	0	3	2	0	73	1.7%
Madrid, Spain	37	14	52	0	10	13	0	28	10	3	167	3.9%
Stockholm, Sweden	101	8	51	0	0	3	0	2	38	0	203	4.7%
Lausanne, Switzerland	60	2	26	0	0	2	0	10	7	1	108	2.5%
Bangkok, Thailand	10	1	1	0	5	2	0	2	7	1	29	0.7%
Tunis, Tunisia	12	1	2	0	3	1	0	9	0	0	28	0.7%
Ankara, Turkey	44	0	1	0	18	4	0	5	0	0	72	1.7%
Los Angeles, USA	243	2	2	0	8	199	2	72	2	1	531	12.4%
TOTAL PER DRUG CLASS	1,864	162	609	21	246	509	17	503	325	42	**4,298**	
% of Drug Class	43.4%	3.8%	14.2%	0.5%	5.7%	11.8%	0.4%	11.7%	7.6%	1.0%		

* Some adverse analytical findings may correspond to multiple findings from the same athlete, including cases of longitudinal studies on testosterone.

Fonte: WADA. <http://www.wada-ama.org/en/>

Tabela 7: Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2006.

Laboratory	S1. Anabolic Agents	S2. Hormones and Related Substances	S3. Beta-2 Agonists	S4. Agents with Anti-Estrogenic Activity	S5. Diuretics and Other Masking Agents	S6. Stimulants	S7. Narcotics	S8. Cannabinoids	S9. Glucocortico-steroids	P2. Beta-Blockers	Other	Total per Lab	% of total adverse analytical findings
Sydney, Australia	101	-	2	-	2	8	-	20	-	-	-	133	3.1%
Seibersdorf, Austria	78	1	19	-	8	5	-	17	3	-	-	131	3.0%
Ghent, Belgium	159	7	33	2	16	39	6	58	13	-	-	333	7.7%
Rio de Janeiro, Brazil	6	-	2	-	5	8	-	3	-	-	-	24	0.6%
Montreal, Canada	45	1	36	2	21	104	1	88	10	-	-	308	7.1%
Beijing, China	40	-	4	-	16	8	1	-	-	1	-	70	1.6%
Bogota, Colombia	38	-	5	-	10	4	-	2	1	-	-	60	1.4%
Havana, Cuba	22	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	24	0.6%
Prague, Czech Republic	142	1	12	4	3	6	-	7	-	1	-	176	4.1%
Helsinki, Finland	32	-	19	-	3	1	-	1	3	-	-	59	1.4%
Paris, France	200	3	84	1	27	23	-	94	86	1	-	519	12.0%
Cologne, Germany	169	1	59	2	29	23	1	16	13	1	4	318	7.3%
Kreischa, Germany	76	2	69	-	5	2	2	3	21	1	-	181	4.2%
Cambridge, UK	4	1	5	-	2	1	-	2	-	-	-	15	0.3%
London, UK	53	2	5	-	2	22	-	16	-	-	-	100	2.3%
Athens, Greece	27	-	7	-	4	5	-	11	17	1	-	72	1.7%
Rome, Italy	87	4	60	1	23	21	-	20	31	3	-	250	5.8%
Tokyo, Japan	9	-	6	-	3	4	-	-	1	-	-	23	0.5%
Seoul, Korea	17	-	3	5	2	4	-	-	-	-	-	31	0.7%
Penang, Malaysia	39	-	2	-	1	-	-	3	1	3	-	49	1.1%
Oslo, Norway	43	-	35	-	4	3	-	4	14	-	-	103	2.4%
Warsaw, Poland	67	-	-	2	3	6	-	2	-	-	-	80	1.8%
Lisbon, Portugal	50	4	9	-	19	11	-	17	8	9	-	127	2.9%
Bloemfontein, S Africa	25	2	3	1	4	2	-	15	2	-	-	54	1.2%
Moscow, Russia	39	-	3	-	9	4	2	2	1	2	-	62	1.4%
Barcelona, Spain	61	6	14	4	10	2	-	11	2	1	-	111	2.6%
Madrid, Spain	3	4	64	-	11	7	1	20	12	2	-	124	2.9%
Stockholm, Sweden	77	-	46	1	5	5	-	1	25	-	-	160	3.7%
Lausanne, Switzerland	68	1	20	3	7	3	1	8	8	2	-	121	2.8%
Bangkok, Thailand	13	-	-	-	4	5	-	-	3	-	-	25	0.6%
Tunis, Tunisia	15	-	3	-	6	1	-	12	1	-	-	38	0.9%
Ankara, Turkey	13	-	-	-	7	5	-	4	-	-	-	29	0.7%
Los Angeles, USA	148	2	2	2	13	134	1	96	5	-	-	403	9.3%
Salt Lake City, USA	-	-	-	-	5	14	-	-	-	-	-	19	0.4%
TOTAL PER DRUG CLASS	1,966	42	631	30	290	490	16	553	282	28	4	4,332	
% of Drug Class	45.4%	1.0%	14.6%	0.7%	6.7%	11.3%	0.4%	12.8%	6.5%	0.6%	0.1%		

*** The Adverse Analytical Findings (AAF) in this report are not to be confused with adjudicated or sanctioned Anti-Doping Rule Violations ADRV)**, as the figures given in this report may contain findings that underwent the Therapeutic Use Exemption (TUE) approval process. In addition, some adverse analytical findings correspond to multiple measurements performed on the same athlete, such as in the case of longitudinal studies on testosterone.

Fonte: WADA. <http://www.wada-ama.org/en/>

Tabela 8: Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2007.

Laboratory	S1. Anabolic Agents	S2. Hormones and Related Substances	S3. Beta-2 Agonists	S4. Agents with Anti-Estrogenic Activity	S5. Diuretics and Other Masking Agents	S6. Stimulants	S7. Narcotics	S8. Cannabinoids	S9. Glucocortico-steroids	P2. Beta-Blockers	M1. Enhancement of Oxygen Transfer	M2. Chemical and Physical Manipulation	Total per Lab	% of total *Adverse Analytical Findings*
Sydney, Australia	92	-	1	-	18	6	2	19	4	-	-	-	142	2.9%
Seibersdorf, Austria	78	-	6	-	4	4	-	7	1	-	-	-	100	2.1%
Ghent, Belgium	108	5	102	1	26	37	6	53	15	-	-	-	353	7.3%
Rio de Janeiro, Brazil	21	1	3	1	8	25	-	2	-	-	-	-	61	1.3%
Montreal, Canada	140	1	18	6	42	218	-	71	14	-	-	2	512	10.6%
Beijing, China	44	-	1	-	5	5	-	2	-	-	-	-	57	1.2%
Bogota, Colombia	61	2	10	-	8	3	1	5	3	-	-	-	93	1.9%
Havana, Cuba	65	-	-	-	5	1	-	-	-	-	-	-	71	1.5%
Prague, Czech Republic	84	1	-	-	8	3	-	10	2	-	-	-	108	2.2%
Helsinki, Finland	44	-	9	-	1	1	-	2	4	1	-	-	62	1.3%
Paris, France	229	5	30	-	38	25	-	106	67	4	2	-	506	10.4%
Cologne, Germany	170	-	26	-	21	25	1	12	15	3	-	1	274	5.6%
Kreischa, Germany	84	2	9	-	7	9	1	2	14	2	-	-	130	2.7%
London, UK	29	1	14	1	1	19	2	13	1	-	-	-	81	1.7%
Athens, Greece	56	-	2	1	5	5	-	6	19	-	-	-	94	1.9%
Rome, Italy	118	8	48	-	16	25	-	42	26	2	-	-	285	5.9%
Tokyo, Japan	3	1	1	-	6	2	-	2	-	-	-	-	15	0.3%
Seoul, Korea	31	-	2	-	2	4	-	-	2	-	-	-	41	0.8%
Penang, Malaysia	52	-	3	-	-	3	-	3	1	6	-	-	68	1.4%
Oslo, Norway	43	-	16	-	4	6	1	8	16	1	-	-	95	2.0%
Warsaw, Poland	92	-	1	1	4	7	2	9	-	-	-	-	116	2.4%
Lisbon, Portugal	45	-	9	-	10	8	-	19	4	2	-	-	97	2.0%
Bloemfontein, S Africa	14	-	1	1	7	6	-	10	4	3	-	-	46	0.9%
Moscow, Russia	85	-	-	-	27	7	1	6	-	-	-	-	126	2.6%
Barcelona, Spain	46	3	12	-	10	10	-	8	6	-	-	-	95	2.0%
Madrid, Spain	124	3	36	-	17	11	3	28	7	-	-	-	229	4.7%
Stockholm, Sweden	80	-	25	1	9	4	-	7	28	-	-	-	154	3.2%
Lausanne, Switzerland	126	3	10	2	10	5	-	11	28	2	1	-	198	4.1%
Bangkok, Thailand	11	-	-	-	10	11	-	3	2	-	-	-	37	0.8%
Tunis, Tunisia	44	-	-	-	6	9	-	3	2	-	-	-	64	1.3%
Ankara, Turkey	6	-	-	-	1	5	-	1	-	-	-	-	13	0.3%
Los Angeles, USA	96	3	2	3	10	229	1	98	3	-	-	-	445	9.2%
Salt Lake City, USA	1	2	2	-	13	55	-	8	-	1	-	-	82	1.7%
TOTAL PER DRUG CLASS	2,322	41	399	18	359	793	21	576	288	27	3	3	**4,850**	
% of Drug Class	47.9%	0.8%	8.2%	0.4%	7.4%	16.4%	0.4%	11.9%	5.9%	0.6%	0.1%	0.1%		

* **The *Adverse Analytical Findings* (AAF) in this report are not to be confused with adjudicated or sanctioned Anti-Doping Rule Violations (ADRV)**, as the figures given in this report may contain findings that underwent the Therapeutic Use Exemption (TUE) approval process. In addition, some *Adverse Analytical Findings* correspond to multiple measurements performed on the same *Athlete*, such as in the case of longitudinal studies on testosterone.

Page 13 of 13

Fonte: WADA. <http://www.wada-ama.org/en/>

Tabela 9: Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2008.

Laboratory	S1. Anabolic Agents	S2. Hormones and Related Substances	S3. Beta-2 Agonists	S4. Hormone Antagonists and Modulators	S5. Diuretics and Other Masking Agents	S6. Stimulants	S7. Narcotics	S8. Cannabinoids	S9. Glucocortico-steroids	P2. Beta-Blockers	Total Findings per Lab	% of total Findings
Sydney, Australia	105	1	6	-	8	2	1	11	3	-	137	2.5%
Seibersdorf, Austria	95	7	9	-	6	6	-	11	4	1	139	2.5%
Ghent, Belgium	146	-	51	3	21	48	5	39	14	1	328	5.9%
Rio de Janeiro, Brazil	31	4	6	-	-	7	-	3	6	-	57	1.0%
Montreal, Canada	91	2	17	5	35	83	-	95	14	-	342	6.2%
Beijing, China	76	2	18	1	11	4	2	-	1	3	118	2.1%
Bogota, Colombia	87	-	-	-	11	4	-	5	10	-	117	2.1%
Havana, Cuba	86	-	-	-	3	3	-	2	-	-	94	1.7%
Prague, Czech Republic	112	4	-	1	14	5	-	12	2	-	150	2.7%
Helsinki, Finland	58	-	8	-	1	-	-	5	4	-	76	1.4%
Paris, France	228	21	24	-	28	18	-	110	118	4	551	10.0%
Cologne, Germany	347	4	7	-	19	25	3	13	2	1	421	7.6%
Kreischa, Germany	107	-	8	-	6	7	1	3	14	1	147	2.7%
London, UK	96	-	7	-	3	27	-	7	-	-	140	2.5%
Athens, Greece	67	1	1	-	5	6	1	8	6	1	96	1.7%
Rome, Italy	116	19	25	-	9	27	3	24	12	-	235	4.3%
Tokyo, Japan	18	-	2	1	6	5	-	2	1	-	35	0.6%
Seoul, Korea	32	-	-	-	6	2	-	-	-	-	40	0.7%
Penang, Malaysia	58	-	1	-	4	1	2	1	2	-	69	1.2%
Oslo, Norway	67	1	1	-	5	9	1	5	-	1	90	1.6%
Warsaw, Poland	119	-	2	1	11	6	-	8	1	1	149	2.7%
Lisbon, Portugal	45	-	1	-	5	7	-	7	3	10	78	1.4%
Bloemfontein, S Africa	27	-	3	1	6	11	-	8	3	-	59	1.1%
Moscow, Russia	180	1	-	2	37	20	-	27	1	3	271	4.9%
Barcelona, Spain	78	3	20	2	13	3	1	6	7	1	134	2.4%
Madrid, Spain	253	5	66	-	7	13	7	27	16	1	395	7.2%
Stockholm, Sweden	75	-	23	-	3	5	-	5	31	-	142	2.6%
Lausanne, Switzerland	88	14	13	1	8	10	1	11	9	-	155	2.8%
Bangkok, Thailand	16	-	-	4	5	-	-	1	-	-	26	0.5%
Tunis, Tunisia	34	-	-	-	1	1	-	5	1	-	42	0.8%
Ankara, Turkey	28	-	-	-	3	1	-	3	1	-	36	0.7%
Los Angeles, USA	274	10	29	5	86	72	-	32	30	2	540	9.8%
Salt Lake City, USA	8	7	2	2	48	30	-	-	-	-	97	1.8%
New Delhi, India	11	-	-	-	2	4	-	-	-	-	17	0.3%
TOTAL PER DRUG CLASS	3,259	106	350	29	436	472	28	496	316	31	5,523	
% of Drug Class	59.0%	1.9%	6.3%	0.5%	7.9%	8.5%	0.5%	9.0%	5.7%	0.6%		

*** The *Adverse Analytical Findings* (AAF) and *Atypical Findings* (ATF) in this report are not to be confused with adjudicated or sanctioned Anti-Doping Rule Violations (ADRV)**, as the figures given in this report may contain findings that underwent the Therapeutic Use Exemption (TUE) approval process or multiple findings on the same *Athlete*. In addition, *Atypical Findings* may correspond to multiple measurements performed on the same *Athlete*, such as in the case of longitudinal studies on testosterone.

Fonte: WADA. <http://www.wada-ama.org/en/>

Tabela 10: Dados fornecidos pela WADA referentes aos resultados de testes *antidoping* realizados no ano de 2009.

Laboratory	S1. Anabolic Agents	S2. Hormones and Related Substances	S3. Beta-2 Agonists	S4. Hormone Antagonists and Modulators	S5. Diuretics and Other Masking Agents	S6. Stimulants	S7. Narcotics	S8. Canna-binoids	S9. Glucocortico-steroids	P1. Alcohol	P2. Beta-Blockers	M2. Chemical and Physical Manipulation	Total Findings per Lab	% of total Findings
Sydney, Australia	138	1	8	2	5	6	-	12	1	-	-	-	173	3.4%
Seibersdorf, Austria	90	4	7	2	14	5	-	8	-	-	4	1	135	2.7%
Ghent, Belgium	183	2	51	3	25	35	1	44	8	-	2	-	354	7.0%
Rio de Janeiro, Brazil	29	0	-	1	5	15	-	5	4	-	1	-	60	1.2%
Montreal, Canada	92	7	6	12	14	15	-	26	27	-	3	-	202	4.0%
Beijing, China	41	6	5	-	3	1	-	-	2	-	1	-	59	1.2%
Bogota, Colombia	101	2	1	2	9	4	-	8	9	-	-	-	136	2.7%
Havana, Cuba	47	-	-	-	2	2	-	2	3	-	-	-	56	1.1%
Prague, Czech Republic	93	0	-	1	8	3	-	4	1	-	-	-	110	2.2%
Helsinki, Finland	48	-	1	2	3	1	-	3	-	-	-	-	58	1.1%
Paris, France	206	27	56	3	24	22	-	94	86	-	5	-	523	10.3%
Cologne, Germany	314	2	9	2	14	11	2	20	5	-	5	4	388	7.6%
Dresden, Germany	164	3	4	1	5	2	-	5	1	-	-	-	185	3.6%
London, UK	40	1	4	-	1	18	-	8	3	-	-	-	75	1.5%
Athens, Greece	53	-	-	-	2	17	-	7	1	-	1	-	81	1.6%
Rome, Italy	234	13	61	2	11	29	5	24	26	-	2	-	407	8.0%
Tokyo, Japan	10	1	2	2	4	1	-	2	1	-	1	-	24	0.5%
Seoul, Korea	21	2	-	-	8	2	-	1	2	-	-	-	36	0.7%
Penang, Malaysia	44	-	1	-	1	4	4	2	1	-	-	-	57	1.1%
Oslo, Norway	65	4	2	2	5	8	-	7	2	5	-	-	100	2.0%
Warsaw, Poland	104	-	2	4	4	5	-	15	2	-	-	-	136	2.7%
Lisbon, Portugal	79	2	4	-	12	11	3	25	10	-	5	-	151	3.0%
Bloemfontein, S Africa	37	1	-	-	3	6	-	5	1	-	-	-	53	1.0%
Moscow, Russia	348	10	-	-	34	16	1	7	3	-	2	-	421	8.3%
Barcelona, Spain	23	1	11	1	7	5	1	8	6	-	1	-	64	1.3%
Madrid, Spain	207	3	18	-	3	26	-	21	8	-	-	-	286	5.6%
Stockholm, Sweden	98	-	39	1	2	6	1	2	32	-	-	-	181	3.6%
Lausanne, Switzerland	52	4	-	-	1	9	3	10	3	-	2	-	84	1.7%
Bangkok, Thailand	31	-	-	-	5	13	1	2	4	-	3	-	59	1.2%
Tunis, Tunisia	110	-	-	-	3	5	-	6	2	-	-	-	126	2.5%
Ankara, Turkey	8	-	-	-	3	1	-	3	1	-	-	-	16	0.3%
Los Angeles, USA	67	4	11	5	6	10	2	4	6	-	-	-	115	2.3%
Salt Lake City, USA	19	0	-	1	2	1	-	5	3	-	-	-	31	0.6%
New Delhi, India	77	-	-	1	23	9	-	-	-	-	-	-	110	2.2%
Bucharest, Romania	24	-	-	-	2	1	-	4	1	-	-	-	32	0.6%
TOTAL PER DRUG CLASS	3,297	100	303	50	273	325	24	399	265	5	38	5	5,084	
% of Drug Class	64.9%	2.0%	6.0%	1.0%	5.4%	6.4%	0.5%	7.8%	5.2%	0.1%	0.7%	0.1%		

* **The *Adverse Analytical Findings* (AAF) and *Atypical Findings* (ATF) in this report are not to be confused with adjudicated or sanctioned Anti-Doping Rule Violations (ADRV)**, as the figures given in this report may contain findings that underwent the Therapeutic Use Exemption (TUE) approval process or multiple findings on the same *Athlete*. In addition, *Atypical Findings* may correspond to multiple measurements performed on the same *Athlete*, such as in the case of longitudinal studies on testosterone.

Fonte: WADA. <http://www.wada-ama.org/en/>

5 CONCLUSÃO

O desenvolvimento da rHuEPO foi muito importante para medicina, já que foi possível tratar pacientes com insuficiência renal sem a necessidade de transfusão sanguínea. Hoje, sabe-se que a rHuEPO possui outras recomendações terapêuticas, mas a sua utilização sem prescrição está muita elevada no meio esportivo, aonde atletas estão usando rHuEPO simplesmente para obter recordes, novas marcas e medalhas. Isto ficou evidenciado quando relatamos os diversos casos ocorridos em todo o mundo nas mais diferentes modalidades esportivas.

Hoje existem diversos métodos para a detecção do *doping* por rHuEPO, os quais proporcionam uma maior credibilidade ao esporte mundial, devido ao aumento de sensibilidade e especificidade na evolução dos mesmos. Assim coibem a prática de *doping* por rHuEPO. O profissional farmacêutico também deve atuar na prevenção de tal prática, informando aos atletas os riscos da utilização de rHuEPO, pois é inerente a profissão promover a saúde, e como foi visto neste estudo a rHuEPO traz sérios riscos a saúde dos esportistas, podendo levar até a morte.

Verifica-se, quando analisamos o histórico de dopagem, um significante percentual de representatividade da rHuEPO no quadro de casos mundiais. Este percentual aumentou gradativamente ao longo dos anos tendo seu ápice no ano de 2009 quando o país obteve o maior número de amostras positivas, retratando a realidade mundial.

Através do presente estudo, conclui-se que o Brasil deve promover medidas preventivas para que não haja a utilização de rHuEPO nos próximos eventos esportivos que realizar-se-ão no país, pois mancharia a grandiosidade dos eventos. Uma medida adequada seria a inserção da rHuEPO na lista de medicamentos controlados onde apenas Farmacêuticos podem dispensar o medicamento, além do controle da distribuição dos mesmos desde a indústria que os fabrica. Também será necessário um acompanhamento com todos os atletas brasileiros para que se possa

difundir todos os riscos causados pela utilização rHuEPO que foram descritos anteriormente.

REFERÊNCIAS

АКАДЕМИК. Aranesp. Disponível em: <http://www.de.academic.ru/dic.nsf/dewiki/93793/>. Acesso em: 20 de mar. 2011.

ADAMSON, J. W. Recombinant erythropoietin to improve athletic performance. **N Engl J Med.** 324:698-9, 1991.

AQUINO NETO, F.R. O papel do atleta na sociedade e o controle de dopagem no esporte. **Rev Bras Med Esporte**, 7 (4), 138-148, 2001.

ARDOIN, S.P.; SUNDY, J.S. Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Curr Opin Rheumatol.** 18: 221-226, 2006.

ARTIOLI, G.G.; HIRATA, R.D.C.; LANCHA JUNIOR, A.H. Terapia gênica, doping genético e esporte: fundamentação e implicações para o futuro. **Rev Bras Med Esporte.** Vol. 13, Nº 5, 2007.

ASHENDEN, M. *et al*. The effects of microdose recombinant human erythropoietin regimens in athletes. **Haematologica,** v.91, p.1143-1144, 2006.

AUSTRALIA. Sports Drug Agency (2000). *apud* AQUINO NETO, F.R. O papel do atleta na sociedade e o controle de dopagem no esporte. **Rev Bras Med Esporte**, 7 (4), 138-148, 2001.

BAHLMANN, F. H.; FLISER, D. Erythropoietin and renoprotection. **Hypertension**, n. 18, p. 15-20, 2009.

BENTO, R.M.A.; AQUINO NETO, F.R.; DAMASCENO, L.M.P. Eritropoetina humana recombinante no esporte: uma revisão. **Rev Bras Med Esporte.** 9:181-90, 2003.

BERNHARDT, W. M.; ECKARDT, K. U. Physiological basis for the use of erythropoietin in critically ill patients at risk for acute kidney injury. **Current Opinion in Critical Care**, n.14, p. 621-626, 2008.

BERT, P. Pression barométrique. **Recherche de physiologie expérimentale.** Paris. Masson, 1878.

_____. Sur la richesse em hêmoglobine du sang des animaux vivant sur les hauts lieux. **C. R. Acad. Sci..** Paris 94: p-802, 1882.

BIRKELAND, K.I. *et al*. Blood sampling in doping control – First experiences from regular testing in athletics**. Int J Sports Med.** 18:8-12, 1997.

BODE-BOGER, S. M. *et al*. Endothelin release and shift in prostaglandin balance are involved in the modulation of vascular tone by recombinat erythropoietin. **J Cardiovasc. Pharmacol**. 20:12 S25-8, 1992.

BÖHLKE, M. *et al.* Efeito da Eritropoietina na Pressão Arterial de Ratos Normais. **Revista de Medicina da UCPel**. v. 1. p. 40, 2003. Disponível em: <http://www.damedpel.com/CDD/2oAno/FISIO/Eritropoetina%20Recombinante%20 Humana%20Eleva%20a%20Pressao%20Arterial%20d.doc/>.

BONSDORFF, E.; JALAVISTO, E. A humoral mechanism in anoxic erythrocytosis. **Acta Physiol. Scand**; 16, p- 150-170, 1948.

BRASIL bate record negativo em 2009. **Gazeta do Povo**, Paraná, 29 dez. 2009. Disponível em: <http://www.gazetadopovo.com.br/>. Acesso em: 26 de mai. 2011.

BRASIL. Relatório de Controle Antidoping no Brasil em 2004 da Comissão Nacional de Combate ao Doping do Ministério do Esporte. **COB – Comitê Olímpico Brasileiro.** Disponível em: <http://www.cob.org.br/pesquisa_estudo/pdfs/Controle_Antidoping_no_Brasil_2004.pdf > Acesso em: 28/09/2010.

CANÇADO, R. D. Mieloma Múltiplo e anemia. **Rev. bras. hematol. hemoter**. V. 29(1):67-76, 2007.

CARNOT, P.; DEFLANDRE, C. Sur L'activité hematopoiétique des différents organes au cours de la régénération du sang. **C. R. Acad. Sci**. Paris, 143, p-432,1906.

CASO Festina: Procurador diz que provas são insuficientes. **Record**, Lisboa, 21 out. 2000. Disponível em: <ttp://www.record.xl.pt/>. Acesso em: 25 de mai. 2011.

CATLIN, D.H.; HATTON, C.K. Use and abuse of anabolic and other drugs for athletic enhancement. **Adv Intern Med.** 36:399-424, 1991.

CATLIN, D.H.; MURRAY, T.H. Performance-enhancing drugs, fair competition, and olympic sport. **JAMA.** 276:231-7, 1996.

CAZZOLA, M. A global strategy for prevention and detection of blood doping with erythropoietin and related drugs. **Haematologica,** 85:561-563, 2000.

_____. Further concerns about the medical risks of blood doping. **Haematologica.** 87:232, 2002.

CHENUAUD, P. *et al*. Autoimmune anemia in macaques following erythropoietin gene therapy. **Blood**. 103:3303-4, 2004.

CIRILLO, M. *et al*. Hematocrit, Blood, Pressure, and Hypertension: The Gubbio Population Study. Hypertension, 1992. *apud* SMITH, K. J. *et al*. T he cardiovascular effects of erythropoietin. **Cardiovascular Research**, v. 59 p.538–548, 2003.

DA CRUZ, A.M. Resistência Aeróbia e Eritropoetina. **Rev Estudos Goiania**, v.33 7 8, p.553-572, 2006. Disponível em: < http://seer.ucg.br/index.php/estudos/article/viewFile/138/104> Acesso em: 27/09/2010.

DE ROBERTIS. **Biologia molecular e celular**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2003.

DE ROSE, E.H.; AQUINO NETO, F.R.; MOREAU, R.L.M.; CASTRO R.R.T. Controle antidoping no Brasil: resultados do ano 2003 e atividades de prevenção. **Rev Bras Med Esporte**. 2004;10(4):289-93.

DESSYPRIS, E. N. Aplastic anemia and pure red cell aplasia. Disponível em: http://http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> Acesso em 28/03/2011.

DIAMANTI-KANDARAKIS E. *et al*. Erythropoietin abuse and erythropoietin gene doping: detection strategies in the genomic era. **Sports Medicine,** 35: 831-840, 2005.

EHRENREICH, H. *et al*. Erythropoietin: novel approaches to neuroprotection in human brain disease. **Metabolic Brain Disease**, n. 3/4, v.19, dec. 2004.

Epo and blood doping- oxygen above all. **FIFA - Federation International of Football Association**. Disponível em:<http://www.fifa.com/mm/document/afdeveloping/medical/6.10.4.%20epo%20and%20blood%20doping%20-%20oxygen%20above%20all,%20kgr_1511.pdf> Acesso em: 28/09/2010.

ERSLEV, A. J. Humoral regulation of red cell production. **Blood**. 8, p- 349-357, 1953.

ESCHBACH, J.W.; ADAMSON, J.W. Guidelines for recombinant human erythropoietin therapy. **Am. J. Kidney Dis.** V.14, n. 1, p. 2-8, 1989.

FAILACE, R. *et al*. **Hemograma - manual de interpretação**. 5º ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

FANDREY, J. Erythropoietin receptors on tumor cells: What do they mean? **The Oncologist.** n. 13, sup. 3, p. 16-20, 2008.

FISHER, J.W. Pharmacologic Modulation of Erythropoietin Production. **Ann. Ver. Pharmacol. Toxicol**. 28, p-101-122, 1988.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Memento Terapêutico: Eritropoetina humana recombinante**. Disponível em: <www.fiocruz.br/bio_eng/media/**memento**_epo.pdf/>. Acesso em: 18 de. Abr. 2011.

FUKUDA, M. *et al*. Carbohydrate Structureo f Erythropoietin Expressed in Chinese Hamster Ovary Cells by a Human Erythropoietin cDNA. **The journal of biological chemistry**. V. 262, n° 25, issue of september 5, pp 12059-12076, 1987.

GAREAU, R. *et al*. Erythropoietin abuse in athletes. **Nature.** 380:113, 1996.

GENETICS HOME REFERENCE. Gene EPO. Disponível em: < http://ghr.nlm.nih.gov/gene/EPO/>. Acesso em: 25 de abr. 2011.

GORE, C.J. *et al*. Second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. **Haematologica.** 88: 333-344, 2003.

HJORT, E. Reticulocyte increase after injection of anemic serun. **Norsk Mag. F. Laegevidensk**. V. 97, p. 270-277, 1936.

HOFFBRAND, *et al*. **Fundamentos em hematologia**. 5º ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

INQUÉRITO a médico de Armstrong envolve campeão italiano. **DN Desporto**, Lisboa, 25 abr. 2011. Disponível em: <http://dn.pt/>. Acesso em: 20 de mai. 2011.

JACOBS, K. et al. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. **Nature.** 313: 806-810, 1985.

JOYEUX-FAURE, M. Cellular protection by erythropoietin: new therapeutic implications? **Perspectives in Pharmacology**, n. 3, v. 323, p. 759-762, 2007.

KEOWN, P.A. - Recombinant human erythropoitin; from concept to clinic. **Transplantation Proceedings** 21 (6), p- 49-53, 1989.

KRUNDIEK, N. Eritropoietic substance in the serun of anemic animal. **Proc. Soc. Espl. Biolo. Med**. V. 54, p. 14-17, 1943.

KUHN, E. Vernehrung der roten und weissen. Blutkörperchen und des hämoglobins durch die Lungensang Maske und ihre Beziehung zun Höhenkleina. **Munc. Med. Wochenschr**. V 35, p. 1713-1720, 1907.

LAPPIN, T. R.; MAXWELL, A. P.; JOHNSTON, P. G. EPO's alter ego: Erythropoietin has multiple actions. **Stem Cells**. 20: 485-492, 2002.

LASNE, F. Double-blotting: a solution to the problem of nonspecific binding of secondary antibodies in immunoblotting procedures. **J Immunol Methods.** 276: 223-226, 2003.

LASNE F., CEAURRIZ J. Recombinant erythropoietin in urine. **Nature**. 405: 635, 2000.

LASNE, F. *et al*. "Genetic doping" with erythropoietin and cDNA in primate muscle is detectable. **Mol Ther**. 10:409-10, 2004.

LEE, G.R. *et al*. **Wintrobe: Hematologia Clínica**. 9ª ed. São Paulo. Manole, 1998.

LITTLEWOOD, T. Epoetin alfa (Eprex) and quality of life. **Curr Med Res Opin**. 21 Suppl 2:S1-2, 2005.

LOPES, M.C. **Avaliação da potencia biológica da eritropoetina humana recombinante em produtos farmacêuticos:** Estudo comparativo entre linhagens de camudongos B6D2 F1 e Swiss Webster. 2004. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro.

LUKAS, S.E. Effects and abuse of anabolic-androgenic steroids. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.** 333-57, 1996. *Apud* AQUINO NETO, F.R. O papel do atleta na sociedade e o controle de dopagem no esporte. **Rev Bras Med Esporte**, 7 (4), 138-148, 2001.

LUNDBY C. *et al*. Testing for recombinant human erythropoietin in urine: problems associated with current anti doping testing. **J. Appl. Physiol**. 2008 Jun 26, 2008.

MACDOUGALL, I.C. Novel erythropoiesis-stimulating agents: a new era in anemia management. **Clin J Am Soc Nephrol**. 3(1): 200-207, 2007.

MALEKI, A. *et al*. High Expression of Methylotrophic Yeast-Derived Recombinant Human Erythropoietin in a pH-Controlled Batch System. **Avicenna J Med Biotech**. V. 2(4): 197-206, 2010.

MIESCHER, F. Über die Bezierhungen zwischen meereshöhe und Beschaffenheit des Blutes. **Corres. Bl. Schweiz Aerzte**. v.23, p. 809-830, 1893.

OGA, S.; CAMARGO, M.M.A.; BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos de Toxicologia** 3ªedição, São Paulo. Editora Atheneu, p.469-470, 2008.

PARISOTTO, R. *et al*. Detection of recombinant human erythropoietin abuse in athletes utilizing markers of altered erythropoiesis. **Haematologica.** 86: 128-137, 2001.

PISTEL, K.F. *et al*. Biodegradable recombinant human erythropoietin loaded microspheres prepared from linear and star-branched block copolymers. **J Control Release.** 59: 309-325, 1999.

PUGA, A. **Leis Antidoping**. 1 ed. São Paulo: Edipro, 2008.

Q&A: EPO Detection. **Wada – World Anti-Doping Agency**. Disponível em: <http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/QA_EPO_Detection_En.pdf> Acesso em: 28/09/2010.

RAINE, A.E.G. DPHIL, F.R.C.P., ROGER, S.D. Effects of erythropoietin on blood pressure. **Am. J. Kidney Dis**. 18:76-83, 1991.

RAMIREZ, A.; RIBEIRO, A. Doping genético e esporte. **Rev Metropolitana de Ciências do Movimento Humano**. 6 : 9-20, 2005.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. Ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2007.

REISSMANN, K.R. Studies on the mechanism of erythropoietic stimulation of parabiotic rats during hypoxia. **Blood**. 5, p- 372-80, 1950.

SCHMIDT, C. A. *et al*. Avaliação da atividade e caracterização da Eritropoetina Humana Recombinante em produtos Farmacêuticos. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** V. 47, n.2, 2003.

SCOTT, J.; PHILLIPS, G.C. Erythropoietin in sports: a new look at an old problem. **Curr Sports Med Rep.** 4: 224-226, 2005.

SCOTT, W.C. The abuse of erythropoietin to enhance athletic performance. **JAMA.** 264:1660, 1990.

SEMENZA, G.L.; WANG, G.L. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. **Proc. Natl. Acad. Sci.** Vol. 90, pp. 4304-4308, 1993.

SHARPE, K. *et al*. Development of reference ranges in elite athletes for markers of altered erythropoiesis. Haematologica, v.87, p.1248–1257, 2002.

_____. A third generation approach to detect erythropoietin abuse in athletes. **Haematologica.** 91: 356-363, 2006.

SILVA, P. **Farmacologia**. 7ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2006.

SMITH, K. J. *et al*. T he cardiovascular effects of erythropoietin. **Cardiovascular Research**, v. 59 p.538–548, 2003

SPIVAK, J. L. The mecanism of action of erythropoietin: Erythroid cell response. **Biochemical pharmacology of blood and bloodforming organs. J. W. Fischer Springer- Verlag Berlin. Handbook of experimental Pharmacology**. V. 101, p. 49-114, 1992.

VALLES, J. *et al*. Erythrocytes metabolically enhance collagen-induced platelet responsiveness via increased thromboxane production, adenosine diphosphate release, and recruitment. **Blood.** 78: 154-162, 1991.

VARLET-MARIE, E. *et al*. Analysis of human reticulocyte genes reveals altered erythropoiesis: potential use to detect recombinant human erythropoietin doping. **Haematologica**, v.89, p.991-997, 2004.

VIAULT, F. Sur L' augmentation considérable du nombre des gloules rouges dans le sang chez les habitants des hauts plateaux de L' Amerique du Sud. **C. R. Acad. Sci**. Paris 111: p-918-919, 1890.

WADA-World Anti-Doping Agency Disponível em: <www.wada-ama.org/em/>. Acesso em 26 de mai. 2011.

WATKINS, P.C. *et al*. Regional assignment of the erythropoietin gene to human chromosome region 7pter----q22. **Cytogenetic Cell Genet**. v 42 (4), p. 214-218, 1986.

WESTENBRINK, B. D. *et al*. Therapeutic Potential of Erythropoietin in Cardiovascular Disease: Erythropoiesis and Beyond. **Current Heart Failure Reports.** n. 4, p. 127-133, 2007.

ZALE, S.E. Composition for sustained release of non-aggregated erythropoietin. **US-Patent** 5. 674,534, 1999.

ZHOU, S. *et al*. Adeno-associated virus-mediated delivery of erythropoietin leads to sustained elevation of hematocrit in nonhuman primates. **Gene Ther**. 1998;5:665-70.