

DOPING PELO USO DA ERITROPOETINA

DOPING BY THE USE OF ERYTHROPOIETIN

ASCALAZAN JULIO BARTLES **MARCONDES**¹, BIANCA MAFRA **DIAS**¹, HIGOR DE OLIVEIRA **SANTOS MATOS**¹, ILDAM FURTADO **MIRANDA**¹, KEILA DE MELO **BRAUN**¹, MARIANA LACERDA DOS **SANTOS**¹, WISLAYNE CAROLINE SANTOS **OLIVEIRA**¹, ANDRE LUIZ **FALEIRO**², JORGINO **JULIO CESAR**^{2*}

1. Acadêmicos do Curso de Graduação de Biomedicina da Faculdade Única; 2. Professor do Curso de Biomedicina da Faculdade Única.

* Rua Salermo, 299, Betânia, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. CEP: 35160-241. jorginoj@gmail.com

Recebido em 20/03/2017. Aceito para publicação em 03/05/2017

RESUMO

O uso de substâncias ilícitas pelos atletas tem se tornado um ato difundido no meio esportivo, principalmente em competições mundiais como as olimpíadas, sendo mais utilizada em esportes de alto rendimento, a eritropoetina recombinante humana (rHuEPO) tem a ação de estimular a formação de glóbulos vermelhos pela medula óssea, e consequentemente aumentar o aporte de oxigênio ao tecido muscular, elevando a resistência ao exercício físico e retardando os efeitos de fadiga. Este ato é considerado doping pelas federações desportivas e por isso proibido. Além de dar vantagens para os atletas que a utilizam em relação aos outros competidores, o seu uso causa danos ao organismo saudável, já que o mesmo produz a eritropoetina endógena (EPO) – hormônio secretado pelos rins, cuja função é a mesma da rHuEPO – elevando o índice do hematócrito nos indivíduos e trazendo consigo problemas relacionados a circulação sanguínea sistêmica como viscosidade sanguínea, efeitos trombóticos e redução do débito cardíaco. Como os seus efeitos adversos são inúmeros e perigosos à vida do atleta, é fundamental difundir entre o meio esportivo a importância de agir com ética antes, durante e após as competições a fim de prevenir os riscos ao longo da vida do indivíduo que faz o seu uso.

PALAVRAS-CHAVE: Doping nos esportes, Eritropoetina, Esteróides.

ABSTRACT

The use of illegal substances by athletes has become a widespread sport, especially in world competitions such as the Olympics, being more used in high-performance sports, human recombinant erythropoietin (rHuEPO) has the action of stimulating the formation of globules Red blood cells through the bone marrow, and consequently increase the oxygen supply to muscle tissue, increasing resistance to physical exercise and delaying the effects of fatigue. This act is considered doping by the sports federations and therefore prohibited. In addition to giving advantages to athletes who use it in relation to other competitors, its use causes damage to the healthy organism, since it produces the endogenous erythropoietin (EPO) - a hormone secreted by the kidneys, whose function is the same as that of rHuEPO - Elevating the hematocrit index in individuals and bringing with them problems related to systemic blood circulation such as

blood viscosity, thrombotic effects and reduction of cardiac output. As its adverse effects are numerous and dangerous to the life of the athlete, it is essential to spread among the sports environment the importance of acting with ethics before, during and after the competitions in order to prevent the risks throughout the life of the individual who makes his use.

KEYWORDS: Doping in sports, Erythropoietin, Steroids.

1. INTRODUÇÃO

No esporte, substâncias ou métodos são utilizados para aumentar o desempenho dos atletas. Quando estes representam riscos à saúde dos mesmos ou podem interferir no resultado final dos jogos, são caracterizados como doping¹. Para evitar estes transtornos são realizados vários testes para detecção de substâncias durante o tempo de treinamento e preparação do atleta, antes e depois das competições².

A Eritropoetina é um hormônio natural que estimula a produção de glóbulos vermelhos, e essa tem sido sintetizada e utilizada para aumentar o desempenho de atletas de alto rendimento por proporcionar uma melhor oxigenação tecidual quando há grande exigência e por ser de difícil detecção devido a sua grande semelhança com a eritropoetina endógena³.

O trabalho visa realizar um estudo dos efeitos desejáveis para os atletas durante as competições, que ao mesmo tempo é considerado doping pelas federações desportivas internacionais, bem como os métodos de detecção para a rHuEPO, além de apontar as desvantagens no que diz respeito à saúde dos mesmos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo utilizou como base de dados as informações disponíveis em bancos como Scielo (*Scientific Electronic Library online*), PubMed (*National Center for Biotechnology Information - NCBI, U.S. National Library of Medicine*), livros e documentos publicados pela WADA (Agência mundial antidoping).

As informações foram selecionadas considerando os

seguintes critérios: 1) ter como tema central a eritropoetina e/ou doping; 2) descrever o uso da eritropoetina no âmbito do esporte e 3) ter sido publicada nos 10 últimos anos que antecederam o ano do estudo.

Foi então, realizada uma leitura analítica do material que se enquadrava nos critérios pré-estabelecidos, onde as informações relevantes foram selecionadas, sintetizadas e organizadas de forma a elucidar o tema proposto.

3. DESENVOLVIMENTO

No esporte, o termo doping foi utilizado pela primeira vez por volta de 1889, para acusar o uso ilegal de substâncias proibidas em cavalos que tinham a meta de aumentar o desempenho, com este fato posteriormente o termo foi aplicado aos outros esportes.

A Agência Mundial Antidoping (WADA) estabelece como doping:

“[...] a utilização de substâncias ou métodos capazes de aumentar artificialmente o desempenho esportivo, sejam eles potencialmente prejudiciais à saúde do atleta ou a de seus adversários, ou contra o espírito do jogo [...]”¹.

O uso de substâncias estimulantes é algo que andou junto à evolução da humanidade, desde os egípcios até os dias atuais. Foi nas olimpíadas de Berlim em 1936, que os alemães disseminaram a anfetamina para estimular os atletas à vitória a qualquer custo. Com isso vários tipos de doping migraram para o esporte, foi então que em 1967 a Comissão Médica do Comitê Olímpico Internacional (COI), instituiu um grupo de substâncias proibidas e a partir de 1968 começaram a realizar testes antidopings durante os jogos olímpicos do México⁴.

Atualmente os testes são feitos mais rigorosamente e regularmente em atletas olímpicos, em laboratórios credenciados com a WADA, com o intuito de manter a fiscalização e o controle do doping no esporte². Existem três fatores para incluir uma substância na lista proibida de dopantes, estes fatores são o aumento artificial de desempenho físico, o prejuízo para a saúde do atleta, e o fato de ser contrário aos valores do esporte, então quando dois destes três fatores estão presentes, a substância pode ser incluída na lista proibida, como é o caso da Eritropoetina (EPO) e seus análogos, que é uma droga proibida no esporte pelo COI desde 1990¹.

Em 1999 houve a criação da WADA para combater a prática e o uso de substâncias ilícitas no esporte, com ênfase nas áreas de educação e pesquisa, ela implementou a formação do Código da Agência Mundial de Antidoping (WADA CODE), que começou a vigorar em 2004¹, com objetivo de controlar o doping nos esportes em nível mundial, renovando anualmente a lista de substâncias que os atletas de todos os esportes não podem usar, para que a competição seja de igualdade para todos os competidores⁵.

As substâncias declaradas proibidas pela WADA CODE, segundo a lista do ano de 2016, são classificadas em 09 grupos de substâncias^{1,6}.

Eritropoetina

A eritropoetina (EPO) é um hormônio natural, de origem endógena, que possui uma sequência total de 193 aminoácidos, onde cerca de 90% é secretado pelos rins e 10% pelo fígado, possui natureza glicoprotéica e sua principal função é regularizar a eritropoese³.

Por volta de 1988, com o advento da engenharia genética, iniciou-se a comercialização da eritropoetina recombinante humana (rHuEPO), hormônio glicoprotéico idêntico a EPO endógena por possuir a mesma sequência de aminoácidos, visando o seu uso terapêutico com a finalidade de melhorar a vida de pacientes que necessitavam de várias transfusões sanguíneas ou quadro anêmico por insuficiência renal crônica, aumentando a produção de glóbulos vermelhos e indiretamente aumentando a capacidade de oxigênio nos tecidos⁷.

Apesar de a rHuEPO ter sua atividade biológica igual à EPO endógena, suas estruturas químicas se diferenciam em algumas dimensões, não apresentando analogias completas quando comparadas, pelo fato de serem diferentes fontes de sínteses, variações na composição e na disposição da estrutura polissacarídica, o que propicia sua detecção no exame antidoping⁴.

Com os benefícios proporcionados pelo uso da rHuEPO, a mesma vem sendo utilizada de forma incorreta por atletas que praticam os esportes de grande resistência, pois seu uso potencializa a performance do atleta⁸.

Mecanismo de ação da rHuEPO

A eritropoetina endógena (EPO) é o principal fator de crescimento que atua sobre a linhagem eritróide e regula a produção de hemácias, sua secreção ocorre se houver uma baixa da pressão parcial de oxigênio, diminuição dos eritrócitos e aumento da necessidade de oxigênio pelos tecidos. Porém, se houver o aumento de oxigênio, sua secreção diminui, sendo assim um processo fisiológico que estimula os proeritroblastos a partir das células troncos hematopoiéticas da medula óssea e sua diferenciação em eritrócitos por mediação de receptores específicos⁹.

A eritropoetina exógena (rHuEPO) se dispõe de duas formas que são clinicamente indistinguíveis, a eritropoetina alfa e a eritropoetina beta, que podem ser administradas por via intravenosa, subcutânea e intraperitoneal³.

O objetivo de sua síntese é seu uso no campo da medicina para tratamento de alguns casos clínicos como insuficiência renal crônica e doenças hematológicas. Mas, devido a sua capacidade inerente de estimular a produção de eritrócitos, melhorando assim a troca de oxigênio e elevando a resistência ao exercício físico, a substância tem se tornado comum no esporte.

Como a atividade biológica da rHuEPO é idêntica àquela encontrada na sua forma orgânica, a utilização desta em exercícios aeróbicos tem por finalidade atuar sobre o coração, sangue, circulação, resistência aeróbica,

aumento da oxigenação, além de retardar os efeitos da fadiga, por essa razão, alguns atletas utilizam injeções desse hormônio para aumentar a sua contagem de eritrócitos e obter uma vantagem em relação aos outros competidores¹¹.

A grande utilização da rHuEPO no esporte pode ser entendida pelo prolongado tempo de meia vida que a substância possui, o que permite sua aplicação até uma única vez no mês³. Nesse tipo de atividade física ritmada e de longa duração, há o uso de oxigênio durante a produção de energia no músculo, por isso o atleta deve ter uma boa metabolização do oxigênio entendido como volume de oxigênio máximo⁷.

Quando não se tem quantidade de oxigênio para essa produção energética, o lactato é utilizado para haver produção de energia através do processo anaeróbio, gerando ácido láctico pelos músculos causando dor e fadiga aos mesmos⁸.

Assim, o oxigênio precisa estar presente para haver metabolismo aeróbico pelo atleta. Para suprir essa necessidade, há os eritrócitos que carregam em seu interior uma proteína quaternária, denominada hemoglobina, que é responsável por captar o oxigênio a nível pulmonar e levar aos tecidos. Por isso, um número de eritrócitos considerável por milímetro cúbico de sangue se faz necessário⁸.

Eritropoetina no esporte

Segundo a lista anual da WADA, a eritropoetina, desde 1990, é uma substância proibida pelo COI para os atletas⁷, seu uso potencializa a disponibilidade de oxigênio nos tecidos musculares, melhorando seu desempenho aeróbio e consequentemente aumentando a capacidade desportiva do atleta⁹.

O uso dessa substância é mais recorrente em esportes de alto rendimento, que requer um alto desempenho do atleta, com provas de longa duração e altamente desgastantes, modalidades como o triatlão, ciclismo, maratonas, atletismo¹².

A necessidade de se ter um ótimo desempenho nas competições e o interesse socioeconômico levam os atletas a utilizar de todos os recursos e métodos disponíveis, excedendo seus próprios limites, sendo muitas vezes a utilização desses artifícios prejudiciais para a saúde e ao clube⁸.

Com a utilização indiscriminada dessas drogas e métodos ilícitos, o Comitê Olímpico Internacional (COI) visando preservar a saúde dos atletas e a ética no esporte, proibiu o uso da rHuEPO no esporte, mesmo com toda a dificuldade que existia na época para conseguir detectar e diferenciar a EPO da rHuEPO⁷.

Efeitos adversos em atletas pelo uso da rHuEPO

O uso indiscriminado e incorreto da rHuEPO podem levar a diversos efeitos adversos, podendo ser efeitos brandos ou mais severos. Efeitos brandos como exantema, cefaleia,

náuseas e vômitos¹⁴. Em alguns casos podem ocasionar quadros mais complicados, como um aumento da viscosidade sanguínea consequente à elevação do hematócrito, podendo reduzir o débito cardíaco, velocidade do fluxo sanguíneo e o suprimento periférico de oxigênio comprometendo a capacidade aeróbica, hipertensão e possíveis efeitos trombóticos¹⁰.

Isso ocorre pelo fato que, mesmo dias após parar de fazer o uso da substância, a mesma continua sendo produzida devido ao estímulo que a medula óssea sofreu com seu uso, aumentando a taxa de hematócrito no sangue e a viscosidade sanguínea³.

Todos estes efeitos se tornam mais evidentes quando as dosagens de rHuEPO elevam os níveis dos hematócritos para valores entre 50 e 55%, embora os níveis de hematócrito se alterem também em condições fisiopatológicas que exijam mais oxigenação como uso de tabaco¹³.

Métodos de detecção

Durante a década de 90, ainda não se havia desenvolvido um método confiável para a detecção da rHuEPO no organismo, o motivo se devia a grande semelhança existente entre a EPO endógena e a exógena. Levado pela dificuldade em se detectar a rHuEPO existente na época, o COI destinou 1,25 milhões de dólares para o desenvolvimento de testes para a detecção da rHuEPO⁷.

Como resultado do investimento, foram criados dois métodos para detecção da rHuEPO no organismo, um método indireto que utilizava o sangue para a dosagem de cinco parâmetros: os níveis de eritrócitos, macrócitos e reticulócitos através do hematócrito, e a concentração plasmática de EPO. E um método direto, criado na época, utilizava da urina para análise de resíduos de carboidratos deixados pela rHuEPO e a EPO fisiológica⁴.

Hoje, os testes utilizados para a detecção rHuEPO e seus análogos no organismo são definidos pela WADA, através do documento técnico TD2014EPO, disponível no site do órgão. Este documento define os métodos a serem utilizados na identificação do hormônio em sua forma exógena e análogos, sendo eles a Isoeletrofocalização (IEF), Dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) e o Lauril-Sarcosinato de Sódio (SAR-PAGE)¹⁴.

O primeiro método é a isoeletrofocalização que se baseia na diferença de carga das moléculas causada pelas diferentes cadeias glicosídicas. A uma variação de pH entre a EPO endógena/rHuEPO e seus análogos do pH da EPO endógena. A EPO endógena apresenta pH na faixa dos 3,92 a 4,42 enquanto a exógena fica na faixa dos 4,42 a 5,1. Alguns análogos da EPO, como a Darbepoetina alfa (NESP), tem pH na casa dos 3.7 a 4¹⁵.

Na Isoeletrofocalização as proteínas são separadas com base em seu ponto isoeletrico, ou seja, ponto no qual o pH em que a carga líquida de uma proteína chega a zero¹⁶.

O segundo método é o dodecil sulfato de sódio (SDS-

PAGE) é um detergente aniônico que interage com as moléculas conferindo a elas carga negativa. A detecção da rHuEPO e análogas da EPO endógena é possível, neste método, através diferença de peso molecular existente entre elas. Sendo o da EPO endógena (34KDa), rHuEPO (36-38 KDa), NESP (38,5-40 KDa) e por último a CERA (69-78 KDa)¹⁷.

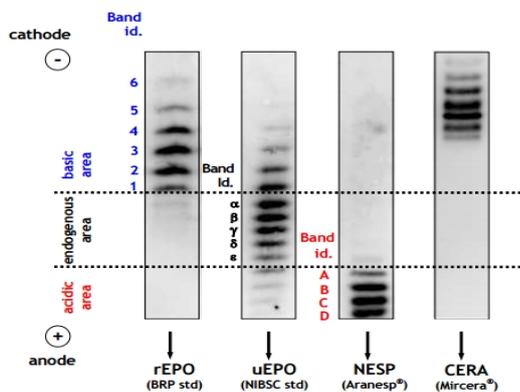


Figura 1. Resultado do teste IEF de diferentes eritropoetinas testadas. rHuEPO, EPO, NESP e CERA (Ativador constante do receptor de eritropoetina). **Fonte:** WADA – 2014.

O terceiro e último método definidos pela WADA é o LaurilSarcosinato de Sódio (SAR – PAGE). Este método é utilizado no caso de suspeita do uso do análogo da EPO CERA (Ativador constante do receptor de eritropoetina), este possui um polímero de grande massa conjugada, este polímero interage com o gel do SDS – PAGE o que acaba atrapalhando os resultados. O SAR – PAGE faz uso do detergente aniônico LaurilSarcosinato de Sódio este detergente não interage com o polímero e sim com a cadeia proteica do análogo da EPO evitando erros no teste.¹⁵

4. CONCLUSÃO

Criada com o intuito de ser utilizada em tratamentos de alguns casos clínicos como insuficiência renal crônica e doenças hematológicas, a rHuEPO tem sido banalizada no meio esportivo, principalmente por atletas de alto rendimento.

Sua utilização é proibida pelo comitê das federações desportivas a nível mundial, uma vez que a mesma proporciona uma vantagem aos atletas que utilizam o hormônio sintético em relação aos outros competidores da mesma modalidade, sendo considerado doping.

O fato do uso da rHuEPO trazer consigo efeitos adversos que são agravados pelo uso prolongado, é o ponto principal para alertar os atletas, os membros das comissões técnicas e os responsáveis pelo esporte, do problema real da sua utilização, visto que a satisfação de ganhar uma competição não exclui os problemas fisiológicos e patológicos que se instalam no organismo pelo uso indiscriminado durante um longo período, podendo afastar o

competidor do esporte precocemente.

Portanto, com treinamento físico adequado e dieta, somado à preparação mental do atleta, pode-se obter resultados significativos no potencial genético, excluindo a necessidade de utilizar hormônios sintéticos como a rHuEPO.

REFERÊNCIAS

- [1] WADA - Agência Mundial de Antidoping, objetivo, âmbito e organização do programa mundial antidopagem e do código, 2015. <Disponível em: https://wada-mainprod.s3.amazonaws.com/resources/files/codigo_mundial_antidopagem_2015.pdf> Acesso em: 18 de setembro de 2016.
- [2] COI – Comitê Olímpico Internacional, luta contra o doping, 2016. <Disponível em: <https://www.olympic.org/fight-against-doping>> Acesso em: 16 de setembro de 2016.
- [3] Nascimento MC, Abreu CLC, Costa RN. A eritropoetina humana recombinante: uma breve revisão com ênfase no processo de controle da qualidade. *Universitas: Ciências da Saúde*, 2013, v. 11, n. 1, p. 43-55. <Disponível em: <http://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/index.php/cienciasaude/article/viewFile/1980/2053>> Acesso: 20 de setembro de 2016.
- [4] Bento RMA, Damasceno LMP, Aquino NFR. Eritropoetina humana recombinante no esporte: uma revisão. *Rev Bras Med Esporte* [online]. 2003, vol.9, n.3, pp.181-190. <Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922003000300006> Acesso em: 19 de setembro de 2016.
- [5] Dias RG. Genética, performance física humana e doping genético: o senso comum versus a realidade científica. *Rev Bras Med Esporte* [online]. 2011, vol.17, n.1, pp.62-70. <Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922011000100012> Acesso em: 15 de setembro de 2016.
- [6] WADA - Agência Mundial de Antidoping, ProhibitedList, 2016. <Disponível em: http://abcd.gov.br/arquivos/legislacao/Lista_de_Substancias_e_Metodos_Proibidos_2016_-_Ing.pdf> Acesso em: 23 de setembro de 2016.
- [7] Junior PCC, Cunha TS, Lemes LC, *et al.*, Influência da administração de eritropoetina humana recombinante sobre o desempenho físico: estudo de revisão, *Rev Andal Med Deporte*, 2014; v.7(4) p.170-177. <Disponível em: <http://www.redalyc.org/pdf/3233/323332661001.pdf>> Acesso em: 22 de setembro de 2016.
- [8] Martelli A. Eritropoetina: síntese e liberação fisiológica e o uso de sua forma recombinante no esporte, 2013. <Disponível em: <http://www.unc.br/artigoscientificos/art-cient-0074.pdf>> Acesso em: 20 de setembro de 2016.
- [9] Guyton AC, Hall JE. Fundamentos de Guyton: tratado de fisiologia médica. 12ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, cap.84.
- [10] Ferrari CKB. Aspectos críticos do abuso de hormônios proteicos no exercício e no esporte: atualização, 2013. <Disponível em: <http://www.revista2.fcm.unc.edu.ar/2013.70.3/Revision/abuso.de.hormonas.pdf>> Acesso em: 22 de setembro de 2016.

- [11] Wilmore JH, Costill DL, Kenney WL. Fisiologia do esporte e do exercício. 4ª edição, Barueri: Manole, 2010.
- [12] Bueno Júnior CR, Pereira MG. Biologia molecular como ferramenta no esporte de alto rendimento: possibilidades e perspectivas, Rev. Bras. Cienc. Esporte, Campinas, v. 31, n. 3, p. 231-249, maio, 2010.<Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbce/v31n3/v31n3a16>> Acesso: 20 de setembro de 2016.
- [13] Costa DD, Junior Ee. NMS.Riscos da utilização de eritropoetina recombinante humana: um alerta ao esporte,2011.<Disponível em: <http://www.catolica-es.edu.br/fotos/files/15.pdf>> Acesso em: 25 de setembro de 2016.
- [14] WADA – Agência Mundial de Antidoping, harmonization of analysis and reporting of erythropoiesis stimulating agents (ESAs) by electrophoretic techniques, 2014.<Disponível em: <https://wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/WADA-TD2014EPO-v1-Harmonization-of-Analysis-and-Reporting-of-ESAs-by-Electrophoretic-Techniques-EN.pdf>> Acesso em: 20 de setembro de 2016.
- [15] Ortolani JS. Doping no esporte: uso de eritropoetina, propriedades, efeitos e detecção, 2012.<Disponível em: http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/120351/ortolani_js_tcc_arafcf.pdf?sequence=1> Acesso em: 19 de setembro de 2016.
- [16] Doudna JÁ, Cox MM, O'donnell M. Biologia Molecular: Princípios e Técnicas, 1ª edição, Porto Alegre:Artmed Ltda, 2012, pág. 280.
- [17] Rodrigues TAS, Ruivo J, Montes De POR, *et al*, characteristics of IEF patterns, DSD-PAGE and SAR-PAGE: result of cuban EPO biossimilar, 2015.<Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/301298580_Characteristics_of_IEF_Patterns_SDS-PAGE_and_SAR-PAGE_Result_of_Cuban_EPO_Biosimilar> Acesso em: 19 de setembro de 2016.