



Artigo de Revisão

## Influência da administração de eritropoietina humana recombinante sobre o desempenho físico: estudo de revisão



P.C. Caetano Júnior<sup>a,\*</sup>, T.S. Cunha<sup>b</sup>, L.C. Lemes<sup>a</sup>, S.R. Ribeiro<sup>a</sup> e W. Ribeiro<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Fisiologia e Farmacologia, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), São José dos Campos, São Paulo, Brasil

<sup>b</sup> Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São José dos Campos, São Paulo, Brasil

### INFORMAÇÃO SOBRE O ARTIGO

#### Historial do artigo:

Recebido a 4 de março de 2013

Aceite a 17 de março de 2014

#### Palavras-chave:

Eritropoietina  
Desempenho atlético  
Resistência física  
Efeitos adversos  
Doping nos esportes

### R E S U M O

**Objetivo:** Discutir os resultados acerca dos efeitos do uso da eritropoietina humana recombinante (rHuEPO) sobre o desempenho físico, bem como relatar os efeitos adversos decorrentes desta prática, correlacionando os achados de estudos experimentais e clínicos.

**Métodos:** Foram selecionados artigos científicos publicados nas bases de dados PubMed e SciELO, no período de 1985–2013, utilizando as seguintes palavras-chaves: eritropoietina/*erythropoietin*, desempenho atlético/*athletic performance*, resistência física/*physical endurance*, efeitos adversos/*adverse effects* e doping nos esportes/*doping in sports*.

**Resultados:** Todos os estudos (n = 10) encontraram melhora nas variáveis de consumo máximo de oxigênio (VO<sub>2máx</sub>) e tempo de exaustão em humanos, utilizando diferentes protocolos de dosagens, que podem variar de 50–60 UI/kg nas primeiras semanas, com redução ao longo do tratamento. Dentre as reações adversas mais frequentes estão os acidentes trombovasculares, deficiência de ferro e hipertensão arterial sistêmica.

**Conclusão:** O tratamento com rHuEPO em diferentes doses e períodos pode potencializar o desempenho físico de humanos, em virtude dos diferentes efeitos gerados, incluindo aumento no transporte de O<sub>2</sub>, redução das concentrações de lactato sanguíneo, aumento das concentrações de ácidos graxos livres no sangue e do glicogênio muscular.

© 2013 Consejería de Educación, Cultura y Deporte de la Junta de Andalucía. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos os direitos reservados.

## Influencia de administración de human eritropoyetina recombinante en el rendimiento físico: un estudio de revisión

### R E S U M E N

**Objetivo:** Discutir los resultados relativos a los efectos del uso de la eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO), sobre el rendimiento físico, así como los efectos adversos de su uso, así como la relación de los resultados de estudios experimentales y clínicos.

**Métodos:** Se seleccionaron los artículos científicos publicados en revistas incluidas en PubMed y SciELO, en el período de 1985–2013, usando las siguientes palabras clave: eritropoietina/*erythropoietin*, desempenho atlético/*athletic performance*, resistência física/*physical endurance*, efeitos adversos/*adverse effects* e doping nos esportes/*doping in sports*.

**Resultados:** Todos los artículos (n = 10), en relación con la influencia del tratamiento con rHuEPO en el rendimiento deportivo, mostraron una mejoría en las variables de consumo máximo de oxígeno (VO<sub>2máx</sub>) y el tiempo hasta el agotamiento en seres humanos, utilizando diferentes protocolos de dosis, que oscilan desde 50–60 UI/kg en las primeras semanas con reducción progresiva durante el tratamiento. Entre los efectos adversos más frecuentes se encuentran los accidentes vasculares trombóticos, la ferropenia y la hipertensión arterial.

#### Palabras clave:

Eritropoyetina  
Rendimiento atlético  
Resistencia física  
Efectos adversos  
Doping deportivo

\* Autor para correspondência.

Correio eletrônico: paulocaetanoj@hotmail.com (P.C. Caetano Júnior).

**Conclusión:** El tratamiento con dosis de rHuEPO y en diferentes períodos puede mejorar el rendimiento físico en los seres humanos, debido a los diferentes efectos generados, incluyendo el aumento del transporte de O<sub>2</sub>, la reducción de las concentraciones de lactato en sangre, aumento de las concentraciones de ácidos grasos libres en la sangre y glucógeno muscular.

© 2013 Consejería de Educación, Cultura y Deporte de la Junta de Andalucía. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## A B S T R A C T

### Keywords:

Erythropoietin  
Athletic performance  
Physical endurance  
Adverse effects  
Doping in sports

**Objective:** Discuss the influence of rHuEPO on physical performance, as well as the adverse effects of this practice, exposing results from experimental and clinical studies.

**Methods:** Were selected articles published in the basis, PubMed and SciELO databases, in the period 1985–2013, using the following keywords *eritropoietina/erythropoietin*, *desempenho atlético/athletic performance*, *resistência física/physical endurance*, *efeitos adversos/adverse effects* e *doping nos esportes/doping in sports*.

**Results:** All articles (n = 10) related to the influence of treatment with rHuEPO on sports performance, found improvement in the variables of maximal oxygen uptake (VO<sub>2max</sub>) and time to exhaustion in humans, using different protocols dosages between 50 to 60 IU/kg during the first weeks with reduced throughout treatment. Among the most common adverse effects are the thrombovascular accidents, iron deficiency and hypertension.

**Conclusion:** Treatment with rHuEPO doses and at different periods, can enhance physical performance in humans, because of the different generated effects, including increased O<sub>2</sub> transport, reduction of blood lactate concentrations, increased concentrations of free fatty acids in the blood and muscle glycogen.

© 2013 Consejería de Educación, Cultura y Deporte de la Junta de Andalucía. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Introdução

A eritropoietina humana recombinante (rHuEPO) é uma glicoproteína altamente purificada, composta por uma sequência de aminoácidos idêntica à da eritropoietina (EPO) endógena<sup>1</sup>. Esta substância tornou-se comercialmente disponível a partir de 1988<sup>2</sup> e o tratamento com a rHuEPO contribuiu para minimizar o número de transfusões de sangue de pacientes com anemia<sup>3</sup>.

Em virtude da dificuldade de detecção e diferenciação entre a rHuEPO e a EPO endógena, bem como do uso da técnica natural de hipóxia (HIF) intermitente, que desencadeia aumento da produção de EPO no organismo<sup>4</sup>, a rHuEPO passou a ser utilizada de forma indiscriminada por atletas<sup>5</sup> com o objetivo de melhorar o desempenho físico, embora o uso indiscriminado tenha sido oficialmente proibido pelo Comitê Olímpico Internacional (COI) em 1990<sup>6</sup>.

A literatura reporta que a administração subcutânea de rHuEPO, em diferentes doses, pode aumentar o VO<sub>2máx</sub> e tempo de exaustão de humanos<sup>7–9</sup> e alterar as concentrações de lactato sanguíneo<sup>10–12</sup>. Além disso, já foi descrita a presença de receptores de EPO (rEPO) em vasos sanguíneos, na musculatura esquelética, em testículos e em algumas linhagens celulares neoplásicas, o que sugere a sua potencialidade também como alvo terapêutico<sup>13–15</sup> e foi demonstrado que o tratamento com o hormônio recombinante pode provocar efeitos neurais, potencializando o desempenho sem alterar a produção de eritrócitos<sup>16</sup>.

No entanto, os efeitos desencadeados por este hormônio não se restringem ao desempenho físico e, neste sentido, já foi demonstrado que a administração de rHuEPO pode causar aumento excessivo do hematócrito e da viscosidade sanguínea, reduzindo o débito cardíaco<sup>18,19</sup>. Por este motivo, sabe-se que as reações adversas mais frequentes relacionadas ao tratamento com rHuEPO são hipertensão arterial sistêmica e acidente trombovascular<sup>20</sup>.

Com base no pressuposto, a presente revisão objetivou discutir os resultados acerca dos efeitos do uso da rHuEPO sobre o desempenho físico, abordando, inclusive, as alterações fisiológicas pouco

discutidas na literatura, que vão além dos clássicos relacionados a eritropoiese e que também ajudam a explicar o aumento do rendimento atlético. Além disso, visando alertar e conscientizar atletas e profissionais do meio esportivo sobre os riscos causados pelo uso de rHuEPO, o estudo buscou relatar os principais efeitos adversos decorrentes desta prática, correlacionando os achados de estudos clínicos e experimentais.

## Métodos

O presente trabalho de revisão sistemática utilizou as bases de dados PubMed e SciELO para selecionar os artigos científicos de interesse, no período de 1985–2013. As palavras-chave para seleção dos estudos foram pesquisadas, tanto em língua portuguesa, quanto em língua inglesa, como segue: *eritropoietina/erythropoietin*, *desempenho atlético/athletic performance*, *resistência física/physical endurance*, *efeitos adversos/adverse effects* e *doping nos esportes/doping in sports*.

No total encontraram-se 1.083 estudos, no entanto, após os critérios de exclusão e inclusão chegou-se a 76 referências. Os critérios de exclusão adotados foram de artigos científicos relacionados somente ao uso terapêutico da rHuEPO, não apresentando, portanto, nenhum efeito relacionado a capacidade física e/ou adverso do hormônio recombinante. Os critérios de inclusão foram de estudos contendo variáveis relacionadas ao desempenho atlético e de efeitos adversos em humanos e animais, tratados com rHuEPO.

### Eritropoietina: estrutura, síntese e função

A EPO é composta por 165 aminoácidos com peso molecular em torno de 30 *Kilodalton* (kDa). É formada em sua maioria (40%) por carboidratos e 2–4 cadeias sialiladas podem estar presentes em sua estrutura<sup>21–23</sup>. A fim de evitar que esta seja depurada pelo fígado antes de alcançar o alvo fisiológico, os resíduos de ácido siálico constituem um sinalizador biológico da EPO<sup>24</sup>.

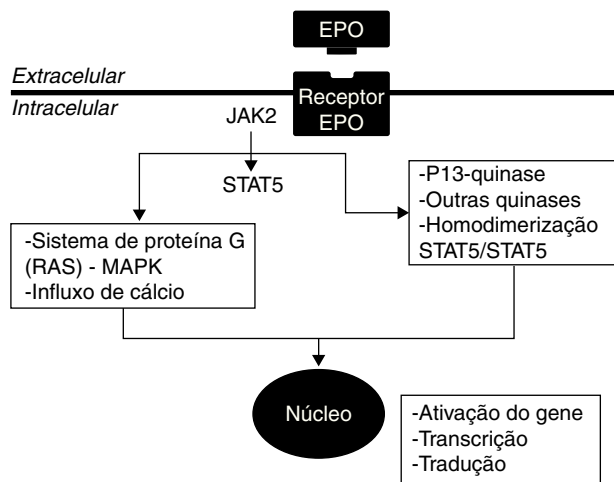
Este hormônio é sintetizado nos rins (90% da produção) e no fígado (10%)<sup>20</sup>, com meia vida de aproximadamente 8 horas<sup>22</sup>, quando liberada, liga-se aos seus receptores (rEPO) na superfície dos precursores das células vermelhas (BFU-e, CFU-e, eritroblastos) localizados na medula óssea. Essa glicoproteína, além de prolongar a sobrevivência dessas células, também inibe a apoptose das células precursoras induzindo a proliferação e diferenciação das mesmas<sup>25-27</sup>.

A transcrição da EPO é potencializada por meio da ativação do fator de transcrição induzível por HIF. A subunidade HIF-1 $\alpha$  quando inibida, pode associar-se à subunidade HIF-1 $\beta$  formando um heterodímero que se desloca para o núcleo da célula, com o intuito de ativar a transcrição do gene. No entanto, este mecanismo não é somente ativado frente à HIF, mas também por outros estímulos que incluem a hipoglicemia, o aumento de cálcio intracelular, bem como a liberação de insulina, estrogênios, esteroides anabólicos e de várias citocinas como as interleucinas 1 e 6, capazes de aumentar a concentração de EPO e a expressão dos rEPO, a fim de desencadear efeitos biológicos em células hematopoiéticas<sup>28-30</sup>.

A expressão do rEPO também é descrita em células vasculares, musculares lisas, mioblastos, testículos e em linhagens de células tumorais<sup>14,15</sup>, porém com efeitos diferentes daqueles desencadeados no tecido hematopoiético. O aumento da expressão de rEPO nas células musculares está associada à indução de proliferação celular, e no sistema nervoso central, a EPO produzida por astrócitos, desempenha papel importante na resposta às lesões neuronais<sup>27,30</sup>.

Os rEPO fazem parte da classe de receptores ligados às citocinas tipo I, onde a ligação do hormônio a eles resulta em dimerização e ativação de diferentes cascatas de sinalização intracelular<sup>27</sup>. A ativação do receptor ligado à janus tirosina quinase 2 (*Janus tyrosine kinase* - JAK2), responsável por propagar o sinal, ativará o sinal secundário de transdução de moléculas, incluindo os transdutores e ativadores da transcrição 5 (*Signal transducer and activator of transcription* - STAT5), proteínas quinase mitógeno ativadas (*Mitogen activated protein kinase* - MAPK) e fosfatidilinositol-3-quinase (*Phosphatidylinositol-3-kinase* - PI3K)<sup>25,27,31</sup>.

A ativação da JAK2 induz a fosforilação da tirosina e dimerização de STAT. Este mecanismo de ação, envolvendo a transdução de sinal por vias como JAK2/STAT5 do sistema de proteína G (RAS), canal de cálcio e quinases (fig. 1) é responsável pelos efeitos da EPO sobre a eritropoiese, diferenciação, proliferação e sobrevivência celular, bem como pela ativação de mecanismos antiapoptóticos<sup>25,31</sup>.



**Figura 1.** Mecanismo de ação da eritropoietina responsável pela eritropoiese. A ativação da JAK2 (*Janus tyrosine kinase*) induz a fosforilação da tirosina e dimerização de STAT (*Signal transducer and activator of transcription*), desencadeando a transdução do sinal por vias como JAK2/STAT5 do sistema, RAS (proteína G), canal de cálcio e quinases (adaptado de Ng et al.<sup>31</sup>).

A EPO tem a capacidade inerente de estimular a produção de hemácias e de hemoglobina, aumentando consequentemente a oxigenação tecidual<sup>23</sup>, principalmente em situações de HIF e mediante ao treinamento físico em grandes altitudes<sup>32</sup>.

### Eritropoietina humana recombinante

Em 1988 a rHuEPO tornou-se comercialmente disponível, após evidências de que ela poderia minimizar a necessidade da transfusão de sangue e ainda melhorar o bem estar de pacientes anêmicos com doença renal crônica<sup>2,33</sup>. A sua identificação foi possível através do uso da tecnologia do ADN recombinante e hoje sabe-se que o gene da EPO humana situa-se no cromossomo 7q11-22, constituído por 5 éxons e 4 íntrons, responsável pela síntese de polipeptídeo pós-transcricional contendo 193 aminoácidos<sup>34</sup>.

Durante a modificação pós-traducional, a glicosilação ocorre com a adição de 3 N-ligados (em Asn-24, Asn-38 e Asn-83) e uma O-ligados (Ser-126) oligossacáridos ácidos, a formação de 2 ligações dissulfureto em Cys-7 para Cys-161 e em Cys-29 para Cys-33, concomitante a remoção de 27 aminoácidos. Acredita-se que a Arg-166 no COOH terminal é clivada antes da liberação da EPO na circulação, com a estrutura primária de um EPO madura e, portanto, rHuEPO, contendo 165 aminoácidos<sup>35</sup>.

Existem algumas formas comerciais de rHuEPO disponíveis no mercado para uso terapêutico, tais como, epoetina alfa, epoetina beta e epoetina ômega. O método de síntese determina a classificação das mesmas e enquanto as epoetinas alfa e beta são sintetizadas a partir de células ovarianas de hamster chinês, a epoetina ômega é produzida em células renais de filhote de hamster<sup>36,37</sup>.

A administração da rHuEPO pode ser feita pelas vias subcutânea (SC), intravenosa (IV) e intraperitoneal (IP). A via SC apresenta diversas vantagens sobre a via IV, principalmente por ser desnecessário o estabelecimento do acesso venoso para administração e redução de até 30% da dose semanal em pacientes sob hemodiálise<sup>38</sup>.

### Doping e eritropoietina humana recombinante

Após os Jogos Olímpicos de Inverno de Calgary e Jogos Olímpicos de Seul, esportistas de modalidades em que prepondera o metabolismo aeróbio, como ciclismo, esqui de fundo, maratona, triatlão, entre outros, passaram a utilizar abusivamente a rHuEPO, visando a melhora do desempenho atlético<sup>10,39,40</sup>. Esta prática sem supervisão médica foi oficialmente proibida pelo COI em 1990<sup>6</sup>.

A detecção da rHuEPO tem sido realizada por métodos diretos, que identificam substâncias exógenas com base nas suas propriedades físico-químicas, ou métodos moleculares que reconhecem transgenes de EPO diretos e indiretos, baseando-se nos biomarcadores hematológicos<sup>41,42</sup>. No entanto, alguns fatores limitam a investigação precisa da rHuEPO, como por exemplo, análogos deste hormônio, *doping* genético<sup>42</sup> e diferenciação entre rHuEPO e EPO endógena, devido à sua complexidade estrutural, presença de baixas concentrações nos fluidos biológicos e estrutura química bastante semelhante a de sua forma endógena<sup>5</sup>. Lunby et al.<sup>43</sup> ainda ressaltam que inicialmente a rHuEPO pode ser detectada, mas que após o período de administração esta detecção torna-se dificultada.

O próximo período corresponde à volta da transfusão sanguínea como alternativa indetectável para o *doping* envolvendo a rHuEPO, que foi consumada pela operação Puerto em 2006. Apesar da especificidade do teste de detecção direta (*Isoelectric focusing test* - IEF), os laboratórios observaram padrões irregulares do hormônio, identificados como urina ativa e urina de esforço. Além disto, no boletim oficial da auditoria, perfis indetectáveis de EPO foram relatados com o uso do IEF<sup>44</sup>. Por outro lado, casos positivos de bioisomímeros de EPO e ativadores contínuos de receptores de eritropoiese

(Continuous erythropoiesis receptor activator - CERA) foram reportados em 2007<sup>45</sup>.

Em meados de 2010 e 2011 teve início uma investigação relacionada à eficiência da combinação de agentes químicos para estabilização de perfis de esteroides endógenos e da gonadotrofina coriônica humana na urina, servindo para o controle de *doping*. Porém, estudos adicionais serão necessários para a validação do método<sup>45</sup>. Em setembro de 2011 a WADA lançou o «passaporte biológico» que se refere a um mapeamento das variáveis biológicas de atletas, visando detectar variáveis fisiológicas anormais e o uso de substâncias ilícitas. No entanto, este sistema ainda não foi validado<sup>46</sup>.

Embora a rHuEPO esteja disponível no mercado há mais de uma década, o IEF proposto antes dos Jogos Olímpicos de Sydney veio substituir os testes secundários que eram utilizados. Esta metodologia permitiu identificar o primeiro caso positivo de uso da rHuEPO em 2001, seguido pela primeira detecção oficial do uso do novo estimulador de proteína da eritropoiese (*Novel erythropoiesis stimulating protein* - NESP), um ano depois<sup>24,45</sup>.

Diversos avanços relacionados à utilização da técnica de focalização isoeletrica para identificação da EPO permitem atualmente identificar diferenças sutis entre a glicosilação e sialilação, e desta forma possibilitam a diferenciação entre análogos endógenos e a rHuEPO recombinante. Os estudos destacam que este método foi internacionalmente aceite para a detecção de estimuladores da eritropoiese (ESA), usando um anticorpo monoclonal antiEPO altamente sensível, o AE7A5<sup>34</sup>.

### Efeitos da eritropoietina humana recombinante sobre o desempenho esportivo

Já está bem estabelecido que o tratamento com a rHuEPO aumenta a série vermelha sanguínea<sup>37</sup>. Robach et al.<sup>47</sup> por exemplo, relataram aumento significativo da concentração de hemoglobina (Hb) e do hematócrito em humanos, a partir do décimo dia de tratamento com rHuEPO, em resposta à administração diária de 65 UI/kg. Ashenden et al.<sup>48</sup> também relataram aumento desses 2 componentes, após administração de rHuEPO em doses variáveis, alterando a cada 4 semanas 10, 20, 30 UI/kg. Adultos saudáveis tratados em dias alternados, com 65 UI/kg de rHuEPO, por um período de 16 dias, também apresentaram aumento significativo de hemoglobina e eritrócitos<sup>39</sup>. Da mesma forma, Lundby e Robach<sup>49</sup> encontraram aumento a partir da quinta semana de tratamento e Ninot, Connes, Caillaud<sup>50</sup> também encontraram aumento do hematócrito e de Hb, em indivíduos treinados durante 6 semanas (3 primeiras semanas - 50 UI/kg e nas 2 subsequentes - 20 UI/kg).

Dentre os estudos envolvendo animais de experimentação, também foi encontrado aumento significativo de hematócrito em ratos

tratados com rHuEPO e submetidos ao treinamento aeróbio por 30 min com sobrecarga de 5% do peso corporal<sup>10</sup>. Da mesma forma, Verbrugge e Goodnough<sup>51</sup> observaram aumento da série vermelha em ratos submetidos ao treinamento físico aeróbio com o auxílio de rodas motorizadas e tratamento com rHuEPO.

Em relação aos efeitos deste hormônio recombinante sobre o desempenho esportivo é importante ressaltar que este é um fenômeno que não depende somente do aumento da série vermelha do sangue, mas sim de uma combinação de diversos processos e fatores intrínsecos e extrínsecos<sup>52</sup>. Em modalidades esportivas aeróbias, tais como corrida de longa distância, ciclismo ou esqui *cross country*, o principal fator que determina o desempenho físico é a eficiência relacionada ao transporte e utilização de O<sub>2</sub> pela musculatura esquelética (VO<sub>2máx</sub>), durante o exercício. Esta utilização é dependente da concentração total de Hb, do débito cardíaco e da diferença de O<sub>2</sub> arteriovenosa (fig. 2)<sup>53</sup>.

Foi demonstrado que a rHuEPO administrada em doses reduzidas durante 12 semanas (50 UI/kg durante as 3 primeiras semanas e 20 UI/kg nas 5 semanas subsequentes) foi suficiente para manter os eritrócitos e o VO<sub>2máx</sub> em níveis elevados de atletas amadores<sup>54</sup>. O aumento de hematócrito, Hb e VO<sub>2máx</sub> após administração deste hormônio também foi observado por Lundby et al.<sup>55</sup>. Da mesma forma, Thomsen et al.<sup>56</sup>, após avaliarem homens saudáveis tratados com rHuEPO (50 UI/kg), relataram, além do aumento de hematócrito, Hb, VO<sub>2máx</sub> (12 e 11,6% nas semanas 4 e 11, respectivamente) e aumento de 54% no tempo de exaustão. Além disto, Wilkerson et al.<sup>57</sup> encontraram em jovens, 4 semanas após o tratamento com rHuEPO (150 UI/kg), aumentos significativos de Hb e VO<sub>2pico</sub>, sem efeito significativo sobre a cinética do VO<sub>2</sub>, quando comparado ao grupo controle.

Recentemente Durussel et al.<sup>58</sup> avaliaram os efeitos da rHuEPO (50 UI/kg) em homens treinados, por 4 semanas. Tanto o tempo no teste de 3.000 m (10:30 ± 1:07 min:seg vs. 11 min08 ± 1:15 min:seg), quanto o VO<sub>2máx</sub> (56,0 ± 6,2 mL.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup> vs. 60,7 ± 5,8 mL.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>) dos indivíduos, foram significativamente melhorados após a quarta semana de tratamento, bem como, permaneceram maximizados após 4 semanas do término da administração, com 10:46 ± 1:13 min:seg e 58,0 ± 5,6 mL.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Dos 10 artigos envolvendo VO<sub>2máx</sub> e tempo de exaustão de humanos tratados com rHuEPO, todos relataram melhoria destas variáveis (tabela 1). Estes resultados indicam que o tratamento com rHuEPO, com doses e períodos diferenciados, podem potencializar a condição aeróbia de indivíduos treinados e/ou de atletas. A principal explicação para isso se dá pela capacidade aumentada de transportar O<sub>2</sub> no sangue, no entanto, como já apresentado, a capacidade aeróbia depende de vários outros fatores<sup>53,56</sup>.

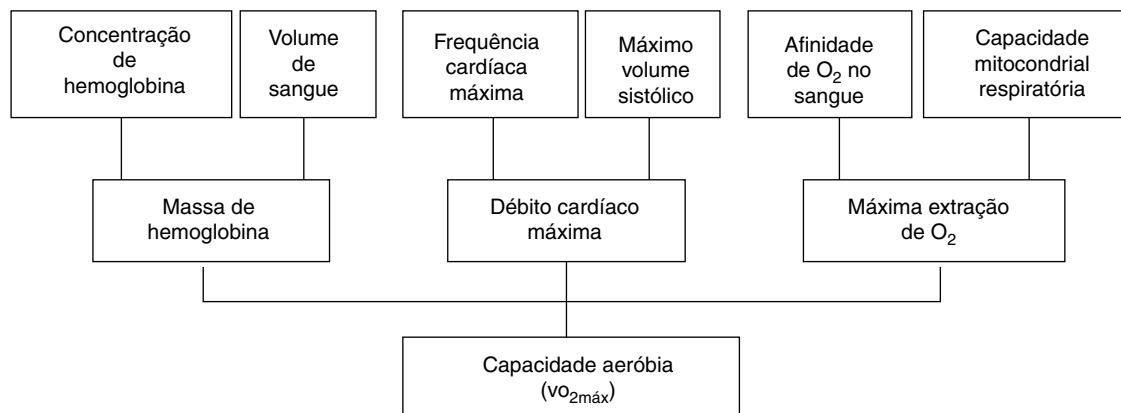


Figura 2. Parâmetros que determinam a capacidade aeróbia (adaptado de Jelkmann e Lundby<sup>53</sup>).



**Tabela 1**  
Efeitos da eritropoietina humana recombinante sobre o conteúdo de eritrócitos e hemoglobina, consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2\text{máx}}$ ) e tempo de exaustão, em humanos submetidos a diferentes protocolos de administração

Autores	População	Regime de administração do hormônio	Hemoglobina	$VO_{2\text{máx}}$	Tempo de exaustão
Audran et al. <sup>7</sup>	9 atletas	50 UI/kg - 26 dias.	↑S	↑S	--
Russell et al. <sup>54</sup>	21 atletas: 9 mulheres e 12 homens	Grupo EPO + IV: 1-3 sem. - 50 UI/kg; 4-8 sem. - 20 UI/kg; A cada 15 dias - 100 mg Fe; Grupo EPO + OR: 1-3 sem. - 50 UI/kg; 4-8 sem. - 20 UI/kg; 105 mg Fe/diariamente	--	EPO + IV e EPO + OR: ↑S nas sem. 4, 8 e após última aplicação; Grupo placebo sem alteração	--
Juel et al. <sup>68</sup>	8 homens saudáveis	1-2 sem. - 60 UI/kg 1 dose a cada 2 dias; 3 sem. - 60 UI/kg 3 doses em 3 dias; 4-13 sem. - 60 UI/kg 1 dose por sem.; 100 mg Fe/diariamente	--	↑ 8,1% na sem. 11	↑54%
Thomsen et al. <sup>56</sup>	16 homens saudáveis	1-2 sem. - 60 UI/kg; 1 dose a cada 2 dias; 3 sem. - 60 UI/kg 3 doses em 3 dias; 4 - 13 sem. - 60 UI/kg 1 dose por sem.; 100 mg Fe/diariamente	↑S na sem. 4 e 11	↑S nas sem. 4 e 11	↑54%
Lundby et al. <sup>55</sup>	8 homens saudáveis	1-2 sem. - 60 UI/kg 1 dose a cada 2 dias; 3 sem. - 60 UI/kg 3 doses em 3 dias; 4-15 sem. - 60 UI/kg 1 dose por sem.; 100 mg Fe/diariamente	--	--	--
Lundby e Robach <sup>49</sup>	8 homens saudáveis	1-3 sem. - 60 UI/kg 3 a 4 doses semanais; Próximas 11 sem. - 60 UI/kg 1 dose semanal	↑S a partir da sem. 5		
Rasmussen et al. <sup>62</sup>	15 homens saudáveis	Grupo 3 dias: ~402 UI/kg 2 doses em 3 meses; Grupo 3 meses: ~60 UI/kg 1 e 2 sem. - 1 dose por dia; 3-13 sem. - 3 doses por sem.	--	--	↑
Durussel et al. <sup>58</sup>	19 homens saudáveis	50 UI/kg - a cada 2 dias por 4 sem.; ~100 mg de Fe/4 sem.	↑S a partir da sem. 2	↑S após sem. 4	↑S após sem. 4

↑S: aumento significativo; IV: intravenosa; OR: oral; sem.: semanas.

Com isso, o presente trabalho de revisão, buscou outras explicações para a melhora do rendimento esportivo, decorrente dos efeitos da rHuEPO. Um relato interessante foi de que indivíduos treinados aerobicamente são altamente sensíveis aos efeitos da rHuEPO em sua aptidão física, e ainda, que este hormônio pode até mesmo, alterar parâmetros emocionais e comportamentais, relacionados ao prazer, autoestima e aumento da libido<sup>50</sup>.

Outros achados também ajudaram a esclarecer os efeitos deste hormônio recombinante sobre o rendimento físico. Estudos demonstraram que a rHuEPO pode também influenciar o metabolismo anaeróbio, através da avaliação do lactato sanguíneo<sup>10-12</sup>, substrato determinante do limiar anaeróbio, considerado um importante biomarcador para prescrição e monitoramento do treinamento<sup>59,60</sup>. Foi observado aumento no transporte de lactato, mediado por transportadores monocarboxilato 1 e 4 em eritrócitos, após tratamento com rHuEPO em seres humanos<sup>11</sup>, assim como menores concentrações de lactato em resposta a exercícios com intensidades variando de 60-100% do  $VO_{2\text{máx}}$ , em atletas, após 8 semanas de tratamento com rHuEPO<sup>54</sup>.

Lavoie et al.<sup>10</sup> encontraram em animais tratados com rHuEPO, após 30 min de natação com sobrecarga adicional de 5% do peso corporal, maiores concentrações de ácidos graxos livres no sangue e de glicogênio muscular, com menores concentrações de lactato sanguíneo. Estes resultados evidenciam que a utilização do substrato energético durante o exercício é afetada pela maior disponibilidade de oxigênio e menor produção energética pelo metabolismo anaeróbio.

Além destes efeitos, Cayla et al.<sup>61</sup> observaram que ratos treinados e tratados com rHuEPO apresentam aumento das atividades específicas de enzimas oxidativas, citocromo C oxidase e L-3-hidroxiacil-CoA desidrogenase e fosfofrutoquinase no músculo esquelético. Estes achados sugerem que a administração de rHuEPO possa levar ao aumento da resistência muscular esquelética

e oxigenação de todos os tecidos. Lundby et al.<sup>13</sup>, por sua vez, observaram que os rEPO estão presentes na vasculatura e fibra muscular esquelética e ainda que uma única injeção de rHuEPO (200 UI/kg) é capaz de reduzir a expressão de RNA mensageiro (RNAm) de mioglobina, de receptores de transferrina e de rHuEPO.

Há evidências de que a rHuEPO, quando administrada em altas doses, pode atravessar a barreira hemato-encefálica, contribuindo para redução da fadiga central e melhora da cognição, de modo a aumentar a capacidade de exercício independente da eritropoiese. Entretanto, o rendimento físico e cognitivo dos indivíduos não foi alterado, sugerindo que o efeito ergogênico se dê exclusivamente por meio do aumento da capacidade em transportar  $O_2$  no sangue<sup>62</sup>. Em contrapartida, Schuler et al.<sup>16</sup> destacam que o tratamento com rHuEPO pode provocar efeitos neurais, potencializando o desempenho físico, sem necessariamente alterar a produção de células vermelhas do sangue.

Estudos recentes vêm demonstrando que a rHuEPO também pode ajudar no tratamento do diabetes e da obesidade<sup>63</sup>. Foi observada redução da glicemia em ratos tratados com rHuEPO, em virtude, principalmente, de um aumento da atividade do transportador de glicose 4 (GLUT4)<sup>64</sup>. Mikolás et al.<sup>64</sup> observaram também perda de peso em animais tratados com rHuEPO. Além disto, Christensen et al.<sup>65</sup>, após investigarem os efeitos da administração aguda de rHuEPO sobre o metabolismo da sensibilidade à insulina em indivíduos jovens saudáveis, observaram aumento do gasto energético em resposta à administração de uma única dose do hormônio (400 UI/kg). Adicionalmente, já foi relatado que a rHuEPO está relacionada com a prevenção de lesão renal aguda, em um modelo experimental de treinamento físico de alta intensidade, em virtude de seu efeito antiapoptótico<sup>66</sup>.

Apesar de grande parte dos estudos mostrar a importante influência da rHuEPO sobre diversos parâmetros fisiológicos, alguns trabalhos relataram a inexistência dos efeitos do

hormônio sobre variáveis que poderiam maximizar o desempenho físico.

Um estudo que examinou diversos registros de ciclistas em períodos rotulados de epidemia da rHuEPO, encontrou resultados de desempenho normalmente distribuídos e linearmente relacionados, quando comparados a períodos não epidêmicos. Apesar dos resultados não serem conclusivos, devido à falta de variáveis biológicas dos atletas analisados, os autores relataram que os efeitos da rHuEPO sobre os resultados de ciclistas profissionais podem ser superestimados<sup>67</sup>.

De acordo com Juel et al.<sup>68</sup>, o uso prolongado de rHuEPO não pode explicar o aumento do desempenho, corroborando com um único estudo que não observou efeito significativo sobre a velocidade máxima aeróbia em ratos, após administração de rHuEPO por 3 semanas<sup>69</sup>. Acredita-se que o período de tratamento deste estudo tenha sido insuficiente para alterar a condição aeróbia dos animais, uma vez que grande parte dos estudos encontrados observou os efeitos do hormônio, a partir da quarta semana de tratamento (tabela 1).

Por fim, vale ressaltar que o tratamento com rHuEPO parece não influenciar os efeitos relacionados a adaptações musculares esqueléticas, incluindo, hipertrofia, biogênese mitocondrial, miogênese e angiogênese em diferentes tipos de fibras musculares<sup>13,69</sup>.

### Efeitos adversos decorrentes do uso indiscriminado da eritropoietina recombinante humana

Os riscos decorrentes da administração da rHuEPO já foram relatados há algumas décadas, como o caso de mortes durante repouso envolvendo ciclistas no início dos anos 90 em competição na Europa<sup>6</sup>. Os atletas que abusam deste hormônio recombinante geralmente consideram apenas o benefício ao desempenho e ignoram os eventuais efeitos adversos a curto e longo prazo<sup>70,71</sup>. Por este motivo, alguns programas de conscientização sobre os efeitos colaterais foram criados de modo a minimizar a utilização indiscriminada deste hormônio no meio esportivo<sup>72</sup>.

Sabe-se que os atletas apresentam predisposição à hemoconcentração em virtude da desidratação que ocorre frequentemente após o esforço físico. Com isso, a administração da rHuEPO potencializaria este efeito desencadeando aumento excessivo do hematócrito, da viscosidade sanguínea e redução do débito cardíaco<sup>18,19</sup>. Além disto, estudos relataram que o tratamento com rHuEPO pode desencadear hipertensão em indivíduos e em atletas, em virtude justamente do aumento da viscosidade sanguínea<sup>55,62</sup> e ainda que as reações adversas mais frequentes relacionadas ao tratamento com rHuEPO são os acidentes trombovasculares, deficiência de ferro e hipertensão arterial sistêmica<sup>20,73</sup>.

Meziri et al.<sup>74</sup> destacaram que a administração crônica de rHuEPO pode gerar graves efeitos colaterais cardiovasculares e desta forma os autores estudaram a rHuEPO e sua associação com o óxido nítrico, supondo que este pode proteger os efeitos nocivos cardiovasculares, em ratos treinados. Os resultados mostraram que o exercício impediu o aumento da pressão arterial induzida por um inibidor da síntese de óxido nítrico ( $170 \pm 5$  mmHg) e que os animais treinados e tratados com rHuEPO e óxido nítrico desenvolveram hipertensão arterial grave ( $228 \pm 9$  mmHg), sugerindo que a utilização de rHuEPO no esporte, a fim de melhorar o desempenho físico, representa um fator de risco elevado e fatal, especialmente com preexistência de risco cardiovascular.

No mesmo sentido, Piloto et al.<sup>71</sup>, após avaliarem os efeitos da rHuEPO sobre alterações cardiovasculares em ratos submetidos ao exercício aeróbio crônico, relataram que o tratamento hormonal aumenta não só o número de células vermelhas, mas também pode acarretar outras modificações cardiovasculares graves, tais como

hipertrofia do miocárdio, hipertensão, hiperatividade simpática e serotonérgica.

Apesar dos efeitos colaterais decorrentes de seu uso indiscriminado, sabe-se que a administração de doses fisiológicas de rHuEPO é benéfica no tratamento de diversas doenças. Neste sentido, já foi demonstrado que a insuficiência cardíaca congestiva por anemia pode ser minimizada pelo tratamento da rHuEPO subcutânea e ferro endovenoso, melhorando assim a dispneia, fadiga, função cardíaca, função renal e capacidade de exercício, reduzindo a necessidade de hospitalização e melhorando a qualidade de vida<sup>75,76</sup>.

### Recomendações finais

Os estudos mostraram que o tratamento com rHuEPO, sob protocolos com diferentes dosagens e tempo, promove alterações da série vermelha do sangue, aumentando os níveis de eritrócitos e de Hb, tanto em humanos, quanto em animais.

Em relação aos efeitos deste hormônio recombinante sobre o desempenho atlético, todos os estudos ( $n=10$ ) encontraram aumento do  $VO_{2máx}$  e tempo de exaustão, em humanos, na quarta semana de tratamento. Interessantemente, um estudo com animais não encontrou efeito significativo da capacidade aeróbia, utilizando apenas 3 semanas de administração. Assim, os achados indicam que o período ideal para obter-se uma ação representativa da rHuEPO sobre variáveis do desempenho físico é de, no mínimo, 4 semanas de tratamento.

Pelo fato dos estudos utilizarem diferentes protocolos de dosagens, o entendimento e a padronização das doses, que supostamente potencializaria o desempenho atlético com maior eficácia, foram dificultados. No entanto, observou-se que grande parte dos estudos utiliza de protocolos, incluindo doses de 50 e 60 UI/kg, nas primeiras semanas, com redução ao longo do tratamento.

Apesar dos estudos atribuírem a melhora do desempenho em razão da rHuEPO maximizar o transporte de  $O_2$  no sangue, a presente revisão buscou apresentar outros efeitos da rHuEPO que ajudassem a explicar este fenômeno, uma vez que este efeito, isoladamente, é insuficiente para explicar o rendimento atlético, que depende de vários outros fatores, incluindo principalmente tipo de treinamento físico e genética.

Foi observado em diferentes estudos que além dos clássicos relacionados à eritropoiese, o tratamento com o hormônio pode influenciar o metabolismo anaeróbio, reduzindo as concentrações de lactato sanguíneo e ainda promover aumento das concentrações de ácidos graxos livres no sangue, de glicogênio muscular e de atividades específicas de enzimas oxidativas, citocromo C oxidase, L-3-hidroxiacil-CoA desidrogenase e fosfofrutoquinase no musculoesquelético.

Além disso, há relatos de que indivíduos treinados aerobically são altamente sensíveis aos efeitos da rHuEPO, bem como que o tratamento com o hormônio pode desencadear alterações emocionais e comportamentais, relacionados ao prazer, autoestima e aumento da libido.

Os efeitos adversos apresentados pelos estudos apontam sobre os riscos do uso indiscriminado de rHuEPO. O aumento da viscosidade sanguínea pode desencadear um quadro de acidentes trombovasculares em indivíduos tratados com o hormônio, além de outras reações adversas que também podem ocorrer, tais como hipertensão arterial e deficiência de ferro. Vale ressaltar que a rHuEPO em doses fisiológicas promove efeitos benéficos, podendo ser utilizado para o tratamento de diversas doenças, no entanto, esta prática sem prescrição médica é extremamente perigosa, além de ser considerada *doping* no âmbito esportivo.

Por fim, vale ressaltar a importância de novos estudos envolvendo o tratamento com rHuEPO e diferentes protocolos de treinamento físico. Assim como novos esclarecimentos sobre os

efeitos adversos, de modo a alertar e conscientizar atletas e indivíduos, que pretendem fazer uso deste hormônio recombinante ilícito.

### Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

### Referências

- Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, Neill SD, Kaufman RJ, Mufson A, et al. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature*. 1985;313:6–10.
- Choi D, Kim M, Park J. Erythropoietin: Physico and biochemical analysis. *J Chromatogr B*. 1996;687:189–99.
- Tanaka T, Nangaku M. Recent advances and clinical application of erythropoietin and erythropoiesis-stimulating agents. *Exp Cell Res*. 2012;318:1068–73.
- Balestra C, Germonpré P. EPO and doping. *Eur J Appl Physiol*. 2010;109:1001–2.
- Gareau R, Brisson GR, Chénard C, Gagnon MG, Audran M. Total fibrin and fibrinogen degradation products in urine: A possible probe to detect illicit users of the physical-performance enhancer erythropoietin? *Horm Res*. 1995;44:189–92.
- River L, Saugy M. Peptides hormones abuse in sport: State of the art in the detection of growth hormone and erythropoietin. *Toxin Rev*. 1999;18:145–76.
- Audran M, Gareau R, Matecki S, Durand F, Chenard C, Sicart MT, et al. Effects of erythropoietin administration in training athletes and possible indirect detection in doping control. *Med Sci Sports Exerc*. 1999;31:639–45.
- Ekblom B, Berglund B. Effect of erythropoietin administration on maximal aerobic power in man. *Scand J Med Sci Sports*. 1991;2:88–93.
- Birkeland KI, Stray-Gundersen J, Hemmersbach P, Hallen J, Hug E, Bahr R. Effect of rHuEPO administration on serum levels of sTfR and cycling performance. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;7:1238–43.
- Lavoie C, Diguët A, Milot M, Gareau R. Erythropoietin (rHuEPO) doping: Effects of exercise on anaerobic metabolism in rats. *Int J Sports Med*. 1998;19:281–6.
- Connes P, Caillaud C, Mercier J, Bouix D, Casties JF. Injections of recombinant human erythropoietin increases lactate influx into erythrocytes. *J Appl Physiol*. 2004;97:326–32.
- Meierhenrich R, Jedicke H, Voigt A, Lange H. The effect of erythropoietin on lactate, pyruvate and excess lactate under physical exercise in dialysis patients. *Clin Nephrol*. 1996;45:90–7.
- Lundby C, Hellsten Y, Jensen MB, Munch AS, Pilegaard H. Erythropoietin receptor in human skeletal muscle and the effects of acute and long-term injections with recombinant human erythropoietin on the skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2008;104:1154–60.
- Lappin T. The cellular biology of erythropoietin receptors. *Oncologist*. 2003;8:15–8.
- Acs G, Xu X, Chu C, Acs P, Verma A. Prognostic significance of erythropoietin expression in human endometrial carcinoma. *Cancer*. 2004;100:2376–80.
- Schuler B, Vogel J, Grenacher B, Jacobs RA, Arras M, Gassmann M. Acute and chronic elevation of erythropoietin in the brain improves exercise performance in mice without inducing erythropoiesis. *FASEB J*. 2012;26(9):3884–90.
- Adamson JW. Regulation of red blood cell production. *Am J Med*. 1996;101:4–6.
- Aquino Neto FR. O papel do atleta na sociedade e o controle de dopagem no esporte. *Rev Bras Med Esporte*. 2001;7:1–11.
- Berardi D, Agati L. Cardiovascular adverse reactions after the administration of recombinant human erythropoietin: Light and shade. *Minerva Cardioangiol*. 2012;60:227–36.
- García JM, Sánchez ET, Hidalgo DO, Conejo EA. Erythropoietin pharmacology. *Clin Transl Oncol*. 2007;9:715–22.
- Lohmeyer JA, Essmann E, Richerson SJ, Hagel C, Egana JT, Condurache A, et al. Use of erythropoietin as adjuvant therapy in nerve reconstruction. *Langenbecks Arch Surg*. 2008;393:317–23.
- Schmidt CA, Ramos AS, Silva JEP, Fronza M, Dalmora SL. Avaliação da atividade e caracterização de eritropoietina humana recombinante em produtos farmacêuticos. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003;47(2):183–9.
- Bento RMA, Damasceno LMP, Neto FRA. Eritropoietina humana recombinante no esporte: uma revisão. *Rev Bras Med Esporte*. 2003;9(3):169–80.
- Bahlmann FH, Fliser D. Erythropoietin and renoprotection. *Hypertension*. 2009;18:15–20.
- Engert A. Recombinant human erythropoietin in oncology: Current status and further developments. *Ann Oncol*. 2005;16:1584–95.
- Hardee ME, Arcasoy MO, Blackwell KL, Kirkpatrick JP, Dewhirst MW. Erythropoietin biology in cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12(2):332–9.
- Hsieh MM, Linde NS, Wynter A, Metzger M, Wong C, Langsetmo I, et al. HIF prolyl hydroxylase inhibition results in endogenous erythropoietin induction, erythrocytosis, and modest fetal hemoglobin expression in rhesus macaques. *Blood*. 2007;110:2140–7.
- Jelkmann W, Pagel H, Wolff M, Fandrey J. Monokines inhibiting erythropoietin production in human hepatoma cultures and in isolated perfused rat kidneys. *Life Sci*. 1992;50:301–8.
- Tentori L, Graziani G. Doping with growth hormone/IGF-1, anabolic steroids or erythropoietin: Is there a cancer risk? *Pharmacol Res*. 2007;55:359–69.
- Ng T, Marx G, Littlewood T, Macdougall I. Recombinant erythropoietin in clinical practice. *Postgrad Med J*. 2003;79:367–76.
- Robach P, Schmitt EL, Brugniaux JV, Nicolet G, Duvallet A, Fouillot JP, et al. Living high–training low: Effect on erythropoiesis and maximal aerobic performance in elite Nordic skiers. *Eur J Appl Physiol*. 2006;97:695–705.
- Tsitsimpikou C, Kouretas D, Tsarouhas K, Fitch K, Spandidos DA, Tsatsakis A. Applications and biomonitoring issues of recombinant erythropoietins for doping control. *Ther Drug Monit*. 2011;33:3–13.
- Jelkmann W. Erythropoietin: Structure, control of production and function. *Physiol Rev*. 1992;72:449–89.
- Inoue N, Takeuchi M, Ohashi H, Suzuki T. The production of recombinant human erythropoietin. *Biotechnol Annu Rev*. 1995;1:297–313.
- Skibeli V, Nielsen-Lie G, Torjesen P. Sugar profiling proves that human serum erythropoietin differs from recombinant human erythropoietin. *Blood*. 2001;98:3626–34.
- Storring PL, Tiplady RJ, Gaines Das RE, Stenning BE, Lamikanra A, Rafferty B, et al. Epoetin alfa and beta differ in their erythropoietin isoform compositions and biological properties. *Br J Haematol*. 1998;100:79–89.
- Macdougall IC. Meeting the challenges of a new millennium: Optimizing the use of recombinant human erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13:23–7.
- Christensen B, Sackmann-Sala L, Cruz-Topete D, Jorgensen JO, Jessen N, Lundby C, et al. Novel serum biomarkers for erythropoietin use in humans: A proteomic approach. *J Appl Physiol*. 2011;110:149–56.
- Kohler M, Ayotte C, Desharnais P, Flenker U, Lüdke S, Thevis M, et al. Discrimination of recombinant and endogenous urinary erythropoietin by calculating relative mobility values from SDS gels. *Int J Sports Med*. 2008;29:1–6.
- Abellan R, Ventura R, Pichini S, Palmi I, Bellver M, Olive R, et al. Effect of physical fitness and endurance exercise on indirect biomarkers of recombinant erythropoietin misuse. *Int J Sports Med*. 2007;28:9–15.
- Robinson N, Giraud S, Saudan C, Baume N, Avois L, Mangin P, et al. Erythropoietin and blood doping. *Br J Sports Med*. 2006;40:30–4.
- Lundby C, Achman-Andersen NJ, Thomsen JJ, Norgaard AM, Robach P. Testing for recombinant human erythropoietin in urine: Problems associated with current anti-doping testing. *J Appl Physiol*. 2008;105:417–9.
- Lamon S, Robinson N, Saugy M. Procedures for monitoring recombinant erythropoietin and analogs in doping. *Endocrinol Metab Clin N Am*. 2010;39:141–54.
- Tsivou M, Georgakopoulos DG, Dimopoulou HA, Koupparis MA, Atta-Politou J, Georgakopoulos CG. Stabilization of human urine abuse in sports: The antidoping perspective. *Asian J Androl*. 2008;10:391–402.
- John MJ, Jaisov V, Jain K, Kakkar N, Jacob JJ. Erythropoietin use and abuse. *Indian J Endocrinol Metab*. 2012;16:220–7.
- Robach P, Recalcatti S, Girelli D, Gelfi C, Aachmann-Andersen NJ, Thomsen JJ. Alterations of systemic and muscle iron metabolism in human subjects treated with low-dose recombinant erythropoietin. *Blood*. 2009;113(26):6707–15.
- Ashenden M, Clare E, Gough CE, Garnham A, Gore CJ, Sharpe K. Current markers of the Athlete Blood Passport do not flag microdose EPO doping. *Eur J Appl Physiol*. 2011;111:2307–14.
- Lundby C, Robach P. Assessment of total haemoglobin mass: Can it detect erythropoietin-induced blood manipulations? *Eur J Appl Physiol*. 2010;108:197–200.
- Ninot G, Connes F, Caillaud C. Effects of recombinant human erythropoietin injections on physical self in endurance athletes. *J Sports Sci*. 2006;24:383–91.
- Verbrugge DJ, Goodnough LT. The effect of recombinant human erythropoietin treatment on the endurance performance of Sprague-Dawley rats. *Scand J Clin Lab Invest*. 1994;54:55–9.
- Kiss MAPDM, Böhme MTS, Mansoldo AC, Degaki E, Regazzini M. Desempenho e talento esportivos. *Rev Paul Educ Fis*. 2004;18:89–100.
- Jelkmann W, Lundby C. Blood doping and its detection. *Blood*. 2011;118(9):2395–404.
- Russell G, Gore CJ, Ashenden MJ, Parisotto R, Hahn AG. Effects of prolonged low doses of recombinant human erythropoietin during submaximal and maximal exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2002;86:442–9.
- Lundby C, Robach P, Boushel R, Thomsen JJ, Rasmussen P, Koskolou M, et al. Does recombinant human Epo increase exercise capacity by means other than augmenting oxygen transport? *J Appl Physiol*. 2008;105:581–7.
- Thomsen JJ, Rentsch RL, Robach P, Calbet JAL, Boushel R, Rasmussen P, et al. Prolonged administration of recombinant human erythropoietin increases submaximal performance more than maximal aerobic capacity. *Eur J Appl Physiol*. 2007;101:481–6.
- Wilkerson DP, Rittweger J, Berger NJ, Naish PF, Jones AM. Influence of recombinant human erythropoietin treatment on pulmonary O<sub>2</sub> uptake kinetics during exercise in humans. *J Physiol*. 2005;15:639–52.
- Durussel J, Daskalaki E, Anderson M, Chatterji T, Wondimu DH, Padmanabhan N, et al. Haemoglobin mass and running time trial performance after recombinant human erythropoietin administration in trained men. *PLoS One*. 2013;8(2):e56151.
- Zagatto AM, Papoti M, Caputo F, Mendes OC, Denadai BS, Baldissera V, et al. Comparação entre a utilização de saliva e sangue para determinação do lactato mínimo em cicloergômetro e ergômetro de braço em mesa-tenistas. *Rev Bras Med Esporte*. 2004;10:475–80.
- Freitas JS, Junior MAC, Franco FSC, Rezende LS, Santos AS, Maia HO, et al. Treinamento aeróbio em natação melhora a resposta de parâmetros metabólicos de ratos durante teste de esforço. *Rev Bras Med Esporte*. 2010;16(2):134–8.
- Cayla JL, Maire P, Duvallet A, Wahrmann JP. Erythropoietin induces a shift of muscle phenotype from fast glycolytic to slow oxidative. *Int J Sports Med*. 2008;29:460–5.

62. Rasmussen P, Foged EM, Krogh-Madsen R, Nielsen J, Nielsen TR, Olsen NV, et al. Effects of erythropoietin administration on cerebral metabolism and exercise capacity in men. *J Appl Physiol*. 2010;109:476–83.
63. Katz O, Stuible M, Golishevski N, Lifshitz L, Tremblay ML, Gassmann M, et al. Erythropoietin treatment leads to reduced blood glucose levels and body mass: Insights from murine models. *J Endocrinol*. 2010;205:87–95.
64. Mikolás E, Cseh J, PAP M, Szijarto IA, Balogh A, Laczy B, et al. Effects of erythropoietin on glucose metabolism. *HormMetab Res*. 2012;44:279–85.
65. Christensen B, Vendelbo MH, Krusenstjerna-Hafstrom T, Madsen M, Pedersen SB, Jessen N, et al. Erythropoietin administration acutely stimulates resting energy expenditure in healthy young men. *J Appl Physiol*. 2012;112:1114–21.
66. Lin X, Qu S, Hu M, Jiang C. Protective effect of erythropoietin on renal injury induced by acute exhaustive exercise in the rat. *Int J Sports Med*. 2010;31:847–53.
67. Lodewijkx HF, Brouwer B. Some empirical notes on the epo epidemic in professional cycling. *Res Q Exerc Sport*. 2011;82:740–54.
68. Juel C, Thomsen JJ, Rentsch RL, Lundby C. Effects of prolonged recombinant human erythropoietin administration on muscle membrane transport systems and metabolic marker enzymes. *Eur J Appl Physiol*. 2007;102:41–4.
69. Martinez-Bello VE, Sanchis-Gomar F, Romagnoli M, Derbre F, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Three weeks of erythropoietin treatment hampers skeletal muscle mitochondrial biogenesis in rats. *J Physiol Biochem*. 2012;68(4):593–601.
70. Eagleton HJ, Littlewood TJ. Update on the clinical use and misuse of erythropoietin. *Curr Hematol Rep*. 2003;2:109–15.
71. Piloto N, Teixeira HM, Teixeira-Lemos E, Parada B, Garrido P, Sereno J, et al. Erythropoietin promotes deleterious cardiovascular effects and mortality risk in a rat model of chronic. *Cardiovasc Toxicol*. 2009;9:201–10.
72. Cunha TS, Cunha NS, Moura MJCS, Marcondes FK. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. *Braz J Pharm Sci*. 2004;40:165–79.
73. Jones EH. Recombinant human erythropoietin. *Am J Hosp Pharm*. 1989;46:20–3.
74. Meziri F, Binda D, Touati S, Pellegrin M, Berthelot A, Touyz RM, et al. Exercise aggravates cardiovascular risks and mortality in rats with disrupted nitric oxide pathway and treated with recombinant human erythropoietin. *Eur J Physiol*. 2011;111:1929–38.
75. Guglin ME, Koul D. Cardiovascular effects of erythropoietin: anemia and beyond. *Cardiol Rev*. 2006;14:200–4.
76. Manolis AS, Tzeis S, Triantafyllou K, Michaelidis J, Pyrros I, Sakellaris N, et al. Erythropoietin in heart failure and other cardiovascular diseases: Hematopoietic and pleiotropic effects. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord*. 2005;5:355–75.