

BARA, Sebastian, BARCZUK, Patryk, GAŁAJDA, Elżbieta, ANTONIK, Jacek, BARCZAK, Iga, BARĆ, Jan, KOCHAN, Robert, BĄCZEK, Kacper, DZIĘGIELEWSKI, Jędrzej & BONDOS, Borys. A review of the possibilities of gene doping in sports focused on the advantages and disadvantages. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023;42(1):35-45. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.42.01.003> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/44154> <https://zenodo.org/record/8077442>

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of December 21, 2021. No. 32343. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences). Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. Lp. 32343. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przynależność dyscypliny naukowej: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu). © The Authors 2023; This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper. Received: 21.05.2023. Revised: 15.06.2023. Accepted: 24.06.2023. Published: 27.06.2023.

A review of the possibilities of gene doping in sports focused on the advantages and disadvantages

Sebastian Bara¹, Patryk Barczuk², Elżbieta Gałajda³, Jacek Antonik⁴, Iga Barczak⁵, Jan Barć⁶, Robert Kochan⁷, Kacper Bączek⁸, Jędrzej Dzięgielewski⁹, Borys Bondos¹⁰

¹Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0009-7022-1312> | granellosz@gmail.com

²Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0004-2271-8782> | patryk.barczuk11235@gmail.com

³Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0008-6465-1490> | elagalajda@gmail.com

⁴Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0003-9583-1631> | jacek.antonik@o2.pl

⁵Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0009-5882-2019> | iga5412@gmail.com

⁶Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0004-8087-6252> | jan8876@gmail.com

⁷Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0002-9796-9231> | robkochan2211@gmail.com

⁸Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0003-2860-8360> | kacperz0909@gmail.com

⁹Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0001-9475-1766> | dziegielewskijdrzej@gmail.com

¹⁰Student, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<https://orcid.org/0009-0005-7971-4691> | borysb97@gmail.com

ABSTRACT

Introduction and purpose: Gene therapy can be defined as a modification of gene expression in a patient's body. There are two main strategies: the abuse of "classical" gene therapy and strategies of RNA interference with gene transfer. The aim of the study is to analyze scientific literature on gene doping, with a focus on the advantages and disadvantages of using genes related to sports.

Materials and methods: The literature available on PubMed was reviewed using the words "gene therapy", "sport".

Description of the state of knowledge:

The potential modification of genes such as EPO, IGF1/GH, HIF-1, PPAR have been identified as having beneficial effects for athletes. Modifying the EPO gene could lead to an increase in red blood cells and oxygen in the blood, which could increase muscle endurance. Modification of the IGF1/GH gene can lead to muscle hypertrophy, block muscle atrophy. The HIF-1 gene codes proteins involved in the hypoxia process and can increase endurance by facilitating the adaptation of cells to low oxygen conditions. Modifying the PPAR gene can impact carbohydrate and lipid metabolism, regulating body mass. Gene therapy could provide a potential cure for diseases such as acute anemia and muscular dystrophy. However, it is important to consider the ethical and health implications of gene doping.

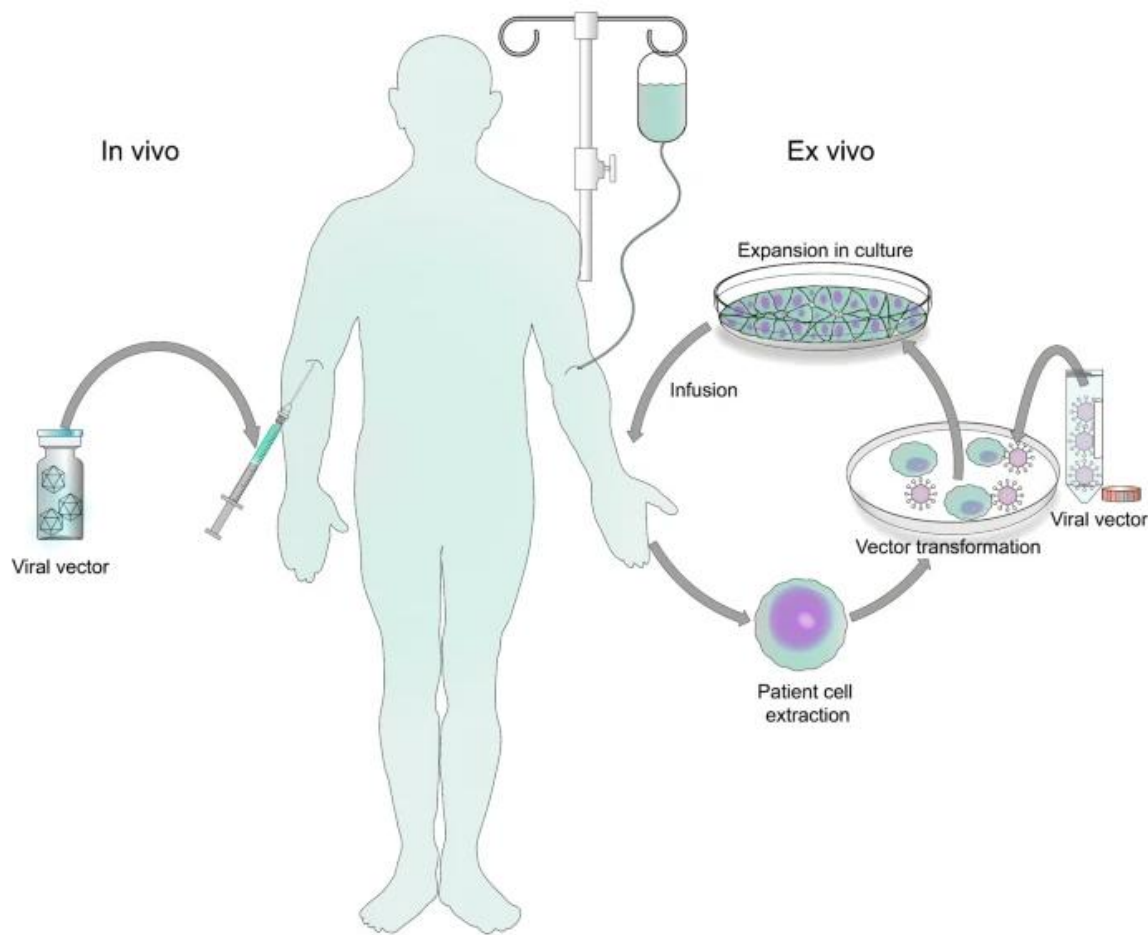
Summary: "Gene doping" is a practice that can lead to improved athletic performance but also to serious health problems. The introduction of regulations and doping tests detecting changes in the genome would exclude this practice among athletes who take risky and morally incorrect actions. Increasing the expression of genes such as EPO, IGF-1, HIF-1, PCK1 results in increased muscle endurance and performance. Further research is needed to understand the exact mechanisms and effects of gene therapy. Genetic modification has the potential to bring benefits such as treating diseases such as acute anemia resulting from kidney failure.

Key words: gene doping, sport

Wprowadzenie

Terapia genowa ma wiele różnych definicji, ale w istocie polega na manipulacji ekspresji konkretnych genów w organizmie pacjenta. Można to osiągnąć poprzez dostarczenie funkcjonalnej wersji genu, który jest wadliwy. Opisuje się dwa główne scenariusze gene dopingu, z czego jeden polega na nadużywaniu „klasycznej” terapii genowej, czyli wprowadzeniu syntetycznych sekwencji DNA za pomocą wirusowych wektorów do organizmu, a drugi opiera się na strategiach interferencji RNA. Transfer genów może być wykorzystany do zmniejszenia ekspresji genów, w celu uniknięcia aktywności szkodliwego genu lub zmodyfikowania odpowiedzi na określony bodziec. Ich transfer może odbywać się zarówno *ex vivo*, jak i *in vivo*. Najczęściej używanymi wektorami są wirusy takie jak Adenowirusy, Lentiwirusy, Herpeswirusy związane z adenowirusami (AAV), a także retrowirusy. [2,3,4,8]

Najczęściej wykorzystywanymi genami, które mogą być przeznaczone do dopingowania genetycznego, są geny kodujące erytropoetynę (EPO), hormon wzrostu (GH), czynnik wzrostu śródbłonnka naczyniowego (VEGF-A i VEGF-D), czynnik wzrostu podobny do insuliny 1 (IGF-1) oraz antagoniści miostatyny, takie jak folistatyna (FST), jednakże genów potencjalnie możliwych do modyfikacji jest zdecydowanie więcej. [1,2,3,4]



Rycina 1. Schemat przedstawiający metody terapii genowej.

(Źródło: <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00487-6>)

Cel pracy

Celem poniższej pracy przeglądowej jest analiza dotępanej literatury naukowej dotyczącej „gene doping” i przedstawienie możliwości wykorzystania genów związanych ze sportem, ze zwróceniem uwagi na ich wady i zalety.

Opis stanu wiedzy

Badania wykazują wykorzystanie minimum 10 potencjalnych genów, których modyfikacja umożliwiłaby doping genowy w celach osiągnięcia korzyści sportowych.

Potencjał modyfikacji genetycznych - zalety

EPO

Gen EPO koduje hormon glikoproteinowy, który zwiększa liczbę czerwonych krwinek, a dzięki temu ilość tlenu we krwi, co zwiększa zaopatrzenie mięśni, działanie to zwiększa przede wszystkim wytrzymałość. Dodatkowe kopie genu EPO mogą być podane za pomocą wirusowego wektora.[4,6] Wykorzystanie modyfikacji tej metody może nieść również szansę do leczenia takich chorób jak np. ostra anemia w wyniku niewydolności nerek, co miało już miejsce w 2002 roku kiedy brytyjska firma wyprodukowała Repoxygen do celów medycznych, który używany był de facto przez niemieckie biegaczki, przez co ten w 2009 roku został przez WADA zakazany. [4,12]

IGF1/GH

Czynnik wzrostu insulinopodobny typu 1 (IGF-1) jest białkiem, które stymuluje proliferację komórkową, wzrost somatyczny i różnicowanie komórek, a w tym hipertrofię mięśni szkieletowych, blokowanie atrofii mięśniowej oraz ochronę dla komórek chrząstki. [3,5,14] Ekspresja alternatywnej wersji IGF-1 w mięśniach szkieletowych transgenicznych myszy wywołała wyraźną hipertrofię mięśni oraz uniknęła starzenia się mięśni i zachowała charakterystyczną dla młodszych zwierząt proliferacyjną odpowiedź na uszkodzenie mięśni. Przenoszenie genów do mięśni za pomocą wektorów wirusowych może również przeciwdziałać starzeniu się mięśni i działać addytywnie do efektów treningu na hipertrofię mięśni. Istnieje zatem potencjał, że zwiększona ekspresja pewnych wersji alternatywnych IGF-1 w mięśniach szkieletowych może zwiększyć siłę u sportowców, a także poprawić moc i regenerację. [3,6] Wstrzykiwanie izoformy IGF-1 szczurom za pomocą adenowirusów oraz późniejsze użycie treningu oporowego wykazało, że efekt był znacznie wzmocniony w połączeniu z aktywnością fizyczną; u ćwiczących szczurów zanotowano wzrost masy mięśniowej o 31,8%, podczas gdy u niećwiczących wzrost wyniósł 14,8%. [14] Modyfikacja IGF-1 może również znaleźć zastosowanie w leczeniu dystrofii mięśniowych. [12]

HIF-1

Gen HIF-1 koduje białka zaangażowane w proces hipoksji, angiogenezy i aktywacji erytropoezy, lub regulacji metabolizmu glukozy. HIF-1 reguluje homeostazę tlenu, ułatwiając adaptację komórek do warunków niskiego tlenu. HIF-1 wpływa na erytropoezę, metabolizm

żelaza, regulację pH, apoptozę, proliferację komórek i interakcje wewnątrzkomórkowe. [4] Doping związany ze stymulacją ekspresji HIF-1 w normalnych warunkach utleniania, np. za pomocą substancji chemicznych lub transferu genów do komórek, może poprawić wytrzymałość sportową. [4] W zmienionej mutacyjnie postaci HIF-1a jest konstytutywnie aktywny i może być dostarczony do mięśni genetycznie, aby zwiększyć ich unaczynienie i potencjalnie promować erytropoezę. [5] Na podstawie badań na zwierzętach i wczesnych próbach klinicznych u ludzi, uważa się, że HIF-1 podany jako terapia genowa skutecznie indukuje neowaskularyzację w tkankach niedokrwiennych. [4]

PPAR

Rodzina receptorów PPAR składa się z następujących genów: PPARA (α), PPARD (δ) i PPARG (γ). PPAR- α wpływa na metabolizm węglowodanów i lipidów, regulując tym samym homeostazę i masę ciała. [4] Ekspresja aktywnej formy receptora PPAR-d (receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów d) w mięśniach szkieletowych zwiększyło wytrzymałość biegnących myszy transgenicznych o dwa razy w stosunku do ich dzikiego rodzeństwa. [3,11] Ekspresja PPAR d indukowała właściwości wolnych mięśni u dorosłych szczurów po somatycznym przeniesieniu genów. To sprawia, że wykorzystanie PPAR-d może poprawić zdolności wytrzymałościowe poprzez zwiększenie komponenty mięśni wolnokurczliwych u sportowców. [3] Istnieją również doniesienia, iż wpływanie na rec. PPARD jego agonistą zwiększało wysiłek o 60-70% u myszy poddanych badaniu względem grupy kontrolnej. [4]

MSTN

Miostatyna jest interesującym białkiem, ponieważ jest inhibitorem wzrostu mięśni. [3] Ostatnie prace przeprowadzone u koni wyścigowych wykazały również związek różnych polimorfizmów tego genu z przydatnością do wyścigów sprinterskich lub wytrzymałościowych. Poprzez zapobieganie działaniu miostatyny może być możliwe zwiększenie wzrostu mięśni, a jednym ze sposobów osiągnięcia tego może być zastosowanie innego endogennego białka o nazwie folistatyna. Miostatyna wiąże się z receptorami aktywiny typu II szczególnie Act RIIB, a interakcja ta może być hamowana. Po dostarczeniu wektora kodującego gen odpowiadający za ekspresję folistatyny, zaobserwowano wzrost rozmiaru mięśnia o 15%. zaobserwowano wzrost wielkości mięśnia o 15%, podczas gdy siła, mierzona siłą skurczu, wzrosła o 26,3%, a zmiany te utrzymywały się przez 6 miesięcy

trwania eksperymentu. [3] Wykazano również, że mutacje MSTN (genu kodującego miostatynę), które prowadzą do nieaktywnego produktu genu, powodują podwójną masy mięśni szkieletowych u myszy, owiec i bydła. [6]

ACTN2 i ACTN3

Alfa-aktyny utrzymują strukturę macierzy miofibryli i regulują skurcz miofibryli składających się na mięsień. Stwierdzono, że zawodnicy uprawiający sporty sprinterskie w porównaniu z grupami kontrolnymi mają więcej A-aktyny-3. Z korelacji częstotliwości A-Aktyny-3 z szybkimi twitch myofibers, można wnioskować, że ten allel ten ma pozytywny wpływ na siłę i prędkość akcji mięśniowej. Inne doniesienia wskazują, że ACTN2 ma wpływ na wytrzymałość mięśniową. [7] Wykazano zwiększone tempo metabolizmu glukozy w odpowiedzi na trening, zwiększoną wytrzymałość i siłę mięśni, a także szybkość. [4]

VEGFA

Czynniki angiogenne są mediatorami procesu angiogenezy w odpowiedzi na hipoksję i stan kiedy organizm cierpi na niedobory tlenu oraz zmiany metaboliczne po treningu w mięśniach szkieletowych. [7] Stosowanie czynników angiogenicznych przez sportowców zwiększa potencjał układu krążenia poprzez zwiększenie naczyń krwionośnych, tlenu i składników odżywczych dla wszystkich narządów. [7,12]

POMC/PENK

Gen odpowiedzialny za kodowanie proopiomelanokortyny odpowiedzialnej za znoszenie bólu. [12] Dzięki jego modyfikacji możliwa byłaby modulacja progu percepcji bólu, a co za tym idzie zwiększenie wytrzymałości w czasie treningu. [4] Geny zwiększające ilość tych peptydów mogłyby być również wykorzystane w łagodzeniu silnego bólu w chorobach i urazach u sportowców. [7]

ACE

Stwierdzono, że ciągle tłumienie enzymu konwertującego angiotensynę rozwija wydolność aerobową. [7] Wykazano, że różne odmiany genu determinują potencjał wytrzymałościowy u sportowców. [6]

PCK1

Jest to gen kodujący kluczowy enzym regulujący glukoneogenezę. Enzym ten bierze udział w homeostazie glukozy i w cyklu Krebsa. [4] Przeniesienie genu fosfolipirogronianu karboksylazy (Pck1) spowodowało zwiększenie aktywności myszy transgenicznych, wzrost siły i szybkości podczas biegu, a dodatkowo myszy te charakteryzowały się niższą masą i zawartością tłuszczu w porównaniu z myszami kontrolnymi. [4,7]

Wady dopingu genetycznego

EPO

Za ryzyko z jakim wiąże się modyfikacja genu odpowiadającego za erytropoetynę są odpowiedzialne działania niepożądane w postaci wzrostu lepkości krwi, a przez to zatorów, udarów mózgu, zawałów serca czy też ostrej reakcji zapalnej wynikającej z podaży genu. Modyfikacja ta może również podnosić ciśnienie tętnicze krwi. [7]

IGF1/GH

Hormon wzrostu i IGF-1 są silnymi mitogenami i przeciwzapalnymi czynnikami, co może prowadzić do zwiększonego ryzyka onkogenezy, a wiele przeprowadzonych badań podkreśla to ryzyko. [3] Nadmierna produkcja hormonu wzrostu wiąże się również z nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym, bólami głowy, obrzękiem kończyn, zespołem cieśni nadgarstka, bólami stawów i mięśni oraz kardiomegalią u osób trenujących. [4]

HIF-1

Zmiany molekularne w komórkach wywołane nadmierną ekspresją HIF-1 mogą prowadzić do zawału serca, udaru mózgu czy też raka. [4] Dzieje się tak poprzez stymulację genów kodujących geny angiogenne, takie jak np. czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF), angiotensyna 1, angiotensyna 2. [7]

PPAR

Nie ma żadnych badań dotyczących ryzyka zdrowotnego i skutków ubocznych stosowania genów PPARs. Z fizjologicznego punktu widzenia możliwa jest nadmierna produkcja hormonów płciowych i zaburzenia metaboliczne. [4,7]

MSTN

Jednym ze skutków ubocznych terapii genowej i dopingu blokerami miostatyny jest nadmierna ekspresja tych genów i zwiększenie masy mięśni ponad ich naturalny rozmiar, co w efekcie zwiększa przeciążenia na ścięgna i kości. Szybki wzrost mięśni może również prowadzić do kardiomiopatii przerostowej serca. [7]

ACTN2 i ACTN3

Nie przeprowadzono badania skutków ubocznych i ryzyka zdrowotnego z użyciem ACTN. [4,7]

VEGFA

Możliwe jest indukowanie nowotworów oraz tworzenie patologicznych naczyń krwionośnych. [4,6,7]

POMC/PENK

Badania wykazały zwiększony stres, ryzyko przeciążenia układu mięśniowo-szkieletowego oraz układu sercowo-naczyniowego. Możliwa jest również nagła śmierć. [7]

ACE

Po zastosowaniu możliwe jest wystąpienie obrzęku naczynioruchowego, chorób nerek oraz układu krążenia. [6]

PCK1

Nie przeprowadzono badań dotyczących skutków ubocznych lub ryzyka stosowania PCK w sporcie, ani nie odnotowano użycia genu PCK1 jako doping. [7,4]

Podejście WADA (World Anti-Doping Agency)

Od 2003 roku gene doping widnieje na liście zakazanych środków dopingowych stworzonej przez WADA, [2,4] jednak nadal nie ustandaryzowano testów dotyczących prób stosowania takiego oszustwa. [5] W innym artykule jednak Pizzatti i współpracownicy związani z olimpijskim laboratorium antydopingowym w Rio de Janeiro stwierdzają, że wraz z postępem technik w dziedzinie biologii molekularnej, możliwości wykrywania dopingów genowych

odpowiednio wzrastają. [10] Przed 2020 rokiem trwały prace na temat nowej technologii, która miała na celu wykrywanie gene dopingu na Olimpiadzie w Tokio. [13]

Badacze podnoszą głos w sprawie gene dopingu. Niezależnie od tego, czy i w jaki sposób sportowcy stosują genowy doping, badania genetyczne i genomowe już zmieniły charakter sportu. Można z populacji ogólnej za pomocą testów genetycznych wybierać osoby predysponowane do określonych dyscyplin sportowych. [9] Pytanie brzmi zatem czy nauka zabija sport? [9]

Podsumowanie

1. “Gene doping” to kontrowersyjna praktyka, która może prowadzić do zwiększenia wydajności sportowej, ale jednocześnie do poważnych problemów zdrowotnych i nierównych szans w sporcie
2. Zwiększenie ekspresji takich genów jak np. EPO, IGF-1, HIF-1, PCK1 skutkuje zwiększeniem wytrzymałości i wydajności mięśni.
3. Wprowadzenie regulacji i ustandaryzowanych testów antydopingowych, wykrywających zmianę w genomie, z pewnością wykluczyłoby stosowanie tej praktyki wśród sportowców podejmujących ryzykowne oraz niepoprawne moralnie działania.
4. Modyfikacja genetyczna ma potencjał w leczeniu takich chorób jak obwodowe niedokrwienie kończyn, anemia czy też dystrofia mięśniowa.
5. Potrzebne są kolejne badania, aby poznać dokładne mechanizmy i skutki terapii genowej na organizm człowieka.

References

[1]Verma IM. Doping, gene transfer and sport. *Mol Ther.* 2004 Sep;10(3):405. doi: 10.1016/j.ymthe.2004.08.004. PMID: 15336640.

[2]Pokrywka A, Kaliszewski P, Majorczyk E, Zembroń-Łacny A. Genes in sport and doping. *Biol Sport.* 2013 Sep;30(3):155-61. doi: 10.5604/20831862.1059606. Epub 2013 Jul 22. PMID: 24744482; PMCID: PMC3944571.

[3]Wells DJ. Gene doping: the hype and the reality. *Br J Pharmacol.* 2008 Jun;154(3):623-31. doi: 10.1038/bjp.2008.144. Epub 2008 Apr 21. PMID: 18500383; PMCID: PMC2439520.

- [4]Brzeziańska E, Domańska D, Jegier A. Gene doping in sport - perspectives and risks. *Biol Sport*. 2014 Dec;31(4):251-9. doi: 10.5604/20831862.1120931. Epub 2014 Sep 12. PMID: 25435666; PMCID: PMC4203840.
- [5]Gould D. Gene doping: gene delivery for olympic victory. *Br J Clin Pharmacol*. 2013 Aug;76(2):292-8. doi: 10.1111/bcp.12010. PMID: 23082866; PMCID: PMC3731603.
- [6]Ginevičienė V, Utkus A, Pranckevičienė E, Semenova EA, Hall ECR, Ahmetov II. Perspectives in Sports Genomics. *Biomedicines*. 2022 Jan 27;10(2):298. doi: 10.3390/biomedicines10020298. PMID: 35203507; PMCID: PMC8869752.
- [7]Fallahi A, Ravasi A, Farhud D. Genetic doping and health damages. *Iran J Public Health*. 2011;40(1):1-14. Epub 2011 Mar 31. PMID: 23113049; PMCID: PMC3481729.
- [8]Trent RJ, Alexander IE. Gene therapy in sport. *Br J Sports Med*. 2006 Jan;40(1):4-5. doi: 10.1136/bjism.2005.021709. PMID: 16371483; PMCID: PMC2491914.
- [9]Filipp F. Is science killing sport? Gene therapy and its possible abuse in doping. *EMBO Rep*. 2007 May;8(5):433-5. doi: 10.1038/sj.embor.7400968. PMID: 17471256; PMCID: PMC1866212.
- [10]Cowan DA. Antidoping analysis: a special focus. *Bioanalysis*. 2020 Jun;12(11):707-709. doi: 10.4155/bio-2020-0142. PMID: 32639206.
- [11]Gundersen K. Genteknologi og idrettsprestasjoner [Gene technology and sports achievements]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2005 Jan 6;125(1):16. Norwegian. PMID: 15643455.
- [12]Baoutina A, Alexander IE, Rasko JE, Emslie KR. Potential use of gene transfer in athletic performance enhancement. *Mol Ther*. 2007 Oct;15(10):1751-66. doi: 10.1038/sj.mt.6300278. Epub 2007 Aug 7. PMID: 17680029.
- [13]John R, Dhillon MS, Dhillon S. Genetics and the Elite Athlete: Our Understanding in 2020. *Indian J Orthop*. 2020 Mar 11;54(3):256-263. doi: 10.1007/s43465-020-00056-z. PMID: 32399143; PMCID: PMC7205921.
- [14]Battery L, Solomon A, Gould D. Gene doping: Olympic genes for Olympic dreams. *J R Soc Med*. 2011 Dec;104(12):494-500. doi: 10.1258/jrsm.2011.110240. PMID: 22179292; PMCID: PMC3241516.