Coordinador: Fabio Salamanca-Gómez

Dopaje genético: transferencia génica y su posible detección molecular

Carlos Francisco Argüelles[a]* y Edgar Hernández-Zamora[b]

[a]Departamento de Farmacología del Deporte y [b]Servicio de Genética, Instituto Nacional de Rehabilitación, México, D.F., México

Resumen

El uso de sustancias prohibidas en el deporte con el propósito de incrementar el rendimiento en las competencias deportivas ha provocado que los organismos internacionales en el ámbito deportivo, como el COI y la WADA, traten de tomar medidas en contra del dopaje. Uno de los métodos más recientes de dopaje es el denominado dopaje genético, definido como el uso no terapéutico de genes, elementos genéticos y/o células que tienen la capacidad de incrementar el rendimiento atlético. Ahora bien, el dopaje genético no es fácil de detectar y puede tener consecuencias graves. Es necesario usar técnicas de biología molecular para conocer la diferencia entre un genoma "normal" y un genoma "alterado", desarrollar métodos analíticos y moleculares en los laboratorios de control del dopaje y trabajar en políticas apropiadas para evitar el uso no terapéutico de genes.

Palabras claves:
Dopaje genético, transferencia génica, rendimiento atlético

Summary

The use of illegal substances in sports to enhance athletic performance during competition has caused international sports organizations such as the COI and WADA to take anti doping measures. A new doping method know as gene doping is defined as "the non-therapeutic use of genes, genetic elements and/or cells that have the capacity to enhance athletic performance*". However, gene doping in sports is not easily identified and can cause serious consequences. Molecular biology techniques are needed in order to distinguish the difference between a "normal" and an "altered" genome. Further, we need to develop new analytic methods and biological molecular techniques in anti-doping laboratories, and design programs that avoid the non therapeutic use of genes.*

Keywords:
Gene doping, gene transfer, athletic performance

Generalidades

La competencia, los concursos y la psicología de ganar y de ser superior a los demás responden a un comportamiento que siempre ha estado presente en el hombre a través de toda la historia de la especie humana. Además de su aceptación en la sociedad, el hecho de ganar y de ser superior provee beneficios económicos y otorga un mejor status en las sociedades modernas. A través de la historia, estos beneficios han provocado que los atletas abusen de un sin número de métodos y sustancias prohibidos en el deporte lo que comúnmente se conoce como dopaje o doping.[1,2]

El dopaje está definido como la presencia de sustancias prohibidas (drogas o fármacos que incrementen el rendimiento de un atleta), sus metabolitos o marcadores en una muestra (sangre, orina) de un atleta, administración o intento de administración de una sustancia prohibida o métodos prohibidos. Hablamos, por ejemplo, de sustancias que favorecen el incremento de la transferencia de oxígeno (dopaje sanguíneo), productos que incrementen el consumo, transporte o entrega de oxígeno; manipulación farmacológica, química o física y dopaje genético.[3]

¿Qué es el dopaje genético?

La definición de *dopaje genético* es el uso no terapéutico de genes, elementos genéticos y/o células que tienen la capacidad de incrementar el rendimiento de un atleta.[4] La aplicación de la terapia génica implica la transferencia de genes o de secuencias de DNA con un objetivo terapéutico en algunas patologías; sin embargo, este tipo de transferencia puede ser utilizado en manipulaciones génicas para incrementar el rendimiento deportivo y obtener ventajas sobre los demás

* Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Carlos Francisco Argüelles. Departamento de Farmacología y Servicio de Genética, Instituto Nacional de Rehabilitación, Calzada México-Xochimilco 289, Col. Arenal de Guadalupe, Del. Tlalpan. 14389 México, D.F., México. Tel.: (52 55) 5999-1000 exts. 13120 y 19405, Fax: (52 55) 5645-5603. Correo electrónico: cfarguelles@prodygy.net.mx

competidores. Por ello, es necesario desarrollar técnicas moleculares específicas capaces de detectar las diferencias genéticas inducidas en el genoma de los atletas (Figura 1).[5-8]

La transferencia génica

Estrictamente hablando, la transferencia génica es la incorporación, en una célula, de un gen o fragmento de material genético de manera artificial. Este procedimiento se puede realizar de diferentes formas; entre los métodos de aplicación, debemos distinguir la transferencia *ex vivo* cuando los genes se transfieren a células en cultivo extraídas del individuo y son reincorporadas posteriormente al organismo y la transferencia *in vivo* cuando los genes se transfieren directamente al sujeto de estudio, por vías intravenosa, intramuscular o intradérmica, por ejemplo. Una variante de esta última modalidad es la transferencia *in situ* si el tratamiento es realizado directamente en un órgano en particular.[9]

Desde un punto de vista teórico se pueden elaborar distintas estrategias de acuerdo con los objetivos que se persigan. La transferencia más común y más simple consiste en la inserción génica, es decir, la introducción en las células tratadas de una copia de gen "normal". Esta técnica también es conocida como terapia de aumento génico (TAG) por el efecto que produce. En la práctica, son muchas las dificultades para aplicar con éxito la mayor parte de estas estrategias y los resultados obtenidos hasta ahora han sido mucho más modestos de lo que en un principio se esperaba.
El procedimiento estándar más utilizado incluye, de modo muy esquemático, los siguientes pasos:

1) Identificación, aislamiento y amplificación del gen que va a ser utilizado para la transferencia,
2) extracción y cultivo *in vitro* de las células de interés,
3) transferencia del gen al interior de las células mediante un vector.

El gen transferido debe llevar alguna secuencia promotora que permita su expresión y debe también ir acompañado de algún marcador que permita identificar las células a las que se ha incorporado. A continuación se transfieren las células seleccionadas con el gen incorporado al sujeto en espera de que ejerzan la función fisiológica esperada. Uno de los pasos cruciales que mayores problemas ha planteado hasta ahora ha sido la selección del vector adecuado para la transferencia génica. Los principales tipos de vectores son los virus, los liposomas, los conjugados moleculares y el DNA desnudo.[9]

Desarrollo muscular y genómica

Cada ser humano tiene aproximadamente 30,000 genes que determinan el crecimiento, desarrollo y funcionamiento de nuestros sistemas físicos y bioquímicos. Normalmente, los genes se encuentran distribuidos, dentro de nuestras células, en 46 cromosomas (23 pares). Los pares del 1 al 22 son iguales en hombres y mujeres y se conocen como cromosomas autosómicos. El par 23 está compuesto por los cromosomas que determinan el sexo. Existen diversos genes involucrados en el crecimiento, desarrollo, resistencia, potencia y metabolismo energético de los músculos esqueléticos, así como genes involucrados en la expresión y síntesis de transportadores de membrana, uniones neuromusculares, neurotransmisores, factores de crecimiento, hormonas proteicas y no proteicas, entre muchos otros factores que pueden influir o alterar el desarrollo y la eficiencia muscular en un individuo. Sin embargo, se han realizado pocos estudios como lo reportado

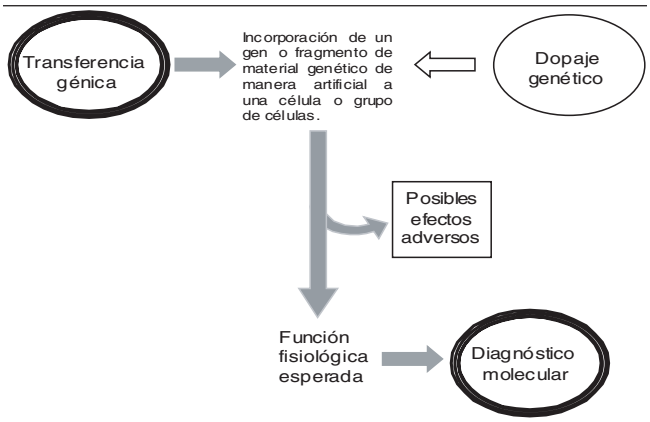

Figura 1. Diagrama general de transferencia de genes, dopaje genético y diagnóstico.

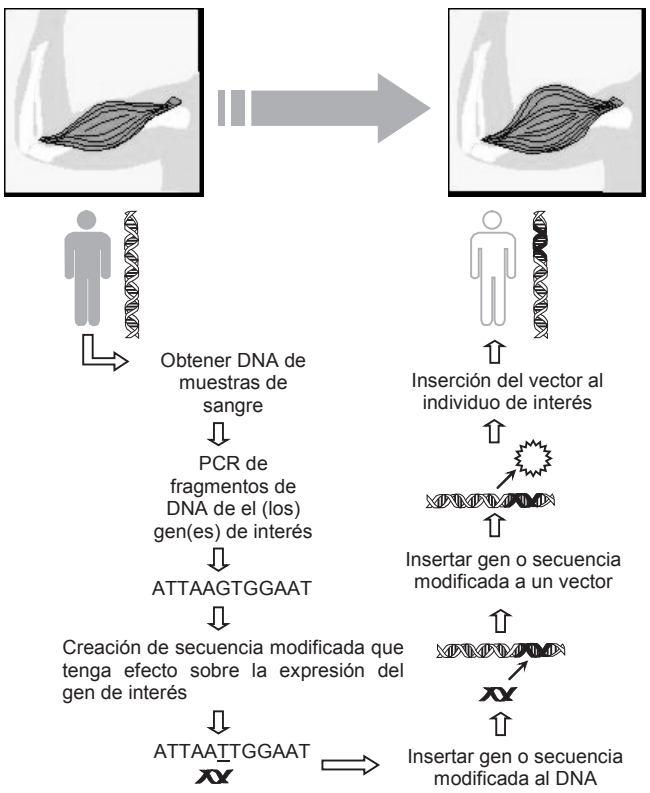

Figura 2. Descripción general de la transferencia génica.

por Lee y McPherron en 1999 donde observaron un incremento en la hipertrofia y la fuerza de los músculos de ratón al retirar el gen de la miostatina.[10-14] Se muestra en la figura 2 un ejemplo en el cual se establece un proceso general de transferencia génica aplicado a la expresión fenotípica de un aumento del desarrollo muscular.

Para comprender cuáles serían los posibles procesos involucrados en el dopaje genético es necesario conocer las bases de disciplinas como la biología molecular y la genética (terapia génica).

La biología molecular es el campo científico relacionado con el estudio de las estructuras químicas y de los procesos biológicos a nivel molecular; centrada en el estudio de proteínas y ácidos nucleicos, busca comprender la estructura tridimensional y la base molecular de los procesos genéticos. La información generada por el Proyecto Genoma Humano (PGH) y una nueva disciplina, la genómica, comienza a tener grandes repercusiones en la sociedad, la medicina (medicina genómica), la farmacología (farmacogenómica), la epidemiología (genética de población), la medicina del deporte y la legislación del genoma, entre otras áreas. El conocimiento de nuestros genes y de la variabilidad individual que presentan permite identificar la causa de diferentes patologías que, en ocasiones, no dependen de un solo factor genético sino de una amplia gama de alteraciones que intervienen en la patogénesis de las enfermedades hereditarias o, simplemente, en la expresión fenotípica del gen.

A partir de esto, es posible desarrollar métodos de diagnóstico molecular, prenatal y presintomático, e implementar medidas preventivas y el diseño de nuevos tratamientos así como el desarrollo de nuevos fármacos. Hoy sabemos que el ser humano cuenta con una amplia gama de genes que están involucrados en enfermedades como el cáncer, diabetes, enfermedades infecciosas, cardiacas, neurológicas y psiquiátricas. Así mismo, el desarrollo de las pruebas moleculares está permitiendo la selección de la farmacoterapia adecuada y el diseño de un tratamiento personalizado que es el objetivo principal de la farmacogenómica. La medicina genómica requiere que los profesionales de la salud, los pacientes y el público en general comprendan los conceptos básicos de la biología molecular y adquieran la información necesaria para tomar decisiones con respecto a su forma y hábitos de vida, así como a su conducta reproductiva.[8,9]

De manera similar a la biología molecular, la terapia génica es otra de las áreas que se ha desarrollado en los últimos años que, a diferencia de las pruebas de diagnóstico molecular, está orientada no al diagnóstico sino a la cura de las enfermedades. Aunque la investigación en terapia génica ha avanzado de forma paralela al Proyecto del Genoma Humano (PGH), no puede ser considerada una consecuencia directa del mismo. La terapia génica ha sido posible gracias a la confluencia de los avances del conocimiento en campos como biología molecular, genética, virología, bioquímica y biofísica, entre otras áreas del conocimiento y no cabe duda que la elucidación completa del genoma humano, en la medida que permita el conocimiento de todos los genes, dará un impulso muy importante a la terapia génica.[15]

Posibles métodos moleculares para detección del dopaje genético

Lo anterior mencionado hace suponer que ya existe la posibilidad del uso de la transferencia genética como un instrumento para mejorar el rendimiento de un atleta, lo que se ha denominado dopaje genético; sin embargo, aún existen pocas pruebas de este hecho. Para comprobar lo que realmente ocurre, de nueva cuenta, se debe "echar mano" de las técnicas moleculares mediante las cuales sería posible detectar la diferencia entre un genoma "normal" y un genoma "alterado".

El desarrollo de las pruebas moleculares se puede resumir en los siguientes pasos:

1) Extracción de DNA o RNA de muestras de sangre o tejido del sujeto de estudio;
2) amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (*polimerase chain reaction, PCR*) o transcripción reversa-PCR (*reverse transcription-PCR o RT-PCR*);
3) estudio de las secuencias de interés mediante sondas, marcadores, polimorfismos de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphisms, SNPs*), polimorfismos de fragmentos de restricción de longitud (*restriction fragment length polymorphisms, RFLPs*), biosensores, entre una amplia gama de posibles técnicas moleculares que se desarrollan de manera rutinaria hoy en día (Figura 3).

Uno de los principales inconvenientes de estas pruebas, es la selección de las regiones del genoma a estudiar, debido a que existen diferentes genes que codifican para proteínas musculares, proteínas asociadas con las funciones respiratorias o energéticas, proteínas asociadas con neurotransmisores cerebrales u hormonas que podrían, todas ellas, de manera particular o en conjunto, mejorar o incrementar el rendimiento de un atleta. Por esta razón, surge la pregunta ¿qué genes o regiones específicas se tienen que incluir en una prueba de detección de dopaje genético? Además, es importante hacer notar que en la expresión de un gen no siempre se encontrarán alteraciones del genoma, sino la expresión de éste, el fragmento de DNA trascrito como RNA mensajero (mRNA) y, por tanto, las proteínas funcionales. Por ello entre las técnicas moleculares sugeridas en los pasos anteriores, se encuentra la RT-PCR que permite estudiar el RNA; en este caso el principal problema volverá a ser la selección de las regiones del genoma que se estudiarán, los RNAs específicos que codifican o que intervienen en la traducción de diferentes proteínas; más aún, en algunas ocasiones, una misma proteína es traducida por diferentes RNAs.[16]

Se sabe que el uso de sustancias y métodos prohibidos (drogas, fármacos, manipulación farmacológica, "transferencia génica", etc.) con el propósito de incrementar el rendimiento en las competencias deportivas ha estado presente desde tiempos antiguos; el impacto que ha tenido en los últimos años debido a la muerte de atletas ha provocado que los organismos internacionales en el ámbito deportivo, tales como el Comité Olímpico Internacional (COI) y la Agencia Mundial Antidopaje WADA (World Anti-Doping Agency), establezcan la regulación correspondiente y realicen revisiones

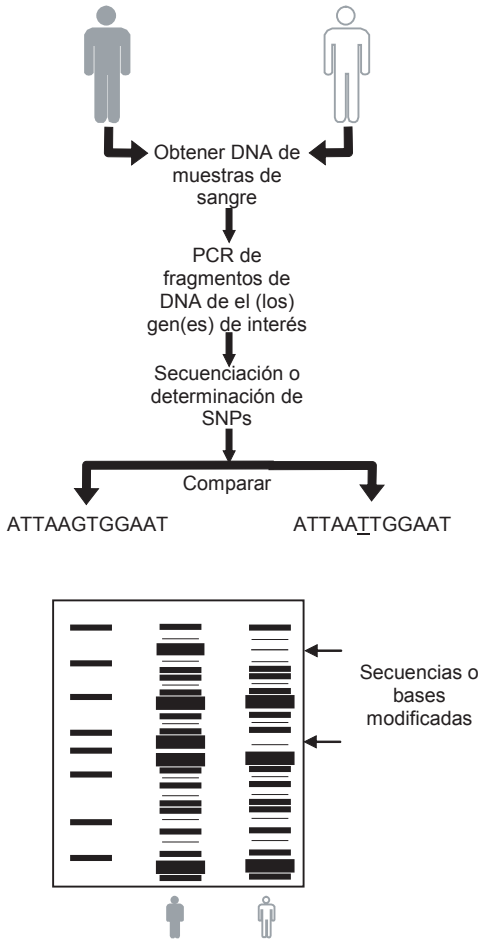

Figura 3. Diagnóstico molecular.

periódicas en relación con el uso de estas sustancias, apoyándose en el hecho de que las ayudas artificiales causan desigualdad de oportunidad entre los deportistas, violando de esta forma la ética deportiva y el espíritu olímpico. Además atentan contra la integridad física de los atletas.

La WADA publica el código mundial antidopaje. Es el documento universal y fundamental de referencia para el programa de control del dopaje en el deporte. La propuesta es avanzar en la lucha contra el dopaje mediante la armonización universal de los elementos del código que proteja el derecho de los atletas a participar en las diferentes disciplinas deportivas sin dopaje, que promueva, a nivel mundial, la salud, imparcialidad e igualdad para los atletas y que asegure programas antidopaje armonizados, coordinados y efectivos a nivel nacional e internacional con estima para la detección, disuasión y prevención del dopaje.[2-4]

Como se puede apreciar el control del dopaje y ahora la detección del dopaje genético en el deporte no es tan simple o sencilla. La transferencia de genes puede fallar como ocurrió con el dopaje sanguíneo y el abuso de la eritropoietina (EPO), debido a la falta de nuevos métodos analíticos y moleculares en los laboratorios de control de dopaje.[16] Por otro lado, la información adquirida con la elucidación del genoma humano ofrece, a los científicos, los elementos para el desarrollo de mejores pruebas.

Es importante que, en el campo de las competencias deportivas, los gobiernos y las organizaciones del deporte (COI, WADA) estén trabajando en conjunto para establecer políticas apropiadas que eviten el uso del dopaje genético.[17-19]

Referencias

1. **Hincal AA, Dalkara S.** Anti-doping education and legal aspects of doping control. Regional AENOC Course. 1991 May 1-3; Ankara http://www.wilhelm-gym.de/html/sport/doping/wako.htm
2. **World Anti-Doping Agency (WADA).** Conference sheds light on the potential of gene doping. Conference on Gene Doping; 2002 Mar 20; New York., http://www.wilhelm-gym.de/html/sport/doping/wako.htm
3. **Código Mundial Antidopaje,** versión 3, 20 de febrero de 2003 http://www.wada-ama.org/en
4. **Código Mundial Antidopaje, 2004.** http://www.wada-ama.org/en
5. **Unal M, Ozer Unal D.** Gene doping in sport. Sports Med. 2004; 34(6):357-362.
6. **Farnaz K.** Prospect of gene doping in sport to be explored by leading scientists and sports officials. WADA press room, Mar 15, 2002 (online). Available from URL: http://www.wada-ama.org
7. **Friedmann T, Koss JO.** Gene transfer and athletics- an impending problem. Mol Ther 2001;3:819-820.
8. **Sherling P.** Gene doping, ISM/UCL conference on Genes in Sport; 2001 Nov. 30 (online). Available from URL: http://www.archway.ac.uk/activities/department/SHHP/currens/dfrugs-gene.htm
9. **Melman A.** Gene transfer for the therapy of erectile dysfunction: progress in the 21st century. Int J Impot Res 2006;18:19-25.
10. **Lee SJ, McPherron AC.** Myostatin and the control of skeletal muscle mass. Curr Opin Gene Dev 1999;9:604-607.
11. **Engel LW.** The Human Genome Project. History, goals, and progress to date. Arch Pathol Lab Med 1993;117:459-465.
12. **Roberts L, Davenport RJ, Pennisi E, Marshall E.** A history of the Human Genome Project. Science 2001;291:1195.
13. **Rogers J.** The finished genome sequence of Homo sapiens. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 2003; 68:1-11.
14. **Chiche J.D. Cariou A, Mira JP.** Bench-to-bedside review: Fulfilling promises of the Human Genome Project. Crit Care 2002;6:212-215.
15. **DiCecco J.** Gene Doping: Creating the super-athlete Biomedical seminar I; 2002 Feb 25 (online) Available from URL: http://www.ele.uri.edu/courses/ele282/S02/JohnD_1.pdf
16. **Unal M, Unal Ozer D.** Doping Kullaniminin tarihcesi. Med Bull Istanbul Med Fac 2003;66:165.
17. **Azzazy HM, Mansour MM.** Christenson RH. Doping in the recombinant era: Strategies and counterstrategies. Clin. Biochem 2005;38:959-965.
18. **Lippi G, Guidi GC.** Gene manipulation and improvement of athletic performances: new strategies in blood doping. Br J Sports Med 2004;38:641.
19. **McCrory P.** Super athletes or gene cheats?. Br J Sports Med 2003;37:192-193.