

M3. Génový doping

Definícia

Génový doping má potenciál zvýšiť športový výkon, a preto Svetová antidopingová agentúra (WADA) zakazuje nasledujúce metódy génového dopingu:

1. Použitie nukleových kyselín alebo ich analógov.
2. Použitie geneticky modifikovaných činidiel, ktoré sa môžu použiť na modifikáciu génových sekvencií a/alebo transkripčnej, post-transkripčnej alebo epigenetickej regulácie génovej expície.
3. Použitie normálnych alebo geneticky modifikovaných buniek.

Základným rozdielom medzi génovým dopingom a konvenčnými dopingovými metódami je skutočnosť, že namiesto zakázaných látok (napr. anaboliká, hormóny alebo krv - pri krvnom doping) sa do tela zavádza genetický materiál alebo iné látky, ktoré modifikujú reguláciu expície génu.

Tento genetický materiál alebo látky sú schopné v tele priamo ovplyvniť rast svalov, redukciu tuku alebo produkciu špecifických hormónov. Vďaka svojej schopnosti premeniť telo na vlastnú dopingovú továreň je možné, že génový doping bude v budúcnosti dopĺňať alebo dokonca nahrádzať konvenčné dopingové metódy. Ide však o nebezpečnú formu dopingu, nakoľko procesy spustené pomocou modifikácie expície génu už nemožno zvrátiť.



Genetický materiál môže priamo ovplyvniť svalový rast, redukciu tuku alebo tvorbu špecifických hormónov v tele. (Obrázok: BASPO, Gene doping, 2007)

Gény a šport

Každý človek je nositeľom génov, ktoré ho predurčujú k určitým schopnostiam. Pokiaľ ide napríklad o športové schopnosti, niektoré deti sú od malička rýchlejšie ako iné, zatiaľ čo iné deti môžu byť silnejšie, vyššie alebo lepšie koordinované. V týchto rozdieloch zohrávajú veľmi dôležitú úlohu gény. Akým konkrétnym spôsobom sa genotyp nakoniec prejaví (charakter, vonkajšie črty, atď.), závisí aj od vplyvov prostredia.

"Neexistuje žiadny genetický faktor, ktorý by sa dal študovať nezávisle od vplyvov vonkajšieho prostredia, a žiadny environmentálny faktor, ktorého účinok je nezávislý od genómu. Osobnostné vlastnosti sa vyvíjajú zo vzájomnej interakcie génov a faktorov prostredia." (Michael Meaney, expert na génovú expresiu, Kanada).

Gény sú základom športového potenciálu

Skutočnosť, že športový potenciál závisí od genetickej výbavy jedinca, možno ľahko odvodiť z niekoľkých príkladov:

- Najrýchlejší šprintéri sú ľudia s tmavou pleťou.
- Najlepší maratónski bežci pochádzajú z východnej Afriky.
- V gymnastike sú vďaka svojmu vzrastu zvýhodnené ženy pochádzajúce z Ázie.
- Európania dominujú v silových disciplínach.

Vedecky bolo dokázané, že šprintéri sú obdarení rýchlymi svalovými vláknami (rýchlo sa sťahujú, ale veľmi rýchlo sa aj unavia). Naproti tomu svaly vytrvalostných bežcov sa sťahujú pomalšie, ale dokážu pracovať oveľa dlhšie. Aj tieto rozdiely možno pripísať génom.

Vedci neustále objavujú gény súvisiace s fyzickým výkonom jedinca. Existujú gény, ktoré určujú typy svalových vlákien, syntézu rastových faktorov alebo hormónov (napr. EPO).



Gény poskytujú základ pre športový potenciál. (Obrázok: BASPO, Gene doping, 2007)

Čo je to gén?

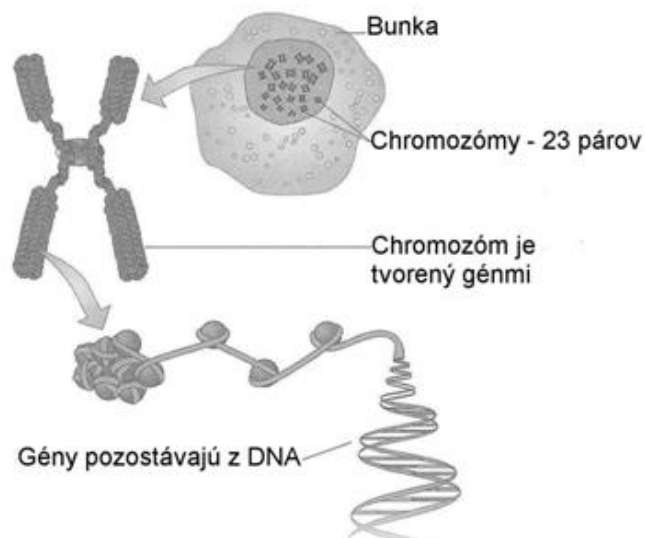
Gén je základná jednotka genetickej informácie (úsek DNA) pre vytvorenie konkrétneho znaku. V užšom zmysle kóduje tvorbu jednej bielkoviny, ktorá v bunke dokáže plniť určitú funkciu. Genetické informácie sú uložené v jadre všetkých eukaryotických buniek, s výnimkou zrelých erytrocytov (červené krvinky).

Deoxyribonukleová kyselina – DNA

DNA vo svojej štruktúre kóduje genetické informácie všetkých organizmov. Bunkám zadáva ich program, a tým predurčuje vývoj a vlastnosti celého organizmu.

DNA je vláknitá a veľmi dlhá molekula. Aby sa zabránilo jej zamotaniu počas bunkového delenia, je skrútená do jednotiek nazývaných chromozómy. Chromozómy sú počas mitózy alebo meiózy viditeľné pod mikroskopom.

Vo väčšine buniek máme obvykle 46 chromozómov. Chromozómy dedíme od svojich rodičov - 23 chromozómov od matky a 23 chromozómov od otca, čiže spolu máme 23 párov chromozómov. Štruktúra DNA sa podobá dvojici nití, ktoré sú spojené priečkami ako povrazový rebrík a skrútené ako točité schodisko. Priečky sú tvorené štyrmi molekulami nazvanými adenín, tymín, guanín a cytozín. Všeobecne sú známe pod symbolmi: A, T, G a C. Každá priečka rebríka je tvorená dvoma z nich - tzv. báзовý pár. V zdanlivo nekonečnej sekvencii týchto štyroch písmen je kódovaná celá genetická informácia organizmu, čo je známe ako genóm. Celý genóm obsahuje u ľudí takmer 10 miliárd párov báz. V istom zmysle je genóm knihou života, napísanou iba štyrmi písmenami.



Bunkové jadro obsahuje genóm vo forme chromozómov. Chromozómy sú tvorené vláknami vysokokompaktnej DNA. (Obrázok: Talking Glossary / National Human Genome Institute)

Prepis a preklad genetickej informácie

Genetické informácie obsiahnuté v genóme musia byť konvertované na génový produkt schopný vykonávať určitú funkciu. Táto konverzia genetickej informácie sa nazýva génová expresia, a predstavuje vyjadrenie genetickej informácie - úseku nukleovej kyseliny (u človeka DNA) do podoby finálneho produktu, ktorým je bielkovina.

Génová expresia zahŕňa dva základné procesy: transkripciu a transláciu - v ktorých sa najskôr tvorí ribonukleová kyselina (RNA), a následne proteíny schopné vykonávať svoju biologickú funkciu.

Transkripcia - prepis

Transkripcia je prvým krokom expresie génu. U eukaryotických organizmov prebieha tento proces v bunkovom jadre.

Ide o prepis genetickej informácie – génu, z miesta jeho lokalizácie v DNA do poradia nukleotidov v messenger-RNA (mRNA). Vždy sa prepisuje iba jedno vlákno DNA a prepis prebieha podľa rovnakých princípov ako replikácia, teda párovaním komplementárnych báz. V konkrétnom čase sa prepisujú len tie gény z celého genómu, ktorých funkcie si telo momentálne vyžaduje. Novovzniknutá mRNA prechádza z bunkového jadra do cytoplazmy, kde začína proces translácie.

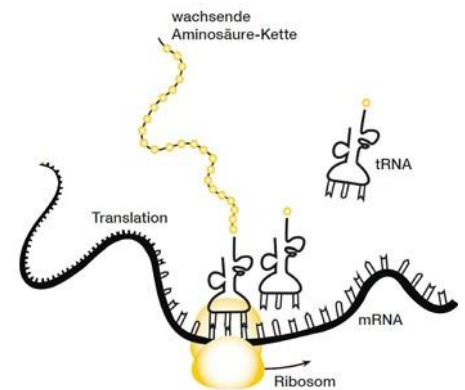
Translácia - preklad

Translácia je preklad genetickej informácie z poradia nukleotidov v mRNA do poradia aminokyselín v polypeptidovom reťazci prostredníctvom genetického kódu. Ide o druhý krok expresie génu, ktorý prebieha v cytoplazme. Na základe genetickej informácie obsiahnutej v mRNA môže bunka syntetizovať proteíny. Táto konverzia genetického kódu na funkčné proteíny sa uskutočňuje bunkovými organelami nazývanými ribozómy.

Na ribozómy sa k jednotlivým kodónom (triplety dusíkatých báz) mRNA dočasne pripájajú svojimi antikodónmi molekuly tRNA nesúce jednotlivé aminokyseliny zo zásoby voľných aminokyselín v cytoplazme. Každá aminokyselina má svoju vlastnú tRNA. Teda ak existuje 20 aminokyselín, existuje 20 rôznych tRNA.

Keď sa tRNA s aminokyselinou pripojí ku kodónu mRNA, utvorí sa peptidová väzba medzi susednými aminokyselinami. tRNA sa uvoľní a môže prenášať ďalšiu aminokyselinu. Postupným pripájaním tRNA s aminokyselinami a ich spájaním polypeptidovou väzbou rastie polypeptidový reťazec novej bielkoviny.

Proteíny zastávajú v organizme pestrú paletu funkcií a podobne ako iné biomakromolekuly sú pre život esenciálne. Sú dôležité pre energetický metabolizmus, bunkový cyklus, transportné mechanizmy, stavebnú funkciu, imunitu, môžu rozpoznávať molekuly poslov alebo pôsobiť ako hormóny.



Translácia v cytoplazme: tRNA nesie aminokyseliny, ktoré majú byť pripojené k rastúcemu peptidovému vláknu na ribozóme. (Obrázok: Talking Glossary / National Human Genome Institute)

Génový doping ako zneužívanie génovej terapie

Medicínsky výskum nevyvíja genetické metódy pre ich využitie v športe. Cieľom génovej terapie je liečiť ľudí s genetickými poruchami. V skutočnosti existuje mnoho geneticky podmienených chorôb: napr. imunodeficiencie, poruchy svalov, či diabetes 1. typu. Pomocou génovej terapie je možná liečba takýchto ochorení nahradením defektných génov kópiami zdravých génov.

Riziká a etické princípy

Z etických dôvodov je vo väčšine krajín génová terapia obmedzená len na telesné bunky (somatická génová terapia). Génová terapia na spermách a vajíčkach (terapia zárodočnej línie) je zakázaná, pretože akákoľvek genetická modifikácia týchto buniek by bola prenesená na potomstvo. Génová terapia zatiaľ nie je štandardným liečebným postupom.



Génová terapia znamená inzerciu DNA alebo RNA do telesných buniek jedinca s cieľom liečenia ochorenia. (Obrázok: BASPO, Gene doping, 2007)

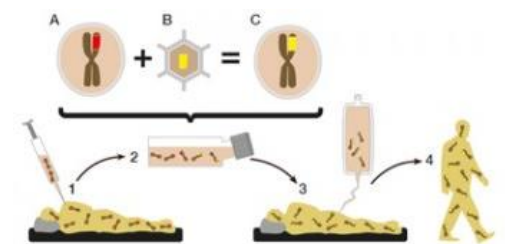
Génový doping pomocou transferu génov

Génový doping je možný pomocou dvoch hlavných spôsobov:

- Prenosom génov do tela športovca.
- Modulovaním vlastných génov športovca.

Doping prenosom génov

Gény nemôžu byť jednoducho naplnené do injekčnej striekačky ako anaboliká alebo EPO. Na prenos génov do ľudského organizmu je potrebný určitý nosič genetickej informácie. Túto úlohu zohrávajú geneticky modifikované vírusy, ktoré sa buď injikujú priamo do krvi športovca alebo sa bunky (napr. bunky kostnej drene zodpovedné za tvorbu krvných buniek) z tela športovca izolujú, dostanú sa do kontaktu s vírusmi v laboratóriu a potom sa znovu vložia do tela športovca.



Obrázok zobrazuje kroky, ktoré sa podieľajú na prenose génu do organizmu za pomoci vírusu. (Obrázok: BASPO, Gene doping, 2007)

Vírusy transportujúce gény

Vírusy nie sú živé organizmy: pozostávajú len z nukleovej kyseliny vlozenej do proteínovej schránky. Rozmnožovať sa môžu iba vo vnútri živej bunky, pretože nemajú vlastný proteosyntetický aparát.

Geneticky modifikované vírusy vpravajú do tela športovca namiesto svojich pôvodných génov spôsobujúcich ochorenie športový gén, ktorý zvýši niektorú z vlastností využiteľných v športe. Vďaka veľkému dopingu EPOm sa najčastejšie špekuluje práve o génoch, ktoré zvyšujú tvorbu červených krviniek. Ďalším z horúcich kandidátov génového dopingu je rastový faktor IGF-I.

Doping pomocou modulácie vlastných génov

Modulovať expresiu génov je možné aj zvonka. Modulácia gébovej expície znamená zapnutie/vypnutie, zvýšenie/zníženie aktivity prirodzených génov organizmu.

To možno dosiahnuť dvoma spôsobmi:

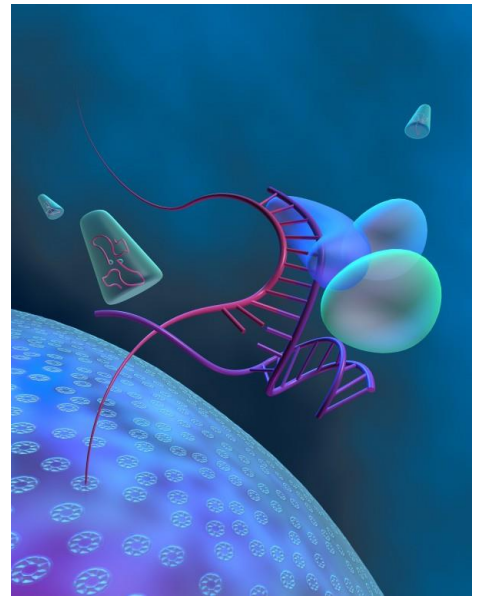
- Použitím malých genetických prvkov
- Pôsobením liečiv

Doping genetickou interferenciou

Namiesto modulácie gébovej expície existuje aj možnosť inaktívácie messenger-RNA. To je možné zavedením malých prvkov (siRNA), ktoré boli upravené tak, aby presne zapadali do cieľového génu. Takýto prvok sa viaže na mRNA predtým, ako ho ribozómy môžu použiť na výrobu génového produktu. Ide o interferenciu RNA, kedy sa preruší preklad genetickej informácie, čím sa blokuje napr. tvorba nových vírusov. V súčasnosti sa celosvetovo vynakladá úsilie na vyvinutie liečby širokého spektra ochorení, napr. vírusové infekcie ako je AIDS, hepatitída, či rakovina.

Doping pomocou liečiv

V tomto kontexte „liečivá“ znamenajú činidlá, ktoré sa používajú na modifikáciu sekvencie génov alebo transkripčnú reguláciu gébovej expície. Ak majú geneticky modifikované látky potenciál zlepšiť výkon, potom sú v športe zakázané.



Krátke interferujúce RNA sekvencie (siRNA) majú potenciál blokovat' infekciu HIV. Dvojité vlákno siRNA (fialové) sa viaže na novosyntetizovaný vírusový transkript, a týmto spôsobom blokuje tvorbu nového HIV vírusu. (Obrázok: Keystone / Science Photo / Kenneth Eward / BioGrafx)

Riziká génového dopingu

V génovej terapii sa ako génové nosiče používajú vírusy. Tieto vírusy sa pred podaním modifikujú, aby boli neinfekčné. Avšak aj inaktivované vírusy si stále zachovávajú malý potenciál pre vyvolanie ochorenia.

Pretože nezákonná výroba nosičov génov nie je monitorovaná, existuje riziko, že sa použijú neúplne inaktivované vírusy, kontaminované produkty alebo infikované nástroje. Okrem toho existuje riziko nedostatočného lekárskeho dohľadu či praktizovanie nepovolených pokusoch na ľuďoch.

Ak imunitný systém odmieta proteíny produkované vloženými génmi, môžu nastať alergické reakcie, či smrteľný alergický šok.

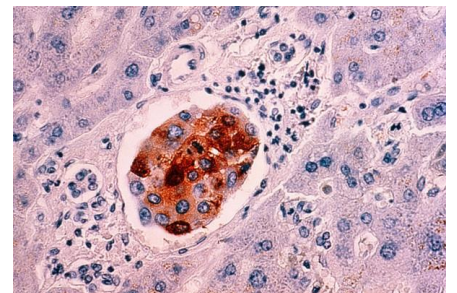
Možné vedľajšie účinky

Zatiaľ čo mnohé nežiaduce účinky konvenčného dopingu ustupujú pri prerušení podávania látky, účinky génového dopingu sú vrátane jeho nepriaznivých účinkov trvalé a nezvratné.

Napriek tomu, že v súčasnosti nie je možné vyvodit' žiadne opodstatnené tvrdenie o obávaných nepriaznivých účinkoch génového dopingu, možno si predstaviť nasledujúci scenár: Rastový faktor IGF-1 podporuje rast svalových buniek, ale môže tiež stimulovať rast nádorových buniek. Výsledkom je, že jediná prekancerózna bunka, ktorá by bola za normálnych okolností eliminovaná vlastnými kontrolnými mechanizmami organizmu, by mohla v prípade génovej dopingu rýchlo narásť do nádoru alebo iného rakovinového ochorenia.



V súčasnosti sa genetické metódy liečby chorôb aplikujú za prísnych podmienok vo vedeckých laboratóriách a nemocniciach. (Obrázok: BASPO, Gene doping, 2007)



Rakovinové bunky prsníka po ich metastázovaní tvoria nádor v pečeni. (Obrázok: Keystone / ISTL)

Detekcia génového dopingu

Detekcia génového dopingu je obzvlášť náročná, pretože produkt vloženého génu sa nedá odlišiť od produktu natívneho génu. Najlepšie by bolo detegovať vložený gén priamo zo vzorky tkaniva športovca. Malý kúsok svalov by bol izolovaný a testovaný na prítomnosť cudzej DNA. Odber vzorky tkaniva je však pre športovca závažným zásahom, a taktiež to nie je povolené Svetovým antidopingovým kódexom. Výsledkom je, že odber vzoriek tkaniva ako štandardná metóda na detekciu génového dopingu nie je uskutočniteľná.

Vedci skúmajú rôzne prístupy na detekciu génového dopingu:

- Hoci nie je možné rozlíšiť produkty umelo vložených a prirodzených génov, samotné gény nie sú identické. Geneticky produkovaná DNA je vždy kratšia ako prirodzená. Dôvodom je, že prirodzená DNA vždy obsahuje úseky, ktoré priamo nekódujú génový produkt. To umožňuje testovacím laboratóriám rozlíšiť prirodzenú od syntetickej DNA. Táto metóda už bola aplikovaná v prvej experimentálnej sérii dopingových testov.
- Použité gény dopingu spôsobujú zmeny v metabolizme tkaniva. Túto zmenu aktivity možno zistiť napríklad použitím vhodných zobrazovacích techník
- Podobná metóda je hľadanie génovej aktivity v neobvyklých tkanivách. Ak by napríklad športovec náhle vyrobil EPO vo svojich svalových bunkách skôr než v obličkách, bolo by to veľmi podozrivé. V tomto prípade je veľmi pravdepodobné, že mu bol vložený gén pre výrobu EPO.
- Ďalším prístupom je hľadanie prvkov nosiča génov. Keď vírus vstupuje do hostiteľskej bunky, malé elementy vírusového obalu zostávajú nedotknuté a môžu byť detegované.
- Ak je génová expresia modulovaná zakázanými látkami, ako je napríklad AICAR alebo GW1516, je možná ich priama detekcia pomocou hmotnostného spektrofotometra.



V súčasnosti sa uskutočňuje intenzívny výskum pre detekciu génového dopingu. V posledných rokoch bolo prezentovaných niekoľko detekčných metód. (Obrázok: BASPO, Gene doping, 2007)