

Nahlas o dopingu!

GÉNOVÝ DOPING

Tomáš Pagáč

Vedúci oddelenia testovania a prevencie



SLOVAK
ANTI-DOPING
AGENCY



NÁRODNÉ
ŠPORTOVÉ
CENTRUM

13. Apríl 2023

ČO JE GÉNOVÝ DOPING?

Použitie techník génovej terapie za účelom zvýšenia športového výkonu

- 1998 – prof. Lee Sweeney sa spolupodieľal na publikácii o proteíne IGF-I (zvyšuje rast svalov)
- Vloženie prebytočných kópií IGF-I génu do myších nôh
- Zvýšenie sily o 27%
- Zväčšenie objemu svalov o 19%

„Swarzenegger“ myši

To pritiahlo záujem športovcov

2004

2004 - Ronald Evans štúdia

- Extra kópie génu kódujúceho PPAR-delta (fat-burning protein)

Myši dokázali odbehnúť 2x väčšiu vzdialenosť ako „kontrolné“

„maratónske myši“

2020

2020 – oficiálny prípad génového dopingu zatiaľ nebol zaznamenaný

The logo consists of the letters 'S', 'A', and 'D' stacked vertically, with 'V' to the right, all in white on a dark blue background.

To neznamená, že o to nie je záujem

- 2004 – Thomas Springstein (bývalý nemecký atletický tréner) – zatknutý za podávanie výkon zvyšujúcich látok maloletým
- Pri domovej prehliadky polícia našla kompromitujúci email

„Je ťažké zohnať nový Repoxygen. Prosím pošli mi inštrukcie ako sa k nemu dostať ešte do Vianoc.“

Gene doping

Repoxygen is a new way to artificially enhance an athlete's performance — one that is hard to detect and with potentially permanent effects

How it works

Repoxygen was developed as a gene therapy treatment for severe anemia. A patient is injected with a harmless virus carrying a modified gene that encodes erythropoietin, a protein that boosts red blood cell production. The host's cells can translate that gene into active proteins as if the foreign gene were the cells' own.

1 Delivery

DNA packaged in a virus is injected into the athlete and flows through the bloodstream into muscle.

Danger: Altered viruses can trigger dangerous reactions from the immune system.

Alternatives: Viruses are not the only way to deliver performance-enhancing genes to cells. Fat molecules or naked DNA can be injected directly into muscle.

2 Change

Viruses bind to muscle cells and deposit the foreign gene inside, where it integrates into the cell's chromosomes. The gene stimulates the production of the protein erythropoietin (EPO).

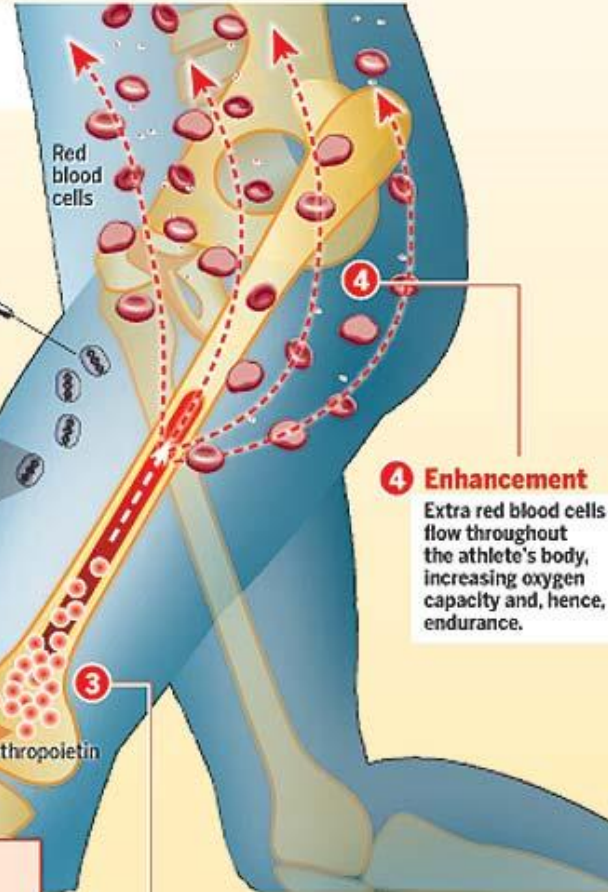
Danger: Inserting foreign DNA can damage the cell's own genes, risking cancer.

Detection: Presence of a foreign gene in the athlete's DNA.

Other gene doping possibilities

■ In 1988, H. Lee Sweeney and colleagues at the University of Pennsylvania School of Medicine injected mice with a virus carrying a gene that boosted production of insulin-growth factor 1 (IGF-1). The injected mice had 15% more muscle mass than untreated mice.

■ In 2004, Ronald Evans and colleagues at California's Salk Institute for Biological Studies engineered mice to have extra copies of the gene encoding a protein called peroxisome proliferator-activated receptor delta (PPAR-delta). These mice could run twice as far as unaltered mice.



4 Enhancement

Extra red blood cells flow throughout the athlete's body, increasing oxygen capacity and, hence, endurance.

3 Dispersal

Erythropoietin (EPO), produced by the altered muscle cells, flows through the bloodstream to bone marrow, stimulating production of red blood cells, the body's main transporter of oxygen.

Detection: Changes in the concentration of multiple proteins in the blood or urine.

REPOXYGEN

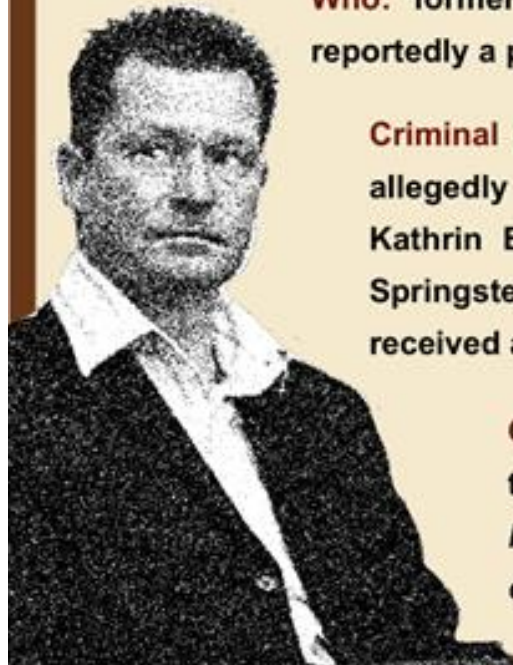
Anémia

Zvýšenie
červených
krviniek

Športovci
– zvýšenie
výkonu?

Thomas Springstein

MORGAN | SPORTS LAW



Who: former coach at the German Athletics Association, and now reportedly a personal trainer.

Criminal conviction: supplying drugs to unwitting young runners - allegedly including one of Germany's best female hurdlers, Anne-Kathrin Elbe, who was 16 at the time. She reportedly said that Springstein had described the drugs as "vitamins". Springstein received a 16-month suspended jail sentence.

On Repoxygen - a gene therapy product: he said, according to an email seized in a police raid: *"The new Repoxygen is hard to get. Please give me new instructions soon so that I can order the product before Christmas."*

VÝSKUM GÉNOVEJ TERAPIE

Športovci

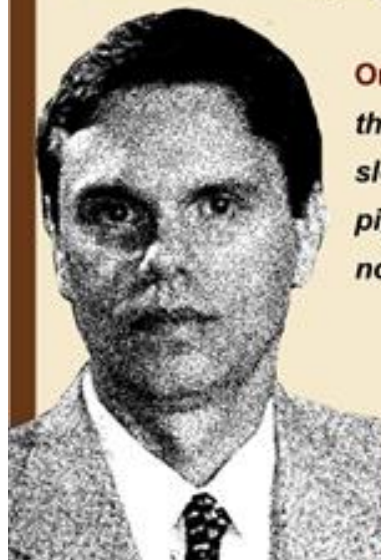
Výskum
génovej
terapie

„Súčasť
výskumu“

Professor Lee Sweeney

MORGAN | SPORTS LAW

Who: Professor at the University of Florida, with research interests including gene transfer into muscle, and muscle injury and disease. Also a member of the World Anti-Doping Agency's Gene and Cell Doping Expert Group.



On athletes requesting gene doping services: *"No matter what I say to them about [gene doping] being dangerous and experimental, it doesn't slow them down - they just keep pushing, saying, 'I want to be the guinea pig. I want to be the first person you try this on.' I kindly just say, look, it's not possible, I can't do it."*

On detection methods: *"I personally think I can prove [to the World Anti-Doping Agency], if they really want the challenge, that I can dope dogs and they will never figure out which dogs were doped unless they take tissue biopsies..."*

FUNKČNÉ CIELE GÉNOVÉHO DOPINGU

Zvýšenie výdrže, fyzickej sily, redistribúcia tukov, zvýšenie svalovej hmoty

Kontrola distribúcie kyslíka do tkanív, regulácia/rast/regenerácia svalov

Manažment bolesti (endorfíny, enkefalíny)

GÉNOVÁ TERAPIA

19 schválených génových terapií

17 schválených RNA terapií

56 negeneticky modifikovaných bunkových terapií

WADA – ZAKÁZANÉ METÓDY GÉNOVÉHO DOPINGU

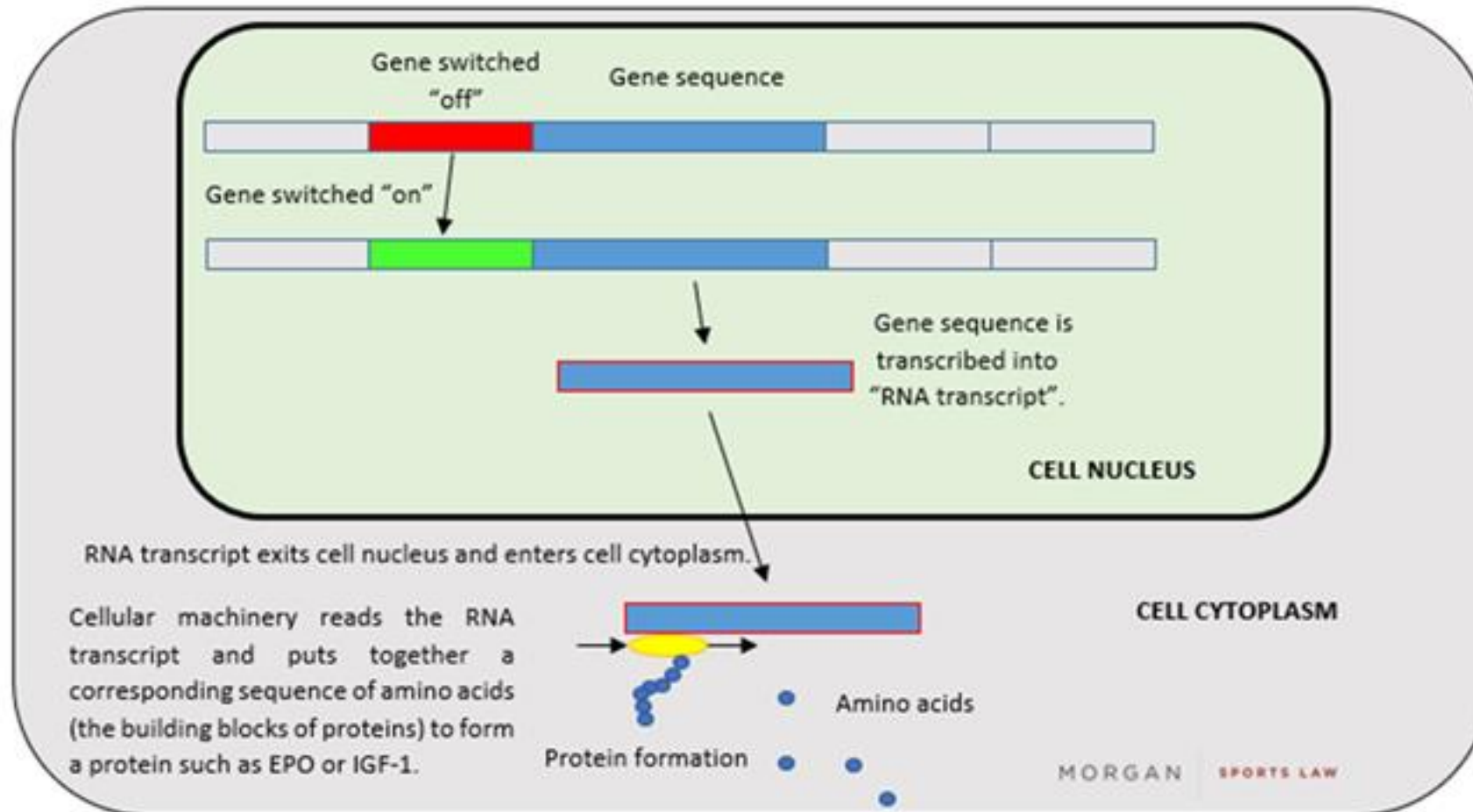
Nukleové kyseliny alebo ich analógy.

- Úprava genómovej sekvencie
- Zmena génovej expresie
- Úprava génov
- „Silencing“
- Génový transfer

Normálne alebo geneticky modifikované bunky.

AKO FUNGUJE GÉNOVÁ EXPRESIA

Simplified depiction of gene expression in a cell resulting in the production of proteins such as EPO and IGF-1



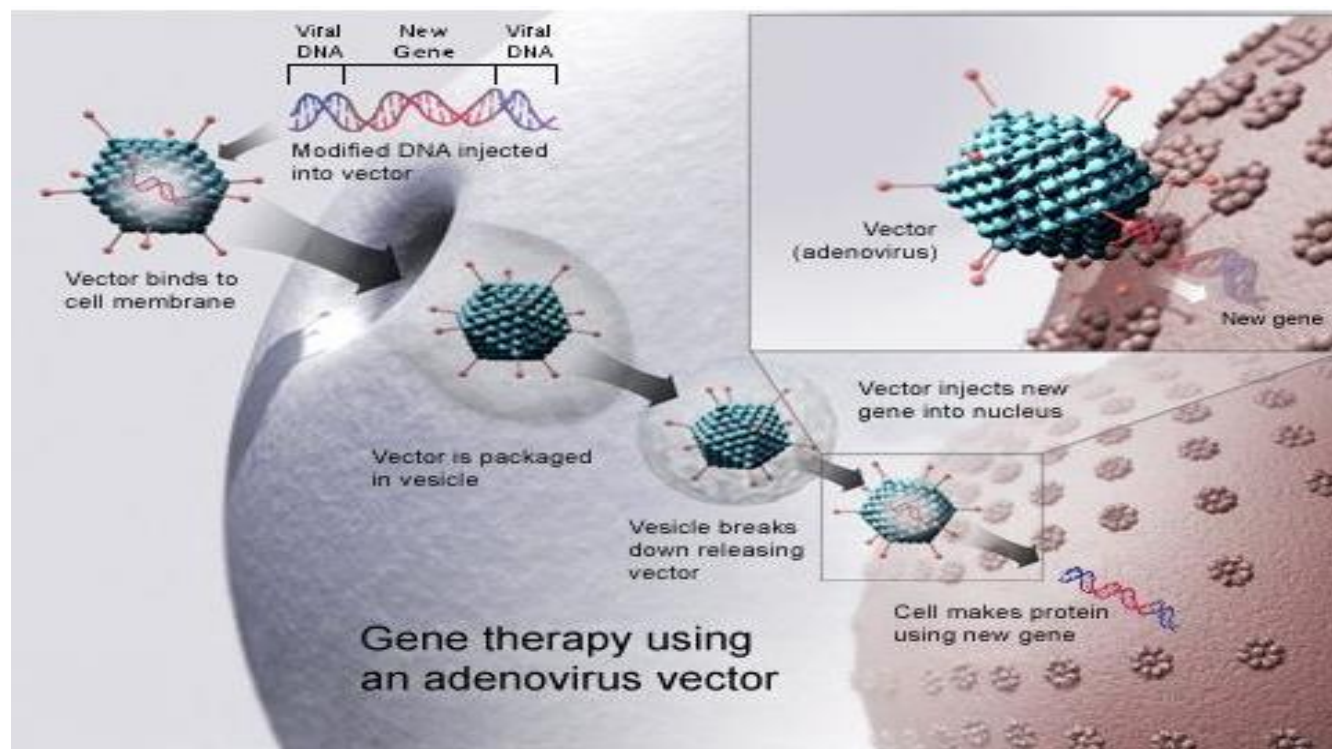
GÉNOVÝ DOPING AKO ZNEUŽITIE GÉNOVEJ TERAPIE

Genetické metódy

Génová terapia

Liečba ochorení

Génový doping?



GÉNOVÝ DOPING

Úroveň somatických buniek – zatiaľ...

Vírusy ako vektor

Na čo to je dobré (zlé) ?

- EPO
- IGF-1
- VEGFA
- GH
- HIFs
- PRARdelta
- myostatín

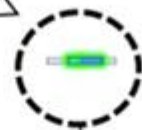
1. ZVÝŠENIE PRODUKCIE PROTEÍNU – A) DOPING PRENOSOM GÉNOV

Simplified depiction of how gene doping might work using a viral vector

Large amounts (possibly trillions) of viral vectors, containing additional copies of the relevant gene, would be injected into or near to the target tissue.



Viral vectors enter a cell and travel to the cell nucleus.



Viral vectors insert additional gene copies into cell nucleus.



CELL CYTOPLASM

CELL NUCLEUS

Additional gene results in additional RNA transcripts.

Original gene transcribed as usual.

Increased amounts of transcript result in increased amounts of production of the relevant protein using the same mechanism as previously described.



EPO

Zvyšuje množstvo červených krviniek (hormón)

Krvinky prenášajú kyslík do svalov

Administrácia – priamo injekciou

Resp. ďalšie kópie génu (opice)

Nadexpresia EPO génu

Výsledok: zvýšenie množstva červených krviniek o 50% počas 6 mesiacov

1. ZVÝŠENIE PRODUKCIE PROTEÍNU – B) MODIFIKÁCIOU GÉNOV

Simplified depiction of how gene doping might work using CRISPR technology

Scientists create a specific genetic sequence called a "guide", which matches the "target DNA" region where they want to insert new DNA.

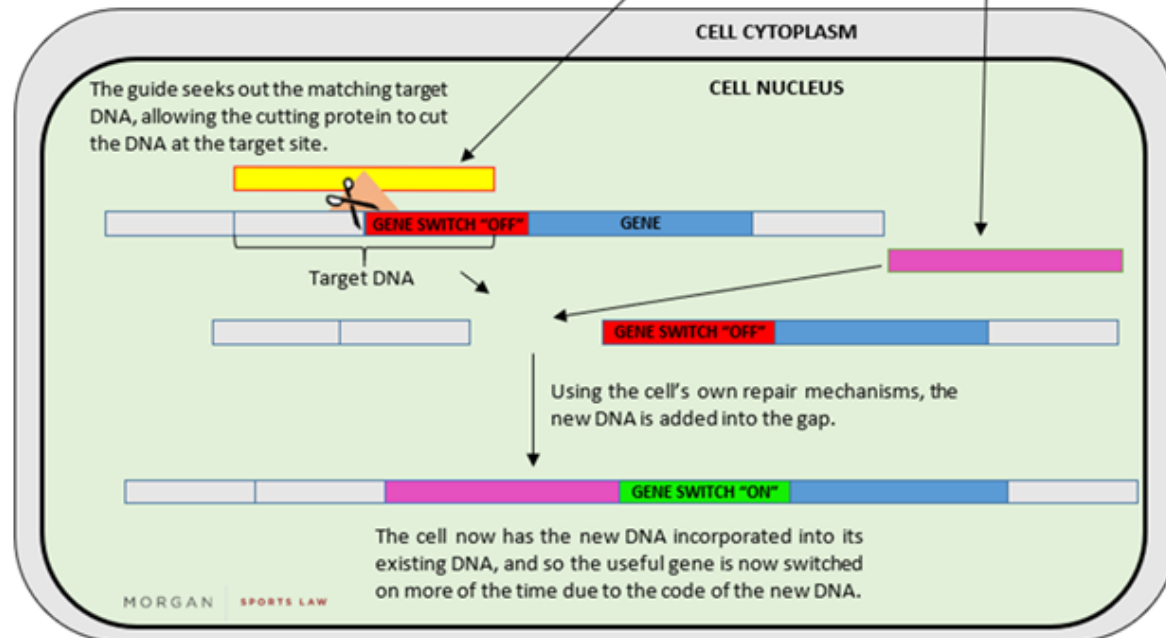
GUIDE

The guide is attached to a cutting protein that acts like a pair of scissors that cut DNA.

GUIDE + CUTTING PROTEIN

The guide and cutting protein are delivered into the cell nucleus, along with the new DNA sequence.

New DNA sequence for insertion, chosen to enhance the expression of a "useful" gene.
NEW DNA



IGF

Zvýšenie expresie génu modifikáciou

Zvýšená produkcia proteínu

Nekódujúca časť genómu nahradená sekvenciou DNA, ktorá zvýši expresiu IGF-I génu (myš)

Zvýšená produkcia IGF-I

Svalová hypertrofia

2. ZNÍŽENIE PRODUKCIE PROTEÍNU

„Expresia,
ktorá
„škodí“

Odstránenie génu alebo zníženie expresie (gene silencing)

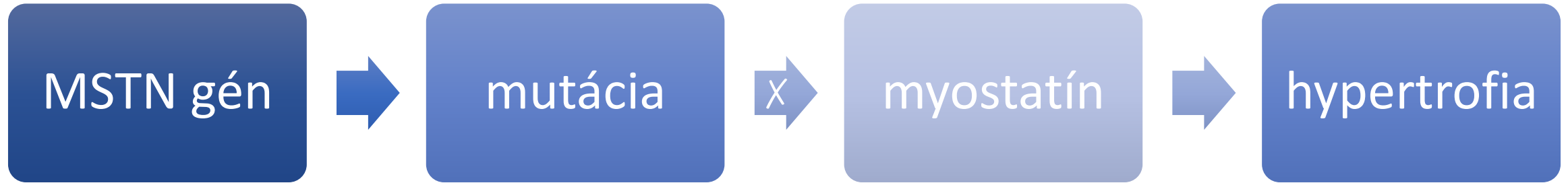
Znížená produkcia proteínu

Myostatín – negatívny regulátor svalového rastu

Znížená hladina myostatínu = zvýšený objem svalstva

Myš: vystrihnutie a degradácia RNA transkriptu – znížené množstvo myostatínu a o 20% zväčšená plocha svalov

MYOSTATÍN



SA
DV

Zdravý športovec

Blok myostatínu

Nárast svalovej hmoty

...bohužiaľ, sila chýba



A MÁME PROBLÉM

1. Vírusový vektor

- Prehnaná imunitná reakcia
- 1999-dobrovoľník s tak prehnanou imunitnou reakciou – zlyhanie orgánov – až smrť
- EPO štúdia – opice po vstreknutí EPO génu získali vážnu anémiu

2. „Necielený“ účinok

- Zmena génu, ktorý nebol cieľovým miestom
- Proliferácia rakovinových buniek
- Iná zmena základných bunkových funkcií

3. Zvýšená alebo znížená expresia génov súvisiacich so športovým výkonom

- Nadexpresia EPO génu zvyšuje viskozitu krvi a zabrániť prirodzenému toku krvi
- Znížená expresia myostatínu súvisí so zväčšením objemu svalstva a nedostatočnou adaptáciou srdca – riziko infarktu

DETEKCIA GÉNOVÉHO DOPINGU

Priama alebo nepriama detekcia

- Vektory, alterované gény/bunky, funkčné zmeny

Tkanivovo-špecifická vs systémová detekcia

Single-focus vs multiplex target

Metodológia a vybavenie

PRIAMA DETEKCIA

Transgénová detekcia

- PCR metódy

Detekcia virálnych nosičov alebo nanočasticových vektorov

- Detekcia vektora
- Odpoveď imunitného systému

Gene and proteomic profiling

Detekcia editovania génov



SLOVAK
ANTI-DOPING
AGENCY