

Fem un bon ús de la Teràpia Gènica, no un abús.

Dopatge Genètic vs Teràpia Gènica



Natàlia Carreras

Centre: Institut Corbera de Llobregat

2n BTX B

08/01/15

TUTOR/A: CATALINA PARPAL

*Every day we know more and
understand less.*

“Cada dia sabem més i entenem
menys.”

Albert Einstein

ÍNDEX

0. INTRODUCCIÓ	4
1. TERÀPIA GÈNICA	
1.1. Definició Teràpia Gènica	6
1.2. Història de la Teràpia Gènica	6
1.3. Conceptes bàsics en genètica	8
1.4. Objectius de la teràpia Gènica	10
1.5. Extracció i transferència de gens	10
1.6. Intervencions en Teràpia Gènica	11
1.6.1. Segons l'estratègia aplicada	11
1.6.2. Segons el tipus de cèl·lula diana	13
1.7. Mètodes de transferència gènica	15
1.7.1. Vectors no virals	16
1.7.2. Vectors virals	19
1.7.3. Interferència per ARN	22
1.8. Malalties tractades amb Teràpia Gènica	23
2. DOPATGE GENÈTIC	
2.1. Definició Dopatge Genètic	26
2.2. Gens que poden ser modificats en el dopatge genètic	26
2.2.1. Eritropoetina	26
2.2.2. Factor de creixement IGF	27
2.2.3. Miosina IIB	29
2.3. Efectes del dopatge genètic sobre la salut	29
2.4. Detecció del Dopatge genètic	30
2.5. "Superatletes"	32
2.6. Legalització	33
2.6.1. Passaport biològic	34

3. PART PRÀCTICA: DOCUMENTAL	35
4. CONCLUSIÓ	38
5. AGRAÏMENTS	42
6. BIBLIOGRAFIA	43
7. ANNEXOS	45
8. GLOSSARI	58
9. APROVACIÓ DEL TUTOR	62

INTRODUCCIÓ

El treball de recerca que he desenvolupat en aquests darrers mesos ha passat per diverses etapes. En un principi vaig escollir un treball titulat “Dopatge Neurològic” que havia estat proposat pel Departament de Ciències. Ràpidament em vaig adonar que, al tractar-se d’un tema molt nou, la informació era molt escassa i poc fiable. Tot i parlar amb especialistes com el Dr.Valls (Cap de Neurologia de l’Hospital Clínic) o la Dra. Darbra (Professora de Neurologia de la UAB), no em va ser possible reunir prou dades com per realitzar un bon treball d’aquest tema.

Mentre investigava el camp del dopatge neurològic vaig veure en més d’una ocasió el nom de “Dopatge genètic”. Altres especialistes em van recomanar fer el treball d’aquest tema ja que era més extens, molt més provat en teràpies, no tant nou i la informació que em podien oferir era més fiable. Vaig decidir dedicar els següents mesos a investigar el Dopatge Genètic per acabar fent un treball d’aquest tipus de dopatge. El Dopatge Genètic parteix de les investigacions que s’han realitzat per curar malalties genètiques, és a dir, la Teràpia Gènica. Per aquest motiu, he tractat els dos grans temes per separat en la part teòrica i els he relacionat en la part pràctica.

Els objectius van canviar per complet a partir d’aquest moment. Aquests es convertirien en els definitius:

- Fer una recerca completa sobre la Teràpia Gènica. Incloure les tècniques més usades i les malalties tractades.
- Parlar amb especialistes en Genètica per informar-me de quins són els mètodes que realment s'utilitzen en casos pràctics. Contactar amb persones que m'expliquessin d'una manera senzilla els processos que s'han de seguir per manipular els gens.
- Reflexionar sobre l'abús que es fa d'aquesta teràpia en els esports. Tot i estar en contra, detallar quins són els gens més usats en els esports, els efectes que poden originar en els organismes dopats (ja siguin positius com negatius) i la possible detecció.
- Diferenciar, a partir d'un documental, la teràpia gènica usada en malalts i la usada en esportistes sans.
- Hi havia un objectiu que no havia variat des del principi del treball: investigar fins quin punt era usat el dopatge a nivell mundial i si de veritat era factible.

La part teòrica del meu treball ha estat estructurada segons dos apartats ben diferenciats: la Teràpia Gènica i el Dopatge Genètic. He utilitzat aquesta divisió per poder mostrar una gran distinció entre dos temes que comparteixen molts aspectes en comú però que a la vegada tenen objectius completament oposats. Hi ha informació de l'apartat de la teràpia que no repeteixo en el dopatge tot i coincidir, com per exemple les tècniques de manipulació dels gens.

He fet un documental que representa la part pràctica del meu treball. En aquest intercalo constantment els dos grans temes i introdueixo la informació d'ambdós apartats. El meu interès en fer un documental ve donat perquè a mesura que he realitzar el treball he vist diferents opinions d'atletes que tenen una mentalitat molt radical i estarien d'acord a dopar-se només per guanyar l'or. Aquesta idea la intento representar al vídeo i pretenc fer reaccionar sobre el mal ús que es fa de la ciència.

M'ha resultat complicat trobar informació profitosa sobre el tema del Dopatge Genètic. Per altra banda, actualment hi ha molta més informació bibliogràfica sobre la Teràpia Gènica, ja sigui Internet, llibres, documentals...i és per això que m'ha resultat més fàcil la cerca d'informació. Dos professors de la UAB i de la UB, respectivament (David Bueno i Sònia Darbra), m'han facilitat la recerca i m'han posat a l'abast articles científics llicenciats amb informació que m'ha estat de gran ajuda. Amb el Dr. Bueno vaig poder gaudir d'una entrevista que em va facilitar la comprensió de molts aspectes relacionats amb la teràpia que a simple vista em resultaven molt complexes.

Durant tot l'estiu i part de Setembre vaig intentar trobar alguna manera de realitzar una pràctica en algun laboratori relacionada amb el Dopatge Genètic o Teràpia Gènica o, si més no, amb el Dopatge Neurològic. Em va ser impossible tot i contactar amb diferents centres d'Anti-Dopatge, laboratoris universitaris o laboratoris que avui en dia porten a terme investigació sobre noves tècniques genètiques. L'entrada de públic a aquests espais és molt restringida i, tot insistir, no em va ser possible visitar aquests centres. És per aquest motiu que la meva part pràctica del treball és la realització d'un documental que reuneix la informació essencial del projecte. L'objectiu és crear un impacte sobre aquelles persones que en algun moment de la seva vida s'han plantejat el dopatge. També va dirigit a les persones que estiguin interessades en la Genètica, el Dopatge o la cura de malalties.

PART TEÒRICA

TERÀPIA GÈNICA

1.1. DEFINICIÓ TERÀPIA GÈNICA

La teràpia gènica (TG) és la part de la ciència que utilitza material genètic en el tractament de malalties; intenta modular la funció cel·lular per així poder corregir la deficiència causada per la pèrdua o alteració d'un gen en modificar l'expressió de proteïnes.

La teràpia gènica presenta tres components imprescindibles:

- Un gen sobre el que s'actuarà perquè s'expressi correctament i ajudi a donar lloc a un efecte terapèutic.
- La cèl·lula diana sobre la que es realitza la modificació.
- El vector que transporta el material genètic i permet la seva introducció en la cèl·lula blanca.

1.2. ANTECEDENTS A LA TERÀPIA GÈNICA

El concepte de teràpia gènica va aparèixer durant els anys 60 i 70 tot i que encara està al principi d'un llarg desenvolupament. Es creu que a llarg termini serà una teràpia de gran eficàcia.

1972: Theodore Friedmann i Richard Roblin van publicar un article on citaven que Stanfield Rogelio tenia raó quan va assegurar que el DNA en bon estat es podria utilitzar per reemplaçar el DNA defectuós en pacients amb desordres genètics.

1985: Els laboratoris del Dr. Anderson i Michael Blaese, van treballar junts per mostrar com les cèl·lules dels pacients amb deficiència de l'enzim adenosina-desaminasa

(ADA) podien ser modificades en un laboratori. Ells van utilitzar retrovirus per portar el gen correcte a les cèl·lules defectuoses.

1990: Primera pacient tractada amb teràpia gènica, Ashanti Da Silva (4 anys). Ella tenia la malaltia congènita de deficiència de ADA, que afecta seriosament a la immunitat i a la capacitat de lluitar contra les infeccions. L'equip del Dr. Anderson va treure sang de la seva pacient, i va reemplaçar el gen defectuós amb una variant funcional. La teràpia va restablir parcialment el sistema immunològic d'Ashanti. Aquesta noia va ser curada i segueix viva.



Figura1 : Ashanti De Silva. (Font: Buscador de Google)

1993: S'utilitza la teràpia gènica pel tractament de nadons amb deficiència ADA.

1991: Primera prova de teràpia gènica en pacients humans amb càncer.

1994: Es produeixen anticossos monoclonals totalment humans en ratolins dissenyats mitjançant enginyeria genètica.

1995: Es descobreix la seqüència del genoma de *Haemophilus influenzae*.

2000: Es descobreix la seqüència del genoma de *Drosophila*.

2006: Es descobreix la seqüència del genoma humà.

En l'actualitat, s'investiga i es desenvolupen les diferents tècniques de teràpia gènica. Companyies farmacèutiques i centres d'investigació d'Europa, Estats Units i Japó ja han apostat per aquesta nova possibilitat. Hi ha estimacions recents que arriben als 45 bilions de dòlars per l'any 2015.

1.3. CONCEPTES BÀSICS EN GENÈTICA

GEN: segment de DNA, o d'RNA en determinats virus, amb informació genètica per a una cadena polipeptídica o per a un RNA.

GENOMA: conjunt de gens continguts en els cromosomes. Per això, es pot interpretar el genoma com la totalitat d'informació genètica que posseeix un organisme o una espècie en particular.

ADN: estructura formada per dues cadenes de nucleòtids enrotllades entre si formant una doble hèlix (excepte en alguns virus) que porta informació genètica.

CROMOSOMA: una estructura en la que l'ADN està molt empaquetat i protegit i conté la informació genètica d'aquella espècie.

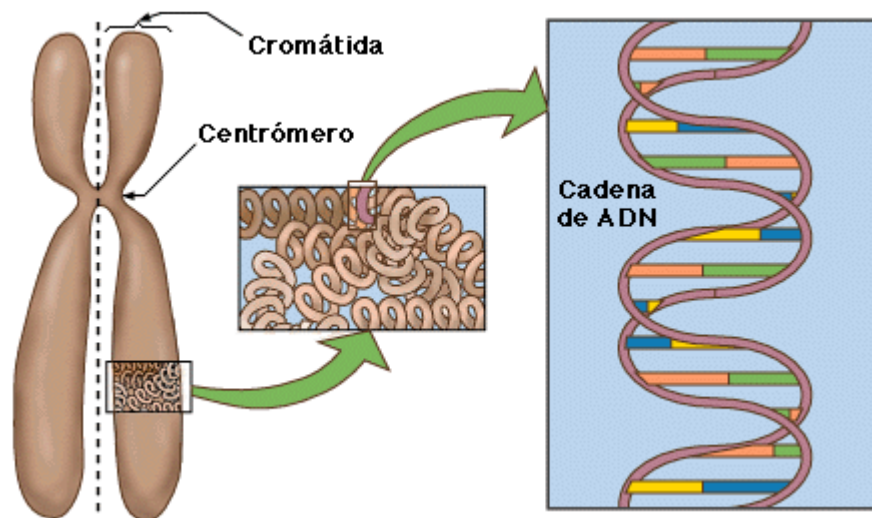


Figura 2: Cromosoma amb les seves parts. (Font: Proyecto Biosfera.

<http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/4ESO/genetica1/contenidos4.htm>)

Els cromosomes són un component cel·lular que només es formen quan la cèl·lula està en divisió. Quan la cèl·lula no està en divisió, té en el seu nucli cadenes individuals d'ADN que formen la cromatina.

MUTACIÓ: canvi a l'atzar de la seqüència de nucleòtids, gens o fins i tot en un tros de cromosoma.

CODI GENÈTIC:

En el DNA hi ha quatre nucleòtids diferents, els quals es diferencien entre ells per un dels seus components, la base nitrogenada. El codi genètic està format per grups de tres nucleòtids. Gairebé tots els triplets especifiquen un dels 20 aminoàcids, que són les unitats químiques que formen les proteïnes.

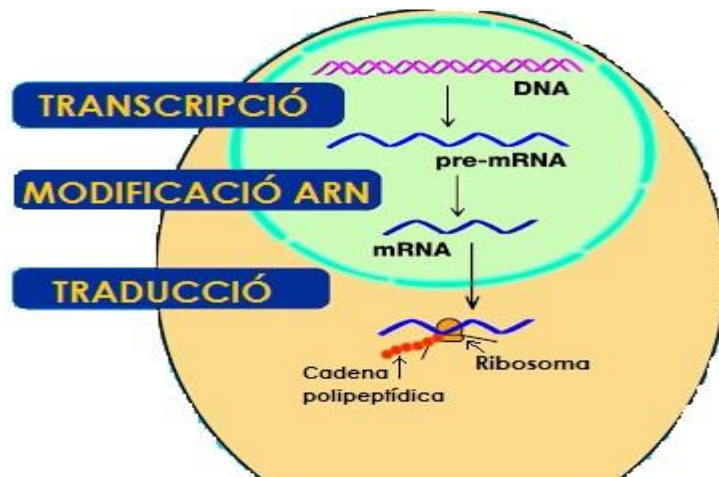


Figura 3: Transcripció ADN i traducció ARN. (Font: Galeon. <http://www.maph49.galeon.com/arn/tctlpreu.html>)

GENÈTICA MÈDICA: aplicació de les tècniques genètiques en la medicina. Per tant, inclou els estudis de l'herència de malalties, el traçat d'un mapa dels gens patològics en les seves localitzacions específiques en els cromosomes, l'anàlisi dels mecanismes moleculars mitjançant els quals els gens provoquen la malaltia, i el diagnòstic i el tractament de la malaltia gènica.

1.4. OBJECTIUS TERÀPIA GÈNICA

1. La teràpia gènica té com a objectiu **complementar o substituir el defecte en la funció d'un gen defectuós** gràcies a la introducció d'una còpia normal d'aquest gen en les cèl·lules.
2. En altres situacions el que s'intenta és el contrari, és a dir, **inhibir o bloquejar el funcionament d'aquells gens que contribueixen al desenvolupament de la malaltia** (per exemple, els oncogens que intervenen en el càncer o els gens de virus que són necessaris per què aquests es multipliquin en les cèl·lules).
3. **Introduir la informació que permeti a la cèl·lula sintetitzar una proteïna que tingui un efecte terapèutic nou.** Aquest és el cas de la transferència de gens per estimular el sistema immunitari.

1.5. EXTRACCIÓ I TRANSFERÈNCIA DE GENS

Per transferir un gen d'un organisme a un altre se segueix el següent procediment:

1. Se selecciona el gen que es desitja transferir.
2. S'utilitza l'enzim de restricció necessari per tallar una determinada seqüència de nucleòtids d'una cadena de DNA (N).
3. Per una altra banda, s'agafa un bacteri, *Escherichia coli*, i es talla el plasmidi amb el mateix enzim de restricció que s'ha utilitzat pel gen.
4. S'afegeixen els fragments de DNA (N) al plasmidi obert.
5. El fragment (N) s'uneix al plasmidi per mitjà de l'enzim ligasa. El plasmidi amb el fragment N ingerit es denomina plasmidi recombinant.
6. En replicar-se el DNA bacterià en la interfase, també es replica el DNA del plasmidi recombinant. En dividir-se el bacteri per fissió bacteriana, es divideix també el plasmidi que posseeix el fragment inserit (N).
7. Els plasmidis recombinants formats poden ser introduïts en noves cèl·lules hoste i clonats.

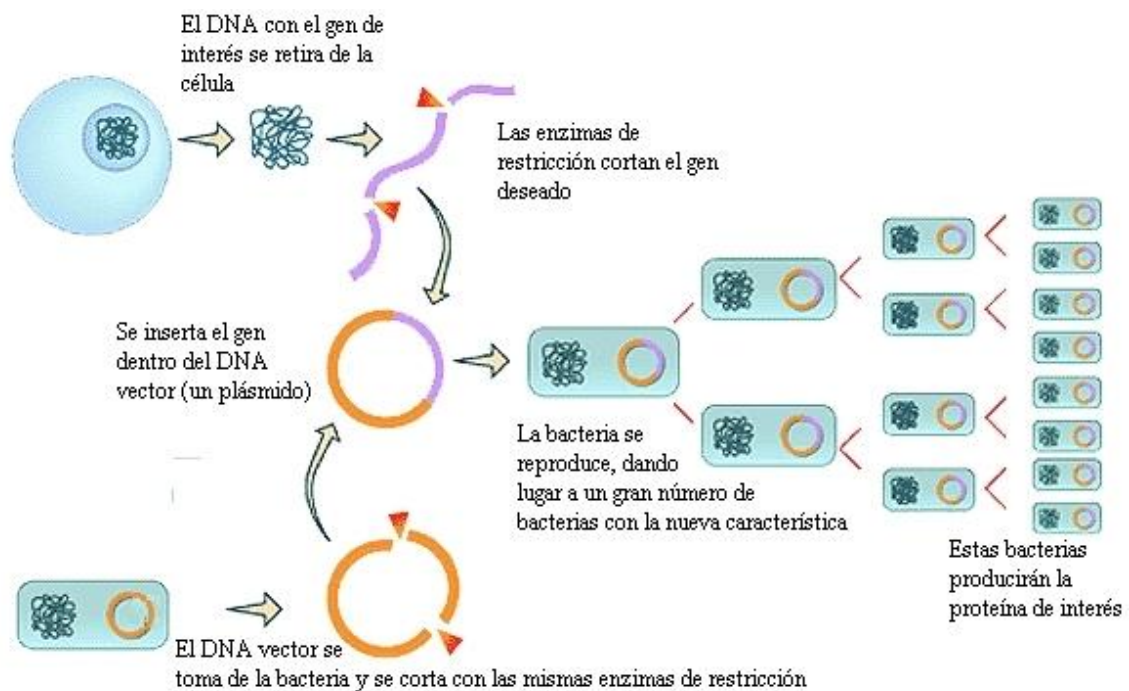


Figura 4: Extracció d'un gen. (Font: <http://dicenporahique.blogspot.com.es/2013/04/ingenieria-genetica.html>)

1.6. TIPUS D'INTERVENCIONS EN TERÀPIA GÈNICA

SEGONS L'ESTRATÈGIA APLICADA

Es distingeixen dos tipus de teràpia gènica segons si la manipulació genètica es realitza a l'interior o a l'exterior de l'individu. Lògicament, el mètode d'introducció d'un gen terapèutic dependrà del teixit diana de la teràpia i de l'objectiu d'aquesta.

- TERÀPIA GÈNICA EX VIVO

El tractament està basat en l'obtenció prèvia de cèl·lules del pacient procedents d'un teixit o òrgan d'interès. A continuació es fa una degradació d'aquestes cèl·lules i un manteniment en condicions de cultiu de teixits in vitro. Posteriorment s'introdueix el "gen terapèutic" a les cèl·lules utilitzant un vector adequat.

Les cèl·lules transfectades són seleccionades en funció de la seva capacitat per expressar el gen exogen de forma estable i persistent. Les cèl·lules així seleccionades són amplificades i recol·lectades amb la fi de ser reimplantades en el pacient.

Aquest procés és més fàcil amb cèl·lules del sistema hematològic. L'obtenció de medul·la òssia, purificació de cèl·lules mare, la seva manipulació en el laboratori, i la introducció de la cèl·lula mare amb la versió funcional d'un gen al mateix pacient ha servit, per exemple, pel tractament de la immunodeficiència combinada severa (SCID) per deficiència d'ADA. La introducció del gen ADA funcional en les cèl·lules progenitores del sistema immunològic ja ha curat a nens amb SCID, els coneguts nens bombolla, en uns assaigs clínics.

Els seus principals avantatges són els de permetre l'elecció del tipus de cèl·lula a tractar, mantenir un estret control sobre tot el procés, i la major eficàcia de la transferència genètica.

Els problemes més importants d'aquesta modalitat són la major complexitat i cost dels protocols, així com la impossibilitat de transferir aquells teixits que no són susceptibles de créixer en un cultiu. A més, existeix el risc a la manipulació de les cèl·lules amb problemes de contaminació.

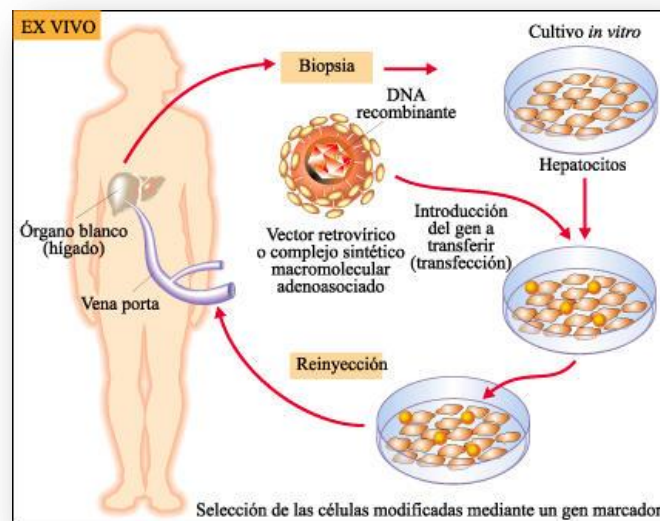


Figura 5: Teràpia ex vivo. (Font: Sandra Cortez. <http://sandycortezlopez.blogspot.com.es/>)

- TERÀPIA GÈNICA *IN VIVO*

En el procediment *in vivo* s'inocula al pacient directament amb el vector i els gens a transferir arriben a les cèl·lules diana (cèl·lula d'interès que té receptors específics perquè els gens entrin en ella) a través del corrent circulatori.

Per exemple, la modificació de cèl·lules pulmonars o hepàtiques amb una versió correcta del gen de la alfa-1 antitripsina en pacients amb enfisema pulmonar (o cirrosi fruit d'aquesta deficiència) o en la introducció del gen de la distrofina en teixits musculars en pacients de distròfia muscular.

El gran avantatge de les tècniques *in vivo* sobre la teràpia gènica *in vitro* és la seva major senzillesa. Tot i això, tenen l'inconvenient de que el grau de control sobre tot el procés de transferència és menor, l'eficiència global també és menor (donat que no pot amplificar-se a les cèl·lules transferides) i, finalment, és difícil aconseguir un alt grau d'especificitat tissular.

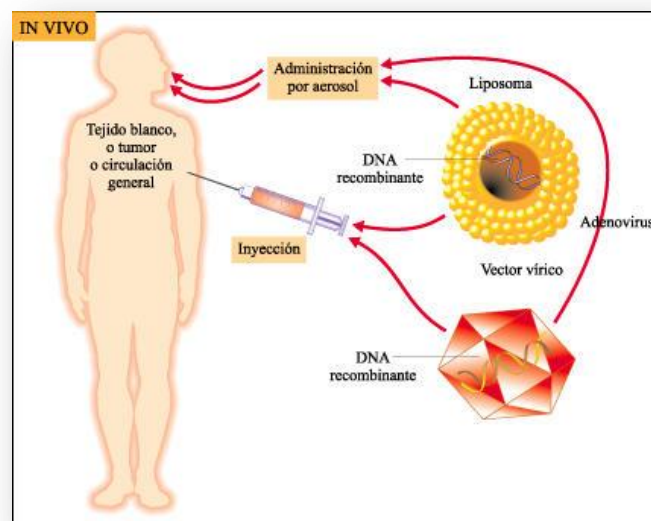


Figura 6: Teràpia in vivo. (Font: Sandra Cortez. <http://sandycortezlopez.blogspot.com.es/>)

SEGONS EL TIPUS DE CÈL·LULES DIANA

- TERÀPIA GÈNICA SOMÀTICA

Tots els assaigs clínics de teràpies gèniques portats a terme en humans, tenen com a objectiu la correcció d'un defecte genètic en cèl·lules somàtiques, és a dir, en cèl·lules que no són ni espermatozoides ni òvuls. Aquesta és la teràpia

gènica somàtica, on la correcció del defecte genètic no es transmet als descendents, ja que la línia germinal del pacient tractat no està manipulada.

La teràpia somàtica ha centrat les seves actuacions sobre malalties hereditàries ben definides el defecte genètic del qual resideix en un únic gen, les anomenades malalties monogèniques. Una d'aquestes és la distròfia muscular. Són malalties en què el defecte genètic és fàcilment confirmable en els portadors, i varia el funcionament d'un tipus cel·lular concret i més o menys accessible als gens terapèutics externs.

Les malalties provocades per l'alteració de més d'un gen, o per la falta de coordinació de uns quants gens, les anomenades poligèniques, són més complexes d'abordar i de moment es desestima la teràpia gènica per el seu possible tractament.

El càncer és una excepció, ja que tot i que engloba més de 200 malalties diferents, totes tenen en comú els mateixos mecanismes de malaltia: la divisió cel·lular incontrolada i/o l'absència de mort cel·lular programada. Els dos mecanismes són controlats genèticament i regulats per més d'un gen. El càncer respon a l'acumulació d'errors o mutacions durant la vida de l'individu en més d'un gen dels que controlen la divisió i la mort en una mateixa cèl·lula somàtica i aquesta acaba generant el tumor. Per això, el càncer és considerat una malaltia poligènica. Tot i això, la teràpia gènica s'ha utilitzat en certs models de tumors amb la fi d'activar el suïcidi de les cèl·lules canceroses.

- **TERÀPIA GÈNICA GERMINAL**

La inserció d'un gen terapèutic en òvuls, espermatozoides o en un òvul fecundat, es coneix com teràpia germinal. Aquesta tècnica no s'ha realitzat en humans ja que la legislació actual ho prohibeix.

El Conveni del Consell d'Europa sobre drets humans i biomedicina, firmat a Oviedo el 4 d'abril de 1997, prohibeix explícitament les modificacions genètiques – transmissibles a la descendència – de l'embrió. En efecte, l'article 13 diu:

“Una intervenció que tingui per objecte modificar el genoma humà només pot realitzar-se per raons preventives, diagnòstiques o terapèutiques i només si no té com a finalitat introduir una modificació en el genoma de la descendència.”

S'ha de dir que, contràriament a Europa, els Estats Units no tenen cap llei que impedeixi la manipulació de la línia germinal, i que aquestes poden realitzar-se sempre que la FDA¹ hagi donat el seu consentiment. Als EE.UU. la investigació en teràpia gènica germinal és teòricament possible, amb fons privats.

1.7. MÈTODES DE TRANSFERÈNCIA GENÈTICA

El problema de com fer arribar un gen terapèutic a una cèl·lula diana deficitària d'aquesta funció és el major obstacle de la transferència gènica, més coneguda amb l'expressió anglesa *gene delivery*. Aquest procés és particularment difícil en la teràpia gènica in vivo, ja que els teixits o òrgans diana, o els focus tumorals ocults, no sempre són accessibles.

Per qualsevol tipus de *gene delivery* es necessita un vector de transferència que transporti, protegeixi i transfereixi el gen terapèutic de forma segura i eficaç. A més li ha d'atribuir l'especificitat d'arribar únicament a les cèl·lules diana. El vector és la clau de l'èxit de la teràpia gènica.

Els principals sistemes de transferència poden agrupar-se en dos tipus: els mètodes físicoquímics (vectors no virals) i els vectors virals.

Els virals són més usats. El problema dels no virals és que o bé penetren poc dins de les cèl·lules o bé quan entren a la cèl·lula no s'integren dins del genoma. Llavors queden en forma del que s'anomena un element extra cromosòmic, segueix sent DNA, però, quan la cèl·lula es divideix, poc a poc es van perdent i, per tant, no és una teràpia gènica curativa. Els virals, pel contrari, s'integren molt bé però el gran problema és que a vegades no se sap on s'integren i pot provocar problemes de tumors. Això és degut a què si l'ADN del virus es posa en un lloc erroni provocarà un canvi en molts gens del genoma ja que variarà la posició de tots els que van darrera i aquella cèl·lula es tornarà cancerosa.

¹ FDA: Food and Drug Administration (Administració d'Aliments i Medicines)

VECTORS NO VIRALS

Els vectors no virals engloben aquelles tècniques de transducció on el material genètic és introduït utilitzant tant mètodes químics (fosfat càlcic, liposomes i receptors) com físics (biobalística, electroporació, microinjecció).

Aquests vectors van ser els primers en ser desenvolupats. En aquests mètodes l'ADN exogen està integrat en un plasmidi, que és una molècula de forma estable e independent del genoma de l'hoste.

En general tots presenten els mateixos avantatges: són senzills de preparar (permet la seva producció industrial), no tenen limitacions en quant a la mida de l'ADN que poden transferir, són poc tòxics i no són immunogènics.

➤ Fosfat càlcic:

Es basa en la capacitat que presenten els ions de calci per precipitar el DNA provocant que la cèl·lula, mitjançant endocitosi, introdueixi el DNA al seu interior.

➤ Liposomes:

Per evitar els problemes inherents a la toxicitat potencial de virus humans, s'han dissenyat múltiples agents sintètics que empaqueten l'ADN de forma que aquest pugui ser introduït en la cèl·lula a la vegada que el protegeixen de la seva degradació tant fora com en l'interior de la cèl·lula. Els liposomes són "perles" de lípids que contenen un ADN plasmídic en el que es troba el gen terapèutic amb totes les senyals de seqüència necessàries per la seva expressió en el destí cel·lular d'elecció.

La transferència a la cèl·lula es realitza per mitjà de la fusió entre els lípids del liposoma i els de la membrana plasmàtica.

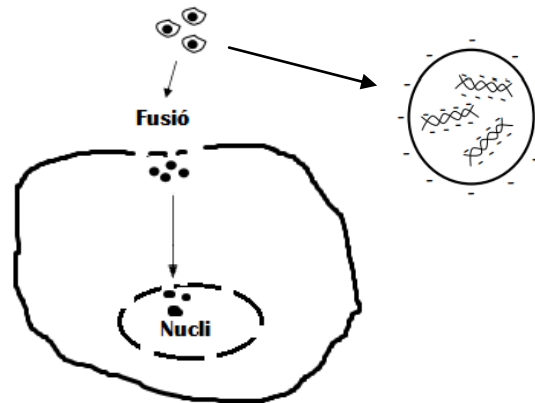


Figura 7: Fusió dels liposomes. (Font: Natàlia Carreras)

El major problema d'aquesta estratègia és l'especificitat de les cèl·lules diana en teràpies *in vivo* i la baixa eficàcia de transferència.

La falta d'especificitat està sent corregida per la incorporació de petits polipèptids en el revestiment d'aquestes perles lipídiques, per fusionar-les només en les cèl·lules diana que presenten molècules receptores específiques per aquests polipèptids.

➤ **Receptors:**

La inserció de molècules, que seran reconegudes per receptors presents en el tipus cel·lular escollit al vector del material genètic, fa d'aquesta tècnica un mètode direccional (al ser possible establir una interacció vector/cèl·lula molt específica).

➤ **Bio balística:**

També anomenat tret de partícules o bombardeig de microprojectils. En aquest mètode, el plasmidi de DNA a transferir està situat sobre la superfície de petites gotes de 1 a 3 micres de diàmetre d'or o tungstè que posteriorment són accelerades, "disparades" mitjançant una descàrrega elèctrica, cap a la cèl·lula diana. La força física de l'impacte supera la barrera de la membrana cel·lular. Tot i això, la capacitat de penetració és limitada i s'utilitzen amb freqüència en cultius de línies cel·lulars, epidermis, múscul i fetge.

Entre els avantatges d'aquest mètode destaquen el seu fàcil maneig i que un únic tret pot produir integracions múltiples. Malgrat això, presenta alguns desavantatges, com que en la zona de descàrrega es produeix mort cel·lular. A més, depenent de la rigidesa dels teixits, la procedència de l'ADN estrany i la capacitat de transcripció intrínseca apareixen grans variacions en l'eficiència de l'expressió dels gens.

➤ **Microinjecció:**

En aquest mètode, l'ADN és introduït per injecció directament al nucli de les cèl·lules gràcies a l'ajuda d'un micromanipulador, evitant d'aquesta manera la degradació citoplasmàtica i dels lisosomes. Les cèl·lules que han sobreviscut a aquesta injecció i han ingerit el material genètic presenten una alta eficàcia de la seva expressió. Aquesta tècnica és molt laboriosa i necessita cèl·lules aïllades per la seva realització.

Se sol utilitzar amb freqüència en estudis *ex vivo*, tot i que també en la teràpia gènica germinal. Es tracta d'un mètode *in vivo* on es porta a terme la microinjecció directa d'"ADN nu" en els pronuclis de l'òvul recent fecundat o en el citoplasma. En vertebrats inferiors i invertebrats és la tècnica de transferència de gens més utilitzada i en mamífers ha tingut èxit.

Els embrions solen tolerar la microinjecció de gens per, posteriorment, ser cultivats *in vitro* fins un estat de desenvolupament més avançat i ser transferits en les femelles adoptives. Tot i que els primers individus transgènics obtinguts mitjançant aquest mètode van ser ratolins, es realitza amb èxit en bovins, ovelles, cabres, conills i porcs.

En la tècnica d'"ADN nu", l'ADN és vehiculat en una solució salina o sèrica i normalment administrat mitjançant injecció intramuscular. El mecanisme pel qual entra en la cèl·lula diana segueix sent un enigma. Aquesta tècnica presenta un percentatge baix de transfecció i no aconsegueix la integració en el genoma. Un desavantatge és que l'expressió dels gens és de curt termini (dies). Entre els seus avantatges destaquen el ser un mètode directe, simple, econòmic i amb baixa toxicitat.

L'ADN nu s'utilitza com a procediment de vacunació, ja que tot i que el valor d'expressió dels gens és baix, resulta suficient per aconseguir una resposta immunològica.

➤ **Electroporació:**

L'aplicació d'un corrent elèctric a cèl·lules és capaç d'obrir porus en la membrana cel·lular que permeten l'entrada del gen al seu interior. Entre els seus avantatges es troben que les cèl·lules poden ser aïllades de l'organisme i sotmeses a un control de qualitat en el que es realitza una selecció de les millors cèl·lules cultivades en el laboratori abans de ser implantades en el pacient. Entre els seus desavantatges està el fet que moltes cèl·lules moren ja que no suporten el xoc elèctric.

VECTORS VIRALS

Fa uns anys, quan pensàvem en els virus ens imaginàvem un agent infecciós responsable de nombroses malalties o unes partícules molt petites que només poden observar-se gràcies al microscopi electrònic i que, tot i que presenten material genètic propi, són incapaces de replicar-se per si mateixes. Tot i això, avui en dia els virus comencen a ser considerats com eines de treball, vectors, que serveixen per introduir material genètic amb finalitats terapèutiques en les cèl·lules diana.

Els virus no poden ser utilitzats directament com es troben a la natura, necessiten ser modificats per poder ser utilitzats com a vectors. És necessari convertir-los en substàncies deficientes en replicació a l'interior de la cèl·lula diana. Es tracta, per tant, de produir una anulació parcial del genoma viral. Freqüentment es retiren regions codificadores d'algunes proteïnes estructurals en els vectors retrovirals que són reemplaçats pel gen o gens d'interès. Aquestes partícules són incapaces de replicar-se, però mantenen la capacitat d'infectar. Així, el vector viral només podrà multiplicar-se o créixer en cultius de línies cel·lulars modificades genèticament que expressen en excés la part del genoma viral que ha estat seleccionada. A aquestes cèl·lules se les coneix amb el nom de "cèl·lules d'empaquetament".

VECTOR	AVANTATGES	INCONVENIENTS
Retrovirus	<ul style="list-style-type: none"> - Integració estable - Fàcil maneig 	<ul style="list-style-type: none"> - Extinció del transgen <i>in vivo</i> - Possible mutació - Requereix proliferació cel·lular
Adenovirus	<ul style="list-style-type: none"> - Cèl·lules en repòs o replicació - Estables <i>in vivo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Resposta immune i inflamatòria - Direccionalitat difícil -Difícil maneig
Herpes virus	<ul style="list-style-type: none"> - Cèl·lules en repòs - Adequats per el sistema nerviós 	<ul style="list-style-type: none"> - Patogenicitat - Difícil maneig

Figura 8: Taula dels avantatges i inconvenients dels vectors.

➤ **Retrovirus:**

Els Retrovirus introdueixen els seus gens de forma permanent en el cromosoma de les cèl·lules que envaeixen. Una vegada el retrovirus s'ha integrat en el cromosoma, els seus gens es copien i es transfereixen a totes les cèl·lules descendents de la cèl·lula envaïda.

El gran problema d'aquest tipus de virus és que dipositen els seus gens en molts tipus cel·lulars i són inútils per a la inserció de gens que rarament es divideixen, com les neurones o les cèl·lules del múscul esquelètic.

La falta d'especificitat de diana dels retrovirus s'ha estudiat amb retrovirus quimèrics derivats de virus humans i virus d'altres espècies animals. Per exemple, l'especificitat d'infecció resideix en les proteïnes de la coberta del virus, i aquestes són substituïdes en el cromosoma del virus. Així, s'ha aconseguit substituir una proteïna de la coberta del virus de la leucèmia del ratolí (MLV) per la del virus de l'estomatitis vesicular humana (HVSV) i canviar l'especificitat del MLV per cèl·lules humanes.

➤ **Adenovirus:**

Els adenovirus són de mida mitjana (90-100 nm), sense embolcall (nus), compostos per una nucleocàpside i una doble cadena de DNA lineal.

Hi ha uns 51 tipus diferents en humans, que són responsables d'un 5-10% de les infeccions respiratòries en els infants, i algunes infeccions en adults. Quan aquest virus infecta una cèl·lula sana, aquest introdueix el seu DNA en la cèl·lula. El material genètic introduït no és incorporat en el propi ADN de la cèl·lula. La molècula de DNA és introduïda lliurement en el nucli de la cèl·lula, i les instruccions d'aquest DNA extra són transcrits com qualsevol altre gen. L'única diferència és que aquests gens no es repliquen i, per tant, les cèl·lules filles no tindran aquell gen.

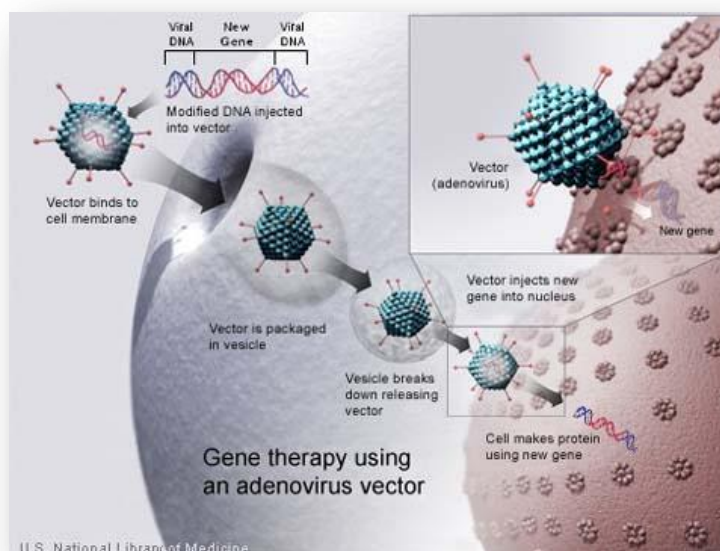


Figura 9: Teràpia Gènica mitjançant un adenovirus. (Font: Buscador de google)

➤ **Herpes simple:**

Aquests vector viral resulta interessant degut al seu tropisme específic per el sistema nerviós central i a la mida del gen que pot transferir. Tot i això, és un sistema que tot just està desenvolupat; els produïts fins al moment només permeten expressió transitoria del gen d'interès i la seva eficiència de transducció és baixa.

INTERFERÈNCIA PER ARN

Es tracta d'un mètode que no consisteix en una transferència de gens sinó que s'utilitza per desactivar qualsevol gen. Per això es fa servir "ARN silenciador" o SiARN.

El gen, quan s'expressa, primer fa una còpia d'ARNm i aquest és el que surt fora del nucli i dirigeix la síntesi de la proteïna. Si poses un RNA que sigui complementari al missatger, s'uneix a ell i el bloqueja. Ara ja no tens una cadena d'ARN que pugui dirigir la síntesi de cap proteïna.

Tot això és silenciar el gen ja que el gen continua funcionant però ja no el veus, està "callat". A més a més, s'ha vist que quan hi ha aquestes dues cadenes de ARN, hi ha un enzim que es diu Dicer que la reconeix i la talla a petits trossets, d'uns 22 nucleòtids, i utilitza aquests trossets per anar a buscar altres missatgers iguals i destruir-los. Per tant, és una reacció en cadena molt selectiva ja que són només 22 nucleòtids i va destruint tots els missatgers. Amb això es silencia totalment el gen.

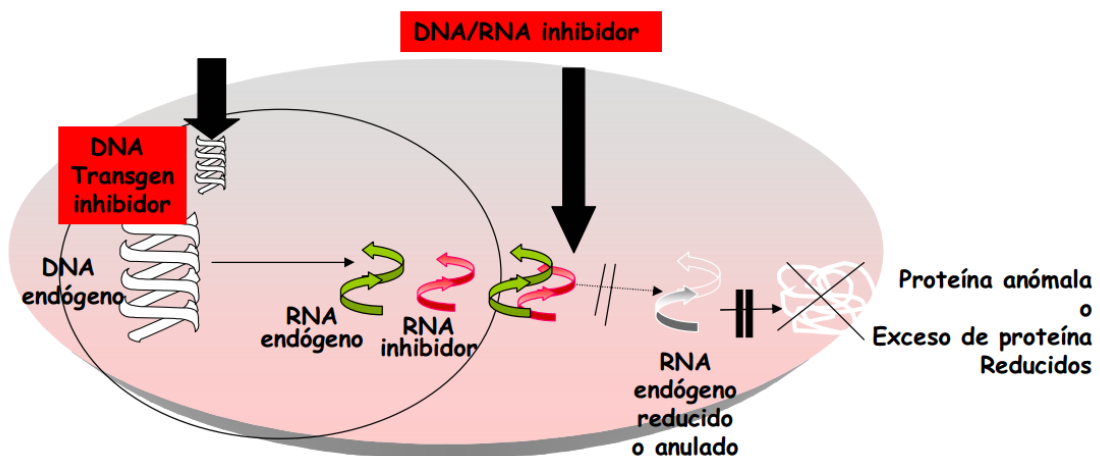


Figura 10: Procés ARN silenciador. (Font: Ana M. Gómez Foix.

<http://www.bq.ub.es/cursos/curs2010professoratsecundaria/terapiagenicaagomezfoix-2009.pdf>)

La cadena que s'introdueix d'ARN silenciador, com ha de ser complementària a la cadena d'ARNm que forma l'organisme, haurà de ser sintètica.

Per introduir-la es poden utilitzar dues tècniques:

- Introduint la cadena en un virus i aleshores això s'integra en el genoma i constantment estarà silenciant aquest gen.

- Introduint directament des de fora, per exemple envoltat de liposomes (vesícules de lípids) que simulen una membrana cel·lular on dins està el ARN. Quan aquest liposoma troba una cèl·lula, que també està constituïda de fosfolípids, les membranes es fusionen i ja es té el ARN dins.

S'està assajant en malalties degudes a un processament anòmal del RNA. Com sabem, el gen té introns i exons. Els exons porten informació i els introns són eliminats. Si la zona de l'intró pateix una mutació, a vegades, el mecanisme de control, no detecta que és un intró i no el treu. Això provoca malalties perquè es tenen segments d'ARN per allà el mig. Això s'està assajant per produir aquest "mecanisme silenciador" perquè destrueixi ARN sobrants.

1.8. MALALTIES TRACTADES AMB TERÀPIA GENÈTICA

Tot i que l'aplicació de la teràpia genètica en humans és font de gran controvèrsia degut als seus problemes ètics, pel gremi mèdic és un gran avantatge pel tractament de malalties i millora de la qualitat de vida dels pacients.

Primer es va iniciar amb malalties sanguínies ja que és més fàcil canviar un gen a la sang que no al cor o a un múscul (és molt difícil que l'òrgan segueixi funcionant bé).

Aquestes són malalties amb les que s'està experimentant a partir de teràpia gènica:

MALALTIA	GEN ALTERAT
Immunodeficiència combinada greu	Adenosina desaminasa
Emfisema	a1-antitripsina
Citrulinèmia	Arginosuccinat sintetasa
Deficiència d'adhesió leucocitària	CD 18
Fibrosis quística	CFTR
Hemofilia A	Factor VII
Hemofilia B	Factor IX
Talassèmia	b-globina
Anèmia falciforme	b-globina
Malaltia de Gaucher	Glucocerebrosidasa

Mucopolisacaridosis tipus I	a-L-iduronidasa
Mucopolisacaridosis tipus IV	b-glucuronidasa
Malaltia de Niemann-Pick	Esfingomielinasa
Fucosidosis	a-L-fucosidasa
Hipercolesterolèmia familiar	Receptor LDL
Hiperamonièmia	Ornitina transcarbamilasa
Fenilcetonúria	Fenilalanina hidroxilasa
Distròfia muscular de Duchenne	Distrofina

Figura 11. Malalties experimentades amb Teràpia Gènica

En el cas de l'Hemofília, tant A com B, com els factors alterats són els coagulants VIII i IX, els vectors actuen com alliberadors dels factors a les cèl·lules musculars del pacient.

La hipercolesterolèmia familiar és una malaltia que dona lloc a un mal funcionament dels receptors LDL (lipoproteïnes de baixa densitat). Aquests són els encarregats d'ingerir els greixos a les cèl·lules. Avui en dia ja hi ha una cura comercialitzada per aquesta malaltia, el producte és Glybera® i es tracta d'un vector viral. Aquest virus el que fa és incorporar una còpia funcional del gen a unes cèl·lules musculars, fent que adquireixin els receptors LDL. És una sola injecció que permetrà filtrar tota la sang i així curar definitivament la malaltia.

En malalties degeneratives, com l'Alzheimer o el Parkinson, també s'està investigant. S'intenta tractar a pacients que es troben en les primeres etapes de la malaltia a partir de la introducció del gen factor de creixement neurològic (NGF).

La ceguesa és una malaltia experimentada amb animals. Injecten retrovirus dins del medi aquós de l'ull i aquests infecten les cèl·lules de la retina. Aquest tipus de tractament només serveix quan la ceguesa és deguda a un problema en el principi de la via metabòlica, és a dir, quan es sintetitzen els pigments visuals. Una vegada incorporat aquest gen, comença a fer els pigments.

El càncer és una malaltia que també és possible que sigui curada en uns anys a partir de teràpia gènica. La seva finalitat és la destrucció selectiva de la cèl·lula tumoral. Els retrovirus permeten introduir gens, potencialment suïcides, a l'interior d'un tumor ja que

infectaran i introduiran el seu ADN en cèl·lules en divisió. Els adenovirus, tot i que no integren a l'hoste, poden romandre actius el temps suficient per destruir el tumor.

De les 20 o 30 malalties en les que s'està provant la teràpia gènica, aproximadament el 50 % de persones a les quals s'ha aplicat experimentalment s'ha vist que evolucionen, però aproximadament en 5 anys moltes desenvolupen tumors. Això dóna lloc a que pacients realment malalts tinguin el dubte de si han de provar la teràpia o no. Aquelles persones que estiguin més afectades, segurament, patiran el risc per intentar curar-se. Les altres potser s'esperaran a que la tècnica estigui més provada i sigui més segura.

La primera persona tractada amb teràpia gènica, Ashanti da Silva, va ser una nena que fa vint anys va poder salvar-se de ser una nena bombolla i està curada i viva. Aquesta nena o vivia la seva vida tancada per 4 vidres sense poder relacionar-se amb ningú, o s'arriscava a viure una vida normal com la resta de nens de la seva edat tot i poder tenir efectes secundaris.

El 1999, un jove de 18 anys va morir en ser sotmès a la teràpia gènica. Posteriorment, un altre jove, també de 18 anys, que patia una immunodeficiència severa i que va ser sotmès a aquesta teràpia, va desenvolupar leucèmia. Dos altres joves que participaven en el mateix assaig van patir el mateix problema i també un altre en el Regne Unit va desenvolupar leucèmia.

DOPATGE GENÈTIC

2.1. DEFINICIÓ DOPATGE GENÈTIC

El dopatge genètic està definit com l'ús no terapèutic (sense intenció de curar una malaltia) de gens, elements genètics o cèl·lules que tenen la capacitat de millorar el rendiment esportiu.

2.2. GENS QUE PODEN SER MODIFICATS EN EL DOPATGE GENÈTIC

Hi ha una gran varietat de gens que poden ser utilitzats en el dopatge genètic:

1. Eritropoetina (EPO)
2. Factor de creixement IGF
3. Hormona de creixement (GH)
4. Miosina IIb
5. Factor de Creixement D'Endoteli Vasculat (VEGF)
6. Factor de Creixement de Fibroblasts (FGF)
7. Endorfina i Encefalina
8. Alpha-actinina 3
9. PPAR-Delta
10. Fosfoenolpiruvat carboxiquinasa citosòlica (PEPCK-C)

D'aquests gens, els que són més usats i dels que hi ha més informació disponible són: l'Eritropoetina, el factor de creixement IGF i la Miosina IIb.

ERITROPOETINA

L'EPO és una proteïna utilitzada en teràpia gènica per tractar malalties com ara l'hemofília, la fibrosi quística, l'anèmia o malalties isquèmiques del cor, entre d'altres. En el cas dels atletes, el que pretenen aconseguir és un augment en el rendiment de la seva pràctica esportiva.

Aquesta glicoproteïna es produeix de manera majoritària en els ronyons, en resposta a la hipòxia. Degut a això, s'estimula el gen de la EPO, augmentant el nivell de l'hormona. La seva funció principal és estimular la formació de glòbuls vermells, estimulants l'eritropoesi.

Es coneix una teràpia genètica anomenada Repoxygen (laboratori Oxford BioMédica) que consisteix en injectar en les cèl·lules musculars el gen de la EPO. Es realitza mitjançant un vector viral que permet activar la síntesis de EPO quan descendeix l'aportació d'oxigen al múscul.

Per aïllar aquest gen, bàsicament el que es fa és, mitjançant enzims de restricció (enzims que tallen per llocs concrets el DNA), es talla aquest gen i s'introdueix dins del virus. El gen és humà i el que se sol fer és agafar un gen amb al·lel que generi més eritropoetina per si sol, per exemple la gent que viu a l'alta muntanya ja en creen més per ells mateixos. Si el gen s'incorpora bé, començarà a subministrar més eritropoetina.

FACTOR DE CREIXEMENT IGF-1

EL gen IGF-1 (Factor de Creixement Insulínic- tipus 1) està prescrit en teràpia gènica pel tractament de sarcopènia (pèrdua de massa muscular amb el pas del temps) i distròfia muscular.

El gen IGF-1 codifica una proteïna implicada en la resposta a l'hormona del creixement (GH). Regula també els efectes del creixement cel·lular i la síntesis d'ADN. En humans sans, ajudaria a una hipertròfia muscular i els atletes que es beneficiarien d'això serien els culturistes. Aquest gen seria introduït amb un vector viral.

Aquesta teràpia ha estat investigada amb els famosos "ratolins Schwarzenegger". Lee Sweeney va introduir el gen de creixement d'una rata a un ratolí. Va ser una tècnica de clonació com la de l'ovella Dolly: des del principi, en les cèl·lules mare embrionàries s'ha introduït la modificació del gen i el gen està present en tots els teixits. Lògicament el gen només s'expressarà en aquells teixits on el promotor permeti expressar-se. Els ratolins van patir un augment de la massa muscular entre un 20 i un 50% i no es produeix degradació muscular amb l'edat, tot i que l'esperança de vida dels ratolins era de la meitat al marge de que pateixen una hipertròfia cardíaca.



Figura 12: Ratolins Schwarzenegger. (Font: Buscador de Google)

El tractament de distròfia muscular usat com a dopatge resulta perillós pel cos humà, ja que està demostrat que una producció excessiva de IGF-1 està lligada a l'aparició de tumors.

L'any 2000 va néixer un nen excepcional a Berlín que va ser apartat de la llum pública. Els metges van advertir ràpidament que el nen tenia un problema, inclús quan era un nadó tenia músculs de culturista. Els metges van descobrir que el nen tenia un gen defectuós, el gen de la miostatina. El nen estava en plena forma, amb 4 anys era capaç d'aixecar dues peses de 3kg amb els braços estesos. Era l'únic ésser humà conegut que presentava aquesta anomalia. Tot i això, amb animals ja s'havia donat més d'un cas. Sense la miostatina els músculs creixen indefinidament.



Figura 13: Radiografia músculs del nen recent nascut amb cos de culturista. (Font: Juan Lara.

<http://www.rtve.es/alacarta/videos/la-noche-tematica/noche-tematica-dopaje-genetico-comienzo/1896266/>)



Figura 14: Vaques sense miostatina. (Font: Juan Lara.

<http://www.rtve.es/alacarta/videos/la-noche-tematica/noche-tematica-dopaie-genetico-comienzo/1896266/>

MIOSINA IIB

La Miosina IIb és una forma de miosina (proteïna més abundant del múscul) que participa en la contracció muscular. La seva característica és tenir una velocitat molt alta de contracció, motiu pel qual es beneficiarien els velocistes.

La tècnica d'injecció seria la mateixa tècnica que la de l'eritropoetina. Introduir-ho a tot el cos és complicat, de fet és perillós perquè que les cèl·lules que no fan múscul comencin a fer miosina és un petit desastre. En aquest cas el que s'hauria de fer és introduir-ho en els músculs que vols potenciar, és a dir, a les cames, a l'abdomen, als braços... Estaríem parlant de moltes injeccions locals.

2.3. EFECTES DEL DOPATGE GENÈTIC SOBRE LA SALUT

El gran problema del dopatge genètic és que la majoria de tecnologia genètica està encara en fase d'experimentació. Per tant, no es coneixen els efectes que produeix la tecnologia genètica a llarg termini. Convé saber que la investigació genètica està plena de perills i fracassos.

Els efectes secundaris són els derivats de qualsevol virus que entra al cos. Alguns dels riscos més importants en el dopatge genètic són:

1. Producció incontrolada de glòbuls vermells amb el desenvolupament d'hipertensió, accidents vasculars cerebrals o cardíacs per policitemia secundària, i anèmia autoimmune en dopatge genètic per eritropoetina.

2. Acromegàlia i desenvolupament incontrolat del teixit connectiu en òrgans com el fetge, el cor i el pulmó. També existeix la possibilitat de valvulopaties, aturada cardíaca, apnea de la son per engruiximent dels teixits tous, engruiximent de la pell, malaltia de Raynaud i hipertrofia muscular exagerada amb els conseqüents problemes osteo articular.
3. El major problema de la teràpia genètica és l'aparició de tumors. Això és degut a què si l'ADN del virus es posa en un lloc erroni provocarà un canvi en molts gens del genoma ja que variarà la posició de tots els que van darrera i aquella cèl·lula es tornarà cancerosa.

2.4. DETECCIÓ DEL DOPATGE GENÈTIC

Tot el que s'ha explicat anteriorment fa suposar que ja existeix la possibilitat de l'ús de la transferència genètica com un instrument per millorar en rendiment d'un atleta, el que s'ha denominat dopatge genètic. Tot i això, encara existeixen poques proves per verificar-ho. Per comprovar el que realment ocorre s'ha d'acudir a les tècniques moleculars mitjançant les quals seria possible detectar la diferència entre un genoma "normal" i un genoma "alterat".

El desenvolupament de les proves moleculars es pot resumir en els següents passos:

- 1) Extracció de DNA o RNA de mostres de sang o teixit de l'individu.
- 2) Amplificació mitjançant la reacció en cadena de la polimerasa (PCR). Consisteix en fer una PCR mitjançant una amplificació per duplicació d'un tros petit de DNA tantes vegades com sigui necessari fins que puguis ser capaç de veure els gens.
- 3) Estudi de les seqüències d'interès mitjançant sondes, marcadors, polimorfismes d'un sol nucleòtid, biosensors, entre una àmplia gama de possibles tècniques moleculars que es desenvolupen de manera rutinària avui en dia.

Un dels principals inconvenients d'aquestes proves és la selecció de les regions del genoma a estudiar degut a que existeixen diferents gens que codifiquen per proteïnes musculars, proteïnes associades amb les funcions respiratòries o energètiques, proteïnes associades amb neurotransmissors cerebrals o hormonals. Totes elles podrien, de manera particular o en conjunt, millorar o incrementar el rendiment d'un atleta.

Per aquesta raó, sorgeix la pregunta: Quins gens o regions específiques s'han d'incloure en una prova de detecció de dopatge genètic? A més a més, és important fer notar que en l'expressió d'un gen no sempre es trobaran alteracions del genoma, sinó l'expressió d'aquest, el fragment d'ADN transcrit com RNA i, per tant, les proteïnes funcionals. És per això que entre les tècniques moleculars suggerides en els passos anteriors, es troba la RT-PCR² que permet estudiar el RNA. En aquest cas el problema tornarà a ser la selecció de les regions del genoma a estudiar, els RNA específics que codifiquen o que intervien en la traducció de diferents proteïnes; més encara, en algunes ocasions una mateixa proteïna és traduïda per diferents RNA.

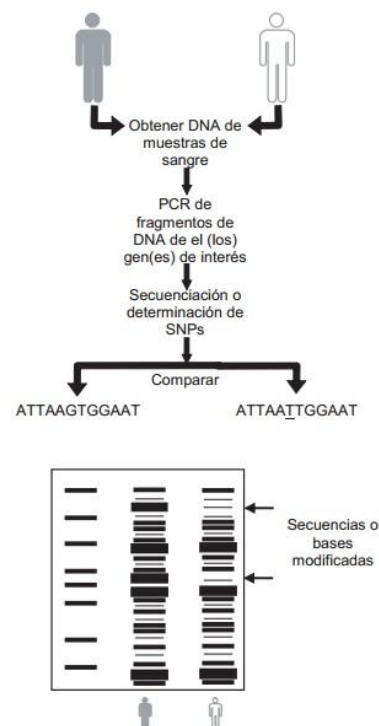


Figura 15: Diagnòstic molecular. (Font: Buscador del Google)

Pot ser que sigui difícil veure que s'ha agregat al cos un gen en particular, però hi haurà conseqüències que es poden veure i mesurar. Per exemple, el gen s'expressarà per si sol i produirà majors quantitats d'una proteïna o enzim en particular, el qual es pot detectar i mesurar. Un increment sobtat en la producció de glòbuls vermells seria molt sospitós. Aquest mètode de detecció seria similar a la manera en que els astrònoms troben nous planetes: no poden veure el planeta però saben que està allà en observar l'efecte que la seva gravitació exerceix en els objectes propers que són visibles.

² RT-PCR: Reacció en cadena de la polimerasa amb transcriptasa inversa (*Reverse transcription polymerase chain reaction*). És una variant de la PCR on una cadena de ARN és retrotranscrita en ADN complementari utilitzant l'enzim transcriptasa inversa. El resultat s'amplifica en una PCR tradicional.

A l'Escola Superior d'Esports d'Alemanya s'ha desenvolupat un test per una forma particular de dopatge genètic. No pot detectar la transferència genètica però sí la modificació d'un gen específic que controla el metabolisme de l'energia. El test es fa amb mostres per detectar l'abús de miosina. No és un test del tot segur però sí que és un bon començament.

Segons el Dr. Bueno (Professor de genètica a la UB), la detecció també és possible. Assenyala que "El gen de l'eritropoetina es detectaria tenint un control previ i comparant valors, sinó s'hauria de fer una anàlisi de les cèl·lules on es pot incorporar aquest virus i investigar si ha estat ingerit o no. Això es pot saber perquè quan el virus incorpora el gen hi ha uns petits trossets del virus que també s'incorporen i que nosaltres no tenim al genoma. Si amb aquestes cèl·lules fas una PCR podràs observar si hi ha o no aquests petits trossets".

Se sap que l'ús de substàncies i mètodes prohibits en l'esport per millorar el rendiment, la velocitat, la força... és present des de fa temps. És per això que el Comitè Olímpic Internacional (COI) i l'Agència Mundial Antidopatge WADA estableix la regulació corresponent i realitzen revisions periòdiques en relació a l'ús d'aquestes substàncies, recolzant-se en el fet que els ajuts artificials causen desigualtat d'oportunitat entre els esportistes, violant d'aquesta manera l'ètica esportiva i l'esperit olímpic.

2.5. "SUPERATLETES"

Els atletes neixen i es fan. Els "superatletes" neixen. Cada vegada són més els estudis que demostren com als esportistes els hi ha tocat una herència genètica diferent a la dels altres.

Hi ha una explicació científica pels esportistes fora de sèrie: posseeixen una combinació genètica preparada per batre marques. Amb els avenços en teràpies gèniques, els experts es plantegen si la resta d'atletes hauran de modificar el seu genoma per poder competir en igualtat de condicions, una cosa no permesa per les autoritats esportives.

"Els mètodes d'entrenament et fan millorar però, com tothom entrena de la mateixa manera, s'ha comprovat que aquells que són superiors a la resta disposen d'un

conjunt de variants genètiques – mutacions beneficioses – que molts pocs atletes presenten”, explica a SINC³ Steve Gullans.

Com a dada, la meitat dels atletes euro-asiàtics i el 85% dels africans disposen com a mínim d'una còpia de l'al·lel 577R, una variant del gen ACTN3 (afavoreix a la velocitat i la resistència), tal i com recorda un article publicat el dia 18 de Juliol de 2012 en la revista *Nature*. Un altre exemple és que el 94% dels *sherpas* de la vall de Katmandú, al Nepal, compta amb una variant del gen ACE (afavoreix l'escalada d'alta muntanya).

A més del conegut gen ACTN3, més de 200 variants genètiques marquen la diferència. I això sense controlar els que encara es desconeixen.

Això no significa que les dures sessions d'entrenament no serveixin per res, però indica que hi ha individus que ho tenen més fàcil per aconseguir rècords que la resta.

2.6. LEGALITZACIÓ

L'Agència Mundial Anti-Dopatge (*World Anti-doping Agency, WADA*) és una fundació independent inaugurada el 10 de Novembre de 1999 a Lausana (Suïssa) per promoure i coordinar la lluita contra el dopatge en l'esport.

Segons aquesta agència:

“El següent, amb el potencial de millorar el rendiment esportiu, està prohibit:

1. La transferència de polímers d'àcids nucleics o anàlegs d'àcids nucleics.
2. L'ús de cèl·lules normals o genèticament modificades.
3. L'ús d'agents que directe o indirectament afecten funcions de les quals es coneix la seva influència en el rendiment, per alteració de l'expressió genètica. Per exemple, els agonistes dels receptors activats pels proliferadors dels peroxisomes d (PPARd) i els agonistes de l'eix PPARd – proteïna quinasa activada per AMP.”

³ SINC: Primera agència de notícies científiques en espanyol, pública i llicenciada.

PASSAPORT BIOLÒGIC

El passaport biològic (PB) és un document individual que recull el conjunt de resultats de les anàlisis biològiques efectuades a cada esportista. Totes aquestes dades, una vegada agrupades, permeten determinar el perfil hematològic i urinari de l'atleta. El PB obre, per tant, noves vies en la lluita antidopatge.

Aquest document també és positiu pels atletes perquè els hi permet controlar si van a bon ritme, han d'esforçar-se més o han de frenar.

Tot atleta d'elit està obligat a tenir el seu PB, sigui quin sigui l'esport que practica. Cada 3 mesos aproximadament estan sotmesos a una prova d'anàlisi de sang, orina i saliva sense ser avisats.

L'accés a aquest passaport és molt restringit. Els entrenadors tenen prohibit el seu ús però, en canvi, el mateix esportista pot demanar veure'l. Tant els doctors com els encarregats de cada competició tenen la funció de fer un seguiment individual de cada esportista tenint en compte el passaport biològic. Depenent de la competició que estigui realitzant, uns organitzadors o altres tindran accés a aquest document.

PART PRÀCTICA

Com ja he dit en la introducció, la part pràctica d'aquest treball l'he realitzat a partir d'un documental titulat "Dopatge Genètic vs Teràpia Gènica". L'objectiu d'aquest documental és presentar d'una forma directa, a través de personatges ficticis, l'impacte que pot tenir en aquests la teràpia gènica. L'he acompanyat de la informació tècnica representada per mitjà d'imatges animades per una millor comprensió.

El públic al que va dirigit és tot tipus de persones que estiguin interessades per el tema del dopatge, cura de malalties, genètica... Sobretot va encaminat a fer reaccionar a persones que es podrien plantejar en algun moment de la seva vida el dopatge.

Els punts que he tractat abans de començar el curtmetratge són:

1. LA IDEA:

La idea és fer un curtmetratge documental plasmant tota la informació recollida. La història de dues vides paral·leles d'un atleta i un malalt crònic, en què els dos van a sotmetre's a teràpies gèniques, l'atleta amb la fi de millorar les seves marques i el malalt per millorar la seva salut.

2. L'ARGUMENT:

L'Óscar, un atleta d'elit, que ve entrenant dur des de petit, s'està preparant per les Olimpíades del 2014. Tot i el seu gran esforç és conscient que hi ha atletes que el superen. El seu metge personal li ofereix la possibilitat de millorar les seves marques sotmetent-se a un dopatge genètic. Aconseguirà fer-se amb l'or però, als pocs anys, els efectes secundaris del dopatge li perjudicaran en la seva salut.

El Marc, un malalt d'hipercolesterolèmia familiar (una malaltia genètica), va patir un ictus que li va provocar una hemiplegia. Ell es sotmet a un tractament gènic, per evitar el cúmul de LDL en sang i aconsegueix que es converteixi en un èxit.

3. L'ESCALETA:

1. Dues cadires de rodes vistes des de darrera.
2. Imatges molt ràpides d'un resum de tot.
3. Entrevista a l'Oscar abans del campionat. Preses de l'Oscar entrenant.

4. Entrevista a un atleta jamaicà.

En off: definició de gen i explicació gen guanyador **ACTN 3**

5. Entrevista al Marc (malalt d'hipercolesterolèmia familiar). Explica el seu problema i com és el seu dia a dia.

En off: explicació malaltia **hipercolesterolèmia familiar**

6. El Dr. Mato li ofereix un dopatge a l'Oscar que es basa en un gen anomenat miosina IIb.

7. Imatges de l'Oscar injectant-se el gen (ambulatori)

En off: Explicació del **dopatge**, del virus i de la **miosina IIb**

8. La doctora del Marc explica en què consisteix la teràpia gènica que faran servir pel malalt.

En off: **Teràpia Gènica ex-vivo** (plastilina)

9. Imatges de l'Oscar en primer lloc.

10. Investigadors que busquen una detecció del dopatge

11. Deteriorament de l'Oscar

En off: com el virus s'ha col·locat de manera errònia en certes cèl·lules i ha creat **tumors**

12. Igual que la primera presa, les dues cadires de rodes vistes des de darrera. Surt la notícia per la televisió de què l'atleta ha estat dopat i se li retiren els títols. El Marc s'aixeca de la cadira i mou la cadira de l'Oscar fins sortir de la sala.

Per realitzar el curtmetratge he necessitat extreure parts de vídeos d'Internet i afegir-los al meu documental. Aquests són els vídeos que he usat:

- CANCER TREATMENT CENTERS OF AMERICA. *What is cancer.*
https://www.youtube.com/watch?v=SGaQ0WwZ_0I
- CENTRO MÉDICO LUQUEZ. *Video sobre la Aterosclerosis.*
https://www.youtube.com/watch?v=8HYWcS_XvnY
- CHABACANO, Ciclista. *Final 100 metros lisos Campeonato Europa de atletismo (Barcelona)*
<https://www.youtube.com/watch?v=t3qvmPVY5c8>

- FH JOURNEYS. *Hipercolesterolemia familiar – Spanish.*
<https://www.youtube.com/watch?v=IUvNiGbqj4k>
- HOYOS, Juan. *Dopaje genético.*
<https://www.youtube.com/watch?v=5Mxwu9rttYU>
- JUST ASK. *BRCA Gene Mutation Facts and Statistics.*
<https://www.youtube.com/watch?v=-GwdZlqJf8g>
- MARTEAUV. *Usain Bolt New Record 100m in 9.58 Seconds in Berlin. Gold Medal in Beijing 9.68 sec.*
<https://www.youtube.com/watch?v=NHmEpgUFLZ8>
- MARTINEZ, JOSE. *Olimpiada Infantil Preescolar ‘Carrera 75 mts. Niños.*
<https://www.youtube.com/watch?v=uVg2fnZDDDU>
- TOMAS, Angel. *Campeonatos de España de atletismo cadete 2012 Zaragoza.*
<https://www.youtube.com/watch?v=NoQVq1APiFs>
- WILSON ANTONIO RINCÓN MARTINEZ. *Síntesis de proteínas.*
https://www.youtube.com/watch?v=fC_h0zWM1us

CONCLUSIONS

Arribats a aquest punt, em resta elaborar les conclusions. A l'inici del treball em vaig marcar un seguit d'objectius als que pretenia arribar en finalitzar el treball.

- **Fer una recerca completa sobre la Teràpia Gènica. Incloure les tècniques més usades i les malalties tractades.** La Teràpia Gènica és un tema prou desenvolupat i experimentat. La seva recerca no ha sigut excessivament complicada, tot i que no he disposat en tot moment d'articles 100% fiables. Les tècniques més usades són relatives ja que, depenent de la malaltia tractada o del pacient, s'utilitzen més unes tècniques o unes altres. Només hi ha un medicament utilitzat en Teràpia Gènica que estigui al mercat, s'anomena Glybera. Totes les altres malalties esmentades només estan en procés d'experimentació però cap d'elles es tracta genèticament de manera habitual.
- **Parlar amb especialistes en Genètica per informar-me de quins són els mètodes que realment s'utilitzen en casos pràctics. Contactar amb persones que m'expliquessin d'una manera senzilla els processos que s'han de seguir per manipular els gens.** El Dr. Bueno és el professor de Genètica de la UB (Universitat de Barcelona) amb el qual vaig poder gaudir d'una entrevista. Quaranta-cinc minuts al seu costat em van servir per afrontar molts dels dubtes que m'havien sorgit i per gaudir durant aquella estona del que realment és la Genètica. Per exemple, em va fer entendre com s'introdueix el gen en el virus, com es tallen els virus, com seria una possible detecció... Per altra banda em vaig adonar de l'extensió d'aquest àmbit i de l'interessant que arriba a ser.
- **Reflexionar sobre l'abús que es fa d'aquesta teràpia en els esports. Tot i estar en contra, detallar quins són els gens més usats en els esports, els efectes que poden originar en els organismes dopats (ja siguin positius com negatius) i la possible detecció.** He volgut desenvolupar el treball dividint clarament l'ús de la teràpia gènica per pacients malalts i l'ús de la teràpia per esportistes sans. En finalitzar amb l'explicació de la teràpia, el següent apartat ha estat explicar el Dopatge. Aquest m'ha resultat més complicat de desenvolupar ja que la informació era més escassa i encara

menys fiable. Tot i això, he fet un recull precís de tot el que he trobat i he fet una síntesi amb el més entenedor i fiable. La Dra. Darbra també es una professora que també dóna classes de Genètica però a la UAB (Universitat autònoma de Barcelona). Amb ella no vaig tenir cap entrevista però em va oferir articles de primera mà els quals em van ser de gran ajuda, donaven informació dels gens més utilitzats i els vectors utilitzats en cada cas. La detecció, com ja he dit en el treball, és probable tot i que encara no sigui segura ja que les tècniques de detecció són molt complicades.

- **Diferenciar, a partir d'un documental, la teràpia gènica usada en malalts i la usada en esportistes sans.** El documental que he realitzat m'ha fet gaudir molt tot i que ha estat el més complicat. El problema que m'he trobat és la poca disposició d'espais on gravar preses de l'entrenament, les carreres... És per això que algunes seqüències són extretes de vídeos d'Internet. Tot i això, després d'un llarg treball, el vídeo resulta prou entenedor i es veu la clara diferència que m'havia marcat des d'un principi: "Fem un bon ús de la Teràpia Gènica, no un abús".
- **Hi havia un objectiu que no havia variat des del principi del treball: investigar fins quin punt era usat el dopatge a nivell mundial i si de veritat era factible.** Després d'investigar, aquest objectiu no té un clar resultat ja que he trobat respostes molt diferents en diferents bibliografies. Tot i això, un dels resultats l'he trobat molt interessant i és per això que l'adjunto aquí com a conclusió:

El Dr. Bob Goldman, fundador de l'Acadèmia Nacional de EE.UU. de medicina de l'Esport, va demanar als atletes d'elit en la dècada de 1980 que li responguessin sí o no a una simple qüestió: *Us deixàrieu administrar una substància que us garantís medalles d'or tot i saber que us portarà a la mort en 5 anys?* Més de la meitat van dir que sí.

És una quantitat molt sorprenent de persones capaces de donar la vida d'aquesta manera. Ell va repetir l'enquesta cada dos anys durant la dècada dels 90 i els resultats van ser sempre molt similars – entorn a la meitat d'atletes enquestats estaven disposats a morir per l'or. A aquest dilema se l'ha anomenat *Dilema de Goldman* ja que és un problema per la salut dels atletes.

Algun d'aquests atletes presentaven, en el moment de l'enquesta, tan sols 16 anys d'edat. Estar disposat a morir als 21 anys és una actitud psicològica greu.

A mesura que anava resolent dubtes, me'n sorgien de nous. Per exemple, tinc una idea de com s'extreu un gen i s'introdueix en un vector. Tot i això, sé que el desenvolupament és molt més complicat del que sembla. Només la manipulació de gens donaria per fer un nou treball del mateix gruix del que jo he realitzat. També seria interessant com realment el vector introduït en el flux sanguini és capaç de detectar la cèl·lula diana i només introduir el material genètic en aquesta. Són una sèrie de dubtes que més endavant m'encantaria descobrir que és el que passa en realitat.

L'àmbit del Dopatge Genètic està relacionat sobretot amb el futur i és per aquest motiu que les prediccions resulten molt difícils. Després d'estudiar sobre el tema del Dopatge Genètic, comparteixo algunes prediccions que va esmentar Niels Bohr (físic de renom) en un dels seus articles científics:

1. Hi haurà individus que oferiran als atletes el que afirmaran que es tracta d'una millora genètica.
2. Alguns atletes acceptaran aquesta oferta, molts altres no.
3. En el món esportiu abundaran els rumors sobre els "superatletes" que han utilitzat el dopatge genètic.
4. Aquests rumors només seran veraders a mitges. Serà veritat que alguns atletes s'estan sometent a la manipulació genètica. Serà fals que aquests atletes s'estan convertint en "superatletes". Els rumors exageraran terriblement l'eficàcia del dopatge genètic i el seu impacte en l'esport.
5. Dels atletes que usin el dopatge genètic, la majoria no experimentarà cap millora en el seu rendiment a part de l'efecte placebo, mentre que en altres disminuirà les seves capacitats i possiblement causaran danys a la seva salut. Existeix la possibilitat, summament llunyana per ara, de què uns quants atletes experimentin un increment temporal en el seu rendiment. Però és molt improbable que aquesta situació afecti a l'equilibri competitiu en l'esport olímpic. Passaran un bon grat d'anys abans de què això succeeixi.

Una conclusió a la que personalment he aconseguit arribar després d'haver dut a terme aquest treball és que la ciència és infinita, no se sap quin serà l'últim coneixement o descobriment que arribarem a adquirir. Els resultats són molt satisfactoris però també és una branca dura ja que la majoria de vegades hom s'haurà

d'enfrontar a noves preguntes. I això, justament, és el que ensenya i ajuda a aprendre, superar els problemes i inconvenients que es presenten.

Finalment acabo amb la frase que comença el meu treball, però encara més generalitzada: "Fem un bon ús de la ciència, no un abús."

AGRAÏMENTS

La realització d'aquest treball no hagués estat possible sense la col·laboració de varies persones. És per això que vull dedicar un apartat a agrair individualment les ajudes que m'han ofert.

Primer de tot, agraeixo a en David Bueno i la Sònia Darbra tota la informació que m'han posat a l'abast tant de la Teràpia Gènica com del Dopatge Genètic. En particular, vull donar les gràcies al Dr. Bueno pels minuts que va dedicar a la meua entrevista i pel que em va fer gaudir. Junt amb ells dos, també he pogut contactar amb dos altres professionals, el Dr. Valls i en Julio Gaona. En Josep Valls em va oferir veure i utilitzar les màquines d'Estimulació Electromagnètica i mantenir una entrevista. En Julio és un ciclista professional amb el que vaig tenir una entrevista sobre el Dopatge en general i el Passaport biològic. Ell tenia un especial interès sobre el meu treball i és per això que abans de l'entrevista es va informar de tot el possible. Els hi agraeixo molt el que han fet per mi.

En el documental he de donar moltes gràcies a tots aquells que han actuat en ell i m'han facilitat la feina. Començant pels actors principals, el meu germà Oscar Carreras i el meu pare Marc Carreras. Ells dos han estat dia a dia gravant i repetint escenes. Ha sigut una feina divertida però també dura. Juntament amb ells estan els actors secundaris, el Josep Castellà que ha realitzat el paper de doctor, la meua mare Silvia Gallo que ha fet de doctora i l'Eduardo Dorvil que actuava com a atleta jamaicà. Tots junts hem format un gran equip. És per això que els hi agraeixo que hagin aguantat totes les meves queixes i hagin sigut tant pacients a l'hora de gravar.

En especial vull anomenar a la meua cosina Ainara Carreras per ajudar-me en els aspectes tècnics del vídeo. Ella ha estudiat Disseny Audiovisual i és per això que ha sigut capaç de fer els últims retocs del documental. Moltes gràcies.

Per acabar, donar les gràcies a la meua tutora Catalina Parpal per orientar-me en el meu treball i estar present quan he hagut de consultar dubtes. També li agraeixo que hagi aconseguit que cada vegada estimi més la biologia.

BIBLIOGRAFIA

- BLOGÍA. (7 de Febrer del 2014) *Enfermedades tratadas mediante terapia génica*.
<http://terapiagenica.blogia.com/2012/020704-enfermedades-tratadas-mediante-terapia-genica.php> (27 de Juliol del 2014)
- CHAPARRO, LAURA. (18 de Juliol del 2012) *Élite olímpica, élite genética*.
<http://www.agenciasinc.es/Reportajes/Elite-olimpica-elite-genetica> (2 d'Agost del 2014)
- Dr. ANANYA MANDAL. (14 de Gener de 2014) *Historia de la Terapia Génica*.
[http://www.news-medical.net/health/Gene-Therapy-History-\(Spanish\).aspx](http://www.news-medical.net/health/Gene-Therapy-History-(Spanish).aspx) (5 de Setembre del 2014)
- Dr. MARCOS ISAMAT. *Actualización terapéutica: Terapia Génica*.
<http://www.ub.edu/legmh/capitols/isamat.pdf> (2 d'Agost del 2014)
- Dra. MÓNICA CLAVIJO. *Dopaje genético: abuso de la combinación entre ciencia y deporte*.
<http://pedaleamosporcolombia.com/wp-content/uploads/Dopaje-Gen%C3%A9tico.pdf> (13 de Juliol del 2014)
- ENCICLOPÈDIA DE BIOÈTICA. *Posibilidades actuales de intervención genética en el ámbito de las enfermedades hereditarias*.
<http://enciclopediadebioetica.com/index.php/todas-las-voces/117-intervencion-genetica-en-enfermedades-hereditarias> (29 d'octubre de 2014)
- FUNDACIÓN MIGUEL INDURAIN (2005) *Por un deporte limpio*.
<http://deportelimpio.fundacionmiguelindurain.com/documentobase/documento.cfm?navuid=7926B41D-BC1-C097-AC77F46437600414&uid=72230F7E-19B9-FA8E-AC2715F4BD567C94> (15 de Juliol del 2014)
- HOYOS, JUAN. *“Dopaje genético”, un documental sobre el futuro de genes y deporte*. [CD] Espanya: Barcelona, 2014.

- JUANA ROZALÉN, VALENTÍN CEÑA Y JOAQUÍN JORDÁN (8 de Setembre del 2014) *Terapia génica. Vectores de expresión.*

<https://onedrive.live.com/view.aspx?cid=C55F001BE098ADF6&resid=C55F001BE098ADF6%21143&app=WordPdf> (31 de Juliol del 2014)

- WADA (1 de Gener de 2014) *Lista de Sustancias y Métodos Prohibidos*

<http://list.wada-ama.org/es/> (20 de Setembre del 2014)

ANNEXOS

1. ENTREVISTA AL DR. BUENO (PROFESSOR DE GENÈTICA)

Càrrec: Professor i investigador de genètica de la Universitat de Barcelona, coordinador de la Selectivitat de Biologia i divulgador de la ciència.

D'entrada dir-te que no estic a favor del dopatge genètic, el que més m'interessa és la teràpia genètica però en aquest treball vull reflectir com aquesta tècnica pot ser utilitzada per els atletes i comportar efectes secundaris.

1. Coneixes els avenços més recents de la Teràpia Gènica? Hi ha alguna que realment estigui provada i doni resultats positius en l'actualitat? A quines malalties?

En aquest moment només hi ha una de comercialitzada i, per tant, perfectament provada i segura. Es tracta d'una malaltia genètica, anomenada Hipercolesterolèmia familiar, en què les cèl·lules encarregades d'agafar els greixos que mengem, tenen el receptor defectuós. Això provoca un alt nivell de greixos circulant en sang que pot desembocar en malalties cardíaques, vasculars i cerebrals (també s'acumulen en llocs on la sang intercanvia substàncies amb el cervell). Aquesta teràpia en concret consisteix en una única injecció de virus modificats genèticament que no es poden reproduir i que infectaran cèl·lules musculars. Aquest virus els hi incorpora una còpia funcional del gen fent que aquestes cèl·lules adquireixin els receptors LDL (lipoproteïnes de baixa densitat) que segresten l'excés de greixos. Es sol injectar a la cuixa perquè és on hi ha més greixos i, tot en un principi no haver de fer aquesta funció, ajuda molt a filtrar la sang. El medicament es diu Uniqure i és una sola dosis per tota la vida que et cura definitivament.

2. He trobat molts vectors, tant virals com no virals, per fer una transferència genètica. Tot i això, és veritat que alguns són més eficients que altres i, per tant, hi ha pocs que s'utilitzen a la pràctica. Sabries dir-me quins són els més usats?

Els virals són més usats. El problema dels no virals és que o bé penetren poc dins de les cèl·lules o bé quan entren a la cèl·lula no s'integren dins del genoma. Llavors queden en forma del que s'anomena un element extra cromosòmic, segueix sent DNA, però, quan la cèl·lula es divideix, poc a poc es van perdent i, per tant, no és una teràpia gènica curativa. Els virals, pel contrari, s'integren molt bé però el gran problema és que a vegades no se sap on s'integren i pot provocar problemes de tumors. Això és degut a què si l'ADN del virus es posa en un lloc erroni provocarà un canvi en molts gens del genoma ja que variarà la posició de tots els que van darrera i aquella cèl·lula es tornarà cancerosa. Quan t'injecten això, t'injecten milions de virus i, per tant, queden moltes cèl·lules infectades provocant una altra probabilitat de mutació en alguna d'elles.

3. Quan temps triga en fer efecte un canvi de gen?

En el cas de la malaltia que t'he comentat, es comença a notar de seguida però fins que tot estigui correcte poden passar dies i setmanes. L'efecte és molt ràpid perquè la sang circula per tot el cos i no triga gaire en passar tota pel lloc on està el gen i filtrar-la.

Hi ha altres casos tractats amb animals, com per exemple la ceguesa. En aquest cas s'injecten retrovirus dins del medi aquós de l'ull i ells mateixos infecten les cèl·lules de la retina. Aquest tipus de tractament només serveix quan la ceguesa és deguda a un problema en el principi de la via metabòlica, que sintetitza els pigments visuals. Doncs, s'incorpora aquest gen i comença a fer els pigments. En aquest cas pot trigar una mica més en fer efecte, no perquè les cèl·lules potser triguin molt a fabricar la molècula aquesta, sinó perquè moltes vegades és que el cervell no ha captat mai llum i has d'acostumar-lo a captar imatges.

Aquesta teràpia, malauradament, també és utilitzada pels esportistes. En l'actualitat es coneixen més de 200 gens que afavoreixen al rendiment físic, els més coneguts en el dopatge genètic són el gen de l'eritropoetina (replexigen), el Factor de creixement IGF-1 i la miosina IIb.

4. Si parlem del repoxigen, quines tècniques s'utilitzen per aïllar aquest gen? Quin profit en treuen els esportistes?

El primer és que encara no s'ha utilitzat mai per millorar el rendiment de cap esportista perquè veure un augment d'eritropoetina sobtat en un esportista seria molt sospitós.

Per aïllar aquest gen, bàsicament el que fas és, mitjançant enzims de restricció (enzims que tallen per llocs concrets el DNA), talles aquest gen i el poses dins del virus. El gen és humà i el que es sol fer és agafar un gen amb al·lel que generi més eritropoetina per si sol, per exemple la gent que viu a l'alta muntanya ja creen més per ells mateixos. Si el gen s'incorpora bé, començarà a fer més eritropoetina.

Això provocarà un rendiment més alt en els esportistes i seria el mateix que si es prenguessin eritropoetina sintètica.

5. El factor de creixement IGF-1 és un altre gen tractat en els esports. Has sentit parlar d'ell?

Sí, és molt famós. Però no he sentit a parlar tant en l'àmbit de l'esport, sinó en el desenvolupament embrionari. En els adults intervé en el manteniment i creixement de la musculatura. No crec que pugui beneficiar en tots els esports, ja que per exemple al Kilian Jornet tenir un múscul gros no li serveix de res ja que gasta més energia, però en canvi pels corredors de 100 m llisos sí que ajuda.

6. La miosina és una proteïna que el seu alt nivell provoca una millor contracció muscular. Coneixes aquest tipus de proteïna i quina tècnica s'hauria d'utilitzar per aconseguir resultats òptims en l'esport?

Seria la mateixa tècnica que amb l'eritropoetina. Introduir-ho a tot el cos és complicat, de fet és perillós perquè que les cèl·lules que no fan múscul comencin a fer miosina és un petit desastre. En aquest cas el que s'hauria de fer és introduir-ho en els músculs que vols potenciar, a les cames, als de l'abdomen, als braços... Però clar, ja no seria el mateix que la teràpia gènica que està aprovada ja que és una sola injecció en un múscul i prou. Estaríem parlant de moltes injeccions en els músculs concrets. La informació genètica del virus no passarà de cèl·lules a altres cèl·lules si no és mitjançant un virus que es desplaci, cosa molt difícil de trobar. Aquest virus

comportaria problemes ja que tenir cèl·lules a certes parts del cos, com el fetge, amb un alt grau de miosina pot comportar que deixin de fer la funció que els pertoca. Tenir un cor més gros també és un problema molt greu perquè els vasos sanguinis no li reguen bé la sang. Això els hi passa als que fan peses, tenen el cor molt més gros i els hi provoca problemes cardíacs i petites zones de necrosi (cèl·lules mortes).

7. Creus que hi ha molts esportistes assabentats d'aquest tipus de dopatge? Tindrien fàcil accés a aquest tipus de dopatge?

Assabentats no ho se, perquè encara és una cosa molt nova. Jo estic segur que els seus managers sí que estan assabentats.

Aleshores, tindrien el mateix accés que si fos un dopatge convencional. Si una cosa és possible i hi ha les eines per fer-ho, qui pot pagar, té accés a això.

8. Hi ha molts laboratoris que estiguin ficats en el tractament de gens?

Amb teràpia gènica sí, per esportistes jo crec que no. Però clar, si ho fan, tampoc ho diran, però que jo sàpiga no.

10. Com seria possible detectar aquest tipus de gens modificats?

El gen de la eritropoetina es detectaria tenint un control previ i comparant valors, sinó s'hauria de fer un anàlisi de les cèl·lules on es pot incorporar aquest virus i investigar si ha estat ingerit o no. Això es pot saber perquè quan el virus incorpora el gen hi ha uns petits trossets del virus que també s'incorporen i que nosaltres no tenim al genoma. Si amb aquestes cèl·lules fas una peça R (Reacció en cadena de la polimerasa), és a dir, una ampliació per duplicació d'un tros petit d'ADN tantes vegades com vulguis fins que tu el puguis veure a simple vista, podràs observar si hi ha o no aquests petits trossets.

11. Saps com funciona el mètode d'"ADN silenciador"? Al Japó ja han sortit a la venda kits d'aquest tipus.

Jo n'he fet servir, no en mi mateix, però si en pollastres i cucs, que són els animals que jo treballa aquí a la facultat.

La idea és molt simple, tu saps que el gen quan s'expressa primer fa una còpia d'ARNm i aquest és el que surt fora del nucli i dirigeix la síntesi de la proteïna. Si tu poses un RNA que sigui complementari al missatger, s'uneix a ell i el bloqueja. Ara ja no tens una cadena d'ARN que pugui dirigir la síntesi de cap proteïna. Tot això és silenciar el gen ja que el gen continua funcionant però ja no el veus, està com "callat". A més a més, s'ha vist que quan hi ha aquestes dues cadenes de ARN, hi ha un enzim que es diu Tàiser que la reconeix i la talla a petits trossets, d'uns 22 nucleòtids, i utilitza aquests trossets per anar a buscar altres missatgers iguals i destruir-los. Per tant, és una reacció en cadena molt selectiva ja que són només 22 nucleòtids i va destruint tots els missatgers. Amb això es silencia totalment el gen.

12. De quina manera introdueixes aquesta cadena d'ARN i d'on la treus?

La cadena, com ha de ser totalment específica perquè pugui ser complementària, ha de ser sintètica.

Per introduir-la pots utilitzar dues tècniques:

- Introduint la cadena en un virus i aleshores això s'integra en el teu genoma i constantment estarà silenciant aquest gen.
- Introduint directament des de fora, per exemple envoltat de liposomes (vesícules de lípids) que simulen una membrana cel·lular on dins està el ARN. Quan aquest liposoma troba una cèl·lula, que també està constituïda de fosfolípids, les membranes es fusionen i ja tens el ARN dins.

13. Pot curar alguna malaltia aquesta tècnica?

S'està assajant en malalties degudes a un processament anòmal del RNA. Tu saps que el gen té antrons, introns i exons. Els exons porten informació i els introns són eliminats. Si es muta la zona de l'intró, a vegades, el mecanisme de control, no detecta que és un intró i no el treu. Això provoca malalties perquè tens segments d'ARN per allà el mig. Això s'està assajant per produir aquest "mecanisme silenciador" perquè destrueixi ARN sobrants.

14. Sabries efectes secundaris d'un mal ús o abús d'aquests gens?

Els efectes secundaris són els derivats de qualsevol virus que entra al cos. El gran problema de la teràpia gènica ha sigut sempre la formació de tumors.

En unes 20 o 30 malalties, no la que ja està aprovada que és molt segura, aproximadament el 50 % de persones a les quals s'ha aplicat experimentalment la teràpia genètica s'ha vist que evolucionen, però en 5 anys de mitjana moltes desenvolupen tumors. Si la disjuntiva és "O m'ho faig o em moro ara" doncs fes-t'ho ja que a lo millor tens per 5 anys o tota la vida, doncs sí que te la jugaràs. Però si el cas és que no vius massa bé, tot i que tens una esperança de vida de 20 anys més, dependrà de molts factors que es faci la teràpia o no.

La primera persona tractada amb teràpia gènica, Ashanti da Silva, va ser una nena que fa vint anys va poder salvar-se de ser una nena bombolla i està curada i viva. Aquesta nena o vivia la seva vida tancada per 4 vidres sense poder relacionar-se amb ningú, o s'arriscava a viure una vida normal com la resta de nens de la seva edat tot i poder tenir efectes secundaris.

2. ENTREVISTA A EN JULIO GAONA (CICLISTA PROFESSIONAL)

Càrrec: ciclista de l'equip *Conorproteam*, categoria sub23

1. Quant temps fa que ets professional?

Ara farà un any ja que tinc el carnet de UCI (Unió Ciclista Internacional) professional. En un principi el ciclisme era un "hobby" per mi, tot i que també feia competicions. Un noi que també era ciclista em va veure en una competició i em va oferir fer una prova per una marca. Vaig anar i em va anar molt bé. Aquesta oportunitat és la que m'ha fet endinsar-me en el món del ciclisme professional.

2. Quantes hores setmanals dediques a aquest esport?

Ara mateix, com estem en pretemporada, fem 4 hores al dia, els 7 dies de la setmana. Quan hi hagi competició, com a mínim 40 hores setmanals.

3. Sabries explicar-me què és el passaport biològic?

El passaport biològic és un document individual que recull el conjunt de resultats dels anàlisis biològics efectuats a cada esportista des del primer dia que entres en el món professional. Totes aquestes dades, una vegada agrupades, permeten determinar el perfil hematològic i urinari de l'atleta.

El que fa el passaport és intentar tenir-te sempre a ratlla. Els valors dels anàlisis no haurien de variar entre una prova i una altra, si hi ha un canvi és perquè hi ha alguna cosa rara. No té perquè ser dopatge ni molt menys, pot ser un canvi hormonal.

4. Tot atleta d'elit està obligat a tenir-lo?

Sí, tot atleta està obligat a tenir el seu, sigui quin sigui l'esport que practica.

5. Quin procediment es segueix per portar-lo al dia correctament?

A part de que ens controlen tot, el menjar, l'exercici...jo normalment passo cada mes. Tot i això, jo crec que ara serà cada 3 o fins i tot 6 mesos. Cada prova és un anàlisi normal de sang, orina i a vegades saliva o excrements.

6. Qui pot tenir accés a aquest passaport?

Qui té accés depèn de la competició que estiguis fent, ara mateix jo estic competint per la Federació Espanyola de ciclisme i ells són qui tenen accés. Jo també puc tenir accés al passaport però qui no té accés de cap manera és el meu entrenador. Els nostres doctors també poden demanar-lo.

7. Els seguiments de dopatge general poden ser per sorpresa o estàs avisat de quan van a fer-te'l?

A les carreres, quan acabes, gairebé sempre ens fan l'anàlisi. Els cinc primers sempre s'han de fer la prova. Els seguiments fora de carrera sempre són per sorpresa, piquen a la porta de casa teva un doctor amb alguns mossos (per dir-ho d'alguna manera ja que no són mossos del tot) i t'ensenyen la credencial. Et fan baixar al carrer i allà tenen preparat tot per fer-te l'anàlisi.

8. Tu o els esportistes del teu entorn teniu coneixement del dopatge genètic? Tindries fàcil accés a ell?

Jo tinc una mica de coneixement perquè m'he informat abans de l'entrevista però abans no havia sentit mai a parlar. Els atletes del meu entorn crec que també ho desconeixen.

No crec que sigui gaire difícil dopar-se però no conec a ningú personalment que s'hagi dopat.

9. I del dopatge neurològic?

No, del dopatge neurològic res. El meu doctor em va dir que seria impossible.

10. Coneixeu els efectes secundaris que podrien aparèixer?

Sé que hi ha hagut més d'un cas on els músculs els hi han crescut desproporcionalment. Acabaven tenint una mà molt gran o un peu gegant degut a no posar la mateixa quantitat de dopatge en un músculs o altres.

11. Si algun dels teus contrincants donés positiu al dopatge, que et semblaria?

Si és un dels que va sempre primer i em guanya en moltes ocasions, m'entraria el dubte que potser va guanyar moltes carreres per haver-se dopat. En aquest cas em faria molta ràbia. Si, en canvi, és un contrincant que mai guanya em donaria igual.

3. ENTREVISTA AL DR. VALLS (NEURÒLEG)

Càrrec: Consultor Sènior especialista en Neurologia a l'Hospital Clínic i professor de neurologia a la Universitat de Barcelona

1. Em podria explicar, a grans trets, en què es basa l'estimulació magnètica transcraneal?

Es basa en la descàrrega d'una gran quantitat de corrent elèctric a través d'una bobina. Aquesta és circular i al passar una corrent elèctrica ràpidament a través seu, es crea un camp magnètic perpendicular. Aquest camp magnètic transporta la corrent elèctrica a través d'estructures que per si sola no podria travessar, com són els ossos. A l'aplicar-se al cap, penetra i acaba activant el teixit nerviós que hi ha sota, ja que el teixit nerviós és excitable. Quan rep la corrent atenuada es despolaritza i fa enviar senyals a diferents estructures del cos, com els músculs.

2. Com sou capaços de localitzar quin és el punt concret a estimular?

Depèn del que es vulgui fer. Si estem parlant de les aplicacions més conegudes a nivell clínic, és a dir, tot el que serveix pel diagnòstic neurològic, llavors ens interessa més activar les àrees motores cerebrals. Això és fàcil perquè busques segons el que ja coneixem dels mapes de distribució dels músculs a nivell del cervell i saps a quin lloc del cap has de situar la bobina perquè el camp magnètic arribi fàcilment a l'àrea motora cerebral.

A més a més, segons el tipus de bobina que fem servir, pot arribar a uns llocs o a uns altres, llavors pots seleccionar inclús el múscul sobre el qual vols actuar ja que tens les respostes directes (moviment d'un dit per exemple). Penfield va ser el primer que va aconseguir crear un mapa on sortia quin múscul es mouria segons el que estimulés del cervell. Els que estan més representats són els músculs de les mans ja que és on hem desenvolupat més habilitats i, per lo tant, és on necessitem més control motor cerebral. Per exemple, els músculs que estan a l'espatlla tenen molt poca representació cortical.

Si parlem de malalties, en la depressió s'acostuma a aplicar en l'àrea dorsolateral prefrontal (àrea prefrontal on actives més àrees emocionals). En l'accident vascular cerebral s'aplica en el costat sà (on no hi ha hagut la lesió) per poder inhibir l'efecte de control inhibitori que fa el cervell sobre el que està danyat. En el dolor s'aplica sobre l'àrea motora ja que se sap que la via motora córticoespiral (via que va del cervell a la medul·la) també controla els impulsos que arriben des de la pell cap a l'interior, és a dir, té un control sobre aquella sensibilitat.

3. Podria explicar-me quin és el funcionament de les màquines?

Primer de tot hem de considerar que hi ha dos tipus importants d'EMT i, per tant, hi ha dos tipus de màquines: l'Estimulació Magnètica Simple i l'Estimulació Magnètica Repetitiva.

La simple només es basa en el diagnòstic. Com he dit abans, es fa a partir d'una corrent elèctrica que passa per una bobina i crea un camp magnètic. Aquest permet despolaritzar les neurones i tenir una resposta clara a les mans per exemple. Aquesta resposta es dóna en un temps concret, habitualment des del cervell fins a les mans són 20 ms. Això ens permet calcular el temps de reacció i saber unes aplicacions clares en el diagnòstic neurològic.

L'Estimulació Magnètica Repetitiva s'utilitza pel tractament terapèutic en malalts. El que fa és canviar l'excitabilitat de les neurones que són estimulades. No pretens mesurar respostes sinó que pretens produir un canvi en l'excitabilitat. El problema es presenta quan no saps com demostrar aquest canvi de l'excitabilitat. S'han fet molts estudis per mesurar-ho i, per exemple, s'ha mirat la quantitat de cares que ets capaç de reconèixer amb una quantitat de fotos... Això, aplicat en els esports, resulta molt difícil de controlar, com a molts es podrien centrar en el temps de reacció, mesurant-ho abans i després de l'estimulació. Tot i això, ho veig molt complicat.

4. Com es poden beneficiar els esportistes amb l'EMT?

Jo no crec que els esportistes puguin treure cap benefici. Jo trobo descabellat que algú pensi que l'Estimulació Magnètica repetitiva pugui ser usada en medicina esportiva per millorar l'entrenament. Però no et puc assegurar res.

5. Hi ha efectes positius clars després d'una estimulació?

Hi ha efectes clars de l'EMR en diferents malalties, comprovats gràcies a l'efecte placebo. Això s'ha investigat que pot ser bo en alguns casos de depressió, seqüeles d'accident vascular cerebral i altres casos de dolor. Són les tres àrees en les quals hi ha resultats basats en l'evidència.

6. També he trobat informació de l'estimulació elèctrica transcraneal, quines diferències trobem entre les dues estimulacions?

La TDCS no es basa tant en l'evidència ja que no s'ha pogut comprovar tant com en l'EMT. L'EET es basa en un corrent directe, mentre que l'EMT passa pel procés de corrent elèctrica a camp magnètic.

7. Si l'esportista fes servir aquest dopatge, li seria fàcil disposar de la maquinària i utilitzar-la durant la competició?

L'estimulació magnètica no la pots portar a sobre mentre fas una carrera ja que és una màquina enorme. En canvi, la TDCS (estimulació elèctrica cerebral) és més portable ja que amb un casc podria anar fent coses mentre tu fas tasques.

Segur que hi ha tendències a utilitzar la màquina abans de la competició per saber si varia alguna cosa mentre es realitza l'activitat esportiva. Però jo no se fins a quin punt, canviant l'excitabilitat cerebral en una sessió prèvia, pots fer que la marató et surti millor. No saps mai la quantitat d'efecte placebo que hi ha. Potser fent una gran meditació abans de la marató fas els mateixos resultats sense l'estimulació. Hi ha diferents elements, com la mentalitat de l'esportista, que es jugarien un paper important.

L'esportista, pot variar l'excitabilitat de les neurones, només amb l'estat d'ànim. Jo crec que nosaltres som capaços de canviar la nostra excitabilitat neuronal millor que una màquina. Hi ha persones, que necessiten una ajuda i potser aquestes eines els hi servirien.

8. L'estimulació elèctrica es pot aplicar directament al múscul per millorar el rendiment físic o la resistència?

No, l'estimulació elèctrica en el múscul el que produeix és una hipertròfia del múscul. Per augmentar la mida dels músculs el que es fa servir és l'Estimulació repetitiva elèctrica del múscul amb elèctrodes grans que facin menys mal. Això es sol utilitzar en llocs de rehabilitació per potenciar les fibres musculars. No et podria assegurar que millorin el rendiment físic o la resistència.

9. Creu que els esportistes d'elit estan al corrent d'aquestes noves tècniques de dopatge?

No ho se, els esportistes d'elit jo crec que tenen consell de moltes vies i probablement utilitzin altres mecanismes de dopatge abans que aquest. Com a neuròleg no se'm ocorreria gaire proposar aquestes tècniques d'estimulació cerebral per dopatge perquè penso que seria una mica rebuscat.

10. Quins efectes secundaris comportarien fer un abús o mal ús d'aquestes tècniques?

El més clar de tots són les crisis epilèptiques. Són estranys els on s'han produït en estimulació simple, però en la repetitiva són més freqüents. El que volgués fer aquest tipus d'estudis, ha d'estar segur de què està sota control i la millora manera de precaució és que en persones que ja se'ls hi ha diagnosticat epilèpsia o bé en familiars, no rebin EM.

Com que sempre hi ha el risc de patir crisis epilèptiques, es bo que sempre hi hagi un metge a l'abast en el lloc on s'aplica l'EMT.

11. Creu que és possible detectar una estimulació magnètica o elèctrica transcraneal?

No, crec que no. No hi ha una senyal que deixi cap de les estimulacions que permeti detectar el canvi. Els canvis que produeix els podria haver realitzar el mateix organisme i, per tant, no es pot veure.

GLOSSARI

Acromegàlia: malaltia caracteritzada per haver massa hormona del creixement en el cos.

ADA: Adenosina-desaminasa.

Agonista: Dit de la droga que té relació de complementarietat amb un receptor.

Al·lel: cadascuna de les formes alternatives que pot tenir un mateix gen.

AMP: adenosina monofosfat.

Anèmia autoimmune: malaltia en què en cos no té suficients glòbuls vermells.

COI: Comitè Olímpic Internacional

Deleció: tipus de mutació genètica en el qual es perd material genètic, des d'un sol parell de nucleòtids d'ADN fins tot un fragment de cromosoma.

Dicer: enzim que reconeix el l'ARNsi i talla les dues cadenes formades a petits trossets, d'uns 22 nucleòtids, i utilitza aquests trossets per anar a buscar altres missatgers iguals i destruir-los.

DNA: àcid desoxiribonucleic.

EPO: Eritropoetina (proteïna encarregada de la formació de glòbuls vermells)

Especificitat tissular: els microorganismes s'adhereixen amb major facilitat a algunes cèl·lules que a altres.

Exó: regió de l'ADN que codifica per una determinada proteïna.

FDA: Food and Drug Administration (Administració d'Aliments i Medicines)

Gen ACTN3: gen esportiu que participa en la velocitat de contracció muscular.

Gen exogen: gen originat per modificacions externes.

Hemiplegia: trastorn del cos del pacient en el que la meitat contra lateral del cos està paralitzada.

Hemofília: malaltia genètica recessiva que impedeix la bona coagulació de la sang.

Hipòxia: estat de deficiència d'oxigen en la sang, cèl·lules i teixits de l'organisme.

HVSV: estomatitis vesicular humana. Es tracta d'una malaltia viral dels animals que pot afectar a l'ésser humà. El virus de la estomatitis vesicular produeix vesícules en la boca o en les potes dels animals infectats.

IGF-1: Factor de creixement semblant a la insulina (*Insulin-Like Growth Factor-1*)

Inhibició: resultat de suspendre o impedir.

Intró: regió de l'ADN que ha de ser eliminada de la transcripció primària de l'ARN.

LDL: lipoproteïnes de baixa densitat.

Leucèmia: grup de malalties malignes de la medul·la òssia que provoca un augment descontrolat de leucòcits en la mateixa.

MLV: leucèmia del ratolí

NGF: factor de creixement neurològic.

Nucleocàpside: Càpside proteica amb genoma sense embolcall membranós.

Oncogènesis: Procés de formació i desenvolupament d'un tumor.

PCR: Reacció en cadena de la polimerasa (*Polymerasa chain reaction*).

Policitèmia secundària: elevada massa de glòbuls vermells.

Promotor: secció de l'ADN que controla la iniciació de la transcripció de l'ARN.

Recidiva: aparició d'una malaltia en un individu que l'ha passada poc temps abans.

RNA: àcid ribonucleic.

RNA_m: àcid ribonucleic que conté la informació genètica procedent del DNA del nucli cel·lular a un ribosoma en el citoplasma, és a dir, el que determina l'ordre en què s'uniran els aminoàcids d'una proteïna i actua com a plantilla o patró per la síntesi d'aquesta proteïna.

RT-PCR: Reacció en cadena de la polimerasa amb transcriptasa inversa (*Reverse transcription polymerase chain reaction*). És una variant de la PCR on una cadena de ARN és retrotranscrita en ADN complementari utilitzant l'enzim transcriptasa inversa. El resultat s'amplifica en una PCR tradicional.

SCID: Immunodeficiència combinada greu (*Severe Combined Immunodeficiency*)

SINC: Primera agència de notícies científiques en espanyol, pública i llicenciada.

Solució sèrica: suero.

Tropisme: són moviments de canvi de direcció de creixement que ocorren degut a l'estímul d'un factor extern.

Via metabòlica: successió de reaccions químiques que condueixen d'un substrat inicial a un o diversos productes finals, a través d'una sèrie de metabòlits intermediaris.

WADA: *Agència Mundial Anti-Dopatge (World Anti-Doping Agency)*

APROVACIÓ DEL TREBALL

Catalina Parpal Roca, professora de Biologia de l'Institut Corbera de Llobregat, ha tutoritzat el treball de Natàlia Carreras Gallo, titulat "Fem un bon ús de la Teràpia Gènica, no un abús" i que ha estat realitzat durant el curs escolar 2014-15.

El nostre centre considera que aquest treball reuneix característiques que el fan mereixedor a la presentació a un premi dels que atorga el Consell Esportiu del Baix Llobregat.

El treball ha estat fruit d'una recerca d'informació, no gens fàcil de trobar per l'actualitat del seu contingut, i que també ha estat facilitada per investigadors de prestigi de les nostres universitats. A més té una part molt original on s'ha realitzat un vídeo on queden inclosos els principals continguts del tema i demostren la capacitat de la Natàlia de tractar el tema des de diferents punts de vista.

