

BIOLOGIA MOLECULAR COMO FERRAMENTA NO ESPORTE DE ALTO RENDIMENTO:

POSSIBILIDADES E PERSPECTIVAS*

MS. CARLOS ROBERTO BUENO JÚNIOR
Mestre em educação física, Escola de Educação Física e Esporte,
Universidade de São Paulo (São Paulo – Brasil)
E-mail: buenojr@usp.br

MS. MARCELO GOMES PEREIRA
Mestre em ciências, Faculdade de Medicina,
Universidade de São Paulo (São Paulo – Brasil)
E-mail: pereiramg@gmail.com

RESUMO

Várias estratégias têm sido pensadas com o propósito de se utilizar a biologia molecular como ferramenta na pré-seleção e na seleção de talentos esportivos, na manipulação genética visando ao aumento ou à diminuição da produção de determinadas substâncias pelo organismo, na prescrição do treinamento e na recuperação de lesões. Portanto, o objetivo desta revisão é apresentar o DNA como regulador do funcionamento do organismo e de que forma alterações no perfil genético, tanto espontâneas como induzidas artificialmente, podem modular respostas fisiológicas e morfológicas por alterar a expressão de determinadas proteínas. Será dada especial atenção à descrição dos procedimentos utilizados para a manipulação genética, nos baixos riscos associados e nas estratégias que têm sido desenvolvidas com o objetivo de detectá-la. Com base em conhecimentos científicos, coerência e bom senso, diversas visões devem ser expostas e amplamente discutidas para ser definido o que é permitido e o que é proibido nas competições esportivas.

PALAVRAS-CHAVE: Desempenho atlético; genética; doping nos esportes.

* Ambos os autores foram bolsistas de mestrado da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (CRB): 2006/57836-0; MGP: 2006/57164-1). Não houve conflitos de interesses para a realização do presente estudo.

INTRODUÇÃO

Uma busca constante no esporte de alto rendimento é a melhora no desempenho. Várias estratégias têm sido utilizadas com esse propósito, como programas de treinamento cada vez mais controlados e recursos ergogênicos. Além disso, em determinadas modalidades esportivas, tecnologias modernas são empregadas no desenvolvimento de calçados, roupas e equipamentos esportivos (ADAM, 2001).

O recente avanço da biologia molecular, que tem como marco o completo sequenciamento do genoma humano em 2001 (VENTER, 2003), aliado aos seus promissores resultados na prevenção, na detecção e no tratamento de uma série de doenças, tem aberto a possibilidade de sua utilização no meio esportivo buscando uma melhora no rendimento. Como será discutido posteriormente, no esporte de alto rendimento a biologia molecular pode ter papel importante na pré-seleção e na seleção de talentos esportivos, na manipulação genética visando ao aumento ou à diminuição da produção de determinadas substâncias pelo organismo, na prescrição do treinamento e na recuperação de lesões.

Outro tema polêmico no esporte de alto rendimento, alvo de grandes discussões em diversos tribunais esportivos, é a determinação do sexo (SIMPSON et al., 1993). No entanto, como será descrito posteriormente, por meio da biologia molecular é possível realizar um teste relativamente simples com esse objetivo.

Nesse sentido, os objetivos específicos desta revisão de literatura são: apresentar a importância da biologia molecular no organismo; os meios pelos quais ela pode ser utilizada com o objetivo de aumentar o desempenho esportivo; e quais são os alvos bioquímicos dessas intervenções. Também será descrito como o sexo pode ser identificado por meio de uma ferramenta de biologia molecular.

Este trabalho é importante porque, apesar dos grandes avanços na área de biologia molecular, os conhecimentos dessa área não têm sido amplamente utilizados no esporte de alto rendimento. Esperamos que a leitura deste artigo desperte o interesse dos profissionais da educação física e do esporte para a análise de aspectos moleculares na atuação profissional, o que provavelmente contribuirá para uma melhora no desempenho esportivo dos atletas.

DNA COMO REGULADOR DO FUNCIONAMENTO DO ORGANISMO

Antes de discutirmos efetivamente a relação do esporte de alto rendimento com a biologia molecular, é importante lembrarmos alguns conceitos.

O primeiro deles é o chamado dogma central da biologia molecular, segundo o qual o código da vida está contido no DNA e por meio dele é transmitido às diferentes gerações. Inicialmente ocorre a transcrição, processo no qual o código do DNA é transmitido ao RNA mensageiro. A seguir, pelo fenômeno conhecido como tradução, as moléculas de RNA mensageiro são lidas, fornecendo a informação da ordem na qual os aminoácidos serão integrados para formar as proteínas no citoplasma das células, tendo os ribossomos como organelas fundamentais nesse processo. Finalmente, por meio de fosforilação, nitrosilação e glicosilação, ocorrem ajustes finos nas proteínas, que, além de fazerem parte da estrutura do organismo, participam de uma série de processos cruciais ao ser vivo, como: degradação de substratos metabólicos; geração de energia; síntese proteica; recepção do sinal de hormônios e de neurotransmissores; transporte de substâncias por meio de canais na membrana das células; geração de tensão nas células musculares; e regulação da duplicação e da morte celular programada. Portanto, qualquer alteração nos processos de transcrição e/ou tradução pode alterar a quantidade e/ou a qualidade das proteínas no organismo e, conseqüentemente, alterar seu funcionamento, inclusive quando o organismo é submetido ao esporte de alto rendimento (ALBERTS et al., 2007).

No DNA, toda informação é armazenada em apenas quatro nucleotídeos – citosina, guanina, adenina e timina. Cada sequência desses nucleotídeos capaz de, após os processos de transcrição e tradução, dar origem a uma proteína é denominada *gene*. Até o momento foram identificados cerca de 30 mil genes, distribuídos nos 46 cromossomos do DNA do núcleo de cada célula, dos quais 23 são provenientes da mãe e 23 do pai (ALBERTS et al., 2007).

As moléculas de RNA mensageiro formadas por meio do processo de transcrição têm quatro nucleotídeos (guanina, citosina, uracila e adenina, respectivamente) correspondentes às do DNA, citadas previamente. Durante o processo de tradução, os nucleotídeos do RNA mensageiro são lidos de três em três, e cada tríplice é denominada *códon*. Como há apenas vinte aminoácidos, até quatro códons diferentes podem corresponder a um mesmo aminoácido (ALBERTS et al., 2007).

Como será discutido posteriormente, alterações na sequência dos nucleotídeos do DNA podem ter como resultado um perfil diferente de expressão proteica, tendo como conseqüência alterações no funcionamento do organismo.

ALTERAÇÕES NA SEQUÊNCIA DOS NUCLEOTÍDEOS

Apesar de cerca de 99,9% da sequência do DNA ser igual entre quaisquer seres humanos, a variação restante é responsável pela determinação de parte de nossas características físicas, nossas habilidades e até mesmo nossas respostas a tratamentos farmacológicos e à prática de exercícios físicos (ALBERTS et al., 2007).

Qualquer alteração na sequência de nucleotídeos no DNA é denominada *mutação*. Como até quatro códons diferentes podem corresponder a um mesmo aminoácido, a mutação de uma base nitrogenada pode não resultar na alteração do aminoácido codificado. Nesse caso a mutação é chamada de *silenciosa*. Mesmo que haja alteração no aminoácido, isso pode resultar ou não em uma mudança funcional da proteína. Há três tipos possíveis de mutação de uma base nitrogenada – ela pode ser inserida, deletada ou substituída no DNA. Como na tradução os nucleotídeos são lidos de três em três, a deleção ou inserção de apenas um nucleotídeo alterará todos os códons posteriores ao local da alteração. Outro conceito importante é o de polimorfismo, que pode ser definido como qualquer variação genética presente em mais de 1% da população. O tipo mais comum de polimorfismo é o “single nucleotide polymorphism (SNP)”, que é a troca de apenas um nucleotídeo (ALBERTS et al., 2007).

As diferenças genéticas entre os indivíduos podem ter duas aplicações no esporte de alto rendimento:

1. *Pré-seleção e seleção de talentos esportivos*: o princípio desse processo é o sequenciamento dos nucleotídeos do DNA de embriões (pré-seleção) ou de indivíduos (seleção) visando buscar indicadores genéticos compatíveis com as características da modalidade esportiva de interesse. Como será discutida posteriormente, a variação ECA-I da enzima conversora de angiotensina, por exemplo, está correlacionada com um melhor desempenho em modalidades que dependem da capacidade aeróbia em relação à variação ECA-D. Na pré-seleção ou seleção de maratonistas, por exemplo, embriões ou indivíduos com a variação ECA-I tenderiam a ser escolhidos. Até o momento não foi divulgada a pré-seleção de embriões com fins esportivos, apesar de a técnica já ser eficientemente utilizada com o objetivo de evitar certas doenças, como as distrofias musculares. A seleção de talentos esportivos por meio do sequenciamento gênico, no entanto, já é utilizada em alguns dos principais centros esportivos de excelência do mundo. É importante ressaltar que a aptidão para determinada modalidade tem relação com uma série de características e, conseqüentemente, vários genes. Portanto, a tendência

para o futuro parece ser o estudo de vários genes, e não de apenas um. Além disso, é fundamental considerar que esta é uma área recente na pesquisa científica e novos resultados podem-se mostrar controversos em relação aos anteriores. A relação do polimorfismo da ECA com o desempenho esportivo, que foi supracitada, por exemplo, tem sido questionada por alguns pesquisadores, que discutem a interpretação dos resultados obtidos, os tamanhos das amostras utilizadas e os grupos controles presentes nos estudos (THOMPSON; BINDER-MACLEOD, 2006; PAPADIMITRIOU et al., 2009; KIM et al., 2010; WOODS, 2009).

2. *Prescrição do treinamento*: o princípio desse processo é determinar, também por meio do sequenciamento gênico, qual tipo de treinamento seria mais adequado para cada atleta, ou seja, geraria o melhor desempenho. A prescrição de treinamento com base nesse princípio também já é presente para alguns dos grandes atletas mundiais e foi inspirada, em parte, nas drogas inteligentes, um tratamento farmacológico consideravelmente mais eficiente do que o convencional, no qual o medicamento é escolhido também com base em certas sequências do DNA genômico de cada paciente (THOMPSON; BINDER-MACLEOD, 2006; AHMETOV; ROGOZKIN, 2009; ONYWER, 2009).

INSERÇÃO DE GENES NO ORGANISMO

A inserção de genes no organismo de atletas passou a ser conhecida como *doping genético*, após ser incluída pela Agência Mundial Antidoping na lista de procedimentos proibidos pelos atletas. O objetivo desse procedimento, geralmente direcionado a um tecido específico, é aumentar ou reduzir a expressão de uma ou mais proteínas, visando aumentar o desempenho atlético. Esse procedimento também poderia ser utilizado em lesões do aparelho locomotor, visando acelerar a recuperação do tecido muscular esquelético, tendinoso, ósseo e/ou cartilaginoso (LJUNGQVIST et al., 2008).

Um exemplo de *doping genético* seria um halterofilista ser submetido a uma manobra genética para inibir a expressão de miostatina, uma proteína que inibe o crescimento muscular. Com isso, ele poderia, por exemplo, ter uma massa muscular maior e apresentar alguma vantagem durante uma competição (GAFFNEY; PARISOTTO, 2007). Um exemplo de utilização da biologia molecular na recuperação de lesões seria um jogador de futebol aumentar a expressão de *insulin-like growth factor 1* (IGF-1) no tecido muscular lesado visando acelerar sua recuperação (LJUNGQVIST et al., 2008).

Vale ressaltar que esse procedimento de inserção de genes estranhos ao organismo tem sido utilizado com resultados promissores no tratamento de algumas doenças, como as cardiovasculares. Por exemplo, o aumento na expressão de *vascular endothelial growth factor* (VEGF) em pacientes que sofreram infarto agudo do miocárdio ocasionou um aumento na vascularização cardíaca, o que resultou em melhora da função cardíaca (BECKER et al., 2006). Flotte (2007) sumariza de forma elegante os resultados obtidos no tratamento de doenças com terapia gênica. Segundo o manuscrito, até 2007 mais de mil ensaios clínicos haviam sido concluídos e a maioria apresentou resultados inconclusivos quanto à eficácia da terapia. No Brasil, o primeiro ensaio clínico com terapia gênica iniciou-se em 2009, no Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, vinculado ao programa Rede de Terapia Gênica, que foi criado em 2005 com financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – vinte pacientes foram submetidos a um procedimento cujo objetivo era aumentar a expressão de VEGF no miocárdio.

Em relação à terapia gênica no esporte, Harridge e Velloso (2009), por exemplo, demonstram o potencial do IGF-1 para aumentar a massa e o desempenho da musculatura esquelética. Huard et al. (2003), por sua vez, discutem as aplicações da terapia gênica na reabilitação de lesões. No entanto, é importante ressaltar que a maioria desses estudos é realizada em modelos animais e, portanto, carecem de comprovação em seres humanos.

Como o *doping genético* é uma estratégia ilegal, há bastante dificuldade em se obterem recursos e voluntários para a realização de pesquisas sobre o assunto. Portanto, suas práticas baseiam-se em conhecimentos advindos de terapia gênica realizada no tratamento de doenças. Nesse contexto, é fundamental a capacidade crítica dos profissionais da área da saúde no sentido de ter em mente que os resultados obtidos com uma intervenção podem não ser os mesmos quando essa intervenção for aplicada em indivíduos saudáveis e em portadores de doenças. Uma manipulação genética pode, por exemplo, restaurar a expressão proteica que estava reduzida em indivíduos doentes, mas não aumentá-la em indivíduos saudáveis. Além disso, essa diferença de resposta pode ser devido a variações no ambiente do tecido-alvo em relação: ao suprimento de oxigênio e nutrientes, à resposta inflamatória, às espécies reativas de oxigênio e às características estruturais e funcionais do tecido (HAISMA; HON, 2006).

Estratégias proibidas utilizadas por alguns atletas há algum tempo tinham como desvantagens, em relação *doping genético*, o grande número de efeitos colaterais e a facilidade de detecção nos exames *antidoping*. Essas desvantagens são decorrentes principalmente do fato de essas substâncias atingirem a corrente sanguínea, diferentemente das estratégias de manipulação genética, que são direcionadas especificamente ao tecido-alvo (GAFFNEY; PARISOTTO, 2007).

De forma simplificada podemos dividir o processo de realização do *doping genético* em duas etapas. O primeiro passo é inserir o gene correspondente à proteína de interesse em uma estrutura de DNA que possa ser injetada no núcleo das células humanas. Geralmente ele é inserido em um plasmídeo, que é uma fita circular de DNA encontrada em organismos bastante simples, como as bactérias. O segundo passo consiste em injetar a estrutura de DNA formada no organismo humano. Essa estrutura de DNA pode ser injetada diretamente no órgão-alvo do corpo humano ou em um conjunto de células, que posteriormente são injetadas no organismo (HAISMA; HON, 2006).

Há uma série de métodos pelos quais o gene é inserido no organismo e/ou nas células (Figura 1), quatro dos quais serão descritos a seguir (GAFFNEY; PARISOTTO, 2007):

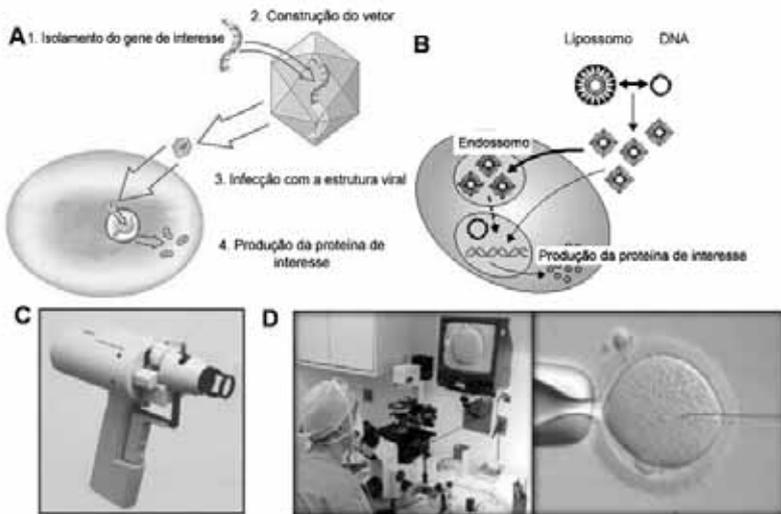


Figura 1: Métodos de inserção do gene de interesse – vírus (A), lipossomos (B) arma gênica (C) e microseringas (D).

- A. *vírus*: esse método consiste em retirar as estruturas do vírus responsáveis pela sua capacidade de infeccionar o organismo, mas manter a sua capacidade de atingir o núcleo das células, o que faz com que o gene de interesse seja incorporado ao núcleo das células do organismo humano;
- B. *lipossomos*: por esse método químico, o gene de interesse é conduzido ao núcleo das células-alvo utilizando-se da estrutura lipídica dos lipossomos,

que lhes confere a capacidade de atravessar as membranas, que também são estruturas lipídicas;

- C. *arma gênica*: por meio de outro método físico, o plasmídeo com o gene de interesse é ativado com ouro ou tungstênio e injetado no organismo por meio de um aparelho chamado de arma gênica.
- D. *microsseringas*: por esse método físico, a estrutura com o gene a ser manipulado é inserida nas células por meio de uma microsseringa com a ajuda de um microscópio;

Apesar de trazer um risco consideravelmente baixo a quem é submetido à terapia gênica, algumas complicações podem ocorrer. Em um estudo no qual mais de três mil pacientes foram tratados, por exemplo, apenas três tiveram leucemia e dois morreram (RAPER et al., 2003). A leucemia, assim como a anemia, pode ocorrer por uma resposta do sistema imunológico contra a estrutura introduzida no organismo, que, como vimos, pode ser um vírus. O risco de trombose, infarto e ataque cardíaco pode também ser um complicador quando uma terapia gênica é implementada visando aumentar a expressão de eritropoetina – isso ocorre por causa do aumento da viscosidade do sangue (KIMMELMAN, 2005).

Outros fatores preocupantes devem ser considerados em relação ao uso da terapia gênica por atletas. A primeira preocupação é que os atletas podem utilizar doses mais altas do que aquelas utilizadas no tratamento de doenças, além de poderem utilizar diferentes terapias gênicas simultaneamente, situações que não têm sido investigadas por meio de pesquisas científicas. A segunda é que, apesar de ser consideravelmente segura no tratamento de doenças, a terapia gênica pode apresentar riscos maiores se, ao invés de ser realizada em centros de saúde habilitados, for ser realizada em clínicas clandestinas pelos atletas devido à necessidade de esconder a manipulação genética das organizações reguladoras do esporte. A terceira é que o vetor pelo qual o gene de interesse é inserido no organismo pode ser transmissível por meio do sangue, da urina, do sêmen, das fezes e da saliva. Por fim, a quarta preocupação que deve existir é que, até o momento, é difícil controlar o tempo no qual a expressão da proteína de interesse vai-se manter alterada e qual será a magnitude dessa alteração (GAFFNEY; PARISOTTO, 2007).

Como já afirmamos, atualmente a terapia gênica é proibida no meio esportivo. Porém, ela ainda é extremamente difícil de ser identificada nos exames *antidoping* e um fator complicador é o fato de essa terapia ser direcionada a um tecido específico e a apenas uma ou algumas proteínas. Portanto, muitas vezes, para que o *doping genético* seja identificado, há necessidade de se realizar o invasivo procedimento de

biópsia intramuscular exatamente no tecido manipulado geneticamente e as proteínas investigadas serem exatamente as alteradas. No entanto, algumas ideias têm sido desenvolvidas para superar esse desafio (BAOUTINA et al., 2008):

- *identificação de veículo viral*: essa estratégia identifica no organismo o vírus utilizado para conduzir o gene cuja expressão foi alterada. A limitação desse método é que outro método diferente do vírus pode ser utilizado no *doping genético*;
- *código de barras*: de acordo com essa ideia, todas as terapias gênicas utilizadas no tratamento de doenças deveriam ter um código de barras para facilitar sua identificação. No entanto, como a terapia gênica é proibida para os atletas, se eles utilizarem esse tipo de terapia, só aceitarão ser submetidos ao procedimento caso esse código de barras não seja implantado;
- *diferenças nas características das proteínas*: alguns estudos têm mostrado que há algumas diferenças entre as proteínas sintetizadas a partir do gene original do organismo e aquelas sintetizadas a partir do gene introduzido por meio da terapia gênica. Nesse sentido, identificar essas pequenas diferenças, como no padrão de glicosilação das proteínas, constituiria uma forma de identificar o uso do *doping genético*;
- *banco de dados dos atletas*: de acordo com essa estratégia, seria criado um banco de dados com os valores de RNA mensageiros ou proteínas que poderiam ser alvos de terapia gênica, buscando verificar a presença de variações bruscas nesses valores, que indicariam a utilização do *doping genético*. Essa alternativa não parece viável, pois apresenta vários problemas, como o alto custo para a criação e a manutenção do banco de dados, e a possibilidade de o *doping genético* ser realizado para proteínas que não se encontram no banco de dados.

PROTEÍNAS-ALVO DA BIOLOGIA MOLECULAR NO ESPORTE

Conforme já discutimos, o aumento ou a redução na expressão de determinadas proteínas é capaz de gerar alterações no desempenho esportivo. Portanto, descrever quais são essas proteínas e suas funções no organismo é fundamental quando, no esporte de alto rendimento, pensamos na seleção de talentos ou na manipulação genética visando aumentar o desempenho. Isso será feito a seguir, agru-

pando a maiorias dessas proteínas em três sistemas orgânicos: muscular-esquelético, nervoso central e periférico, e vascular.

SISTEMA MUSCULAR-ESQUELÉTICO

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

O polimorfismo de alguns componentes do sistema renina-angiotensina vem sendo alvo de estudos recentes acerca do tema biologia molecular e desempenho esportivo.

A enzima conversora de angiotensina (ECA) é responsável pela síntese de grande parte da angiotensina II, que, dentre suas diferentes funções no organismo, promove o crescimento da massa muscular esquelética e degrada as cininas, que o inibem. O gene da ECA pode possuir a inserção (ECA-I) ou a deleção (ECA-D) de uma determinada sequência de DNA (ALVAREZ et al., 2000; KIM et al., 2010; PAPADIMITRIOU et al., 2009; WANG et al., 2006).

A variação ECA-D correlaciona-se com: maior síntese de angiotensina II, maior desempenho em atividades que exigem força e/ou velocidade, e maior ganho de força com o treinamento físico. Já a variação ECA-I, encontrada em grande parte de remadores, corredores e alpinistas de alto nível, correlaciona-se com elevado desempenho em atividades de resistência aeróbia e maior anabolismo de tecido adiposo (ALVAREZ et al., 2000). No entanto, como foi discutido previamente, esse conceito tem sido questionado.

Quanto ao angiotensinogênio (AGT), o peptídeo iniciador do sistema renina-angiotensina, os estudos mostram que o polimorfismo CC (AGT-C) do gene favorece o organismo a produzir uma maior quantidade de angiotensina II, melhorando assim o desempenho em modalidades esportivas que requerem força e potência muscular (GOMEZ-GALLEGO et al., 2009).

ACTININ BINDING PROTEIN (ACTN)

Esta proteína mantém a estrutura do arranjo miofibrilar e regula a contração da musculatura esquelética. É conhecido que a variação ACTN2 está relacionada a um melhor desempenho em atividades que necessitam de resistência muscular, enquanto a ACTN3 está relacionada a um desempenho mais alto em atividades que exigem velocidade (VINCENT et al., 2007; WALSH et al., 2008; NORMAN et al., 2009).

HORMÔNIO DO CRESCIMENTO

Uma maior quantidade de hormônio do crescimento tem como consequência o aumento da massa e da força na musculatura esquelética. Além disso, tem sido demonstrado que o aumento do hormônio de crescimento muscular facilita a recuperação desse tecido (GAFFNEY; PARISOTTO, 2007; HARRIDGE; VELLOSO, 2009).

INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR (IGF-I)

Tem sido demonstrado que concentrações aumentadas de IGF-I estão correlacionadas com aumento na lubrificação das articulações, na massa e na força da musculatura esquelética. No entanto, concentrações suprafisiológicas desse hormônio podem ter como efeitos colaterais a hipertrofia miocárdica e a carcinogênese (HAISMA; HON, 2006; GOLDSPIK et al., 2008).

MIOSTATINA

A miostatina é reconhecidamente uma proteína que diminui a massa muscular esquelética e a força por meio de diminuição no número de fibras musculares e na área dessas fibras. Isso foi descoberto porque animais, e até mesmo um menino, com prejuízos na expressão dessa proteína apresentam elevada massa muscular esquelética (MATSAKAS; DIEL, 2005; FEDORUK; RUPERT, 2008).

SISTEMA NERVOSO CENTRAL E PERIFÉRICO

ENDORFINAS

Uma das consequências do aumento das concentrações de lactato na musculatura esquelética, que ocorre em razão do aumento na sua produção pelo metabolismo anaeróbio simultaneamente à sua remoção ineficiente, é a geração da dor. Porém, há várias substâncias, como as endorfinas, que são responsáveis pela diminuição da dor e tem sido sugerido que seus aumentos poderiam impedir a queda no desempenho gerada pela dor. No entanto, como a dor tem função importante na prevenção de lesões ao organismo, a utilização dessas estratégias merece cuidados (GOLDFARB; JAMURTAS, 1997; HAISMA; HON, 2006).

SISTEMA VASCULAR

ERITROPOETINA

A eritropoetina aumenta a concentração de hemácias no sangue e a síntese de hemoglobina e, conseqüentemente, favorece a liberação de oxigênio nos tecidos ativos durante o exercício físico e o desempenho em atividades de caráter aeróbio (HAISMA; HON, 2006; SEGURA et al., 2007).

HYPOXIA INDUCIBLE FACTORS (HIF)

As proteínas da família HIF regulam a transcrição de genes nas situações de hipóxia e suas ações têm como resultado final o aumento no número de hemácias sanguíneas e, assim, como a eritropoetina, uma melhora no suprimento de oxigênio e no desempenho aeróbio (GAFFNEY; PARISOTTO, 2007; BORRIONE et al., 2008).

VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)

O VEGF é um fator de crescimento que reconhecidamente tem papel fundamental na geração de vasos sanguíneos e tem sido utilizado com sucesso, por exemplo, para favorecer a angiogênese em pacientes com infarto do miocárdio. Além disso, o VEGF poderia favorecer a capilarização na musculatura esquelética e, conseqüentemente, o desempenho em resistência aeróbia (BECKER et al., 2006; DE HARO et al., 2009).

OUTRAS PROTEÍNAS

PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR (PPAR- δ)

O PPAR- δ aumenta a disponibilização e a oxidação de tecido adiposo, além de aumentar a proporção de fibras musculares oxidativas e a biogênese mitocondrial, favorecendo o desempenho em atividades de resistência aeróbia (AHMETOV et al., 2006; AZZAZY et al., 2009).

INTERLEUCINA-1 RA

As principais funções da proteína Interleucina-1 RA estão relacionadas à diminuição da deterioração articular e ao aumento da lubrificação desse tecido. Portanto, um aumento na expressão dessa proteína pode favorecer o desempenho das articulações (GAFFNEY; PARISOTTO, 2007; WANG et al., 2006).

RECEPTOR β_2 -ADRENÉRGICO

Segundo Wolfarth et al. (2007), a presença do aminoácido arginina em substituição ao aminoácido glicina na posição 16 do receptor β_2 -adrenérgico favorece o desempenho em competições de longa duração, como maratonas, por predispor a uma menor massa corporal e um maior consumo de oxigênio (RANKINEN et al., 2006).

DETERMINAÇÃO DO SEXO

Recentemente, a corredora sul-africana Ewa Klobukowska Caster Semenya, de 18 anos de idade, campeã mundial nos 800m rasos, atraiu a atenção pelo seu excelente desempenho no Campeonato Mundial de Atletismo em agosto de 2009 e também por sua constituição física. Após ser submetida a um teste de gênero descrito a seguir, foi comprovado que Semenya pertence ao sexo feminino. Os casos em que um atleta de um sexo compete em modalidades do outro gênero, geralmente homens em provas de mulheres, são muito raros. O primeiro caso com essas características na história do esporte aconteceu em 1967, quando a atleta polonesa Ewa Klobukowska, parte da equipe ganhadora do ouro no revezamento 4x100m, em Tóquio (1964), foi reprovada nos testes e terminou banida do esporte profissional. Outro exemplo famoso foi o da medalhista olímpica de ouro e prata nos Jogos de 1932 e 1936, a atleta polonesa Stella Walsh. Em um exame póstumo, em 1980, foi constatado que ela tinha órgãos genitais com características ambíguas (SERRAT; HERREROS, 1996).

Esses casos têm relação com o que ocorreu em 1991, quando o Comitê Olímpico Internacional decidiu acrescentar ao protocolo para verificação do gênero dos atletas uma técnica de biologia molecular. O método consiste na retirada de uma pequena quantidade de tecido por meio de esfregaço bucal, extração do RNA mensageiro desse tecido e tentativa de amplificação por meio da *reação em cadeia da polimerase (PCR)* de parte do cromossomo Y, encontrado apenas nos homens

(SERRAT; HERREROS, 1996). Caso não haja a amplificação de parte do cromossomo Y, confirma-se o sexo feminino. É interessante que todo o procedimento, desde a coleta do material a ser analisado até o exame propriamente dito, seja realizado apenas por mulheres, para evitar que a amostra seja contaminada com material proveniente de algum homem.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As organizações esportivas proíbem a manipulação genética visando ao aumento ou à diminuição da produção de qualquer substância do organismo, seja para recuperação de lesões, seja para melhorar o desempenho. Os defensores dessa proibição alegam que essa manobra traz riscos à saúde dos atletas e viola o espírito esportivo (BAOUTINA et al., 2008). Foge das nossas pretensões estabelecer um juízo de valor sobre essa proibição, porém gostaríamos de sugerir duas reflexões ao final da leitura deste estudo: 1. É possível ao atleta ter um alto nível de rendimento esportivo e boa saúde? A terapia gênica representa um maior risco à saúde do atleta do que seu cotidiano de treinamentos e competições, que podem levar, por exemplo, ao *overtraining*? 2. O que é violar o espírito esportivo? Um nadador viola o espírito esportivo ao utilizar uma manipulação genética e/ou um macacão desenvolvido por meio de alta tecnologia para favorecer seu desempenho?

No entanto, a biologia molecular pode ser empregada de forma legal na pré-seleção e seleção de talentos esportivos e na prescrição do treinamento físico.

Em ambas as áreas supracitadas, é fundamental que atletas, membros de comissões técnicas e dirigentes do esporte tenham conhecimento dos pontos positivos e negativos da utilização da biologia molecular visando a um melhor desempenho. Além disso, faz-se necessária uma série de discussões que contem com a presença de conhecimentos científicos, coerência e bom senso para ser definido o que é permitido e o que é proibido nas competições esportivas.

Molecular biology as an instrument in the high performance sport: possibilities and perspectives

ABSTRACT: Many strategies have been thought with the purpose of to use the molecular biology as an instrument in the pre-selection and in the selection of sport talents, in the genetic manipulation to increase or to reduce the production of certain substances by the body, in the prescription of training and in the recuperation of lesions. By the way, the aim of this review is to present the DNA as regulator of the body functioning and as alterations in the genetic approach, spontaneous and artificially induced, can modulate physiological and morphological responses by changes the expression of certain proteins. It will be give special attention in the description of the proceedings used to genetic manipulation, in the small risks associated and in the strategies that have been developed with the purpose of detect them. Based in scientific knowledge, coherence and good sense, many visions have to be exposed and very discussed to be defined what is permitted and what is prohibited in the sport competitions.

KEY WORDS: Athletic performance; genetics; doping in sports.

La biología molecular como una herramienta de alto ingreso deportes: posibilidades y perspectivas

RESUMEN: Varias estrategias han sido diseñadas con el propósito de utilizar la biología molecular como una herramienta de pre-selección y selección de talentos deportivos en la manipulación genética destinada a aumentar o disminuir la producción de determinadas sustancias por el organismo en la prescripción de la formación y la recuperación de la lesión. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es presentar el DNA como un regulador del funcionamiento del cuerpo y cómo los cambios en el perfil genético, tanto espontáneo y artificialmente inducida, son capaces de modular las respuestas fisiológicas y morfológicas en cambio la expresión de determinadas proteínas. Se prestará especial atención en la descripción de los procedimientos utilizados para la manipulación genética, los bajos riesgos y las estrategias que se han desarrollado con el objetivo de detectar la misma. Basadas en el conocimiento científico, la coherencia y el sentido común, los diferentes puntos de vista deben ser expuestos a ser ampliamente discutidos y definidos de lo permitido y qué está prohibido en competiciones deportivas.

PALABRAS CLAVES: Rendimiento deportivo; genética; dopaje en el deporte.

REFERÊNCIAS

ADAM, D. Gene therapy may be up to speed for cheats at 2008 Olympics. *Nature*, London, v. 414, p. 569-560, 2001.

AHMETOV, I. I. et al. PPAR α gene variation and physical performance in Russian athletes. *European Journal of Applied Physiological*, Leeds, v. 97, p. 103-108, 2006.

AHMETOV, I. I.; ROGOZKIN, V. A. Genes, athlete status and training – An overview. *Medicine and Sport Science*, Brussels, v. 54, p. 43-71, 2009.

ALBERTS, B. et al. *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Publishing, 2007.

ALVAREZ, R. et al. Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *European Journal of Applied Physiological*, Leeds, v. 82, p. 117-120, 2000.

AZZAZY, H. M.; MANSOUR, M. M.; CHRISTENSON, R. H. Gene doping: of mice and men. *Clinical Biochemistry*, Montreal, v. 42, n. 6, p. 435-441, 2009.

BAOUTINA, A. et al. Developing strategies for detection of gene doping. *The Journal of Gene Medicine*, Paris, v. 10, p. 3-20, 2008.

BECKER, C. et al. Skeletal muscle cells expressing VEGF induce capillary formation and reduce injury in rats. *International Journal of Cardiology*, Oxford, v. 39, p. 89-97, 2006.

BORRIONE, P. et al. Oxygen delivery enhancers: past, present, and future. *Journal of Endocrinological Investigation*, Milan, v. 31, n. 2, p. 185-192, 2008.

DE HARO, J. et al. Meta-analysis of randomized, controlled clinical trials in angiogenesis: gene and cell therapy in peripheral arterial disease. *Heart and Vessels*, Tokyo, v. 24, n. 5, p. 321-328, 2009.

FEDORUK, M. N.; RUPERT, J. L. Myostatin inhibition: a potential performance enhancement strategy? *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, Copenhagen, v. 18, n. 2, p. 123-131, 2008.

FLOTTE, T. R. Gene therapy: the first two decades and the current state-of-the art. *Journal of Cellular Physiology*, Worcester, v. 213, n. 2, p. 301-305, 2007.

GAFFNEY G. R.; PARISOTTO, R. Gene doping: a review of performance-enhancing genetics. *Pediatric Clinics of North America*, v. 54, p. 807-822, 2007.

GOLDFARB, A. H.; JAMURTAS, A. Z. Beta-endorphin response to exercise – an update. *Sports Medicine*, Cleveland, v. 24, n. 1, p. 8-16, 1997.

GOLDSPINK, G.; WESSNER, B.; BACHL, N. Growth factors, muscle function and doping. *Current Opinion in Pharmacology*, Birmingham, v. 8, n. 3, p. 352-357, 2008.

GOMEZ-GALLEGO, F. et al. The C allele of the AGT Met235Thr polymorphism is associated with power sports performance. *Applied Physiology Nutrition Metabolism*, Ontario, v. 34, p. 1108-1111, jun. 2009.

HAISMA, H. J.; HON, O. Gene doping. *International Journal of Sports Medicine*, Cologne, v. 27, p. 257-266, 2006.

HARRIDGE, S. D.; VELLOSO, C. P. IGF-I and GH: potential use in gene doping. *Growth Hormone and IGF Research*, Aarhus, v. 19, n. 4, p. 378-382, 2009.

HUARD, J.; LI, Y.; PENG, H.; FU, F. H. Gene therapy and tissue engineering for sports medicine. *The Journal of Gene Medicine*, Paris, v. 5, n. 2, p. 93-108, 2003.

KIM, C. H. et al. ACE DD genotype is unfavorable to Korean short-term muscle power athletes. *International Journal of Sports Medicine*, Cologne, v. 31, p. 65-71, jan. 2010.

KIMMELMAN, J. Recent developments in gene transfer: risk and ethics. *British Medical Journal*, London, v. 330, p. 79-82, 2005.

LJUNGQVIST, A. et al. International Olympic Committee consensus statement: molecular basis of connective tissue and muscle injuries in sport. *Clinics in Sports Medicine*, Charlottesville, v. 27, p. 231-239, 2008.

MATSAKAS, A.; DIEL, P. The growth factor myostatin, a key regulator in skeletal muscle growth and homeostasis. *International Journal of Sports Medicine*, Cologne, v. 26, p. 83-89, 2005.

NORMAN, B. et al. Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes. *Journal of Applied Physiology*, Madison, v. 106, n. 3, p. 959-965, 2009.

ONYWERA, V. O. East African runners: their genetics, lifestyle and athletic prowess. *Medicine in Sport and Science*, Brussels, v. 54, p. 102-109, 2009.

PAPADIMITRIOU, I. D. et al. The ACE I/D polymorphism in elite Greek track and field athletes. *Journal of Sports and Medicine in Physical Fitness*, Torino, v. 49, n. 4, p. 459-463, 2009.

RANKINEN, M. S. et al. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2005 update. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Natick, v. 38, p. 1863-1888, 2006.

RAPER, S. E. et al. Fatal systemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. *Molecular Genetics Metabolism*, Los Angeles, v. 80, p. 148-158, 2003.

SEGURA, J. et al. Monitoring gene therapy by external imaging of mRNA: pilot study on murine erythropoietin. *Therapeutic Drug Monitoring*, Toronto, v. 29, n. 5, p. 612-618, 2007.

SERRAT, A.; HERREROS, A. G. Gender verification in sports by PCR amplification of SRY and DYZ1 Y chromosome specific sequences: presence of DYZ1 repeat in female athletes. *Brazilian Journal of Sports Medicine*, Ribeirão Preto, v. 30, p. 310-312, 1996.

SIMPSON, J. L. et al. Gender verification in competitive sports. *Sports Medicine*, Cleveland, v. 16, p. 305-315, 1993.

THOMPSON, W. R.; BINDER-MACLEOD, S. A. Association of genetic factors with selected measures of physical performance. *Physical Therapy*, Glenside, v. 86, p. 585-591, 2006.

VENTER, J. C. A part of the human genome sequence. *Science*, California, v. 299, p. 1183-1184, 2003.

VINCENT, B. et al. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiological Genomics*, Madison, v. 32, p. 58-63, 2007.

WALSH, S. et al. ACTN3 genotype is associated with muscle phenotypes in women across the adult age span. *Journal of Applied Physiology*, Madison, v. 105, n. 5, p. 1486-1491, 2008.

WANG, P.; FEDORUK, M. N.; RUPERT, J. L. Keeping pace with ACE: are ACE inhibitors and angiotensin II type I receptor antagonists potential doping agents? *Sports Medicine*, Cleveland, v. 38, n. 12, p. 1065-1079, 2008.

WANG, H. J. et al. Suppression of experimental osteoarthritis by adenovirus-mediated double gene transfer. *Chinese Medical Journal*, Beijing, v. 119, n. 16, p. 1365-1373, 2006.

WOLFARTH, B. et al. Association between a β_2 -adrenergic receptor polymorphism and elite endurance performance. *Metabolism Clinical and Experimental*, Hampton, v. 56, p. 1649-1651, 2007.

WOODS, D. Angiotensin-converting enzyme, renin-angiotensin system and human performance. *Medicine and Sport Science*, Bruxels, v. 54, p. 72-87, 2009.

Recebido: 20 nov. 2008

Aprovado: 20 jan. 2009

Endereço para correspondência
Carlos Roberto Bueno Júnior
Av. Prof. Mello Moraes, 65, Cidade Universitária
São Paulo-SP
CEP 05508-030