

MANIPULAÇÃO DE GENES E DESEMPENHO ESPORTIVO: TENDÊNCIA OU REALIDADE?

Manipulation of genes and sports performance: Trend or Reality?

Luiz Carlos Carnevali Júnior
Julio Cezar Papeschi da Silva
Robson Eder
Daniela Caetano Gonçalves
Waldecir Paula Lima
Marília Cerqueira Leite Seelaender

Resumo

Pesquisas atuais apontam que um melhor rendimento no exercício físico pode ser obtido a partir da infusão de genes modificados no organismo. Tal mecanismo surgiu inicialmente a partir dos bons resultados obtidos pelo tratamento com genes em patologias diversas. A partir de então, objetivando-se a melhora na performance esportiva, tal ferramenta foi intitulada de “doping genético”. Os principais genes alvos ao doping são aqueles que proporcionam principalmente aumento na captação de oxigênio com conseqüente perda de peso, otimização do metabolismo energético e rápido ganho de massa muscular. Embora os resultados até hoje encontrados sejam satisfatórios em roedores, as pesquisas envolvendo terapia gênica em atletas ainda tem muito a se desenvolver antes de tornar-se um mecanismo efetivo no ganho de rendimento esportivo. O presente estudo objetiva atualizar o conhecimento sobre este tema que ganha cada vez mais espaço no esporte de alto rendimento, enumerando os principais genes alvo (Leptina, IGF-1, VEGF, Miostatina, GH, PPARs) e suas respectivas aplicações nos diversos esportes.

Palavras Chave: doping genético, terapia gênica, desempenho esportivo, genes.

Grupo de Biologia Molecular da Célula, Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo, Brasil.

✉ Autor para correspondência: Marília Cerqueira Leite Seelaender. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo : Av. Prof. Lineu Prestes, 1524 São Paulo, SP, Brazil, 05508-900 e-mail: seelaend@icb.usp.br , Telefone n.: 55-11-3091-7225 fax n.:55-11-3091-7402

Abstract

Current studies develop toward an improvement in performance upon physical exercise obtained by some modified genes introduced in the organism. This mechanism originally appeared due to some spectacular results from genetic manipulation of laboratory in many pathologies. Since then, manipulation used to improve sports performance has been called "Gene Doping". The genes that are the main target of gene doping usually induce enhance in oxygen uptake and consequently weight loss; or improvement in energetic metabolism with a faster gain of body mass. Although the results found in rodents are satisfactory, data about gene therapy and athletes are poorly studied and it is necessary more researches until it will be used as an effective mechanism to improve physical performance. The present review intends to update on the knowledge about this new theme because gene doping has been increasingly employed in sports medicine. The main target genes to be discussed are: leptin, miostatin, GH, and PPARs. Also, we will approach their relevant applications in different sports.

Key words: gene doping, gene therapy, sports performance, genes.

INTRODUÇÃO

Se há alguns anos atrás lhe fosse dito que é possível modificar genes para melhorar o desempenho esportivo, você provavelmente não acreditaria ou acharia que se trata de ficção científica, mas pesquisadores de várias instituições internacionais alertam para um novo método que ameaça o esporte competitivo de alto nível.

A definição exata dada ao termo Doping Genético seria: "O uso não terapêutico de genes, elementos gênicos e/ou células que tem a capacidade de aumentar a *performance* atlética" ¹⁴. A discussão sobre o doping genético iniciou-se em Junho de 2001, quando o GTWT (Gene Therapy Working Group), ou simplesmente o Grupo de trabalho especializado em Terapia Gênica, conveniado ao Comitê Olímpico Internacional (COI), alertou para o tema ³².

Em Março de 2002, a WADA (Agência Mundial Anti-Doping) realizou um evento que tratou desse mesmo assunto, visando unir forças de vários grupos de interesse como cientistas, médicos, governantes, organizações antidoping e a indústria farmacêutica, visando uma troca de informações relevantes, que resultassem na criação de métodos aplicáveis para coação e identificação do uso do doping genético.

O Comitê Olímpico Internacional incluiu o doping genético na sua lista de métodos e substâncias proibidas a partir de 2003, tendo a WADA, a partir de 2004, tomado a responsabilidade de incluí-lo em sua lista, atualizando-a anualmente com uma nova lista de genes passíveis à modulação e conseqüente melhora no desempenho esportivo. Além disso, novos métodos de detecção estão sendo desenvolvidos para preservar a real proposta da prática esportiva, seja ela competitiva ou não, embora a tecnologia atual não possua um meio eficaz para isso até então ^{38,39}.

Doping genético

Diferente da terapia gênica ^{10,13,14}, que propõe a alteração de um gene objetivando a cura como resultado ^{3,24}, o doping genético não requer exatamente a modificação de apenas um gene específico, uma vez que existem muitos genes que quando modificados, podem levar a melhora no desempenho esportivo ¹⁵.

Usualmente, o DNA é usado como material genético por codificar a formação de uma proteína que pode ter uma função terapêutica. Sendo assim, a codificação dessa proteína se torna ativa, ao ser entregue ao núcleo, encapsulada por um vírus, retro vírus, ou ainda por um lipídio ¹⁴. O material encapsulado, normalmente chamado de vetor, é introduzido dentro do corpo através de injeção ou ainda administrado através de aerosol, sendo entregue aos pulmões. Existe ainda a possibilidade de isolamento de células de pacientes, a aplicação do tratamento dessas células e posterior reimplante das mesmas ^{14,36}.

Métodos diretos e indiretos para detecção do doping genético têm sido desenvolvidos, e vem de maneira promissora encontrando estratégias para identificação de biomarcadores de mudança da expressão dos genes¹.

Principais proteínas alvo para o doping genético:

Eritropoetina

Sabe-se que a *performance* aeróbia é melhorada quando usados mecanismos que otimizam o transporte e distribuição de oxigênio pelos tecidos e músculos periféricos. Dentre os principais métodos encontra-se a utilização de EPO (eritropoetina), uma citocina responsável pela produção de células vermelhas, bem como a diferenciação eritrocitária e o início da síntese de hemoglobina²².

Em situações nas quais a captação e distribuição de oxigênio estão defasadas no organismo, os rins, que são os principais produtores de EPO, aumentam a sua liberação. Em situações de exercícios realizados na altitude (p.e. hipóxia hipobárica), as quantidades de EPO estão aumentadas. Tendo conhecimento de tal informação, nos anos 90 o chamado “Doping Sangüíneo” foi bastante difundido, dado o aumento da *performance* dos atletas em exercícios predominantemente aeróbios. Contudo, surgiram testes de laboratório que poderiam facilmente detectar a utilização do doping sangüíneo, fato que levou alguns atletas a buscarem outras técnicas como, por exemplo, o doping genético^{9,20}.

Utilizando um raciocínio semelhante, pesquisas recentes revelaram que de fato a introdução de um vírus contendo o gene da EPO pode aumentar em até 80% o hematócrito de camundongos e macacos³⁸.

Muitos estudos já existem visando a utilização do gene EPO, porém, estes não são ainda confiáveis o suficiente para garantir a segurança e eficácia no tratamento de anemias agudas e crônicas e, principalmente, no uso de tal método visando o rendimento esportivo. Já que da mesma forma que a transferência gênica com EPO se mostra eficiente, alguns estudos mostram que esse mesmo tratamento pode causar aumento excessivo de EPO (75%), levando a concentração de hemácias incompatível com a vida⁴², tornando-se claros os cuidados a serem tomados em sua manipulação.

IGF-1 (Fator de Crescimento 1 semelhante à Insulina)

Dependendo da modalidade esportiva, até 55% das lesões ocorridas estão ligadas ao tecido muscular, estando essas relacionadas a uma variedade de causas diretas (contusões) ou indiretas (isquemia ou disfunção neurológica)¹⁹.

Muitos estudos têm mostrado que os chamados “Fatores de Crescimento” possuem uma variedade de funções durante o processo de regeneração muscular^{19,37}. Contudo, da mesma forma que se idealizou a terapia com EPO, objetivando o aumento do transporte e da capacidade de captação de oxigênio, técnicas de manipulação genética vem sendo desenvolvidas visando inicialmente à recuperação de tecidos lesionados e mais recentemente surgiu à possibilidade de seu uso para fins de performance esportiva e ganho de massa muscular¹⁷.

Também conhecido como somatomedina C, o IGF-1 é uma cadeia polipeptídica formada por 70 aminoácidos que além de possuir uma estrutura tridimensional semelhante à insulina, permite a ação do hormônio do crescimento (GH), por ser mediador de quase todos os efeitos desse hormônio³³. O principal local de produção do IGF-1 é o fígado, embora outros tecidos o sintetizem e são sensíveis ao seu efeito². O músculo esquelético, por exemplo, sofre os efeitos anabólicos do IGF-1, como demonstrado por alguns estudos recentes, mesmo na ausência de qualquer programa de atividade física⁴.

O aumento na concentração de IGF-1 pode promover a hipertrofia pelo aumento da síntese de proteínas, bem como pela proliferação das chamadas “células satélites”. Tais células são importantes para o processo de regeneração muscular, pois quando o músculo sofre um traumatismo ou lesão, ou ainda quando se treina vigorosamente, tais células são acionadas. A partir disso as mesmas se proliferam através do processo de mitose celular (divisão celular que pode causar a hiperplasia) e originam células mioblásticas (células musculares imaturas). Estas células se fundem com as células pré-existentes levando há fenômenos hipertróficos ou mesmo entre si, levando à formação de novas fibras (hiperplasia)⁴.

Em estudo realizado em 1998, Barton-Davis e colaboradores mostraram significativo aumento na força e no tamanho da fibra muscular em camundongos, os quais receberam injeção do vírus carreador do gene do IGF-1³⁸.

Em estudo subsequente, realizado por Lee e colaboradores (2004), verificou-se que o efeito combinado da administração de IGF-1, somado aos efeitos causados pelo treinamento de resistência, aumentaram em até 30% a massa muscular e força em camundongos em comparação àqueles sedentários tratados com IGF-1. Além disso, os efeitos do destreinamento foram mais agudos quando não houve a administração de IGF-1. Embora apresentem certa eficácia, mais estudos com humanos são necessários, já que uma possível modulação em tais genes poderia induzir à possíveis efeitos colaterais.

Miostatina (GDF-8)

O músculo esquelético possui grande capacidade de resposta a estímulos do ambiente externo, levando-o a diversas adaptações morfológicas e metabólicas. Estas o permitem ter uma maior resistência em atividades físicas sustentadas. Inúmeros progressos vem sendo obtidos nos

últimos anos devido aos avanços das técnicas de biologia molecular, que levaram a descobertas de novos fatores de crescimento como o IGF-1 (já descrito acima) e a Miostatina, umas das mais novas proteínas identificadas que fazem parte da família do TGF- β (transforming growth factor- β), fatores que apresentam papel fundamental na regulação do crescimento do músculo esquelético durante a fase de embriogênese²⁵. Portanto, a miostatina pode ser vista como um regulador do crescimento na fase de desenvolvimento, sendo altamente expressa nos estágios embrionário e fetal e em menor quantidade no tecido muscular maduro²⁶. A miostatina é secretada pelas células musculares e é ativada pelas mesmas inibindo o crescimento, possivelmente através da inibição da proliferação das células satélites e da diferenciação de mioblastos¹⁸.

Grandes concentrações de mRNA de miostatina, bem como de sua proteína tem sido observadas nas chamadas fibras de contração rápida em comparação as fibras de contração lenta no músculo esquelético, indicando que a miostatina tem funções específicas para cada tipagem de fibras^{7,16}. A partir de tal constatação, vários estudos¹⁸ foram realizados sugerindo que as adaptações estruturais e funcionais do músculo esquelético, induzidas pelo treinamento físico, estão diretamente relacionadas com a alteração na expressão de diversos genes regulatórios, tendo a miostatina papel importante em tais adaptações.

Outro estudo²¹ também revelaram aumento na massa muscular, acompanhados de redução na produção de leptina, sugerindo que a miostatina estaria envolvida tanto na regulação do tecido adiposo quanto no tecido muscular esquelético. Além disso, verificou-se que a inibição da miostatina pela ação da Folistatina (Inibidor direto da expressão de miostatina no músculo esquelético), atenua parcialmente a obesidade e os efeitos da diabetes do tipo 2. Dessa maneira, talvez em poucos anos os agentes farmacológicos que bloqueiam a miostatina poderão ser úteis não apenas na promoção do crescimento muscular, mas também para desacelerar ou prevenir o desenvolvimento do diabetes do tipo 2²¹.

Em outro estudo realizado por Matsakas e colaboradores em 2005, constatou-se que o efeito do treinamento é capaz de diminuir os níveis de mRNA de miostatina nos músculos gastrocnêmio e vasto lateral (compostos por tipagem de fibras mistas) mas não no músculo sóleo (composto predominantemente por fibras de contração lenta). Isto significa que o treinamento é capaz de modular diretamente as concentrações de miostatina, relacionadas com desenvolvimento da musculatura estriada esquelética²⁵.

VEGF 8 (Fator de crescimento vasoendotelial)

Genes podem também serem usados para ajudar na produção de novos vasos sanguíneos. Portanto, uma outra possibilidade de terapia gênica a ser utilizada objetivando *performance* esportiva seria o Fator de crescimento vasoendotelial (VEGF). Tal gene vem sendo

estudado pela sua capacidade de aumentar a produção de vasos sanguíneos e sua possível aplicação no tratamento de doenças arteriais periféricas, principalmente para idosos que possuem fluxo inadequado de oxigênio.

Em 1998, um grupo de cientistas demonstrou que é possível aumentar a produção de novos vasos sanguíneos no organismo, quando da utilização de um vetor carreador para o gene do VEGF⁵. O aumento na produção de novos vasos sanguíneos significa aumento do fluxo sanguíneo para o coração, fígado, músculos, pulmões e outros órgãos, de tal maneira que estes retardem o processo de exaustão.

Sabendo-se que a gênese de uma nova vasculatura pode influenciar diretamente o $VO_{2máx}$, por aumentar a circulação local, bem como a captação de oxigênio, o interesse por estudos baseados no processo de angiogênese tem aumentado. Angiogênese é um fenômeno de adaptação ao exercício aeróbio que aumenta o número de capilares no músculo esquelético. Tal processo é de fundamental importância, uma vez que o aumento do $VO_{2máx}$ com o treinamento é atribuído diretamente ao consumo de oxigênio pelo músculo ativo³¹.

Portanto, o exercício aeróbio tem sido identificado como um poderoso estímulo angiogênico, já que estudos realizados nas últimas décadas mostram aumento relevante (até 30% em indivíduos que praticam exercícios de caráter aeróbio) na vascularização periférica¹².

Levando-se em consideração que estudos recentes apontam para o fato de que o VEGF este envolvido na resposta angiogênica ao treinamento, a idéia da utilização da terapia gênica por atletas visando aumento na produção de vasos sanguíneos não demoraria muito a surgir¹². Porém, ainda existem muitas barreiras a serem transpostas pela medicina até a utilização segura de tal terapia em indivíduos portadores de distúrbios vasculares e afins. Assim, o uso abusivo de tal meio para fins atléticos é muito arriscado.

Leptina

Estudos na área de endocrinologia mostraram que, diferentemente do que se pensava, o tecido adiposo apresenta uma função endócrina, não sendo considerado apenas um sítio para estoque energético. O tecido adiposo é também capaz de produzir e liberar diversos hormônios, destacando-se a leptina. A leptina (gene ob/ob) foi descoberta em 1994 e rapidamente ganhou destaque na pesquisa internacional por estar diretamente relacionada com a regulação da ingestão energética e, conseqüentemente, com o processo de obesidade. Além dos adipócitos, a leptina é sintetizada no estômago, na placenta e na glândula mamária. Outro aspecto interessante sobre a leptina é que sua produção difere entre os adipócitos, sendo que sua produção é maior no tecido adiposo subcutâneo do que no visceral²³.

Partindo-se do pressuposto de que a leptina controla o ganho de peso, nos últimos anos conduziram-se diversos estudos objetivando relacionar o tipo de atividade física realizada e

composição corporal às concentrações plasmáticas de leptina em indivíduos treinados. Em geral, estudos com treinamento crônico de curta duração, que não ultrapassaram 3 meses, observaram redução na leptinemia (concentrações circulantes de leptina) em humanos^{28,29}, bem como em ratos de laboratório¹¹. Por outro lado, os efeitos do treinamento de longa duração sobre a leptinemia estudos^{27,30,35} apresentam resultados conflitantes.

Evidências apontam que ao menos em atletas, a leptina pode ter algum efeito benéfico, o que mantém a atenção voltada para o doping genético a partir de tal gene, mas certamente muitos estudos ainda são necessários.

PPAR β (receptor nuclear ativado por drogas proliferadoras de peroxissomas: isoforma beta)

Estudos recentes mostram que o treinamento de *endurance* pode promover uma adaptação e até mesmo transformação nas fibras musculares, bem como um expressivo aumento na biogênese mitocondrial, sendo estas estimuladas a partir de mudanças na expressão gênica de proteínas que são controladas diretamente por fatores de transcrição.

Dentre essa classe de fatores encontra-se a família dos receptores nucleares que estão envolvidos diretamente no controle do metabolismo celular. Os PPARs (peroxisome proliferator-activated receptor) apresentam-se em 3 isoformas com funções distintas. O PPAR α é conhecido por controlar o metabolismo de lipídios positivamente, uma vez que o mesmo é responsável pela mediação da transcrição gênica de diversas proteínas chave do metabolismo de lipídios como, por exemplo, o sistema enzimático CPT (carnitina palmitoil transferase), além de proteínas como a FABP, entre outras. Por outro lado, o PPAR γ controla os processos inversos de lipogênese (esterificação e armazenamento de gorduras), principalmente nos tecidos adiposos e no fígado. Além disso, o PPAR γ está envolvido no controle da resistência a insulina⁸.

O estudo da terceira isoforma, o PPAR β , era negligenciado até poucos anos atrás e, levando-se em consideração que os PPARs foram descobertos apenas em 1990, muito ainda se tem para descobrir a respeito. Contudo, estudos apontam para um papel importante do PPAR β no que diz respeito ao metabolismo do tecido muscular esquelético, uma vez que o mesmo apresenta densidades 10 e 50 vezes maior do que as isoformas α e γ , respectivamente³⁴.

Em estudo realizado por WANG e colaboradores⁴⁰, verificou-se que de fato as chamadas fibras musculares do tipo I apresentam maior concentração de PPAR β em relação as fibras do tipo II. Neste mesmo estudo foi mostrado que ratos geneticamente modificados para apresentarem superexpressão do PPAR β apresentaram aumento das capacidades de biogênese e β -oxidação mitocondrial, acompanhado pelo aumento abrupto na quantidade de fibras

musculares do tipo I. Isto indica que tal aumento foi induzido pela atuação das vias de sinalização do PPAR β e que tal receptor nuclear, além de induzir a modificação da tipagem de fibra muscular, tem papel protetor importante contra o desenvolvimento de obesidade e do diabetes do tipo 2³⁴.

Estudos recentes realizados com roedores no Laboratório de Lípidos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, apontam para o fato de que os PPARs estão envolvidos não apenas no controle do metabolismo de lipídios, mas podem ainda estar diretamente associados aos mecanismos de desenvolvimento de doenças como o câncer.

A grande questão em torno dos fatos é: será que o aumento induzido na expressão dos PPARs contribuiria para o ganho de *performance*? Não se sabe ao certo se sem a vigência de um programa de treinamento adequado tal aumento na expressão surtiria algum efeito. O fato é que devido aos bons resultados encontrados em roedores e até mesmo em atletas, provavelmente em pouco tempo o interesse pelos PPARs aumente não apenas visando a terapia gênica, mas também o ganho de *performance* em atletas de alto rendimento. Contudo, muito ainda se tem a descobrir sobre a real efetividade desse grupo de receptores nucleares.

Conclusões e recomendações

Até o momento, conclui-se que as manipulações fisiológicas e metabólicas através da terapia gênica, objetivando o ganho de *performance*, embora pareçam efetivas, merecem muita investigação e sua utilização para tais fins seria prematura e irresponsável. O grande atrativo em torno de tal uso é que a WADA ainda não encontrou mecanismos efetivos para o controle do doping a partir de genes. Assim, acredita-se que nos próximos anos tal estratégia será extremamente difundida entre os atletas de alto rendimento, mesmo desconhecendo ao certo as possíveis consequências fisiológicas e potenciais efeitos colaterais. Portanto, embora o doping genético nos pareça algo distante e irreal, devemos compreender os seus mecanismos de ação e principalmente advertir o seu uso, já que futuramente acreditamos que tais manipulações genéticas farão parte do cotidiano do mundo esportivo.

Referências Bibliográficas

1. ANNA B. et al. Developing strategies for detection of gene doping. *The Journal of Gene Medicine*. 2008; 10 (1) : 3-20.
2. AZZAZY H.M. e MANSOUR M.M. Rogue athletes and recombinant DNA technology: challenges for doping control. *The Analyst*. 2007; 132, (10) : 951-957.
3. BARESE, C.N.; GOEBEL, W.S.; DINAUER, M.C. Gene therapy for chronic granulomatous disease. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2004; 4 (9) : 1423-1434.
4. BARTON-DAVIS E.R. et al. Viral mediated expression of insulin-like growth factor 1 blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998; 95: 15603-15607.
5. BAUMGARTENER I.; PIECZEK A.; MANOR O. Constitutive expression of ph VEGF-165 following intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation*. 1998; 97 (12) : 1114-1123.
6. BOUCHARD C. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2003 update. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2003; 36 (9) : 1451-1469.
7. CARLSON C.J.; BOOTH F.W.; GORDON S.E. Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading. *American Journal of Physiology*. 1999; 46 (2) : 601-606.
8. CARNEVALI-JR. L.C. O PPAR alfa como mediador de alterações no metabolismo lipídico no músculo esquelético de ratos treinados Dissertação de mestrado Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, ICB-USP, 2006.
9. DIAMANTI-KANDARAKIS E. et al. Erythropoietin abuse and erythropoietin gene doping. Detection strategies in the genomic era. *Sports Medicine*. 2005; 35 (10) : 831-840.
10. EVANS C.; ROBBINS P. Possible orthopedic applications of gene therapy. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 1995; 77 : 1103-1114.
11. FORS H. et al. Serum leptin levels correlate with growth hormone secretion and body fat in children. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999; 84 : 3586-3590.
12. GUSTAFSSON T. et al. Exercise induced expression of angiogenesis-related transcription and growth factors in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*. 1999; 276 (2) : 679-685.
13. HACEIN-BEY-ABINA S. et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *The New England Journal of Medicine*. 2002; 346 (16) : 1185-1193.
14. HAISMA H.J.; HORN O. Gene Doping. *International Journal of Sports Medicine*. 2006; 27 (4) : 257-266.

15. HANNALLAH D. et al. Gene Therapy in orthopaedic surgery. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 2002; 84 (6) : 1046-1061.
16. HENNEBRY A. et al. Myostatin regulates fibre type composition of skeletal muscle by regulating MEF2 and MyoD gene expression. *American Journal Physiology Cell Physiol*, dados não publicados, 2009.
17. HUARD J.; LI Y.; PENG H.; FU F.H. Gene therapy and tissue engineering for sports medicine. *The Journal of Gene Medicine*. 2003; 5 (2) : 93-108.
18. LEE S.J.; MCPHERON C. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001; 98 (16) : 9306-9311.
19. LEHTO M.; JARVINEN M. Muscle injuries, their healing process and treatment. *Annales chirurgiae et gynaecologiae*. 1991; 80 (2) : 102-108.
20. LEIGH-SMITH S. Blood boosting. *British Journal of Sports Medicine*, 2004; 38 : 99-101.
21. LIN J. et al. Myostatin Knockout in mice increases myogenesis and decreases adipogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2002; 291 (3) : 701-706.
22. LIPPI G.; GUIDI G.C. Gene manipulation and improvement of athletic performances: new strategies in blood doping. *British Journal of Sports Medicine*. 2004; 38 : 641.
23. MANTZOROS C.S. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. *Annals of internal medicine*. 1999; 130 (8) : 671-680.
24. MARTINEK M.; FU F.H.; HUARD J. Gene therapy and tissue engineering in sports medicine. *The Physician and Sportsmedicine*. 2000; 28 (2) : 34-51.
25. MATSAKAS A.; DIEL P. The growth factor myostatin, a key regulator in skeletal muscle growth and homeostasis. *International Journal of Sports Medicine*. 2005; 26 (2) : 83-89.
26. MCPHERRON A.C.; LAWLER A.M.; LEE S.J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature*. 1997; 387(6628) : 83-90.
27. MOTA G.R.; ZANESCO A. Leptina, grelina e exercício físico. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 2007; 51 (1) 25-33.
28. OZCELIK O. et al. Effects of different weight loss protocols on serum leptin levels in obese females. *Physiological Research*. 2005; 54 (3) : 271-277.
29. PASMEN W.J.; WESTERTERP-PLANTENGA M.S.; SARIS W.H.M. The effect of exercise training on leptin levels in obese males. *American Journal of Physiology*. 1998; 37 (2) : 280-286.
30. PÉRUSSE L. et al. Acute and chronic effects of exercise on leptin levels in human. *Journal Applied Physiology*. 1997; 83 (1) : 5-10.
31. PRIOR S.J. et al. DNA sequence variation in the promoter region of the VEGF gene impacts VEGF gene expression and maximal oxygen consumption. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*, 2006; 290 (5) : 1848-1855.

32. RANDERSON J. Scientists raise spectre of gene modified athletes (online). Disponível em <http://www.newscientist.com/news>.
33. RAMIREZ A.; RIBEIRO, A. Doping genético e esporte. Revista Metropolitana de Ciências do Movimento Humano. 2005; 6 : 9-20.
34. RUSSELL A.P. et al. Regulation of metabolic transcriptional co-activators and transcription factors with acute exercise. The Federation of American Societies for Experimental Biology. 2005; 19 (8) : 986-988.
35. STEINBERG G.R. et al. Endurance training practically reverses dietary-induced leptin resistance in rodent skeletal muscle. American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism. 2004; 286 : 57-63.
36. SILVA T.C. Inserção de talentos esportivos: Identificação de tendências éticas, axiológicas e científicas. Grupo de Pesquisa Pierre de Coubertin Universidade Gama Filho. 2005; 458-464.
37. TRIPPEL S.; COUTTS R.; EINHORN T. Growth factors as therapeutic agents. The Journal of Bone and Joint Surgery. 1996; 78 (A) : 1272-1286.
38. UNAL M.; UNAL D.O. Gene doping in sports. Sports Medicine. 2004; 34 (6) : 357-362.
39. VAN HILVOORDE I. Achilles contra tortoise. Why WADA cannot run faster than genetically enhanced athlete. Proceedings of 2004 Pre-Olympic Congress. 2004; 124 : 90.
40. WANG Y.X. et al. Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPAR beta, Public Library of Science. 2004; 2 (10) : 1532-1539.
41. WELLS D.J. Gene doping: the hype and the reality. British Journal of Pharmacology. 2008; 154 (3) : 623-631.
42. ZHOU S.; MURPHY J.E.; ESCOBEDO J.A. Adeno-associated virus mediated delivery of erythropoietin lead to sustained of haematocrit in nonhuman primates. Gene Therapy. 1998; 5 (5) : 665-670.