Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

From drug doping to gene doping in horses

Moein Taned

Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail address: moein.taned@znu.ac.ir

Mohammad Bagher Zandi

*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail address: mbzandi@znu.ac.ir

Mohammad Abdoli

Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail address: m.abdoli@znu.ac.ir

Abstract

Objective

According to the World Anti-Doping Agency (WADA), gene doping refers to the non-therapeutic use of genes, gene components, and cellular elements that enhance the athletic performance capacity of animals. Doping used to be done with various drugs such as Anabolic Androgenic Steroids (AAS), Caffeine, Cocaine, Amphetamine, Apomorphine, Fentanyl, Barbiturates, Butazone, etc. but with the progress in the field of gene therapy, the necessary tools for gene doping were created. The objectives of this review were to introduce the types of drug doping, gene doping, the detection methods and important candidate genes used in gene doping in horses.

Gene Doping Methods and Detection Techniques

Gene doping methods can generally be classified into three categories: gene transfer, gene silencing, and gene editing. Various methods have been proposed for detecting gene doping, which can be broadly categorized as indirect and direct detection methods. Indirect methods measure the body's responses to doping, while direct method, which clearly identifies the doping agent, the goal is to identify the genetic materials of doping, a protein produced from the gene doping gene, or a vector. All gene doping detection methods have their advantages and disadvantages, and it is evident that detecting gene doping will be challenging.

Candidate Genes in Gene Doping

Candidate genes commonly used in gene doping include EPO, IGF1, GH, HIF1, PPARD, MSTN, ACTN2, ACTN3, VEGFA, POMC, PENK, ACE, and PCK1.

Conclusions

Given the sensitivity and significance of equestrian sports and horse racing, the likelihood of owners, trainers, and riders resorting to doping to achieve victory is increasing. As gene doping is more effective and harder to detect than traditional drug doping, it receives more attention from offenders. As a result, equestrian and horse racing competitions are facing a new challenge known as gene doping. Although there is currently no evidence of gene doping being used, the necessary technology exists to implement various forms of gene doping. The most effective measure for controlling doping is the introduction of precise doping detection tests. While a wide range of diagnostic tests has been proposed, there is currently no official and widespread method for detecting gene doping. A successful anti-doping program should not only include diagnostic tests but also focus on education, supervision, and implementation methods.

Keywords: Chemical detection, Drug doping, Gene dpoing, Horse sport.

Paper Type: Review Paper.

Citation: Taned M, Zandi MB, Abdoli M (2023) From drug doping to gene doping in horses. *Agricultural Biotechnology Journal* 15 (4), 189-226.

Agricultural Biotechnology Journal 15 (4), 189-226. DOI: 10.22103/jab.2023.21182.1466

Received: October 02, 2023. Received in revised form: November 19, 2023.

Accepted: November 20, 2023. Published online: December 30, 2023.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
شاپا چاپی: ۶۷۰۵-۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۶۵۰۰-۲۲۲۸

از دوپینگ دارویی تا دوپینگ ژنی در اسب

معین تاند

دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: moein.taned@znu.ac.ir

محمد باقر زندی

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: mbzandi@znu.ac.ir

محمد عبدلی

دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: m.abdoli@znu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۰ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۹

چکیده

هدف: طبق تعریف آژانس بین‌المللی ضد دوپینگ (WADA) ،" استفاده غیر درمانی از ژن‌ها و اجزای ژنی و سلولی‌ای که موجب افزایش ظرفیت عملکرد ورز شی حیوان شوند "، دوپینگ ژنی مح سوب می شوند. در گذ شته، دوپینگ بی شتر با داروهای مختلفی مانند استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک، کافئین، کوکائین، آمفتامین، آپومورفین، فنتانیل، باربیتورات‌ها و بوتازون انجام می‌گرفت، اما با پیشـرفت در زمینه ژن درمانی ابزارهای لازم برای انجام دوپینگ ژنی به وجود آمد. هدف از بررسـی حاضـر معرفی انواع دوپینگ دارویی، دوپینگ ژنی، روش‌های تشخیص و ژن‌های مهم کاندیدای مورد استفاده در دوپینگ ژنی در اسب می‌باشد.

روش‌های دوپینگ ژنی و تشخیص: روش‌های دوپینگ ژنی را می‌توان به طور کلی به سه دسته مختلف انتقال ژن، خاموش کردن بیان ژن و ویرایش ژن طبقه‌بندی کرد. روش‌های متعددی برای تشـخیص دوپینگ ژنی ارایه شـده اسـت که به طور کلی می‌توان آنها را به روش‌های غیر مستقیم و مستقیم طبقه‌بندی کرد. روش‌های غیرمستقیم، پاسخ‌های بدن به دوپینگ را اندازه‌گیری می‌کنند. در روش مستقیم که به وضوح عامل دوپینگ را شناسایی می‌کند، هدف شناسایی مواد ژنتیکی دوپینگ، پروتئین حاصل از دوپینگ ژنی یا یک ناقل ا ست. همه روش‌های ت شخیص دوپینگ ژنی دارای مزایا و معایبی ه ستند و وا ضح ا ست که ت شخیص دوپینگ ژن بسیار دشوار خواهد بود.

ژن‌های کاندیدا در دوپینگ ژنی: ژن‌های کاندیدایی که عمدتاً در دوپینگ ژنی مورد اســتفاده قرار می‌گیرند شــامل EPO، IGF1، GH، HIF1، PPARD، MSTN، ACTN2، ACTN3، VEGFA، POMC، PENK، ACE و PCK1 هستند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه امروزه م سابقات سوارکاری و ا سب‌دوانی از ح سا سیت و اهمیت خا صی برخوردار ه ستند، احتمال اینکه مالکان، مربیان و سوارکاران به منظور د ستیابی به پیروزی از دوپینگ ا ستفاده کنند، افزایش می‌یابد. از آنجا که دوپینگ ژنی موثرتر و تشخیص آن دشوارتر از دوپینگ دارویی است، بیشتر مورد توجه متخلفان قرار می‌گیرد. به همین دلیل مسابقات اسب‌دوانی و سوارکاری با چالش جدیدی به نام دوپینگ ژنی روبرو هستند. اگر چه شواهدی از وجود استفاده دوپینگ ژنی در د سترس نیست، اما در حال حاضـر فناوری لازم برای اعمال بسـیاری از اشـکال دوپینگ ژنی وجود دارد. موثرترین اقدام برای کنترل دوپینگ، ارائه آزمایش‌های دقیق تشخیص دوپینگ است. اگرچه طیف وسیعی از آزمایش‌های تشخیصی ارائه شده است، اما تا کنون روش رسمی و فراگیری برای تشخیص دوپینگ ژنی تعیین نشده است. برای یک برنامه موفق ضد دوپینگ علاوه‌بر آزمایش‌های تشخیصی باید به همراه آن به آموزش و نظارت و نحوه اجرای آن نیز توجه ویژه‌ای داشت.

کلیدواژه‌ها: اسب مسابقه‌ای، تشخیص شیمیایی، دوپینگ دارویی، دوپینگ ژنی.

نوع مقاله: مروری.

استناد: تاند معین، زندی محمد باقر، عبدلی محمد (۱۴۰۲) از دوپینگ دارویی تا دوپینگ ژنی در اسب. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۵(۴)، ۲۲۶-۱۸۹.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

شواهد تاریخی و باستان شناسی نشان می‌دهد که اهلی کردن اسب توسط آریایی‌ها (اجداد ایرانیان امروزی) آغاز شده است (Mostafavi et al. 2020). آنها از این حیوانات برای اهداف مختلف مانند کارهای کشــاورزی، حمل و نقل و به عنوان منابع غذایی اســتفاده می‌کردند (Moazemi et al. 2020). آریایی‌ها با اســتفاده از پرورش اســب و انتخاب، نژادهای مختلف و با ویژگی‌های متفاوتی را ایجاد کردند (Asadollahpour et al. 2021). از آغاز مسـابقات اسـب‌دوانی، پرورش‌دهندگان و مربیان سعی در ایجاد ارتباط بین خ صو صیات فیزیولوژیکی و آناتومی ا سب‌ها با در صد موفقیت آنها در طول م سابقه دا شته‌اند. صفات عملکردی در اسب‌های کورسی و ورزشی تحت تاثیر اثرات محیطی و ژنتیکی قرار دارند. در کنار عوامل محیطی از قبیل: برنامه‌های

آموز شی، رژیم غذایی و عوامل دیگر که بروی عملکرد ورز شی ا سب اثر می‌گذارند، تاثیر ژن‌ها در موفیقت‌های ورز شی و عملکرد آنها نیز می‌تواند مهم و قابل بررسی باشد (Gaffney & Cunningham 1988). پدیده دوپینگ برای تغییر و پیشرفت صفات فیزیولوژیکی مربوط به عملکرد اسب‌های ورزشی، از زمان شروع مسابقات سوارکاری به کار گرفته شده است (Tobin 1981). در پژوهشی Wong & Wan (2014) گزارش دادند که دامنه فعلی مواد و داروهای ممنوعه کنترل شده توسط مقامات ضد دوپینگ اسب‌دوانی، از ورزش‌های انسانی نیز بسیار گسترده‌تر است. کارشناسان ضد دوپینگ علاوه بر توجه به موادی که عملکرد و شانس برنده شدن را افزایش می‌دهد، به موادی نیز که عملکرد بدن را مختل می‌کنند توجه ویژه‌ای دارند. استفاده از مواد دوپینگی در هر سطحی از مسابقات ورز شی که رقابت نزدیک و مبالغ شرطبندی زیاد است، ممکن است رخ دهد. استراتژی‌های دوپینگ ممکن است به شکل‌های مختلفی همچون استفاده از داروهای غیرقانونی (آمفتامین‌ها و آرام‌بخش‌هایی که برای تحریک یا کاهش عملکرد اسب استفاده می شوند)، داروهای انسانی که بدون برچسب استاندارد استفاده می شوند یا استفاده نادرست از داروهای دامپزشکی رخ دهد. کاربرد و استفاده از چنین مواردی به شدت توسط سازمان‌های ضد دوپینگ جهت جلوگیری از اختلال در عملکرد طبیعی اسب‌ها و حفظ یکپارچگی مسابقه کنترل می‌شوند (Wong & Wan 2014). در اسب ژن درمانی تنها برای اهداف درمانی و دوپینگ مورد استفاده نیست، بلکه به این دلیل که اسب‌ها می‌توانند به عنوان یک مدل مناسب برای بیماری‌های انسانی مورد استفاده قرار گیرند، ژن درمانی در آنها توسعه پیدا کرده است. اسب‌ها به عنوان یک گونه نسبتا نزدیک به انسان با طول عمر طولانی هستند که آنها را برای مطالعات طولانی مدت مناسب می‌کند (Petersen et al. 2013).

در حال حاضر ژن درمانی اسب مراحل آزمایشی خود را طی می‌کند و نتایج امیدوارکننده‌ای به همراه داشته است. همانند درمان دارویی، ژن درمانی نیز دارای پتانسیل سوء استفاده برای افزایش عملکرد ورزشی در انسان و اسب‌های مسابقه است. دوپینگ ژنی، توسط آژانس جهانی ضد دوپینگ (WADA) به عنوان "انتقال پلیمرهای اسیدهای نوکلئیک، آنالوگ‌های اسید نوکلئیک و یا استفاده از سلول‌های طبیعی یا اصلاح شده ژنتیکی که ظرفیت افزایش عملکرد ورز شی را دارند" تعریف شده است (WADA 2021). دوپینگ ژنی در مسابقات ورز شی مربوط به انسان و اسب به دلیل رعایت اخلاق و حفظ یکپارچگی مسابقه ممنوع اعلام شده است (Tozaki & Hamilton 2022). با این حال در سال‌های اخیر در بسیاری از گونه‌ها از جمله اسب، جنین‌هایی از طریق مهندسی ژنتیک تولید شده‌اند، به عنوان مثال دانشمندان چینی در سال ۲۰۲۰ جنین‌های اسب دارای ژن میوستاتین ویرایش شده با تکنولوژی CRISPR-Cas9 را تولید کردند(Moro et al. 2020). صفات مرتبط با عملکرد ورز شی اسب‌ها تحت تاثیر ژن‌های متعددی قرار دارد، با این حال مطالعات کمی در سطح ژنوم جهت شناسایی ژن‌های مرتبط با عملکرد ورز شی اسب انجام شده است. مطالعات گسترده ارتباط ژنومی (GWAS) می‌تواند به شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با عملکرد ورز شی کمک کند و درک بهتری از صفات عملکردی در نژادهای اسب که در جهان مورد استفاده قرار می‌گیرند، ارائه دهد. علاوه بر این، ادغام داده‌های ژنومی با تجزیه و تحلیل شبکه ژنی می‌تواند یک استراتژی مناسب برای کشف مکانیزم‌های مولکولی باشد زیرا این شبکه‌ها

می‌توانند برای نمایش دادن مسیرهای متابولیکی مشترک، حاشیه نویسی (انوتیشن[1]) فرآیندهای بیولوژیکی، و همچنین شناسایی فاکتورهای رونویسی(TF[2]) مرتبط با فنوتیپ‌های خاص استفاده شوند (Verardo et al. 2016; Soares et al. 2017). امروزه مسابقات سوارکاری و اسب‌دوانی از اهمیت و حساسیت خاصی برخوردار هستند لذا ممکن است مالکان، مربیان و سوارکاران برای پیروزی در مسابقات از دوپینگ (دارویی و ژنی) استفاده کنند. در همین راستا، مطالعات متعددی در زمینه‌ی دوپینگ دارویی، دوپینگ ژنی و ژن‌های مهم کاندیدای مورد استفاده در دوپینگ ژنی در اسب انجام شده است. هدف از ارائه‌ی این مقاله جمع آوری و بررسی مطالب مذکور به صورت منسجم می‌باشد.

دوپینگ دارویی

آژانس جهانی ضد دوپینگ (WADA[3]) سالیانه لیستی از مواد و روش‌های ممنوعه مطابق آنچه در جدول ۱ مشاهده می شود، ارایه می‌کند. نخستین بار در سال ۱۹۶۳ کمیته بین‌المللی المپیک (IOC[4]) این لیست را منتشر کرد اما از سال ۲۰۰۴ تا کنون تهیه، به روز رسانی و انتشار آن توسط WADA صورت می‌گیرد. این لیست دارای استانداردهای بین‌المللی بوده و انواع مواد و روش‌های ممنوعه در مسابقات ورزشی و خارج از آن را گزارش می‌کند (WADA 2021). دوپینگ در اسب به روش‌های مختلف و برای مقاصد گوناگونی انجام می‌گیرد (Vaziri et al. 2015):

۱-اولین نوع دوپینگ، انجام دوپینگ به قصد پیروزی در مسابقه است، که در این حالت با هدف ارتقا پتانسیل ورزشی اسب، به آن داروهای محرک داده می شود. مکانیسم اثر این داروها سیستم اعصاب مرکزی را تحریک و به دنبال آن خستگی را به تاخیر می‌اندازند.

۲-دومین نوع دوپینگ، دوپینگ داروهای آرامبخش است که در جهت ایجاد اختلال یا کاهش فعالیت سیستم عصبی و عضلانی به منظور افزایش مدت زمان استقامت در طول مسابقه مورد استفاده قرار می‌گیرد (باربیتورات‌ها، آدرنوسپتور، زایلازین و غیره).

۳-سومین نوع دوپینگ، برای بازگرداندن کارایی طبیعی اسب به حالت اولیه به آن دارو داده می‌شود (بوتازون، فرزماید و غیره)

۴-چهارمین نوع دوپینگ، دوپینگ ناخواسته است که باعث مثبت شدن آزمایش دوپینگ می‌شود.

رایج‌ترین مواد ممنوعه دوپینگ در مسابقات ورزشی: استروئیدهای آنابولیک و محرک‌ها هستند. استروئیدهای آنابولیک (شایع‌ترین) باعث افزایش توده عضلانی و قدرت بدنی می‌شوند. پس از استروئیدهای آنابولیک، محرک‌ها رایج‌ترین نوع مواد

[1] Annotation
[2] Transcription factors
[3] World Anti-Doping Agency
[4] International Olympic Committee

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

ممنوعه هستند که باعث افزایش هیجان و کاهش احساس خستگی می‌شوند (Deventer et al. 2011). کافئین، کوکائین، آمفتامین، آپومورفین و فنتانیل از دیگر محرک‌های شناخته شده پر مصرف در مسابقات ورزشی هستند. اگر چه کافئین جزء مواد تحریک‌کننده محسوب می‌شود، اما آژانس بین‌المللی ضد دوپینگ آن را جزء موارد ممنوعه قرار نداده است (Guest et al. 2021).

روش‌های نمونه‌گیری و اثبات دوپینگ

به طور کلی جهت انجام آزمایش دوپینگ از چند گروه شرکت کننده در مسابقات مانند: نفرات برتر مسابقه (اول، دوم و سوم)، انتخاب تصادفی شکست خوردگان و نمونه‌ای از اسب‌های مجروح که احتمال برنده شدن آنها وجود داشته است، نمونه‌گیری به عمل می‌آید. در رویدادهای ورزشی ایران با توجه به هزینه‌های زیاد دوپینگ بیشتر نمونه‌گیری‌ها برای اسب‌های برنده در مسابقه انجام می‌گیرد. چهار نوع مایع بدنی عرق، بزاق، خون و ادرار برای نمونه‌گیری در آزمایش دوپینگ قابل استفاده هستند، که در این بین ادرار و خون رایج‌ترین نمونه برای آنالیز هستند. علاوه بر این، تعداد زیادی از مواد غیرمجاز با ترکیب و وزن مولکولی پایین وجود دارد که در بدن متابولیزه شده و از طریق ادرار دفع می‌گردند (Tozaki & Hamilton 2022). اخیرا WADA خون کامل را به عنوان نمونه برای آنالیز و تشخیص دوپینگ ژنی پیشنهاد کرده است (WADA 2023).

جدول ۱. فهرست مواد و روش‌های ممنوع اعلام شده آژانس جهانی ضد دوپینگ (WADA) (WADA 2023)

Table 1. The list of prohibited substances and methods declared to the World Anti-Doping Agency (WADA 2023**)**

زمان استفاده Using time	نوع مواد و روش Type of Substances and method	نوع عامل Agent type	نام ماده شیمیایی The name of the chemical substance
مواد و روش‌هایی که در هر زمانی غیر مجاز هستند Substances & methods prohibited at all times	مواد غیرمجاز Substances prohibited	*S1: عوامل آنابولیک S1: Anabolic agents	۱ – استروئیدهای آنابولیک آندروژنیک ۲ – سایر عوامل آنابولیک 1- Anabolic Androgenic Steroids 2- Other anabolic agents
		S2: هورمون‌ها و مواد وابسته S2: Hormones and related substances	۱–اریتروپویتین ۲– هورمون‌های پپتیدی و عوامل آزاد کننده آن‌ها ۳– عوامل رشد و تعدیل کننده‌های فاکتور رشد 1) 1- Erythropoietins 2- Peptide hormones and their releasing factors 3- Growth factors and growth factor modulators (۲
		S3: آگونیست‌های بتا دو S3: Beta-2 agonists	همه آگونیست‌های انتخابی و غیرانتخابی بتا–۲، از جمله تمام ایزومرهای نوری (آرفورموترول، فنوترول و غیره) All selective and non-selective beta-2 agonists, including all optical isomers, are prohibited (Arformoterol, Fenoterol, etc)

	S4: عوامل واجد فعالیت ضد استروژنی S4: Hormone and metabolic modulators	۱) ۱-مهارکننده های آرو ماتاز (فورمستان، لتروزول و غیره) ۲) ۲-مواد ضد استروژن (بازدوکسیفن، کلومیفن و غیره) ۳) ۳-عواملی که از فعال سازی گیرنده اکتیوین IIB جلوگیری می‌کنند (آنتی بادی های خنثی کننده اکتیوین A و غیره) ۴) ۴-تعدیل کننده‌های متابولیک (ملدونیم، تری متازیدین و غیره) 5) 1- Aromatase inhibitors (Formestane, Letrozole, etc) 6) 2- Anti-estrogenic substances (Bazedoxifene, Clomifene, etc) 7) 3- Agents preventing activin receptor IIB activation (Activin A-neutralizing antibodies, etc) 8) 4- Metabolic modulators (Meldonium, Trimetazidine, etc)
	S5: دارو های ادرار آور و سایر عوامل پوشاننده S5: Diuretics and masking agents	۱) دسموپرسین، پروبنسی، گسترش دهنده‌های پلاسما، استازولامید، آمیلوراید، بومتانید، کانرنون کلرتالیدون، اسید اتاکرینیک، فوروزمایید 2) Desmopressin; Probenecid; Plasma Expanders, Acetazolamide, Amiloride, Bumetanide, Canrenone, Chlortalidone, Etacrynic Acid, Furosemide.
روش‌های غیرمجاز Methods prohibited	*M1: دستکاری خون و اجزای خون M1: Manipulation of blood and blood components	۱) ۱-دوپینگ خون ۲) ۲-افزایش مصنوعی برداشت، حمل یا تحویل اکسیژن ۳) ۳-هر نوع دستکاری در عروق خونی یا اجزای خون با وسایل فیزیکی یا شیمیایی 4) 1- Blood doping 5) 2- Artificially enhancing the uptake, transport or delivery of oxygen 6) 3- Any form of intravascular manipulation of the blood or blood components by physical or chemical means.
	M2: دستکاری شیمیایی و فیزیکی M2: Chemical and physical manipulation	۱) ۱- دستکاری نمونه‌های جمع آوری شده در زمان کنترل دوپینگ (افزودن پروتئازها به نمونه) ۲) ۲- تزریق وریدی غیر قانونی 1- Manipulation of samples collected during doping control (addition of proteases to sample) 3) 2-Illegal intravenous infusions
	M3: دوپینگ ژنی و سلولی M3: gene and cell doping	۱) ۱- استفاده از سلول‌های طبیعی یا اصلاح شده ژنتیکی

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

		۲) ۲- استفاده از اسیدهای نوکلئیک یا آنالوگ‌های اسید نوکلئیک 3) 1- The use of normal or genetically modified cells 2- The use of nucleic acids or nucleic acid analogues	
مواد غیر مجاز در زمان مسابقه Substances prohibited in-competition	S6: محرک‌ها S6: Stimulants	۱) ۱- محرک‌های غیر مشخص (آدرافینیل، آمفپرامو، آمفتامین، آمفتامینیل و غیره) ۲) ۲- محرک‌های مشخص (اتامیوان، اتیل فنیدات، اتیلامفتامین، اتیلفرین و غیره) 3) 1- Non-specified stimulants (Adrafinil, Amfepramone, Amfetamine, Amfetaminil, etc) 4) 2- Specified stimulants (Etamivan, Ethylphenidate, Etilamfetamine, Etilefrine, etc)	
	S7: داروهای مخدر S7: Narcotics	بوپرنورفین، دکستروموراميد، دیامورفین (هروئین)، فنتانیل و مشتقات آن، هیدرومورفون، متادون، مورفین، نیکومورفین و غیره Buprenorphine, Dextromoramide, Diamorphine (heroin), Fentanyl and its derivatives, Hydromorphone, Methadone , Morphine, Nicomorphine, etc	
	S8: مواد کانابینوئیدی S8: Cannabinoids	تمام کانابینوئیدهای طبیعی و مصنوعی (حشیش، ماریجوانا، تتراهیدروکانابینول‌های طبیعی و مصنوعی و غیره) All natural and synthetic cannabinoids are prohibited (hashish, marijuana, Natural and synthetic tetrahydrocannabinols (THCs) , etc)	
	S9: گلوکو کورتیکو استروئیدها S9: Glucocorticoids	همه گلوکوکورتیکوئیدها تزریقی، خوراکی و رکتومی (بکلومتازون، بتامتازون، بودزونايد، سیکلزونايد، کورتیزون، دفلازاکورت و غیره) All glucocorticoids are prohibited when administered by any injectable, oral or rectal route (Beclometasone, Betamethasone, Budesonide, Ciclesonide, Cortisone, Deflazacort, etc)	
مواد غیر مجاز در ورزش های خاص Substances prohibited in particular sports	P1: بتا بلوکرها P1: Beta-blockers	آسبوتولول، آلپرنولول، آتنولول، بتاکسولول، بیسوپرولول، بونولول، کارتئولول، کارودیلول، سلیپرولول، اسمولول Acebutolol, Alprenolol, Atenolol, Betaxolol, Bisoprolol, Bunolol, Carteolol, Carvedilol, Celiprololm, Esmolol	

S: Substances**, M:** Methods

آزمایشات تشخیص دوپینگ

برای تشخیص دوپینگ از سه دسته آزمایش غربالگری[۱]، تعیین کننده[۲] و روش‌های تاییدی[۳] استفاده می‌شود:

آزمایشات غربالگری برای شناسایی مواد غیرمجاز به کار می‌روند. بدین صورت که اگر نتایج حاصل از تمام قسمت‌های غربالگری منفی باشد، نتیجه‌ی آزمایش دوپینگ منفی اعلام می‌گردد. روش‌های کروماتوگرافیک به علت قدرت تجزیه بالا کاربرد وسیعی در آزمایشات غربالگری برای تشخیص داروها در نمونه ادرار اسب دارند. آزمایشات غربالگری کروماتوگرافیک مورد استفاده در جداسازی دارو از نمونه‌های گرفته شده از اسب‌ها شامل:کروماتوگرافی با لایه‌ی نازک (TLC)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و کروماتو گرافی گازی (GC) می‌باشند. کروماتو گرافی با لایه‌ی نازک اولین بار در سال ۱۹۶۰ در آزمایشگاه‌های شیمی مسابقات اسب‌دوانی مورد استفاده قرار گرفت (Neto et al. 1996). آزمایشات تعیین کننده، جهت تعیین غلظت مواد گوناگون موجود در نمونه‌ی آزمایش، در مراجع قانونی مسابقات مربوط به اسب که محدوده کمی از داروها را ارزیابی می‌کنند، استفاده می‌شود. در اکثر آزمایشات تعیین کننده از روش‌های کروماتوگرافیک نظیر کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا یا کروماتوگرافی گازی، جذب اتمی و گاهی ممکن است از روش‌های ایمونواسی[۴] و روش‌های اسپکترومتریک استفاده می‌شود (Jonse 1989).

روش‌های تاییدی در صورتی که یک یا بیشتر آزمایشات غربالگری وجود مواد غیر مجاز در نمونه‌ی مورد آزمایش را نشان دهند به کار گرفته می‌شود. کروماتوگرافی گازی–اسپکترومتری توده‌ای[۵] روشی مورد تایید و استاندارد برای تعیین وجود و تشخیص دارو در نمونه‌های انسانی و حیوانات است. روش اسپکترومتری توده‌ای (MS) بسیار سریع بوده و به سطوح نانوگرمی داروها در نمونه حساس است. کروماتوگرافی گازی–اسپکترومتری توده‌ای اولین بار در آزمایشگاه‌های شیمی مسابقات اسب‌دوانی در دهه‌ی ۱۹۷۰ مورد استفاده قرار گرفت و امروزه استفاده از آن گسترش جهانی پیدا کرده است. اخیرا آزمایشگاه‌هایی نیز برای اهداف مشابه از کروماتوگرافی مایع–اسپکترومتری توده‌ای[۶] (LC/MS) استفاده می‌کنند (Barragry 1994). برای سنجش میزان مورفین، حشیش، بنزودیازپین‌ها، آمفتامین و بسیاری از مواد تست‌های نواری (کیت) مجزا وجود دارد. کیت‌های تست مورفین یکی از مطمئن‌ترین و ارزان‌ترین راه‌های تشخیص مصرف مواد مخدر در انسان است. این تست‌ها بر پایه‌ی تشخیص مواد، داروها یا متابولیت‌های آنها در ادرار عمل می‌کند (King 1999).

[1]Screening test
[2] Determinative test
[3]Confirmatory method
[4]Immunoassay
[5]Gas chromatography- mass spectrometry
[6]Liquid chromatography-mass spectrometry

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

دوپینگ ژنی

ژن درمانی نخستین بار در دهه ۱۹۹۰ جهت درمان بیماری مورد استفاده قرار گرفت و به دنبال گسترش ژن درمانی نگرانی در مورد پتانسیل ژن درمانی آغاز شد و مورد توجه ورزشکاران و عموم قرار گرفت (Barry 2008). توجه جامعه ورزشی زمانی به ژن درمانی افزایش یافت که یک "موش توانا" در آزمایشگاه دانشگاهی از طریق تجویز یک ویروس حامل ژن بیان کننده فاکتور رشد شبه انسولین ۱ [1] به موش‌ها، ایجاد شد. موش‌ها قوی‌تر بودند و حتی با افزایش سن و بدون ورزش نیز از قدرت بیشتری برخوردار بودند (Barry 2008). در سال ۱۹۹۹، زمانی که یکی از ورزشکاران در حین انجام مراحل ابتدایی آزمایشات بالینی ژن درمانی درگذشت، زمینه انجام ژن درمانی دچار واکنش التهابی گسترده به دارو شد و پاسخ‌های ایمنی با بازخورد منفی مواجه شد (Barry 2008; Gould 2013). این امر باعث شد تا مقامات نظارتی در ایالات متحده و اروپا الزامات ایمنی را در آزمایشات بالینی حتی فراتر از محدودیت‌های اولیه‌ای که در آغاز عصر بیوتکنولوژی برای مقابله با خطرات DNA نوترکیب اعمال شده بود، افزایش دهند (Barry 2008; Gould 2013). در ژوئن ۲۰۰۱ تئودور فریدمن، یکی از پیشگامان ژن درمانی، ویوهان اولاو کوس، دارنده مدال طلای المپیک در رشته اسکیت سرعت، مقاله‌ای منتشر کردند که اولین هشدار عمومی در مورد دوپینگ ژنی به حساب می‌آید (van der Gronde et al. 2013). همچنین در همان سال یک کارگروه ژن درمانی که توسط کمیسیون پزشکی کمیته بین المللی المپیک تشکیل شد، خاطرنشان کرد "ما آگاه هستیم که پتانسیل سوء استفاده از داروهای ژن درمانی وجود دارد و روش‌های شناسایی ورزشکارانی که ممکن است از چنین فناوری‌هایی سوء استفاده کنند، در حال بکارگیری هستند" (van der Gronde et al. 2013). تحقیقی در سال ۲۰۰۲ در مورد یک ژن درمانی پیش بالینی به نام Repoxygen منتشر شد که ژن کد کننده اریتروپویتین (EPO) را به عنوان یک درمان بالقوه برای کم خونی معرفی کرد (Barry 2008). سال ۲۰۰۳ آژانس جهانی دوپینگ به طور جدی دوپینگ ژنی را به لیست مواد و روش‌های ممنوعه افزود (Barry 2008). تحقیقات منتشر شده در سال ۲۰۰۴ نشان می‌دهد موش‌هایی که تحت ژن‌درمانی قرار گرفتند توانستند پروتئین PPAR گاما (PPARγ) را کد کنند، به گونه‌ای که تقریباً دو برابر نسبت به موش‌های درمان‌نشده از استقامت بالایی برخوردار بودند که به آنها «موش‌های ماراتن» لقب دادند (Barry 2008). همچنین در سال ۲۰۰۴ آژانس جهانی ضد دوپینگ شروع به تأمین مالی تحقیقات علمی برای کشف دوپینگ ژنی کرد و یک هیئت متخصص دائمی برای مشاوره در مورد عوارض و خطرات ناشی از دوپینگ ژنی تشکیل داد (Barry 2008; WADA 2021).

[1] - Insulin-like growth factor 1

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

طبقه‌بندی دوپینگ ژنی

به طور کلی روش‌های ژن درمانی و دوپینگ ژنی را می‌توان به سه دسته مختلف انتقال ژن، خاموش کردن ژن و ویرایش ژن طبقه‌بندی کرد (Tozaki & Hamilton 2022).

انتقال ژن عبارت است از معرفی ژن‌هایی با منشا خارجی به نام تراریخته به DNA سلول‌های موجودات زنده است. هدف ژن درمانی به روش انتقال ژن، درمان اختلالات ژنتیکی برای تسهیل و تنظیم بیان ژن‌های تراریخته در سلول‌های هدف است (Hirsch et al. 2016). اگر ژن تراریخته با موفقیت در سلول گنجانده شود، ممکن است پروتئین مورد نظر را برای چندین ماه تولید کند و تسکین بالینی طولانی مدت را برای فرد فراهم کند. همچنین ژن تراریخته می‌توانند برای درمان علائم بیماری استفاده شوند (Barton et al. 2002). در فناوری خاموش کردن ژن، ترجمه با هیبرید کردن mRNA با الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس، سنتز مصنوعی سرکوب کرده و ارتباط آن با ریبوزوم‌ها را مهار می‌کند (Martier et al. 2019). روش دیگر استفاده از RNA مداخله گر کوچک (siRNA[1]) است که با تخریب mRNA سلول هدف خود عمل می‌کند. امروزه نیز شرکت‌های دارو سازی با بهره‌گیری از این فناوری یکی از توسعه‌دهندگان درمان‌های سرکوب‌کننده به شمار می‌روند، به‌عنوان مثال، درمان بیماری‌های عصبی که باعث مهار عوامل ایجاد کننده دردهای عصبی می‌شوند (Olsson et al. 2019). خاموش کردن ژن زمانی انجام می‌گیرد که بیان ژن بر روی عملکرد ورز شی انسان یا حیوان اثر منفی بگذارد مانند ژن میو ستاتین (MSTN) که ممکن است بر عملکرد اسب‌های مسابقه اثرات مثبت و منفی می‌گذارد (Hill et al. 2010b). در تحقیقی که بر روی موش آزمایشگاهی انجام شد گزارش شد خاموش شدن ژن میوستاتین باعث افزایش وزن عضله و اندازه میوفیبریل شده و اندازه کلی عضلات اسکلتی را افزایش می‌دهد به طوری که باعث ایجاد عضله مضاعف می‌شود (Khan et al. 2016; Bayarsaikhan et al. 2017).

ویرایش ژن همانطور که از نام آن مشخص است، تکنیکی برای انجام اصلاحات هدفمند ژنوم از جمله جایگزینی، درج، حذف، وارونگی، جابجایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Jinek et al. 2012; Kosicki et al. 2018). سه روش TALEN[2]، ZFN[3] و CRISPR[4] از تکنیک و ابزارهای شناخته شده کاربردی در ویرایش ژن هستند (Pradhan et al. 2020). در این بین روش کریسپر به دلیل اجرای آسان، دارای اثربخشی سریع و ارزان‌تر به عنوان روش انتخابی تبدیل شده است. این تکنیک از طریق ویرایش آسان و قابل اعتماد ژن‌های هدف منجر به انجام تحقیقات گسترده‌ای در زمینه کاربرد پزشکی بالینی ویرایش ژن شده است (Lino et al. 2018).

[1] Small interfering RNAs

[2] Transcription activator-like effector nucleases

[3] Zinc-finger nucleases

[4] Clustered regularly interspaced short palindromic repeats

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

تشخیص

دوپینگ ژنی از سال ۲۰۰۳ در فهرست مواد و روش‌های ممنوعه قرار گرفته است. امکان تشخیص دوپینگ در مسابقات اسب‌دوانی بسیار مهم است. زیرا همانطور که ژن درمانی ایمن تر و کارآمدتر می شود، احتمال استفاده نادرست از آن در ورزش و مسابقات اسب‌دوانی افزایش می‌یابد. به منظور جلوگیری و مقابله با این عمل، مقامات ضد دوپینگ به دنبال توسعه‌ی روش‌های تشخیص دوپینگ هستند. (Wilkin et al. 2017). تمرکز جدی و کارآمد کمیته ضد دوپینگ بر روی سلامت و رفاه اسب، عمدتا به دلیل افزایش آگاهی اجتماعی در رابطه با آسایش و حقوق حیوانات است. از طرفی نیز کمیته ضد دوپینگ برای کنترل سوء استفاده از داروهای درمانی مشروع بر اهمیت این امر تأکید کرده است. ممکن است مربیان و سوارکاران از داروهای مشروع برای پوشاندن آسیب‌های بدنی در اسب استفاده کنند، اما با این روش آسیب بیشتری به حیوان وارد می‌شود. استفاده از داروهایی که هنوز مورد تایید کمیته ضد دوپینگ نبوده و حتی در مراحل آزمایشات بالینی از لیست داروهای مشروع حذف شده و جزو مواد دوپینگی محسوب می شوند، روز به روز در بازار سیاه در حال افزایش است (Teale et al. 2012). در حالت کلی اثرات افزایش عملکرد و عوارض جانبی نامطلوب این مواد به طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است. علاوه بر این، آزمایش پنهانی چنین موادی در اسب‌ها آسان‌تر از انسان‌ها خواهد بود. پیدا کردن اسب برای آزمایش امر دشواری نبوده و عوارض کمتری نیز از واکنش‌های نامطلوب در پی خواهد داشت. علاوه بر آسیب احتمالی به اسب‌ها، دوپینگ توسط سازمان‌های ورزشی بین‌المللی و فدراسیون بین‌المللی اسب‌دوانی (IFHA) امری غیراخلاقی تلقی می شود، زیرا به روح مسابقات ورزشی آسیب می‌رساند، یکپارچگی آن را تهدید و فشار اجباری بر کسانی که رقابت سالمی دارند، وارد می‌کند (Schneider & Friedmann 2006; Wong & Wan 2014). روش توسعه‌یافته‌ی بائوتینا و همکاران برای تشخیص دوپینگ ژنی در انسان نیز می‌تواند راهی برای تشخیص دوپینگ ژنی در اسب‌های مسابقه باشد (Baoutina et al. 2010; Baoutina et al. 2013). از آنجایی که این روش مبتنی بر ژن است توسعه آن مستلزم افزایش آگاهی در مورد ژن‌هایی است که بر عملکرد تأثیر می‌گذارند و احتمالاً برای دستکاری مورد هدف قرار می‌گیرند. چنین ژن‌های کاندیدایی ممکن است تغییرات مطلوبی را در فنوتیپ (توده عضلانی) برای افزایش قدرت و بهبود توانایی سرعت دویدن ایجاد کنند. ژن‌های دیگر ممکن است برای افزایش توانایی استقامت، اکسیژن رسانی یا جریان خون را به ماهیچه‌های در حال کار افزایش دهند، یا درد را برای مقاومت در برابر خستگی و بهبود ریکاوری پس از مسابقه، کاهش دهند (Wells 2008).

روش‌های غیر مستقیم

روش‌های غیرمستقیم، پاسخ‌های بدن به دوپینگ را اندازه‌گیری می‌کنند. برای مثال، تغییرات در سطح رونوشت‌ها (mRNA)، پروتئین‌ها یا متابولیت‌ها. موادر ذکر شده به ترتیب موضوع مباحث ترانس کریپتومیکس (علم نوین رونویسی)، پروتئومیکس (علم نوین پروتئین شناسی) یا متابولومیکس (علم نوین سوخت و ساز) هستند که در مجموع به عنوان شاخه "omics" شناخته می‌شوند. همچنین روش‌های غیرمستقیم توانایی اندازه‌گیری پاسخ‌های ایمنی به یک ناقل ویروسی را دارند، اما ممکن است این گونه پاسخ‌ها به راحتی از پاسخ‌های ناشی از قرار گرفتن در معرض طبیعی با ویروس آنفولانزا قابل تشخیص نباشند. تا به امروز، از بین سه علم نوین بیشترین پیشرفت در رونویسی انجام شده است (Noh 2015). یکی از روش‌های غیرمستقیم جایگزین در تشخیص دوپینگ ژن، نشانگرهای زیستی هستند که نحوه مکانیسم اثر و انتقال ژن را بررسی می‌کند. الگوهای متمایز در بیان ژن، پروتئین‌ها و یا متابولیت‌ها می‌توانند استفاده از ترانس ژن را نشان دهند که در این صورت باید از ترانسکریپتومیکس، پروتئومیکس و متابلومیکس استفاده شود. شناسایی و پایش چنین الگوهایی، نیازمند توسعه و به کارگیری روش‌های قابل اعتمادتری مانند PCR[1]، ELISA[2] یا طیف سنجی جرمی برای تجزیه و تحلیل کمی و کیفی رونوشت‌ها، پروتئین‌ها و متابولیت‌های آسیب دیده، است (Sottas et al. 2011).

روش‌های مستقیم

روش مستقیم که به وضوح عامل دوپینگ را شناسایی می‌کند، همیشه بر روش‌های غیرمستقیم برتری دارند، زیرا احتمال شانس بیشتری برای مقاومت در برابر بررسی و پیگرد قانونی دارد. هدف استراتژی‌های مستقیم شناسایی مواد ژنتیکی دوپینگ، یک پروتئین تولید نوعی پروتئین از ژن دوپینگ یا یک ناقل است. در مورد ویرایش ژن، ژن یا پروتئین ویرایش شده یا عوامل ویرایشی می‌تواند هدف قرار گیرند (Noh et al. 2015). همواره چندین جز از یک ناقل از جمله مواد شیمیایی در فرمولاسیون ناقل‌های غیر ویروسی یا پروتئین‌های ویروسی در ناقل‌های ویروسی به عنوان اهداف بالقوه برای تشخیص مستقیم دوپینگ ژنی مورد بحث قرار گرفته‌اند. با این حال، این رویکرد با چالش‌های متعددی مواجه است، زیرا حامل‌های شیمیایی به سرعت متابولیزه می شوند و پروتئین‌های ویروسی در صورت استفاده از ناقل‌های نامناسب بیان نمی‌شوند (Baoutina et al. 2008). همه روش‌های تشخیص دوپینگ ژنی دارای مزایا و معایبی هستند بنابراین، واضح است که تشخیص دوپینگ ژن بسیار دشوار خواهد بود. دوپینگ دارویی معمولی به دلیل تولید متابولیت‌های غیرعادی توسط داروهای مصنوعی که اغلب در خون یا ادرار قابل شناسایی هستند ساده‌تر است. یکی از راهکارهایی که برای دوپینگ ژنی ارائه شد استفاده از پاسپورت بیولوژیکی بود که هدف از آن شناسایی

[1] Polymerase Chain Reaction

[2] Enzyme Linked Immunosorbent Assay

تغییرات در پروفایل‌های بیان ژنتیکی بود، اما به دلیل اینکه نمی‌توان هر گونه تغییر بیان ژن را به طور قطعی دوپینگ ژنی تلقی کرد مورد توجه قرار نگرفت (Tozaki & Hamilton 2022).

سازمان‌های ناظر بر مسابقات اسب‌دوانی و سوارکاری

از سازمان‌هایی که بر مسابقات اسب‌دوانی و سوارکاری نظارت دارند می‌توان به WADA[1]، IFHA[2]، WAHO[3]، ISBC[4] و FEI[5] اشاره کرد، که از بین آنها سازمان‌های WADA، IFHA و WAHO دستورالعمل‌هایی بر علیه ژن درمانی ارایه کردند. آژانس بین المللی ضد دو پینگ (WADA) در ۱۰ نوامبر ۱۹۹۹ در لوزان سوئیس تشکیل شد و در سال ۲۰۰۱ به مونترال کانادا انتقال پیدا کرد. هدف این سازمان مبارزه با مصرف مواد ممنوعه افزایش دهنده عملکرد و دوپینگ ورزشکاران است. هشدارهای ویژه ورزشی آژانس‌های بین المللی ضد دوپینگ در مورد دوپینگ ژنی به شرح ذیل است (WADA 2021):

۱-ورزشکاران حق بهره‌مندی از ژن درمانی را دارند.۲- ژن درمانی مورد استفاده برای افزایش عملکرد باید ممنوع شود. ۳- نهادها و مردم باید روش‌هایی را برای جلوگیری از سوء استفاده توسعه دهند.۴- حمایت مالی باید برای تحقیقات در این زمینه تضمین شود.

فدراسیون بین المللی اسب‌دوانی (IFHA) در سال ۱۹۹۳ با هدف ترویج و توسعه مسابقات اسب‌دوانی و پرورش اسب نژاد تروبرد در جهان، مبارزه با استفاده از مواد و اقدامات ممنوعه، کمک به کشورهای در حال توسعه برای توسعه شیوه‌های بهتر، پیگیری و ترویج فرصت‌های بازاریابی و تجاری مسابقات اسب‌دوانی، تبادل اطلاعات و داده‌ها و آمار مربوط به مسابقات و پرورش اسب تشکیل شد. طبق تعریف IFHA، ژن درمانی به هر روش، فرآیند و درمانی که از الیگومرها یا پلیمرهای اسید نوکلئیک، آنالوگ‌های اسید نوکلئیک، سلول‌های اصلاح شده ژنتیکی و عوامل ویرایش ژنی که قادرند در هر زمان به طور مستقیم یا غیرمستقیم بیان ژن را در بدن هر پستانداری تغییر دهند، اطلاق می شود. IFHA زمانی استفاده از ژن درمانی را مجاز می‌داند که یک دامپزشک رسمی استفاده از آن را برای درمان یک اختلال‌یا آسیب تجویز کند، یک مقام رسمی با ژن درمانی موافقت کند، ژن درمانی باعث تغییر ژنوم قابل توارث اسب نشود و عملکرد ورزشی آن را کاهش و افزایش ندهد (IFHA 2022). سازمان جهانی اسب عرب (WAHO) در سال ۱۹۷۰ ایجاد شده است و اهدافی مانند بهبود و حفظ خلوص اسب‌های نژاد عرب و ترویج علاقه عمومی به پرورش این نژاد، ترویج دانش در مورد تاریخ، مراقبت و درمان اسب‌های نژاد عرب در تمام کشورها، مشاوره و هماهنگی سیاست‌ها و فعالیت‌های اعضای سازمان، بحث و مذاکره با مقامات بین المللی، ملی و سایر مقامات در زمینه مسائل مربوط به

[1]World Anti-Doping Agency
[2] International Federation of Horseracing Authorities
[3] World Arabian Horse Organization
[4]International Stud Book Committee
[5] Fédération Equestre International

اسب‌های نژاد عرب را دنبال می‌کند. دستورالعملی که این سازمان بر علیه ویرایش ژنی ارائه کرده است به شرح زیر است (WAHO 2020):

۱- اسب عرب یا نتاج آن در هر سنی، در مرحله جنینی یا پس از تولد، اگر تحت هر گونه تغییر ژنتیکی قرار گرفته باشد، تحت هیچ شرایطی ثبت نمی شوند. ۲- هر اسب عرب یا نتاج آن در هر سنی که باشد، اگر با استفاده از گامت‌های اصلاح شده ژنتیکی آبستن شده باشد، نباید تحت هیچ شرایطی ثبت شود.

ژن‌های کاندیدا در دوپینگ ژنی

ژن‌هایی که توده و قدرت عضلانی را افزایش می‌دهند: واضح است که هرچه عضله بزرگتر باشد، پتانسیل بیشتری برای حفظ و تولید نیرو داشته و توده عضلانی نقش حیاتی در تعیین توانایی ورزشی اسب ایفا می‌کند (Kearns et al. 2002). میوستاتین یک سایتوکین از خانواده فاکتور رشد تبدیل کننده بتا (TGF-β) است و بیان ژن میوستاتین (MSTN) تأثیر زیادی بر رشد توده عضلانی اسکلتی دارد. در حالت طبیعی میوستاتین به طور بازدارندهای تعداد و رشد فیبرهای عضلانی را با کاهش Myo-D (نشانگر اولیه تمایز عضلانی) تنظیم می‌کند. این امر بیان تنظیم کننده‌های رونویسی رشد سلولی را کاهش می‌دهد و از تکثیر میوبلاست‌ها جلوگیری می‌کند (Langley et al. 2002). اثر بخشی ژن MSTN بر رشد عضلانی زمانی که فعالیت آن مسدود شود، به وضوح نشان داده می شود. برای مثال، سگ‌های نژاد ویپت هموزایگوت با جهش طبیعی تکامل‌یافته در ژن MSTN که پروتئین را غیرعملکردی می‌کند، مشخصاً با سینه‌های پهن و ماهیچه‌های غیرعادی سنگین پا و گردن شناخته می‌شوند (Mosher et al. 2007). طبق تحقیقات صورت گرفته فنوتیپ‌های ماهیچه مضاعف مشابهی نیز در موش (McPherron & Lee 2002)، گاو (McPherron & Lee, 1997)، گوسفند (Clop et al. 2006) و انسان (Schuelke et al. 2004) مشاهده شده است. سگ‌های ویپت که دارای یک نسخه از ژن جهش‌یافته هستند، به طور قابل توجهی عضلانی‌تر از افراد معمولی بوده و توانایی مسابقه بهتری را نشان دادند، در حالی که سگ‌های هموزایگوت بیش از حد عضلانی برای مسابقه نامناسب هستند (Mosher et al. 2007). در اسب‌های تروبرد، چندشکلی‌های MSTN با استعداد اسب برای مسافت‌های خاصی از مسابقات مرتبط است ((Eivers et al. 2010; Eivers et al. 2012)، و تأثیر آن‌ها بر فنوتیپ محسوس‌تر از سگ‌های ویپت است (SanGiacomo 2013) از میان این گونه‌ها، Hill et al (2010c) یک پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (C/T) (SNP) در اینترون شماره ۱ را شناسایی کردند (Hill et al. 2010c) و نتایج حاصل از آن اساس آزمایشات ژنتیکی ثبت شده توسط شرکت Equinome (دوبلین، ایرلند)، برای پیش‌بینی توانایی سرعت دویدن و استقامت اسب در طول مسابقه شد (Hill et al. 2010c). تحقیقات آتی در مورد ژنوتیپ‌های MSTN در این SNP نقاط مشترکی زیادی را با ترکیب بدن مرتبط کرد به طوری که اسب‌هایی با ژنوتیپ C/C برای دوی سرعت (کمتر از ۱۳۰۰ متر) مناسب بوده و نسبت فیبرهای سریع گلیکولیتیک نوع IIB و

توده عضلانی اسکلتی بالاتری دارند. اسب‌هایی که آلل‌های C/T دارند فنوتیپ متوسط سرعت داشته و برای مسافت‌های میانی (۱۳۰۰ الی۲۱۱۲ متر) مناسب هستند، در حالی که اسب‌هایی با ژنوتیپ T/T دارای توده عضلانی اسکلتی کمتر و فیبرهای نوع II و IIa بیشتر برای مسابقات با مسافت‌های طولانی مناسب می‌باشند (بیشتر از ۲۱۱۴ متر) (Tozaki et al. 2011). در پژوهشی Santagostino et al (2015) گزارش کردند که جهش نوع درج (insertion) باعث کاهش ۵ الی۶ برابری در رونویسی ژن MSTN می‌شود و تأثیر مستقیمی بر بیان میوستاتین خواهد داشت (Santagostino et al. 2015). با توجه به اینکه پلی‌مورفیسم‌های ژنMSTN اسب در مناطق غیر کدکننده قرار دارند، این احتمال وجود دارد که تفاوت‌ها در توده عضلانی اسکلتی در اسب‌ها به دلیل بیان متغیر MSTN باشد تا اثر جهش حذفی یا درجی که در گونه‌های دیگر مشاهده می شود. به همین دلیل، تأثیر MSTN بر توده عضلانی اسکلتی در اسب‌ها نسبت به تأثیر MSTN روی فنوتیپ گاو و سگ از نظر ظاهری ظریف‌تر و کمتر قابل تشخیص است (Wilkin et al. 2017).

با توجه به اثرات قوی مشاهده شده هنگام مسدود شدن میوستاتین در گونه‌های مختلف، ژن‌هایی که میوستاتین را مهار می‌کنند به طور بالقوه رشد عضلانی و تمایز میوبلاست را تحریک کرده و احتمالا اهداف دوپینگ ژنی می‌باشند. فولیستاتین (Follistatin) گلیکوپروتئینی است که عملکرد اعضای خانواده TGF-β از جمله میوستاتین را مسدود می‌کند. در هنگام فعالیت فولیستاتین ، میوستاتین قادر به اتصال به گیرنده C پایانی خود نیست (Lee & McPherron 2001). در حال حاضر اولین کارآزمایی بالینی انسانی با استفاده از یک ویروس مرتبط با آدنو (AAV) حامل ژن فولیستاتین تزریق شده به عضله چهار سر ران در بیماران مبتلا به دیستروفی عضلانی بکر (Becker) در حال انجام است (Mendell et al. 2015). تا کنون آزمایش‌های ژن‌درمانی فولیستاتین متعددی بدون ایجاد عوارض جانبی در موش‌های سالم (Haidet et al. 2008) و میمون ماکاک‌ها (Kota et al. 2009) و تاثیر فولیستاتین در افزایش اندازه و قدرت ماهیچه‌ها گزارش شده است.

اینکه آیا ژن درمانی فولیستاتین منجر به افزایش سرعت در مسیر مسابقه می‌شود یا خیر، ناشناخته است، اما تغییر عملکرد مسیر فولیستاتین در دوپینگ اسب‌های ورزشی امری نوظهور نیست. استروئیدهای آندروژنی آنابولیک معمولاً برای اهداف دوپینگ در مسابقات استفاده می‌شود و از طرفی تحقیقات صورت گرفته بر روی ورزشکاران نشان داده که همراه با تمرینات قدرتی، غلظت فولیستاتین افزایش می‌یابد (Mosler et al. 2013). سایر اعضای خانواده TGF-β نیز مهارکننده‌های قوی تمایز بافت ماهیچه‌ای (میوبلاست) هستند و مشخص شده که اثرات افزایشی بر رشد عضلات اسکلتی دارند. در این خانواده، گروهی از پروتئین‌های اتصال دهنده اکتین قرار دارند که نقش اساسی در ساختار و متابولیسم ماهیچه‌ها و عمل فیبرهای عضلانی سریع انقباض دارند. در انسان دو ژن آلفا اکتینین (α-actinins) عضله اسکلتی وجود دارد که ژن آلفا اکتینین-۲ (ACTN2) در تمام فیبرهای عضلانی بیان شده، اما ژن آلفا اکتینین-۳ (ACTN3) منحصراً در الیاف سریع نوع II بیان می شود (Yang et al. 2003). تغییر در توالی ژن ACTN3 انسان بر استعداد فرد برای ورزش‌های قدرتی یا استقامتی و تشکیل الیاف تند انقباض در پاسخ به ورزش تأثیر می‌گذارد (Seto et al. 2013). Yang et al (2003) انتقال تک باز در ACTN3 را شناسایی کردند که

از بیان ژن جلوگیری می‌کند (Yang et al. 2003). در افراد با ژنوتیپ هموزیگوت برای SNP (R577X) در ژن ACTN3، فقدان آلفا اکتینین۳، کاهش توده عضلانی، کاهش قطر الیاف تند انقباض نوع IIb، نسبت بیشتری از فیبرهای عضلانی آهسته انقباض و تغییر متابولیک به مسیرهای اکسیداتیو را به همراه خواهد داشت، که باعث افزایش مهارت در تمرینات استقامتی این افراد می‌شود. برعکس، افرادی که فاقد این SNP بوده و دارای بیان ACTN3 طبیعی هستند، قدرت و استعداد بیشتری در ورزش دوی سرعت دارند. این SNP اساس آزمایش ژنتیکی ثبت شده‌ای را شکل داد که هدف آن شناسایی استعداد ژنتیکی فرد برای مسابقات دوی سرعت یا استقامت است (North 2010). ممکن است ژن‌های ACTN2 و ACTN3 به دلیل پتانسیل تأثیرگذار آنها بر عملکرد اسب، در مسابقات جهانی جالب توجه باشد (Schröder et al. 2011)، اما با شناسایی ژن ACTN3 اسب (eACTN3) در چهار نژاد اسب کورسی هیچ SNP معادل R577X در آنها پیدا نشد (Gu et al. 2010; Mata et al. 2012) نشان داده شده است که پنج SNP اینترونیک در ناحیه پروموتر ژن eACTN3 شناسایی شده که در فرکانس‌های مختلف در پنج نژاد رخ می‌دهند (Thomas et al. 2014)، اما برای تعیین اینکه آیا این SNPها منجر به تغییرات عملکردی در بیان eACTN3 می‌شوند یا خیر، نیازمند تحقیقات بیشتری است. با توجه به یافته‌های جدید دانشمندان، در حال حاضر هیچ گونه اثر نوترکیبی از ژن ACTN3 در دسترس نبوده و همچنین ژن درمانی برای ACTN3 انجام نشده است. بنابراین، اگرچه دور از انتظار است که این ژن هدف تلاش‌های اولیه در دوپینگ ژنی باشد، اما ممکن است در آینده به کانون توجه تغییرات تبدیل شود (Wilkin et al. 2017).

فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-1) نیز به دلیل نقش آن در تعیین توده و قدرت عضلانی، مورد بررسی قرار گرفته است. IGF-1 هورمون پلی پپتیدی تک زنجیره‌ای است که توسط کبد و با ساختار مولکولی شبه انسولین ترشح می‌شود. IGF-1 به هر دو گیرنده خاص (IGF-1R) و گیرنده‌های انسولین متصل می‌شود و از طریق مسیر سیگنالینگ AKT رشد سلولی، سنتز پروتئین و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای را تحریک می‌کند، همچنین ممکن است اثرات میوستاتین را مهار کند (Glass 2010). IGF-1 به دلیل نتایج چشم‌گیر در آزمایشات انتقال ژن IGF1 در موش، به عنوان یکی از کاندیدای مهم دوپینگ ژنی در ورزش انسانی توجه قابل توجهی را به خود جلب کرده است (Wells 2008; Azzazy et al. 2009). Lee et al (2004) پاسخ هیپرتروفیک قابل توجه عضله موش به ژن درمانی IGF1 را با رشد ۱۴/۸ درصدی توده عضلانی بدون تمرین ورزشی نشان دادند. هنگامی که ژن درمانی با تمرین مقاومتی ترکیب شد، ۳۱/۸ درصد افزایش در توده عضلانی ثبت شد اما هنگامی که انجام تمرین متوقف شد، کاهش توده عضلانی در افراد با افزایش بیان IGF-1 به طور قابل توجهی کمتر بود (Lee et al. 2004). مطالعه دیگری نشان داد که بیان بیش از حد IGF-1 در موش‌های مسن، در از دست دادن عملکرد عضلانی مرتبط با افزایش سن جلوگیری می‌کند (Barton-Davis et al. 1998). قطعاً چنین نتایجی به وضوح برای برخی از ورزشکاران و اسب‌هایی که در آنها دوپینگ اتفاق افتاده است، مورد توجه خواهد بود.

سوماتوتروپین، که به عنوان هورمون رشد (GH) نیز شناخته می‌شود، سنتز پروتئین را گسترش داده و توده عضلانی را به طور مستقیم از طریق اثر آنابولیک خود بر روی بافت‌های هدف و به طور غیرمستقیم با تحریک تولید IGF-1 افزایش می‌دهد. تمرینات ورزشی محرک فیزیولوژیکی قوی برای انتشار GH است که تولید آن را در غده هیپوفیز قدامی تحریک می‌کند و به صورت ضربانی آزاد می شود (Gibney et al. 2007). محل اصلی فعالیت GH کبد می‌باشد که در آن باعث تولید IGF-1 می شود. مزایای GH درمانی در انسان بالغ مبتلا به کمبود GH، به خوبی ثابت شده است و نتایج حاصل از آن به وضوح برای جامعه ورزشی جذاب خواهد بود. در افرادی با عارضه کمبود مقدار GH، درمان جایگزینی GH باعث افزایش قدرت عضلانی، افزایش ظرفیت ورزش هوازی و بهینه سازی متابولیسم چربی و پروتئین می‌شود (Birzniece et al. 2011). با این حال، مطالعات با استفاده از درمان GH بر روی افراد سالم و ورزشکاران حرفه‌ای نشان می‌دهد که نتیجه آزمایش موقتی بوده و کیفیت آن بهبود بیشتری نمی‌یابند (Berggren et al. 2005). سال‌هاست که سوء استفاده از هورمون رشد در مسابقات اسب‌دوانی مورد استفاده و مشکوک بوده است (Bailly-Chouriberry et al. 2010). در سال ۱۹۹۸، شکل نوترکیبی از هورمون GH اسب (reGH) به صورت تجاری تحت نام EquiGen (BresaGen Limited، Thebarton، استرالیا) برای درمان تعادل بالانس نیتروژن در اسب‌های مسن گسترش یافت و توجه جامعه ضد دوپینگ را به دلیل سوء استفاده از پتانسیل آن به خود جلب کرد. اگرچه نتایج حاصل از تحقیقات نشان داده شد که تجویز reGH باعث افزایش GH و IGF-1 پلاسما عاری از عوارض جانبی است (de Kock et al. 2001)، اما هنوز ثابت نشده که توان ورزشی یا شاخص‌های مورد استفاده برای اندازه گیری تناسب اندام، مانند حداکثر جذب اکسیژن (VO2max) و حجم گلبول‌های قرمز را بهبود ببخشد (Bailly-Chouriberry et al. 2008). در دسترس بودن reGH باعث توسعه روش‌هایی برای تشخیص دوپینگ GH شد (Bailly-Chouriberry et al. 2008) و شاید این امر از انجام دوپینگ جلوگیری کند، زیرا در حال حاضر هیچ گزارشی از سوء استفاده از GH در مسابقات سوارکاری گزارش نشده است.

ژن‌های تنظیم کننده اکسیژن: عملکرد ورزشی به دلیل عدم توانایی خون برای اکسیژن رسانی به عضلات در حین کار محدود می شود، زیرا عنصر اکسیژن برای تبدیل چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها به انرژی و به دنبال آن برای ادامه انقباض عضلانی ضروری است (McMiken 1983). حداکثر جذب اکسیژن (VO2max) نه تنها برای اندازه گیری آمادگی قلبی تنفسی استفاده می شود، بلکه به طور کلی توسط فیزیولوژیست‌های ورزشی به عنوان معیار "استاندارد طلایی" تناسب اندام پذیرفته شده است (Howley et al. 1995). روش‌های جایگزین برای افزایش مصنوعی VO2max که در زیر توضیح داده شده است، از استراتژی‌های دوپینگ محبوب در مسابقات سوارکاری به شمار می‌روند. ژن‌هایی که VO2max را از طریق دخالت در متابولیسم هوازی تحت تأثیر قرار می‌دهند، احتمالاً به دلیل پتانسیلی که در افزایش عملکرد ورزشی دارند مورد هدف دوپینگ ژنی قرار گیرند (Wilkin et al. 2017).

اریتروپویتین (EPO[1]) تنظیم‌کننده اصـــلی تولید گلبول‌های قرمز خون (اریتروپویزیس) اســـت و با اثر بالقوه بر افزایش عملکرد، توجه مخاطبان دوپینگ و مسئولان مسابقه را به خود جلب کرده است. این هورمون گلیکوپروتئینی عمدتاً توسط سلول‌های اطراف لوله حالب کلیه در پاسخ به کاهش اکسیژن رسانی (هیپوکسی[2]) بافتی آزاد می‌شود. هدف قرار دادن پیش‌سازهای اریتروئیدی (گلبول قرمز) در مغز ا ستخوان و افزایش بقا، تکثیر و تمایز آنها، اریتروپوئیز را تحریک می‌کند (Fisher 2003). همچنین با انجام آنژیوژنز (رگ زایی) و واســـکولوژنز (تشـــکیل عروق خونی) بر گردش گلبول‌های قرمز تأثیر می‌گذارد (Chong et al. 2002). توانایی EPO برای بهبود اکسیژن ر سانی خون منجر به ایجاد EPO انسانی نوترکیب (rHuEPO) برای درمان کم خونی شدید در انسان شد. گزارش‌هایی مبنی بر استفاده نادرست از آن در ورزش برای افزایش ظرفیت استقامتی منجر به ممنوعیت آن در سال ۱۹۹۰ توسط کمیته بین‌المللی المپیک (IOC) شد (Guan et al. 2007).

از آنجایی که توالی EPO ا سب ۸۴ در صد با EPO انسان در سطح ا سید آمینه همولوگ ا ست (Sato et al. 2004)، rHuEPO مشابه EPO اندوژنوس اسب عمل می‌کند. در اسب‌های سالم نشان داده شده است که rHuEPO تولید گلبول‌های قرمز را برای بهبود اکســـیژن رســـانی به گروه‌های عضـــلانی اصـــلی تحریک می‌کند، در نتیجه عملکرد ورزشـــی افزایش می‌یابد (McKeever et al. 2006). دوپینگ اسب‌ها با استفاده از rHuEPO یکی از نگرانی‌های مهم در زمینه رفاه و سلامت حیوانات ا ست. rHuEPO یک اثر مستقیم پلی سیستمی (افزایش غلظت هموگلوبین خون) ا ست که منجر به افزایش ویسکوزیته و فشار خون می شود. علاوه بر این، به دلیل تفاوت‌های جزئی در گلیکوزیلا سیون rHuEPO در مقایسه با EPO اندوژنوس ا سب، نشان داده شـده اسـت که تجویز مکرر rHuEPO در اسـب‌ها باعث ایجاد تداخل ایمنی با EPO اندوژنوس شـده و منجر به کم خونی کشنده می‌شود (Cooper et al. 2005).

طبق گزارش‌ها، rHuEPO و آنالوگ‌های مصنوعی آن، مانند داربپوئتین، از اوا سط دهه ۱۹۹۰ در ا سب‌های ورز شی مورد سوء ا ستفاده قرار گرفتند، اما به دلیل عدم وجود روش‌های ت شخیص در آن زمان، تأیید این مو ضوع د شوار بود. در سال ۲۰۰۳، آنتی‌بادی‌های ضد EPO در نمونه‌هایی از اسب‌ها در ایالات متحده شناسایی شد که نشان داد سوء استفاده از EPO واقعا رخ داده است (Lasne et al. 2005). در انسان، rHuEPO فقط باید در دوزهای کم تجویز گردد تا تأثیر موثری بر عملکرد داشته باشد (Sato et al. 2004). علاوه بر این، زمانی که این دارو به صورت داخل وریدی برای انسان و اسب تجویز شود، نیمه عمر نسبتاً کوتاهی (۶ الی ۱۰ ساعت) دارد که این امر ت شخیص سوء ا ستفاده از EPO را به یک چالش تبدیل می‌کند و با در د سترس بودن ۸۰ آنالوگ EPO پیچیده‌تر نیز می‌شود (Macdougall & Ashenden 2009).

[1] Erythropoietin

[2] Hypoxie

تلاش مداوم افراد دوپینگ کننده برای دستیابی به ابزارهای مؤثرتر و غیرقابل شناسایی برای افزایش اکسیژن‌رسانی خون، بسیاری را به این گمان سوق داده است که ممکن است ژن EPO هدفی برای دستکاری‌های ژنتیکی باشد (Azzazy et al. 2005; Haisma & de Hon 2006) معرفی و توسعه دارو Repoxygen (آکسفورد بیومدیکا، آکسفورد، انگلستان) توسط یک شرکت داروسازی بریتانیایی در سال ۲۰۰۲ توجه مقامات ورزشی را به دلیل استفاده از پتانسیل آن برای افزایش عملکرد جلب کرد. این دارو که به شکل تزریق عضلانی برای درمان کم خونی در نظر گرفته شده بود، مانند یک ناقل ویروسی حامل ترانس ژن EPO انسانی بیان ژن را از طریق یک عنصر تنظیمی پاسخگو به هیپوکسی کنترل می‌کرد (Azzazy et al. 2005). اگرچه این شرکت تولید دارو را در سال ۲۰۰۳ متوقف کرد، اما پتانسیل سوء استفاده از آن منجر به ممنوعیت این دارو در سال ۲۰۰۶ توسط WADA شد. با توجه به بررسی سوابق گذشته، تا کنون هیچ گزارشی مبنی بر استفاده از آن در مسابقات اسب‌دوانی گزارش نشده است. تجویز این دارو به اسب‌ها احتمالاً باعث ایجاد پاسخ‌های ایمنی به ناقل و پروتئین تراریخته می‌کند. با این وجود، پیش‌بینی می شود که ژن EPO می‌تواند به عنوان یکی از اولین موارد استفاده توسط دوپینگ کننده‌های ژن اسب باشد (Wilkin et al. 2017). فاکتور ۱ القاشونده هیپوکسی (HIF-1[1]) فاکتور رونویسی هترودایمری است که نقش عمده ای در تنظیم تامین اکسیژن برای متابولیسم سلولی ایفا می‌کند. HIF-1 از دو زیرواحد α و β تشکیل شده است و از بین آنها، HIF-1α به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. تحت شرایط نرموکسیک (سطح طبیعی اکسیژن خون)، HIF-1α به سرعت تجزیه می‌شود، در حالی که در شرایط هیپوکسیک، HIF-1α باعث فعال شدن ژن‌هایی مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و EPO می شود که باعث آنژیوژنز می‌شوند (Déry et al. 2005; Muchnik & Kaplan 2011)

پتانسیل ژن (HIF1A) HIF-1α برای افزایش عملکرد ورزشی، WADA و IFHA را بر آن داشت تا اصلاح کننده‌های HIF-1 را در لیست مواد ممنوعه خود قرار دهند (WADA 2021; IFHA 2022). در مسابقات سوارکاری، نمک‌های کبالت به دلیل توانایی آن‌ها در دستکاری محور HIF، به‌عنوان یک استراتژی دوپینگ در استرالیا، آمریکا و اروپا استفاده شده است (Mobasheri & Proudman 2015). کبالت با جلوگیری از اتصال آهن به آنزیم‌های پرولیل هیدروکسیلاز و مهار تخریب HIF1α، عملکرد HIF1A را تعدیل می‌کند. و در نهایت منجر به فعال شدن ژن EPO، افزایش تولید EPO، افزایش اریتروپوئزیس و بهبود اکسیژن رسانی به عضلات می‌شود (Wilkin et al. 2017).

نقش HIF1A در عملکرد ورزشی اسب کمتر قابل تشخیص است. مطالعاتی که به دنبال ژن‌های مسئول افزایش توانایی در اسب‌ها هستند، پلی‌مورفیسم‌های قابل‌توجهی که رابطه‌ای با معیارهای عملکرد نشان می‌دهد در جایگاه HIF1A شناسایی نکرده‌اند (Barrey, 2010). با این وجود، HIF-1α ممکن است به عنوان یک هدف بالقوه برای دوپینگ ژنی در اسب‌ها در نظر

[1]Hypoxia-Inducible Factor 1

گرفته شـود، اما تا زمانی که نقش آن در عملکرد اسـب به خوبی شـناخته نشـود، به عنوان یک تهدید فوری مد نظر نخواهد بود (Wilkin et al. 2017).

ژن‌های آنژیوژنز: در طول تمرینات ورزشـی، سـرعت جریان خون افزایش می‌یابد تا اکسـیژن و مواد مغذی برای افزایش نیازهای متابولیکی عضـلات در حال انقباض فراهم و در عین حال فشـار خون را حفظ کند. این فرآیند تا حد زیادی تحت کنترل آنژیوژنز اسـت (Yan et al. 2011). افزایش حداکثری جریان خون و تعداد مویرگ‌ها در اطراف فیبر عضـلانی منجر به بهبود VO2max و افزایش اسـتقامت می‌شـود و موادی را که آنژیوژنز را تقویت می‌کنند به عوامل دوپینگ ایده آل تبدیل می‌کند (Gustafsson 2011).

فاکتور رشـد اندوتلیال عروقی (VEGF[1]) خانواده‌ای از پروتئین‌های سـیگنال‌دهی پلی پپتیدی اسـت که نقش مهمی در آنژیوژنز و سازگاری با ورزش‌های هوازی ایفا می‌کند. در طول تمرینات هوازی، هیپوکسی عضله اسکلتی باعث رونویسی HIF-1α شده و منجر به تنظیم رونویسی VEGF می‌شود. سپس VEGF به سلول‌های خون و عروق لنفاوی متصل می‌شود و تکراری از رویدادهای مولکولی و سـلولی را آغاز می‌کند که منجر به تشـکیل رگ‌های خونی جدید، اتسـاع عروق و افزایش نفوذپذیری عروق می شود (Yeh & Giordano 2003). تغییراتی در توالی پروموتر VEGF انسان شنا سایی شده که با بهبود توانایی ورز شی مرتبط است (Gianola & Simianer 2006). تاکنون تحقیقی به منظور بررسی ژنوتیپ VEGF در اسب‌ها انجام نشده است، اما بیان طولانی مدت VEGF پس از تمرین نشـان می‌دهد که احتمالاً آنژیوژنز یک نتیجه پاسـخ ورزشـی تطبیقی مهم در ماهیچه‌های اسکلتی اسب باشد (Eivers et al. 2010). فاکتورهای رشد فیبروبلاست (FGFs[2]) به طور هم افزایی با VEGFها عمل می‌کنند، اما با VEGF تفاوت دارند. زیرا بر روی سلول‌های ماهیچه صاف و فیبروبلاست‌ها و همچنین سلول‌های اندوتلیال عمل می‌کنند (Asahara et al. 1995). در ارگانیسم‌های بالغ FGFها نقش و عملکرد هموستاتیکی در پاسخ و ترمیم بافت در هنگام آسیب دارند (Ornitz & Itoh 2001).

خواص ارگوژنیک فاکتورهای رشـد به دلیل نقش درمانی موثر آنها در تسـریع روند بهبودی جراحات موضـوع تحقیق دانشـمندان اسـت. به عنوان راه درمانی برای تاندونیت، هورمون‌های IGF-1، VEGF و FGF همراه با انواع سـیتوکین‌ها بعد از تهیه نمونه از خون اتولوگ اسب به آزمایشگاه منتقل و در آنجا تکثیر و در سرم جمع می شوند، و در نهایت دوباره به بافت آسیب دیده تزریق می شوند (Bosch et al. 2010; Nagel 2013). استفاده نادرست از چنین درمان‌های فاکتور رشد برای افزایش عملکرد مورد توجه WADA و IFHA بوده است و هر دو نهاد حاکم استفاده از آنها را در مسابقات ممنوع اعلام کرده‌اند. در سال ۲۰۱۱، FGF در یک محصول بدون برچسب در گمرک کشور آلمان شناسایی شد (Walpurgis et al. 2011)، در حقیقت این

[1]Vascular Endothelial Growth Factor

[2]Fibroblast Growth Factors

کشف بیانگر تقاضای بازار سیاه برای مصرف چنین محصولاتی بود. با این حال، دور از انتظار است که استفاده نادرست از فاکتورهای رشد از محیط درمانی به محیط دوپینگ منجر به افزایش عملکرد شود، زیرا فاکتورهای رشد نیمه عمر کوتاهی داشته و برای تأثیرگذاری موثر به مقادیر زیادی نیاز دارند (Creaney & Hamilton 2008). روش‌های ژن درمانی برای تنظیم مثبت بیان ژن فاکتور رشد، به طور بالقوه می‌تواند این مشکلات را حل کند. در واقع، ژن درمانی FGF با استفاده از وکتورهای آدنوویروس که سلول‌های ماهیچه اسکلتی انسان را در شرایط آزمایشگاهی مورد هدف قرار می‌دهد، نتایج امیدوارکننده‌ای را برای بازسازی و ترمیم عضله نشان داد (Doukas et al. 2002). ممکن است این روش برای بهبود ورزشکاران و اسب‌ها پس از جراحات و آسیب‌دیدگی مفید باشد، اما همچنین گمانه‌زنی‌هایی در مورد استفاده نادرست از آن در جهت افزایش عملکرد ایجاد کرده است (Baoutina et al. 2007).

ژن‌های متابولیسم انرژی: توان بالای ورزشی اسب‌ها اغلب به ساختار فیزیولوژی ماهیچه اسکلتی آنها نسبت داده می‌شود. انقباض عضله، آدنوزین تری فسفات (ATP) را مصرف و سرعت، متابولیسم را برای جایگزینی ATP مصرف شده افزایش می‌دهد. اگرچه انرژی را می‌توان به طور خلاصه با استفاده از متابولیسم بی هوازی تولید کرد، اما تولید انرژی به در دسترس بودن بسترهای اکسیداسیون و تامین کافی اکسیژن بستگی دارد (Egan & Zierath 2013). در فیبرهای عضلانی، تعداد میتوکندری و ظرفیت تولید ATP بسته به نوع فیبر عضلانی متفاوت است. الیاف نوع I در برابر خستگی مقاوم تر هستند. آنها دارای میتوکندری‌های فراوان و منبع غنی از مویرگ‌ها هستند که اجازه تولید مقادیر زیادی ATP توسط متابولیسم اکسیداتیو را می‌دهد (Booth & Thomason 1991). الیاف نوع II میتوکندری کمتری داشته و با استفاده از متابولیسم گلیکولیتیک، ATP تولید می‌کنند. اگرچه ATP تولید شده در الیاف نوع II منجر به انقباضات کوتاه و قوی در تمرینات دوی سرعت می‌شود، اما این فیبرها بیشتر مستعد خستگی هستند (Valberg et al. 1985). به طور مشخص، ماهیچه اسکلتی اسب پر از میتوکندری بوده و دارای ذخایر زیادی از گلیکوژن داخل عضلانی است. گلیکوژن به عنوان یک منبع انرژی در دسترس عمل می‌کند و در مجاورت میتوکندری قرار دارد، ویژگی که برای توانایی بدنی بالای اسب‌ها ضروری است (Creaney & Hamilton 2008). مقدار میتوکندری را می‌توان با تمرین بیشتر افزایش داد تا ظرفیت بیشتری برای تولید انرژی لازم برای انقباض عضلانی ایجاد کرد (Wilkin et al. 2017). گیرنده‌های فعال شده با تکثیر پراکسی زوم (PPARs[1]) گروهی از فاکتورهای رونویسی هستند که بیان ژن‌های مهم برای سازگاری ماهیچه‌های اسکلتی با ورزش، فسفوریلاسیون اکسیداتیو، ساخت میتوکندری و تغییرات در نوع فیبر عضلانی را تنظیم می‌کنند. از PPARها سه ایزوفرم مختلف وجود دارد که احتمالاً هر کدام با وظایف مهم خود به افزایش ظرفیت عملکرد در اسب و انسان کمک می‌کند (Wilkin et al. 2017).

[1]Peroxisome Proliferator-Activated Receptors

PPAR آلفا (PPARα) بیان چندین ژن کلیدی دخیل در اکسیداسیون اسیدهای چرب را کنترل می‌کند و تنظیم‌کننده مهمی در پاسخ بدن به فعالیت‌های ورزشی است. PPAR آلفا در بالاترین سطوح در فیبرهای عضلانی نوع I و پس از تمرینات استقامتی بیان می شود (Russell et al. 2003). Ahmetov et al (2006) ارتباطی بین پلی مورفیسم G/C اینترونیک در ژن (PPARA) PPARα که با افزایش بیان PPARα و عملکرد استقامتی در انسان مرتبط است، شناسایی کردند (Ahmetov et al. 2006). هموزیگوسیتی آلل G با افزایش بیان PPARα، نسبت بالاتری از الیاف نوع I و ظرفیت بیشتر برای اکسیداسیون اسیدهای چرب همراه بود. این ژنوتیپ در ورزشکاران رشته‌های استقامتی بیشتر بود. ناقلین آلل C PPARA فعالیت PPARα را کاهش داده و وابستگی بیشتری به متابولیسم گلوکز داشتند، بنابراین بیشتر مستعد عملکرد قدرتی بودند. این موضوع که آیا ژنوتیپ‌های مشابه PPARA در اسب‌ها وجود دارد یا خیر هنوز مشخص نیست (Eynon et al. 2010).

PPARGC1A تنظیم کننده اصلی بیوژنز میتوکندری، گیرنده گاما کواکتیو ۱-آلفا فعال شده با تکثیر کننده پراکسی زوم (PGC-1α) را رمزگذاری می‌کند و نشان داده شده است که عامل مهمی در سازگاری عضلات اسکلتی با ورزش در اسب و انسان است (Eivers et al., 2012). در طول تمرین، بیان PGC-1α افزایش می‌یابد که تعدادی از فعال‌کننده‌های رونویسی را فعال می‌کند و این امر منجر به افزایش بیوژنز میتوکندری، اکسیدا سیون اسیدهای چرب و تغییر انواع فیبر عضلانی از تند انقباض (نوع II) به کند انقباض (نوع I) می‌شود. به طور کلی، پیش‌بینی می‌شود که این فرایند باعث افزایش ظرفیت اکسیداتیو، افزایش مقاومت در برابر خستگی و افزایش عملکرد استقامتی می‌گردد. چندین مطالعه بر روی انسان، ژنوتیپ های PPARGC1A (Gly182Ser) را با استقامت یا استعداد دویدن مرتبط می‌دانند (Tural et al. 2014). در اسب‌ها، افزایش قابل توجهی در بیان PPARGC1A پس از ورزش گزارش شده است (Eivers et al. 2010)، که نشان می‌دهد که احتمالاً هدف کلیدی دیگری نیز در تنظیم بیوژنز میتوکندری و متابولیسم اکسیداتیو در اسب‌ها داشته باشد.

نقش PPAR دلتا (PPARδ) در تبدیل فیبر عضلانی و استقامت ورزشی به خوبی ثابت شده است. این ایزوفرم یک گیرنده هسته‌ای فعال شده با هورمون است که بیان ژن‌های مرتبط با متابولیسم لیپید و کربوهیدرات را تنظیم می‌کند و نشان داده شده است که اکسیداسیون اسیدهای چرب در سلول‌های چربی و سلول‌های ماهیچه اسکلتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Lee et al. 2003) در اسب‌ها، PPARδ در طول تمرینات ورزشی تنظیم می‌شود، و پیشنهاد شده است که در آزمایش استقامت اسب‌ها مفید می‌باشد (Cho et al., 2015). در انسان، نشان داده شده است که تغییرات در ناحیه پروموتر PPARδ با آمادگی قلبی تنفسی و پاسخ‌های چربی پلاسما به تمرینات استقامتی مرتبط است (Wiggans et al. 2003). اگرچه مکانیسم‌های دقیق نقش آن‌ها در عملکرد اسب نامشخص است، اما ممکن است به عنوان اهدافی در دوپینگ ژنی اسب مورد استفاده قرار گیرد.

ژن پیروات دهیدروژناز لیپوآمید کیناز ایزوآنزیم ۴ (PDK4[1]) یکی از اولین ژن‌هایی بود که با عملکرد بالا در اسب‌ها مرتبط است. PDK4 به شدت توسط PGC-1α کنترل می‌شود تا متابولیسم گلوکز را با مسدود کردن عملکرد کمپلکس پیروات دهیدروژناز (PDC) تنظیم کند، که منجر به اکسیداسیون بتا اسیدهای چرب به استیل-coA کرده و آن را برای تولید انرژی اکسید کند (Jeoung & Harris 2010). این مسیر در تولید ATP بسیار کارآمد است. برعکس، رونویسی PDK4 توسط تریانسولین کاهش می‌یابد و باعث تغییر متابولیسم گلوکز برای تولید انرژی می‌شود (Connaughton et al. 2010). تغییر در توالی PDK4 (g.38973231A>G) این پتانسیل را دارد که به عنوان نشانگری برای شناسایی اسب‌های ممتاز نژاد تروبرد با برتری ژنتیکی نسبت به دیگران در مسابقه استفاده شود (Hill et al. 2010a). وراثت آلل A منجر به افزایش تولید PDK4 پس از تمرین سرعتی با افزایش همزمان اکسیداسیون اسید چرب می شود (Hill et al. 2010a). مطابق با این‌یافته‌ها، اسب‌های نژاد عرب که برای مسابقات استقامتی در مسافت‌های طولانی‌تر نسبت به تروبرد استفاده می‌شود، دارای فراوانی بالاتری از آلل G بود (Regatieri et al. 2017). اما از طرفی هیچ ارتباطی بین این آلل‌ها و توانایی مسابقه در اسب‌های نژاد کوارتر مشاهده نشد (Pereira et al. 2016). بنابراین نتایج این تحقیقات با این فرضیه مطابقت دارد که نوع ژن PDK4 به سازگاری‌های مفید در متابولیسم هوازی مربوط می‌شود و در مسابقات استقامت از اهمیت بیشتری برخوردار است (Wilkin et al. 2017).

ژن عضله کراتین کیناز (CKM[2]) آنزیم سیتوپلاسمی را رمزگذاری می‌کند که فقط در عضله مخطط یافت می شود و با قابلیت ورزشی در چندین گونه جانوری مرتبط است. پروتئین CKM با کاتالیز برگشت‌پذیر انتقال فسفات بین ATP و کراتین و بین فسفو کراتین و ADP در طول انقباض عضلانی، غلظت ATP و ADP سلولی را بافری می‌کند (Wallimann & Hemmer 1994). نقش CKM با آزمایش‌هایی بر روی موش‌های CKM تاثیر خاموش کردن ژن (ناک اوت[3]) مشخص شده است که باعث افزایش مقاومت در برابر خستگی و افزایش ظرفیت هوازی آنها می شوند (Brüning et al. 1998). این مطالعه منجر به کشف ارتباط پلی‌مورفیسم‌های CKM با عملکرد فیزیکی در انسان (Echegaray & Rivera 2001) و اسب نژاد تروبرد (Gu et al. 2010) شد. این احتمال وجود دارد که در نژاد تروبرد، یکSNP (g.15884567A>G) در ژن CKM محل اتصال فاکتور تنظیم‌کننده اینترفرون ۱ (IRF-1) را که یک فاکتور رونویسی در بیوژنز میتوکندری است، مختل می‌کند. g.15884567A>G در اسب‌هایی با عملکرد مسابقه‌ای ممتاز نسبت به اسب‌های دیگر رایج‌تر بود، که نشان می‌دهد ممکن است g.15884567A>G عامل مفیدی برای پیش‌بینی پتانسیل اسب‌های ورزشی ممتاز باشد (Wilkin et al. 2017).

[1] Pyruvate Dehydrogenase Lipoamide Kinase Isozyme 4

[2] Creatine Kinase Muscle

[3] Knockout

جدول ۲. ژن‌های کاندیدا در دوپینگ ژنی (Brzeziańska et al., 2014)

Table 2. Candidate genes in gene doping (Brzeziańska et al. 2014)

ژن Gene	بافت/سیستم هدف Target tissue/system	۱-عملکرد فیزیولوژی۲-عملکرد فنوتیپی مورد انتظار 1- Physiological function 2- Expected phenotypic performance	تهدیدات سلامتی Risks to health
EPO	سیستم خونی Blood system	۱. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و افزایش اکسیژن رسانی خون ۲. افزایش استقامت 1. Increased number of red blood cells and increased blood oxygenation 2. Increased endurance	افزایش ویسکوزیته خون، جریان خون آرام از طریق عروق، پاسخ ایمنی شدید Increased blood viscosity, Difficult laminar blood flow through the vessels, Severe immune response
IGF1/ GH	سیستم درون ریز و ماهیچه‌ای Endocrine and muscle system	۱. رشد بیش از حد استخوان‌ها و توده بافتی،هیپرتروفی و هیپرپلازی عضلانی وتحریک با بازسازی عضلات (IGF1)، تحریک گلیکوژنولیز و افزایش آزادسازی گلوکز کبد، افزایش لیپولیز وکاهش لیپوژنز، افزایش سنتز پروتئین (GH) ۲.افزایش استقامت، کارایی، افزایش توده عضلانی و قدرت (GH،IGF1) 1- Excessive growth of bones and tissue mass, muscle hypertrophy and hyperplasia, and stimulation by muscle regeneration (IGF1), – stimulation of glycogenolysis and increased release of glucose from liver, increased lipolysis and reduced lipogenesis, increased protein synthesis (GH) 2- Increased endurance, efficiency, increased muscle mass and strength (IGF1, GH)	دید غیر طبیعی، سردرد، حالت تهوع، استفراغ، ادم محیطی، درد در مفاصل و عضلات، رشد بیش از حد غضروف بینی و فک، مقاومت به انسولین و د یا بت، بیماری نئوپلاستیک Abnormal vision, Headache, nausea, vomiting, Peripheral oedema, Pain in the joints and muscles, Overgrowth of the cartilage of the nose and jaw, Cardiomyopathy, Insulin resistance and diabetes, Neoplastic disease
HIF1	سیستم خونی و ایمنی Blood and immune system	۱. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و افزایش اکسیژن رسانی خون ۲. افزایش قدرت و استقامت عضلات	افزایش ویسکوزیته خون، فشار خون، بیماری نئوپلاستیک

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

Increased blood viscosity, Hypertension, Neoplastic disease	1. Increased number of red blood cells and increased blood oxygenation 2. Increased muscle strength and endurance		
بیان بیش از حد هورمون‌های جنسی، سرطان روده بزرگ Overexpression of sex hormones, Colon cancer	۱. تسریع متابولیسم سلول‌های عضلانی اسکلتی، افزایش حساسیت به انسولین، افزایش لیپولیز ۲. افزایش استقامت و سرعت. احتمالاً در کنترل وزن بدن نقش دارد 1- Acceleration of skeletal muscle cell metabolism, increased insulin sensitivity, increased lipolysis 2- Increased endurance and speed. Probably involved in the control of body weight	سیستم عضلانی Muscular system	PPARD
آسیب به رباط‌ها، تاندون‌هاو استخوان‌ها Damage of the ligaments, tendons and bones	۱. هیپرتروفی و هیپرپلازی توده عضلانی ۲. افزایش توده عضلانی و قدرت 1- Hypertrophy and hyperplasia of muscle mass 2- Increased muscle mass and strength	سیستم عضلانی Muscular system	MSTN
عدم وجود هر گونه داده در مورد اثرات منفی دوپینگ ژنی با استفاده از ACTN2 وACTN3 No data on the negative effects of gene doping using ACTN2 and ACTN3	۱. افزایش سرعت متابولیسم گلوکز در پاسخ به تمرین (ACTN3)، جبران از دست دادن عملکرد ژن ACTN3 توسط ژنACTN 2 ۲. افزایش استقامت، قدرت عضلانی و سرعت عضله، افزایش راندمان در دوندگان سرعت 1- Increased rate of glucose metabolism in response to training (ACTN3), Compensation for loss of function of ACTN3 gene by ACTN2 gene 2- Increased endurance, muscle strength and speed of muscle, increased efficiency in sprinters	سیستم عضلانی Muscular system	ACTN2 and ACTN3
بیماری نئوپلاستیک، پاسخ ایمنی Neoplastic disease, Immune response	۱. القای تشکیل عروق خونی جدید (آنژیوژنز) ۲. افزایش استقامت 1- Induction of new blood vessel formation (angiogenesis) 2-Increased endurance	اندوتلیوم عروقی Vascular endothelium	VEGFA

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

POMC/PENK	سیستم عصبی مرکزی Central nervous system	۱. تعدیل آستانه درک درد ۲. افزایش استقامت 1- Modulation of pain perception threshold 2- Increased endurance	آسیب به سیستم اسکلتی عضلانی و قلبی عروقی، استرس و مرگ ناگهانی Increased risk of overloading the musculoskeletal system and cardiovascular system, Stress and Sudden death
ACE	ماهیچه اسکلتی Skeletal muscle	۱. تنظیم فشار خون با اثر بر روی آنژیوتانسین II (افزایش فشار خون) و مشارکت در غیرفعال کردن برادی کینین (کاهش فشار خون)، افزایش نسبت فیبرهای عضلانی کند انقباض (نوع I) ۲. افزایش استقامت و راندمان سرعت 1- Adjusting blood pressure by acting on angiotensin II (increase in blood pressure), and participation in the inactivation of bradykinin (decrease in blood pressure), increasing the proportion of slow-twitch muscle fibres (type I) 2- Increased endurance and/or sprint efficiency	آنژیوادما (ورم عروقی) Angioedema
PCK1	ماهیچه اسکلتی Skeletal muscle	۱. تنظیم فرآیند های متابولیک از جمله گلوکونئوژنز، درگیر در چرخه کربس ۲. افزایش استقامت عضلانی 1- Adjusting the metabolic processes including gluconeogenesis, involved in the Krebs cycle 2- Increased muscle endurance	عدم وجود هر گونه داده در مورد اثرات منفی دوپینگ ژنی با استفاده از PCK1 No data on the negative effects of gene doping using PCK1 in athletes

ژن‌هایی برای غلبه بر درد و ترمیم آسیب: هنگام بررسی ژن‌های کاندیدایی که هدف دست ورزی هستند، نه تنها باید بر روی ژن‌های مربوط به ویژگی‌های فیزیکی تمرکز کرد، بلکه همزمان باید بر روی ژن‌هایی که روی قدرت ذهن، خلق و خوی و درک درد تاثیر می‌گذارند نیز توجه داشت چرا که ممکن است این امر در تعیین استعداد اسب برای عملکرد ممتاز در یک مسابقه نقش داشته باشد. اگرچه بدون شک خلق و خو و انگیزه از ویژگی‌های مهم اسب‌های مسابقه هستند اما اطلاعات کمی در

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

مورد ارتباط آنها با عملکرد وجود دارد. از سوی دیگر، توانایی غلبه بر درد تأثیرات آشکارتری بر عملکرد دارد. ممکن است سوارکاران و مربیان به اسب‌ها اجازه دهد تا برای مدت طولانی‌تری دویده و پس از ورزش یا آسیب‌دیدگی، با استفاده از داروهای مسکن روند بهبودی را تسریع بخشند. به همین دلیل، داروهای ضد التهابی از جمله رایج ترین مواد درمانی تجویزی برای اسب‌های مسابقه هستند (Sanchez & Robertson 2014).

ممکن است ژن هایی که آستانه تحمل درد را افزایش می‌دهند نیز هدف دوپینگ ژنی قرار گیرند. ژن pro opiomelanocortin (POMC) پیش‌ساز پروتئین ترشحی را کد می‌کند که از آن چهار نوع پپتید مخدر اندوژنوس، اندورفین‌ها، انکفالین‌ها، دینورفین‌ها و اندومورفین‌ها مشتق می‌شوند. این مواد بر خلق و خوی فرد تأثیر گذاشته و در پاسخ بدن به ورزش، درد و استرس نقش مهمی دارند که همگی می‌توانند بر عملکرد ورزشی انسان و اسب تأثیر بگذارند (Koneru et al. 2009; Goins et al. 2012) اندورفین‌های اندوژنوس، انکفالین‌ها و مواد افیونی مصنوعی به جایگاه‌های گیرنده‌یکسانی متصل می‌شوند که گیرنده‌های μ-اپیوئیدی (MOR) نامیده می شوند. در غیاب محرک ورزش، اتصال به MOR از آزاد سازی پیش سیناپسی اسید گاما آمینوبوتیریک (GABA) جلوگیری می‌کند. گابا آزاد شدن دوپامین (یک انتقال دهنده عصبی که به دلیل نقشش در رفتار با انگیزه پاداش و احساس لذت شناخته شده است) را مهار می‌کند. ورزش با شدت و مدت کافی باعث افزایش آزادسازی بتا اندورفین می‌شود که منجر به فعال شدن MOR و آزادسازی دوپامین می‌شود. این امر منجر به کاهش درک پیام درد و تولید احساس رضایت می‌شود (Stephan & Parsa 2016). پیش‌بینی می‌شود اندورفین‌ها به اسب‌ها کمک کرده تا تمرینات ورزشی شدید را تحمل کنند (McKeever et al. 2013)، اما تأثیر دقیق آنها بر عملکرد به طور کامل بررسی نشده است.

نتیجه‌گیری: در ده‌های اخیر مسابقات اسب‌دوانی و سوارکاری با چالش جدیدی به نام دوپینگ ژنی روبرو هستند. در حالی که دوپینگ ژنی ممکن است برای سایر حیوانات مسابقه‌ای مانند سگ، شتر و حتی کبوتر نیز نگران کننده باشد، ولی اهمیت کنترل آن در اسب و انسان برای مقاصد ورزشی حرفه‌ای مهم، احساس می شود. با این حال، موضوعاتی که در این مقاله مروری حاضر مورد بحث قرار گرفتند به‌ویژه مواردی که روی اسب متمرکز شده‌اند، احتمالاً به هر حیوان با استعداد مسابقه‌ای با ارزش دیگری نیز مربوط می‌شوند. دوپینگ ژنی تهدیدی فزاینده برای یکپارچگی تمام رشته‌های ورزشی است. اگرچه در حال حاضر شواهد موثق از وجود استفاده دوپینگ ژنی در دسترس نیست، اما فناوری لازم برای اعمال بسیاری از اشکال دوپینگ ژنی وجود دارد. آزمایش‌هایی مبنی بر تشخیص ژن تراریخته توسعه یافته است، اما تشخیص ویرایش ژن هنوز بسیار دشوار است. موثرترین اقدام برای پیشگیری و کنترل دوپینگ، معرفی آزمایش‌های دقیق تشخیص دوپینگ است. اگرچه طیف وسیعی از آزمایش‌های تشخیصی ارائه شده است، اما تا کنون روش رسمی و فراگیری برای تشخیص دوپینگ ژنی تعیین نشده است. در حالت ایده‌آل، یک روش تشخیص مناسب از نمونه‌هایی استفاده می‌کند که با حداقل دستکاری به دست می‌آیند و حاوی یک هدف شناسایی برای یک دوره طولانی هستند. از طرف دیگر این روش مستلزم شرایط خاص، حساس، دارای توان عملیاتی بالا و مقرون به صرفه است. علاوه بر این، با شناسایی بیشتر ژن‌های مرتبط با عملکرد و افزایش تعداد ژن‌های کاندیدا برای دوپینگ ژنی، ممکن است دانشمندان با چالشی برای ایجاد

آزمایشـی که چندین ژن دوپینگ را به طور همزمان هدف قرار می‌دهد، مواجه شـوند. اما برای یک برنامه موفق ضـد دوپینگ تنها آزمایش‌های تشخیصی کافی نیست بلکه باید به همراه آن به آموزش و نظارت مقامات مسئول نیز توجه داشت. ترکیب این سه عامل می‌تواند برنامه‌ی کاملی برای کنترل دوپینگ ژنی باشد.

منابع

اسدالله پور نعنایی حجت، نصرتی مریم، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۰). بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت اسب آخال-تکه و مقایسه آن با نژادهای دیگر با استفاده از داده های تعیین توالی کل ژنوم. فصلنامه ژنتیک نوین ۱۶(۴)، ۳۰۷-۲۹۹.

وزیری ماندانا، سارانی علی، جهانتیغ مهدی (۱۳۹۴). تشخیص سریع و بررسی برخی از مارکرهای استرس‌اکسیداتیو ناشی از دوپینگ با مورفین در اسب. پایان نامه دکتری، دانشگاه زابل، ۵-۴.

References

Ahmetov II, Mozhayskaya IA, Flavell DM et al. (2006) PPARα gene variation and physical performance in Russian athletes. Eur J Appl Physiol 97, 103-108.

Asahara T, Bauters C, Zheng LP et al. (1995) Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in vivo. Circ 92, 365-371.

Asadollahpour HN, Nosrati M, Mohammadabadi MR (2021) Genetic structure analysis of Akhal-Teke horse population and comparison with other horse breeds by using whole genome sequencing data. Modern Genet 16, 299-307 (In Persian).

Azzazy HME, Mansour MMH, Christenson RH (2005) Doping in the recombinant era: strategies and counterstrategies. Clin Biochem 38(11), 959-965.

Azzazy HME, Mansour MMH, Christenson RH (2009) Gene doping: of mice and men. Clin Biochem 42(6), 435-441.

Bailly-Chouriberry L, Pinel G, Garcia P et al. (2008) Identification of recombinant equine growth hormone in horse plasma by LC− MS/MS: a confirmatory analysis in doping control. Anal Chem 80(21), 8340-8347.

Bailly-Chouriberry L, Noguier F, Manchon L et al. (2010) Blood cells RNA biomarkers as a first long-term detection strategy for EPO abuse in horseracing. Drug Test Anal 2(7), 339-345.

Baoutina A, Alexander IE, Rasko JEJ et al. (2007) Potential use of gene transfer in athletic performance enhancement. Mol Ther 15(10), 1751-1766.

Baoutina A, Alexander IE, Rasko JEJ et al. (2008) Developing strategies for detection of gene doping. J Gene Med 10(1), 3-20.

Baoutina A, Coldham T, Bains GS et al. (2010) Gene doping detection: evaluation of approach for direct detection of gene transfer using erythropoietin as a model system. Gene Ther 17(8), 1022-1032.

Baoutina A, Coldham T, Fuller B et al. (2013) Improved detection of transgene and nonviral vectors in blood. Hum Gene Ther Methods 24(6), 345-354.

Barragry TB (1994) Veterinary drug therapy, Lea & Febiger, Philadelphia. pp. 189-193

Barry P (2008) Finding the golden genes: Advances in gene therapy could tempt some athletes to enhance their genetic makeup, leading some researchers to work on detection methods just in case. Sci News 174(3), 16-21.

Barton-Davis ER, Shoturma DI, Musaro A et al. (1998) Viral mediated expression of insulin-like growth factor I blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. Proc Natl Acad Sci 95(26), 15603-15607.

Barton ER, Morris L, Musaro A et al. (2002) Muscle-specific expression of insulin-like growth factor I counters muscle decline in mdx mice. J Cell Biol 157(1), 137-148.

Bayarsaikhan O, Kawai N, Mori H et al. (2017) Co-administration of myostatin-targeting siRNA and ActRIIB-Fc fusion protein increases masseter muscle mass and fiber size. J Nutr Sci Vitaminol 63(4), 244-248.

Berggren A, Ehrnborg C, Rosén T et al. (2005) Short-term administration of supraphysiological recombinant human growth hormone (GH) does not increase maximum endurance exercise capacity in healthy, active young men and women with normal GH-insulin-like growth factor I axes. J Clin Endocrinol Meta 90(6), 3268-3273.

Birzniece V, Nelson AE, Ho KKY (2011) Growth hormone and physical performance. Trends Endocrinol Metab 22(5), 171-178.

Booth FW, Thomason DB (1991) Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: perspectives of various models. Physiol Rev 71(2), 541-585.

Bosch G, van Schie HTM, de Groot MW et al. (2010) Effects of platelet-rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendons: a placebo-controlled experimental study. J Orthop Res 28(2), 211-217.

Brüning JC, Michael MD, Winnay JN et al. (1998) A muscle-specific insulin receptor knockout exhibits features of the metabolic syndrome of NIDDM without altering glucose tolerance. Mol Cell 2(5), 559-569.

Chong ZZ, Kang J-Q, Maiese K (2002) Angiogenesis and plasticity: role of erythropoietin in vascular systems. J Hematother Stem Cell Res 11(6), 863-871.

Clop A, Marcq F, Takeda H et al. (2006) A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. Nat Genet 38(7), 813-818.

Connaughton S, Chowdhury F, Attia RR et al. (2010) Regulation of pyruvate dehydrogenase kinase isoform 4 (PDK4) gene expression by glucocorticoids and insulin. Mol Cell Endocrinol 315(1-2), 159-167.

Cooper C, Sears W, Bienzle D (2005) Reticulocyte changes after experimental anemia and erythropoietin treatment of horses. J Appl Physio 99(3), 915-921.

Creaney L, Hamilton B (2008) Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. Br J Sports Med 42(5), 314-320.

de Kock SS, Rodgers JP, Swanepoel BC (2001) Growth hormone abuse in the horse: preliminary assessment of a mass spectrometric procedure for IGF-1 identification and quantitation. Rapid Commun Mass Sp 15(14), 1191-1197.

Déry M-AC, Michaud MD, Richard DE (2005) Hypoxia-inducible factor 1: regulation by hypoxic and non-hypoxic activators. Int J Biochem Cell Biol 37(3), 535-540.

Deventer K, Roels K, Delbeke FT et al. (2011) Prevalence of legal and illegal stimulating agents in sports. Anal Bioanal Chem 401, 421-432.

Doukas J, Blease K, Craig D et al. (2002) Delivery of FGF genes to wound repair cells enhances arteriogenesis and myogenesis in skeletal muscle. Mol Ther 5(5), 517-527.

Echegaray M, Rivera MA (2001) Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance: genetic and molecular evidence. Sports Med 31, 919-934.

Egan B, Zierath JR (2013) Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. Cell Metabol 17(2), 162-184.

Eivers SS, McGivney BA, Fonseca RG et al. (2010) Alterations in oxidative gene expression in equine skeletal muscle following exercise and training. Physiol Genomics 40(2), 83-93.

Eivers SS, McGivney BA, Gu J et al. (2012) PGC-1α encoded by the PPARGC1A gene regulates oxidative energy metabolism in equine skeletal muscle during exercise. Anim Genet 43(2), 153-162.

Eynon N, Meckel Y, Sagiv M et al. (2010) Do PPARGC1A and PPARα polymorphisms influence sprint or endurance phenotypes?. Scand J Med Sci Sports 20(1), e145-e150.

Fisher JW (2003) Erythropoietin: physiology and pharmacology update. Exp Biol Med 228(1), 1-14.

Gaffney B, Cunningham EP (1988) Estimation of genetic trend in racing performance of thoroughbred horses. Nature 332(6166), 722-724.

Gianola D, Simianer H (2006) A Thurstonian Model for Quantitative Genetic Analysis of Ranks: A Bayesian Approach. Genet, 174(3), 1613-1624.

Gibney J, Healy M-L, Sönksen PH (2007) The growth hormone/insulin-like growth factor-I axis in exercise and sport. Endocr Rev 28(6), 603-624.

Glass DJ (2010) IGF-1 Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy and Atrophy. In: IGFs:Local Repair and Survival Factors Throughout Life Span. Clemmons D, Robinson I, Christen Y (eds) Springer, Berlin. pp. 85–96.

Goins WF, Cohen JB, Glorioso JC (2012) Gene therapy for the treatment of chronic peripheral nervous system pain. Neurobiol Dis 48(2), 255-270.

Gould D (2013) Gene doping: gene delivery for olympic victory. Br J Clin Pharmacol 76(2), 292-298.

Gu J, MacHugh DE, McGivney BA et al. (2010) Association of sequence variants in CKM (creatine kinase, muscle) and COX4I2 (cytochrome c oxidase, subunit 4, isoform 2) genes with racing performance in Thoroughbred horses. Equine Vet J 42, 569-575.

Guan F, Uboh CE, Soma LR et al. (2007) LC-MS/MS method for confirmation of recombinant human erythropoietin and darbepoetin α in equine plasma. Anal Chem 79(12), 4627-4635.

Guest NS, VanDusseldorp TA, Nelson MT et al. (2021) International society of sports nutrition position stand: caffeine and exercise performance. J Int Soc Sports Nutr 18(1), 1.

Gustafsson T (2011) Vascular remodelling in human skeletal muscle. Biochem Soc Trans 39(6), 1628-1632.

Haidet AM, Rizo L, Handy C et al. (2008) Long-term enhancement of skeletal muscle mass and strength by single gene administration of myostatin inhibitors. Proc Natl Acad Sci 105(11), 4318-4322.

Haisma HJ, de Hon O (2006) Gene doping. Int J Sports Med 27(04), 257-266.

Hill EW, Eivers SS, McGivney BA et al. (2010a) Moderate and high intensity sprint exercise induce differential responses in COX4I2 and PDK4 gene expression in Thoroughbred horse skeletal muscle. Equine Vet J 42, 576-581.

Hill EW, Gu J, Eivers SS et al. (2010b) A sequence polymorphism in MSTN predicts sprinting ability and racing stamina in thoroughbred horses. PLoS One 5(1), e8645.

Hill EW, Gu J, McGivney BA et al. (2010c) Targets of selection in the Thoroughbred genome contain exercise-relevant gene SNPs associated with elite racecourse performance. Anim Genet 41, 56-63.

Hirsch ML, Wolf SJ, Samulski RJ (2016) Delivering transgenic DNA exceeding the carrying capacity of AAV vectors. Gene Therapy for Neurological Disorders: Methods and Protocols 21-39.

Howley ET, Bassett DR, Welch HG (1995) Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. Med Sci Sports Exerc 27(9), 1292-1301.

IFHA IFoHA (2022) International Federation of Horseracing Authorities. Article 6 of the International Agreement on Breeding, Racing and Wagering. pp. 1-110.

Jeoung NH, Harris RA (2010) Role of pyruvate dehydrogenase kinase 4 in regulation of blood glucose levels. Korean Diabetes J 34(5), 274-283.

Jinek M, Chylinski K, Fonfara I et al. (2012) A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. Sci 337(6096), 816-821.

Jonse WE (1989) Equine sport medicine, Lea & Febiger, Philadelphia. pp. 138-145.

Kearns CF, McKeever KH, Abe T (2002) Overview of horse body composition and muscle architecture: implications for performance. Vet J 164(3), 224-234.

Khan T, Weber H, DiMuzio J et al. (2016) Silencing myostatin using cholesterol-conjugated siRNAs induces muscle growth. Mol Ther Nucleic Acids 5.

King EJ (1999) Performance of AdultaCheck 4 test strips for the detection of adulteration at the point of collection of urine specimens used for drugs-of-abuse testing. J Anal Toxicol 23(1), 72-72.

Koneru A, Satyanarayana S, Rizwan S (2009) Endogenous opioids: their physiological role and receptors. Glob J Pharmacol 3(3), 149-153.

Kosicki M, Tomberg K, Bradley A (2018) Repair of double-strand breaks induced by CRISPR–Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. Nat Biotechnol 36(8), 765-771.

Kota J, Handy CR, Haidet AM et al. (2009) Follistatin gene delivery enhances muscle growth and strength in nonhuman primates. Sci Transl Med 1(6), 6ra15-6ra15.

Langley B, Thomas M, Bishop A et al. (2002) Myostatin inhibits myoblast differentiation by down-regulating MyoD expression. J Biol Chem 277(51), 49831-49840.

Lasne F, Popot M-A, Varlet-Marie E et al. (2005) Detection of recombinant epoetin and darbepoetin alpha after subcutaneous administration in the horse. J Anal Toxicol 29(8), 835-837.

Lee C-H, Olson P, Evans RM (2003) Minireview: lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors. Endocrinol 144(6), 2201-2207.

Lee S-J, McPherron AC (2001) Regulation of myostatin activity and muscle growth. Proc Natl Acad Sci 98(16), 9306-9311.

Lee S, Barton ER, Sweeney HL et al. (2004) Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. J Appl Physiol 96(3), 1097-1104.

Lino CA, Harper JC, Carney JP et al. (2018) Delivering CRISPR: a review of the challenges and approaches. Drug Deliv 25(1), 1234-1257.

Macdougall IC, Ashenden M (2009) Current and upcoming erythropoiesis-stimulating agents, iron products, and other novel anemia medications. Adv Chronic Kidney Dis 16(2), 117-130.

Martier R, Liefhebber JM, García-Osta A et al. (2019) Targeting RNA-mediated toxicity in C9orf72 ALS and/or FTD by RNAi-based gene therapy. Mol Ther Nucleic Acids 16, 26-37.

Mata X, Vaiman A, Ducasse A et al. (2012) Genomic structure, polymorphism and expression of the horse alpha-actinin-3 gene. Gene 491(1), 20-24.

McKeever KH, Agans JM, Geiser S et al. (2006) Low dose exogenous erythropoietin elicits an ergogenic effect in standardbred horses. Equine Vet J 38(S36), 233-238.

McKeever KH, Arent SM, Davitt P (2013) Endocrine and Immune Responses to Exercise. The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine, 88-107.

McMiken DF (1983) An energetic basis of equine performance. Equine Vet J 15(2), 123-133.

McPherron AC, Lee S-J (2002) Suppression of body fat accumulation in myostatin-deficient mice. J Clin Investig, 109(5), 595-601.

Mendell JR, Sahenk Z, Malik V et al. (2015) A phase 1/2a follistatin gene therapy trial for becker muscular dystrophy. Mol Ther 23(1), 192-201.

Moazemi I, Mohammadabadi MR, Mostafavi A, Esmailizadeh AK, Babenko OI, Bushtruk MV, Tkachenko SV, Stavetska RV, Klopenko NI. Polymorphism of DMRT3 Gene and Its Association with Body Measurements in Horse Breeds. Russ J Genet 56, 1232-1240.

Mobasheri A, Proudman CJ (2015) Cobalt chloride doping in racehorses: Concerns over a potentially lethal practice. Vet J 205(3), 335-338.

Moro LN, Viale DL, Bastón JI et al. (2020) Generation of myostatin edited horse embryos using CRISPR/Cas9 technology and somatic cell nuclear transfer. Sci Rep 10(1), 15587.

Mosher DS, Quignon P, Bustamante CD et al. (2007) A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. PLoS Genet 3(5), e79.

Mosler S, Geisler S, Hengevoss J et al. (2013) Modulation of follistatin and myostatin propeptide by anabolic steroids and gender. Int J Sports Med 34(07), 567-572.

Mostafavi A, Fozi MA, Koshkooieh AE, Mohammadabadi M, Babenko OI, Klopenko NI. Effect of LCORL gene polymorphism on body size traits in horse populations. Acta Sci. - Anim Sci 42.

Muchnik E, Kaplan J (2011) HIF prolyl hydroxylase inhibitors for anemia. Expert Opin Drug Discov 20(5), 645-656.

Nagel H (2013) The Arabian Horse: Nature's Creation and the Art of Breeding. Nawal media.

Neto LMR, Andraus MH, Salvadori MC (1996) Determination of phenylbutazone and oxyphenbutazone in plasma and urine samples of horses by high-performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr B Biomed Appl 678(2), 211-218.

Noh MJ CO, O'Mara M, Lee KH (2015) Cell mediated gene therapy: A guide for doctors in the clinic. World J Med Genet 5(1), 1-13.

North KN (2010) Actn3 genotype screen for athletic performance. Google Patents.

Olsson B, Alberg L, Cullen NC et al. (2019) NFL is a marker of treatment response in children with SMA treated with nusinersen. J Neurol 266, 2129-2136.

Ornitz DM, Itoh N (2001) Fibroblast growth factors. Genome Biol 2(3), 1-12.

Pereira GL, de Matteis R, Meira CT et al. (2016) Comparison of sequence variants in the PDK4 and COX4I2 genes between racing and cutting lines of quarter horses and associations with the speed index. J Vet Sci 39, 1-6.

Petersen JL, Mickelson JR, Cothran EG et al. (2013) Genetic Diversity in the Modern Horse Illustrated from Genome-Wide SNP Data. PloS one 8(1), e54997.

Pradhan A, Kalin TV, Kalinichenko VV (2020) Genome editing for rare diseases. Curr Stem Cell Rep 6, 41-51.

Regatieri IC, Pereira GL, Neto ART et al. (2017) Polymorphisms in MCT1, CD147, PDK4, and DMRT3 genes in Arabian and Quarter Horses. J Vet Sci 48, 161-165.

Russell AP, Feilchenfeldt J, Schreiber S et al. (2003) Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor-α in skeletal muscle. Diabetes 52(12), 2874-2881.

Sanchez LC, Robertson SA (2014) Pain control in horses: what do we really know?. Equine Vet J 46(4), 517-523.

SanGiacomo N, Brooks S (2013) The impact of myostatin genetic polymorphism on muscle conformation in the horse. PhD thesis, University of Cornell. pp. 4-13.

Santagostino M, Khoriauli L, Gamba R et al. (2015) Genome-wide evolutionary and functional analysis of the Equine Repetitive Element 1: an insertion in the myostatin promoter affects gene expression. BMC Genet 16(1), 1-16.

Sato F, Yamashita S, Kugo T et al. (2004) Nucleotide sequence of equine erythropoietin and characterization of region-specific antibodies. Am J Vet Res 65(1), 15-19.

Schneider AJ, Friedmann T (2006) The problem of doping in sports. Adv Genet 51, 1-9.

Schröder W, Klostermann A, Distl O (2011) Candidate genes for physical performance in the horse. Vet J 190(1), 39-48.

Schuelke M, Wagner KR, Stolz LE et al. (2004) Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. N Engl J Med, 350(26), 2682-2688.

Seto JT, Quinlan KGR, Lek M et al. (2013) ACTN3 genotype influences muscle performance through the regulation of calcineurin signaling. J Clin Investig 123(10), 4255-4263.

Soares A, Guimarães S, Kelly M et al. (2017) Multiple-trait genomewide mapping and gene network analysis for scrotal circumference growth curves in Brahman cattle. J Anim Sci 95**,** 3331-3345.

Sottas P-E, Robinson N, Rabin O et al. (2011) The athlete biological passport. Clin Chem 57(7), 969-976.

Stephan BC, Parsa FD (2016) Avoiding opioids and their harmful side effects in the postoperative patient: exogenous opioids, endogenous endorphins, wellness, mood, and their relation to postoperative pain. Hawaii J Med Public Health 75(3), 63.

Teale P, Scarth J, Hudson S (2012) Impact of the emergence of designer drugs upon sports doping testing. Bioanal 4(1), 71-88.

Thomas KC, Hamilton NA, North KN et al. (2014) Sequence analysis of the equine ACTN3 gene in Australian horse breeds. Gene 538(1), 88-93.

Thorpe CT, Clegg PD, Birch HL (2010) A review of tendon injury: why is the equine superficial digital flexor tendon most at risk?. Equine Vet J 42(2), 174-180.

Tobin T (1981) Drugs and the performance horse, Charles C. Thomas, USA. pp. 185-190.

Tozaki T, Hamilton NA (2022) Control of gene doping in human and horse sports. Gene Ther 29(3-4), 107-112.

Tozaki T, Sato F, Hill EW et al. (2011) Sequence variants at the myostatin gene locus influence the body composition of Thoroughbred horses. J Vet Med Sci 73(12), 1617-1624.

Tural E, Kara N, Agaoglu SA et al. (2014) PPAR-α and PPARGC1A gene variants have strong effects on aerobic performance of Turkish elite endurance athletes. Mol Biol Rep 41, 5799-5804.

Valberg S, ESSÉN-GUSTAVSSON B, Lindholm A et al. (1985) Energy metabolism in relation to skeletal muscle fibre properties during treadmill exercise. Equine Vet J 17(6), 439-444.

van der Gronde T, de Hon O, Haisma HJ et al. (2013) Gene doping: an overview and current implications for athletes. Br J Sports Med 47(11), 670-678.

Vaziri M, Sarani A, Jahantigh M (2015) Rapid detection of doping with morphine and study of some oxidative stres markers due to morphine in horses. PhD thesis, University of zabol. pp. 4-5. (In Persian)

Verardo LL, Silva FF, Lopes MS et al. (2016) Revealing new candidate genes for reproductive traits in pigs: combining Bayesian GWAS and functional pathways. Genet Sel Evol 48**,** 1-13.

WADA (2023) International standard prohibited list. pp. 1-24.

WADA (2021) International standard for testing and investigations.

WAHO (2020) WAHO General News.

Wallimann T, Hemmer W (1994) Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. Cell Biol 193-220.

Walpurgis K, Thomas A, Laussmann T et al. (2011) Identification of fibroblast growth factor 1 (FGF-1) in a black market product. Drug Test Anal 3(11-12), 791-797.

Wells DJ (2008) Gene doping: the hype and the reality. Br J Pharmacol 154(3), 623-631.

Wiggans GR, Misztal I, Van Tassell CP (2003) Calving ease (Co)variance components for a sire-maternal grandsire threshold model. J Dairy Sci 86(5), 1845-1848.

Wilkin T, Baoutina A, Hamilton N (2017) Equine performance genes and the future of doping in horseracing. Drug Test Anal 9(9), 1456-1471.

Wilsher S, Allen WR, Wood JLN (2006) Factors associated with failure of Thoroughbred horses to train and race. Equine Vet J 38(2), 113-118.

Wirth T, Parker N, Ylä-Herttuala S (2013) History of gene therapy. Gene 525(2), 162-169.

Wong JKY, Wan TSM (2014) Doping control analyses in horseracing: A clinician’s guide. Vet J 200(1), 8-16.

Yan Z, Okutsu M, Akhtar YN et al. (2011) Regulation of exercise-induced fiber type transformation, mitochondrial biogenesis, and angiogenesis in skeletal muscle. J Appl Physiol 110(1), 264-274.

Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP et al. (2003) ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. Am J Hum Genet 73(3), 627-631.

Yeh JL, Giordano FJ (2003) Gene-based therapeutic angiogenesis. Thorac Cardiovasc Surg 15(3), 236-249.