

## Gendoping im Sport: Fakt oder Fiktion

Ein Beitrag von

Thorsten Schulz  
Kai Smolnikar  
Patrick Diel  
Horst Michna

Institut für  
Experimentelle Morphologie

**M**ehr denn je ist der Mißbrauch anaboler Steroidhormone zur Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit im Sport in den Blickpunkt des Interesses der Öffentlichkeit gerückt. Aufsehenerregende auf Doping zurückzuführende Todesfälle von Bodybuildern haben die Medien geweckt, über womöglich noch spektakulärere Möglichkeiten des Dopings zu berichten: das sogenannte Gendoping.

Jüngste Erfolge aus den verschiedenen Disziplinen der Biomedizin lassen heute Unmögliches morgen bereits möglich erscheinen: Denn im Bereich der klinischen Anwendung der Gentherapie zeichnen sich außer Visionen erste positive Ergebnisse ab. Zwar zielt der Einsatz der Gentherapie auf klinische Anwendungsgebiete, aber dennoch scheint der Mißbrauch der Gentherapie zur effizienten Leistungsmanipulation im Sport nicht abwegig zu sein.

Bevor auf Methoden der Gentherapie, ihre denkbaren Anwendungsgebiete und Mißbrauchsmöglichkeiten eingegangen wird, ist ein kleiner Exkurs zum besseren Verständnis der Funktion von Genen sinnvoll:

Was sind Gene?

Welche Funktion besitzen Gene?

Gene sind spezifische DNA-Abschnitte, die die Information zur Herstellung eines Proteins tragen. Prinzipiell liegen in allen Zellen eines menschlichen Körpers im Zellkern dieselben Gene vor. Jedoch können z.B. Muskelzellen auf ganz andere Gene und damit auf andere Proteine angewiesen

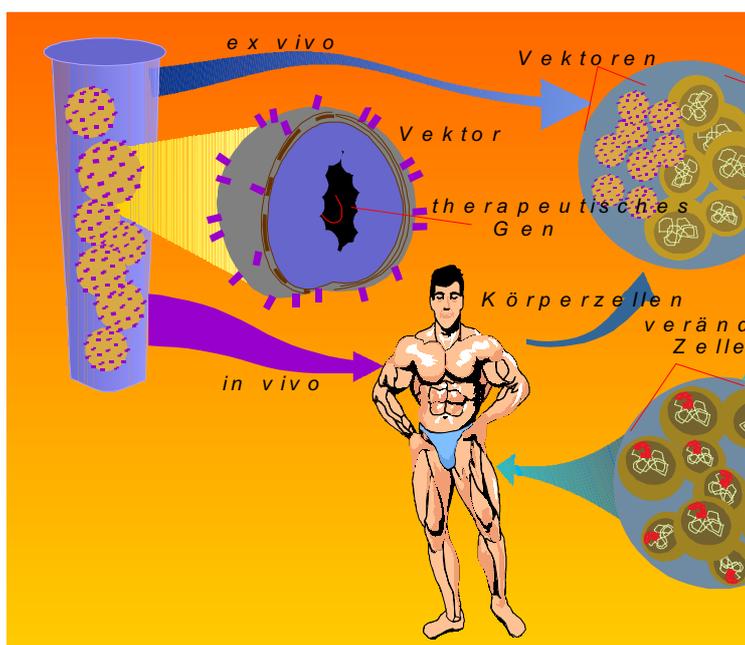


Abb. 1: Methoden der Gentherapie.

# Gendoping

sein, als Zellen des Zentralnervensystems. Damit Zellen bestimmte Proteine synthetisieren können, müssen die auf den Genen enthaltenen Informationen in sogenannte Messenger- oder Boten-RNA umgeschrieben werden. Diese mRNAs dienen als Matrize zur Erstellung der betreffenden Proteine. Ist ein Gen mutiert oder beschädigt, kann eine fehlerhafte Expression erfolgen, so daß das entsprechende - eventuell lebenswichtige - Protein nur mangelhaft bzw. nicht synthetisiert werden kann. Für die medizinische Forschung ergibt sich mit Hilfe einer Gentherapie die konzeptionelle Möglichkeit, eine durch einen Proteinausfall bedingte Krankheit ursächlich, also an den fehlerhaften Genen, bekämpfen zu können.

## Methoden der Gentherapie

Noch ist die Gentherapie eine experimentelle Therapieform für ausgewählte genetische Krankheiten, bei der Korrekturen von molekularen Defekten der DNA in Angriff genommen werden. Ein grundsätzliches Prinzip der Gentherapie ist die Übertragung von intakten Genen in ein Chromosom, in dem ein geschädigtes Gen vorliegt. Solch ein gezielter Einbau genetischen Materials ist in der Praxis beim Menschen noch keineswegs realisiert. Ein wesentliches Problem besteht in einer strikten Regulation der Gene im Körper, d.h., sie müssen zu einer bestimmten Zeit angeschaltet und exprimiert werden; zudem muß die Expression zu einer dosierten Menge an Protein führen. Bisher gibt es jedoch keine Möglichkeit, die in einen Organismus eingeschleusten Gene an ihrem gewünschten Wirkort zu steuern, woraus sich bereits sowohl mangelnde Spezifität der Behandlung wie auch eine hohe Nebenwirkungsproblematik ableiten läßt.

Grundsätzlich werden zwei Methoden der Gentherapie unterschieden: eine **ex vivo-** und eine **in vivo-Methode** (Abb. 1, S. 13). Die seltenere in vivo-Methode basiert auf dem direkten Einbringen von DNA-Überträgern (Vektoren) in den Körper. Bei der ex vivo-Methode werden dem Organismus Zellen entnommen und in Kultur gebracht. In der Kultur werden sie mit Überträgern von Genen vermischt. Diejenigen Zellen, die die Gene erfolgreich aufgenommen haben, werden in den Körper reinkorperiert. Zur Zeit besteht der Vorteil der ex vivo-Methode in der gezielten Veränderung bestimmter Zellen, ohne unplanmäßig Zellen anderer Gewebe mit einem neuen Gen auszustatten.

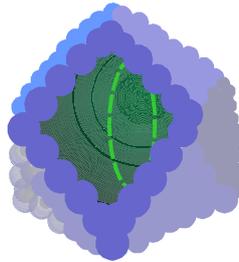


Abb. 2: Adeno-assoziiertes Virus.

Als Überträger genetischen Materials dienen spezielle Vektoren, sozusagen "trojanische Pferde", die sich aufgrund ihrer Herkunft in virale und nicht-virale unterscheiden lassen. Zu den bekanntesten viralen Vektoren gehören Retroviren (z.B. HI-Virus), Adenoviren, Herpesviren, Pockenviren und **adeno-assoziierte Viren** (Abb. 2); zu den nicht-viralen gehören Liposomen, Lipoplexe, Polyplexe und nackte DNA.

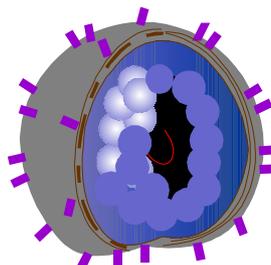


Abb. 3: Retrovirus.

**Retroviren** (Abb. 3) als Genfähren zeichnen sich durch den dauerhaften Einbau ihres genetischen Materials in die Chromosomen ihrer Wirtszellen aus. Auf diese Weise wird das eingeschleuste DNA-Material bei jeder Zellteilung mitverdoppelt. Probleme dieser Methode bereitet die ungenaue Zielbestimmung dieser "Gentaxis". Das neue genetische Material könnte an Stellen im Genom eingebaut werden, wo es andere wichtige Gene in ihrer Funktion stören, ggf. sogar die Entwicklung von Krebs fördern kann. Zusätzlich sind sich selten teilende Zellen wie Nerven- und Skelettmuskelzellen als Ziele insofern ungeeignet, da nur bei einer Zellteilung ein Gentransfer möglich ist.

**Adenoviren** (Abb. 4) als Überträger genetischen Materials bauen ihre DNA nicht in die Chromosomen der Zielzellen ein, deshalb wird diese DNA bei einer Zellteilung nicht repliziert. Ihre Wirksamkeit ist somit zeitlich limitiert. Dennoch kann nach Einbringen der gewünschten Gene in eine Zelle zumindest kurzfristig genug gewünschtes Protein erzeugt werden. Wird ein Protein nur kurzfristig benötigt, z.B. um eine Immunantwort gegen Krebs auszulösen, wäre dieser Methode der Vorzug zu geben.

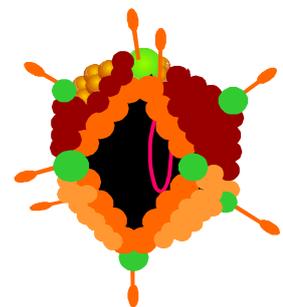


Abb. 4: Adenovirus.

**Liposomen** (Abb. 5) als Vektoren sind morphologisch gesehen winzige Hohlkugeln mit einer Membran aus Lipiden (Fetten). Ihre Qualität als Überträger ist zur Zeit noch wesentlich ineffektiver als die von viralen Genfähren. Mittlerweile ist die Weiterentwicklung der Überträger-Liposo-



Abb. 5: Liposom.

men zu sogenannten Lipoplexen, kompakten Partikeln aus kationischen Lipiden, gelungen. Diese Lipoplexe sind in der Lage, einen großen Anteil von Zellen zu transfizieren, so daß sie heute als Überträger von Genen in kultivierten Zellen als Standardverfahren eingesetzt werden.

**Nackte DNA**-Injektion (Abb. 6) als Methode des Gentransfers wurde in den späten 80er Jahren zufällig entdeckt. Als Kontrolle zur Untersuchung von Lipoplexen gedacht, zeigten sich bei direkt in die Skelettmuskulatur injizierter DNA teilweise stärkere Expressionsspiegel des gewünschten Proteins als bei den zu untersuchenden Lipoplexen. Wie Zellen, z.B. Skelettmuskelzellen, die nackte DNA aufnehmen können, ist bis heute noch unklar.



Abb. 6:  
Nackte DNA.

## Ziele, Konzepte, Strategien

Nachdem schon in den 50er Jahren die ersten Transfektionen (Übertragungen von DNA in Zellen) die Möglichkeit eines Gentransfers aufzeigten, wurde nach Aufklärung verschiedener krankheitsverursachender Erbfehler die Idee der Gentherapie geboren. Erbkrankheiten, die daraufhin auf mögliche Heilungschancen untersucht wurden und werden, sind z.B. die Mukoviszidose (cystische Fibrose), der Adenosin-desaminase-Mangel und die Duchenne-Muskeldystrophie (DMD).

Bei der DMD zeichnen sich Ansätze zur Gentherapie ab, die auf eine erhöhte Expression des Proteins Dystrophin im Muskel abzielen. In diesem Zusammenhang verfolgen einige Forschergruppen die Strategie, mit Hilfe eines Gentransfers letztlich eine Muskelhypertrophie zu erzielen. Da sich zur Zeit noch alle Strategien im tierexperimentellen Stadium befinden, sind noch keine Hinweise auf einen möglichen Mißbrauch in Form eines gezielten Muskelaufbaus im Sport erkennbar.

Außer den Erbkrankheiten werden noch andere Anwendungsgebiete der Gentherapie untersucht, wobei die Krebstherapie im Vordergrund steht. Meistens entsteht Krebs aufgrund von Mutationsanhäufungen, die durch Zellfunktionsfehler zustande kommen oder durch Umwelteinflüsse ausgelöst werden. Im Bereich der Gentherapie laufen Versuche, mutierte Zellen mit Genen auszustatten, die nach ihrer Expression Proteine zum Absterben der Zelle bilden. Andere Strategien verfolgen das Ziel, fehlerhafte Gene entarteter Zellen zu korrigieren oder zu kompensieren. Weitere Möglichkeiten der Gentherapie stellen Gene als Krebsimpfstoff dar. Hierbei soll über die Injektion nackter Plasmid-DNA die Expression bestimmter Proteine ausgelöst werden, die für eine Immunantwort sorgen.

In den letzten Jahren wurden im Tierversuch vermehrt Plasmide auch als Vakzine getestet. Diese Plasmide tragen spezifische, ungefährliche Gene der Erreger, die anhaltende Immunantworten gegen ihre entsprechenden Krankheiten auslösen. In Testung sind zur Zeit unter anderem DNA-Vakzine gegen Grippe-, Herpes- und HIViren sowie gegen Malaria-Erreger.

Mit Hilfe der Gentherapie werden neue Perspektiven zur Heilung bzw. Linderung von Krankheiten des ZNS wie Parkinson oder Alzheimer aufge-

zeigt. Je nach Krankheitssymptomen könnten die für Neuronen lebenswichtigen Proteine zum einen durch zusätzliche Gene exprimiert werden; zum anderen könnten Proteine vor einer destruktiven Überaktivität anderer abnormer Proteine geschützt werden.

## Ansatzpunkte für "Gendoping"

Nachdem im Frühjahr 1997 ein weibliches Schaf mittels seiner Euterzelle (angeblich) geklont wurde, scheint es nur eine Frage der Zeit, wann aus dem Erbgut gentechnisch korrigierter Körperzellen Nachwuchs erzeugt wird. Der gezielte Eingriff in die Gene von Ei- und/oder Samenzelle oder auch einer befruchteten Eizelle wird Keimbahntherapie genannt (Abb. 7, S. 14). Auf Grundlage des hippokratischen Eides und der juristischen Situation in den meisten Ländern sind Eingriffe in die Keimbahn zur Heilung erblicher Krankheiten verboten. Nachdem jedoch der amerikanische Physiker und Biologe RICHARD SEED im Januar 1998 ankündigte, er wolle schon bald Menschen nach der Art klonen lassen wie schottische Forscher das Schaf Dolly, ist die Diskussion um die Ethik und den Mißbrauch von medizinischen Forschungsleistungen neu entbrannt. Auch aus der Sicht des Sports wird das Klonen von Athleten als eine Art "Science fiction" diskutiert. In diesem Zusammenhang gilt es jedoch zu bedenken, daß das mögliche Verfahren erst in 20 Jahren "die Früchte des Er-

### VITA

**Kai Smolnikar**, geb. 1971 in Renscheid, seit 1997 Diplom-Biologe, arbeitet als Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Experimentelle Morphologie und promoviert am Institut für Biochemie der Universität zu Köln mit Schwerpunktthemen der Molekularbiologie.

# Gendoping

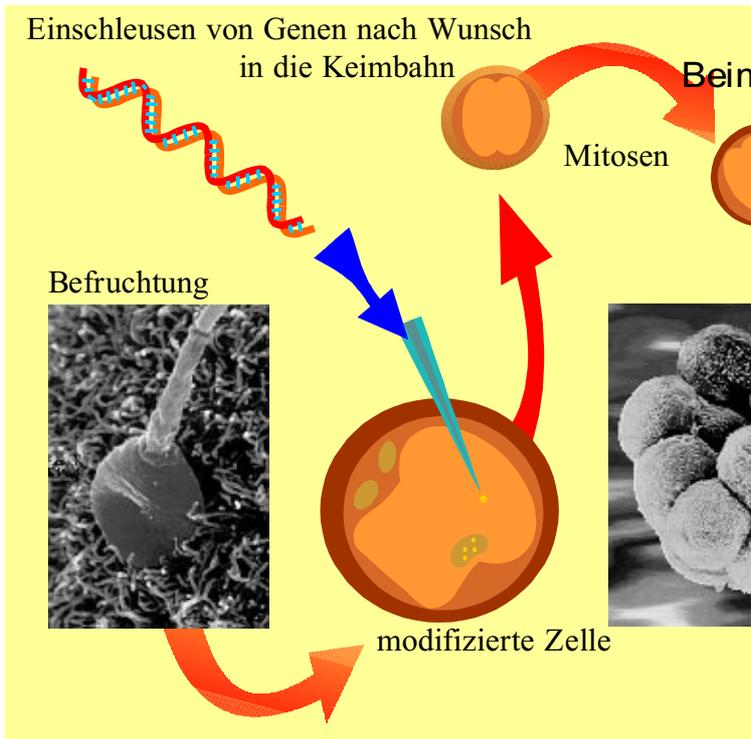


Abb. 7: Keimbahntherapie.

folges" erkennen lassen würde. Dabei erscheinen zwar körperliche Voraussetzungen planbar, jedoch gehört zum idealen Athleten bekanntlich mehr. Solange kognitive Fähigkeiten noch nicht kontrollierbar sind, bleibt der geklonte Superathlet wohl Fiktion. Aus diesen Gründen sollten die erdenklichen Mißbrauchsmöglichkeiten des geklonten Athleten keine Gefahr für den Sport darstellen und im weiteren Verlauf nicht weiter diskutiert werden.

**VITA** **Dr. phil. nat. Patrick Diel**, geb. 1963 in Offenbach am Main, Biologe mit zellbiologischen Schwerpunkten in Tumor-, Hormon- und Apoptoseforschung, arbeitete nach seiner Promotion in Biochemie als wiss. Angestellter in den Forschungslaboratorien der SCHERING AG Berlin. Seit 1995 ist er wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Experimentelle Morphologie der Deutschen Sporthochschule Köln.

Weniger absurd erscheinen andere Strategien eines Gendopings:

## Das Myostatin-Gen

In jüngster Zeit hat die Entdeckung des Myostatin-Gens und seine Bedeutung für die Regulation des Muskelwachstums für Aufsehen gesorgt. Artikel in populärwissenschaftlichen Zeitschriften haben in der Öffentlichkeit den Eindruck erweckt, daß dieses Gen bereits den Ansatzpunkt für genetische Manipulation zum Zwecke der Leistungssteigerung im Sport darstellen könnte.

Myostatin (GDF-8) ist ein kürzlich entdecktes Mitglied einer "Wachstumsfaktor-Familie" der sogenannten "transforming growth factors". Es ist an der Differenzierung der Skelettmuskulatur beteiligt und wirkt als negativer Regulator des Muskelwachstums. In den Rinderrassen "Belgian Blue" und "Piedmontese" (Abb. 8), die sich durch die doppelte Muskelmasse

im Vergleich zu normalen Rindern auszeichnen, ist dieses Gen aufgrund verschiedener Mutationen defekt. Wird in Mäusen durch einen Eingriff in die Keimbahn das Myostatin-Gen ausgeschaltet (sogenannte "Knock-Out" Mäuse), zeigen auch sie ein abnormes Muskelwachstum (Abb. 9). Diese Kenntnisse über die Regulation des Myostatin-Gens erscheint gerade für die Tiernast interessant, falls es möglich sein sollte, dieses Gen auch in anderen Tierrassen auszuschalten.

Für ein mögliches Gen-Doping erwächst daher die bedrückende Vorstellung, das Myostatin-Gen gezielt nur in solchen Muskelgruppen auszuschalten, die für den Sportler in Bezug auf die Kraftentwicklung eine wichtige Rolle spielen. Im Moment sind jedoch noch keine brauchbaren Verfahren etabliert, bestimmte Gene in ausdifferenziertem Gewebe oder Organen auszuschalten. Zudem ist noch nicht ausreichend geklärt, inwieweit sich trainierte Muskulatur in

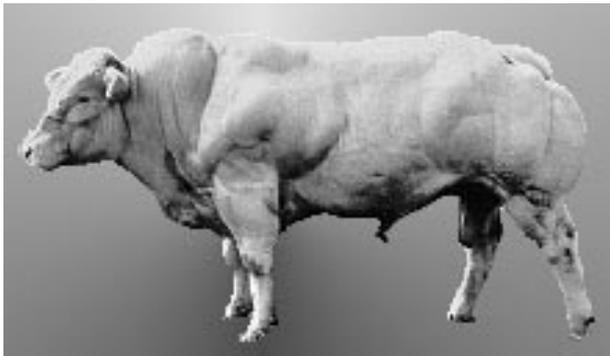


Abb. 8:  
Ausfall des Myostatin-Gens bei einem "Belgian Blue"-Rind führt zu massivem Muskelwachstum.

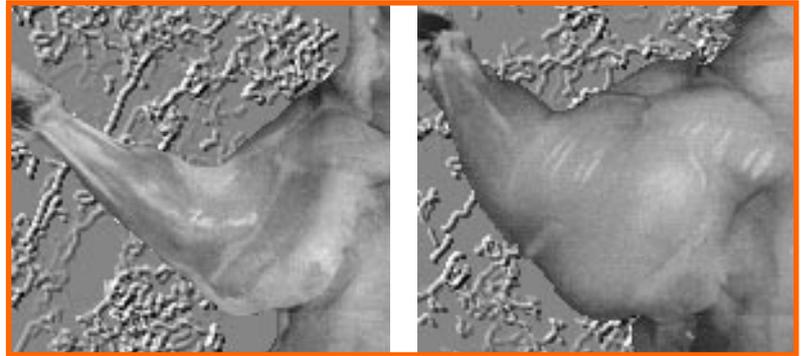


Abb. 9: "Knock-out" Supermaus.  
(Mächtig hypertrophierte Beirmuskulatur nach Ausfall des Myostatin-Gens im Bild rechts).

ihrer Struktur oder Funktionalität von der unterscheidet, die nur durch das Fehlen des negativen Regulators Myostatin gekennzeichnet ist; letztendlich kann das Nebenwirkungspotential auch in keiner Weise abgeschätzt werden.

## Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I)

Das Protein IGF-I spielt eine wichtige Rolle in der Entwicklung, der Aufrechterhaltung und der Regeneration peripherer Nerven und der Skelettmuskulatur. Die Einnahme von IGF-I zur Leistungsverbesserung im Sport, insbesondere im Bodybuilding, ist in den letzten Jahren zunehmend ein Problem geworden. Im Tiermodell konnte jüngst gezeigt werden, daß nach einer intramuskulären Injektion eines Plasmides, welches die Information für humanes IGF-I trug, dieses in der behandelten Muskulatur exprimiert wurde. Zudem konnte es nicht im Blut nachgewiesen werden.

Im Bereich des Gen-Dopings wäre es somit denkbar, durch intramuskuläre Injektionen solcher Plasmide die Produktion von IGF-I in bestimmten Muskeln zu steigern. Die fehlende Nachweisbarkeit im Blut und Urin würde

zusätzlich das Problem mit sich bringen, daß diese Art von Behandlung nur durch eine Muskelbiopsie mit nachfolgender molekularer Analyse (PCR) feststellbar wäre. Auch bei IGF-I muß ein dramatisches Nebenwirkungspotential angenommen werden, da diese Wachstumsfaktoren z.B. auch für die Regulation des Wachstums hormonabhängiger Tumore (Mamma, Prostata) eine bedeutsame Rolle spielen.

### VITA

**Univ.-Prof. Dr. Dr. Horst Michna**, geb. 1954 in Hamborn, Studium der Sportwissenschaft und der Biologie, promovierte 1983 über das Themengebiet "Doping im Sport" (Habilitation im Fach Anatomie an der Universität Lübeck). Bevor er 1995 Leiter des Instituts für Experimentelle Morphologie der Deutschen Sporthochschule Köln mit Professur für Morphologie und Tumorforschung wurde, war er ca. 10 Jahre Leiter eines Forschungslabors für Hormon- und Tumorforschung in den Forschungsstätten der SCHERING AG Berlin. Er war mehrfacher deutscher Meister im Rudersport und Weltmeisterschaftsteilnehmer im 4er und 8er mit der Rudernationalmannschaft.

## Erythropoetin (EPO)

Das Peptidhormon Erythropoetin reguliert die Homöostase der Erythrozyten im Blut. Bei einer krankhaften Verminderung bzw. einer Dysregulation der EPO-Ausschüttung kommt es daher zu einer verminderten Bildung von roten Blutkörperchen. Bei diesen Arten der Anämie muß daher mehrmals wöchentlich rekombinantes EPO subkutan verabreicht werden. Da dies für den Patienten sehr belastend ist, gehen zahlreiche Bestrebungen auf eine Gentherapieform hinaus, wobei es vielversprechende Ansätze gibt, EPO-sezierende Zelllinien zu entwickeln, die subkutan transplantiert werden können.

Es wird vermutet, daß EPO zur Zeit besonders unter Ausdauersportlern als Dopingsubstanz verwendet wird. Sobald eine Gentherapieform entwickelt wird, könnte diese auch mißbräuchlich zum Doping von Sportlern verwendet werden. Da aber "Fremd"-EPO mit molekularbiologischen Verfahren (PCR, siehe Nachweistechiken) sicher im Blut oder Urin nachweisbar ist, erscheint es fraglich, ob dieser technisch höchst anspruchsvolle Ansatz tatsächlich für ein gezieltes

# Gendoping



Abb. 10:

Die Verwendung von EPO ist besonders in den Ausdauersportarten (z.B. Radsport) zu vermuten.

Doping in Frage käme, denn die Applikation von EPO ist für die klinische Anwendung bereits etabliert.

## Nachweis gentechnischer Manipulationen des Erbguts

Auch wenn der momentane Stand der Wissenschaft es unwahrscheinlich erscheinen läßt, daß Manipulationen des Erbguts zum Zwecke des Dopings eingesetzt werden, so stellt sich dennoch die Frage, ob prinzipiell die Möglichkeit besteht, derartige Veränderungen nachzuweisen.

Vielleicht beruhigenderweise läßt sich diese Frage eindeutig mit "Ja" beantworten. Wie bereits dargestellt wurde, bedarf es Vektoren zum Einschleusen fremder Gene in einen Organismus. Sie bestehen aus einem künstlichen Konstrukt, aus dem zur Expression zu bringenden Gen und einem weiteren DNA-Anteil, der nicht im normalen menschlichen Erbgut vorhanden ist.

Derartige künstliche DNA-Konstrukte lassen sich sehr leicht mittels eines speziellen molekularbiologischen Nachweisverfahrens aufspüren, der sogenannten Polymerasekettenreak-

tion (PCR). Bei der PCR können mittels spezifischer Sonden millionenfache Kopien einer spezifischen DNA-Sequenz hergestellt werden. Im Idealfall ist damit der Nachweis eines einzigen fremden DNA-Moleküls möglich. Weit verbreitet ist die Anwendung dieser Technik z.B. zum Nachweis viraler Infektionen. So läßt sich eine HIV-Infektion bereits in einem Stadium nachweisen, in dem sich noch sehr wenige Viren im Körper befinden und immunologische Nachweisverfahren versagen. Auch in der Gerichtsmedizin wird diese Technik bereits erfolgreich angewendet (genetischer Fingerabdruck, Vaterschaftsgutachten). Ein wesentlicher Vorteil besteht in der Ermittlung genauer Ergebnisse selbst mit geringsten Mengen an Untersuchungsgut. Da aber nicht jede Fremd-DNA unbedingt ins Blut gelangt, könnte allerdings auf eine Muskelbiopsie zum heutigen Zeitpunkt nicht verzichtet werden.

Angesichts des derzeitigen Standes der klinischen Forschung auf dem Gebiet der Genterapie muß die Gefahr des Mißbrauchs der Genterapie zur Leistungsmanipulation im Sport zum heutigen Zeitpunkt als nicht akut eingeschätzt werden. Dennoch erscheint es notwendig, die Entwicklung der Forschung auf diesem Gebiet sorgfältig zu beobachten. Eine

potentielle Möglichkeit des Mißbrauchs erscheint - wie aufgezeigt wurde - gegeben: Mit genterapeutischen Verfahren hergestellte Substanzen zur Leistungssteigerung im Hochleistungssport finden bereits Anwendung. Die derzeitige Renaissance der Endokrinologie wird noch weitere neue (Wachstums-)Faktoren mit hormoneller Wirkung identifizieren, die auch zur artifiziellen Steigerung sportlicher Leistung einsetzbar sind. Aus diesem Grunde sollten schon frühzeitig mögliche Ansatzpunkte eines Gendopings bedacht werden, um rechtzeitig geeignete Nachweisverfahren zu etablieren.

VITA



**Thorsten Schulz**, geb. 1968 in Büdingen, seit 1997 Diplom-Sportlehrer, Staatsexamen Biologie Sek. II, wiss. Hilfskraft am Institut für Experimentelle Morphologie der Deutschen Sporthochschule Köln, promoviert seit Oktober 1997 am gleichen Institut mit den Schwerpunktthemen: Immunologie, Krebs und Sport.