

Beiter T¹, Velders M²

Pimp My Genes – Gendoping zwischen Fakten und Fiktionen

Pimp my Genes – Gene Doping between Facts and Fiction

¹Abteilung Sportmedizin, Medizinische Universitätsklinik Tübingen

²Sektion Sport- und Rehabilitationsmedizin, Universitätsklinikum Ulm

ZUSAMMENFASSUNG

Mit der fortschreitenden Entwicklung der Gentherapie werden zunehmend Befürchtungen laut, dass gen- und zelltherapeutische Verfahren zu Dopingzwecken missbraucht werden könnten. So geistert bereits seit einigen Jahren der Begriff Gendoping durch die Medienlandschaft und man wird mit effektiv ausgeschmückten Bildern genveränderter Supermäuse und hochgezüchteter Muskelrinder konfrontiert sowie mit der Horrorgeschichte des gentechnisch getunten Designathleten. Im Begriffswirrwarr zwischen experimenteller Molekularbiologie, Stammzellforschung, molekularer Pharmakologie und Gentherapie entzieht sich das Thema Gendoping sehr rasch einer klaren Bewertungsgrundlage und bietet so ausreichend journalistischen Freiraum für Spekulationen und Fiktionen. Tatsächlich handelt es sich bei der Gentherapie nach wie vor um eine experimentelle Therapieform, deren Einsatzbereich in naher Zukunft auf einige wenige schwerwiegende Krankheitsbilder beschränkt bleiben wird. Auch wenn das theoretische Missbrauchspotential gentherapeutischer Strategien zur sportlichen Leistungssteigerung nahezu grenzenlos scheint, wäre zum jetzigen Zeitpunkt für die meisten Verfahren eine Anwendung außerhalb des streng kontrollierten Rahmens einer klinischen Studie mit einem nichtkalkulierbaren Risikopotential verbunden. Aufbauend auf dem aktuellen Stand der Gentherapie werden in diesem Artikel die Möglichkeiten und Grenzen gentherapeutischer Therapieansätze näher beleuchtet um dem Leser eine fundierte Diskussionsgrundlage zu den Risiken und Folgen einer missbräuchlichen Verwendung dieser Verfahren an die Hand zu geben.

Schlüsselwörter: Doping, Gendoping, Gentherapie, virale Gefahren, Immunabwehr.

EINLEITUNG

„*Nichts ist schießer als Zweiter!*“ (Erik Meijer, ehemaliger Bundesligaprofi) Im professionalisierten Spitzensport entscheiden oft minimale Leistungsunterschiede über Sieg und Niederlage, und damit über Anerkennung oder Geringschätzung, über Fördermittel und Sponsorengelder. Wie groß die Zahl der Athleten ist, die, allen Anti-Doping-Bemühungen zum Trotz, die klar definierte Grenze zwischen legalen Mitteln zur Leistungssteigerung und illegalen Dopingmethoden überschreiten, kann derzeit niemand mit Sicherheit sagen. Unstrittig scheint, dass im Dunstfeld skrupelloser Athleten und deren Entourage eine hohe Bereitschaft besteht, hochriskante und medizinisch kaum geprüfte Verfahren auszuprobieren und anzuwenden (40). 'Gendoping' heißt ein neues Schreckgespenst, das in den Medien bereits intensiv diskutiert wird. Viele Experten prognostizieren, dass gentherapeutische Methoden Einzug in den Spitzensport halten werden (7, 10, 36, 104). Zwar bietet die Horrorgeschichte vom geklonten Superathleten höchstens Stoff für Science-Fiction Romane, die Fortschritte auf dem Gebiet der somatischen Gentherapie lassen jedoch befürchten, dass entsprechende Strategien zur

SUMMARY

As the field of gene therapy is rapidly progressing towards the goal of treating various genetic and acquired disorders, potential misuse of gene therapy methods for doping purposes in sports is being discussed. The term 'gene doping' has been circulating in the media for several years now, presenting us the same pictures of genetically modified mice, that are twice the size of normal mice and heavily-muscled cattle resembling 'bovine body builders', over and over again. The topic gene doping is deprived of a solid scientific evaluation basis due to the jumble of terminology between molecular biology, stem cell research, molecular pharmacology and gene therapy and is therefore ideal for journalists to come up with colorful speculations and fictional horror scenarios. Current gene therapy is still an experimental discipline and its applications in the near future will remain restricted to a particular segment to a few severe diseases. Undoubtedly, the hypothetical potential of gene therapeutic methods for misuse in improving athletics performance seems almost unlimited. However, at the current stage, any application outside a controlled clinical trial setting would carry considerable and unpredictable health risks. With this review, we aim to provide the interested reader with a synopsis of the current state of gene therapy and discuss the realistic possibilities, risks and consequences of the improper use of gene therapy research methods for performance enhancement in sports.

Key Words: Doping, gene doping, gene therapy, viral vector, immune response.

Leistungssteigerung im Sport missbraucht werden könnten. So hat die Welt-Anti-Doping-Agentur (WADA) bereits im Jahre 2003 den Begriff Gendoping in die Liste der verbotenen Substanzen und Methoden aufgenommen und unterstützt seither mehrere unabhängige Projekte zur Etablierung entsprechender Nachweismethoden. Neben dem expliziten Missbrauch gen- und zelltherapeutischer Verfahren, bei denen genetisches Material in Form von DNA oder RNA einer Zelle, einem Organ oder Organismus zugeführt wird, umfasst die WADA-Definition für Gendoping generell sämtliche denkbare Strategien, die auf eine „Änderung der Genexpression“ abzielen (Abb. 1) (101). Zum besseren Verständnis wird der Begriff Gendoping im vorliegenden Artikel jedoch primär nur in Verbindung mit möglichen gentherapeutischen Interventionsstrategien diskutiert.

accepted: March 2012

published online: April 2012

DOI: 10.5960/dzsm.2012.019

Beiter T, Velders M: Pimp My Genes. Gendoping zwischen Fakten und Fiktionen. Dtsch Z Sportmed 63 (2012) 121 - 131.

Bei einer missbräuchlichen Verwendung der Gentherapie würde nicht die dopingrelevante Substanz selbst, sondern die genetische Information zur Produktion oder Regulation leistungsrelevanter Proteine in den Körper des Athleten eingeschleust. Der „gengedopte Sportler“ würde seine Dopingmittel selbst produzieren, die dann in den meisten Fällen nicht von den entsprechenden endogenen Proteinen zu unterscheiden wären. Folglich halten viele Fachleute den Nachweis einer solchen Manipulation, wenn überhaupt, nur auf indirektem Wege über die Aufdeckung „unnatürlicher“ Expressionsprofile auf Transkriptom-, Proteom- und/oder Metabolom-Ebene für möglich (36). Problematisch bei solchen indirekten Nachweisverfahren ist jedoch, dass hier paradoxerweise bei „Ausnahme-Talenten“ ein „Abweichen von der Norm“ als Anscheinsbeweis für einen schuldhaften Dopingverstoß gewertet wird. Noch ist das Wissen um die komplexen genetischen und epigenetischen Regulationsmechanismen, die für die Ausprägung bestimmter Expressionsprofile verantwortlich sind, ausgesprochen lückenhaft. Ebenso wenig gibt es derzeit eine klare Vorstellung davon, warum bestimmte Menschen zu außergewöhnlichen sportlichen Leistungen in der Lage sind. Wie also soll der Sportler im Zuge der im Sportrecht praktizierten Beweislastumkehr den Nachweis für ein „natürlich abweichendes“ Expressionsprofil erbringen?

Im September 2010 wurde ein von Tübinger Sportmedizinern und Onkologen entwickeltes direktes Gendoping-Nachweisverfahren der Öffentlichkeit vorgestellt, das auf dem Nachweis Intronfreier DNA-Sequenzen beruht, deren Vorhandensein einen eindeutigen Rückschluss auf einen somatischen Gentransfer zulässt (14). Allerdings umfasst das methodische Spektrum der Gentherapie eine Vielzahl unterschiedlicher experimenteller Therapieformen, deren tatsächliches Missbrauchspotential im Einzelnen derzeit nur bedingt abschätzbar ist, die sich jedoch größtenteils einer verlässlichen Nachweismethodik entziehen würden.

METHODEN DER GENTHERAPIE

„Ärzte schütten Medikamente, von denen sie wenig wissen, zur Heilung von Krankheiten, von denen sie noch weniger wissen, in Menschen, von denen sie überhaupt nichts wissen.“ (Voltaire, französischer Philosoph) Hinter dem Begriff Gentherapie verbergen sich eine Vielzahl unterschiedlicher therapeutischer und präventiver Strategien, die letztlich darauf abzielen, die Genexpression in Körperzellen oder Geweben über die Vermittlung genetischer Informationseinheiten zu beeinflussen (53). Mit den derzeit zur Verfügung stehenden Techniken ist es allerdings noch nicht möglich, bei genetisch bedingten Erkrankungen defekte genomische Sequenzen in vivo selektiv gegen intakte Gensegmente auszutauschen. Vielmehr erfolgt bei der Gentherapie in der Regel eine Genaddition, d.h. ein zusätzliches Gen (Transgen) wird als eigenständige Transkriptionseinheit (Expressionskassette) entweder extrachromosomal (episomal) im

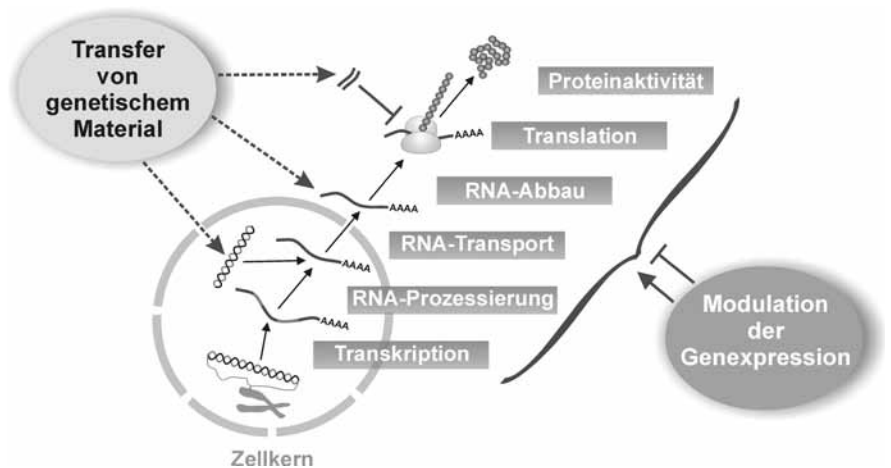


Abbildung 1: Die Gendoping-Definition der WADA umfasst neben gen- und zelltherapeutischer Verfahren auch sämtliche Strategien, die direkt oder indirekt in die unterschiedlichen Ebenen der Genexpression eingreifen. [Abbildung verändert nach (40)]

Zellkern eingelagert oder aber an einer mehr oder weniger zufälligen Stelle stabil in das Genom integriert (Abb. 3A,F). Der Vorgang des Einbringens eines therapeutischen Gens in die Zelle wird als Gentransfer bezeichnet und erfolgt mit Hilfe einer „Genfähre“, des so genannten Vektors, der eine effektive Aufnahme des genetischen Materials in die Zelle gewährleisten soll. Dabei kommen ausschließlich somatische Körperzellen für einen Gentransfer in Betracht (somatische Gentherapie). Eine Manipulation des genetischen Programms der Keimbahn, die an nachfolgende Generationen weitervererbt würde, ist ethisch nicht vertretbar und in den meisten Ländern der Welt ausdrücklich verboten (32).

Grundsätzlich lassen sich bei der Gentherapie zwei methodische Herangehensweisen unterscheiden (Abb. 2) (80). Für spezielle Anwendungen wird der Gentransfer in einem aufwändigen Verfahren außerhalb des Körpers (ex vivo) an entnommenen Zellpopulationen (i.d.R. somatische Stammzellen) durchgeführt. Diese werden in der Zellkulturschale genetisch manipuliert, selektioniert, aufgereinigt und anschließend dem Patienten wieder reimplantiert. Einfacher ist es natürlich, den Gentransfer-Vektor gleich direkt in den Körper des Patienten (in vivo) zu injizieren. Dieser Strategie erlaubt zwar ein wesentlich breiteres Einsatzspektrum und ist deutlich kostengünstiger, stellt aber sehr hohe Anforderungen an die Sicherheit und Spezifität des Vektorsystems.

Das Konzept der somatischen Gentherapie erscheint so einfach wie überzeugend, und bereits Ende der 1980er Jahre wurde mit den ersten klinischen Studien am Menschen begonnen (2). Die anfängliche Euphorie in Bezug auf die klinische Umsetzung gentherapeutischer Verfahren ist jedoch zwischenzeitlich einer nüchternen Betrachtungsweise gewichen. Zwar wurden in den vergangenen Jahren sowohl auf methodischer als auch auf grundlagentheoretischer Ebene deutliche Fortschritte erzielt, die Übertragung der Konzepte in die therapeutische Realität ist jedoch, wie bei allen experimentellen Therapieansätzen, nach wie vor problematisch. So erweist sich vieles, was im Tiermodell noch so verheißungsvoll aussieht, am Menschen leider nur allzu oft als nahezu wirkungslos. Welches enorme Potential in der somatischen Gentherapie schlummert, zeigen jedoch erste klinische Studien, bei denen ein-

deutige Therapieerfolge dokumentiert werden konnten. Hierzu zählen vor allem erfolgreiche kausale Therapien bei monogenetischen Erbkrankheiten wie den schweren angeborenen Immundefekten X-SCID, ADA-SCID und chronische Granulomatose (1,26,81), sowie der Bluterkrankheit (67), der β -Thalassämie (27) und der Leberschen kongenitalen Amaurose, einer erblichen Netzhauterkrankung (8,66). Hinweise auf eine klinische Wirksamkeit der Gentherapie ergaben sich auch bei einer jüngst ausgewerteten Parkinson-Patienten (61). Besonders große Hoffnungen werden in Therapieansätze zur Behandlung von Tumorerkrankungen gesetzt. Genterapeutische Interventionsmöglichkeiten umfassen hier beispielsweise den Einsatz tumorzerstörerischer Viren (Virotherapie), den Transfer von Selbstmordgenen (Suizidgentherapie), von Tumorsuppressorgenen oder von Faktoren, die den Tumor von der Nährstoffversorgung abkoppeln (antiangiogenetische Gentherapie). Andere Strategien zielen darauf ab, das Immunsystem für einen Angriff auf den Tumor zu programmieren bzw. das Tumorgewebe als immunologisch fremd zu markieren (Immuntherapie) (53).

In Folge der fortschreitenden Entwicklung besserer und sicherer Vektorsysteme stellt die somatische Gentherapie mittelfristig für viele Krankheiten, für die es derzeit keine befriedigenden Therapieoptionen gibt, eine überzeugende Alternative dar. Noch ist die öffentliche Wahrnehmung der Gentherapie stark von teilweise irrationalen Ängsten geprägt, wobei oft vergessen wird, dass genterapeutische Behandlungsstrategien für besonders schwere Grunderkrankungen mit einem deutlich geringeren Risiko verbunden sind als viele herkömmliche Therapieverfahren. Dies gilt aber nur, und dies sei an dieser Stelle ausdrücklich betont, wenn die verwendeten Protokolle in umfassenden präklinischen und klinischen Studien sorgfältig evaluiert und die Vektorproduktion unter Einhaltung höchster Qualitätsstandards durchgeführt wird. Vor einer missbräuchlichen Anwendung rein experimenteller genterapeutischer Verfahren mit der trügerischen Hoffnung auf einen leistungssteigernden Benefit muss dagegen eindringlich gewarnt werden.

EINSATZ VIRALER GENFÄHREN, EINE NUTZEN-RISIKO-ABWÄGUNG

„*Fas est et ab hoste doceri.*“ (Ovid, römischer Dichter)

Ein effizienter und gezielter Transfer des genetischen Materials ist die Grundvoraussetzung für eine Erfolg versprechende genterapeutische Behandlung. Entscheidend dafür ist die Wahl eines geeigneten Vektorsystems, das die Expressionskassette zur Zielzelle befördert, durch die Zellmembran schleust, zum und in den Kern transportiert und schließlich unter Verwendung der endogenen Transkriptionsmaschinerie das Transgen zur Expression bringt (80) (Abb. 3). Dabei kann theoretisch zwischen verschiedenen physikalischen, chemischen und biologischen Verfahren ausgewählt wer-

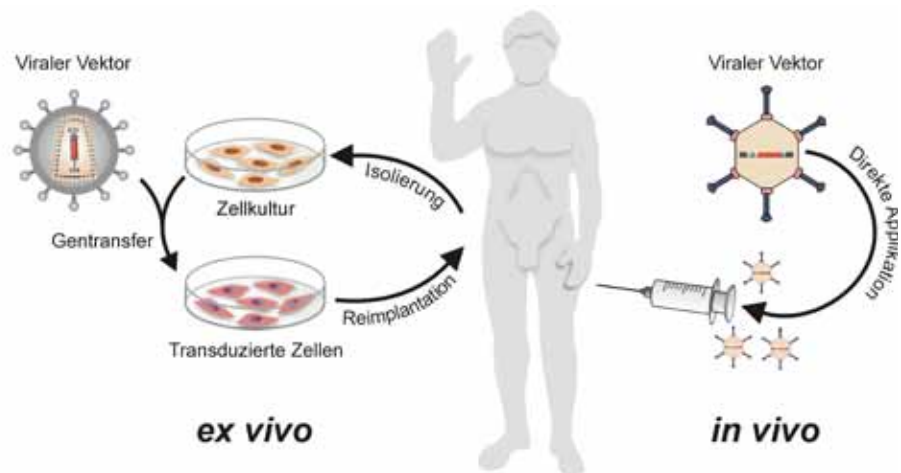


Abbildung 2: Bei der ex-vivo-Strategie werden dem Patienten Zellen entnommen, im Labor kultiviert, mit einem geeigneten Vektor genetisch modifiziert und anschließend wieder in den Körper des Patienten zurücktransferiert. Bei der in-vivo-Strategie findet der Gentransfer im Körper des Patienten statt. Der Vektor wird entweder systemisch oder lokal in die zu therapierenden Gewebe oder Organe injiziert.

den. Aus der langen Liste möglicher physiochemischer Strategien (Elektroporation, Partikelbombardierung, Sonoporation, hydrodynamische Transfektion, u.a.) zum Transfer nicht-viraler Vektoren („nackte“ Plasmid-DNA oder DNA komplexiert mit kationischen Lipiden und Polymeren) hat sich bislang noch kein Verfahren in der klinischen Anwendung gegenüber den weitaus effizienteren viralen Systemen durchsetzen können. Erfolg versprechende Anwendungsmöglichkeiten nicht-viraler Verfahren bieten sich derzeit vor allem auf dem Gebiet der DNA-Vakzinierung. Anstatt dem Körper Impfstoffe in Form abgeschwächter oder abgetöteter Krankheitserreger oder deren Bestandteile zuzuführen, wird hier der Impfstoff vom Körper selbst auf der Grundlage der eingeschleusten Antigenkodierenden genetischen Information gebildet (63).

Wie jeder schon leidvoll am eigenen Leibe erfahren musste, haben Viren im Laufe der Evolution eine Vielzahl effizienter Mechanismen entwickelt, ihr Erbgut über alle extra- und intrazellulären Barrieren hinweg in Wirtszellen einzuschleusen. Es liegt auf der Hand, sich diese Eigenschaften für die Gentherapie zunutze zu machen. Entsprechend dem natürlichen Vermehrungszyklus von Viren erfolgt der Zusammenbau viraler Vektorpartikel in lebenden Zellen (sogenannte Verpackungszelllinien) (18). Nach einer Art Baukastenprinzip werden virale kodierende Sequenzen, deren Produkte für den Aufbau der Virus-Proteinhülle (Capsid) und für die Produktion von neuen Viruspartikeln benötigt werden, aus dem Vektorgenom entfernt, in einzelne Funktionseinheiten zerlegt und entweder fest ins Genom der Verpackungszelllinie integriert oder über Verpackungsplasmide eingeschleust. So entsteht einerseits ausreichend Platz, um das für die Versendung bestimmte genetische Frachtgut, die transgene Expressionskassette, im Virusgenom unterzubringen, gleichzeitig wird gewährleistet, dass die viralen Vektoren nicht mehr vermehrungsfähig, also replikationsdefizient, sind (Abb. 3A).

In klinischen Gentherapie-Studien wurden in den letzten 20 Jahren hauptsächlich virale Vektoren eingesetzt, die sich von Adenoviren, Adeno-assoziierten Viren (AAV), Retro-/Lentiviren und Pockenviren ableiten (96). Trotz aller Fortschritte befindet sich die Gentherapie immer noch im Forschungs- und Entwicklungssta-

dium. Gerade bei der Verwendung viraler Vektoren bedarf es daher umfangreicher präklinischer Voruntersuchungen, um dann in klinischen Phase I/II Studien die Verträglichkeit und Dosisfindung zu evaluieren. Neben möglichen Nebenwirkungen für den Patienten muss die theoretische Gefahr für die Umwelt durch die Entstehung replikationskompetenter Viren über Rekombinationsereignisse mit Wildtypviren berücksichtigt werden. Natürlich ist jedes wirksame Therapieverfahren mit Nebenwirkungen verbunden, und wie bei jedem medizinischen Eingriff muss auch bei der Gentherapie eine sorgfältige Abwägung zwischen Nutzen und Risikopotential für den Patienten erfolgen.

Werden virale Vektoren in vivo appliziert, stellt die körpereigene Immunantwort eine erste große Barriere dar, die für eine erfolgreiche Gentherapie überwunden werden muss (Abb. 3B) (53). Abhängig von Vektorsystem, Serotyp, Applikationsart, Vektordosis und individuellem Immunstatus kann diese sehr unterschiedlich ausfallen und ist im Einzelfall nur bedingt voraussagbar (15,73,79,88,108). Im Extremfall kann die unmittelbare Aktivierung der Komponenten der angeborenen Immunabwehr gar zu einer fatalen Kettenreaktion führen. So verstarb bei einer im Jahre 1999 durchgeführten Phase-I/II Studie ein 18-jähriger Proband innerhalb weniger Tage an den Folgen einer systemischen Entzündungsreaktion nachdem ihm ein adenoviraler Vektor über die Leberarterie injiziert worden war (4,19,84).

Da sich die gängigen viralen Vektoren für den in vivo Einsatz (Adenoviren, AAVs) von ubiquitär verbreiteten Wildtypviren ableiten, besteht bei vielen Menschen bereits eine erworbene humorale Immunität, die gezielt gegen virale Hüllproteine und damit natürlich auch gegen die abgeleiteten viralen Vektoren gerichtet ist (9,22,79). Die Produktion neutralisierender Antikörper (AK) stellt auch dann ein großes Problem dar, wenn ein therapeutischer Effekt nur über eine mehrmalige Applikation des Vektors erzielt werden kann. Beim Erstkontakt mit dem viralen Vektor ist dagegen das Ansprechen der „schnellen Eingreiftruppe“ des angeborenen Immunsystems von entscheidender Bedeutung. Makrophagen (MΦ) und dendritische Zellen (DC) registrieren allgemeine virale Erkennungsmerkmale über sogenannte mustererkennende Rezeptoren, deren Aktivierung typischerweise zu einer Interferon vermittelten antiviralen Immunantwort führt (29,46,106). Verstärkend wirkt sich vor allem eine Aktivierung des Komplementsystems aus, das unter anderem dafür sorgt, dass die viralen Partikel besonders attraktiv für phagozytierende Fresszellen werden (3,79,107). Professionell antigenpräsentierende Zellen, wie die dendritischen Zellen,

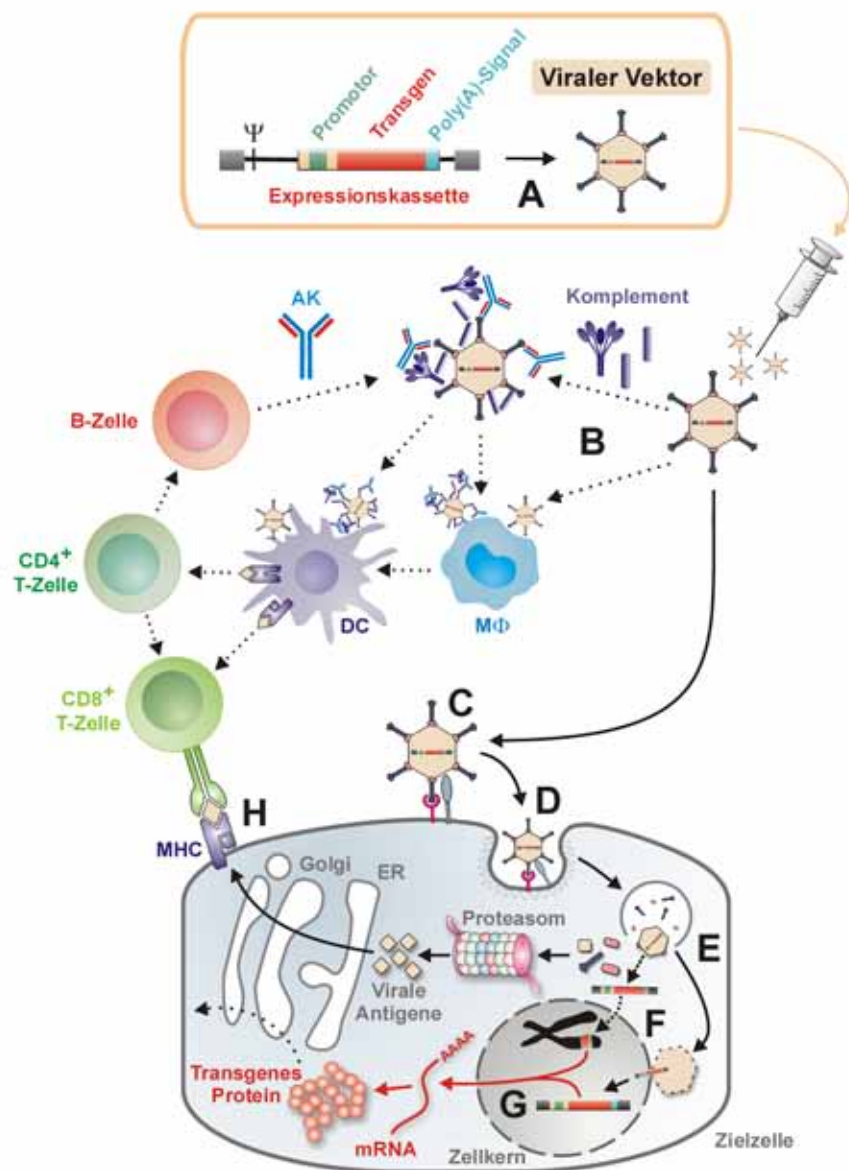


Abbildung 3: A) Verpackung der Expressionskassette in eine virale Hülle (Ψ, Verpackungssignal). B) Angeborene, humorale und zelluläre Immunabwehr (AK, Antikörper; MΦ, Makrophage; DC, Dendritische Zelle). C) Anheftung an die Zielzelle. D) Aufnahme in die Zielzelle. E) Freisetzung ins Zytoplasma. F) Transport und Eintritt in den Zellkern. Episomale Persistenz oder chromosomale Insertion des Transgen. G) Expression des Transgens. H) Eliminierung transduzierter Zellen durch das Immunsystem (MHC, major histocompatibility complex; ER, endoplasmatische Reticulum). Eine ausführliche Beschreibung dieser Abbildung findet sich im Text. [Abbildung verändert nach (53,80,79,73)]

zerlegen aufgenommene Viruspartikel in „mundgerechte Portionen“ und präsentieren sie „auf dem Silbertablett“ des Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex) an die „Spezialeinheiten“ des adaptiven Immunsystems, die für eine effiziente und nachhaltige Bekämpfung viraler Partikel und/oder infizierter/transduzierter Zellen sorgen. Führt der virale Gentransfer dazu, dass dendritische Zellen das Transgen aktiv exprimieren, kann prinzipiell eine Immunreaktion gegen das transgene Protein oder gegen Zellen, die das Transgen exprimieren, ausgelöst werden (79,108). Bei speziellen gentherapeutischen Anwendungen wie

der DNA-Vakzinierung kann dies natürlich sogar ausdrücklich erwünscht sein.

Die Anheftung des viralen Vektors an die Zielzelle erfolgt Virus- und Serotyp-abhängig über die Interaktion viraler Oberflächenliganden mit bestimmten Zelloberflächenrezeptoren (Abb. 3C) (5,52). Durch die Verwendung Plasmid-basierter „Baukasten-Systeme“ bei der Vektor-Produktion bietet sich eine Vielzahl an Möglichkeiten, virale Hüllproteine gezielt auszutauschen, zu kombinieren oder zu modifizieren (Pseudotyping, Mosaik-Vektoren, chimäre Vektoren, Retargeting) (5,9,30). Auf diese Weise kann die Verpackung des transgenen Frachtguts mit neuen „Adressetiketten und Gefährthinweisen“ versehen werden, um so Zielzellen spezifischer anzusteuern oder die humorale Immunantwort zu umgehen. Während die von einer zusätzlichen Lipidmembran ummantelten Retroviren meist über eine direkte Fusion mit der Plasmamembran in die Zielzelle eindringen, erfolgt bei Adenoviren und AAVs die Aufnahme über die endozytotische Einstülpung eines Membranvesikels (Abb. 3D) (52). Wie und wann sie diese Endosomen wieder verlassen ist nur ansatzweise aufgeklärt und scheint gerade bei den AAVs in Abhängigkeit von Virusdosis, Serotyp und Zelltyp sogar recht unterschiedlich abzulaufen (Abb. 3E) (20). Für die Weiterreise zum Zellkern nutzen Viren das Mikrofibrillen- und Mikrotubuli-System der Wirtszelle aus (33,76). Allerdings sind nicht alle Viren und deren abgeleitete Vektoren in der Lage, die Kernmembran zu überwinden und ihre „Fracht“ in den intakten Zellkern einzuschleusen (Abb. 3F). So ist die Integration von Gammaretroviren ins Wirtsgenom nur nach Auflösung der nukleären Membran während der mitotischen Zellteilung möglich, wodurch sich der Einsatz retroviraler Vektoren (mit Ausnahme der Lentiviren) auf teilungsaktive Zellen beschränkt (18).

Retrovirale Vektoren, die eine feste Integration der Expressionskassette ins Wirtsgenom vermitteln, versprechen eine dauerhafte Transgen-Expression und damit eine nachhaltige, über Jahre anhaltende therapeutische Wirkung (95). Allerdings findet dieser Einbau an mehr oder weniger zufälligen Positionen im Genom statt, wobei regulatorische Regionen und transkribierte Bereiche von aktiv exprimierten zellulären Genen bevorzugt werden (21). Prinzipiell besteht deshalb ein gewisses Risiko, dass die Integration und Expression des Transgens zu einer Fehlregulation oder Transaktivierung zellulärer Gene führen kann, ein Phänomen, das man als Insertionsmutagenese bezeichnet. Bei zwei in London und Paris durchgeführten gentherapeutischen Studien zur Korrektur der X-SCID, einer ohne passenden Knochenmarkspender tödlich verlaufenden angeborenen Immunschwäche, konnten 80% der Kinder durch einen ex vivo an Blutstammzellen durchgeführten retroviralen Gentransfer erfolgreich behandelt werden (38,93). Leider entwickelten jedoch 5 der insgesamt 20 Kinder in der Folgezeit eine akute lymphatische T-Zell-Leukämie, die ursächlich auf eine Insertionsmutagenese des retroviralen Vektors zurückzuführen war (43,48).

Adenovirale und AAV Vektoren werden episomal im Kernplasma eingelagert (Abb. 3F), so dass die Gefahr einer Insertionsmutagenese zumindest weitgehend ausgeschlossen werden kann (24,77,90,100). Weitgehend deshalb, weil bei einem AAV-Gentransfer zu einem geringen Prozentsatz eine unspezifische Integration ins Wirtsgenom über den zellulären Mechanismus der so genannten nicht-homologen Endverknüpfung erfolgen kann, wobei auch hier genomische Bereiche mit hoher transkriptioneller Aktivität präferiert zu sein scheinen (34,42,49,78). Episomal verbleibende Vektoren gehen bei der Zellteilung verloren, so dass die transgene

Expression in Geweben mit hoher Teilungsrates zwangsläufig nur von kurzer Dauer ist. In postmitotischen Zellen oder Geweben mit geringer Teilungsaktivität (Leber, Gehirn, Herz, Skelettmuskel) versprechen diese Vektoren einen lang anhaltenden Effekt (30,31). Trotzdem kann die Expression des Transgens sehr schnell wieder zum Erliegen kommen. Mitverantwortlich kann ein aktives Eingreifen der transduzierten Zelle sein, die über epigenetische Modifikationen die „fremden“ Gene ausschaltet, ein Problem, das vor allem beim adenoviralen Gentransfer auftreten kann (35,86). Entscheidend für die Expression des Transgens ist natürlich auch, mit welcher Steuerungseinheit (Promotor) die Expressionskassette versehen wurde (Abb. 3A,G) (18). Im einfachsten Fall werden virale Promotoren verwendet, die konstitutiv, d.h. unabhängig von Gewebe und physiologischem Zustand der Zelle eine permanente Transkription vermitteln. Gewebsspezifische Promotoren werden dagegen nur in bestimmten Zellen aktiviert und ermöglichen so eine Zelltyp-spezifische Expression des Transgens (97). Induzierbare Promotoren wiederum werden nur unter bestimmten physiologischen Bedingungen oder nach Zugabe einer pharmakologischen Substanz aktiviert/deaktiviert und erlauben so eine physiologische oder externe Steuerung der Genexpression (42).

Die Expression des Transgens kann jedoch nicht nur durch epigenetisches Abschalten oder mitotischen Verlust des Vektors zum Erliegen kommen. Ein wesentlich radikalerer Mechanismus ist die T-Zell vermittelte Eliminierung der transduzierten Zellen (Abb. 3H) (79). Spezifische CD8-positive T-Lymphozyten, sog. zytotoxische T-Zellen, erkennen an MHC-I gekoppelte virale Antigene auf der Zelloberfläche und zerstören die entsprechenden Zellen. Mit der Etablierung von AAV-Vektoren für den in vivo Gentransfer schien jedoch die Lösung für dieses Problem gefunden zu sein. AAVs weisen eine Reihe von Eigenschaften auf, die sie geradezu für den Einsatz als virale Vektoren prädestinieren (20,41). Sie sind in der Lage, ihr Genom in eine Vielzahl unterschiedlicher Zelltypen mit hoher Effizienz einzuschleusen, weisen jedoch eine geringe Infektionseffizienz gegenüber professionellen antigenpräsentierenden Zellen auf. Da zudem das AAV-Vektorgenom völlig frei von viralen kodierenden Sequenzen ist, werden in den transduzierten Zielzellen keine viralen Proteine gebildet, die auf klassischem Wege durch die Antigenprozessierungs-Maschinerie über MHC-I präsentiert werden könnten (108). Tatsächlich lässt sich im Tiermodell sowohl bei Mäusen als auch bei Affen eine mitunter lebenslange Expression des Transgens nach AAV-vermitteltem Gentransfer in der Leber oder Muskulatur erzielen (108). Um so ernüchternder waren die Ergebnisse klinischer Studien, die zeigten, dass beim Menschen die transduzierten Zellen trotzdem über eine gegen virale Hüllproteine gerichtete T-Zell vermittelte Immunantwort eliminiert werden können (67,74,75). Die Ursachenforschung ist derzeit Gegenstand intensiver Untersuchungen. Nach gängiger Hypothese werden hier Proteine der aufgenommenen Vektorpartikel spezifisch markiert (ubiquitiniert) und an den zelleigenen „Mülleimer“, das Phagosom, vermittelt, das sie präsentierfähig portioniert und zur Beladung von MHC-I-Molekülen ins Endoplasmatisches Retikulum (ER) weiterleitet, von wo sie dann über den Golgi-Apparat an die Zelloberfläche transportiert werden (Abb. 3H) (53,73). In Abgrenzung zum klassischen MHC-I-Beladungsmechanismus, der sich auf intrazellulär synthetisierte Antigene beschränkt, wird dieser alternative Präsentationsweg exogener Antigene als Kreuzpräsentation (cross-presentation) bezeichnet (17). Da die meisten Menschen im Laufe ihres Lebens bereits mit einem oder mehreren Serotypen des

harmlosen Wildtyp-AAV in Berührung gekommen sind, auch wenn sie sich dessen nicht bewusst sind, verfügen sie dennoch über ein immunologisches Gedächtnis, so dass die Präsentation der AAV-Antigene unmittelbar zu einer T-Zell vermittelten Lyse der präsentierenden Zellen führen kann (73).

AUF DER SUCHE NACH DEN GOLDENEN GENEN

“We used to think that our fate was in our stars, but now we know that, in large measure, our fate is in our genes.”

(James Watson, US-amerikanischer Biochemiker und Nobelpreisträger)

Mit der erstmaligen Veröffentlichung eines nahezu vollständigen Entwurfs der Basensequenz des menschlichen Genoms zu Beginn dieses Jahrtausends wurde ein neues Zeitalter in der Genomforschung eingeläutet (56). Seitdem hat sich unser Verständnis des menschlichen Erbguts in vielerlei Hinsicht grundlegend geändert. In der „Prä-Genom-Ära“ war die Forschung fast ausschließlich auf die Protein-kodierende Information in unserem Genom fokussiert, von der wir heute wissen, dass sie nur ungefähr 1,5% unseres Erbguts ausmacht und sich gerade mal auf etwas mehr als 20.000 Gene verteilt (57). Wurden nicht-kodierende Sequenzbereiche noch in den 1990er Jahren größtenteils pauschal als evolutionärer Datenmüll oder „Junk“-DNA abgetan, müssen wir heute ein sehr viel komplexeres Bild unseres Genoms zeichnen. Tatsächlich werden große Teile dieser „nicht-kodierenden“ Bereiche in RNA umgeschrieben (non-coding RNAs, ncRNAs). Gerade unter diesen scheinbaren „Junk“-Sequenzen befinden sich offensichtlich wichtige Strippenzieher in den komplexen Regulationsnetzwerken, die der differentiellen Expression der Gene zugrunde liegen (13,25,69,72). Nicht zuletzt mit der Entwicklung der RNA-Interferenz (RNAi) Technologie wurden große Hoffnungen geweckt, synthetische ncRNAs für die klinische Anwendung nutzbar zu machen, um gezielt Gene in vivo auszuschalten bzw. deren Expression zu hemmen (94). Die RNAi Technologie basiert auf natürlichen posttranskriptionellen zellulären Regulationsmechanismen, bei denen über die Bildung doppelsträngiger RNA-Moleküle ein spezifischer Abbau oder eine Blockade der komplementären mRNA vermittelt wird. Ansätze zur therapeutischen Nutzung umfassen sowohl die direkte Applikation künstlich erzeugter siRNAs (small interfering RNAs) oder antisense Oligonukleotide in unterschiedlichen Formulierungen, als auch die Vektor-vermittelte Expression von short hairpin RNAs (shRNAs) oder microRNA (miRNA) Duplex-Molekülen. Spätestens mit der Veröffentlichung einer Pekinger Studie im Februar 2008, der zufolge bereits die orale Aufnahme synthetischer Myostatin antisense Oligonukleotide einen zumindest geringfügigen Zuwachs an Muskelmasse bei Mäusen bewirkte, werden entsprechende Verfahren intensiv in Zusammenhang mit Gendoping diskutiert (62). Eine Zunahme der Skelettmuskulatur konnte im Nagermodell durch die intramuskuläre Applikation von gegen Myostatin gerichteten siRNA-Komplexen und shRNA-kodierenden Plasmiden erzielt werden (54,65). Allerdings haben sich mittlerweile bereits drei führende Pharmaunternehmen trotz millionenschwerer Patente ungewöhnlich schnell wieder aus der RNAi-Sparte zurückgezogen, was als klares Indiz gewertet werden muss, dass derzeit der Übertragbarkeit der Labormodelle in die klinische Anwendung am Menschen wenig Chancen eingeräumt werden.

Seit seiner Entdeckung Mitte der 1990er Jahre (70) gilt der negative Muskelregulator Myostatin als wichtigste Kontrollinstanz

zur Beschränkung der adulten Muskelmasse und hat sich damit unangefochten zum körpereigenen „Staatsfeind Nr.1“ in Bodybuilding-Kreisen aufgeschwungen. Eine jüngst durchgeführte Phase I/II Studie mit einem Myostatin-neutralisierenden Antikörper namens MYO-029 blieb zwar den Nachweis einer Wirksamkeit schuldig (102), dennoch bleiben Strategien zur Myostatin-Blockade äußerst viel versprechende Optionen zur therapeutischen Erhaltung und Steigerung der Muskelmasse. Um keine Missverständnisse aufkommen zu lassen: Wissenschaftlern, die sich mit Strategien/Interventionen zum Muskelaufbau beschäftigen, geht es neben der notwendigen Grundlagenforschung primär darum, neue Behandlungsformen zu entwickeln, die auf die Therapie schwerwiegender degenerativer und entzündlicher Myopathien abzielen oder etwa dem alters- und krankheitsbedingten Abbau von Muskelmasse entgegen wirken (99). Im Zeitalter der modernen Kommunikationsmedien ist es allerdings unvermeidlich, dass neue Therapieansätze immer schneller in den Fokus einschlägiger Kreise im Profi- und Freizeitsport geraten. Ein Blick auf die einschlägigen Seiten im Netz der unbegrenzten Möglichkeiten zeigt, dass findige Bauernfänger bereits ihren Markt mit entsprechenden dubiosen Präparaten gefunden haben.

Auch wenn derzeit eine effektive Myostatin-Hemmung beim Menschen weder über eine RNAi-induzierte posttranskriptionale Unterdrückung des Myostatin-Gens noch über eine posttranslationale Inaktivierung mittels neutralisierender Antikörper möglich ist, taucht Myostatin doch immer wieder als zentraler Begriff in Verbindung mit Gendoping auf. Genomische Defekte im Myostatin-Gen bei hochgezüchteten Rinderrassen wie dem Weißblauen Belgier oder dem Piemonteser Rind manifestieren sich in grotesken Muskelbergen (71). Homozygote knock-out Mäuse mit deletierter Myostatin-Sequenz, „Schwarzenegger-Mäuse“ genannt, entwickeln 2- bis 3-mal soviel Muskelmasse wie ihre Artgenossen. Bei heterozygoten Tieren sind es immerhin noch 25% (70). Im Jahr 2000 kam in der Berliner Charité ein Junge mit ungewöhnlich stark ausgeprägter Arm- und Beinmuskulatur zur Welt (91). Verantwortlich ist eine homozygote Null-Mutation im Myostatin-Gen.

Eine spezifische Veränderung, Mutation oder gar ein gezielter Austausch genomischer Sequenzen im Rahmen der somatischen Gentherapie wird mittelfristig ausschließlich auf spezielle ex vivo Anwendungen unter Verwendung somatischer Stammzellpopulationen beschränkt bleiben. Eine „flächendeckende Stilllegung“ des Myostatin-Gens im ausgewachsenen Organismus ist daher mit den derzeitigen Methoden der somatischen Gentherapie nur über den Transfer antagonistisch wirkender Gene, deren sezernierte Produkte hemmend in die Myostatin-Regelkreise eingreifen, möglich. Mit dem Glykoprotein Follistatin wurde bereits ein systemisch wirkender, natürlicher Gegenspieler des Myostatins gefunden, dessen genterapeutisches Potential selbst die kühnsten Erwartungen zu übertreffen scheint (85). Bereits ein einmaliger AAV-vermittelter Transfer der längeren Splice-Variante des Follistatin-Gens (FS344) in die Skelettmuskulatur reicht aus, um Mäuse mit beachtlichen Muskelmassen auszustatten (44). Diese Tiere beeindrucken neben dem Erscheinungsbild mit deutlich erhöhten Körperkräften. Die genauen Wirkmechanismen von Follistatin sind noch nicht eindeutig geklärt, scheinen aber über eine reine Hemmung des Myostatin-Signalweges hinauszugehen (60,85). Im Gegensatz zu anderen Muskelwachstumsfaktoren, die ebenfalls viel versprechende Ergebnisse nach Gentransfer in Nagern lieferten – herausragend hier IGF-1 (insulin-like growth factor 1) mit seinen zahlreichen Iso-

formen (11, 12, 59) –, scheint sich beim Follistatin eine unmittelbare Übertragbarkeit auf den menschlichen Organismus abzuzeichnen. Am Zentrum für Gentherapie in Columbus (Ohio) konnte bereits gezeigt werden, dass Javaneraffen auf einen AAV-vermittelten, intramuskulären FS344-Genstransfer mit einem deutlichen Zuwachs an Muskelmasse und -kraft ansprechen (55). Die transgene Follistatin-Expression blieb über mehrere Monate erhalten, ohne dass pathologische Veränderungen in anderen Organsystemen wie Herz, Leber, Niere oder der Keimbahn beobachtet wurden. Ermutigt von diesen Ergebnissen wird aktuell unter Leitung von Jerry R. Mendell eine gentherapeutische Phase-I-Studie zur Behandlung der Becker'schen Muskeldystrophie initiiert (Trial ID: US-1074). Die Ergebnisse dieser und weiterer klinischer Gentherapie-Studien dürften einen ersten klaren Fingerzeig geben, welche realen Chancen auf Leistungssteigerung einem Missbrauchsversuch eingeräumt werden können und zu der akuten Bedrohung durch das Gendoping.

In der Fachliteratur wird man bereits mit einer langen Liste möglicher Kandidaten-Gene konfrontiert, die den Einstieg in eine neue Doping-Welt bescheren könnten (10, 39, 68). Einmal in den Körper eingeschleust, versprechen die Gene für Follistatin, IGF-1 und Wachstumshormon nie versiegende Muskelkraft und Regenerationsfähigkeit (12, 44, 87), PPAR δ , PGC-1 α , ERR γ und PEPCK eröffnen völlig neue Dimensionen im Ausdauerbereich (23, 45, 83, 103), und diverse Gefäßwachstumsfaktoren könnten dafür sorgen, dass stets ausreichend Nahrung und Sauerstoff für die hochgetunten Muskeln bereitgestellt wird (6, 50, 89, 98). Noch scheint dieses Szenario in weiter Ferne zu sein. Tatsächlich wurden viele dieser Effekte nicht durch einen somatischen Genstransfer erzielt sondern unter Verwendung keimbahnveränderter (transgener) Labortiere. Andere lassen sich bislang nicht auf den Menschen übertragen oder haben sich in klinischen Studien bereits als untauglich oder gar kontraproduktiv erwiesen (104, 105). Da sich mit den derzeitigen Techniken des Genstransfer beim Menschen nur quantitativ kleine Anteile der Muskulatur erfassen lassen, kann ein Missbrauch intrazellulär in der Muskulatur verbleibender regulatorischer Proteine oder Transkripte aktuell praktisch ausgeschlossen werden.

In einer Liste potentieller Doping-Gene darf ein Kandidat nicht fehlen, der mittlerweile als Synonym für eine ganze Doping-Ära steht: das blutbildende Hormon Erythropoietin, kurz EPO. Frei aus dem Griechischen übersetzt, bedeutet Erythropoietin „Rotmacher“, und nicht von ungefähr treibt die bloße Erwähnung von EPO so manchem Sportler entweder die Zornes- oder die Schamesröte ins Gesicht. Gentechnisch oder synthetisch hergestelltes EPO in unterschiedlichen Formulierungen wird therapeutisch vor allem zur Behandlung von Blutarmut bei Patienten mit chronischer Nierenschwäche, chronischen Entzündungserkrankungen, Tumoren und nach Chemotherapie eingesetzt. Körpereigenes EPO wird primär in der Niere gebildet und stimuliert nach Ausschüttung in die Blutbahn die Bildung roter Blutkörperchen im Knochenmark. Proteine, die systemisch in die Zirkulation abgegeben werden, eignen sich besonders gut als Zielgene für einen somatischen Genstransfer, da sie nicht zwingend am natürlichen Bildungsort exprimiert werden müssen und deshalb in leichter zugängliche Gewebe wie die Skelettmuskulatur eingeschleust werden können (64). Erste Versuche, das EPO-Gen im Tiermodell in vivo zu transferieren, wurden bereits Anfang der 1990er Jahre gestartet (92, 109). Im Jahre 2002 verkündete ein englisches Pharmaunternehmen die Entwicklung eines gentherapeutischen viralen Vektors namens Repoxygen, der

eine Hypoxie-abhängige und damit physiologisch kontrollierte Expression des EPO-Gens vermitteln sollte (16). Mangels wirtschaftlicher Perspektiven wurde die Weiterentwicklung von Repoxygen bereits in der vorklinischen Phase wieder eingestellt, gelangte aber zu zweifelhafter Popularität, als es namentlich im E-Mail-Verkehr eines dubiosen deutschen Leichtathletiktrainers auftauchte. Der Physiologe Lee Sweeney von der University of Pennsylvania sah sich mit Anfragen von Trainern und Athleten konfrontiert, nachdem die tierexperimentellen Ergebnisse seiner Arbeitsgruppe zum IGF-1 Genstransfer publiziert worden waren (12, 59).

Unbestritten spukt Gendoping längst als verheißungsvolle Option in den Köpfen so mancher Trainer und Athleten herum. Ist es tatsächlich schon bis in die Körper der Athleten vorgedrungen? Wie sähe ein realistisches Gendoping-Szenario aus? Da bislang kein einziges gentherapeutisches Behandlungskonzept, das für einen Dopingmissbrauch in Frage käme, eine umfangreiche klinische Prüfung erfolgreich durchlaufen hat, muss der Athlet hier zwangsläufig Versuchskaninchen spielen. Geht man davon aus, dass Gendoping nicht an professionellen Gentherapie-Zentren angeboten wird, sind ex vivo Verfahren vom Missbrauch praktisch ausgeschlossen. Bei den in vivo Anwendungen wäre eine direkte Applikation der Vektoren in die Muskulatur oder Zirkulation die wohl vielversprechendste Option. Die Herstellung einfacher Plasmid-Vektoren gehört zum Standardrepertoire eines jeden Forschungslabors und stellt keine hohen Anforderungen an technisches oder wissenschaftliches Know-how. Ob sich jedoch merkbar positive Effekte über die direkte Applikation solcher einfachen Vektoren erzielen lassen, ist fraglich. Leistungssteigerungen, wie sie mit „traditionellen“ Dopingmethoden erzielt werden, sind so sicherlich nicht möglich. Ausgefeiltere Plasmidsysteme (sog. Minicircles), die Verwendung von Lipo- und Polyplexen oder der Einsatz physikalischer Verfahren wie Elektroporation, Partikelbombardierung und Sonoporation sind zum jetzigen Stand für den „Dopingeinsatz“ kaum geeignet, zudem extrem aufwändig, teuer und alles andere als nebenwirkungsfrei. Die Herstellung und Aufreinigung viraler Vektoren in einem Maßstab, der quantitativ und vor allem qualitativ für die in vivo Anwendung am Menschen ausreicht, lässt sich nicht in einem einfachen „Hinterhoflabor“ realisieren. Seriöse kommerzielle Anbieter für Custom made virale Vektorsysteme bieten diese ausschließlich in Quantitäten und Qualitäten an, die für den rein experimentellen Gebrauch im Tier- oder Zellkulturmodell bestimmt sind. Über mögliche Zugangswege und Beschaffungsmöglichkeiten im In- und Ausland oder gar eine professionalisierte illegale Produktion von Gentherapeutika kann derzeit natürlich nur spekuliert werden. Zum jetzigen Zeitpunkt kann in keinem Falle von klinisch geprüften Arzneimitteln gesprochen werden, die der Athlet in standardisierter Dosierung über den Apotheker, Arzt, Trainer oder Schwarzmarkthändler seines Vertrauens beziehen kann. Auswahl, Aufbau, genetische Zusammensetzung, Dosierung und Applikation eines viralen Vektors würde rein auf der Grundlage teils widersprüchlicher experimenteller Daten erfolgen. Die kurz- und langfristigen gesundheitlichen Folgen sind nicht kalkulierbar. Berichte von „EPO-Zombies“, die während der großen Frankreich-Rundfahrt nachts durch spärlich beleuchtete Hotelflure hasten, um ihr zähflüssig gewordenes Blut in Gang zu halten, veranschaulichen eindrücklich, welche Risiken manche Sportler bereit sind, in Kauf zu nehmen. Allerdings lässt sich die Einnahme konventioneller Medikamente zumindest gezielt dosieren und kann jederzeit abgesetzt werden. Beim gendopten Athlet würde dagegen die Steuereinheit der Expressionskassette

über die Produktion der Dopingsubstanz entscheiden. Eine permanente Expression des Transgens über einen konstitutiven Promotor hätte zwangsläufig fatale Folgen. Als Preis für vermeintliche Leistungsgewinne durch eine anhaltende Überproduktion an Wachstumshormon, IGF-1 oder Angiogenesefaktoren müsste der Athlet die Bildung von Tumoren und schwere Muskelschädigungen in Kauf nehmen (51,82). Eine unkontrollierte Ausschüttung von EPO führt unweigerlich zu Thrombosen, Schlaganfall und Herzinfarkt. Entsteht das EPO einer unnatürlichen Produktionsstätte wie dem Skelettmuskel, kann sogar unter Umständen das gegenteilige Extrem eintreten. Rhesusaffen, denen die genetische Bauanleitung für EPO über einen AAV-Vektor in die Muskulatur oder Lunge verpflanzt wurde, entwickelten nach anfänglich dramatischen Hämatokrit-Anstiegen innerhalb weniger Wochen eine plötzliche schwere Anämie (37). Ursache war eine Autoimmunreaktion, die sich sowohl gegen das transgen gebildete als auch gegen das körpereigene EPO richtete. Bemerkenswerterweise trat dieses Phänomen bei Versuchstieren auf, bei denen die EPO-Produktion kontrollierter über einen induzierbaren Promotor gesteuert wurde (28). Große Hoffnungen werden in induzierbare Steuerungssysteme gesetzt, die im Idealfall ein beliebiges An- und Abschalten des Transgens erlauben sollen. Besonders vielversprechende Ergebnisse werden mit dem sogenannte Tet-On System erzielt, das sich aus zwei Komponenten zusammensetzt (42). Zusätzlich zur eigentlichen Expressionskassette wird hier eine zweite Informationseinheit eingeschleust, die für die Produktion eines aus bakteriellen und viralen Sequenzen zusammengesetzten Steuerungsmoleküls kodiert, dem sogenannte Transaktivator. Bindet dieser an ein oral oder intravenös verabreichtes Antibiotikum (Tetrazyklin, Doxycyclin) aktiviert er die Kontrollsequenz der transgenen Expressionskassette und das Transgen wird abgeschrieben. Setzt man das Antibiotikum wieder ab, wird die Expression des Transgens wieder abgeschaltet. Eine dänische Arbeitsgruppe konnte im Mausmodell zeigen, dass mit diesem System über die Dosierung der Antibiotika-Zufuhr tatsächlich eine gezielte Steuerung des Hämatokrits nach intramuskulärem EPO-Genstransfer möglich ist (47). Allerdings sind Mäuse besonders zähe, kleine Gesellen, und wie so oft treten beim Versuch, die Ergebnisse auf größere Labortiere zu übertragen, gravierende Probleme auf. Die permanente Bildung eines bakteriellen Proteins führt beim Affen fast zwangsläufig zu einer humoralen und zellulären Immunreaktion gegen den Transaktivator bzw. gegen die Zellen, die ihn produzieren (58). Vom vielversprechenden vorklinischen Mausmodell bis zum genetisch getunten Athleten mit „zuschaltbarer Lachgaseinspritzung“ ist es deshalb noch ein weiter Weg.

AUSBLICK

„Erst wirbeln wir den Staub auf und beklagen uns dann, dass wir nichts mehr sehen können.“ (George Berkeley, irischer Theologe)

Nach anfänglicher Euphorie und einer Reihe schwerer Rückschläge beginnt die somatische Gentherapie allmählich ihren Kinderschuhen zu entwachsen. Erste klinische Erfolge verdeutlichen, dass die Gentherapie bereits mittelfristig für besonders schwerwiegende Erkrankungen eine überzeugende Behandlungsmodalität darstellen wird. Spektakuläre Ergebnisse aus experimentellen Studien beleuchten aber auch die theoretischen Möglichkeiten, die sich aus einem nicht-therapeutischen Einsatz dieser Methoden ergeben könnten. Aktuell scheint ein effektiver Missbrauch der Gentherapie

noch unwahrscheinlich. Angesichts rasant fortschreitender experimenteller und technischer Entwicklungen bleibt scheinbar nur noch ein kleines Zeitfenster, bis die ersten Unerschrockenen den Griff zu den „goldenen Genen“ wagen werden. Deshalb ist es richtig und wichtig, bereits im Vorfeld geeignete Nachweisstrategien zu entwickeln, um den Einzug gentherapeutischer Verfahren in die Sportarenen dieser Welt wenn schon nicht zu verhindern, so doch zumindest hinauszuzögern.

Viel wichtiger scheint jedoch, das Thema Gendoping zum Anlass für eine notwendige Debatte über die grundsätzliche Ausrichtung, den gesellschaftlichen Stellenwert und die ethisch-moralischen Rahmenbedingungen im kommerzialisierten Sportbetrieb des 21. Jahrhunderts zu nehmen. Die „heile Welt“ der 1970er und 80er Jahre mit klaren Feindbildern, als Doping, ob nun staatlich verordnet, gefördert oder geduldet, ein isoliertes Phänomen des Spitzensports war, ist (noch aufzuarbeitende) Geschichte. Extremem Leistungsdruck, über den manche Profisportler gerne so selbstgefällig schwadronieren, ist, quer durch alle Alters- und soziale Schichten, fester Bestandteil der modernen Gesellschaft geworden. Wer dem Selektionsprozess einer zunehmend durch Leistungsterror, Konkurrenzkampf, Gruppenzwang und Oberflächlichkeit geprägten Arbeitswelt nicht gewachsen ist, findet sich schnell auf dem sozialen Abstellgleis wieder. Um mit Versagensängsten und Überforderung fertig zu werden, greifen immer mehr Arbeitnehmer zu pharmakologischen Leistungsboostern, Aufputschmitteln und Antidepressiva. Stress und Leistungsdruck des Berufsalltags finden nach Feierabend ihre Fortsetzung in Fitnessstudios und auf Joggingpfaden. Auf der Suche nach Anerkennung und Bestätigung stürzen sich immer mehr Menschen in einen von Werbe-, Kosmetik- und Freizeitindustrie diktierten Körper- und Jugendkult. Da Aufwand und Ertrag, gemessen an den Vorgaben des medialen Schönheitsideals, nicht in Einklang zu bringen sind, wird immer selbstverständlicher mit Pillen, Pülverchen, Spritzen und kosmetischen Operationen nachgeholfen. Bleibt die Frage, ob der Spitzensport mit seinen klaren Regeln, Symbolen und Ehrbegriffen tatsächlich einen glaubhaften und verantwortungsvollen Gegenentwurf zu einer zunehmend von Beliebigkeit, Opportunismus und Orientierungslosigkeit bedrohten Gesellschaft liefern kann oder sogar muss.

LITERATUR

1. AIUTI A, SLAVIN S, AKER M, FICARA F, DEOLA S, MORTELLARO A, MORECKI S, ANDOLFI G, TABUCCHI A, CARLUCCI F, MARINELLO E, CATTANEO F, VAI S, SERVIDA P, MINIERO R, RONCAROLO MG, BORDIGNON C: Correction of ADA-SCID by stem cell gene therapy combined with non-myeloablative conditioning. *Science* 296 (2002) 2410-2413. doi:10.1126/science.1070104.
2. ANDERSON WF, BLAESE RM, CULVER K: The ADA human gene therapy clinical protocol: Points to consider response with clinical protocol, July 6, 1990. *Hum Gene Ther* 1 (1990) 331-362. doi:10.1089/hum.1990.1.3-331.
3. APPLEDORN DM, MCBRIDE A, SEREGIN S, SCOTT JM, SCHULTZ N, KIANG A, GODBEHERE S, AMALFITANO A: Complex interactions with several arms of the complement system dictate innate and humoral immunity to adenoviral vectors. *Gene Ther* 15 (2008) 1606-1617. doi:10.1038/gt.2008.114.
4. APPLEDORN DM, PATIAL S, MCBRIDE A, GODBEHERE S, VAN ROOIJEN N, PARAMESWARAN N, AMALFITANO A: Adenovirus vector-induced innate inflammatory mediators, MAPK signaling, as well as adaptive immune responses are dependent upon both TLR2 and TLR9 in vivo. *J Immunol* 181 (2008) 2134-2144.

5. ARNBERG N: Adenovirus receptors: implications for tropism, treatment and targeting. *Rev Med Virol* 19 (2009) 165-178. doi:10.1002/rmv.612.
6. ARSIC N, ZACCHIGNA S, ZENTLIN L, RAMIREZ-CORREA G, PATTARINI L, SALVI A, SINAGRA G, GIACCA M: Vascular endothelial growth factor stimulates skeletal muscle regeneration in vivo. *Mol Ther* 10 (2004) 844-854. doi:10.1016/j.yjthe.2004.08.007.
7. AZZAZY HM, MANSOUR MM, CHRISTENSON RH: Gene doping: of mice and men. *Clin Biochem* 42 (2009) 435-441. doi:10.1016/j.clinbiochem.2009.01.001.
8. BAINBRIDGE JW, SMITH AJ, BARKER SS, ROBBIE S, HENDERSON R, BALAGGAN K, VISWANATHAN A, HOLDER GE, STOCKMAN A, TYLER N, PETERSEN-JONES S, BHATTACHARYA SS, THRASHER AJ, FITZKE FW, CARTER BJ, RUBIN GS, MOORE AT, ALI RR: Effect of gene therapy on visual function in leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358 (2008) 2231-2239. doi:10.1056/NEJMoa0802268.
9. BANGARI DS, MITTAL SK: Current strategies and future directions for eluding adenoviral vector immunity. *Curr Gene Ther* 6 (2006) 215-226. doi:10.2174/156652306776359478.
10. BAOUTINA A, ALEXANDER IE, RASKO JE, EMSLIE KR: Potential use of gene transfer in athletic performance enhancement. *Mol Ther* 15 (2007) 1751-1766. doi:10.1038/sj.mt.6300278.
11. BARTON ER, DEMEO J, LEI H: The insulin-like growth factor (IGF)-I E-peptides are required for isoform-specific gene expression and muscle hypertrophy after local IGF-I production. *J Appl Physiol* 108 (2010) 1069-1076. doi:10.1152/jappphysiol.01308.2009.
12. BARTON-DAVIS ER, SHOTURMA DI, MUSARO A, ROSENTHAL N, SWEENEY HL: Viral mediated expression of insulin-like growth factor I blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 (1998) 15603-15607. doi:10.1073/pnas.95.26.15603.
13. BEITER T, REICH E, WILLIAMS RW, SIMON P: Antisense transcription: a critical look in both directions. *Cell Mol Life Sci* 66 (2009) 94-112. doi:10.1007/s00018-008-8381-y.
14. BEITER T, ZIMMERMANN M, FRAGASSO A, HUDEMANN J, NIESS AM, BITZER M, LAUER UM, SIMON P: Direct and long-term detection of gene doping in conventional blood samples. *Gene Ther* 18 (2011) 225-231. doi:10.1038/gt.2010.122.
15. BESSIS N, GARCIACOZAR FJ, BOISSIER MC: Immune responses to gene therapy vectors: influence on vector function and effector mechanisms. *Gene Ther* 11 (2004) S10-S17. doi:10.1038/sj.gt.3302364.
16. BINLEY K, ASKHAM Z, IQBALL S, SPEARMAN H, MARTIN L, DE ALWIS M, THRASHER AJ, ALI RR, MAXWELL PH, KINGSMAN S, NAYLOR S: Long-term reversal of chronic anemia using a hypoxia-regulated erythropoietin gene therapy. *Blood* 100 (2002) 2406-2413. doi:10.1182/blood-2002-02-0605.
17. BLANCHARD N, SHASTRI N: Cross-presentation of peptides from intracellular pathogens by MHC class I molecules. *Ann N Y Acad Sci* 1183 (2010) 237-250. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.05135.x.
18. BOUARD D, ALAZARD-DANY D, COSSET FL: Viral vectors: from virology to transgene expression. *Br J Pharmacol* 157 (2009) 153-165. doi:10.1038/bjp.2008.349.
19. BRUNETTI-PIERRI N, NG P: Progress and prospects: gene therapy for genetic diseases with helper-dependent adenoviral vectors. *Gene Ther* 15 (2008) 553-560. doi:10.1038/gt.2008.14.
20. BÜNING H, PERABO L, COUTELLE O, QUADT-HUMME S, HALLEK M: Recent developments in adeno-associated virus vector technology. *J Gene Med* 10 (2008) 717-733. doi:10.1002/jgm.1205.
21. BUSHMAN F, LEWINSKI M, CIUFFI A, BARR S, LEIPZIG J, HANNENHALLI S, HOFFMANN C: Genome-wide analysis of retroviral DNA integration. *Nat Rev Microbiol* 3 (2005) 848-858. doi:10.1038/nrmicro1263.
22. CALCEDO R, VANDENBERGHE LH, GAO G, LIN J, WILSON JM: Worldwide epidemiology of neutralizing antibodies to adeno-associated viruses. *J Infect Dis* 199 (2009) 381-390. doi:10.1086/595830.
23. CALVO JA, DANIELS TG, WANG X, PAUL A, LIN J, SPIEGELMAN BM, STEVENSON SC, RANGWALA SM: Muscle-specific expression of PPARgamma coactivator-1alpha improves exercise performance and increases peak oxygen uptake. *J Appl Physiol* 104 (2008) 1304-1312. doi:10.1152/jappphysiol.01231.2007.
24. CAMPBELL EM, HOPE TJ: Gene therapy progress and prospects: viral trafficking during infection. *Gene Ther* 12 (2005) 1353-1359. doi:10.1038/sj.gt.3302585.
25. CARNINCI P: RNA dust: where are the genes? *DNA Res* 17 (2010) 51-59. doi:10.1093/dnares/dsq006.
26. CAVAZZANA-CALVO M, HACEIN-BEY S, DE SAINT BASILE G, GROSS F, YVON E, NUSBAUM P, SELZ F, HUE C, CERTAIN S, CASANOVA JL, BOUSSO P, DEIST FL, FISCHER A: Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 288 (2000) 669-672. doi:10.1126/science.288.5466.669.
27. CAVAZZANA-CALVO M, PAYEN E, NEGRE O, WANG G, HEHIR K, FUSIL F, DOWN J, DENARO M, BRADY T, WESTERMAN K, CAVALLESCO R, GILLET-LEGRAND B, CACCAVELLI L, SGARRA R, MAOUCHE-CHRÉTIEN L, BERNAUDIN F, GIROT R, DORAZIO R, MULDER GJ, POLACK A, BANK A, SOULIER J, LARGHERO J, KABBARA N, DALLE B, GOURMEL B, SOCIE G, CHRÉTIEN S, CARTIER N, AUBOURG P, FISCHER A, CORNETTA K, GALACTEROS F, BEUZARD Y, GLUCKMAN E, BUSHMAN F, HACEIN-BEY-ABINA S, LEBOULCH P: Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human β -thalassaemia. *Nature* 467 (2010) 318-322. doi:10.1038/nature09328.
28. CHENUAUD P, LARCHER T, RABINOWITZ JE, PROVOST N, CHEREL Y, CASADEVALL N, SAMULSKI RJ, MOULLIER P: Autoimmune anemia in macaques following erythropoietin gene therapy. *Blood* 103 (2004) 3303-3304. doi:10.1182/blood-2003-11-3845.
29. CHRISTENSEN JE, THOMSEN AR: Co-ordinating innate and adaptive immunity to viral infection: mobility is the key. *APMIS* 117(2009) 338-355. doi:10.1111/j.1600-0463.2009.02451.x.
30. COURA RDOS S, NARDI NB: The state of the art of adeno-associated virus-based vectors in gene therapy. *Virol J* 4 (2007) 99. doi:10.1186/1743-422X-4-99.
31. DAYA S, BERNS KI: Gene therapy using adeno-associated virus vectors. *Clin Microbiol Rev* 21 (2008) 583-593. doi:10.1128/CMR.00008-08.
32. DFG-DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT: Entwicklung der Gentherapie. Stellungnahme der Senatskommission für Grundsatzfragen der Genforschung. Wiley VCH Weinheim Mitteilung 5 (2007).
33. DING W, ZHANG L, YAN Z, ENGELHARDT JF: Intracellular trafficking of adeno-associated viral vectors. *Gene Ther* 12 (2005) 873-880. doi:10.1038/sj.gt.3302527.
34. DONSANTE A, MILLER DG, LI Y, VOGLER C, BRUNT EM, RUSSELL DW, SANDS MS: AAV vector integration sites in mouse hepatocellular carcinoma. *Science* 317 (2007) 477. doi:10.1126/science.1142658.
35. EVERETT RS, EVANS HK, HODGES BL, DING EY, SERRA DM, AMALFITANO A: Strain-specific rate of shutdown of CMV enhancer activity in murine liver confirmed by use of persistent [E1(-), E2b(-)] adenoviral vectors. *Virology* 325 (2004) 96-105. doi:10.1016/j.virol.2004.04.032.
36. FRIEDMANN T, RABIN O, FRANKEL MS: Ethics. Gene doping and sport. *Science* 327 (2010) 647-648. doi:10.1126/science.1177801.
37. GAO G, LEBHERZ C, WEINER DJ, GRANT R, CALCEDO R, MCCULLOUGH B, BAGG A, ZHANG Y, WILSON JM: Erythropoietin gene therapy leads to autoimmune anemia in macaques. *Blood* 103 (2004) 3300-3302. doi:10.1182/blood-2003-11-3852.
38. GASPAR HB, COORAY S, GILMOUR KC, PARSLEY KL, ADAMS S, HOWE SJ, AL GHONAUM A, BAYFORD J, BROWN L, DAVIES EG, KINNON C, THRASHER AJ: Long-term persistence of a polyclonal T cell repertoire after gene therapy for x-linked severe combined immunodeficiency. *Sci Transl Med* 3 (2011) 97ra79. doi:10.1126/scitranslmed.3002715.
39. GATZIDOU E, GATZIDOU G, THEOCHARIS SE: Genetically transformed world records: a reality or in the sphere of fantasy? *Med Sci Monit* 15 (2009) RA41-RA47.
40. GERLINGER K, PETERMANN TH, SAUTER A: Gendoping. Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag (TAB). Endbericht. TAB-Arbeitsbericht Nr. 124, Berlin (2008).
41. GONÇALVES MA: Adeno-associated virus: from defective virus to effective vector. *Virol J* 2 (2005) 43. doi:10.1186/1743-422X-2-43.
42. GOVERDHANA S, PUNTEL M, XIONG W, ZIRGER JM, BARCIA C, CURTIN JF, SOFFER EB, MONDKAR S, KING GD, HU J, SCIASCIA SA, CANDOLFI M, GREENGOLD DS, LOWENSTEIN PR, CASTRO MG: Regulatable gene

- expression systems for gene therapy applications: progress and future challenges. *Mol Ther* 12 (2005) 189–211. doi:10.1016/j.yymthe.2005.03.022.
43. HACEIN-BEY-ABINA S, GARRIGUE A, WANG GP, SOULIER J, LIM A, MORILLON E, CLAPPIER E, CACCAVELLI L, DELABESSE E, BELDJORD K, ASNAFI V, MACINTYRE E, DAL CORTIVO L, RADFORD I, BROUSSE N, SIGAUX F, MOSHOUS D, HAUER J, BORKHARDT A, BELOHRADSKY BH, WINTERGERST U, VELEZ MC, LEIVA L, SORENSEN R, WULFFRAAT N, BLANCHE S, BUSHMAN FD, FISCHER A, CAVAZZANA-CALVO M: Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest* 118 (2008) 3132–3142. doi:10.1172/JCI35700.
 44. HAIDET AM, RIZO L, HANDY C, UMAPATHI P, EAGLE A, SHILLING C, BOUE D, MARTIN PT, SAHENK Z, MENDELL JR, KASPAR BK: Long-term enhancement of skeletal muscle mass and strength by single gene administration of myostatin inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 105 (2008) 4318–4322. doi:10.1073/pnas.0709144105.
 45. HAKIMI P, YANG J, CASADESUS G, MASSILLON D, TOLENTINO-SILVA F, NYE CK, CABRERA ME, HAGEN DR, UTTER CB, BAGHDY Y, JOHNSON DH, WILSON DL, KIRWAN JP, KALHAN SC, HANSON RW: Overexpression of the cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) in skeletal muscle repatterns energy metabolism in the mouse. *J Biol Chem* 282 (2007) 32844–32855. doi:10.1074/jbc.M706127200.
 46. HENSLEY SE, AMALFITANO A: Toll-like receptors impact on safety and efficacy of gene transfer vectors. *Mol Ther* 15 (2007) 1417–1422. doi:10.1038/sj.mt.6300217.
 47. HOJMAN P, GISSEL H, GEHL J: Sensitive and precise regulation of haemoglobin after gene transfer of erythropoietin to muscle tissue using electroporation. *Gene Ther* 14 (2007) 950–959. doi:10.1038/sj.gt.3302951.
 48. HOWE SJ, MANSOUR MR, SCHWARZWAELDER K, BARTHOLOMAE C, HUBANK M, KEMPSKI H, BRUGMAN MH, PIKE-OVERZET K, CHATTERS SJ, DE RIDDER D, GILMOUR KC, ADAMS S, THORNHILL SI, PARSLEY KL, STAAL FJ, GALE RE, LINCH DC, BAYFORD J, BROWN L, QUAYE M, KINNON C, ANCLIFF P, WEBB DK, SCHMIDT M, VON KALLE C, GASPARD HB, THRASHER AJ: Insertional mutagenesis combined with acquired somatic mutations causes leukemogenesis following gene therapy of SCID-X1 patients. *J Clin Invest* 118 (2008) 3143–3150. doi:10.1172/JCI35798.
 49. INAGAKI K, LEWIS SM, WU X, WU X, MA C, MUNROE DJ, FUESS S, STORM TA, KAY MA, NAKAI H: DNA palindromes with a modest arm length of greater, similar 20 base pairs are a significant target for recombinant adeno-associated virus vector integration in the liver, muscles, and heart in mice. *J Virol* 81 (2007) 11290–11303. doi:10.1128/JVI.00963-07.
 50. JIANG X, KHAN MA, TIAN W, BEILKE J, NATARAJAN R, KOSEK J, YODER MC, SEMENZA GL, NICOLLS MR: Adenovirus-mediated HIF-1 α gene transfer promotes repair of mouse airway allograft microvasculature and attenuates chronic rejection. *J Clin Invest* 121 (2011) 2336–2349. doi:10.1172/JCI46192.
 51. KARVINEN H, PASANEN E, RISSANEN TT, KORPISALO P, VÄHÄKANGAS E, JAZWA A, GIACCA M, YLÄ-HERTTUALA S: Long-term VEGF-A expression promotes aberrant angiogenesis and fibrosis in skeletal muscle. *Gene Ther* 18 (2011) 1166–1172. doi:10.1038/gt.2011.93. Epub ahead of print.
 52. KASHIWAKURA Y, TAMAYOSE K, IWABUCHI K, HIRAI Y, SHIMADA T, MATSUMOTO K, NAKAMURA T, WATANABE M, OSHIMI K, DAIDA H: Hepatocyte growth factor receptor is a coreceptor for adeno-associated virus type 2 infection. *J Virol* 79 (2005) 609–614. doi:10.1128/JVI.79.1.609-614.2005.
 53. KAY MA: State-of-the-art gene-based therapies: the road ahead. *Nat Rev Genet* 12 (2011) 316–328. doi:10.1038/nrg2971.
 54. KINOCHI N, OHSAWA Y, ISHIMARU N, OHUCHI H, SUNADA Y, HAYASHI Y, TANIMOTO Y, MORIYAMA K, NOJI S: Atelocollagen-mediated local and systemic applications of myostatin-targeting siRNA increase skeletal muscle mass. *Gene Ther* 15 (2008) 1126–1130. doi:10.1038/gt.2008.24.
 55. KOTA J, HANDY CR, HAIDET AM, MONTGOMERY CL, EAGLE A, RODINO-KLAPAC LR, TUCKER D, SHILLING CJ, THERLFAH WR, WALKER CM, WEISBRODE SE, JANSSEN PM, CLARK KR, SAHENK Z, MENDELL JR, KASPAR BK: Follistatin gene delivery enhances muscle growth and strength in nonhuman primates. *Sci Transl Med* 1 (2009) 6ra15 doi:10.1126/scitranslmed.3000112.
 56. LANDER ES, LINTON LM, BIRREN B, NUSBAUM C, ZODY MC, BALDWIN J: International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 (2001) 860–921. doi:10.1038/35057062.
 57. LANDER ES: Initial impact of the sequencing of the human genome. *Nature* 470 (2011) 187–197. doi:10.1038/nature09792.
 58. LE GUINER C, STIEGER K, SNYDER RO, ROLLING F, MOULLIER P: Immune responses to gene product of inducible promoters. *Curr Gene Ther* 2007;7:334–346. doi:10.2174/156652307782151461.
 59. LEE S, BARTON ER, SWEENEY HL, FARRAR RP: Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol* 96 (2004) 1097–1104. doi:10.1152/jappphysiol.00479.2003.
 60. LEE SJ: Quadrupling muscle mass in mice by targeting TGF-beta signaling pathways. *PLoS ONE* 2 (2007) e789. doi:10.1371/journal.pone.0000789.
 61. LEWITT PA, REZAI AR, LEEHEY MA, OJEMANN SG, FLAHERTY AW, ES-KANDAR EN, KOSTYK SK, THOMAS K, SARKAR A, SIDDIQUI MS, TATTER SB, SCHWALB JM, POSTON KL, HENDERSON JM, KURLAN RM, RICHARD IH, VAN METER L, SAPAN CV, DURING MJ, KAPLITT MG, FEIGIN A: AAV2-GAD gene therapy for advanced Parkinson's disease: a double-blind, sham-surgery controlled, randomised trial. *Lancet Neurol* 10 (2011) 309–319. doi:10.1016/S1474-4422(11)70039-4.
 62. LIU CM, YANG Z, LIU CW, WANG R, TIEN P, DALE R, SUN LQ: Myostatin antisense RNA-mediated muscle growth in normal and cancer cachexia mice. *Gene Ther* 15 (2008) 155–160. doi:10.1038/sj.gt.3303016.
 63. LIU MA: DNA vaccines: an historical perspective and view to the future. *Immunol Rev* 239 (2011) 62–84. doi:10.1111/j.1600-065X.2010.00980.x.
 64. MACDOUGALL IC, ECKARDT KU: Novel strategies for stimulating erythropoiesis and potential new treatments for anaemia. *Lancet* 368 (2006) 947–953. doi:10.1016/S0140-6736(06)69120-4.
 65. MAGEE TR, ARTAZA JN, FERRINI MG, VERNET D, ZUNIGA FI, CANTINI L, REISZ-PORSZASZ S, RAJFER J, GONZALEZ-CADAVID NF: Myostatin short interfering hairpin RNA gene transfer increases skeletal muscle mass. *J Gene Med* 8 (2006) 1171–1181. doi:10.1002/jgm.946.
 66. MAGUIRE AM, SIMONELLI F, PIERCE EA, PUGH EN JR, MINGOZZI F, BENNICELLI J, BANFI S, MARSHALL KA, TESTA F, SURACE EM, ROSSI S, LYUBARSKY A, ARRUDA VR, KONKLE B, STONE E, SUN J, JACOBS J, DELL'OSSO L, HERTLE R, MA JX, REDMOND TM, ZHU X, HAUCK B, ZELENAIA O, SHINDLER KS, MAGUIRE MG, WRIGHT JF, VOLPE NJ, McDONNELL JW, AURICCHIO A, HIGH KA, BENNETT J: Safety and efficacy of gene transfer for leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358 (2008) 2240–2248. doi:10.1056/NEJMoa0802315.
 67. MANNO CS, PIERCE GF, ARRUDA VR, GLADER B, RAGNI M, RASKO JJ, OZELO MC, HOOTS K, BLATT P, KONKLE B, DAKE M, KAYE R, RAZAVI M, ZAJKO A, ZEHNDER J, RUSTAGI PK, NAKAI H, CHEW A, LEONARD D, WRIGHT JF, LESSARD RR, SOMMER JM, TIGGES M, SABATINO D, LUK A, JIANG H, MINGOZZI F, COUTO L, ERTL HC, HIGH KA, KAY MA: Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response. *Nat Med* 12 (2006) 342–347. doi:10.1038/nm1358.
 68. MANSOUR MM, AZZAZY HM: The hunt for gene dopers. *Drug Test Anal* 1 (2009) 311–322. doi:10.1002/dta.52.
 69. MATTICK JS, MAKUNIN IV: Non-coding RNA. *Hum Mol Genet* 15 (2006) R17–R29. doi:10.1093/hmg/ddl046.
 70. MCPHERRON AC, LAWLER AM, LEE SJ: Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 387 (1997) 83–90. doi:10.1038/387083a0.
 71. MCPHERRON AC, LEE SJ: Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (1997) 12457–12461. doi:10.1073/pnas.94.23.12457.
 72. MERCER TR, DINGER ME, MATTICK JS: Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet* 10 (2009) 155–159. doi:10.1038/nrg2521.
 73. MINGOZZI F, HIGH KA: Immune Responses to AAV in Clinical Trials. *Curr Gene Ther* 11 (2011) 321–330. doi:10.2174/156652311796150354.
 74. MINGOZZI F, MAUS MV, HUI DJ, SABATINO DE, MURPHY SL, RASKO JE, RAGNI MV, MANNO CS, SOMMER J, JIANG H, PIERCE GF, ERTL HC, HIGH KA: CD8(+) T-cell responses to adeno-associated virus capsid in humans. *Nat Med* 13 (2007) 419–422. doi:10.1038/nm1549.
 75. MINGOZZI F, MEULENBERG JJ, HUI DJ, BASNER-TSCHAKARJAN E, HASBROUCK NC, EDMONSON SA, HUTNICK NA, BETTS MR, KASTELEIN JJ,

- STROES ES, HIGH KA: AAV-1-mediated gene transfer to skeletal muscle in humans results in dose-dependent activation of capsid-specific T cells. *Blood* 114 (2009) 2077-2086. doi:10.1182/blood-2008-07-167510.
76. MUDHAKIR D, HARASHIMA H: Learning from the viral journey: how to enter cells and how to overcome intracellular barriers to reach the nucleus. *AAPS J* 11 (2009) 65-77. doi:10.1208/s12248-009-9080-9.
77. NAKAI H, MONTINI E, FUESS S, STORM TA, GROMPE M, KAY MA: AAV serotype 2 vectors preferentially integrate into active genes in mice. *Nat Genet* 34 (2003) 297-302. doi:10.1038/ng1179.
78. NAKAI H, WU X, FUESS S, STORM TA, MUNROE D, MONTINI E, BURGESS SM, GROMPE M, KAY MA: Large-scale molecular characterization of adeno-associated virus vector integration in mouse liver. *J Virol* 79 (2005) 3606-3614. doi:10.1128/JVI.79.6.3606-3614.2005.
79. NAYAK S, HERZOG RW: Progress and prospects: immune responses to viral vectors. *Gene Ther* 17 (2010) 295-304. doi:10.1038/gt.2009.148.
80. O'CONNOR TP, CRYSTAL RG: Genetic medicines: treatment strategies for hereditary disorders. *Nat Rev Genet* 7 (2006) 261-276. doi:10.1038/nrg1829.
81. OTT MG, SCHMIDT M, SCHWARZWELDER K, STEIN S, SILER U, KOEHL U, GLIMM H, KÜHLCKE K, SCHILZ A, KUNKEL H, NAUNDORF S, BRINKMANN A, DEICHMANN A, FISCHER M, BALL C, PILZ I, DUNBAR C, DU Y, JENKINS NA, COPELAND NG, LÜTHI U, HASSAN M, THRASHER AJ, HOELZER D, VON KALLE C, SEGER R, GREZ M: Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene therapy, augmented by insertional activation of MDS1-EV11, PRDM16 or SETBP1. *Nat Med* 12 (2006) 401-409. doi:10.1038/nm1393.
82. PERRY JK, EMERALD BS, MERTANI HC, LOBIE PE: The oncogenic potential of growth hormone. *Growth Horm IGF Res* 16 (2006) 277-289. doi:10.1016/j.ghir.2006.09.006.
83. RANGWALA SM, WANG X, CALVO JA, LINDSLEY L, ZHANG Y, DEYNEKO G, BEAULIEU V, GAO J, TURNER G, MARKOVITS J: Estrogen-related receptor gamma is a key regulator of muscle mitochondrial activity and oxidative capacity. *J Biol Chem* 285 (2010) 22619-22629. doi:10.1074/jbc.M110.125401.
84. RAPER SE, CHIRMULE N, LEE FS, WIVEL NA, BAGG A, GAO GP, WILSON JM, BATSHAW ML: Fatal systemic inflammatory response syndrome in an ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. *Mol Genet Metab* 80 (2003) 148-158. doi:10.1016/j.ymgme.2003.08.016.
85. RODINO-KLAPAC LR, HAIDET AM, KOTA J, HANDY C, KASPAR BK, MENDEL JR: Inhibition of myostatin with emphasis on follistatin as a therapy for muscle disease. *Muscle Nerve* 39 (2009) 283-296. doi:10.1002/mus.21244.
86. ROSS PJ, KENNEDY MA, PARKS RJ: Host cell detection of noncoding stuffer DNA contained in helper-dependent adenovirus vectors leads to epigenetic repression of transgene expression. *J Virol* 83 (2009) 8409-8417. doi:10.1128/JVI.00796-09.
87. SAGAZIO A, XIAO X, WANG Z, MARTARI M, SALVATORI R: A single injection of double-stranded adeno-associated viral vector expressing GH normalizes growth in GH-deficient mice. *J Endocrinol* 196 (2008) 79-88. doi:10.1677/JOE-07-0312.
88. SAKURAI H, KAWABATA K, SAKURAI F, NAKAGAWA S, MIZUGUCHI H: Innate immune response induced by gene delivery vectors. *Int J Pharm* 354 (2008) 9-15. doi:10.1016/j.ijpharm.2007.06.012.
89. SARKAR K, FOX-TALBOT K, STEENBERGEN C, BOSCH-MARCÉ M, SEMENZA GL: Adenoviral transfer of HIF-1alpha enhances vascular responses to critical limb ischemia in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 106 (2009) 18769-18774. doi:10.1073/pnas.0910561106.
90. SCHNEPP BC, CLARK KR, KLEMANSKI DL, PACAK CA, JOHNSON PR: Genetic fate of recombinant adeno-associated virus vector genomes in muscle. *J Virol* 77 (2003) 3495-3504. doi:10.1128/JVI.77.6.3495-3504.2003.
91. SCHUELKE M, WAGNER KR, STOLZ LE, HÜBNER C, RIEBEL T, KÖMEN W, BRAUN T, TOBIN JF, LEE SJ: Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med* 350 (2004) 2682-2688. doi:10.1056/NEJMoa040933.
92. SETOGUCHI Y, DANIEL C, CRYSTAL RG: Stimulation of erythropoiesis by in vivo gene therapy: physiologic consequences of transfer of the human erythropoietin gene to experimental animals using an adenovirus vector. *Blood* 84 (1994) 2946-2953.
93. SHAW KL, KOHN DB: A Tale of Two SCIDs. *Sci Transl Med* 3 (2011) 97ps36. doi:10.1126/scitranslmed.3002594.
94. SINDHU A, ARORA P, CHAUDHURY A: Illuminating the Gateway of Gene Silencing: Perspective of RNA Interference Technology in Clinical Therapeutics. *Mol Biotechnol*, 2011. doi:10.1007/s12033-011-9456-9. Epub ahead of print.
95. SMITH JA, DANIEL R: Following the path of the virus: the exploitation of host DNA repair mechanisms by retroviruses. *ACS Chem Biol* 1 (2006) 217-226. doi:10.1021/cb600131q.
96. THE JOURNAL OF GENE MEDICINE: <http://www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/>; aufgerufen im Oktober 2010.
97. TOSCANO MG, ROMERO Z, MUÑOZ P, COBO M, BENABDELLAH K, MARTIN F: Physiological and tissue-specific vectors for treatment of inherited diseases. *Gene Ther* 18 (2011) 117-127. doi:10.1038/gt.2010.138.
98. TRAKTUEV DO, TSOKOLAEVA ZI, SHEVELEV AA, TALITSKIY KA, STEPANOVA VV, JOHNSTONE BH, RAHMAT-ZADE TM, KAPUSTIN AN, TKACHUK VA, MARCH KL, PARFYONOVA YV: Urokinase gene transfer augments angiogenesis in ischemic skeletal and myocardial muscle. *Mol Ther* 15 (2007) 1939-1946. doi:10.1038/sj.mt.6300262.
99. TROLLET C, ATHANASOPOULOS T, POPPLEWELL L, MALERBA A, DICKSON G: Gene therapy for muscular dystrophy: current progress and future prospects. *Expert Opin Biol Ther* 9 (2009) 849-866. doi:10.1517/14712590903029164.
100. VASILEVA A, JESSBERGER R. PRECISE HIT: adeno-associated virus in gene targeting. *Nat Rev Microbiol* 3 (2005) 837-847. doi:10.1038/nrmi-cro1266.
101. WADA: The Prohibited List 2011. [http://www.wada-ama.org/Documents/World_Anti-Doping_Program/WADP-Prohibited-list/abgerufen im Oktober 2011](http://www.wada-ama.org/Documents/World_Anti-Doping_Program/WADP-Prohibited-list/abgerufen%20im%20Oktober%202011).
102. WAGNER KR, FLECKENSTEIN JL, AMATO AA, BAROHN RJ, BUSHBY K, ESCOLAR DM, FLANIGAN KM, PESTRONK A, TAWIL R, WOLFE GI, EAGLE M, FLORENCE JM, KING WM, PANDYA S, STRAUB V, JUNEAU P, MEYERS K, CSIMMA C, ARAUJO T, ALLEN R, PARSONS SA, WOZNEY JM, LAVALLIE ER, MENDEL JR: A phase I/II trial of MYO-029 in adult subjects with muscular dystrophy. *Ann Neurol* 63 (2008) 561-571. doi:10.1002/ana.21338.
103. WANG YX, ZHANG CL, YU RT, CHO HK, NELSON MC, BAYUGA-OCAMPO CR, HAM J, KANG H, EVANS RM: Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPARdelta. *PLoS Biol* 2 (2004) e294. doi:10.1371/journal.pbio.0020294.
104. WELLS DJ. GENE DOPING: possibilities and practicalities. *Med Sport Sci* 54 (2009) 166-175. doi:10.1159/000235703.
105. WELLS DJ: Gene doping: the hype and the reality. *Br J Pharmacol* 154 (2008) 623-631. doi:10.1038/bjp.2008.144.
106. YAMAGUCHI T, KAWABATA K, KOIZUMI N, SAKURAI F, NAKASHIMA K, SAKURAI H, SASAKI T, OKADA N, YAMANISHI K, MIZUGUCHI H: Role of MyD88 and TLR9 in the innate immune response elicited by serotype 5 adenoviral vectors. *Hum Gene Ther* 18 (2007) 753-762. doi:10.1089/hum.2007.016.
107. ZAISS AK, COTTER MJ, WHITE LR, SAKURAI F, NAKASHIMA K, SAKURAI H, SASAKI T, OKADA N, YAMANISHI K, MIZUGUCHI H: Complement is an essential component of the immune response to adeno-associated virus vectors. *J Virol* 82 (2008) 2727-2740. doi:10.1128/JVI.01990-07.
108. ZAISS AK, MURUVE DA: Immunity to adeno-associated virus vectors in animals and humans: a continued challenge. *Gene Ther* 15 (2008) 808-816. doi:10.1038/gt.2008.54.
109. ZHOU S, MURPHY JE, ESCOBEDO JA, DWARKI VJ: Adeno-associated virus-mediated delivery of erythropoietin leads to sustained elevation of hematocrit in nonhuman primates. *Gene Ther* 5 (1998) 665-670. doi:10.1038/sj.gt.3300648.

Korrespondenzadresse:

Thomas Beiter

Universitätsklinikum Tübingen

Medizinische Klinik, Abteilung V, Sportmedizin

Silberstraße 5

72076 Tübingen

E-Mail: thomas.beiter@med.uni-tuebingen.de