

Autologes Conditioniertes Serum in der Behandlung orthopädischer Erkrankungen

Die Orthokin®-Therapie

Peter Wehling,^{1,2} Carsten Moser,^{2,3} David Frisbie,⁴ C. Wayne McIlwraith,⁴
Christopher E. Kawcak,⁴ Rüdiger Krauspe³ und Julio A. Reinecke⁵

1 Zentrum für Molekulare Orthopädie, Düsseldorf

2 Orthogen AG, Düsseldorf

3 Orthopädische Klinik, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf

4 Department of Clinical Sciences, Equine Orthopedic Research Center, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, USA

5 Orthogen Veterinary GmbH, Düsseldorf

Inhalt

Zusammenfassung	323
1. Biologische Mechanismen und Zielstrukturen bei orthopädischen Erkrankungen	324
2. Herstellung von Autologem Conditioniertem Serum (ACS) mit Hilfe des Orthokin®-Therapiesystemes	324
3. ACS bei Tieren	325
3.1 Kontrolliertes Arthrose-Modell bei Pferden	325
3.2 Behandlung von Muskelverletzungen durch lokale Verabreichung von Conditioniertem Serum bei Mäusen	327
3.3 Experimentelles Muskelkontusions-Modell an Mäusen	328
4. ACS in klinischen Studien am Menschen	328
4.1 Pilot-Studie zur Muskelregeneration bei Athleten	328
4.2 Randomisierte klinische Studien	329
4.2.1 Gonarthrose	329
4.2.2 Ischiasbeschwerden und Lumbalgie	330
5. Schlussfolgerungen	331

Zusammenfassung

Strategien für die Behandlung von Patienten mit orthopädischen Erkrankungen setzen meist nicht an der zugrunde liegenden Pathogenese an. Derzeit befinden sich mehrere biologisch basierte lokale Therapien in der Entwicklung oder in den ersten Stadien der klinischen Anwendung, die darauf abzielen, das Zytokin-Ungleichgewicht zu beeinflussen. Ein Verfahren, bei dem Leukozyten des Blutes mit definierten pyrogenfreien Oberflächen (z. B. Glaskugeln) in Kontakt gebracht werden, bewirkt eine Akkumulation von entzündungshemmenden Zytokinen, wie Interleukin-1-Rezeptorantagonist, und mehrerer Wachstumsfaktoren, wie dem Insulin-Like Growth Factor-1, dem Platelet-Derived Growth Factor und dem Transforming Growth Factor β -1 im Serum. Auf Basis dieser Beobachtungen wurde eine neue Therapie entwickelt, die zellfreies Autologes Conditioniertes Serum (ACS) aus der Inkubation venösen Vollbluts mit Glaskugeln verwendet. Die Injektion von ACS in betroffenes Gewebe erwies sich im Tiermodell und in tierexperimentellen Studien sowie in klinischen Studien am Menschen bei der Behandlung von Arthrose, Lumbalstenose, Bandscheibenvorfall sowie Muskelverletzungen als wirksam und sicher.

Für eine Reihe von häufig durchgeführten orthopädischen Behandlungen ist die Wirksamkeit nicht adäquat dokumentiert.^[1] Es werden operative Verfahren durchgeführt, die den

Gelenknorpel erhalten oder wiederherstellen sollen, deren Wirksamkeit aber nicht eindeutig in randomisierten, kontrollierten Studien nachgewiesen wurde.^[2,3] Der Gelenkersatz ist eine

ausgezeichnete Behandlung für die fortgeschrittene Arthrose, jedoch auf das Endstadium dieser Erkrankung beschränkt. Analgetika und NSAR (Nicht Steroidale Anti Rheumatika) finden zwar breite Anwendung, ihre Wirksamkeit steht jedoch in Frage.^[4-7] Vor kurzem wurde auf die bei NSAR und Kortikosteroiden zu beobachtenden häufigen und schwerwiegenden Nebenwirkungen aufmerksam gemacht.^[8-12] Darüber hinaus brachten randomisierte, kontrollierte klinische Studien zu intraartikulären Injektionen von Hyaluronsäure bei der Arthrose widersprüchliche Ergebnisse: einige Studien wiesen auf eine lang anhaltende Schmerzlinderung hin, während andere keinen Unterschied zwischen Hyaluronsäure und Placebo zeigen konnten.^[13-17]

Aufgrund des Bedarfs an weiteren evidenzbasierten Behandlungen wird laufend nach alternativen, die Symptome und möglicherweise auch den Erkrankungsverlauf beeinflussenden Arzneimitteln für orthopädische Erkrankungen gesucht. Das Ziel ist es, die zugrunde liegenden Pathomechanismen zu beeinflussen.

1. Biologische Mechanismen und Zielstrukturen bei orthopädischen Erkrankungen

Neben biomechanischen Faktoren, die beim Auftreten orthopädischer Erkrankungen von Bedeutung sind, spielt bei der Pathogenese der Erkrankungen die gleichzeitige Aktivierung einer ganzen Kaskade biologischer Faktoren im Zytokin-Netzwerk eine Rolle.^[18] Die therapeutische Anwendung von Zytokininhibitoren und Wachstumsfaktoren wurde zum ersten Mal Ende der 1970er und Anfang der 1980er Jahre diskutiert. Wachstumsfaktoren, die darauf abzielen, die geschädigte Gewebefunktion zu revitalisieren, indem sie die zugrunde liegende Pathogenese modulieren, spielen bei der lokalen Behandlung orthopädischer Erkrankungen eine immer größere Rolle. In diesem Zusammenhang ist die Arthrose durch eine Reihe uniformer molekularer und biologischer Prozesse gekennzeichnet. Eines der primären molekularen pathologischen Merkmale ist die lokale Freisetzung von Zytokinen, die die Zerstörung von hyalinem Knorpel und seiner Matrix triggern. Dies führt zur zusätzlichen Produktion intrazellulärer proinflammatorischer und destrukturierender Faktoren, die die weitere Zerstörung von hyalinem Knorpel fördern, indem sie ein Ungleichgewicht des Matrix-Stoffwechsels bewirken.^[19]

Von den bei orthopädischen Erkrankungen identifizierten Zytokinen scheint insbesondere Interleukin-1 (IL-1) von Bedeutung zu sein.^[20] Der Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1Ra) ist ein kompetitiver Rezeptorantagonist von IL-1 mit Affinität für Typ-I- und Typ-II-IL-1-Rezeptoren.^[21-23] Eine Hypothese besagt, dass die lokale IL-1Ra-Konzentration bei degenerativen Erkrankungen zu niedrig ist, um die Destruktion von Knorpel, Muskel, Spinalgewebe und anderen (Gelenk-) Strukturen zu hemmen. Auch wenn es im Detail Unterschiede gibt, stimmen die vorliegenden Studien im Allgemeinen darin

überein, dass für eine effektive Blockade aller verfügbaren IL-1-Rezeptoren oder Hemmung aller durch IL-1 getriggerten Wirkungen 10- bis 1.000fach mehr IL-1Ra als IL-1 vorhanden sein muss.^[24-27] Diese Daten stammen aus einer Reihe von unterschiedlichen Rezeptorbindungsexperimenten, die in der Regel mit rekombinantem IL-1Ra durchgeführt werden und daher möglicherweise die biologische Funktion des nativen polyglykosylierten IL-1Ra-Proteins *in vivo* nicht vollständig wiedergeben. Derzeit ist nicht bekannt, ob eine vollständige Blockade aller biologisch aktiven IL-1-Rezeptoren erforderlich ist, um pathologische Zustände wie die Arthrose oder Nervenentzündungen in relevanter Weise zu beeinflussen. Es zeigt sich jetzt, dass mehrere weitere natürliche und rekombinante entzündungshemmende Zytokine und lösliche (IL-1-)Rezeptoren, die unterschiedliche Dissoziationsraten für IL-1 α , IL-1 β und IL-1Ra zeigen,^[28] die Signalgebung über den IL-1-Rezeptor und entzündliche Zustände beeinflussen können.

2. Herstellung von Autologem Conditioniertem Serum (ACS) mit Hilfe des Orthokin[®]-Therapiesystems

Wir beschreiben eine Methode, die selektiv die Produktion entzündungshemmender Zytokine und Wachstumsfaktoren steigert und dazu menschliches Blut verwendet. Arend und Mitarbeiter^[25,29-32] zeigten, dass an Oberflächen gebundenes Immunglobulin G (IgG) in Kombination mit Molekülen wie Lipopolysaccharid (LPS), Phorbolmyristatacetat (PMA), IL-1 und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) die IL-1Ra-Produktion durch isolierte menschliche Monozyten induziert. Es wurde eine neue Technik entwickelt, die eine vergleichbare IL-1Ra-Induktion erzielt, ohne dass Oberflächen mit IgG überzogen werden müssen.^[33] Experimentelle Untersuchungen zu unterschiedlichen Materialien wie Polymeren, Glas oder Quartz zeigten, dass Borosilikat-Glaskugeln die am besten für die Induktion einer *De-novo*-Produktion und Anreicherung von IL-1Ra geeignete Oberfläche bieten, ohne dass gleichzeitig IL-1 β im Vollblut gebildet wird.

Autologes Conditioniertes Serum (ACS) wird durch Inkubation von venösem Blut in Gegenwart von Glaskugeln medizinischen Grades (Herstellung: Firma Orthogen, Düsseldorf, Deutschland) hergestellt. Leukozyten des peripheren Blutes bilden erhöhte Mengen an endogenen entzündungshemmenden Zytokinen wie IL-1Ra, das sich im Serum anreichert (Abbildungen 1 und 2; Tabelle I). Nach Zentrifugation und Extraktion wird das ACS portioniert und entweder bis zu seiner Anwendung gelagert oder direkt in die betroffene Region des menschlichen oder tierischen Patienten injiziert. In randomisierten kontrollierten klinischen Studien am Menschen wurden die Injektionen bei spinalen Anwendungen in einer Serie von 3 Injektionen einmal wöchentlich und bei der Arthrose-Therapie in einer Serie von 6 Injektionen zweimal wöchentlich verabreicht.



Abb. 1. Flussdiagramm zur Verarbeitung des venösen Patientenblutes. Orthokin® BioLab (bei Menschen) oder Interleukin-1-Rezeptor antagonistisches Protein (IRAP) VetLab (bei Pferden) [mit freundlicher Genehmigung der Orthogen AG, Düsseldorf]. Durch Inkubation von aseptisch in eine Spritze aufgezogenem venösem Blut in Gegenwart von Glaskugeln medizinischen Grades wird das zellfreie Autologe Conditionierte Serum (ACS) hergestellt. Leukozyten des peripheren Blutes produzieren dabei erhöhte Mengen an unterschiedlichen endogenen entzündungshemmenden Zytokinen wie dem Interleukin-1-Rezeptorantagonist, die in das Serum sezerniert werden. Nach Zentrifugation und Extraktion wird das ACS gelagert oder unter sterilen Bedingungen beim Patienten (Mensch oder Tier) in die betroffene Region injiziert. In randomisierten kontrollierten klinischen Studien am Menschen wurde bei Anwendung an der Wirbelsäule eine Serie von 3 Injektionen einmal wöchentlich und bei der Behandlung der Arthrose eine Serie von 6 Injektionen zweimal wöchentlich verabreicht.

Die von den mononukleären Zellen und Thrombozyten im Rahmen der ACS-Produktion freigesetzten Faktoren stammen zum Teil aus intrazellulären Speichern und werden zum Teil *de novo* synthetisiert. Durch die Cycloheximid-Hemmung der IL-1Ra-Anreicherung in menschlichem Vollblut wurde gezeigt, dass ein wesentlicher Anteil des sich anreichernden IL-1Ra aus der *De-novo*-Synthese stammt.^[28] ACS enthält wahrscheinlich mehr unterschiedliche Zytokine als bislang nachgewiesen wurden (siehe Auflistung in Tabelle I) und die durchschnittlichen Konzentrationen der bereits nachgewiesenen Zytokine zeigen breite Standardabweichungen (SD), was darauf hinweist, dass die Zytokin-Konzentrationen von Person zu Person sehr unterschiedlich ausfallen können. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die bei Anwendung von ACS gezeigten klinischen und präklinischen Wirkungen nicht einzelnen Bestandteilen zuzuschreiben sind, sondern dass vielmehr alle im ACS auftretenden Faktoren synergistisch zur Wirkung beitragen. Die Stratifikation der Patienten einer Studie zur Gonarthrose beim Menschen^[34] ergab zudem keine Korrelation zwischen den gemessenen IL-1Ra-Spiegeln im ACS und der therapeutischen Wirkung. Daher hängt die IL-1Ra-Konzentration allein möglicherweise nicht signifikant mit dem Behandlungsergebnis zusammen. Wenn man berücksich-

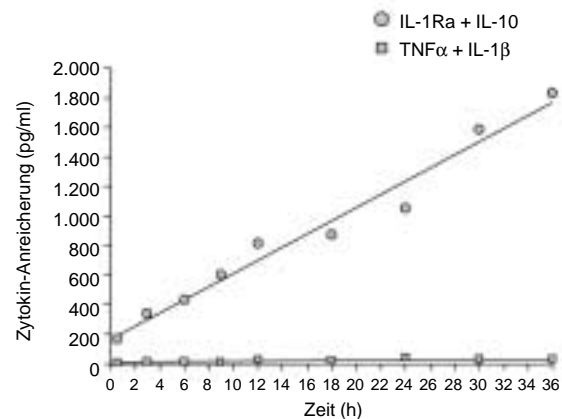


Abb. 2. Zeitlicher Verlauf der Zytokin-Induktion mit dem Orthokin®-System. Während der Inkubation des venösen Vollbluts im geschlossenen Behältnis der 10-ml-Orthokin®-Spritze reichern sich die Zytokine in der Serumfraktion an. Das dargestellte Experiment zeigt die selektive und signifikante Zunahme der Konzentrationen von Interleukin-(IL)-1-Rezeptorantagonist (IL-1Ra) und IL-10 im Vergleich zur Gesamtkonzentration an Tumornekrosefaktor-alpha (TNFα) und IL-1β. TNFα und IL-1β bleiben relativ stabil. Für jeden Zeitpunkt gab es 19 unabhängige Proben. Die Linie wurde auf das Diagramm gelegt und verdeutlicht den Trend.

tigt, dass sich viele weitere Zytokine (Wachstumsfaktoren) im Serum anreichern, so leuchtet ein, dass die in den hier vorgestellten Studien beobachteten klinischen Wirkungen partiell auf endogene Wundheilungsmechanismen zurückzuführen sind, die durch die Exposition von Blutzellen mit „fremden“ Oberflächen aktiviert werden, welche wiederum Mechanismen wie die Gerinnungskaskade oder reparative Prozesse im Gewebe induzieren.

3. ACS bei Tieren

3.1 Kontrolliertes Arthrose -Modell bei Pferden

Gelenkerkrankungen und speziell die Arthrose gehören zu den häufigsten und am meisten invalidisierenden Erkrankungen bei Pferden. Es gibt ein experimentelles Arthrose-Modell an Pferden, das seit > 10 Jahren eingesetzt wird und an dem die pathophysiologischen Prozesse und biologischen Marker der Erkrankung untersucht werden bzw. die Wirksamkeit therapeutischer Substanzen kontrolliert beurteilt wird.^[34-37] Eine von der Colorado State University unternommene Studie untersuchte an 16 Pferden die klinischen, biochemischen und histologischen Auswirkungen der intraartikulären Verabreichung von ACS bei der Behandlung der experimentell induzierten Arthrose.^[34]

Bei allen 16 Pferden wurde im mittleren Karpalgelenk arthroskopisch eine Arthrose induziert. Bei 8 mit Placebo und 8 mit ACS behandelten Pferden wurden an den Tagen 14, 21, 28 und 35 jeweils 6 ml ACS bzw. 6 ml einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung (Placebo) in das betroffene Gelenk injiziert. In das Gelenk der Gegenseite, das einer Schein-Operation unterzo-

Tabelle 1. Gehalt von humanem Autologem Conditioniertem Serum (ACS) an Zytokinen und Wachstumsfaktoren bei Einsatz von 10 ml Vollblut im Orthokin®-System. Das System ist dahingehend optimiert, dass die Anreicherung proinflammatorischer Mediatoren begrenzt wird. Die Liste der in ACS vorhandenen Zytokine ist wahrscheinlich sehr viel länger als die Anzahl der in diesem Experiment bestimmten. Zu beachten sind die großen Standardabweichungen (SD) der einzelnen nachgewiesenen Durchschnittskonzentrationen, die darauf hinweisen, dass die Zytokin-Konzentrationen große individuelle Schwankungen aufweisen. Sofern nicht anders angegeben, stammen die Werte aus Bestimmungen am Serum und/oder nicht weiter spezifizierten Plasmaproben.^a

Zytokine											
	IL-1Ra	IL-1β	IL-6	TNFα	IL-10	FGFb	VEGF	HGF	IGF1	PDGFAB	TGFβ
Anzahl der Patienten	224	224	200	92	92	92	92	92	92	92	80
Konzentration (pg/ml) vor der Inkubation (0 Stunden)											
Ausgangswert ^b	236	< 3,9	< 12,5	< 15,6	< 7,8	14,6	61	431	86.000	205	1.165
Konzentration (pg/ml) nach der Inkubation (6 Stunden)											
Durchschnittswert	2.014,8	7,9	28,7	10,1	33,4	26,6	508,6	1.339,3	117.208,8	39.025,6	97.939,0
SD	4.381,1	8,7	48,1	9,6	18,9	20,8	307,7	928,7	51.644,4	10.515,8	113.418,3
Minimum	390,3	1,4	0,9	3,0	4,1	2,8	114,1	691,4	37.430,0	19.601,0	13.067,0
Maximum	31.057,0	48,9	250,2	69,7	105,0	104,5	1.694,0	6.473,0	440.000,0	66.208,0	823.000,0

^a Alle Bestimmungen erfolgten mit Hilfe von Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assays (ELISA; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Die Ausgangswerte sind die Normalwerte von gesunden Spendern und wurden vom Hersteller des Kits bestimmt. Das Serum wurde aus 10 ml Vollblut gewonnen.

^b Bei allen Ausgangswerten, die mit einem „<“-Zeichen angegeben sind, handelt es sich um die untere Empfindlichkeitsgrenze des Testkits. Die Messgenauigkeit unterhalb dieser Werte ist nicht optimal.

FGFb = Fibroblastenwachstumsfaktor-b; **HGF** = Hepatozytenwachstumsfaktor; **IGF1** = Insulin-Like Growth Factor-1; **IL** = Interleukin; **PDGF** = Platelet-Derived Growth Factor; **TGFβ** = Transforming Growth Factor-β; **TNFα** = Tumornekrosefaktor-α; **VEGF** = Vascular Endothelial Growth Factor.

gen worden war, wurde allein die phosphatgepufferte Kochsalzlösung injiziert. Es erfolgten die klinische Beurteilung der Lahmheit und eine Untersuchung der Synovialflüssigkeit (zweiwöchentlich). Bei der Obduktion wurden Knorpel- und Synovialmembran-Proben makroskopisch und histologisch untersucht. Behandlungsabhängige unerwünschte Ereignisse wurden nicht beobachtet. Bei den mit ACS behandelten Pferden war eine signifikante klinische Besserung der Lahmheit zu beobachten, die bei den mit Placebo behandelten Pferden nicht festzustellen war (Abbildung 3).

Die Untersuchung der Synovialflüssigkeit zeigte in den Gelenken, die mit ACS behandelt worden waren, eine Zunahme des prozentualen Anteils der neutrophilen und der Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen. So betrug der prozentuale Anteil der Neutrophilen in den mit ACS behandelten Arthrose-Gelenken 11,4 % und in den einer Schein-Operation unterzogenen Gelenken 6,8 %. Dieser Unterschied wurde als klinisch nicht signifikant bewertet.

Die IL-1Ra-Konzentration in der Synovialflüssigkeit (gemäß Bestimmung unter Anwendung von humanen Anti-IL-1Ra-Antikörpern) wurde durch die Induktion der Arthrose und die Behandlung mit ACS im Studienverlauf nicht verändert. Wurde die IL-1Ra-Konzentration in der Synovialflüssigkeit unter Anwendung von Anti-IL-1Ra-Antikörpern der Maus bestimmt,

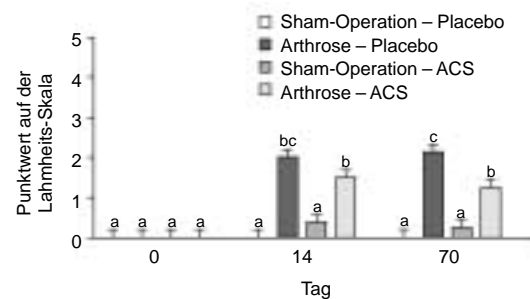


Abb. 3. Punktwert auf der Lahmheits-Skala (0–5, wobei 0 einen normalen Gang und 5 starke Lahmheit anzeigt), der den mittleren Karpalgelenken von 16 Pferden zugeteilt wurde, die in einer Studie zu den klinischen und histologischen Auswirkungen einer intraartikulären Verabreichung von zellfreiem, Autologem Conditioniertem Serum (ACS) bei der Behandlung einer experimentell induzierten Arthrose untersucht wurden. Bei allen Pferden wurde an einem Mediokarpalgelenk eine Arthrose induziert (arthrotische Gelenke) und am anderen eine Schein-Operation vorgenommen (Gelenke mit Schein-Operation). Die Pferde erhielten entweder eine ACS-Therapie des arthrotischen Gelenks und eine Placebo-Therapie (phosphatgepufferte Kochsalzlösung) des Gelenks mit der Schein-Operation (n = 8) oder eine Placebo-Therapie beider Gelenke (n = 8). Die Bewertungen erfolgten bei Studienbeginn (Tag 0; vor Induktion der Arthrose), nach Bildung eines osteochondralen Fragments und Arthrose-Induktion, aber vor der Behandlung (Tag 14) sowie am Studienende 35 Tage nach der letzten Behandlung (Tag 70). **a–c** Unterschiedliche Buchstaben zeigen eine signifikante (p < 0,05) Differenz zwischen den Säulen an (d. h. **a** unterscheidet sich signifikant von **b** und **c**; **b** und **c** unterscheiden sich signifikant voneinander und von **a**, wenn auf getrennten Säulen angegeben) [Wiedergabe nach Frisbie et al.,^[34] mit Genehmigung].

fielen die aus beiden Gelenken berechneten Mittelwerte bei den mit ACS behandelten Pferden an den Tagen 35 und 70 signifikant höher aus ($p = 0,005$) als die aus beiden Gelenken berechneten Mittelwerte bei den mit Placebo behandelten Pferden (Abbildung 4). In einem früheren Bericht^[33] zur ACS-Herstellung aus menschlichem Blut, in dem die gleiche Methode verwendet wurde wie in unserer Studie, kam es zu einer signifikanten Zunahme von IL-1Ra und wahrscheinlich auch anderer entzündungshemmender Faktoren in den Serumproben. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Anti-IL-1Ra-Antikörper der Maus für die Bestimmung der IL-1Ra-Konzentration in solchen Proben besser geeignet sind als die humanen IL-1Ra-Antikörper. In einer früheren Studie untersuchten Frisbie et al.^[38] die Applikation von equinem IL-1Ra mittels Gentherapie unter Anwendung eines Enzyme-Linked-Immunesorbent-Assays (an dem humane Anti-IL-1Ra-Antikörper beteiligt waren) und fanden heraus, dass die IL-1Ra-Konzentrationen in der Synovialflüssigkeit um eine Größenordnung mehr angestiegen waren als in der vorliegenden Studie. Obwohl das Gentherapieprotokoll bekanntermaßen effektiver ist, hat es auf der Basis der Maus-Antikörper den Anschein, dass die ACS-Therapie beim Pferd die Menge an equinem IL-1Ra-Protein sicherlich erhöht. Wir unternehmen derzeit weitere Arbeiten, um dies massenspektroskopisch zu bestätigen.

Eine weitere interessante Beobachtung dieser Studie ist, dass die durchschnittliche IL-1Ra-Konzentration in der Synovialflüssigkeit aller Gelenke der mit ACS behandelten Pferde im Vergleich zu den Werten aller Gelenke bei den mit Placebo behandelten Tieren mit

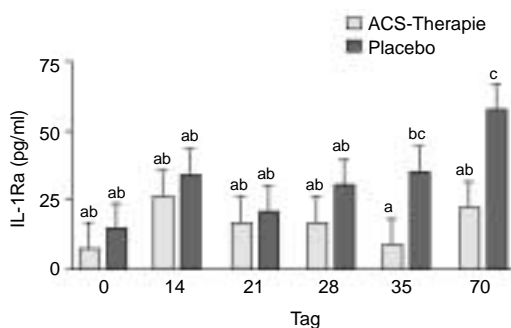


Abb. 4. Konzentrationen des equinen Interleukin-1-Rezeptorantagonisten (IL-1Ra) [Schätzung mit Hilfe von Maus-Anti-IL-1Ra-Antikörpern] in der Synovialflüssigkeit der unter Abbildung 3 beschriebenen Pferde in den angegebenen Zeiträumen während einer 70-tägigen Studie zu den klinischen und histologischen Auswirkungen einer intraartikulären Verabreichung von zellfreiem, Autologem Conditioniertem Serum (ACS) bei der Behandlung der experimentell induzierten Arthrose. Bei den angegebenen Werten handelt es sich um die durchschnittlichen IL-1Ra-Konzentrationen sowohl der arthrotischen Gelenke als auch der Gelenke mit Schein-Operation bei den mit ACS oder Placebo behandelten Pferden. **a** unterscheidet sich signifikant ($p < 0,05$) von **bc** und **c**, aber nicht von **ab**; **c** unterscheidet sich signifikant von **ab** und **a**, aber nicht von **bc**. **bc** unterscheidet sich nicht signifikant von **ab** (Wiedergabe nach Frisbie et al.,^[34] mit Genehmigung).

der Zeit signifikant zunahm. Diese Differenz wurde an Tag 35 deutlich und war auch an Tag 70 noch nachweisbar. Auch wenn die IL-1Ra-Konzentration in den arthrotischen Gelenken, in die ACS direkt injiziert wurde, numerisch am höchsten war, scheint der Anstieg der IL-1Ra-Konzentration in der Synovialflüssigkeit ein systemisches Ereignis gewesen zu sein. Vergleichbares ließ sich auch nach Gentransfer von equinem IL-1Ra beobachten.^[38] Diese Daten könnten darauf hinweisen, dass die Verabreichung von IL-1Ra die endogene IL-1Ra-Produktion stimuliert.

Bei der Obduktion zeigte sich auch der Gesamtscore für Gelenkknorpelerosionen und Synovialmembranhämorrhagien in den mit ACS behandelten Gelenken verbessert (d. h. er hatte von $4,2 \pm 0,6$ auf $2,9 \pm 0,6$ abgenommen), allerdings war diese Differenz nicht signifikant ($p = 0,093$). Die histologische Untersuchung der Synovialmembran zeigte in den mit ACS behandelten arthrotischen Gelenken eine signifikante Abnahme der Intimahyperplasie (Score: $0,4 \pm 0,3$) im Vergleich zu den mit Placebo behandelten arthrotischen Gelenken (Score: $1,3 \pm 0,3$).

Die Ergebnisse dieser Studie (der ersten kontrollierten Studie an Pferden) zeigen, dass es in den arthrotischen Gelenken der Pferde nach der Behandlung mit ACS im Vergleich zu Placebo zu signifikanten klinischen und histologischen Verbesserungen kam. Auf der Grundlage dieser Ergebnisse sind weitere kontrollierte klinische Studien zu dieser Behandlung gerechtfertigt. Parallel dazu sollte der Wirkmechanismus von ACS weiter untersucht werden.^[39]

3.2 Behandlung von Muskelverletzungen durch lokale Verabreichung von Conditioniertem Serum bei Mäusen

Wright-Carpenter et al. berichteten über experimentelle und klinische Ergebnisse durch die lokale Verabreichung Conditionierten Serums im Rahmen der Behandlung von Muskelverletzungen bei Tieren und Menschen.^[40,41]

Muskelverletzungen machen einen Großteil der Sportverletzungen aus und sind eine Herausforderung für die Traumatologie. Belastungsverletzungen und Kontusionen sind häufige Muskelverletzungen. Sie können zu starken Schmerzen und (manchmal) bleibender Invalidität führen. Trotz der Häufigkeit von Belastungsverletzungen sind herkömmliche Behandlungsmethoden limitiert und im Allgemeinen nicht ausreichend, um eine Muskelregeneration effizient zu beschleunigen, wenn die schnelle Wiederaufnahme der sportlichen Aktivität ein primäres Ziel ist (z. B. bei Profisportlern). Bei der Geweberegeneration spielen mehrere Wachstumsfaktoren eine spezifische Rolle, die jedoch, wenn sie für die systemische Anwendung in Apotheken erhältlich sind, mit dem Problem behaftet sind, Doping-relevant zu sein. Darüber hinaus müssen rekombinante Wachstumsfaktoren in eher hohen Dosen verabreicht werden und sind mit dem Risiko von Nebenwirkungen verbunden. Mit Hilfe der Orthokin^{®1}-Technologie hergestelltes ACS enthält im Vergleich zu den Ausgangswerten im

1 Die Verwendung von Handelsnamen dient lediglich der Produktidentifikation und bedeutet keine Unterstützung.

Plasma erhöhte Konzentrationen nicht nur an Zytokinen, sondern auch an Wachstumsfaktoren. Die therapeutischen Konzentrationen liegen im physiologischen Bereich und bei lokaler Verabreichung ist bei diesen niedrigen lokalen Konzentrationen (im Vergleich zu systemischen rekombinanten Wachstumsfaktoren) keine systemische Belastung für den Patienten zu verzeichnen. Aus diesem Grund wird erwartet, dass das Gesundheitsrisiko niedrig und im Hinblick auf leistungssteigernde Substanzen nicht Doping-relevant ist. Die von Wright-Carpenter und Mitarbeitern^[40,41] im Maus-Serum gemessenen Faktoren zeigten einen Anstieg nach der Inkubation über 24 h.

In einer kontrollierten tierexperimentellen Studie an Mäusen und in einer Patientenbeobachtung an Profisportlern wurden die Probanden mit ACS oder Placebo (Mäuse) bzw. ACS oder der häufig verwendeten Kombination Actovegin® (einem deproteinierten Hämoderivat von Kalbsblut [Nycomed; Roskilde, Dänemark]) und Traumeel® (einem homöopathischen Präparat [Biologische Heilmittel Heel GmbH; Baden, Deutschland]) behandelt.² Ziel war die Untersuchung der Fragestellung, ob ACS die Regeneration von geschädigtem Muskelgewebe im Vergleich zu Kochsalzlösung (bei Mäusen) oder dem „Standard of Care“ (bei Athleten) beschleunigt. Das Design der beiden Studien wurde im Detail von Wright-Carpenter et al. beschrieben.^[40,41]

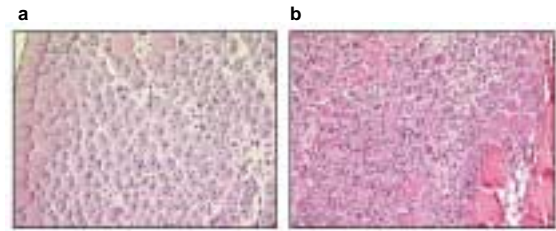


Abb. 5. Histologische Darstellung des Regenerationsprozesses im Maus-Modell der Muskelkontusion. Bei den Bildern handelt es sich um mit Hämatoxylin + Eosin + Saffranin angefärbte Schnitte des Musculus gastrocnemius (Vergrößerung: 100fach), die an Tag 7 nach der Verletzung angefertigt wurden: (a) mit zellfreiem, autologem, conditioniertem Serum (ACS) behandelt; (b) mit Kochsalzlösung behandelt. Der prozentuale Anteil von regenerierenden Muskelfasern mit kleinem Durchmesser ($< 7,84 \mu\text{m}$) war bei den Kontrollen (b) größer als bei den mit ACS behandelten Tieren (a) [42,92 vs. 12,58 %; $p < 0,001$]. In (a) weisen mehr Zellen einen großen Durchmesser auf ($> 7,84 \mu\text{m}$) als regenerierende Muskelfasern. Zu sehen sind auch normale gesunde Muskelfasern, das Endomysium und das Granulationsgewebe. Darüber hinaus ist im mit Kochsalzlösung behandelten Gewebe ein größerer prozentualer Anteil an nekrotischem Muskelgewebe zu erkennen als im mit ACS behandelten Gewebe. Beide Kriterien treffen auch für die Tage 6 und 8 nach der Verletzung zu. Die Gewebe glichen sich nach 21 Tagen. Die ACS-Gruppe wies eine deutlich höhere Regenerationsgeschwindigkeit auf.

4. ACS in klinischen Studien am Menschen

4.1 Pilot-Studie zur Muskelregeneration bei Athleten

In einer Studie von Wright-Carpenter et al.^[41] wurden zwei Gruppen von Profisportlern (Fußball, Basketball, Eishockey) mit unterschiedlichen Muskelverletzungen unverblendet und nicht randomisiert intraläsional entweder mit dem „Standard of Care“ ($n = 11$) Actovegin® + Traumeel® (5 ml) oder mit ACS-Injektionen ($n = 18$; 2,5 ml + 2,5 ml Kochsalzlösung) behandelt. Zusätzlich erhielten beide Gruppen das Standardprogramm aus Physiotherapie, Lymphdrainage und Massage. Darüber hinaus wurde als oraler Entzündungshemmer Bromelain/Trypsin/Rutosid (Phlogenzym®, Mucos Pharma, Berlin, Deutschland) verabreicht. Der Therapieerfolg war definiert als Leistungsfähigkeit von 100 % unter Wettkampfbedingungen, wobei die Bewertung sowohl durch den Physiotherapeuten als auch durch den Profisportler selbst erfolgte. Der Behandlungsfortschritt wurde zwischen Tag 14 und Tag 16 nach Behandlungsbeginn mittels MRT dokumentiert. In keiner der Gruppen wurden lokale oder systemische Nebenwirkungen nachgewiesen. Die Ergebnisse zeigten einen starken Trend hin zu einer kürzeren Genesungszeit in der ACS-Gruppe im Vergleich zum „Standard of Care“ (Tabelle II); die Genesungszeit (in Tagen) war bei den mit ACS behandelten Athleten um fast ein Drittel verkürzt. Dies ist ein wichtiger Befund, da Trainingspausen bei Athleten zu einem massiven Verlust an Muskelmasse und Fitness führen können. Die kürzere

3.3 Experimentelles Muskelkontusions-Modell an Mäusen

Das hier beschriebene Modell wurde von Lefaucheur und Sebillé veröffentlicht.^[42] Das experimentelle Muskelverletzungsmodell der Maus bestand aus einer 16,3 g schweren Stahlkugel, die aus einer Höhe von 1 m auf den Musculus gastrocnemius einer Testmaus fiel. Die Mäuse wurden 2, 24 und 48 Stunden nach der Verletzung mit einer intraläsionalen Injektion von 10 μl entweder Conditioniertem Serum oder Kochsalzlösung behandelt und zu für die Muskelhistologie relevanten Zeitpunkten getötet.

Die histologische Untersuchung des mit Conditioniertem Serum oder Kochsalzlösung behandelten verletzten Muskels ergab am 7. Tag nach der Verletzung einen deutlichen Unterschied zwischen den beiden Gruppen, der eindeutig die stark beschleunigte Gewebeheilung in der Gruppe mit dem Conditionierten Serum nachwies (Abbildung 5). An Tag 21 sah der gequetschte Muskel in der Gruppe mit dem Conditionierten Serum und in der Kochsalzgruppe wieder ähnlich aus. Diese Experimente zeigen, dass die ACS-Therapie ein wirksames Instrument für die Beschleunigung der Heilung von Muskelkontusionen ist (Abbildung 5). Nebenwirkungen wurden nicht verzeichnet. Von den nachgewiesenen Wachstumsfaktoren waren in der Gruppe mit dem Conditionierten Serum im Vergleich zur Gruppe mit frischem Serum insbesondere der Fibroblast Growth Factor (FGF-2) und der Transforming Growth Factor- $\beta 1$ erhöht.

² Actovegin® und Traumeel® sind komplexe biologische Präparate; für den arzneilich wirksamen Bestandteil gibt es keine generische Bezeichnung.

Tabelle II. Genesungszeit (Wiederaufnahme des vollen Trainings) bei einzelnen Athleten, die wegen eines Muskelfaserrisses mit Autologem Conditioniertem Serum (ACS) oder Actovegin®/Traumeel® (A/T)^a behandelt worden waren. Alle Behandlungen einschließlich der ACS-Injektionen erfolgten durch Platzierung von 5 Nadeln entlang der verletzten Stelle und Injektion von 1 ml Medikation je Nadel. Diese Maßnahme wurde im Allgemeinen jeden zweiten Tag wiederholt, bis insgesamt 5–6 Applikationen erreicht waren. In der A/T-Gruppe betrug die durchschnittliche Anzahl der Behandlungen 8–9.

Muskel	Genesungszeit (Tage)	
	ACS-Gruppe (n = 18) ^b	A/T-Gruppe (n = 11) ^b
Ischiokrurale Muskulatur	12, 14, 16, 17, 18, 21	16, 18, 23, 24, 28
Adduktoren	10, 15, 17, 18, 21, 23	19, 24, 25, 26
Iliopsoas	17, 21	24
Gluteus	20	
Schräge Bauchmuskulatur	8	
Gastrocnemius	14	
Rectus femoris	16	18
Mittelwert	16,6	22,3
Standardfehler	0,9	1,2

a Actovegin® (Nycomed) ist ein deproteinisiertes Hämoderivat von Kalbsblut, das durch Ultrafiltration erhalten wird und den Stoffwechsel anregen soll. Traumeel® (Biologische Heilmittel Heel GmbH) ist ein homöopathisches Kombinationspräparat. Beide Substanzen finden in Deutschland im Rahmen der Sportmedizin bei orthopädischen Problemen wie Muskelverletzungen breite Anwendung und wurden daher als „Standard of Care“ betrachtet.

b Die Genesungszeit ist für jeden einzelnen Athleten mit der jeweiligen Verletzung angegeben (d. h. 6 mit ACE behandelte Athleten und 5 mit A/T behandelte Athleten wiesen Risse im Bereich der ischiokruralen Muskulatur auf).

Genesungszeit verkürzt die für ein Erreichen der vollen Leistungsfähigkeit notwendige Aufbauphase des Trainings stark, was bei Profisportlern sehr wichtig ist.

Die ACS-Therapie bietet eine effektive Methode, verletzungsbedingte Trainingspausen bei Berufssportlern zu verkürzen. Da es sich um eine autologe Therapie handelt und die Zytokin- und Wachstumsfaktor-Konzentrationen im physiologischen Bereich bleiben, ist das Nutzen-/Risiko-Verhältnis ausgezeichnet.

In Planung sind klinische Studien, die Auskunft darüber geben sollen, ob die Ergebnisse dieser initialen Beobachtungen an einer größeren Kohorte bestätigt werden können. Zusammenfassend ist die Injektion von ACS in verletztes Muskelgewebe effektiv, wird gut vertragen und beschleunigt bei Labormäusen und Athleten die Muskelregeneration. In weiteren randomisierten klinischen Studien sollte die optimale Behandlungsfrequenz bei Muskelverletzungen bestimmt werden.

4.2 Randomisierte klinische Studien

4.2.1 Gonarthrose

Vor kurzem wurden auf dem Treffen der American Academy of Orthopedic Surgeons (AAOS) 2007 in San Diego die ersten Daten

zur klinischen Wirksamkeit und Sicherheit von ACS aus einer randomisierten kontrollierten Studie (GOAT, German Osteoarthritis Trial; Universität Düsseldorf, Deutschland) vorgestellt.^[43] Die Intention-to-treat-Analyse der prospektiven, randomisierten, Patienten- und Beobachter-verblindeten Studie mit drei parallelen Gruppen, in der intraartikuläre ACS-Injektionen mit intraartikulären Injektionen von Hyaluronsäure (Hya-ject®; Ormed, Freiburg, Deutschland) und Placebo (Kochsalz) verglichen wurden, schloss Patienten mit radiologisch verifizierter Gonarthrose ein (n = 376). Die Wirksamkeit wurde nach 7 Wochen, 3 und 6 Monaten über validierte, vom Patienten ausgefüllte Messinstrumente (WOMAC, Western Ontario and McMaster University Arthritis Index, und VAS, visuelle analoge Schmerzskala) beurteilt. Häufigkeit und Schweregrad von unerwünschten Ereignissen dienten als Sicherheitsparameter. An dieser Stelle berichten wir über die sekundäre Analyse der erhobenen klinischen Daten zur Wirksamkeit der Behandlung (WOMAC-Responder-Kriterien gemäß einer von Bellamy et al.^[44] beschriebenen Methode).

Die Studie schloss Patienten im Alter von über 30 Jahren ein, die sich einverstanden erklärten, für mindestens 6 Monate alle Analgetika und NSAR abzusetzen. Alle Patienten litten zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie seit mindestens 3 Monaten an einer idiopathischen Arthrose gemäß ACR-(American College of Rheumatology)-Kriterien^[45] und wiesen radiologische Gonarthrose-Zeichen vom Grad 2 oder 3 nach Kellgren-Lawrence^[46] und einen Schmerzscore bei Belastung von mindestens 50 mm auf einer VAS von 100 mm auf. Um den Schweregrad der Schmerzen zu beurteilen, wurden die Analgetika und die entzündungshemmende Medikation vor Beginn der Behandlung mit der Studienmedikation abgesetzt. Die Auswaschphase betrug vom Einschluss in die Studie bis zur ersten Injektion 2 Wochen. Im Rahmen dieser Auswaschphase und während der Studie durften die Patienten falls erforderlich als Bedarfsmedikation Paracetamol (bis zu 8 x 500 mg = 4 g/Tag) anwenden, was auch für Schmerzen anderer Lokalisation verwendet werden konnte.

Die Auswertung der primären und sekundären Parameter und der Sicherheitsdaten erfolgte an der ITT-Population, die alle Patienten einschloss, die mindestens eine intraartikuläre Injektion erhalten hatten. Dabei wurde die Last-Observation-Carried-Forward-Methode verwendet. Bei jedem Studienbesuch wurden Daten zur Verträglichkeit der drei verabreichten Substanzen im Hinblick auf etwaige, seit dem vorherigen Studienbesuch aufgetretene, unerwünschte Ereignisse erhoben. Unerwünschte Ereignisse mit Lokalisation im injizierten Kniegelenk waren definiert als Schmerzen, Schwellung oder Erguss und wurden als solche dokumentiert, obwohl es sich hierbei auch um Symptome der Arthrose handeln könnte. Die Studie wurde im Einklang mit den Prinzipien der Guten Klinischen Praxis und der Deklaration von Helsinki durchgeführt und durch die regionalen Ethikkommissionen genehmigt. Die Prüfarzte erhielten von allen Patienten

vor dem Einschluss in die Studie eine unterschriebene Einverständniserklärung.

In der Zeit vom 8. Oktober 2003 bis zum 30. Juli 2004 wurden 376 Patienten randomisiert und mit mindestens einer intraartikulären Injektion behandelt. Die mit dem ACS-Schema behandelten Studienteilnehmer erhielten über 3 Wochen zweimal wöchentlich eine Gesamtzahl von 6 Injektionen von 2 ml, diejenigen des Hyaluronsäure- und Placeboarms über eine Behandlungsphase von insgesamt 3 aufeinander folgenden Wochen einmal wöchentlich eine Gesamtzahl von 3 Injektionen von 2 ml sowie 3 Termine für Salbenbehandlung (je einmal wöchentlich). Wegen ihrer unterschiedlichen Viskosität konnten die Studienbehandlungen während der Anwendung vom behandelnden Arzt (nicht jedoch vom Patienten) identifiziert werden. Aus diesem Grund wurde die Technik des verblindeten Beobachters angewandt, um die doppelte Verblindung aufrechtzuerhalten. Ein Prüfarzt verabreichte die Injektionen und ein weiterer, unabhängiger Untersucher, der nicht an der Therapie beteiligt war (maskierter Beobachter), untersuchte die Wirksamkeit und Sicherheit bei dem gleichen Patienten. Auf diese Weise kannten weder Patient noch Untersucher die Art der Behandlung. Patienten und Beobachter blieben über den gesamten Studienzeitraum verblindet.

Die 26-wöchige Studie wurde bei 345 Patienten (345 Knie) protokollgemäß abgeschlossen. In allen Behandlungsgruppen bewirkten die intraartikulären Injektionen eine signifikante Reduktion des WOMAC-Scores. Allerdings war das Ansprechen auf ACS signifikant größer. Die Rate an Therapierespondern auf das ACS war sowohl im Vergleich zu Hyaluronsäure als auch im Vergleich zu Placebo im Hinblick auf den WOMAC-Gesamtscore zu allen Zeitpunkten statistisch signifikant. Deskriptiv waren in Woche 26 die Anzahl und der prozentuale Anteil der Patienten mit einer Symptombesserung um 50 % (gemäß WOMAC-

Tabelle III. Anzahl und prozentualer Anteil der Patienten ($n = 376$)^a mit einer Verbesserung um mehr als 20, 36, 50 und 70 % gegenüber den Ausgangswerten nach 26 Wochen in einer Studie zur intraartikulären Verabreichung von zellfreiem, Autologem Conditioniertem Serum (ACS) im Vergleich zu Hyaluronsäure und Kochsalzlösung bei der Behandlung der Gonarthrose (GOAT, German Osteoarthritis Trial).^[43] Zu beachten ist, dass 57 % der Patienten der ACS-Gruppe eine Verbesserung um ≥ 50 % erfuhren, während dies für Hyaluronsäure bei 29 % und für Kochsalzlösung bei 28 % der Fall war. Die Differenz zwischen ACS und den beiden Kontrollgruppen ist für alle Vergleiche statistisch signifikant ($p > 0,01$).

Verbesserung (%) ^b	Anzahl der Patienten (%)		
	ACS	Hyaluronsäure	Kochsalzlösung
20	105 (78)	66 (49)	46 (43)
36	91 (68)	45 (33)	39 (36)
50	76 (57)	39 (29)	30 (28)
70	51 (38)	26 (19)	15 (14)

a Intention-to-treat-Population.

b Kategorie der Verbesserung, bestimmt mit Hilfe des globalen „Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index“ (WOMAC) [modifizierte Methode von Bellamy et al.^[44]] nach Behandlungsgruppe.

Gesamtscore) gegenüber den Ausgangswerten in der ACS-Gruppe eindeutig am höchsten (Tabelle III). Die mittlere Verbesserung fiel bei den mit Hyaluronsäure und Kochsalz behandelten Patienten geringer aus als bei den Patienten der ACS-Gruppe ($p < 0,001$). Zwischen der Behandlung mit Hyaluronsäure und den Kochsalz-Injektionen wurden keine signifikanten Unterschiede beobachtet ($p > 0,05$).

Die Häufigkeit unerwünschter Ereignisse war in der ACS-Gruppe und in der Placebo-Gruppe vergleichbar ($p > 0,05$), während in der Hyaluronsäure-Gruppe signifikant mehr unerwünschte Ereignisse zu verzeichnen waren (Vergleich zwischen ACS und Kochsalz: $p > 0,05$). Es traten allein lokale Nebenwirkungen auf. In dieser Untersuchung kam es zu keinen Infektionen.

Die Studie zeigt, dass ACS nach 6 Monaten eine ausgeprägte klinische und relevante therapeutische Wirkung auf die wichtigsten Symptome der Gonarthrose hat. Die geringe Zahl der beschriebenen unerwünschten Ereignisse unterstreicht die Verträglichkeit dieser Behandlungsform. Wegen des autologen Ursprungs ist das potenzielle Risiko für das Auftreten von Nebenwirkungen nach einer Behandlung mit dem Conditionierten Serum minimal. Die Ergebnisse zeigen, dass ACS bei der Behandlung der chronischen Gonarthrose hoch wirksam und gut verträglich ist. Es ist Hyaluronsäure und Placebo signifikant überlegen.

4.2.2 Ischiasbeschwerden und Lumbalgie

In den letzten zehn Jahren wurde zunehmend deutlich, dass lumbaler radikulärer Schmerz und Ischiasbeschwerden nicht allein auf biomechanische Mechanismen zurückzuführen sind. Für das Auftreten von Schmerzen und einer Radikulopathie sind auch biochemische Faktoren von Bedeutung, so dass ACS im Rahmen dieser Behandlung von Nutzen sein könnte.

Eine prospektive, randomisierte, patienten- und beobachterverblindete, referenzkontrollierte, monozentrische Studie untersuchte die potenzielle therapeutische Wirksamkeit und Sicherheit von ACS bei Patienten mit lumbaler Wurzelkompression ($n = 84$).^[47,48] Die klinische Diagnose der unilateralen Nervenwurzelkompression wurde mittels MRT oder CT verifiziert. Bei den auswertbaren Patienten betrug die Schmerzdauer mindestens 6 Wochen und die Schmerzintensität war mittelstark bis stark. Patienten, die einen operativen Eingriff benötigten, wurden vor Eintritt in die Studie ausgeschlossen. Die Beobachtungsphase dauerte 6 Monate. Als Vergleichssubstanz diente Triamcinolon 5 und 10 mg, da dies ein weit verbreiteter Standard für Injektionen im Bereich der Wirbelsäule ist.

Nach einer 2-wöchigen Phase der ACS-Herstellung wurden über 3 aufeinander folgende Wochen einmal wöchentlich nach der von Theodoridis et al.^[48] und Kraemer et al.^[49] beschriebenen Methode 2 ml der zugeteilten Studienmedikation (ACS, Triamcinolon 5 oder 10 mg) injiziert. Weder dem die Injektion vornehmenden Arzt noch dem Patienten wurde mitgeteilt, wel-

che Substanz injiziert wurde. Die Injektion erfolgte möglichst nah an die betroffene Nervenwurzel und deshalb unter Röntgenkontrolle, um die korrekte Lage der Nadel zu überprüfen. Insgesamt wurden 90 Patienten eingeschlossen und 84 ausgewertet: 32 mit ACS, 27 mit 5 mg Triamcinolon und 25 mit 10 mg Triamcinolon behandelte Patienten. Nachuntersuchungen waren 6 Wochen, 12 Wochen und 24 Wochen nach der ersten Injektion mittels objektiver und subjektiver Beurteilungsskalen (VAS, standardisierte klinische Untersuchungsparameter) geplant.

Die Gruppen waren bei Studienbeginn in Bezug auf Alter, Geschlecht, Symptombdauer und Ursache für die Kompressionszeichen (z. B. Bandscheibenhernie, Protrusion, Spinalstenose, Vernarbungen) ausgeglichen. Das Durchschnittsalter betrug 54 Jahre. Abbildung 6 zeigt die VAS der Schmerzintensität über die Zeit mit Mittelwerten und Standardabweichungen (SD). Die VAS zeigte bereits zwischen Zeitpunkt 1 und 2 in allen Behandlungsgruppen eine statistisch signifikante Reduktion. In den ersten 6–8 Wochen gab es keine Hinweise auf eine Differenz in der Schmerzreduktion zwischen den drei Behandlungsalternativen. Dagegen beschrieben die mit ACS behandelten Patienten noch 6 Monate nach der ersten Injektion eine weitere Schmerzlinderung, während die Patienten beider Steroidgruppen (5 und 10 mg) wieder eine Tendenz zur Schmerzzunahme zeigten. Zu schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen kam es nicht, und in den drei Behandlungsgruppen waren keine Nebenwirkungen zu verzeichnen. Infektionen traten in dieser Studie nicht auf. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass ACS bei der Behandlung von lumbaler radikulärer Schmerzen wirksam und sicher ist.

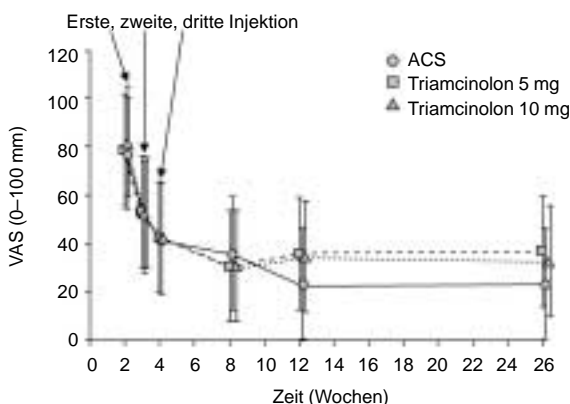


Abb. 6. Abnahme der Schmerzintensität (VAS, visuelle Analog-Skala) als Funktion der Zeit nach der Injektion unter drei unterschiedlichen Behandlungsmodalitäten bei 84 Patienten mit Ischiasbeschwerden.^[47] Entlang der VAS-Zeit-Kurve sind die Durchschnittswerte und die Standardabweichungen angegeben. Alle drei Injektionstherapien (Triamcinolon 5 mg in 2 ml [n = 27], Triamcinolon 10 mg in 2 ml [n = 25] und zellfreies Autologes Conditioniertes Serum [ACS] 2 ml [n = 32]) führten zu einer hoch signifikanten klinischen Verbesserung. Die langfristige Verbesserung (26 Wochen) war in der ACS-Gruppe der Behandlung mit 5 mg Triamcinolon signifikant überlegen.^[47]

5. Schlussfolgerung

Zusammenfassend erwies sich ACS auf der Grundlage der beschriebenen prospektiven, randomisierten, kontrollierten Studien als wirksame und gut verträgliche Behandlungsalternative der Gonarthrose des Menschen. Das Gleiche wird für Ischiasbeschwerden mit unilateraler lumbaler Wurzelkompression beschrieben.

Die autologe Herstellung von ACS mit Hilfe des Orthokin®-(Mensch) oder IRAP-Verfahrens (Pferd) führt reproduzierbar zu erhöhten Mengen an entzündungshemmenden Zytokinen und Wachstumsfaktoren. Beim Menschen war keine eindeutige und signifikante Korrelation zwischen den IL-1Ra-Konzentrationen und einer klinischen Besserung zu erkennen. Dies unterstreicht, dass IL-1Ra vielleicht für die Zusammensetzung des klinisch wirksamen Serums zwar eine Rolle spielt, jedoch nicht der einzige aktive Faktor im Serum ist. Im Entwicklungsprozess dieses neuen Therapiekonzepts wurde als Qualitätsparameter das Verhältnis von IL-1Ra zu IL-1 gewählt, um eine allgemeine entzündungshemmende Qualität des Conditionierten Serums zu gewährleisten.

Tabelle I gibt einen Überblick über eine Reihe weiterer in ACS vorhandener Faktoren. Vorläufige Ergebnisse der Massenspektroskopie (unveröffentlichte Daten) zeigen eine Verstärkung bestimmter Peaks, was auf ausgeprägtere Unterschiede in der Zusammensetzung des Serums hinweist als reine Fluktuationen im Nanogramm-Bereich mehrerer unterschiedlicher Zytokine. Auf diesem Gebiet sollten weitere Untersuchungen erfolgen.

Zusätzliche Applikationen von ACS im Bereich der Veterinärmedizin (z. B. bei Hunden) erfordern bestätigende Studien zur Wirksamkeit. Zur Muskelregeneration sollten weitere randomisierte kontrollierte Studien durchgeführt werden, um die Ergebnisse der klinischen Pilotstudie und der positiven Experimente an Mäusen zu bestätigen. Gleichzeitig sollten die Wirkmechanismen von ACS weiter untersucht werden.

Danksagungen

Prof. Dr. Wehling ist einer der Erfinder des Orthokin®-Verfahrens. Er arbeitet als Orthopäde am Zentrum für Molekulare Orthopädie in Düsseldorf. Er ist Vorstandsvorsitzender der Orthogen AG, Düsseldorf, die Patente für die beschriebene Technologie besitzt. Prof. Dr. Wehling besitzt Aktien der Orthogen AG. Er war nicht an den beschriebenen randomisierten klinischen Studien beteiligt.

Dr. Moser führte die GOAT-Studie (ACS-Studie zum Kniegelenk) als Angestellter der Orthopädischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf zusammen mit Dr. Axel Baltzer, S. Jansen und Prof. Dr. Krauspe durch. Derzeit arbeitet er bei der Orthogen AG, Düsseldorf.

Dr. Reinecke gehört zu den Erfindern des Orthokin®-Verfahrens. Er arbeitet als Molekularbiologe und geschäftsführender Direktor bei Orthogen Veterinary. Er besitzt Aktien der Orthogen AG, Düsseldorf.

Die Studie zur Gonarthrose des Menschen wurde von der Orthogen AG, Düsseldorf, finanziert. Die an der Colorado State University durchgeführte Studie an Pferden wurde von Arthrex, USA, und Orthogen finanziert.

Dr. Frisbie, Dr. McIlwraith und Dr. Kawcak erhielten für die Studie am experimentellen Pferde-Modell der Arthrose finanzielle Mittel von Arthrex, USA, und der Orthogen AG, Düsseldorf. Prof. Dr. Krauspe erhielt in der Anfangsphase vor Beginn der Gonarthrose-Studie von der Orthogen AG ein Beraterhonorar.

Literatur

- Puett DW, Griffin MR. Published trials of nonmedicinal and noninvasive therapies for hip and knee osteoarthritis. *Ann Intern Med* 1994 Jul 15; 121 (2): 133-40
- Buckwalter JA, Lohmander S. Operative treatment of osteoarthritis: current practice and future development. *J Bone Joint Surg Am* 1994 Sep; 76 (9): 1405-18
- Buckwalter JA, Mow VC, Ratcliffe A. Restoration of injured or degenerated articular cartilage. *J Am Acad Orthop Surg* 1994 Jul; 2 (4): 192-201
- Bradley JD, Brandt KD, Katz BP, et al. Comparison of an antiinflammatory dose of ibuprofen, an analgesic dose of ibuprofen, and acetaminophen in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med* 1991 Jul 11; 325 (2): 87-91
- Williams HJ, Ward JR, Egger MJ, et al. Comparison of naproxen and acetaminophen in a two-year study of treatment of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1993 Sep; 36 (9): 1196-206
- Dieppe P, Cushnaghan J, Jasani MK, et al. A two-year, placebo-controlled trial of non-steroidal anti-inflammatory therapy in osteoarthritis of the knee joint. *Br J Rheumatol* 1993 Jul; 32 (7): 595-600
- March L, Irwig L, Schwarz J, et al. N of 1 trials comparing a non-steroidal anti-inflammatory drug with paracetamol in osteoarthritis. *BMJ* 1994 Oct 22; 309 (6961): 1041-5; discussion 6
- Langman MJ, Weil J, Wainwright P, et al. Risks of bleeding peptic ulcer associated with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet* 1994 Apr 30; 343 (8905): 1075-8
- Garcia Rodriguez LA, Jick H. Risk of upper gastrointestinal bleeding and perforation associated with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet* 1994 Mar 26; 343 (8900): 769-72
- Bateman DN, Kennedy JG. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and elderly patients. *BMJ* 1995 Apr 1; 310 (6983): 817-8
- Bellamy N, Campbell J, Robinson V, Gee T, Bourne R, Wells G. Intraarticular corticosteroid for treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 (2): CD005328
- Baltzer AWA. Adverse event profile of NSAID in the treatment of musculoskeletal disorders. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 2003; 141: Oa369-71
- Petrella RJ, Petrella M. A prospective, randomized, double-blind, placebo controlled study to evaluate the efficacy of intraarticular hyaluronic acid for osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol* 2006 May; 33 (5): 951-6
- Arrich J, Piribauer F, Mad P, et al. Intra-articular hyaluronic acid for the treatment of osteoarthritis of the knee: systematic review and meta-analysis. *CMAJ* 2005 Apr 12; 172 (8): 1039-43
- Lo GH, LaValley M, McAlindon T, et al. Intra-articular hyaluronic acid in treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis. *JAMA* 2003 Dec 17; 290 (23): 3115-21
- Wang CT, Lin J, Chang CJ, et al. Therapeutic effects of hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee. A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Bone Joint Surg Am* 2004 Mar; 86-A (3): 538-45
- Bellamy N, Campbell J, Robinson V, et al. Viscosupplementation for the treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 (2): CD005321
- Goldring MB. Osteoarthritis and cartilage: the role of cytokines. *Curr Rheumatol Rep* 2000 Dec; 2 (6): 459-65
- Fukui N, Purple CR, Sandell LJ. Cell biology of osteoarthritis: the chondrocyte's response to injury. *Curr Rheumatol Rep* 2001 Dec; 3 (6): 496-505
- Polisson R. Innovative therapies in osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2001 Dec; 3 (6): 489-95
- Dinarello CA, Thompson RC. Blocking IL-1: interleukin 1 receptor antagonist in vivo and in vitro. *Immunol Today* 1991 Nov; 12 (11): 404-10
- Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991 Apr 15; 77 (8): 1627-52
- Granowitz EV, Clark BD, Mancilla J, et al. Interleukin-1 receptor antagonist competitively inhibits the binding of interleukin-1 to the type II interleukin-1 receptor. *J Biol Chem* 1991 Aug 5; 266 (22): 14147-50
- Firestein GS, Berger AE, Tracey DE, et al. IL-1 receptor antagonist protein production and gene expression in rheumatoid arthritis and osteoarthritis synovium. *J Immunol* 1992 Aug 1; 149 (3): 1054-62
- Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, et al. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 27-55
- Arend WP, Welgus HG, Thompson RC, et al. Biological properties of recombinant human monocyte-derived interleukin 1 receptor antagonist. *J Clin Invest* 1990 May; 85 (5): 1694-7
- Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist. *Adv Immunol* 1993; 54: 167-227
- Arend WP, Malyak M, Smith MF Jr, et al. Binding of IL-1 alpha, IL-1 beta, and IL-1 receptor antagonist by soluble IL-1 receptors and levels of soluble IL-1 receptors in synovial fluids. *J Immunol* 1994 Nov 15; 153 (10): 4766-74
- Arend WP, Malyak M, Bigler CF, et al. The biological role of naturally-occurring cytokine inhibitors. *Br J Rheumatol* 1991; 30 Suppl. 2: 49-52
- Arend WP, Joslin FG, Massoni RJ. Effects of immune complexes on production by human monocytes of interleukin 1 or an interleukin 1 inhibitor. *J Immunol* 1985 Jun; 134 (6): 3868-75
- Arend WP, Leung DY. IgG induction of IL-1 receptor antagonist production by human monocytes. *Immunol Rev* 1994 Jun; 139: 71-8
- Arend WP, Smith MF Jr, Janson RW, et al. IL-1 receptor antagonist and IL-1 beta production in human monocytes are regulated differently. *J Immunol* 1991 Sep 1; 147 (5): 1530-6
- Meijer H, Reinecke J, Becker C, et al. The production of anti-inflammatory cytokines in whole blood by physico-chemical induction. *Inflamm Res* 2003 Oct; 52 (10): 404-7
- Frisbie DD, Kawcak CE, Wery NM, et al. Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am J Vet Res* 2007; 68: 290-6
- Frisbie DD, Kawcak CE, Baxter GM, et al. Effects of 6alpha-methylprednisolone acetate on an equine osteochondral fragment exercise model. *Am J Vet Res* 1998 Dec; 59 (12): 1619-28
- Frisbie DD, Kawcak CE, Trotter GW, et al. Effects of triamcinolone acetonide on an in vivo equine osteochondral fragment exercise model. *Equine Vet J* 1997 Sep; 29 (5): 349-59
- Kawcak CE, Frisbie DD, Trotter GW, et al. Effects of intravenous administration of sodium hyaluronate on carpal joints in exercising horses after arthroscopic surgery and osteochondral fragmentation. *Am J Vet Res* 1997 Oct; 58 (10): 1132-40
- Frisbie DD, Ghivizzani SC, Robbins PD, et al. Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Ther* 2002 Jan; 9 (1): 12-20
- Frisbie DD, Kawcak CE, Wery NM, et al. Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am J Vet Res* 2007 Mar; 68 (3): 290-6
- Wright-Carpenter T, Opolon P, Appell HJ, et al. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: animal experiments using a muscle contusion model. *Int J Sports Med* 2004 Nov; 25 (8): 582-7
- Wright-Carpenter T, Klein P, Schaferhoff P, et al. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: a pilot study on sportsmen with muscle strains. *Int J Sports Med* 2004 Nov; 25 (8): 588-93
- Lefaucheur JP, Sebille A. Muscle regeneration following injury can be modified in vivo by immune neutralization of basic fibroblast growth factor, transforming growth factor beta 1 or insulin-like growth factor I. *J Neuroimmunol* 1995 Mar; 57 (1-2): 85-91
- Moser C, Baltzer AWA, Jansen SA, et al. Autologous conditioned serum (ACS) compared to HA and saline injections for the treatment of knee OA [abstract podium no. 330]. American Academy of Orthopaedic Surgeons 74th Annual Meeting; 2007 Feb 14-18; San Diego (CA).
- Bellamy N, Bell MJ, Goldsmith CH, et al. Evaluation of WOMAC 20, 50, 70 response criteria in patients treated with hylan G-F 20 for knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2005 Jun; 64 (6): 881-5
- Altman R, Asch E, Bloch D, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum* 1986 Aug; 29 (8): 1039-49
- Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis* 1957 Dec; 16 (4): 494-502

47. Becker C, Heidersdorf S, Drewlo S, et al. Efficacy of epidural perineural injection with autologous conditioned serum for lumbar radicular compression: an investigator-initiated, prospective, double-blinded, reference-controlled study. *Spine* 2007; 17: 1803-8
48. Theodoridis T, Krämer J. Interleukin-1 Rezeptorantagonist-Protein in "Injektionstherapie an der Wirbelsäule". Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2006: 37-40
49. Kraemer J, Ludwig J, Bickert U, et al. Lumbar epidural perineural injection: a new technique. *Eur Spine J* 1997; 6 (5): 357-61

Korrespondenz: Dr. Peter Wehling, Zentrum für Molekulare Orthopädie, Königsallee 53-55, 40212 Düsseldorf, Deutschland.
E-Mail: p.wehling@gmx.de



**Wolters Kluwer Health Pharma Solutions (Europe) Limited
NL Deutschland**

Freisinger Str. 3, 85716 Unterschleißheim, Deutschland
Tel.: +49 89 36007-3512. Fax: +49 89 36007-3514
E-Mail: reprint.services.germany@wolterskluwer.com

© 2008 Wolters Kluwer Health Pharma Solutions (Europe) Limited NL Deutschland

„Autologous Conditioned Serum in the Treatment of Orthopedic Diseases“, Wehling et al. *Biodrugs* 2007; 21(5): 323-332.

Alle Rechte, insbesondere das Recht auf Übersetzung in andere Sprachen bleiben vorbehalten. Kein Teil dieser Publikation darf in irgendeiner Form durch elektronische oder mechanische Systeme (Fotokopien, Mikrofilm oder andere Informationsspeicher oder -abrufsysteme) ohne schriftliche Genehmigung von Wolters Kluwer Health reproduziert oder weiterverbreitet werden.

Obwohl der Inhalt dieser Publikation mit größter Sorgfalt zusammengestellt wurde, können der Verlag und seine Erfüllungsgehilfen keine Verantwortung oder Haftung für die Aktualität der Informationen, Fehler, Auslassungen oder Ungenauigkeiten im Original oder in der Übersetzung oder für mögliche Konsequenzen übernehmen. Der Verlag lehnt die Verantwortung für Verletzungen und/oder Schäden an Personen und Eigentum ab, die auf die Anwendung von in dieser Publikation beschriebenen Methoden, Produkten, Anweisungen oder Ideen zurückzuführen sind. Angaben zu Diagnosen und Dosierungen sollten vor der Verabreichung anhand der jeweiligen Fachinformation überprüft werden.

