

Orthopäde 2006 · 35:1193–1204
DOI 10.1007/s00132-006-1016-9
Online publiziert: 24. Oktober 2006
© Springer Medizin Verlag 2006

Rubrikherausgeber

R. Gradinger · München
R. Graf · Stolzalpe
J. Grifka · Bad Abbach
J. Lühr · Hamburg



CME.springer.de – Zertifizierte Fortbildung für Kliniker und niedergelassene Ärzte

Die CME-Teilnahme an diesem Fortbildungsbeitrag erfolgt online auf CME.springer.de und ist Bestandteil des Individualabonnements dieser Zeitschrift. Abonnenten können somit ohne zusätzliche Kosten teilnehmen.

Unabhängig von einem Zeitschriftenabonnement ermöglichen Ihnen CME.Tickets die Teilnahme an allen CME-Beiträgen auf CME.springer.de. Weitere Informationen zu CME.Tickets finden Sie auf CME.springer.de.

Registrierung/Anmeldung

Haben Sie sich bereits mit Ihrer Abonnementnummer bei CME.springer.de registriert? Dann genügt zur Anmeldung und Teilnahme die Angabe Ihrer persönlichen Zugangsdaten. Zur erstmaligen Registrierung folgen Sie bitte den Hinweisen auf CME.springer.de.

Online teilnehmen und 3 CME-Punkte sammeln

Die CME-Teilnahme ist nur online möglich. Nach erfolgreicher Beantwortung von mindestens 7 der 10 CME-Fragen senden wir Ihnen umgehend eine Bestätigung der Teilnahme und der 3 CME-Punkte per E-Mail zu.

Zertifizierte Qualität

Diese Fortbildungseinheit ist zertifiziert von der Landesärztekammer Hessen und der Nordrheinischen Akademie für Ärztliche Fort- und Weiterbildung und damit auch für andere Ärztekammern anerkennungsfähig. Folgende Maßnahmen dienen der Qualitätssicherung aller Fortbildungseinheiten auf CME.springer.de: Langfristige Themenplanung durch erfahrene Herausgeber, renommierte Autoren, unabhängiger Begutachtungsprozess, Erstellung der CME-Fragen nach Empfehlung des IMPP mit Vorabtestung durch ein ausgewähltes Board von Fachärzten.

Für Fragen und Anmerkungen stehen wir Ihnen jederzeit zur Verfügung:

Springer Medizin Verlag GmbH
Fachzeitschriften Medizin/Psychologie
CME-Helpdesk, Tiergartenstraße 17
69121 Heidelberg
E-Mail: cme@springer.com
CME.springer.de

H. Madry · D. Kohn · M. Cucchiari

Labor für Experimentelle Orthopädie Klinik für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg

Gentherapie in der Orthopädie

Zusammenfassung

Gentherapie in der Orthopädie wird intensiv im Rahmen verschiedener vererbbarer und nichtvererbbarer orthopädischer Krankheiten untersucht. Der experimentelle Fortschritt auf diesem Gebiet ist durch die Komplexität von Vektorauswahl und -herstellung, Gentransfertechnik, Applikationsweg in geeigneten Tier-Modellen sowie dem Nachweis auf struktureller und funktioneller Ebene gekennzeichnet. Die ersten klinischen Studien zur Gentherapie der chronischen Polyarthritiden haben bereits ihre praktische Durchführbarkeit demonstriert. Es ist wahrscheinlich, dass genbasierte Verfahren zur Erweiterung und Verbesserung bestehender orthopädisch-chirurgischer Therapien führen werden.

Schlüsselwörter

Gentherapie · Gentransfer · Orthopädie · Klinische Studien

Gene therapy in orthopaedic surgery

Abstract

Gene therapy in orthopaedic surgery is being intensively studied in the context of different genetic and nonmendelian diseases. Experimental progress in this area is characterized by the complexity of gene vector selection and production, gene transfer technology, application routes, choice of animal models, and evaluation of its efficacy using structural and functional parameters. The first clinical studies for gene therapy of rheumatoid arthritis already demonstrated their practical feasibility. Current data indicate that gene-based therapies are effective in promoting the repair of articular cartilage, and bone defects. Such strategies may lead to the development of novel molecular therapies treatments in orthopaedic surgery.

Keywords

Clinical studies · Gene therapy · Gene transfer · Orthopaedic surgery

Tab 1 Überblick über nichtvirale und virale Gentransfermethoden (adaptiert aus [15])

| | Nichtvirale Systeme | Virale Systeme | | |
|--------------------------|--|---|--|--|
| | Liposomen und nichtliposomale Lipide | Retrovirale Vektoren | Adenovirale Vektoren | Adenoassoziierte virale Vektoren |
| Vorteile | Relativ hohe Effizienz Niedrige Toxizität Transfektion nicht zellzyklusabhängig Keine Immunogenität | Relativ hohe Effizienz | Sehr hohe Effizienz Transduktion nicht zellzyklusabhängig | Sehr hohe Effizienz Keine Induktion einer Immunantwort Transduktion nicht zellzyklusabhängig |
| Nachteile | Effizienz ist zellspezifisch | Transduktion zellzyklusabhängig Replikationsrisiko Risiko der Tumorentstehung | Induktion einer Immunantwort Replikationsrisiko | Helfer-Virus wird zur Herstellung benötigt |
| Integration in das Genom | Nein | Ja | Nein | Wirtsabhängig |

Gentherapie in der Orthopädie wird intensiv im Rahmen verschiedener orthopädischer Fragestellungen untersucht. Der experimentelle Fortschritt auf diesem Gebiet ist gekennzeichnet durch ein komplexes Zusammenspiel von Vektorherstellung, Gentransfertechniken und Applikationswegen, Studien in geeigneten Tier-Modellen sowie Nachweismethoden auf molekularer, struktureller und funktioneller Ebene. Klinische Studien zur Gentherapie der rheumatoiden Arthritis haben bereits ihre praktische Durchführbarkeit demonstriert. Nach Lektüre dieses Beitrages ist der Leser in der Lage, aktuelle experimentelle und klinische Getherapiestrategien in der Orthopädie hinsichtlich ihrer Strategie und Wirksamkeit beurteilen zu können.

Die Gentherapie ist definiert als der Transfer von exogenen Genen oder Gensequenzen in somatische Zellen von Patienten für therapeutische Zwecke. Initial wurde dieser Ansatz für vererbte Krankheiten postuliert, welche auf einem ► **singulären Gendefekt** basieren. Die Gentherapie erfüllt hierbei die Aufgabe, das defekte Gen durch das Einschleusen einer intakten Kopie zu ersetzen und damit das korrekte Genprodukt herzustellen. Ein bekannter gentherapeutischer Ansatz besteht zum Beispiel in der Produktion des Faktors VIII bei Patienten mit Hämophilie [11]. Seit einiger Zeit werden gentherapeutische Ansätze auch für nichtvererbte Krankheiten überprüft. In der Orthopädie sind dies vor allem Arthrose, Rheuma, fokale Knorpeldefekte und Frakturheilung [7].

Grundlagen des Gentransfers

Die grundlegende Voraussetzung für eine Gentherapie ist die ► **Identifizierung des Gens**, welches eine potenziell therapeutische Wirkung auf die zu behandelnde Krankheit hat. Im Fall einer vererbten, auf einem singulären Gendefekt basierenden Krankheit ist dies die korrekte (nicht pathologisch veränderte) Kopie des originalen Gens. Soll eine orthopädische Erkrankung, wie beispielsweise die Arthrose, durch Gentherapie behandelt werden, so müssen vorher Gene identifiziert werden, deren Überexpression therapeutische Effekte auf den Krankheitsverlauf hat. Dies könnten beispielsweise ► **Wachstumsfaktorgene** sein, welche die Matrixproduktion stimulieren, oder Faktoren, welche die Degeneration des hyalinen Gelenkknorpels verlangsamen. In diesem Fall hat die Gentherapie nicht die Korrektur einer falschen Genkopie zum Ziel, sondern die Produktion von pharmakologischen Dosen eines Wirkstoffes am Ort des Geschehens.

Nach Isolation des gewünschten Gens wird dieses in eine cDNS umgeschrieben und in einen Expressionsvektor kloniert. Diese Vektoren sind Nukleinsäuremoleküle, die meist von Plasmiden oder Viren abgeleitet sind. Gentransfer mit nichtviralen Vektoren wird als ► **Transfektion** bezeichnet, Gentransfer mit viralen Vektoren wird ► **Transduktion** genannt. Soll ein Genvektor für eine orthopädische Fragestellung appliziert werden, ist zunächst die Frage der lokalen vs. systemischer Applikation zu klären. Im Falle einer Arthrose ist eine lokale Gabe (z. B. durch intraartikuläre Injektion) zu favorisieren, bei generalisierten Erkrankungen, wie z. B. der Osteogenesis imperfecta wäre die systemische Applikation vorteilhafter. Das auch als Transgen bezeichnete transferierte genetische Ma-

► Singulärer Gendefekt

Gentherapie ist definiert als der Transfer von exogenen Genen oder Gensequenzen für therapeutische Zwecke

► Genidentifizierung

► Wachstumsfaktorgene

Nach Isolation des gewünschten Gens wird dieses in eine cDNS umgeschrieben und in einen Expressionsvektor kloniert

► Transfektion

► Transduktion

terial wird entweder in das Wirtsgenom integriert oder verbleibt extrachromosomal im Zellkern als so genanntes ► **Episom**. In diesem Fall ist die Genexpression nur vorübergehend. Das Transgen wird anschließend in mRNA transkribiert und in Protein translatiert. Dieses rekombinante Genprodukt verbleibt entweder in der Zelle oder entfaltet seine Wirkung nach der Sekretion. Für einen therapeutischen Gentransfer muss eine biologisch aktive Menge an Protein über einen bestimmten Zeitraum produziert werden. Dies ist durch Transfektion vieler Zielzellen oder durch eine große Menge an rekombinantem Protein pro Zelle erreichbar.

Die Effizienz des Gentransfers ist der Prozentsatz der Zellen, die das Transgen exprimieren. Sie ist vom Zelltyp und vom Transfersystem abhängig und kann durch Optimierung der Transfektionsbedingungen gesteigert werden. Der Gentransfer in genügend Zielzellen ist die notwendige Voraussetzung und der erste kritische Schritt für alle potenziellen Therapien. Ein idealer Gentransfervektor muss untoxisch und einfach anwendbar sein, eine genau definierte Zielzellpopulation transduzieren können und zu therapeutischen Wirkspiegeln der Genprodukte über einen vorgegebenen Zeitraum am Wirkort führen.

Die heterogene Gruppe der Gentransfermethoden setzt sich aus verschiedenen physikalischen, chemischen (nichtviralen) und viralen ► **Transfersystemen** zusammen (■ Tab. 1).

Gentransfervektoren

Nichtvirale Methoden

Bei den nichtviralen Methoden des Gentransfers wird die zu transferierende cDNS mit verschiedenartigen ► **Makromolekülen** komplexiert. Die wichtigsten Vertreter dieser heterogenen Gruppe sind Liposomen und Transfersysteme auf Lipidbasis. Im Fokus des wissenschaftlichen Interesses stehen kationische Liposomen und andere Lipidmixturen aufgrund ihrer hohen Gentransfereffizienz. ► **Kationische Liposomen** sind aus einem kationischen Lipid und einem Phospholipid, dem Helferlipid, zusammengesetzt. Sie werden in verschiedenen klinischen Gentransferstudien angewendet.

Virale Methoden

Bei den viralen Gentransfersystemen wird die natürliche Eigenschaft von Viren, ihre eigenen Nukleinsäuren in Zellen einzuschleusen, ausgenutzt.

Retrovirale Vektoren

Retrovirale Vektoren sind ► **RNS-Viren**. Da die transferierte cDNS stabil im Genom eingebaut und zusammen mit dem Wirtszellgenom repliziert wird, resultiert eine langandauernde Expression. Zum Gentransfer werden Viren verwendet, die sich nicht vermehren können. Diese replikationsdefekten Vektoren transduzieren sich teilende Zellen mit hoher Effizienz. Ein potenzieller Nachteil der rekombinanten Retroviren sind die mit der Integration verbundenen Sicherheitsrisiken. Ein weiteres Problem dieser Vektoren ist die Tatsache, dass nur in Zellteilung begriffene Zellen transduziert werden können. Um ruhende Zielzellen eines Organs zu transduzieren, müssen diese zunächst in Zellkultur zur Teilung angeregt, dann in vitro transduziert, selektiert und schließlich wieder appliziert werden. Dieser ► **Ex-vivo-Ansatz** wurde bereits erfolgreich in einer Vielzahl von Gentherapie-studien am Menschen angewendet.

Adenovirale Vektoren

Adenoviren erzeugen harmlose Infektionen des Respirationstraktes. Sie sind hüllenlose Viren, deren Genom aus einer linearen dsDNS besteht. Die virale Replikation findet ohne eine Integration in das Zielzellgenom statt, dadurch ist die Transgenexpression nur transient. Neben einer ► **hohen Transfereffizienz** haben adenovirale Vektoren den Vorteil, dass sie auch nichtreplizierende Zellen infizieren können. Der hauptsächliche Nachteil von adenoviralen Vektoren liegt in den Sicherheitsrisiken. Nach viraler Erstinfektion folgt eine Immunantwort des Organismus mit dem Ziel, alle virus-tragenden Zellen zu vernichten. Bereits eine erneute Vektorapplikation kann eine ► **fulminante Immunreaktion** hervorrufen. Nach dem tragischen Tod von Jesse Gelsinger im Rahmen einer adenoviralen Gentransferstudie werden in Deutschland keine Adenoviren mehr direkt in den Blutkreislauf von Patienten gegeben.

► Episom

Die Effizienz des Gentransfers ist der Prozentsatz der Zellen, die das Transgen exprimieren

► Transfersysteme

► Makromoleküle

► Kationische Liposomen

► RNS-Viren

Ein potenzieller Nachteil der rekombinanten Retroviren sind die Sicherheitsrisiken

► Ex-vivo-Ansatz

► Hohe Transfereffizienz

► Fulminante Immunreaktion

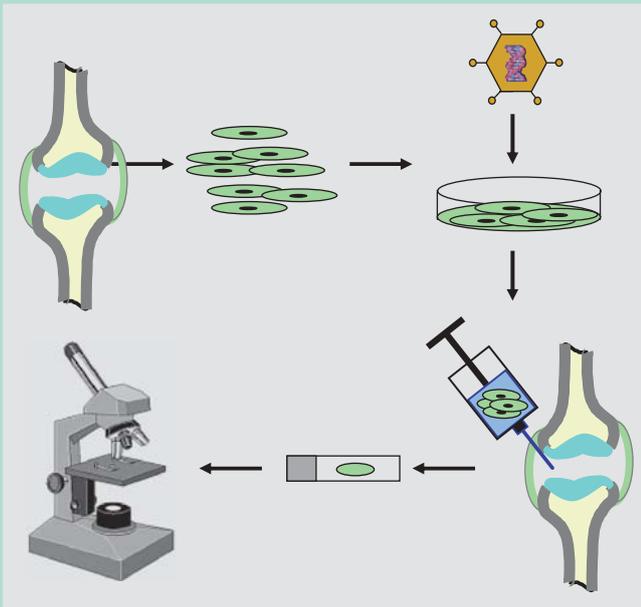


Abb. 1 ◀ Prinzip der ersten humanen Gentherapiestudie bei Patienten mit fortgeschrittener rheumatoider Arthritis. Als therapeutisches Gen wurde der IL-1 Rezeptorantagonist verwendet. Von den Patienten wurde synoviales Gewebe aus anderen, ebenfalls von Rheuma befallenen Gelenken während einer elektiven Operation gewonnen. Anschließend wurden die isolierten Synovialzellen in Zellkultur mit dem humanen Gen für den IL-1-Rezeptor-Antagonist mittels retroviralem Gentransfer modifiziert. Die genetisch modifizierten Zellen wurden dann intraartikulär in das zweite bis fünfte Metacarpophalangealgelenk einer Hand injiziert (1×10^6 – 1×10^7 Zellen pro Gelenk). Eine Woche später wurde im Rahmen einer operativen Synovektomie das Gewebe entnommen und auf das Vorhandensein des Transgens untersucht

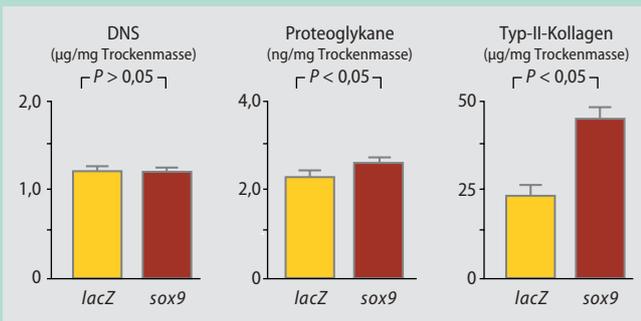


Abb. 2 ◀ Die direkte, rAAV-vermittelte Überexpression des Transkriptionsfaktors Sox9 in humanen arthrotischen Gelenkknorpelimplantaten führt zur Stimulierung der Proteoglykan- und Typ-II-Kollagen-Produktion und damit zu einer Modulation des arthrotischen Phänotypes. Die DNS-Menge als Indikator für die Zellzahl ist unverändert, da Sox9 nicht mitogen wirkt

Das adenoassoziierte Virus infiziert sowohl sich teilende als auch ruhende Zellen

- ▶ **DNS-Parvovirus**
- ▶ **Hohe Transduktionseffizienz**

▶ **Erhöhte Frakturneigung**

▶ **Typ-I-Kollagen-Gen-Mutation**

Adenoassoziierte virale Vektoren

Das apathogene adenoassoziierte Virus (AAV) aus der Familie der Parvoviridae vereint wesentliche Vorteile der Retroviren und der Adenoviren und ist daher ein viel versprechender Vektor. AAV wurde bis jetzt mit keiner menschlichen Krankheit in Verbindung gebracht. AAV ist ein einzelsträngiges **▶ DNS-Parvovirus**, welches sich während seiner Replikation in das Wirtsgenom integriert. Das adenoassoziierte Virus infiziert sowohl sich teilende als auch ruhende Zellen mit einer **▶ hohen Transduktionseffizienz**. Obwohl AAV noch nicht in dem Maße wie Retroviren oder Adenoviren untersucht wurde, sind die derzeit bekannten Sicherheitsrisiken weitaus niedriger als bei anderen viralen Vektoren.

Gentherapie in der Orthopädie

Vererbare Krankheiten

Osteogenesis imperfecta

Die Osteogenesis imperfecta (OI, Glasknochenkrankheit) ist eine seltene Erbkrankheit des Bindegewebes. Ihr klinisch auffälligstes Merkmal ist eine deutlich **▶ erhöhte Frakturneigung**. In Deutschland sind etwa 4000–6000 Patienten betroffen. Eine kausale Therapie ist zurzeit nicht bekannt. In einigen Fällen kann durch eine Biphosphonattherapie eine Verbesserung der Knochendichte erzielt werden. Zugrunde liegt eine heterogene Gruppe von genetischen Störungen, die auf **▶ Mutationen im Gen für Typ-I-Kollagen** beruhen. Die meisten Formen von Osteogenesis imperfecta werden durch Mutationen der Gene, die für die Proalpha-1- und -2-Kette des Typ-I-Kollagens kodieren, hervorgerufen.

Aufgrund dieses klar definierten genetischen Hintergrundes ist die Gentherapie eine interessante Alternative. In der Forschung wird hierzu als Tier-Modell die Oim-Maus verwendet. Bei ihr fehlt die Alpha-2-Kette des Typ-I-Kollagens. Niyibizi und Mitarbeiter zeigten, dass ein adenoviraler Vektor, der die cDNS des Prokollagens Alpha-2(I) trägt, eine dauerhafte Kollagensynthese in den Stromazellen des Knochenmarks von Oim-Mäusen hervorruft [18]. Zusätzlich förderte die subkutane Injektion dieses Konstruktes in Oim-Mäusen am Ort der Injektion die Synthese von Typ-I-Kollagen, welches die Alpha-1- und -2-Ketten beinhaltet. Weitere Studien müssen zeigen, ob und auf welche Weise es möglich ist, einen Großteil aller Osteoblasten zu erreichen und die Genexpression für möglichst lange Zeit aktiv zu halten. Für Studien am Menschen ist die Datenlage aktuell noch nicht ausreichend.

Morbus Gaucher

Morbus Gaucher ist eine autosomal rezessiv vererbte Krankheit, die genetisch bedingt ist und zu den ► **Lipidosen** gehört. Den betroffenen Patienten fehlen große Mengen des Enzyms Glucocerebrosidase. Als Folge resultiert die ► **Ablagerung von Glucocerebrosid** in den Makrophagen. Diese Makrophagen (Gaucher-Zellen) reichern sich vor allem im Knochenmark, in der Leber und Milz an. Die Skelettveränderungen bestehen in einer Unfähigkeit zum Knochenumbau (Erlenmeyerkolben-Deformität), einer Osteopenie sowie einer medullären und subchondralen Osteonekrose. Dies führt bei vielen Patienten zu schweren Verkrüppelungen und Behinderungen.

Bei der Enzymersatztherapie wird die Glucocerebrosidase gentechnisch hergestellt und dem Körper als Infusion zugeführt. Durch Gentherapie wird versucht, Genkopien der Glucocerebrosidase in Knochenmarkstammzellen einzuschleusen. Im Rahmen einer Knochenmarktransplantation sollen diese Zellen dann anschließend das korrekte Enzym produzieren. Leber- oder Muskelzellen sind alternative mögliche Produktionsorte. Präklinische In-vivo-Versuche einer Gentherapie wurden in den USA begonnen [3], während klinische Studien noch ausstehen.

Nichtvererbte Krankheiten

Rheumatoide Arthritis

Die rheumatoide Arthritis bleibt, selbst wenn mit neu entwickelten ► **„Biologicals“** (biotechnologisch hergestellte Medikamente) behandelt, weiterhin unheilbar. Diese immunmodulatorischen und entzündungshemmenden Therapeutika sind nicht frei von Nebenwirkungen und erfordern eine wiederholte systemische Applikation. Obwohl die chronische Polyarthrit primär eine Autoimmunkrankheit ist, sind es die einzelnen Gelenkmanifestationen dieser Krankheit, die einen sinnvollen Angriffspunkt von gentherapeutischen Strategien darstellen. Die Gentherapie hat hierbei den Vorteil, dass sie lokal in den am stärksten betroffenen Gelenken angewendet werden kann. Ihre Wirkung ist damit auf diese Gelenke beschränkt. Es ist hervorzuheben, dass die rheumatoide Arthritis die erste orthopädische Erkrankung ist, bei der eine klinische Gentherapiestudie am Menschen durchgeführt wurde.

Vielen Gentransferstrategien liegt das Ziel zugrunde, antiinflammatorische oder andere ► **protektive Genprodukte** in den entzündeten Gelenken zu produzieren. In verschiedenen Gentransferstudien an Tier-Modellen wurde die Wirkung des Interleukin (IL)-1-Rezeptor-Antagonisten (IL-1Ra) sowie von Tumornekrosefaktor (TNF)- α -Antikörpern auf den knorpelzerstörenden synovialen Pannus bewiesen. Ein anderer Ansatz zielt auf eine ► **„genetische Synovektomie“** ab. Hierbei werden Enzyme in Synovialzellen durch Gentransfer in betroffenen Gelenken exprimiert, welche eine inaktive Substanzvorstufe in einen toxischen Metaboliten umwandeln. Das Prinzip dieser ► **„Suizidgentherapie“** mit dem Herpes-simplex-Virus-Thymidinkinase (HSV-tk)/Ganciclovir-System beruht auf dem Transfer des HSV-tk-Gens in Synovialzellen, die dadurch gezielt durch Ganciclovir abgetötet werden können. Dabei werden auch nichttransduzierte, angrenzende Zellen miterfasst („Bystander-Effekt“).

Chris Evans und seine Arbeitsgruppe führte die erste Gentherapiestudie am Menschen mit fortgeschrittener rheumatoider Arthritis durch [8]. Therapeutisches Gen war der ► **Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist**. IL-1 wird bei Patienten mit rheumatoider Arthritis vor allem in den entzündeten Gelenken in erhöhtem Maße produziert. Von Patienten wurde synoviales Gewebe aus anderen, ebenfalls betroffenen Gelenken während einer elektiven Operation gewonnen (► **Abb. 1**). In die isolierten Synovialzellen wurde dann in Zellkultur das humane Gen für den IL-1-Rezeptor-Anta-

► **Lipidosen** ► **Glucocerebrosidablagerung**

Durch Gentherapie wird versucht, Genkopien der Glucocerebrosidase in Knochenmarkstammzellen einzuschleusen

► **„Biologicals“**

Die einzelnen Gelenkmanifestationen sind Angriffspunkt für gentherapeutische Strategien

► **Protektive Genprodukte**

► **„Genetische Synovektomie“**

► **„Suizidgentherapie“**

Chris Evans führte die erste Gentherapiestudie am Menschen mit fortgeschrittener rheumatoider Arthritis durch

► **Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist**

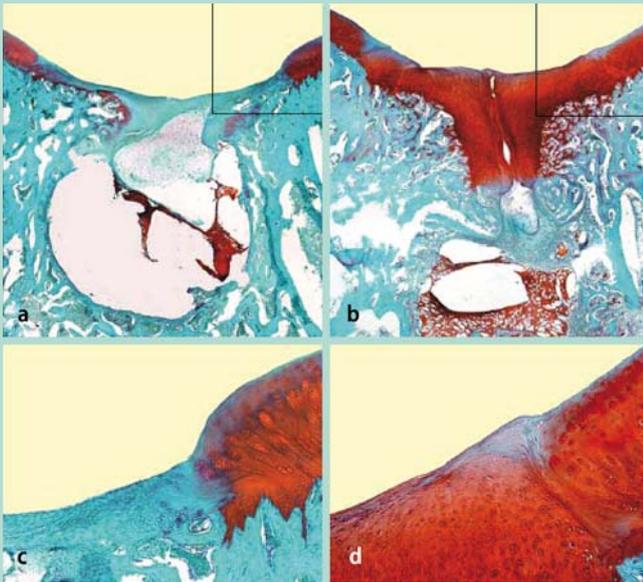


Abb. 3 ◀ Polypeptidwachstumsfaktoren führen zur strukturellen Verbesserung der Knorpelheilung. Mit einem FGF-2-Plasmidvektor transgenierte Chondrozyten wurden in Alginatsphäroide verkapselt und in osteochondrale Knorpeldefekte der Trochlea femoris im Kaninchenmodell transplantiert. Im Vergleich zur Negativkontrolle (A, C) waren alle einzelnen Parameter der Chondrogenese durch die Transplantation von FGF-2-Sphäroiden (B, D) 3 Wochen postoperativ verbessert. Safranin-O-Echtgrün, 40-fache (A, B) bzw. 100-fache Vergrößerung (C, D). Aus: (Kaul et al. 2006)

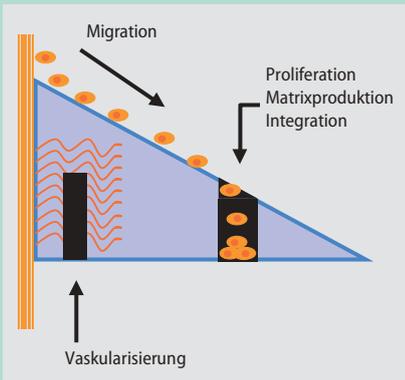


Abb. 4 ◀ Ziele von Gentransferansätzen zur Meniskusheilung sind die Stimulation von Vaskularisierung, Zellmigration in Meniskusrisse sowie die Proliferation, Matrixproduktion und Integration transplantiert oder eingewanderter Zellen in den Meniskusdefekten

► **Retroviraler Vektor**

► **2.-5. Metakarpophalangealgelenk**

► **Anakinra**

Per Gentherapie kann der IL-1-Rezeptor-Antagonist direkt im Gelenk produziert werden, ohne systemische Nebenwirkungen zu entfalten

► **TNF- α -Antikörper**

► **Immunglobulin-TNF-Fusionsprotein**

gonist mittels ► **retroviralem Vektor** eingeschleust. Nächster Schritt bei diesem Ex-vivo-Protokoll war die intraartikuläre Injektion der genetisch modifizierten Zellen (1×10^6 – 1×10^7 Zellen pro Gelenk). Neun postmenopausalen Frauen mit fortgeschrittener rheumatoider Arthritis erhielten in das ► **2.-5. Metakarpophalangealgelenk** einer Hand die modifizierten Zellen. Eine Woche später wurde im Rahmen einer Synovektomie das Gewebe entnommen. Obwohl diese Studie nicht auf einen therapeutischen Effekt ausgerichtet war, konnte demonstriert werden, dass das Transgen über diesen Zeitraum exprimiert wird und keine Nebenwirkungen auftraten. Eine ähnliche Studie führte die Arbeitsgruppe von Peter Wehling (Düsseldorf) an 4 Patienten durch. Sie unterschied sich von der US-amerikanischen Studie durch den verlängerten Zeitraum zwischen intraartikulärer Gabe und offener Synovektomie von einem Monat.

Im Vergleich zum rekombinant hergestellten IL-1-Rezeptor-Antagonist ► **Anakinra** (gleiches Molekül, gentechnisch in E. coli hergestellt), der bereits klinisch angewendet wird, bietet die Gentherapie mehrere empirische Vorteile: Während Anakinra täglich subkutan appliziert werden muss und seine Wirkung systemisch entfaltet, kann per Gentherapie der IL-1-Rezeptor-Antagonist direkt im Gelenk produziert werden, ohne systemische Nebenwirkungen zu entfalten. Das ist besonders deswegen interessant, da durch eine subkutane und tägliche Anakinragabe der IL-1-Rezeptor möglicherweise nicht ununterbrochen blockiert wird.

Bei der Behandlung der rheumatoiden Arthritis kommen auch gentechnisch hergestellte ► **TNF- α -Antikörper** wie Infliximab und Etanercept zum Einsatz. Eine aktuell laufende Phase-I-Gentherapiestudie verwendet einen adenoassoziierten viralen Vektor, um in betroffenen Gelenken einen TNF- α -Blocker (tgAAC94, ein ► **Immunglobulin-TNF-Fusionsprotein**) zu produzieren [9]. Primäre Zielsetzungen dieser Studie waren Sicherheit der intraartikulären Injektion von tgAAC94 und der Effekt

einer wiederholten Injektion. Obwohl wegen der geringen Patientenzahl (14 Patienten) nicht signifikant, erbrachte diese plazebokontrollierte Doppelblind-Studie nachweisbare Reduzierungen der Gelenkschwellung sowie Schmerzhaftigkeit bei den behandelten Patienten.

Arthrose

Das Hauptproblem für eine gentherapeutische Behandlung der Arthrose ist die Unklarheit der molekularen Ursachen dieser Krankheit. Aufgrund der ► **multifaktoriellen Genese** der Arthrose ist es wahrscheinlich, dass im Rahmen einer Gentherapie solche therapeutischen Gene zum Einsatz kommen, die selektiv spezielle Prozesse der Arthroseentstehung und -fortschreitung modulieren. Solche Genprodukte könnten einerseits katabole Abbauprozesse hemmen oder über eine ► **anabole Wirkung** noch vorhandenen Gelenkknorpel vor weiterer Degeneration schützen bzw. wieder aufbauen.

Beispielsweise könnte der ► **Transkriptionsfaktor Sox9** Anwendung finden, da er in die Chondrogenese involviert ist und in arthrotischem Knorpel seine Expression reduziert ist. Seine Überexpression mittels rAAV in Explantatmodellen von arthrotischem humanem Gelenkknorpel führt zur Stimulierung der Proteoglykan- und Typ-II-Kollagen-Produktion und damit zu einer Modifizierung des arthrotischen Phänotyps (■ **Abb. 2**) [6]. Ein anderes Kandidatengen ist der ► **insulinartige Wachstumsfaktor I (IGF-I)**, welcher in Studien nach Proteingabe bereits arthrosemodulierende Effekte erzeugte.

Eine weitere Möglichkeit ist die Anwendung des IL-1-Rezeptor-Antagonisten als Mediator der Arthroseprogression. Retroviraler Ex-vivo-Gentransfer des humanen IL-1-Rezeptor-Antagonisten in das Kniegelenk von Hunden verlangsamt die Knorpeldegeneration nach Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes. Ebenso unterdrückt dieses Gen das Fortschreiten der Arthrose im Kaninchen-Modell nach nichtviraler und im Pferde-Modell nach adenoviraler Applikation. Hier wurde als wichtiger klinischer Parameter eine Lahmheitsskala verwendet, die signifikante Unterschiede in der gentherapeutisch behandelten Gruppe aufzeigte. Es erscheint wichtig, darauf hinzuweisen, dass derartige Strategien nur in einem Frühstadium der Arthrose sinnvoll sind, wenn noch Knorpel vorhanden ist, welcher geschützt oder gar in seiner Struktur verbessert werden soll. Es ist unklar, ob Knorpel durch Gentherapie auf bereits eburnisiertem Knochen wieder aufgebaut werden kann. Klinische Studien am Menschen stehen noch aus.

Fokale Knorpeldefekte

Fokale Defekte des Gelenkknorpels heilen nicht und keine der derzeit klinisch angewendeten Therapien führt zu einer kompletten Knorpelregeneration. Zur Gentherapie von Knorpeldefekten ist ein auf den Defekt beschränkter Gentransfer sinnvoll. Aktuelle experimentelle Strategien streben an, durch Gentransfer die Chondrogenese im Reparaturgewebe zu verbessern [4]. Zielzellen sind Vorläuferzellen, die – beispielsweise nach der Durchführung von markraumeröffnenden Verfahren – den Defekt füllen. Denkbar ist ebenfalls die ► **genetische Modifizierung von Chondrozyten**, die im Rahmen einer Chondrozytentransplantation implantiert werden. Um Gene in Gelenkknorpeldefekte zu transferieren, kann der Genvektor entweder durch Arthrotomie direkt in den Defekt eingebracht oder mittels genetisch modifizierter Zellen transplantiert werden. Eine einfache intra-artikuläre Injektion von Genvektoren ist nicht ausreichend, um Gene gezielt in fokale Defekte zu transferieren.

Studien im Tier-Modell der letzten Jahre haben eindrucksvoll das Potenzial der Überexpression von ► **Polypeptidwachstumsfaktoren** zur strukturellen Verbesserung der Knorpelheilung gezeigt. Hierbei wurden Gene für die knochenmorphogenetischen Proteine („bone morphogenetic proteins“, BMP) BMP-2 und -7, „sonic hedgehog“ (Shh, ein Mitglied der Familie des transformierenden Wachstumsfaktor β ; TGF- β) sowie IGF-I und Fibroblastenwachstumsfaktor 2 (FGF-2) in chondrale und osteochondrale Defekte transferiert (■ **Abb. 3**). In einer Studie am Pferd applizierten Hidaka und Mitarbeiter allogene Chondrozyten, die mit einem adenoviralen Vektor für BMP-7 transduziert wurden. Obwohl nach 8 Monaten keine strukturellen oder biomechanischen Unterschiede vorlagen, ist eine derartige Funktionsauswertung sehr wichtig, da alle Knorpelreparaturverfahren an der Verbesserung der biomechanischen Eigenschaften des Reparaturgewebes gemessen werden müssen.

Seit einiger Zeit werden ► **rAAV-Vektoren** erfolgreich eingesetzt, um Gene ohne zusätzliche Zelltransplantation direkt in Knorpeldefekte einzubringen. Nach direkter rAAV-FGF-2- oder sox9-Vek-

► Multifaktorielle Genese

► Anabole Wirkung

► Transkriptionsfaktor Sox9

► Insulinartiger Wachstumsfaktor I

Retroviraler Ex-vivo-Gentransfer des humanen IL-1-Rezeptor-Antagonisten verlangsamt die Knorpeldegeneration

Zur Gentherapie von Knorpeldefekten ist ein auf den Defekt beschränkter Gentransfer sinnvoll

► Genetische Chondrozytenmodifizierung

► Polypeptidwachstumsfaktoren

► rAAV-Vektoren

Das Prinzip der Gentherapie bei Prothesenlockerung besteht aus dem nichtoperativen Entfernen der Pseudomembran

► „Gentherapeutische Resektion“

Periprothetisch werden Hohlräume geschaffen, die mit dünnflüssigem Knochenzement aufgefüllt werden

► Schmerzreduktion

► BMP-2-Transfer

► LIM-Mineralisationsprotein 1

► Stimulation der Vaskularisierung

► Zellmigration
► Integration

tor-Applikation resultierte eine signifikant verbesserte Knorpelreparatur [5]. Diese ermutigenden Daten müssen mit anderen therapeutischen Genen und in längeren Untersuchungszeiträumen bestätigt werden.

Aseptische Prothesenlockerung

Zielgruppe einer Gentherapie der aseptischen Prothesenlockerung könnten Patienten sein, bei denen aufgrund eines hohen OP-Risikos eine Wechsellagerung nicht durchgeführt werden kann. Die Prinzipien der Gentherapie bestehen hierbei aus dem nichtoperativen Entfernen der Pseudomembran, die sich um eine gelockerte Endoprothese bildet, im Wiederaufbau von periprothetischem Knochenmaterial sowie in der Verhinderung von osteoklastischen Reaktionen auf Polyethylenabrieb.

Die erstgenannte Strategie wird derzeit in einer Phase-I-Gentherapiestudie an der Universität Leiden überprüft. Bislang wurden 12 Patienten mit der American-Society-of-Anesthesiologists (ASA)-Klassifikation IV (Sterblichkeitsgefahr 20,3%) behandelt. Durch Transduktion der Zellen der Pseudomembran zwischen Prothese und Knochen soll ein Absterben der Zellen und damit eine ► „**gentherapeutische Resektion**“ des synovialmembranartigen Gewebes erreicht werden, welches die lytischen Bereiche ausfüllt. Dadurch sollen periprothetisch genügend große Hohlräume zur Verfügung stehen, die anschließend über Bohrkanäle mit einem dünnflüssigen Knochenzement aufgefüllt werden, welcher die Prothese stabilisiert. Hierzu findet die bereits beschriebene Strategie der Suizidgentherapie Anwendung. Appliziert wird ein adenoviraler Vektor (HAdV-5), der das Nitroreduktasegen von *E. coli* trägt. Dieses Enzym sensibilisiert den Wirkstoff CB1954 (Substanzvorstufe). Der Genvektor wird am ersten Tag in das Hüftgelenk injiziert, am Tag 3 wird die Substanzvorstufe gegeben. Zehn Tage später wird über mehrere Bohrlöcher in das proximale Femur niedrigvisköser Knochenzement unter fluoroskopischer Kontrolle in die lytischen Bereiche injiziert, welche durch die Gentherapie von ihrer Membran befreit worden sind. Nebenwirkungen traten nicht auf. Subjektiv war bei einigen Patienten der Schmerz in der behandelten Hüfte verringert und die Gehstrecke erhöht. Publierte Daten zu diesem Ansatz stehen noch aus. Weitere Studien müssen klären, wie sich die Auffüllung des lytischen Areals durch alleinige Zementinjektion, ohne Genvektor, verhält und wie ausgeprägt die ► **Schmerzreduktion** im Vergleich mit solcherart behandelten Patienten ist.

Frakturheilung

Analog zum bereits in klinischer Anwendung befindlichen BMP-2-Protein kann auch das Gen für diesen Wachstumsfaktor zur Frakturheilung bzw. der Heilung von Pseudarthrosen verwendet werden [14]. Verschiedene Studien haben z. B. durch adenoviralen ► **BMP-2-Transfer** in Knochenmarkszellen eine verbesserte Knochenheilung gezeigt. Bislang wurde die Eignung von BMP-4, -6, -7, -9 sowie des Parathormon (PTH)-Fragments PTH (1–34) bewiesen. Vergleichbare Studien fanden auch in osteoporotischen Tier-Modellen statt.

Der ideale Vektor für derartige Anwendung ist noch unklar. Die bislang genutzten Adenoviren haben zumindest theoretisch das Risiko einer Immunantwort. Studien am Menschen müssen über die klinische Durchführbarkeit dieser Strategien Auskunft geben.

Wirbelsäulenfusion

Publierte Gentransferstrategien zur Spondylodese basieren weitgehend auf Verwendung des osteogenen Proteins ► **LIM-Mineralisationsprotein 1 (LMP-1)** und BMP-2 [2]. Bereits nach wenigen Wochen resultiert im Kaninchen-Modell eine komplette Wirbelsäulenfusion. Für die theoretische Anwendung am Menschen erscheint es wichtig, die Transgenexpression eng zu kontrollieren, um überschießende Reaktionen, die u. a. zu Spinalkanalstenosen führen könnten, zu vermeiden.

Meniskusheilung

Läsionen im avaskulären Teil des Meniskus heilen nicht und können zur generalisierten Arthrose des Kniegelenks führen. Ziele von Gentransferansätzen zur Meniskusheilung sind die ► **Stimulation von Vaskularisierung,**

Zellmigration

► **Zellmigration** in Meniskusrisse sowie die Proliferation, Matrixproduktion und ► **Integration** transplanteder oder eingewanderter Zellen in diesen Meniskusdefekten (► **Abb. 4**). Gentransfer in Meniskuszellen ist durch virale und nichtvirale Techniken möglich. Trotz großem klinischen Interesse liegen nur sehr wenige Studien im Tier-Modell vor. Insbesondere rAAV-Vektoren sind gut geeig-

net, um Meniskusgewebe direkt in vivo zu transduzieren [16]. Ebenso konnte durch den Gentransfer des Hepatozytenwachstumsfaktors die Vaskularisierung von durch Tissue engineering hergestellten ► **Meniskusersatzgeweben** verbessert werden. Interessanterweise resultierte diese vermehrte Vaskularisierung jedoch nicht in einer besseren biomechanischen Belastbarkeit dieser Konstrukte [10]. Es bleibt abzuwarten, welcher Faktor am besten geeignet ist, um Meniskusdefekte zu reparieren. Hier sind weitere Tierstudien erforderlich.

Reparatur von Bändern und Sehnen

Mit allen verfügbaren Gentransfersystemen ist sowohl in vitro als auch in vivo ein Gentransfer in Fibroblasten von Bändern und Sehnen möglich. Die Anwendung von Gentransfer zur Kreuzbandheilung wird intensiv erforscht [15]. Durch Überexpression von Matrixproteinen und Wachstumsfaktoren soll die ossäre Integration, Angiogenese und das Remodelling von Sehnen-Transplantaten verbessert werden. Martinek und Mitarbeiter demonstrierten nach adenoviraler Ex-vivo-Überexpression von BMP-2 eine biomechanisch relevante Verbesserung der Steifigkeit und ossären Integration von ► **Semitendinosus-Transplantaten** [17]. Andere Gruppen versuchen, durch Gentransfer die Kontinuität eines intraligamentär gerissenen vorderen Kreuzbandes wieder dauerhaft herzustellen. So führt die Überbrückung der rupturierten Enden mit einem Kollagenhydrogel, in dem sich TGF- β -überexprimierende Fibroblasten befinden, zur verbesserten Zellmigration und Kollagenexpression im Organkulturmodell [19].

Gentherapie in der orthopädischen Onkologie

Obwohl die Gentherapie ein sehr wichtiges Werkzeug der experimentellen Onkologie darstellt, liegen bislang nur wenige Daten aus der Orthopädie vor. So wäre der direkte Transfer von therapeutischen Genen eine experimentelle Möglichkeit der molekularen Therapie von ► **Chondrosarkomen**. Gene können in Chondrosarkomzellen mit retroviralen, adenoviralen und lentiviralen Vektoren sowie kationischen Polymeren eingeschleust werden. Werden Chondrosarkomzellen mit dem HSV-tk-Gen transduziert, so können sie gezielt durch Ganciclovir abgetötet werden. Dabei werden auch nichttransduzierte, angrenzende Zellen miterfasst (► **„Bystander-Effekt“**).

Auch für Osteosarkome sind ähnliche Strategien beschrieben. Hierbei konzentrieren sich die Forschungen vor allem auf die Therapie der ► **Lungenmetastasen**. Verschiedene Tier-Modell-Studien haben gezeigt, dass sowohl nichtviraler als auch viraler Gentransfer von IL-2 und -12 zur partiellen oder kompletten Regression von Lungenmetastasen führen kann. Eine klinische Phase-I/II-Studie verwendete einen adenoviralen Vektor (Ad-OC-E1a), welcher unter Kontrolle eines Osteocalcin-Promotors das adenovirale E1a-Protein kodiert. Durch auf Tumorzellen beschränkte Virusreplikation soll ihr Absterben erreicht werden [1]. Die abschließende Publikation zu dieser Studie steht noch aus.

Ein weiterer interessanter Ansatz der Gentherapie im Bereich der Onkologie besteht in der Revitalisierung und im Remodelling von knöchernen Allografts. Die Arbeitsgruppe um Edward Schwarz verwendete einen kombinierten Gentransfer von RANK („receptor activator of nuclear factor κ B“) -Ligand und dem vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor VEGF, um knöcherne Allografts zu revitalisieren [12]. ► **RANK-Ligand** moduliert die Osteoklastenaktivität und ist ein wichtiger Regulator von Osteogenese, Knochenauf- und -umbau. ► **VEGF** spielt eine große Rolle bei der Angiogenese. rAAV-Vektoren, welche beide Gene trugen, wurden durch Gefriertrocknung auf knöchernen Allografts fixiert. Im Tier-Modell resultierte anschließend ein verbessertes Remodelling und Vaskularisierung dieser Allografts. Bereits nach 3 Wochen zeigte sich im femoralen Allograft-Modell an der Maus ein neuer Knochenmantel.

Zusammenfassung

Gentherapie in der Orthopädie ist nicht nur auf die Anwendung des Gentransfers zur Heilung von vererbten Krankheiten auf Basis singulärer Gendefekte beschränkt, sondern wird derzeit intensiv im Rahmen verschiedener orthopädischer Fragestellungen untersucht. Der Vorteil der Orthopädie im Vergleich zu anderen Disziplinen liegt hierbei in der oftmals guten ► **operativen Zugänglichkeit** des Zielgewebes, wie z. B. Gelenkräume. Der experimentelle Fortschritt auf diesem Gebiet ist gekennzeichnet durch ein komplexes Zusammenspiel von Vektorherstellung, Gentransfertechniken und Applikationswegen, Studien in geeigneten ► **Tier-Modellen** sowie Nachweismethoden auf molekularer, struktureller und funktioneller Ebene. Es erscheint notwendig, weitere Studien über einen hinreichend lan-

► Meniskusersatzgewebe

Durch Überexpression von Matrixproteinen und Wachstumsfaktoren soll die ossäre Integration, Angiogenese und das Remodelling von Sehnen-Transplantaten verbessert werden

► Semitendinosus-Transplantat

► Chondrosarkome

► „Bystander-Effekt“

► Lungenmetastasen

Durch Gentherapie können knöchernen Allografts revitalisiert werden

► RANK-Ligand

► VEGF

► Operative Zugänglichkeit

► Tier-Modelle

► Beobachtungszeitraum

Klinische Studien zur Genterapie der rheumatoiden Arthritis haben die praktische Durchführbarkeit demonstriert

gen ► **Beobachtungszeitraum** durchzuführen, da in der klinischen Orthopädie der Erfolg eines chirurgischen Verfahrens über Jahre und Jahrzehnte gemessen wird.

Der entscheidende Beweis für die Anwendbarkeit dieser genbasierten Strategien ist einerseits ihre Überprüfung in Großtier-Modellen, um klinisch relevante Situationen zu erzeugen und andererseits die Durchführung weiterer Studien am Menschen. Klinische Studien zur Genterapie der rheumatoiden Arthritis haben bereits ihre praktische Durchführbarkeit demonstriert. Obwohl bei der Verwendung von viralen Vektoren ein theoretisches Sicherheitsrisiko besteht, muss diese Frage in weiteren Studien evaluiert werden, um diese Bedenken sinnvoll bewerten zu können. Im Rahmen von fruchtbaren Interaktionen von orthopädischen Klinikern und Forschern werden Genterapiestrategien weiter entwickelt werden. Es ist wahrscheinlich, dass genbasierte Verfahren zur Erweiterung und Verbesserung bestehender orthopädisch-chirurgischer Therapien führen. Die dargestellten Beispiele geben Anlass zu Optimismus.

Korrespondierender Autor

Dr. H. Madry

Labor für Experimentelle Orthopädie Klinik für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie,
Universitätsklinikum des Saarlandes
66421 Homburg
hmad@hotmail.com

Danksagung. Unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG MA 2363/1-1, /1-2, /1-3 und CU 55/1-1, /1-2, /1-3) und die Deutsche Arthrose-Hilfe. Wir danken Frau Anja Weimer für redaktionelle Arbeit am Manuskript.

Interessenkonflikt. Es besteht kein Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor versichert, dass keine Verbindungen mit einer Firma, deren Produkt in dem Artikel genannt ist, oder einer Firma, die ein Konkurrenzprodukt vertreibt, bestehen. Die Präsentation des Themas ist unabhängig und die Darstellung der Inhalte produktneutral.

Literatur

1. Benjamin R, Helman L, Meyers P, Reaman G (2001) A phase I/II dose escalation and activity study of intravenous injections of OCaP1 for subjects with refractory osteosarcoma metastatic to lung. *Hum Gene Ther* 10 (12): 1591–1593
2. Boden SD, Hair GA, Viggeswarapu M, Liu Y, Titus L (2000) Gene therapy for spine fusion. *Clin Orthop Relat Res* 379 [Suppl]: 225–233
3. Cabrera-Salazar MA, Novelli E, Barranger JA (2002) Gene therapy for the lysosomal storage disorders. *Curr Opin Mol Ther* 4 (4): 349–358
4. Cucchiariini M, Madry H (2005) Gene therapy for cartilage defects. *J Gene Med* 7 (12): 1495–1509
5. Cucchiariini M, Madry H, Ma C et al. (2005) Menger MD, Kohn D, Trippel SB, Terwilliger EF. Improved tissue repair in articular cartilage defects *in vivo* by rAAV-mediated overexpression of human fibroblast growth factor 2. *Mol Ther* 12 (2): 229–238
6. Cucchiariini M, Thurn T, Weimer A et al. (2007) Restoration of extracellular matrix in human osteoarthritic articular cartilage by overexpression of the transcription factor sox9. *Arthritis Rheum* (in press)
7. Evans CH, Ghivizzani SC, Herndon JH, Robbins PD (2005) Gene therapy for the treatment of musculoskeletal diseases. *J Am Acad Orthop Surg* 13 (4): 230–242
8. Evans CH, Robbins PD, Ghivizzani SC et al. (2005) Gene transfer to human joints: progress toward a gene therapy of arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 (24): 8698–8703
9. Heald A (2006) Clinical trials in inflammatory arthritis. Abstract. In: Proceedings of the 4th International Meeting of Gene Therapy of Arthritis and Related Disorders, Utrecht, Niederlande
10. Hidaka C, Ibarra C, Hannafin JA et al. (2002) Formation of vascularized meniscal tissue by combining gene therapy with tissue engineering. *Tissue Eng* 8 (1): 93–105
11. High K (2002) Gene-based approaches to the treatment of hemophilia. *Ann NY Acad Sci* 961: 63–64
12. Ito H, Koefoed M, Tiyapatanaaputi P et al. (2005) Remodeling of cortical bone allografts mediated by adherent rAAV-RANKL and VEGF gene therapy. *Nat Med* 11 (3): 291–297
13. Kaul G, Cucchiariini M, Arntzen D et al. (2006) Local stimulation of articular cartilage repair by transplantation of encapsulated chondrocytes overexpressing human fibroblast growth factor 2 (FGF-2) *in vivo*. *J Gene Med* 8 (1): 100–111
14. Lieberman JR, Ghivizzani SC, Evans CH (2002) Gene transfer approaches to the healing of bone and cartilage. *Mol Ther* 6 (2): 141–147
15. Madry H (2002) Genterapie in der Kreuzbandchirurgie–Naturwissenschaftliche Grundlagen und klinische Anwendungsmöglichkeiten. *Der Orthopäde* 31 (8): 799–809
16. Madry H, Cucchiariini M, Kaul G et al. (2004) Menisci are efficiently transduced by recombinant adeno-associated virus vectors *in vitro* and *in vivo*. *Am J Sports Med* 32 (8): 1860–1865
17. Martinek V, Latterman C, Usas A et al. (2002) Enhancement of tendon-bone integration of anterior cruciate ligament grafts with bone morphogenetic protein-2 gene transfer: a histological and biomechanical study. *J Bone Joint Surg Am* 84-A (7): 1123–1131
18. Niyibizi C, Smith P, Mi Z et al. (2001) Transfer of proalpha2(I) cDNA into cells of a murine model of human Osteogenesis Imperfecta restores synthesis of type I collagen comprised of alpha1(I) and alpha2(I) heterotrimers *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Biochem* 83 (1): 84–91
19. Pascher A, Steinert AF, Palmer GD et al. (2004) Enhanced repair of the anterior cruciate ligament by *in situ* gene transfer: evaluation in an *in vitro* model. *Mol Ther* 10 (2): 327–336

Bitte beachten Sie:
 Antwortmöglichkeit nur online unter: **CME.springer.de**
 Die Frage-Antwort-Kombinationen werden online
 individuell zusammengestellt.
 Es ist immer nur eine Antwort möglich.

Fragen zur Zertifizierung

Welche genetische Struktur wird beim Gentransfer in die Zielzellen eingeschleust?

- mRNS.
- cDNS.
- Promotor/ Enhancerkonstrukte.
- Wachstumsfaktoren.
- Rezeptoren.

Welche nichtviralen Gentransfermethoden werden in klinischen Studien hauptsächlich untersucht?

- Anionische Liposomen.
- Kationische Liposomen.
- Partikelbeschuss.
- Nanosphären.
- Elektroporation.

Wodurch sind adenovirale Vektoren gekennzeichnet?

- Niedrige Transfereffizienz.
- Integration in das Wirtsgenom.
- Erzeugen einer Immunreaktion.
- Können Infektionen des Urogenitaltraktes hervorrufen.
- Werden meistens in Ex-vivo-Ansätzen verwendet.

Bei welcher Erkrankung wurde die erste orthopädische Gentrapiestudie am Menschen durchgeführt?

- Septische Arthritis.
- Morbus Gaucher.
- Chronische Polyarthritis.
- Osteogenesis imperfecta.
- Gonarthrose.

Welches Gen wurde bei der ersten orthopädischen Gentrapiestudie am Menschen verwendet?

- Typ-I-Kollagen (Colla).
- Tumornekrosefaktor - α (TNF- α).
- Interleukin (IL)-10-Rezeptor-Antagonist (IL-10Ra).
- Interleukin (IL)-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1Ra).
- Insulinartiger Wachstumsfaktor I (IGF-I).

Worauf zielen Gentransferstrategien bei der Arthrose ab?

- Hemmung der Matrixproduktion.
- Hemmung der Chondrogenese.
- Stimulierung kataboler Prozesse.
- Stimulierung anaboler Prozesse.
- Verbesserung der autologen Chondrozytentransplantation.

Wodurch wird ein direkter Gentransfer in fokale Knorpeldefekte erzielt?

- Intraartikuläre Injektion von retroviralen Vektoren.
- Intraartikuläre Injektion von adenoassoziierten viralen Vektoren.
- Systemische Gabe von retroviralen Vektoren.
- Systemische Gabe von adenoassoziierten viralen Vektoren.
- Arthrotomie und Applikation von adenoassoziierten viralen Vektoren in den Defekt.

Welche Aussagen sind richtig? Welche therapeutischen Gene werden zur Frakturheilung verwendet?

- I. BMP-2.
 - II. BMP-4.
 - III. BMP-6, -7, -9.
 - IV. Parathormon (PTH)-Fragment (PTH[1–34])
- Aussage I und II sind richtig
 - Aussage III und IV sind richtig
 - Aussage I und IV sind richtig
 - Nur Aussage III ist richtig
 - Alle Aussagen sind richtig

Welche Aussagen sind richtig? Welche Gentrapiestrategien werden in der orthopädischen Onkologie verfolgt?

- I. Suizidgentherapie.
 - II. Überexpression von Wachstumsfaktoren.
 - III. Remodelling von knöchernen Allografts.
 - IV. Adenoviraler BMP-2-Transfer
- Aussage II und III sind richtig
 - Nur Aussage II ist richtig
 - Nur Aussage IV ist richtig
 - Aussage I und III sind richtig
 - Alle Aussagen sind richtig

Welcher Effekt von überexprimiertem BMP-2 wurde an Semitendinosus-Transplantaten zum Kreuzbandersatz gezeigt?

- Verbesserung der knöchernen Integration des Transplantats.
- Verringerung der Ausrissfestigkeit.
- Selteneres Auftreten von Arthrofibrose.
- Schnellere Ligamentisierung des Transplantats.
- Verbesserung der Angiogenese im Transplantat.

Diese Fortbildungseinheit ist 12 Monate auf CME.springer.de verfügbar. Den genauen Einsendeschluss erfahren Sie unter CME.springer.de



Hier steht eine Anzeige.

