

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΟΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗΝ ΟΣΦΥΪΚΗ ΣΠΟΝΔΥΛΟΔΕΣΙΑ

Δ. ΤΣΟΥΚΑΣ

Η συχνότητα των επεμβάσεων σπονδυλοδεσίας έχει αυξηθεί δραματικά την τελευταία δεκαετία. Στις ΗΠΑ, από το 1991 έως το 1996, οι σπονδυλοδεσίες στην αυχενική, τη θωρακική και την οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης αυξήθηκαν από 155.000 σε 257.000 και υπολογίζεται ότι το 2001 θα προσεγγίσουν τις 360.000.

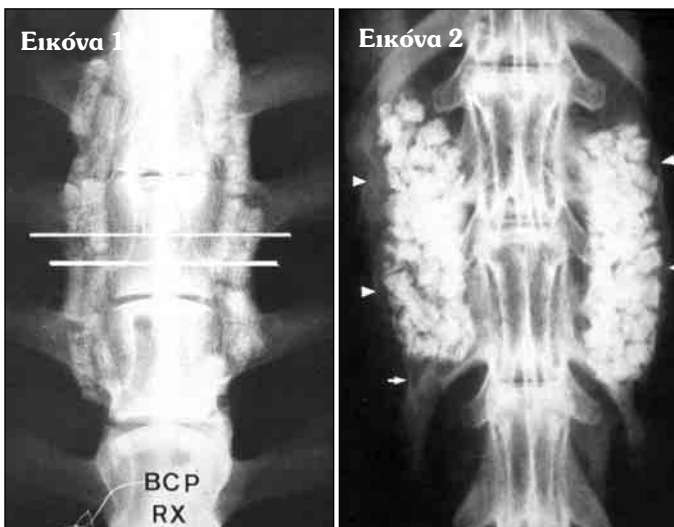
Το αποτέλεσμα της σπονδυλοδεσίας εξαρτάται από παράγοντες όπως η χειρουργική τεχνική, ο αριθμός των επιπέδων που σπονδυλοδεύονται, η ηλικία του ασθενούς, το κάπνισμα, προηγηθείσες επεμβάσεις, κ.ά. Το ποσοστό της ψευδάρθρωσης ανέρχεται στο 5-40%.

Το λαγόνιο αυτομόσχευμα είναι ο gold standard βιολογικός ενισχυτής του επιδιωκόμενου fusion. Τα αυτομοσχεύματα είναι βιολογικά πιο ενεργά από κάθε άλλο τύπο μοσχεύματος, κυρίως γιατί περιέχουν ζώντα οστεοκύτταρα. Η δυναμική τους αποτελεί τη συνισταμένη τριών ιδιοτήτων: α) της οστεογένεσης, της σύνθεσης νέου οστού από επιβιώσαντες προ-οστεοβλάστες και οστεοβλάστες του μοσχεύματος, β) της οστεοεπαγωγής, της δημιουργίας νέου οστού από την ενεργοποίηση πολυδύναμων μεσεγχυματικών κυττάρων του ξενιστή και τη διαφοροποίησή τους σε κονδροβλάστες και οστεοβλάστες, και γ) της οστεοκαθοδήγησης, της ικανότητας του μοσχεύματος να δρα ως αδρανές ικρίωμα, στο οποίο διεισδύουν νεόπλαστα αγγεία με πρόδρομες μορφές οστεοκυττάρων του δέκτη που διαφοροποιούνται και ωριμάζουν παράγοντας νέο οστό.

Η λήψη του λαγόνιου αυτομοσχεύματος συνοδεύεται από άλγος, υπερευαισθησία (6-20%), αιμάτωμα και εν τω βάθει φλεγμονή (3-9%), και άλγος πέραν του έτους στη δότρια περιοχή (30%). Οι επιπλοκές αυτές, καθώς και τα υψηλά ποσοστά των αποτυχημένων σπονδυλοδεσιών, οδήγησαν την έρευνα σε περισσότερο βιολογικούς προσανατολισμούς.

Το 1979, ο Urist απέδειξε ότι πρωτεΐνες με οστεογενετικές ιδιότητες μπορούν να εξαχθούν από ζωικό φλοιώδες οστό με διάσπαση της απομεταλλοποιημένης θεμέλιας ουσίας (DBM) του φλοιού με βακτηριακή κολλαγενάση. Επειδή αυτές οι χαμηλού μοριακού βάρους γλυκοπρωτεΐνες -που ονομάστηκαν οστικές μορφογεννητικές (BMPs)- αποτελούν μόνο το 0,1% όλων των οστικών πρωτεϊνών, απαιτούνται μεγάλες ποσότητες αλλομοσχεύματος για να εξαχθούν ελάχιστες ποσότητες BMPs (1-2 μg BMP/kg φλοιώδους οστού).

Στα τέλη του 1980, ο Wosney με γονιδιακές τεχνικές αναγνώρισε διάφορα μόρια BMP, που όλα πλην της BMP-1 ανήκαν στην υπερομάδα των TGF-β πρωτεϊνών. Διάφορα ανασυνδυασμένα μόρια BMP παρήχθησαν σε απεριόριστες ποσότητες από γενετικά καθορισμένες κυτταρικές σειρές. Τα ανασυνδυασμένα αυτά μόρια δε δημι-



Εικόνα 1. Σπονδυλοδεσία σε κουνέλι με rh-BMP-2.

Εικόνα 2. Αυτομόσχευμα με κοράλλι.

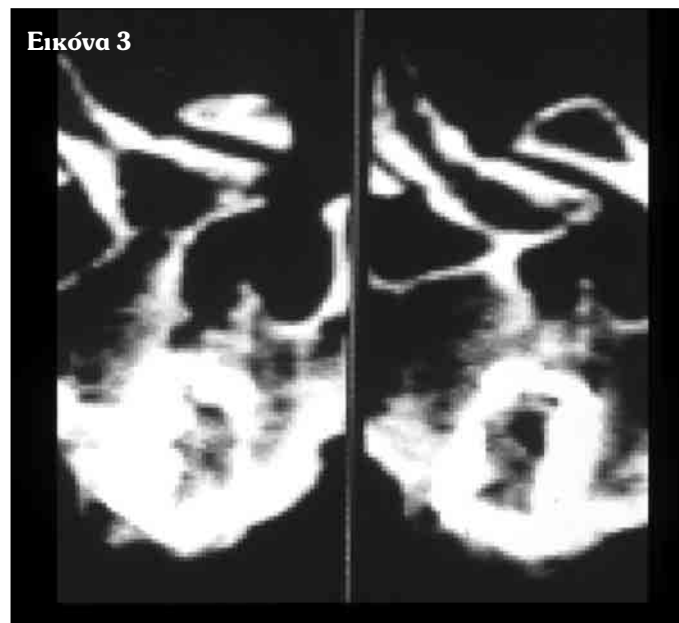
ουργούν καμία αντίδραση απόρριψης και δεν περιέχουν λοιμογόνα στοιχεία.

Έτσι, ξεκίνησε μια σειρά in vivo μελετών με rh BMPs. Οι Boden και συν. ανέδειξαν 100% μεσεγκάρσια σπονδυλοδεσία σε κουνέλι 4 μήνες μετά την εμφύτευση DBM με rh BMP-2, ενώ με αυτομόσχευμα το ποσοστό ήταν 42% (εικόνα 1, 2).

Οι Sandhu και David σε χωριστές εργασίες (1998) παρουσίασαν 100% οπισθοπλάγια σπονδυλοδεσία σε σκύλους 8 μήνες μετά την εμφύτευση rh BMP-2 και πολυμερούς (OPLA), ενώ όταν χρησιμοποίησαν λαγόνιο αυτομόσχευμα το ποσοστό ανήλθε στο 0-33%. Οι Cook και συν. κατέδειξαν σταθερή οπισθοπλάγια σπονδυλοδεσία σε σκύλους 12 εβδομάδες μετά τη χρήση OP-1 (BMP-7), ενώ το ίδιο αποτέλεσμα με λαγόνιο αυτομόσχευμα επιτεύχθηκε σε 26 εβδομάδες.

Αρκετά αποτελεσματικές αποδείχθηκαν οι BMPs και σε επεμβάσεις ALIF. Οι Sandhu, Boden και Fischgrund παρουσίασαν επιτυχημένα μοντέλα fusion με κλωβούς πιτανίου, στους οποίους εμφύτευσαν rh BMP-2 ή rh BMP-7. Τα πρώιμα αποτελέσματα των αρχικών κλινικών μελετών παρουσιάστηκαν τα δύο τελευταία χρόνια. Οι Harvinder, Sandhu, Scott και συν. το 1998 εμφύτευσαν κλωβούς πιτανίου με rh BMP-2 σε 11 ασθενείς παρουσιάζοντας πετυχημένο μοντέλο ALIF βάσει κλινικών και εργαστηριακών εξετάσεων σε 3, 6, 12 και 24 μήνες (εικόνα 3).

Ανάλογες κλινικές εργασίες έχουν ξεκινήσει στις ΗΠΑ, στην Αυστραλία, στη Σουηδία και στη Δανία με τη χρήση rh BMP-7 και τα αποτελέσματά τους αναμένονται με μεγάλο ενδιαφέρον. Για να δράσουν οι μορφογενετικές πρωτεΐνες είναι απαραίτητο να βρίσκονται μέσα σε ουσίες που θα τις μεταφέρουν ενδοκυττάρια μέσω ειδικών υποδοχών. Οι ουσίες-φορείς επιτυγχάνουν ελεγχόμενη

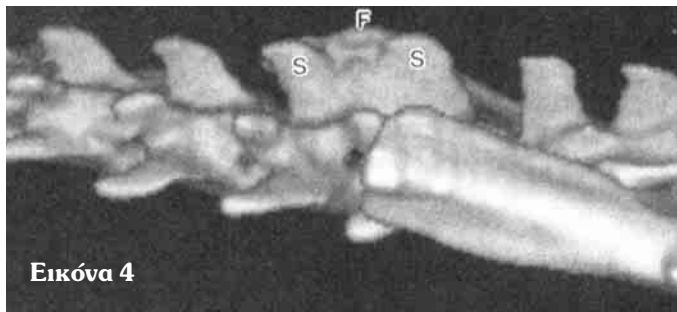


Εικόνα 3. Κλωβοί πιτανίου με rh-BMP-2 στο επίπεδο O5-I1.

απελευθέρωση και επαρκή έκθεση των BMPs στα κύτταρα στόχους, επιτρέπουν την ανάπτυξη τριχοειδικών αγγείων και μεσεγχυματικών κυττάρων μέσα από την τρισδιάστατη μορφή τους και τελικά ανακατασκευάζονται και απορροφώνται.

Ως φορείς χρησιμοποιήθηκαν πολλές ουσίες, όπως κεραμικά φωσφορικού ασβεστίου (HA+TCP), συνθετικά πολυμερή, απομεταλλοποιημένη θεμέλιος ουσία, κολλαγόνο, πιάνιο, κοράλλι, κ.ά. Το κοράλλι υπό μορφή πορώδους αραγονίτη από ανθρακικό ασβέστιο κατά 97% χρησιμοποιήθηκε από τους Scott και Boden (1999), οι οποίοι επέδειξαν επιτυχή σπονδυλοδεσία σε κουνέλι 5 εβδομάδες μετά την εμφύτευση BNP-2 με κοράλλι. Το πρόβλημα είναι ότι για την επίτευξη του ίδιου επιτυχούς αποτελέσματος σε ζώα υψηλότερης βιολογικής κλίμακας και τελικά στον άνθρωπο απαιτούνται ολοένα και μεγαλύτερες δόσεις BMPs. Αυτό συμβαίνει είτε γιατί οι υποδοχείς των πρωτεϊνών δεν εκφράζονται επαρκώς λόγω της μεγάλης διαφοροποίησης είτε διότι υπάρχουν όλο και λιγότερα ανταποκρινόμενα κύτταρα - στόχοι.

Το 1998, οι Tord και Alden διαπίστωσαν έκτοπη παραγωγή οστού ενίοντας διάλυμα με γονίδιο BMP-2 και φορέα έναν αδενοϊό στη γλουτιαία χώρα ποντικών, ύστερα από πάροδο 12 εβδομάδων. Οι αρχές της γονιδιακής θεραπείας - δηλαδή η ενδοκυττάρια μεταφορά γονιδίων μέσω ειδικών φορέων (vectors), όπως οι ρετροϊοί και οι αδενοϊοί, για τη συμπλήρωση ελλείποντος ή την αντικατάσταση ελαττωματικού γονιδίου - κατευθύνουν την έρευνα σε νέες οδούς. Αντί για την εξωκυττάρια χορήγηση καθορισμένης δόσης BMP + φορέα χορηγούμε το γονίδιο της πρωτεΐνης, το οποίο εκφραζόμενο ενδοκυτ-



Εικόνα 4. Παραγωγή οστού στην ένωση ακανθώδους απόφυσης - πετάλων κατόπιν έγχυσης γονιδίου BMP-2.

τάρια θα παράγει BMP.

Με βάση τις αρχές αυτές, το 1998 οι Scott και Boden δημιούργησαν μια νέα οστεοεπαγωγική πρωτεΐνη (LMP-1), η οποία συντίθεται ενδοκυττάρια. Εμφύτευσαν σε 12 ποντικούς κύτταρα μυελού των οστών με ενεργό ή ανενεργό γονίδιο LMP-1, με αποτέλεσμα το σαφή σχηματισμό οστού στη θέση εμφύτευσης του ενεργού γονιδίου. Έτσι λοιπόν, δε χρειάζεται να μεταφέρεται μέσα σε κάθε κύτταρο η μορφογενετική πρωτεΐνη για να μπορέσει να εκφραστεί και η έκφρασή της δεν απαιτείται να διαρκεί πολύ.

Το 1999, οι Tord και Alden χορήγησαν διαδερμικά με σύριγγα μέσω φλουοροσκοπικού ελέγχου γονίδιο BMP-2 με αδενοϊό στην ένωση ακανθώδους απόφυσης και πετάλων σε ποντίκια. Δώδεκα εβδομάδες αργότερα, με CT Scan διαπίστωσαν την παραγωγή νέου οστού στη θέση της έγχυσης, χωρίς επέκταση στο μυελικό σωλήνα (εικόνα 4).

Οι Nishida και συν. το 1998 απέδειξαν ότι η μεταφορά γονιδίου (έλεγχος με αδενοϊό σε κύτταρα του ηπατοκυττάρου πύρινα ενός εκφυλισμένου μεσοσπονδυλίου δίσκου) είναι εφικτή, η έκφραση δε του γονιδίου διαρκεί 12 εβδομάδες. Ήδη, μελετάται η ανεύρεση γονιδίου γλυκοζαμινοπρωτεϊνών (η ελάτωση των οποίων οδηγεί σε εκφύλιση του δίσκου), το οποίο χορηγώντας το με αδενοϊό πιθανώς να οδηγήσει σε αναγέννηση του δίσκου. Η γονιδιακή θεραπεία ήδη εφαρμόζεται σε ορισμένες παθήσεις, όπως στην ινοκυστική νόσο, στη μυϊκή δυστροφία, και ερευνάται η εφαρμογή της σε πολλές άλλες. Πιθανώς να αποτελέσει μελλοντικά τη θεραπεία εκλογής και για πολλά προβλήματα της σπονδυλικής στήλης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bagdy GW. Arthrodesis by the distraction-compression method using a stainless steel implant. *Orthopedics* 1988, 11:931-934.
2. Boden SD, Horton WC, Martin G, et al. Laparoscopic anterior spinal arthrodesis with rhBMP-2 in a titanium interbody threaded cage. *J Spinal Disord* 1988, 11:95-101.

3. Boden SD, Zdeblick TA, Sandhu HS, Heim SE. The use of BMP-2 in interbody fusion cages: Definitive evidence of osteoinduction in humans. *Trans Am Acad Orthop Surg* 1999.
4. Cloward RB. The anterior approach for the removal of ruptured cervical disks. *J Neurosurg* 1958, 15:602-610.
5. Crock HV. Anterior lumbar interbody fusion: Indications for its use and notes on surgical technique. *Clin Orthop* 1982, 165:157.
6. DeBowes RM, Grant BD, Bagdy GW, et al. Cervical vertebral interbody fusion in the horse. *Am J Vet Res* 1984, 45:191-199.
7. Flynn JC, Hoque MA. Anterior fusion of the lumbar spine: End-result study with long-term follow-up. *J Bone Joint Surg* 1979, 61A:1143-1150.
8. Hecht BP, Fischgrund JS, Herkowitz HN, et al. The use of recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2) to promote spinal fusion in a non-human primate anterior interbody fusion model. *Spine* 1999, 24:629-636.
9. Holliger EH, Trawick RH, Boden SD, Hutton WC. Morphology of the lumbar intertransverse process fusion mass in the rabbit model: A comparison between two bone graft materials - rhBMP-2 and autograft. *J Spinal Disord* 1996, 9:125-128.
10. Mahvi DM, Zdeblick TA. A prospective study of laparoscopic spinal fusion. Technique and operative complications. *Ann Surg* 1996, 224:85-90.
11. Sandhu HS, Kanim LEA, Kabo JM, et al. Effective doses of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in experimental spinal fusion. *Spine* 1996, 21:2115.
12. Sandhu HS, Kabo JM, Turner AS, et al. Augmentation of titanium fusion cages for experimental anterior lumbar fusion. *Orthopaedic Transactions* 1997, 21:92.
13. Scott D. Lumbar Spinal fusion by local gene therapy with a CDNA Encoding a Novel Osteoinductive protein (LMP-1). *Spine* 1998, 23:2486-2492.
14. *Spinal Fusion Cages*, London, Market Line International 1997:3-156.
15. Urist MR. Bone formation by autoinduction. *Science* 1965, 150:893-899.
16. Wang EA, Rosen V, D' Alessandro JS. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87:2220-2224.
17. Wosney JM. The bone morphogenetic family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev* 1992, 32:160-167.
18. Zdeblick TA, Cooke ME, Rapoff AJ, et al. Cervical interbody fusion cages, an animal model with and without BMP. *Spine* 1998, 23:758-765.
19. Zuckerman JF, Zdeblick TA, Bailey SA, et al. Instrumented laparoscopic spinal fusion. Preliminary results. *Spine* 1995, 20:2029-2034.