
Tkivno inženirstvo pri zdravljenju zlomov

Tissue engineering in fracture treatment

Roman Košir,
Andrej Čretnik

Izveček

Razvoj zdravljenja zlomov prinaša dopolnjevanje mehanskih metod učvrstitve z biološkim vzpodbujanjem celjenja. Celjenje zlomov je kompleksen fiziološki proces, kjer imajo pri uravnavanju velik vpliv signalne molekule – rastni faktorji. Uporaba biološke spodbude z ravnimi faktorji pri zdravljenju zlomov prinaša obetajoče rezultate.

Abstract

The development of fracture fixation introduces biological enhancement of fracture healing to complement mechanical stabilization. Bone healing is a complex physiological process where signal molecules – growth factors play an important role. The results of biological enhancement of fracture healing using growth factors are promising.

Asist. Roman Košir, dr. med.,
Doc. Dr. Andrej Čretnik, dr. med.,
Oddelek za travmatologijo,
Splošna bolnišnica Maribor,
Učna bolnišnica,
Ljubljanska 5, 2000 Maribor

Ključne besede

tkivno inženirstvo, celjenje zlomov, uravnavanje celjenja, osteogeneza, osteokondukcija, osteoindukcija, biološka spodbuda

Key words

tissue engineering, fracture healing, regulation of healing, osteogenesis, osteoconduction, osteoinduction, biological enhancement

Uvod

Hiter razvoj znanosti in tehnologije prinaša nenehne spremembe praktično na vsa področja človekovega življenja. Prihaja do vse večje globalizacije in vse hitrejšega pretoka idej in znanja. Spremenjen način življenja poleg številnih prednosti prinaša tudi slabosti. Tako vse bolj narašča število poškodb, ki so najpogostejši vzrok smrti med ljudmi v najbolj ustvarjalnem življenjskem obdobju. V ZDA vsako leto vsak sedmi prebivalec (~14 % prebivalcev) utрпи poškodbo mišičnoskeletnega sistema. Približno 20 odstotkov teh poškodb predstavljajo zlomi, kar zneso v ZDA skoraj 6,2 milijona zlomov letno (1).

V želji po dobrem in pravilnem zaraščanju vseh zlomov temeljna načela zdravljenja skupine AO (Arbeitsgruppe für Osteosynthesefragen) nadgrajujemo z razvojem metod zaprte učvrstitve z intramedularnimi žebli na zaklep, skrbnim ravnanjem z mehkiimi tkivi in spodbujanjem bioloških mehanizmov celjenja s pomočjo električnega toka, elektromagnetnih polj in ultrazvoka (2, 3). Kljub nenehnemu napredku medicine, kirurgije in operativnih metod, zlasti v zadnjih štirih desetletjih, pride pri 5-10 % zdravljenih poškodovancev do težav pri celjenju zlomov (1).

Težave poskušamo razrešiti z usmeritvijo zdravljenja zlomov tudi na področja celične in molekularne biologije. Pogled na celjenje zlomov se z mehničnega vidika in teorije o mikrogibanju, ki je potrebno za spodbujanje celjenja, širi na raven celice in celičnega ciklusa, molekularno raven in vpliv genov na celjenje. Pogled je usmerjen tudi v razvoj novih materialov, ki omogočajo in spodbujajo celjenje zlomov. Eden izmed najpomembnejših vzrokov za opisane spremembe je prav gotovo nesluten napredek v razvoju molekularnih metod in tehnološkem razvoju novih materialov.

Tkivno inženirstvo je znanstvena veda o pridobivanju živega tkiva z namenom, da spremenimo, popravimo ali zamenjamo tkivo, ki je bolezensko spremenjeno. Novo tkivo nastane bodisi znotraj bodisi zunaj telesa. Vedno za razvoj tkiva potrebujemo celice, spodbudo za rast ter ogrodje. Nova tkiva bi naj bila čimbolj enaka zdravemu tkivu in naj s časom ne bi izgubljala bioloških lastnosti (4).

Osnove celične in molekularne biologije celjenja zloma

Celjenje zloma je kompleksen fiziološki proces. Za razliko od drugih tkiv kostno tkivo ne celi z brazgotino, ampak s tvorbo kostnine. Zaceljeno področje mora imeti čimbolj podobne lastnosti kot kost pred zlomom in mora biti sposobno znova prenašati mehanske obreme-

nitve. Pri celjenju zloma se dogajajo spremembe v kostnem mozgu, skorji (korteksu), v periostalnem področju in v področju mehkih tkiv, ki pokrivajo mesto zloma. Po klasični histološki delitvi delimo celjenje zloma na primarno in sekundarno celjenje (2, 5).

Pri **primarnem (kortikalnem) celjenju** pride do nastanka kostnine direktno brez nastanka hrustanca z resorpcijo robov lomnih ploskev in vzpostavitvijo novih Haversovih kanalov (v skorji). Vanje vrastejo (penetri- raje) žile, iz spremljajočih endotelnih in perivaskularnih mezenhimalnih celic nastanejo osteoprogenitorne celice, ki se preobrazijo v osteoblaste. Nastane spongi- ozni most, ki se remodelira v lamelarno, mehansko čvrsto kost. Pogoj za direktno celjenje je mehansko čvrst, tog spoj odlomkov. Pri tovrstnem celjenju igra najpomembnejšo vlogo skorja (kortikalis) kosti.

Pri **sekundarnem (enhondralnem) celjenju** ima najpomembnejšo vlogo periost, ki prispeva osteoprogenitorne in nediferencirane mezenhimalne celice za celjenje po principu enhondralne osifikacije. Pomemben je tudi vpliv mehkih tkiv, ki pokrivajo mesto zloma, predvsem na zgodnjo tvorbo kalusa, ki stabilizira odlomke. Premikanje odlomkov spodbuja periostalno reakcijo, medtem ko jo toga učvrstitev inhibira. Kostni mozeg je pomemben predvsem zaradi svojih osteoprogenitornih celic. Večina zlomov v naravi celi po principu sekundarnega (enhondralnega) celjenja, ki je prisotno tudi pri večini oblik zdravljenja zlomov, kjer je prisotno določeno premikanje odlomkov (mavčna imobilizacija, opornice, zunanja učvrstitev, intramedularna učvrstitev...). Sekundarno celjenje razdelimo na več osnovnih stopenj:

- hematoma in vnetje
- angiogeneza (vraščanje žil) in nastanek hrustanca
- odstranitev hrustanca, kalcinacija in nastanek kostnega kalusa
- preobrazba kostnine z remodelacijo (2, 6).

Uravnavanje celjenja zloma

Najpomembnejša vloga hematoma je verjetno v izvoru signalnih molekul, ki sprožijo verižno reakcijo, ki privede do kostnega zaceljenja. V prvem obdobju sekundarnega celjenja pride do nastanka oz. sprožitve vnetnih mediatorjev – citokinov in signalnih molekul – rastnih faktorjev, ki jih izločajo predvsem nevtrofilci in trombociti. Glavna citokina sta interleukin 1 in interleukin 6, glavna rastna faktorja pa trombocitni rastni faktor (PDGF) ter tkivni rastni faktor β (TGF β). Te molekule so pomembne pri uravnavanju razraščanja in diferenciaciji pluripotentnih mezenhimalnih celic. Molekule

sodelujejo tudi pri kemotaksi in spodbujajo celice k sintezi kostne medceličnine, vlogo imajo tudi pri nastanku hondrocitov in v angiogenezi (7-9).

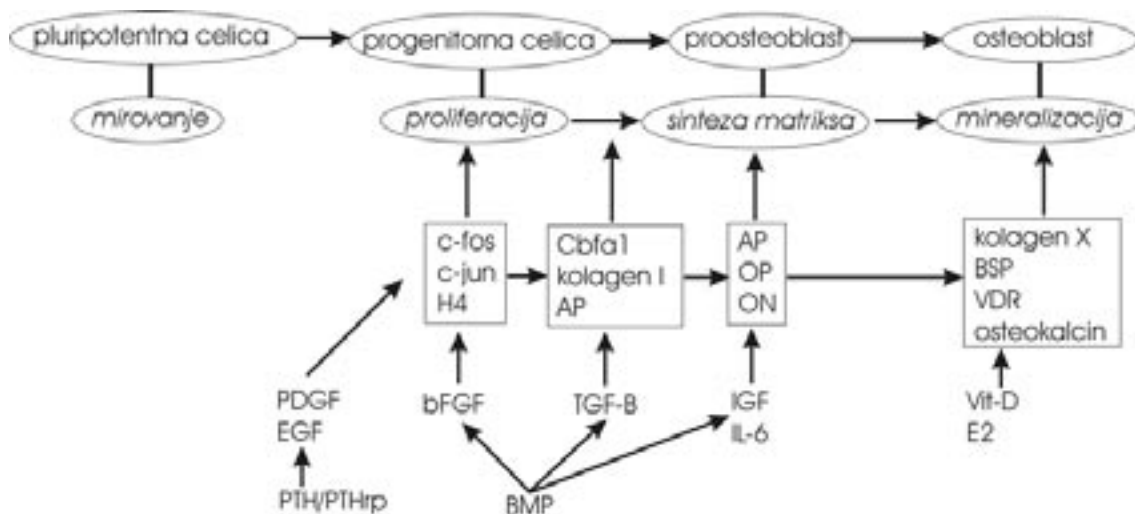
V prvih 7-10 dneh lahko zasledimo intramembranozne spremembe pod periostom v smislu nastajanja fibroznega in nato hrustančnega tkiva. V sredini drugega tedna mesto zloma že prekriva hrustančno tkivo. Pričena se kalcinacija hrustančnega tkiva in tako že lahko ločimo trdi kalus, kjer najdemo intramembranozno osifikacijo in mehki kalus, kjer se nadaljuje endohondralna osifikacija. Na koncu drugega tedna se prične zmanjševati razrast (proliferacija) celic, takrat prevladujejo hipertrofični hondrociti. V njihovih mitohondrijih se kopiči in sprošča kalcij, ki ga hondrociti s pomočjo posebnih vezikul "transportirajo" v zunajcelični matriks, kjer se "dogaja" kalcifikacija. S kalcinacijo hrustanca pride do vraščanja krvnih žil, ki prinesejo s seboj progenitorne perivaskularne celice, ki so izvor nastanka osteoklastov. S pojavom osteoklastov pride do procesa resorpcije in pričetka remodelacije – preustroja kostnine v lamelarno strukturo. S pomočjo genskega inženiringa in metod detekcije in ekspresije, PCR, uporabe monoklonskih protiteles, in situ in northern hibridizacije, so posamezne stopnje že natančno proučene in dokazane. Kompleksen proces preobrazbe progenitorne celice v osteoblast in mehanizme uravnavanja tega procesa prikazujemo na sliki 1.

Med številnimi rastnimi faktorji ima verjetno največjo vlogo pri celjenju zloma kostni morfogenetični protein (bone morphogenetic protein - BMP), ki spada v družino TGF β . Kostni morfogenetični protein je nizkomolekularna beljakovina, ki vpliva na nastanek kostnine s tem, da povzroči in pospešuje nastanek osteoblastov iz progenitornih celic in sintezo kolagena. Obstaja več podvrst BMP, najbolj raziskana sta BMP-2 in BMP-7. S pomočjo genskega inženirstva BMP že pridobivamo rekombinantno. Uporaba je pokazala obetajoče rezultate (10-22).

Pomembno vlogo imajo tudi celični protoonkogeni, npr. c-fos. Lastnosti teh genov so uravnavanje izražanja drugih genov, delujejo kot rastni faktorji in receptorji ali delujejo kot znotrajcelične signalne molekule. Omeniti velja tudi fibronektin, ki ga najdemo v zgodnjem obdobju celjenja zloma in je pomemben pri adheziji in migraciji razvojnih celic. Signalne molekule imajo pomembno vlogo tudi v procesu programirane celične smrti (apoptoze), ko posamezne celice v določenem obdobju izginevajo in jih nadomestijo druge (hondrociti, osteoblasti) (10).

Vplivi na celjenje in vzpodbujanje celjenja zloma

Celjenje zloma vključuje številne biološke procese. Nanje lahko pomembno vplivamo z več dejavniki. Na



Slika 1. Pot nastanka osteoblasta. Stopnje diferenciacije osteoblasta in glavna aktivnost celice na posamezni stopnji, nekateri značilni geni, ki se izražajo na posamezni stopnji, in približno mesto delovanja nekaterih glavnih kostnih rastnih faktorjev ter hormonov. Legenda: H4 - histon H4, Cbfa1 - transkripcijski faktor "core-binding factor α 1", AP - alkalna fosfataza, OP - osteopontin, ON - osteonektin, BSP - kostni sialoprotein, VDR - vitamin D receptor, PDGF - trombocitni rastni faktor, EGF - epiteljski rastni faktor, bFGF - bazični fibroblastni rastni faktor, TGF β - transformirajoči rastni faktor β , IGFs - inzulinu podoben rastni faktor I in II, IL-6 - interleukin 6, E2 - estradiol, Vit D - vitamin D3, PTH - paratiroidni hormon, PTHrp - paratiroidnemu hormonu soroden protein, BMP - družina kostnih morfogenetskih proteinov (10).

histološko obliko celjenja zloma vplivamo z izborom tipa operacijske učvrstitve, operacijsko tehniko, mehanično trdnostjo oz. togostjo učvrstitve zloma in položajem vsadka (intramedularna oz. ekstramedularna lega). Dodatno poškodovanje mehkih tkiv, odstranitev lomnega hematoma, rastnih faktorjev, progenitornih celic in okvara oz. dodatno poškodovanje žil zavirajo celjenje. Celjenje pa lahko tudi spodbujamo. Obstaja veliko naravnih in umetnih snovi, bioloških in mehanskih vsadkov, ki spodbujajo rast in celjenje zloma. Različne snovi oz. materiali, ki jih danes uporabljamo oz. jih raziskujemo v ta namen, so:

- avtologna spongiozna kost
- avtologna kortikalna kost
- vaskulariziran avtograft
- alograft
- deproteiniziran ksenograft
- kostni mozeg
- demineraliziran kostni mozeg
- kolagen
- keramika
- kostni morfogenetični protein (BMP).

Glavne lastnosti teh snovi so osteogeneza, osteokondukcija in osteoindukcija (10).

Osteogeneza je sposobnost celic (npr. osteoblastov), da tvorijo kostnino. Osteogenetske celice v področju zloma izvirajo iz kostnega mozga, periosta in perivaskularnega tkiva. Največkrat se razvijejo iz pluripotentnih celic oz. predhodnikov kostnih celic. Osteogenetske lastnosti oz. celice imajo npr. avtologni kostni presadki in kostni mozeg.

Osteokondukcija predstavlja lastnost snovi, da v tridimenzionalnem prostoru olajšujejo pritrditev, migracijo in diferenciacijo kostnih celic. Največkrat so to ogrodja, kamor lahko vraščajo osteogenetske celice. Osteokonduktivne lastnosti imajo umetne snovi, npr. keramični materiali (hidroksiapatit, trikalcijev fosfat) in naravni materiali, npr. avtogeni presadek spongiozne kosti, deproteiniziran kostni matriks, kolagen.

Osteoindukcija pomeni lastnost bioaktivnih molekul, ki stimulirajo nastanek in razvoj kostnih celic in kostne medceličnine. Takšne induktivne molekule so rastni faktorji, ki so tkivno specifični polipeptidi in delujejo kot lokalni regulatorji aktivnosti kostnih celic. Najbolj pomembni pri celjenju zlomov so že omenjeni BMP, TGFβ in PDGF, fibroblastni rastni faktor (fibroblast growth factor – FGF) in inzulinu podoben rastni faktor (insulin-like growth factor-IGF). Njihovo delovanje preprosto opišemo v zaporedju dogodkov:

1. vezava na specifični celični transmembranski receptor
2. intracelularna konformacija receptorja – aktivacija zaporedja proteinskih kinaz
3. aktivacija transkripcije rastnih genov v mRNA
4. translacija in nastanek specifičnih proteinov
5. rast oz. delitev celice ali nastanek medceličnine.

Klinična uporaba biološko aktivnih snovi

Idealen vsadek naj bi imel vse tri osnovne lastnosti: sposobnost osteogeneze, osteoinduktivno in osteokonduktivno lastnost. Danes tem zahtevam dobro ustreza le “zlati standard” med vsemi vsadki, to je **avtologna spongiozna kost**. Toda tudi uporaba tega presadka ima svoje pomanjkljivosti:

- odvzem povzroči posledice na odvzemnem mestu (operativna brazgotina, bolečina, poškodba živcev, okužba...)
- čas operacije je zaradi odvzema podaljšan
- količina odvzetega presadka je včasih majhna oz. nezadostna (npr. pri otrocih ali pri velikih kostnih defekatih)
- zaradi odvzema pride do dodatne zahtevnosti posega in stroškov
- povečana je verjetnost transfuzij krvnih pripravkov
- kljub uporabi avtolognega presadka je celjenje včasih nezadovoljivo.

Prav zaradi tega iščemo nove materiale, ki bi sami ali v kombinaciji vsebovali vse tri lastnosti. V klinični

Vsadek	osteokondukcija	osteoindukcija	osteogeneza
avtologna spongiozna kost	++++	++	++
kostni mozeg	-	+/-	+++
keramični material	++++	-	-
demineraliziran kostni matriks	+	+++	-
rastni faktorji	-	++++	-
kombinacije	+#	+#	+#

Tabela 1. Vsadki, ki jih danes največ uporabljamo v kostni kirurgiji. Legenda: število “+” določa stopnjo vpliva, “-” pomeni, da vpliva ni. *pri kombinacijah je stopnja vpliva odvisna od vrste kombinacije (10).

uporabi kot vir osteoprogenitornih celic največ uporabljamo kostni mozeg, kot osteokonduktiven material biološko ustrezne keramične materiale, ter kot osteoinduktivne snovi demineraliziran kostni matriks ter ključne rastne faktorje (BMP). Snovi, ki jih danes najpogosteje uporabljamo v klinični praksi in njihov vpliv na elemente kostne rasti prikazujemo v tabeli 1 (10).

Uporaba presadkov **kostnega mozga** je pokazala dobre rezultate pri zdravljenju slabega celjenja zlomov in nezaceljenih zlomov, pri kostnih defektih in zatrditvah sklepov (11). Intenzivno se raziskuje možnost uporabe raztopljenih presadkov kostnega mozga – tako zasledimo poročila o obetavnih rezultatih pri zdravljenju slabega celjenja in nezaceljenih zlomov golenice (14).

Keramični materiali se zelo dobro obnesejo pri zdravljenju sklepnih prelomov, saj lahko z njimi zelo dobro izpolnimo prazen prostor oz. podpremo sklepne odlomke, da zadržijo položaj. Tako zasledimo poročila o zelo dobrih rezultatih zdravljenja pri zlomih platoja golenice, koželjnici in kolčnih zlomih. Če jih uporabimo v obliki injekcij lahko na mestu zloma povzročijo okvare prekrvavitve. Zelo pogosto uporabljamo tovrstne materiale kot prevleko pri protezah (npr. pri brezementnih kolčnih protezah zaradi boljšega vraščanja) (11).

Demineraliziran kostni matriks dobimo s predelavo kostnine v kislem mediju. Preostanejo rastni faktorji in proteini (kolagen in drugi proteini), odstranimo le minerale. Osteoinduktivne lastnosti tega vsadka pripisujejo predvsem rastnim faktorjem, še posebej BMP. Poročila o uporabi demineraliziranega kostnega matriksa pri kostnih defektih, kominutivnih in nezaceljenih zlomih so obetavna (13).

Eno najpomembnejših raziskovalnih področij v kostni kirurgiji je danes prav gotovo področje raziskav **rastnih faktorjev**. Glavna lastnost rastnih faktorjev je osteoindukcija. Pri tem je verjetno najpomembnejši BMP, zato je tudi najbolj uporabljan rastni faktor v raziskavah. BMP pridobivamo rekombinantno, uporaba pri zdravljenju nezaceljenih zlomov stegnenice, spondilodezah (zatrditvah hrbtenice), segmentnih defektov stegnenice in podobnih težavah pri celjenju je prav tako prinesla obetajoče rezultate (14-22). Poleg vpliva rastnih faktorjev na celjenje kosti se intenzivno raziskuje tudi vpliv rastnih faktorjev na druga tkiva. Pod vplivom rastnih faktorjev se progenitorne celice v ustreznem okolju ne razvijejo le v kostne celice, temveč lahko nastane tudi hialini hrustanec, kita ali vez, opisan je tudi vpliv na popravilo meniskusov (13). V poročilih zasledimo tudi že vpliv določenih BMP pri obnovi živcev in ledvic (13).

Bodočo usmeritev verjetno predstavljajo sestavljeni oz. **kombinirani vsadki** (npr. BMP skupaj z nosilci kolagena, biorazgradnimi polimeri ipd.). Nekatere raziskave nakazujejo uporabnost kombinacije rekombinantnega BMP in umetnega kostnega matriksa pri zdravljenju zlomov stegnenice (11). Opisana je uporaba kombinacije govejega kolagena s keramičnim materialom skupaj z avtolognim kostnim mozgom pri zdravljenju zlomov dolgih kosti z defektom (11).

Druge biološke metode v kostni kirurgiji

Uporaba **razgradljivih (biodegradabilnih) vsadkov** je prav tako obetavno področje. Zаметki tovrstnih vsadkov se že uporabljajo v kliničnem vsakdanjiku (razgradni zagoditveni vijaki pri rekonstrukciji kolenskih vezi). Uporaba večjih vsadkov (npr. intramedularni žblji, plošče ipd.) pa je še v fazi predkliničnih raziskav. Taki vsadki (žblji) bi imeli veliko prednosti: le ena operacija, brez odstranitve, možnost kombinacije z drugimi spodbujajočimi (osteoinduktivnimi) snovmi, ob zadovoljivi mehanski trdnosti bi imeli tudi osteokonduktivne lastnosti, ne bi povzročali imunskega odziva ipd. Prvi praktični poskusi uporabe takšnih žbljev so že bili narejeni pri ovcah (23). Obetajoče zamisli trenutno (in verjetno še nekaj časa) žal še ni moč uporabiti v klinični praksi.

Veliko obeta tudi **gensko zdravljenje**. Opisane so študije zatrditve hrbtenice (medvretenčnih ploščic) s pomočjo transgensko spremenjenih celic diskusa. V osnovi gre največkrat za prenos gena, ki kodira rastni faktor v tarčne celice s pomočjo nekega vektorja (plazmida, virusa) ali za direktno vsaditev predhodno genetsko spremenjenih celic na želeno mesto (12).

Sedanost in perspektive uporabe biološko aktivnih snovi v kostni kirurgiji

In kje smo na tem področju v Sloveniji? Tudi pri nas katere omenjene metode že dalj časa in s pridom uporabljamo, predvsem avtologne presadke in tiste, ki so komercialno najbolj ugodni, npr. proteze, prevlečene s keramičnimi materiali. Eksperimentalno in s kliničnimi primeri se že poskušamo na nekaterih drugih področjih tkivnega inženirstva (gojenje in presaditve hrustanca, tridimenzionalna rast in oblikovanje hrustanca...). Primer uporabe rastnih faktorjev za vzpodbudo celjenja zloma pri nas še ni bil opisan. Trenutno komercialni produkt BMP v Sloveniji še ni registriran za uporabo. Problem je verjetno tudi zelo visoka cena.

V svetu se z zahtevnimi raziskavami področja rastnih faktorjev, posebnih osteokonduktivnih keramičnih materialov in biološko razgradljivih snovi za zdravljenje

zlomov ukvarja malo centrov. Z odkritjem rastnih faktorjev je bil narejen velik korak naprej. Njihova uporaba veliko obeta, še posebej v kombinaciji z drugimi metodami. Toda obstaja še veliko nerešenih vprašanj. Tako kljub velikemu napredku in številnim raziskavam še vedno ne poznamo vseh mehanizmov in vplivov na celjenje zlomov. Rastni faktorji so se pokazali kot veliko učinkovitejši pri tvorbi kostnine pri nižjih sesalcih kot pri primatih oz. človeku. Ostaja problem nosilcev rastnih faktorjev (BMP) oz. kako dajati natančno koncentracijo rastnega faktorja na točno določeno mesto in jo tam tudi vzdrževati? Odprto ostaja tudi vprašanje katero kombinacijo biološko aktivnih materialov velja izbrati in kdaj natančno naj jih uporabimo? Velik problem je tudi cena, ker še ni univerzalnega in široko uporabljane pripravka rastnih faktorjev. Ne vemo še natančno kaj prinaša uporaba le posameznih rastnih faktorjev in kaj cele družine? Ne povsem razjasnjen je tudi vpliv BMP na osteoklaste. V prisotnosti BMP pride poleg stimulacije osteoblastov tudi do sprostitve faktorjev, ki povzročijo nastajanje osteoklastov. Nastanek osteoklastov se pojavi hitreje kot nastajanje osteoblastov in tako lahko velike količine BMP celo povzročijo resorbcijo kostnine. Pojavljajo se ideje o uporabi zaviralcev osteoklastov (npr. bifosfonatov, ki jih že uporabljamo pri zdravljenju osteoporoze), toda kliničnih raziskav o tem zaenkrat še ni.

V zadnjih petih letih so v literaturi objavili nekaj pomembnih raziskav, ki dokazujejo vlogo tkivnega inženirstva pri zdravljenju zlomov, predvsem uporabo rekombinantnega BMP. Govender je s sodelavci objavil prospektivno randomizirano kontrolirano študijo, ki je vključevala 450 bolnikov z odprtimi zlomi golenice. Naredili so tri skupine in prvo zdravili z intramedularnim žebeljem in klasično kirurško oskrbo mehkih tkiv, drugi skupini so poleg istega zdravljenja dodali še 6 mg BMP-2 in tretji skupini še 12 mg BMP-2 (BMP so dodajali na resorptivni kolagenski mrežici). Pri skupini, ki je prejela 12 mg BMP-2 so dokazali so statistično značilno manj reoperacij, hitrejše celjenje, manj zlomov žebeljev in manj okužb (14, 19).

Ronga s sodelavci v opazovalni retrospektivni nerandomizirani študiji opisuje serijo uporabe BMP-7 pri 105 slabo zaceljenih zlomih različnih kosti. V dveh skupinah so uporabljali avtologni presadek ali avtologni presadek skupaj z BMP-7. Rezultati so pokazali hitrejše celjenje pri skupini z BMP-7 (15).

Jones je s sodelavci objavil randomizirano kontrolirano študijo, kjer so za stopenjsko rekonstrukcijo zlomov golenice z defektom kortikalne kosti uporabljali

bodisi avtologni kostni presadek bodisi alograft (spongioza z dodatkom rekombinantnega BMP-2). Dokazali so, da je dajanje BMP-2 klinično varno, poleg tega je ta skupina potrebovala statistično manj transfuzij krvnih pripravkov (16).

Friedlander s sodelavci objavlja raziskavo uporabe BMP-7 pri zdravljenju nezaceljenih zlomov golenice. V kontrolirani, prospektivni, randomizirani, enojno slepi in multicentrični študiji so v dveh skupinah nezaceljene zlome golenice zdravili bodisi z intramedularnim žebeljem in dodatkom BMP-2 na kolagenskem nosilcu ali pa intramedularnem žebeljem in dodatkom spongiozne avtolognega presadka. Dokazali so, da je aplikacija BMP-7 varen in učinkovit način zdravljenja nezaceljenih zlomov golenice brez težav z dajalskim mestom (17).

Dimitrou je s sodelavci objavil observacijsko študijo 29 bolnikov z nezaceljenimi zlomi na različnih mestih, kjer so uporabili BMP-7 potem, ko so bolniki v povprečju že imeli 3,2 operacije zaradi nezaceljenega zloma. V povprečju je po uporabi prišlo do zacelitve v 92,3 % primerov. Avtorji priporočajo uporabo BMP v primeru nezaceljenih zlomov kot varno in zelo učinkovito (18).

Podobne ugotovitve prikazuje Giannoudis s sodelavci. Pri 653 primerih uporabe pri nezaceljenih zlomih, periprostetičnih zlomih, osteotomijah, acetabularnih zlomih, distrakcijskih osteotomijah, prostih presadkih fibule in artrodezah raziskovalci ugotavljajo uspešno zdravljenje z dodatkom BMP v 82 % primerov. Sistemskih ali lokalnih zapletov ne opisujejo (20).

Swiontkowski s sodelavci objavlja študijo kombiniranih podatkov dveh prospektivnih študij uporabe BMP-2 pri odprtih zlomih golenice. Randomizirali so 510 bolnikov z zlomom golenice v dve skupini, in sicer kontrolno, ki so jo zdravili z intramedularnim žebeljem in rutinsko kirurško oskrbo rane, ter skupino, kjer so poleg istega zdravljenja dodali BMP-2 na kolagenskem nosilcu. Podskupina z odprtimi zlomi tipa Gustillo-Anderson IIIA ali IIIB, kjer so uporabili BMP-2, je imela statistično značilno manj sekundarnih operacij s kostnimi presadki in manj okužb, opazili so tudi hitrejše celjenje. Pri podskupini, kjer so kot metodo zdravljenja uporabili intramedularni žebelj s povrtavanjem in z ali brez dodatka BMP-2, statističnih razlik v rezultatih zdravljenja niso opazili (21).

Burkus s sodelavci objavlja raziskavo z uporabo BMP-2 v kirurgiji ledvene hrbtenice. V prospektivni randomizirani multicentrični študiji sprednje artrodeze ledvene hrbtenice so v študijski skupini uporabljali rekombinantni BMP-2 z resorptivnim kolagenskim nosil-

cem, v kontrolni skupini pa avtograft iz črevnice. Bolniki študijske skupine so imeli statistično boljši funkcionalni izid zdravljenja, krajši čas operacije in krajšo hospitalizacijo, prav tako je bila zacelitev v tej skupini hitrejša. Avtorji zagotavljajo, da je uporaba alografta skupaj z BMP-2 varna in prinaša boljše rezultate v primerjavi z avtograftom pri sprednji artrodezi ledvenih vretenc (22).

Verjetno bomo v bodočnosti s pomočjo rastnih faktorjev ali drugih biološko aktivnih snovi lahko poleg reševanja problemov celjenja kosti obnavljali tudi hruštančno tkivo, meniskuse, vezi, periferne živce in še kaj. Zdravljenje psevdartroz in zatrditve medvretenčnih prostorov bomo morda opravljali z injiciranjem snovi, ki bodo povzročale zakostenitev na točno določenem mestu, namesto današnjih zahtevnih operativnih posegov. Na področju osteosintetskih materialov si zamisljamo idealen, mehansko čvrst, biološko razgradljiv vsadek, ki bo vseboval rastne faktorje in imel osteogenetske, osteokonduktivne in osteoinduktivne lastnosti. Z njim bomo zlom učvrstili in spodbujali celjenje zloma, kasneje pa razgradljivega vsadka ne bo treba odstranjevati, niti ne bo sprožal imunskih reakcij.

Na področju genskega zdravljenja med drugim še vedno ostaja nerešen problem vektorja za prenos genetskega

materiala. Skupaj z njim lahko prenesemo tudi morebitne druge okužbe ali pa sprožimo nenadzorovane reakcije. Ne poznamo še vseh mehanizmov ekspresije in regulacije genov, predvsem pa vplivov nanju ob manipuliranju z genetskim zapisom. Ideal, ki si ga želimo, pa je, da bi z genskim zdravljenjem telesnim celicam lahko dodali manjkajoče oz. okvarjene gene in zdravili tudi kostne bolezni (npr. osteopetrozo). Nadaljnje raziskave nam bodo tako prav gotovo tudi v kostni kirurgiji odprle nove možnosti in prinesle nove ideje za zdravljenje zlomov in bolezni kosti, ki se jih danes še ne zavedamo.

Zaključek

V prihodnosti bodo raziskave in nove metode zdravljenja vsebolj temeljile na celični in molekularni ravni in genskem inženiringu. Tudi kostna kirurgija, ki je v svojih začetkih temeljila predvsem na mehanskih osnovah, danes dobiva nove razsežnosti z vključevanjem in razvojem novih bioloških metod. Enaindvajseto stoletje tako kostnega kirurga že postavlja v položaj, ko njegovo delo poleg mehanskega čedalje bolj temelji tudi na molekularnem razumevanju celjenja zlomov in zapletov in z dokazi najnovejših raziskav tudi prestavlja teoretično osnovo v učinkovito prakso.

Literatura

1. Einhorn TA, Lane JM. Editorial comment. *Clin Orthop Rel Res* 1998; 355s: s2-3.
2. Browner BD, Mast J, Mendes M. Principles of internal fixation. In: Browner BD, Jupiter JB, Levine AM, eds. *Skeletal trauma*. Philadelphia: Saunders, 1992: 243-68.
3. Krettek C. Intramedullary nailing. In: Colton CL, Fernandez Dell'Oca A, Holz U, eds. *AO Principles of Fracture Management*. Stuttgart: Thieme, 2000: 195-219.
4. Vacanti CA, Vacanti JP. The science of tissue engineering. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 351-5.
5. Einhorn T. The Cell and Molecular Biology of Fracture Healing. *Clin Orthop Rel Res* 1998; 355s: s7-21.
6. McKibbin B. The Biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg* 1987; 60B: 150-62.
7. Einhorn TA, Majeska RJ, Rush EB. The expression of cytokine activity by fracture callus. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 1272-81.
8. Bolander ME. Regulation of fracture repair by growth factors. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200: 165-70.
9. Khan NS, Bostrom MPG, Lane JM. Bone Growth Factors. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 375-87.
10. Fleming JE, Cornell CN, Muschler GF. Bone Cells and Matrices in Orthopedic Tissue Engineering. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 357-71.
11. Khan SN, Tomin E, Lane JM. Clinical Applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 389-98.
12. Khan SN, Hidaka C, Sandhu HS, et al. Gene therapy for spine fusion. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 473-84.
13. Lane JM. Biologic enhancement of fracture repair. *Clin Orthop* 1998; 355S: s359-60.
14. Govender S, Csimma C, Genant HK. Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 for Treatment of Open Tibial Fractures. *J Bone Joint Surg Am* 2002; 84: 2123-34.
15. Ronga M, Baldo F, Zappala G, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-7 for treatment of long bone non-union: An observational, retrospective, non-randomized study of 105 patients. *Injury*. 2006 Sep;37(9 Suppl): S51-6.
16. Jones AL, Bucholz RW, Bosse MJ. Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2006 Jul;88(7): 1431-41.
17. Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, et al. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J Bone Joint Surg Am*. 2001;83-A Suppl 1(Pt 2):S151-8.
18. Dimitrou R, Dahabreh Z, Katsoulis E, et al. Application of recombinant BMP-7 on persistent upper and lower limb non-unions. *Injury*. 2005 Nov;36 Suppl 4:S51-9.
19. Govender S, Csimma C, Genant HK, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *J Bone Joint Surg Am*. 2002 Dec;84-A(12):2123-34.
20. Giannoudis PV, Tzioufis C. Clinical applications of BMP-7: the UK perspective. *Injury*. 2005 Nov;36 Suppl 3:S47-50.
21. Swiontkowski MF, Aro HT, Donell S, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 in open tibial fractures. A subgroup analysis of data combined from two prospective randomized studies. *J Bone Joint Surg Am*. 2006 Jun;88(6):1258-65.
22. Burkus JK, Sandhu HS, Gornet MF, et al. Use of rhBMP-2 in combination with structural cortical allografts: clinical and radiographic outcomes in anterior lumbar spinal surgery. *J Bone Joint Surg Am*. 2005 Jun;87(6):1205-12.
23. Van der Elst, Klein CP, De Blicq-Hogervorst JM, et al. Bone tissue response to biodegradable polymers used for intramedullary fracture fixation: a long term in vivo study in sheep femora. *Biomaterials* 1999; 20: 121-8.